

艾灸干预不同穴位对束缚应激模型大鼠心理行为改变的影响*

孙洁¹ 魏惠芳¹ 仲大奎² 温进³ 曾霈君¹ 李滢¹ 杨磊¹ 张露芬^{1△}

(1 北京中医药大学针灸推拿学院 北京 100029;

2 北京市房山区中医院康复科 北京 102400; 3 北京门头沟区中医医院针灸科 北京 102300)

摘要 目的:观察艾灸不同穴位对束缚应激模型大鼠行为学改变的影响,进一步探讨艾灸对束缚应激所致心理行为改变的作用规律。方法:将35只雄性Wistar大鼠按分层随机法分为正常组、束缚应激模型组、艾灸百会(GV20)组、艾灸关元(CV4)组、艾灸足三里(ST36)组,每组各7只。除正常组外,余各组均采用自制布袋束缚大鼠30 min,每日1次,共20次,制备束缚应激大鼠模型,于造模第2天各治疗组捆绑固定后给予艾灸灸3壮,正常组及模型组捆绑束缚20 min,隔日一次,共10次。于造模前、造模后,治疗5次、10次分别采用高架十字迷宫检测各组大鼠开放臂进入次数比例(OE%)及开放臂停留时间比例(OT%)的变化。结果:①与造模前比较,艾灸百会(GV20)组大鼠造模后、治疗10次后OE%均降低明显,治疗5次后OT%升高明显,均有显著性差异($P<0.05$),艾灸关元(CV4)组大鼠造模后OT%降低明显,有显著性差异($P<0.05$),艾灸足三里(ST36)组大鼠造模后OE%和OT%、治疗10次后OE%均明显降低,均有显著性差异(分别为 $P<0.05$ $P<0.05$ $P<0.01$);与造模刚结束比较,艾灸百会(GV20)组大鼠治疗5次后OE%与OT%均升高明显,均有显著性差异($P<0.05$),艾灸关元(CV4)组大鼠治疗10次后OT%升高明显,有显著性差异($P<0.01$),艾灸足三里(ST36)组大鼠治疗5次后OE%、治疗10次后OT%均明显升高,有显著性差异(分别为 $P<0.01$ $P<0.05$);与治疗5次比较,艾灸百会(GV20)组、足三里(ST36)组大鼠治疗10次后OE%明显降低,艾灸关元(CV4)组大鼠治疗10次后OE%和OT%升高明显,均有显著性差异($P<0.05$)。②与艾灸百会(GV20)组比较,艾灸关元(CV4)组与艾灸足三里(ST36)组大鼠在治疗5次、10次后OE%和OT%呈不同程度的升高或降低趋势,未见显著性差异($P>0.05$)。结论:艾灸不同穴位可一定程度改善慢性束缚应激所致大鼠焦虑心理行为的变化,关元(CV4)、百会(GV20)、足三里(ST36)三穴均表现出一定抗焦虑效应,百会(GV20)穴在治疗早期效果显著,足三里(ST36)穴的疗效肯定,而关元(CV4)穴在长期治疗中效应更为稳定、明显,具有相对特异性。

关键词 艾灸;束缚应激;高架十字迷宫;心理行为

中图分类号:Q95-3 R245.97 R441.1 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2012)19-3618-06

Experimental Observation on Psychological and Behavioral Changes by Moxibustion at Different Acupoints in Model Rats of Restraint Stress*

SUN Jie¹, WEI Hui-fang¹, ZHONG Da-ku², WEN Jin³, ZENG Pei-jun¹, LI Ying¹, YANG Lei¹, ZHANG Lu-fen^{1△}

(1 College of Acupuncture and Massage, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029; 2 Physiotherapy Department of Beijing Fangshan TCM Hospital, Beijing 102400; 3 Acupuncture Department of Mentougou TCM Hospital, Beijing, 102300)

ABSTRACT Objective: To observe the influence of moxibustion at different acupoints on behavioral changes caused by restraint stress and further discussion on regulation rule of moxibustion for psychological and behavioral changes caused by restraint stress. **Methods:** According to the principle of stratified randomization the 35 male Wistar rats were divided into the normal group, the model group, Baihui group, Guanyuan group and Zusanli group, 7 rats in each group. Except the normal group, the rest groups were tied by self-made bags for 30min each day, totally lasting 20 days to make the restraint stress model. From the 2nd day after model made, the treatment groups were treated by moxibustion for 3 cones on each acupoint, once every other day, a total of 10 times. All groups were respectively tested into the elevated plus-maze to detect the changes of the proportion of the number of entry into the elevated plus-maze open arms (OE%) and that of Residence time at the open arms (OT%) at four time points, including before and after modeling, after the 5th treatment and 10th treatment. **Results:** Compared with that in the groups before modeling, the OE % of the rats in Baihui group decreased significantly after modeling, after the 10th treatment and the OT% of the rats in Baihui group increased significantly after the 5th treatment ($P<0.05$), after modeling the OT % of the rats in Guanyuan group decreased significantly ($P<0.05$), after modeling the OE% and OT % of the rats, after the 10th treatment the OE % of the rats in Zusanli group all decreased significantly ($P<0.05$, $P<0.05$, $P<0.01$); Compared with that in the groups after modeling, after the 5th treatment the OE% and OT% of the rats in Baihui group both increased significantly ($P<0.05$), after the 10th treatment the OT % of the rats in Guanyuan group increased significantly ($P<0.01$), the OE% of the

* 基金项目 北京市自然科学基金资助项目(7052037)

作者简介 孙洁(1984-) 女,博士研究生,主要研究方向:针灸的神经生物学机制研究,

电话:13488665637 E-mail: bingxuehaitun520@163.com

△通讯作者 张露芬 E-mail: zhlfen@yahoo.com.cn

(收稿日期:2011-11-27 接受日期:2011-12-25)

rats in Zusanli group after the 5th treatment and the OT % of the rats in Zusanli group after the 10th treatment both increased significantly ($P < 0.01$, $P < 0.05$); Compared with that in the groups after the 5th treatment, The OE % of rats in Baihui group and Zusanli group both decreased significantly after the 10th treatment ($P < 0.05$), the OE% and OT% of rats in Guanyuan group increased significantly after the 10th treatment ($P < 0.05$). Compared to that in Baihui group, the OE % and OT % of the rats in Guanyuan and Zusanli group had different changes but no significant difference ($P > 0.05$). **Conclusions:** Moxibustion at different acupoints could improve anxiety and changes in emotion and behavior induced by restraint stress; Guanyuan, Baihui and Zusanli all having some anxiolytic effect, Baihui having better effect in the early period of stress, Zusanli having a reliable effect, but Guanyuan having a much more stable and obvious effect after long-term treatment, which had relative specificity.

Key words: Moxibustion; Restraint Stress; Elevated plus maze; Sychological and behavioral

Chinese Library Classification: Q95-3, R245.97, R441.1 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2012)19-3618-06

前言

应激是机体在各种应激源作用下所出现的非特异性适应性保护机制,但过度的不良应激也会引起机体自稳态的破坏,甚至导致疾病发生,其涉及多个系统,尤其与神经、内分泌、免疫系统关系密切。导致机体应激反应的应激源可以是多方面的,如躯体、心理、社会文化等等。现代社会普遍存在的长期心理压力、工作紧张状态和竞争意识多方面的不良应激就已对人体身心造成了严重损害,甚至导致神经精神系统疾患的发生。有研究显示约 75%-90% 的社会流行病与应激有关,应激的不良影响因此也越来越受到人们的重视^[1]。束缚应激作为一种非损伤性刺激的应激源,它符合应激性疾病由急性向慢性转变的发展趋势,与人类身心性疾病的发病过程相似,是目前现代应激研究应用最普遍的一种造成应激的方法^[2]。而艾灸与针刺一样,作为一种良性应激源,其双向良性的调节作用对身心性疾病的内环境失衡具有较好的治疗效果。故本实验通过采用高架十字迷宫(EPM)考察束缚应激动物的行为变化,观察艾灸不同穴位干预后对束缚应激模型大鼠行为学改变的影响,进而从心理、行为角度初步探讨艾灸抗应激与束缚应激心理行为变化的特点。

1 材料和方法

1.1 动物及分组

实验采用健康成年 Wistar 大鼠,雄性,体重 200 ± 20 g,清洁级,共 35 只,购于北京维通利华实验动物技术有限责任公司(合格证号:SCXK(京)2006-0009),置于 8:00~20:00 光照、20:00~8:00 黑暗的 SPF 级动物房中饲养。饲养室及行为学实验室温度维持在 $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$,湿度 50%左右。动物实验过程中均遵守美国国立卫生院倡导的实验动物关怀和使用指导原则(Guide for Care and Use of Laboratory Animals, NIH)以及以减少(Reduction)、替代(Replacement)和优化(Refinement)为核心的动物实验“3R”原则。常规饲养 3 天后,按照分层随机化方法分为正常组、束缚应激模型组、艾灸百会(GV20)组、艾灸关元(CV4)组、艾灸足三里(ST36)组共 5 组,每组 7 只。

1.2 主要仪器与试剂

EPM 行为分析系统,荷兰 Noldus 公司;汉医牌自贴艾灸管,直径 0.5 cm,高 1 cm,200 粒/盒,南阳市卧龙汉医艾绒厂;自制布袋与自贴式黏布条。

1.3 模型制备

所有大鼠均适应性饲养 3 天后,再予以造模、治疗,正常组不造模、不治疗,束缚模型组造模但不治疗。束缚应激模型制备:用自制布袋束缚大鼠(布袋长约 14 cm,宽 8 cm,用线缝成袋型,将大鼠装进后用自贴式黏布条捆绑紧袋口),每次 30 min,每日 1 次,共 20 次。

1.4 取穴

分组选取百会穴(GV20)、关元穴(CV4)、足三里穴(ST36)进行电针干预。穴位参照《实验针灸学》大鼠标准穴位图谱定位^[3]。“百会”穴(GV20)位于大鼠两耳尖连线与头顶正中线的交点;“关元”穴(CV4)位于脐下约 25 mm 处,约大鼠两侧后肢根部连线的中点;“足三里”穴(ST36)位于膝关节后外侧,在腓骨小头下约 5 mm 处,左、右两侧各一穴。

1.5 艾灸方法

按照自贴艾灸管使用说明,由一实验者以双手固定大鼠使其安静并完全暴露穴位,另一实验者将自贴艾灸管点燃后粘贴在所选穴位,当艾粒燃烧至剩余 2/5 时,更换艾粒,每穴 3 粒。各艾灸治疗组自造模后第 2d 开始,隔日治疗 1 次,共 10 次。正常组和模型组从造模后第 2d 开始以布袋束缚大鼠,但不做艾灸处理。

1.6 EPM 行为学测试

测试条件:分别于模型制备前、后及治疗 5 次后、治疗 10 次后进行 4 次 EPM 行为学测试。所有动物提前 1 h 进入行为学测试实验室。实验室温度、湿度相对稳定,安静,光线较暗(以 1.5m 距离处能区分大鼠细微活动的最低亮度为准)。EPM 装置由两条相对开放臂($50\text{ cm} \times 10\text{ cm} \times 10\text{ cm}$)和两条相对封闭臂($50\text{ cm} \times 10\text{ cm} \times 10\text{ cm}$)及中央区($10\text{ cm} \times 10\text{ cm}$)连接并相互垂直成“十”(plus)形状,迷宫距地面高 50cm。置于实验室中间,四周无杂物。每只动物测试 5min,间隔期间清洁迷宫再进行下一只动物测试。

观察指标:每只大鼠置于迷宫中央平台区,使其头部面向其中一个开放臂,释放大鼠后即开始记录 5min 内以下指标的情况: (1)进入开放臂次数(open arm entry, OE) 进入到任一开放臂的次数,以大鼠 4 只足爪完全进入臂内为准,中途一只足爪从该臂中完全退出则为该次进入活动完成; (2)进入开放臂时间(open arm time, OT),单位为 s; (3)进入封闭臂次数(close arm entry, CE) 进入到任一封闭臂的次数,以大鼠四只足爪完全进入臂内为准; (4)进入封闭臂时间(close arm time, CT):单位为

秒。由(1)~(4)分别计算出:①开放臂和封闭臂总的进入次数(OE+CE),表示大鼠的运动活力(locomotor activity);②开放臂进入次数比例(OE%),即 $OE/(OE+CE) \times 100\%$;③开放臂停留时间比例(OT%),即 $OT/(OT+CT) \times 100\%$ 。开放臂进入次数及停留时间与大鼠的焦虑情绪呈负相关,进入开放臂次数越少,停留时间越短,说明大鼠的焦虑情绪越严重^[4-5]。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 统计软件包进行统计学处理,所有数据均以平均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)继以 LSD 检验,不服从正态分布数据采用非参数检验,组内比较采用配对 T 检验,以 $P < 0.05$ 为具有显著性差异的标准。

2 结果

2.1 艾灸百会(GV20)穴对束缚应激大鼠 EPM 测试行为学变化的影响

与造模前比较,造模后、治疗 10 次后大鼠 OE%和 OT%均有所降低,以 OE%降低明显,有显著性差异($P < 0.05$);治疗 5 次后 OE%和 OT%有所升高,OT%升高明显,有显著性差异($P < 0.05$);余无显著性差异($P > 0.05$)。与造模刚结束比较,治疗 5 次后模型大鼠 OE%与 OT%均升高明显,有显著性差异($P < 0.05$);治疗 10 次后 OE%和 OT%仍较低,无显著性差异($P > 0.05$)。与治疗 5 次比较,治疗 10 次后模型大鼠 OE%和 OT%均有所降低,OE%降低明显,有显著性差异($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 艾灸百会(GV20)穴对束缚应激大鼠 EPM 测试行为学变化的影响($\bar{x} \pm s$, $n=7$)

Table1 Effect on behavioral changes of EPM in model rats of restraint stress by Moxibustion at Baihui(GV20)($\bar{x} \pm s$, $n=7$)

	OE %	OT %
Baihui group before modeling	0.33+0.07	0.20+0.11
Baihui group after modeling	0.21+0.17*	0.09+0.12
Baihui group after the 5th treatment	0.36+0.03▲	0.31+0.09*▲
Baihui group after the 10th treatment	0.17+0.18*★	0.13+0.20

注:与造模前比较,* $P < 0.05$;与造模后比较,▲ $P < 0.05$;与治疗 5 次比较,★ $P < 0.05$ 。

Note: * $P < 0.05$ compared with Baihui group before modeling; ▲ $P < 0.05$ compared with Baihui group after modeling;

★ $P < 0.05$ compared with Baihui group after the 5th treatment.

2.2 艾灸关元(CV4)穴对束缚应激大鼠 EPM 测试行为学的影响

与造模前比较,造模后大鼠 OE%升高、OT%降低,OT%降低明显,有显著性差异($P < 0.05$)。治疗 5 次后 OE%和 OT%仍较低,均无显著性差异($P > 0.05$)。治疗 10 次后大鼠 OE%和 OT%均有所升高,无显著性差异($P > 0.05$)。与造模刚结束比较,治疗

5 次后大鼠 OE%降低、OT%升高,无显著性差异($P > 0.05$)。治疗 10 次后大鼠 OE%和 OT%均有所升高,OT%升高明显,有显著性差异($P < 0.01$)。与治疗 5 次比较,治疗 10 次后束缚应激大鼠 OE%和 OT%均明显升高,有显著性差异($P < 0.05$, $P < 0.05$)。见表 2。

表 2 艾灸关元(CV4)穴对束缚应激大鼠 EPM 测试行为学变化的影响($\bar{x} \pm s$, $n=7$)

Table 2 Effect on behavioral changes of EPM in model rats of restraint stress by Moxibustion at Guanyuan(CV4)($\bar{x} \pm s$, $n=7$)

	OE %	OT %
Guanyuan group before modeling	0.27+0.21	0.19+0.17
Guanyuan group after modeling	0.31+0.24	0.04+0.03*
Guanyuan group after the 5th treatment	0.14+0.15	0.09+0.13
Guanyuan group after the 10th treatment	0.46+0.17★	0.42+0.22▲▲★

注:与造模前比较,* $P < 0.05$;与造模后比较,▲▲ $P < 0.01$;与治疗 5 次比较,★ $P < 0.05$ 。

Note: * $P < 0.05$ compared with Guanyuan group before modeling; ▲▲ $P < 0.01$ compared with Guanyuan group after modeling;

★ $P < 0.05$ compared with Guanyuan group after the 5th treatment.

2.3 艾灸足三里(ST36)穴对束缚应激大鼠 EPM 测试行为学变化的影响

与造模前比较,造模后、治疗 5 次后和治疗 10 次后大鼠 OE%和 OT%均有所降低,以造模后 OE%和 OT%、治疗 10 次后 OE%降低明显,有显著性差异($P < 0.05$, $P < 0.05$, $P < 0.01$)。与造模刚结束比较,治疗 5 次后模型大鼠 OE%和 OT%均升高,

OE%升高明显,有显著性差异($P < 0.01$)。治疗 10 次后模型大鼠 OE%和 OT%仍较高,OT%升高明显,有显著性差异($P < 0.05$)。与治疗 5 次比较,治疗 10 次后束缚应激大鼠 OE%和 OT%均有所降低,OE%降低明显,有显著性差异($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 艾灸不同穴位对束缚应激大鼠 EPM 测试行为学变化的影响

表 3 艾灸足三里(ST36)穴对束缚应激大鼠 EPM 测试行为学变化的影响($\bar{x} \pm s$, n=7)
Table 3 Effect on behavioral changes of EPM in model rats of restraint stress by Moxibustion at Zusanli(ST36) ($\bar{x} \pm s$, n=7)

	OE %	OT %
Zusanli group before modeling	0.42+0.08	0.26+0.20
Zusanli group after modeling	0.21+0.16*	0.10+0.08*
Zusanli group after the 5th treatment	0.39+0.13 ▲▲	0.20+0.20
Zusanli group after the 10th treatment	0.25+0.07 ★**	0.16+0.07 ▲

注 :与造模前比较 ,*P<0.05 ,**P<0.01; 与造模后比较 ,▲P<0.05 ,▲▲P<0.01 ;与治疗 5 次比较 ,★P<0.05。
Note : *P<0.05,**P<0.01 compared with Zusanli group before modeling; ▲P<0.05, ▲▲P<0.01 compared with Zusanli group after modeling; ★P<0.05 compared with Zusanli group after the 5th treatment.

与正常组比较 ,治疗 5 次后模型组大鼠 OE%降低、OT%升高 ,艾灸百会(GV20)组与艾灸足三里(ST36)组 OE%与 OT%均有所升高 ,艾灸关元(CV4)组 OE%与 OT%呈降低趋势 ,均无显著性差异(P>0.05) ,治疗 10 次后模型组、艾灸关元(CV4)组大鼠 OE%与 OT%均升高 ,艾灸百会(GV20)组与艾灸足三里(ST36)组大鼠 OE%和 OT%呈不同程度降低 ,均无显著性差异(P>0.05) ;与模型组比较 ,艾灸百会(GV20)组大鼠 OE%和 OT%治疗 5 次时有所升高、治疗 10 次后则降低 ,艾灸关元(CV4)组大鼠 OE%和 OT%治疗 5 次时降低、治疗 10 次后呈升高趋势 ,均无显著性差异(P>0.05) ;与艾灸百会(GV20)组比较 ,艾灸关元(CV4)组大鼠在治疗 5 次时 OE%和 OT%较低、治疗 10 次后升高 ,艾灸足三里(ST36) 组大鼠在治疗 5 次后 OE%稍有升高、OT%仍较低 ,治疗 10 次后 OE%和 OT%均呈升高趋势 ,均无显著性差异(P>0.05)。见表 4。

表 4 艾灸不同穴位对束缚应激大鼠 EPM 测试行为学变化的影响($\bar{x} \pm s$, n=7)
Table 4 Effect on behavioral changes of EPM in model rats of restraint stress by Moxibustion at different acupoints ($\bar{x} \pm s$, n=7)

Groups	After the 5th traetment		After the 10th traetment	
	OE %	OT %	OE %	OT %
Normal group	0.28+0.16	0.16+0.12	0.24+0.14	0.25+0.25
AA model group	0.23+0.29	0.29+0.45	0.43+0.41	0.35+0.45
Baihui group	0.36+0.03	0.31+0.09	0.17+0.18	0.13+0.20
Guanyuan group	0.14+0.15	0.09+0.13	0.46+0.17	0.42+0.22
Zusanli group	0.39+0.13	0.20+0.20	0.25+0.07	0.16+0.07
H	8.606	6.952	8.293	7.179
P	0.072	0.138	0.081	0.127

3 讨论

应激是指机体受到外界刺激(应激源)作用时表现出的紧张状态及其反应 ,是机体在进化过程中获得的对应激源的适应性和防御性的非特异性反应。机体通常情况下会保持一定的应激状态 ,适度应激对机体有利(即良性应激) ,反之过度应激便会损伤机体 ,甚至导致疾病。有研究表明应激可引起神经内分泌免疫网络的紊乱 ,促使各种激素、神经递质和细胞因子的释放 ,以适应急剧变化的环境刺激 ,此时下丘脑 - 垂体 - 肾上腺轴(HPA)兴奋性增高 ,从而引起各种病理生理变化,免疫功能受到抑制^[6]。过度应激会导致能量过度消耗和激素等分泌紊乱 ,进而引起心理、行为改变,导致疾病发生。随着研究不断深入 ,神经内分泌免疫网络的紊乱被认为是应激研究的关键环节 ,因此越来越受到重视^[7] ,而 HPA 轴亦成为了应激反应相关生理病理机制研究的重点。应激状态时 HPA 轴的改变又和与下丘脑联系

密切的海马功能障碍有关^[8]。而应激源则可源于各类因素 ,只要对个体生存构成实际上或认识上的威胁 ,或是个体的主观需求得不到满足的均可演变成为应激源^[9]。身体束缚是医学实验研究中普遍采用的一种复合性应激源 ,它通过制造最纯粹的挫折应激 ,并剥夺动物的行动自由 ,伴随动物被固定后强烈的挣扎 ,引起肌肉剧烈运动以及相应的神经兴奋性改变等。该方法已被证实是一种能引起典型非特异应激表现的有效方法^[10]。已有研究表明束缚等应激状态下机体免疫功能低下 ,同时激活交感神经系统(包括肾上腺髓质)和下丘脑 - 垂体肾上腺轴 ,致使血浆肾上腺素、去甲肾上腺素、促肾上腺皮质激素及糖皮质激素等水平的上升^[11-13] ,进而导致束缚应激后大鼠出现明显的相关行为变化 ,如皮毛和面部不洁、毛须竖立、尖叫、反应迟缓、活动及饮食减少、大便稀薄等等。而这些不同的神经内分泌反应和行为变化 ,与人类的心理应激表现相接近^[2] ,因此束缚应激作为一种典型的心理性应激源 ,可用于探讨心理应激对机体的影响以

及针灸抗应激疗效与机制的研究。

高架十字迷宫行为学检测方法,是一种通过利用动物对新鲜环境的好奇探究特性及其对十字迷宫高悬开放臂的恐惧,形成的矛盾心理状态来反映并研究动物焦虑、抑郁状态的非条件反射测试方法,以进入开放臂的百分数(OE%)和在开放臂停留时间的百分数(OT%)作为主要观察指标^[14]。该方法以自发行为基础,无需对动物进行特殊训练,操作快速、简便,可较为客观地反映动物的焦虑症状。

艾灸是针灸疗法的重要组成部分,具有调和气血、温经通络、扶正祛邪、消肿散结,促使免疫、神经、内分泌系统功能相互协调,维持机体内环境稳态^[15-16]的功效。有研究显示艾灸主要是以温热刺激为始动因素,进而产生疏经通络的作用,以温促通是艾灸发挥疗效的主要机制^[17]。亦有学者们研究发现艾灸能增强人体免疫功能,对非特异性免疫和特异性免疫功能都有一定的调节作用,艾灸对免疫功能的调节具有双向良性作用^[18],并认为艾灸似乎从免疫机制来看是类抗原刺激,温灸刺激机体后,对免疫系统具有催化激活调节作用,进而使免疫系统功能在原有基础上得到加强^[19]。前期的研究工作也证实了,逆灸可通过调节佐剂性关节炎(AA)大鼠血清中炎症细胞因子白细胞介素 1β 、肿瘤坏死因子 α 的水平,改善下丘脑促肾上腺皮质激素释放激素、 β -内啡肽、神经肽Y、血清睾酮、生长激素及皮质醇等内分泌激素的紊乱状态,降低血清炎症因子IL-6等的水平,减轻AA大鼠早期、继发期足爪局部病理损伤及其肿胀程度,而这种作用可能与逆灸通过对神经、免疫、内分泌系统多靶点、多环节的调节,发挥其抗炎镇痛及其抗应激机制有关^[16,20-23]。

而百会(GV20)、关元(CV4)、足三里(ST36)作为临床常用穴,可疏经通络、调气安神,使人体脏腑气血调和、阴阳平衡。百会(GV20)为督脉与足太阳之交会穴,能通调髓海,疏通脑络,调情志,镇静安神,是临床抗抑郁、抗焦虑的有效穴位^[24]。关元(CV4)为任脉要穴,集先后天之本于一体,承阴经之海,可调整肝脾肾三经,有培元固本、补益精血、调理冲任、调和诸脏的功用,足三里(ST36)为足阳明胃经脉气所入之合穴,有疏经通络、调理气血、镇静醒神、理气止痛之功效,二穴均为保健、强壮要穴。现代研究也证实了关元(CV4)穴与足三里(ST36)穴可在中枢不同水平调节相关抗炎、免疫物质的合成、释放,并通过共同介质对神经-内分泌-免疫网络进行整体调节,从而发挥调节机体神经、免疫、内分泌系统功能紊乱、抗应激作用^[25-26]。因此本研究采用艾灸百会(GV20)、关元(CV4)、足三里(ST36)穴进行干预处理,观察束缚应激模型大鼠高架十字迷宫测试行为学变化的规律。

本研究结果显示,束缚应激后大鼠OE%值和OT%值均有所降低,而艾灸在一定程度上提高了模型大鼠的OE%和OT%值,且百会(GV20)穴组的OE%值和OT%值在治疗5次时明显升高,治疗10次后却降低;关元(CV4)穴组的OE%值和OT%值治疗10次后较治疗5次均升高明显,而足三里(ST36)穴组的OE%值在治疗5次时显著升高,在治疗10次后则有所降低;艾灸关元(CV4)穴在长期治疗中表现出来的治疗效应较百会(GV20)穴、足三里(ST36)穴更为明显、稳定。同时,注意到动物患病后出现的心理行为改变受个体差异影响较大,本实验

还从两方面进行比较观察,一方面对大鼠造模及治疗前后的焦虑状态进行比较,避免了个体差异反应的影响,结果显示艾灸对改善束缚应激所致心理行为的变化具有一定疗效;另一方面各组AA大鼠组间比较受不同个体差异的影响,组间对比未见明显差异。由以上结果分析并推测艾灸百会(GV20)穴之所以在治疗早期疗效显著可能与百会(GV20)穴侧重于调神志,但随着束缚应激效应的叠加机体内环境稳态被破坏,且造成了神经、内分泌、免疫网络的失衡,但百会(GV20)穴对神经、内分泌、免疫网络的综合调节效应并不显著有关;而艾灸关元(CV4)、足三里(ST36)穴可能启动了机体的抗应激保护机制,通过对神经-内分泌-免疫系统功能紊乱的整体调节,继而改善了束缚应激大鼠因束缚诱发的心理行为异常,进而达到抗焦虑、抗抑郁的治疗目的,且关元(CV4)穴的疗效更为稳定可能与其为补虚强壮要穴,具有明显的纠正免疫功能失调作用,在治疗5次时未表现出治疗效果,可能与治疗5次时束缚应激对机体造成的免疫功能低下状态处于初始蓄积阶段,尚不足以激发关元(CV4)穴对机体的自稳调节机制,但在治疗10次时应激损伤达到一定程度后才使得关元(CV4)穴对机体的强壮补益机制逐步充分发挥,进而表现出稳定、显著的疗效。同时还认为动物个体差异的影响对确保行为学评价研究结果的客观性、科学性具有重要意义,应遵从在实验研究中采取研究对象自身前后对比的研究方法。

综合分析上述结果推测,艾灸干预束缚应激模型大鼠可能是通过对神经-内分泌-免疫网络的整体调控,进而启动机体的自稳调节机制,纠正机体内环境的失衡状态,改善束缚应激所致大鼠心理、行为的变化,以发挥抗焦虑作用;关元(CV4)、百会(GV20)、足三里(ST36)三穴均表现出一定抗焦虑效应,百会(GV20)穴在治疗早期效果明显,足三里(ST36)穴的疗效肯定,而关元(CV4)穴在长期治疗中效应更为稳定、显著。

参考文献(References)

- [1] 李天心.医学心理学[M].北京:北京医科大学协和医科大学联合出版社,1998:148-159
Li TX. Medical Psychology [M]. Beijing: Beijing Yike Daxue Xiehe Yike Daxue Lianhe Chubanshe,1998:148-159
- [2] 唐已婷,陈家旭.慢性束缚应激动物模型的研究进展(综述)[J].北京中医药大学学报,2002,25(1):25-28
Tang YT, Chen JX. Research Progress on Chronic restraint stress animal models (Review)[J]. Journal of Beijing University of Traditional Chinese Medicine,2002,25(1):25-28
- [3] 林文注,王佩.实验针灸学[M].上海:上海科学技术出版社,1999:288-290
Lin WZ, Wang P. Experimental acupuncture[M]. Shanghai: Shanghai scientific & Technical Press,1999:288-290
- [4] Pellow S, Chopin P, File SE, et al Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat[J]. J Neurosci Methods,1985,14(3):149-167
- [5] Lister R.G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse[J]. Psychopharmacology,1987,92(2):180-185
- [6] 石立,钟历勇.应激对神经内分泌免疫网络的影响与胰岛素抵抗[J].东南大学学报(医学版),2005,24(5):347-350
Shi L, Zhong LY. Effect of stress on the neuroendocrine-immune

- network and insulin resistance [J]. Journal of Southeast University, 2005,24(5):347-350
- [7] 张曼,张丽萍,刘海鹏. 应激的神经 - 内分泌 - 免疫网络机制及中药干预研究进展[J]. 神经解剖学杂志,2008,24(2):215-217
Zhang M, Zhang LP, Liu HP. Research progress on neuro - endocrine - immune network mechanism and pharmaceutical intervention in Stress [J]. Chinese Journal of Neuroanatomy,2008,24(2):215-217
- [8] 何芙蓉,王慧聪,雷晓峰,等.慢性应激的神经内分泌研究进展[J].中国误诊学杂志,2002,2:525-527
He FR, Wang HC, Lei XF, et al. Research progress of neuroendocrine on chronic stress [J]. Chinese Journal of Misdiagnostics,2002,2:525-527
- [9] 刘德麟.分子网络紊乱与调节 -- 分子中医药学导论[M]. 北京:清华大学出版社,1999:37-38
Liu DL. Disorder and regulation of molecular network - Introduction to Molecular Traditional Chinese Medicine [M]. Beijing: Tsing Hua University Press,1999:37-38
- [10] 刘克嘉,郭勤娥.应激与应激性疾病[M].北京:人民军医出版社,1991:54
Liu KJ, Wu QE. Stress and stress disorders [M]. Beijing: People's Military Medical Press,1991:54
- [11] 金卫东,姚升.精神免疫学[M]. 北京:中国医药科技出版社,1997:78-86
Jin WD, Yao S. Mental Immunology [M]. Beijing: China Medical Science Press,1997:78-86
- [12] 周正任,杨晓临,旭辉,等.应激反应时机体免疫功能变化的动态观察[J].中国医科大学学报,1994,23(2):98
Zhou ZR, Yang XL, Xu H, et al. The Dynamic Study on the Body Immunological Function Influenced by The High voltage Electric Field [J].Journal of China Medical University,1994,23(2):98
- [13] 李建平,赵英侠,陈坚.针刺与应激免疫关系的实验研究[J].针刺研究,2000,25(2):104
Li JP, Zhao YX, Chen J. Experimental Research on the Relation between Acupuncture and Stress/Immune Reaction [J]. Acupuncture Research,2000,25(2):104
- [14] 王欣,谢鸣. 酸枣仁汤对高架十字迷宫大鼠行为学影响的量效关系评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2004,10(1):35-37
Wang X, Xie M. Comment on the Dose-Effect Relationship of Suanzaoren Decoction on Behavior of EPM Rat [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae,2004,10(1):35-37
- [15] 宋小鸽,唐照亮,侯正明,等. 艾灸对实验性炎症大鼠抗炎作用和红细胞免疫功能的影响[J]. 中国中医药信息杂志,1999,6(12):31-32
Song XG, Tang ZL, Hou ZM, et al. Effect of Moxibustion on anti-inflammatory effects and erythrocyte immune function in rats with experimental inflammation [J]. Chinese Journal of Information on TCM,1999,6(12):31-32
- [16] 郑玲,李晓泓,张露芬,等. 艾炷灸贴预处理对 AA 大鼠足肿胀率及应激激素的影响[J].中国康复理论与实践,2006,12(8):696-698
Zheng L, Li XH, Zhang LF, et al. Effect of Dressing and Moxibustion-pretreatment on Local Feet Swelling and Stress Hormone in Hypothalami of Rats with Adjuvant Arthritis at Early and Secondary Stages [J].Chinese Journal of Rehabilitation Theory and Practice,2006,12(8):696-698
- [17] 张建斌,王玲玲,胡玲,等. 艾灸温通作用的理论探讨[J].中国针灸,2011,31(1):51-54
Zhang JB, Wang LL, Hu L, et al. Theoretical study on warming and dredging function of moxibustion [J]. Chinese Acupuncture & Moxibustion,1999,6(12):31-32
- [18] 李丽萍,华金双,孙忠人,等. 艾灸百会和太冲穴对慢性应激抑郁模型大鼠细胞因子的影响[J].中医药学刊,2006,24(9):1757-1759
Li LP, Hua JS, Sun ZR, et al. Effect of Moxibustion at Points "Baihui Taichong" on Cytokine in the Chronic Mild Unpredictable Stressors Depression Rats [J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine,2006,24(9):1757-1759
- [19] 徐兰凤.论灸法与免疫[J].针灸临床杂志,1995,(11):6-7
Xu LF. Discussion on moxibustion and immune [J]. Journal of Clinical Acupuncture and Moxibustion,1995,(11):6-7
- [20] 李晓泓,张露芬,郭顺根,等. 逆灸对随后佐剂性关节炎大鼠早期及继发期炎症细胞因子和局部足肿胀的影响 [J]. 中国临床康复,2005,9(15):123-125
Li XH, Zhang LF, Guo SG, et al. Influence of preventive moxibustion on inflammatory cells and local feet swelling of rats with adjuvant arthritis at early and secondary stages [J]. Chinese Journal of Clinical Rehabilitation,2005,9(15):123-125
- [21] 郑玲,李晓泓,张露芬,等. 艾炷灸贴预处理对佐剂性关节炎大鼠早期和继发期血清白细胞介素 -6、睾酮、生长激素及皮质醇的影响 [J]. 针刺研究,2006,31(6):330-332,341
Zheng L, Li XH, Zhang LF, et al. Influence of Acupoint-application and Moxibustion Pretreatment on Serum IL-6, T, GH and CORT Levels in Rats with Adjuvant Arthritis at the Early and Secondary Stages [J]. Acupuncture Research,2006,31(6):330-332,341
- [22] 闫明茹,张露芬,张慧,等. 针刺不同穴位对不同应激模型大鼠迟发反应期 IL-2 影响的实验观察[J]. 北京中医药大学学报,2007,30(2):136-138,144
Yan MR, Zhang LF, Zhang H, et al. Influence of needling in different acupoints on IL-2 Level of delayed reaction period in different stress rat models [J]. Journal of Beijing University of Traditional Chinese Medicine,2007,30(2):136-138,144
- [23] 张露芬,闫明茹,程金莲,等. 针刺对早期佐剂性关节炎模型大鼠血浆、下丘脑、垂体及淋巴结 β -EP 水平的影响[J].北京中医药大学学报,2007,30(1):70-72
Zhang LF, Yan MR, Cheng JL, et al. Effect of acupuncture on β -EP levels of plasma, hypothalamus, pituitary and lymph node in rats with adjuvant-induced arthritis [J]. Journal of Beijing University of Traditional Chinese Medicine,2007,30(1):70-72
- [24] 朱兆洪,丁柱. 焦虑症的针灸临床治疗及选穴特点探讨[J].中国针灸,2008,28(7):545-548
Zhu ZH, Ding Z. Acupuncture and moxibustion treatment of anxiety neurosis and study on characteristics of acupoint selection [J]. Chinese Acupuncture & Moxibustion,2008,28(7):545-548
- [25] Martins TB, Anderson JL, Muhlestein JB. Risk factor analysis of plasma cytokines in patients with coronary artery disease by a multiplexed fluorescent immunoassay [J]. Am J Clin Pathol,2006,125 (6): 906-913
- [26] 石瑛,王辉,尹学念. 泌乳素对 T 淋巴细胞 IL-2R 和 LFA-1 表达的影响[J]. 新乡医学院学报,2005,22(6):545-546
Shi Y, Wang H, Yin XN. Effects of prolactin on the expression of IL-2R and LFA-1 of T lymphocytes [J]. Journal of Xinxiang Medical College,2005,22(6):545-546