

针刺降低青光眼模型兔眼压的机理探讨

孙红^{1,2}, 王育良^{2*}, 柏玉洁², 范莲¹, 罗莎莎¹

(1. 南京中医药大学第一临床医学院, 江苏 南京 210046; 2. 南京医科大学第一附属医院, 江苏 南京 210029)

摘要:目的 探讨针刺降低急性高眼压的机理。方法 12 只家兔急性青光眼模型造模成功后 4 h 分为 2 组, 实验组 6 只家兔进行针灸治疗, 对照组 6 只未做处理。造模前和造模后 4 h、针刺后 1 h 进行眼压测定和酶联免疫检测方法行血浆 β -内啡肽含量的测定。结果 12 只家兔眼压值造模前为 (7.50 ± 1.62) mmHg, 造模后 4 h 为 (19.86 ± 9.45) mmHg, 两者比较有统计学差异 ($P < 0.05$)。针刺组针刺前、针刺后眼压分别为 (20.89 ± 11.3) mmHg、 (7.55 ± 5.70) mmHg, 有统计学差异 ($P < 0.05$)。血浆 β -内啡肽浓度, 针刺前针刺组与对照组比较无统计学差异, 2 组针刺前后无统计学差异, 但针刺后针刺组比对照组明显升高, 有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 在高眼压状态下针刺治疗可以降低眼压, 同时使血浆中 β -内啡肽浓度升高, 针刺降眼压的机理可能和血浆 β -内啡肽浓度升高有关。

关键词: β -内啡肽; 青光眼模型; 针刺

中图分类号: R246.82

文献标志码: A

文章编号: 1672-0482(2011)03-0263-03

Study on the Mechanism of Acupuncture Treating Experimental Acute Ocular Hypertension of Rabbits

SUN Hong^{1,2}, WANG Yu-liang^{2*}, BAI Yu-jie², FAN Lian¹, LUO Sha-sha¹

(1. The First Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210046, China; 2. The First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, 210029, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the possible mechanism of acupuncture treatment for decreasing the intraocular pressure in rabbits with acute ocular hypertension. **METHODS** Methylcellulose was injected into the anterior chamber of the rabbits' eyes to induce glaucoma. Twelve rabbits were divided into acupuncture treatment group and control group. Then rabbits in acupuncture group was given the acupuncture treatment. 4 hours before and after successful modeling, and 1 hour after the treatment, the intraocular pressure (IOP) was monitored and β -endorphin concentrations in plasma were measured with euzymelinked immunosorbent assay. **RESULTS** Glaucoma model could be induced by injecting methyl cellulose. the IOP after acupuncture decreased evidently compared with that of before ($P < 0.05$). The β -endorphin concentrations in plasma before and after acupuncture in acupuncture group were (42.2 ± 8.51) ng/mL and (52.48 ± 9.24) ng/mL respectively. The β -endorphin concentrations in plasma elevated evidently compared with that of control group after acupuncture treatment ($P < 0.05$). **CONCLUSION** Increasement of β -endorphin concentration may play an important role in lowering intraocular pressure by acupuncture treatment.

KEY WORDS: β -endorphin; glaucoma model; acupuncture

自从 1976 年从骆驼的垂体组织中分离出 β -内啡肽 (β -endorphin, β -EP) 以来, 许多学者对这类物质进行了广泛研究。有资料指出, 内啡肽可能是神经、内分泌、免疫系统的共同信使, 它沟通了三大系统间的相互关系, 在维持机体内环境稳定方面起着重要作用。针刺可活化某些穴位, 调

整中枢及外周 β -EP 的水平, 从而纠正机体功能的紊乱, 达到治病的目的。文献报道针刺可以降低高眼压, 那么针刺降低眼压是不是也和 β -内啡肽有关, 目前国内还没有类似报道。本实验旨在初步探讨针刺降眼压与 β -内啡肽的关系。

收稿日期: 2011-02-18; 修稿日期: 2011-03-29

基金项目: 江苏省教育厅科学基础研究资助项目 (07KJB310070)

作者简介: 孙红 (1971-), 女, 江苏常州人, 南京中医药大学 2008 级博士研究生, 南京医科大学第一附属医院副主任医师。* 通信作者: wyl0601@126.com

1 材料

普通级健康新西兰白兔 12 只(由江苏省农科院提供),雌雄兼用,体质量 2.5~3.0 kg,月龄 12~16 月。

2 方法与结果

2.1 方法

检查实验兔的双眼眼底及眼表均无异常。适应性饲养 1 周,实验前 3 天每天点氧氟沙星眼药水 3 次。双眼表面麻醉,用笔式眼压计(icare Tonometer,芬兰制造)测量双眼眼压,每只眼测量 3 次取其平均值。

2.2 动物模型

双眼均进行青光眼模型制作。用 3%戊巴比妥钠 1 mL/kg 耳缘静脉注射,麻醉成功后,用 1 mL 注射器行角膜缘内 2 mm 处进行前房穿刺,穿刺时,穿刺针应在角膜内行走一定距离后再进前房,以避免穿刺后前房漏水。抽取房水 0.2 mL,为了使注射后眼压很快升高,尽量多抽房水,然后立刻前房内注入 2%甲基纤维素,使眼压很快上升到 40 mmHg 以上,缓慢拔出针头,同时用棉棒轻轻按压穿刺口处。前房穿刺后,双眼均点氧氟沙星眼药水,3 次/d。

2.3 分组

青光眼模型制作成功后 4 h,将 12 只兔分为 2 组:针刺组和对照组。针刺组进行针刺治疗,对照组未采取针刺治疗。2 组于造模后 4 h(针刺前)、针刺后 1 h 测量眼压并观察双眼眼前节情况,并采集耳背动脉血 2 mL,注入 EDTA 管中,1 000×g 离心 20 min,收集血浆置于一 20℃冰箱中,行血浆 β -内啡肽含量测定。

2.4 针刺方法

根据中国针灸学会实验针灸研究会制定的“动物针灸穴位图谱”。选取针刺组睛明、瞳子髎、太阳及双侧合谷穴。睛明穴于内眼角、上下眼睑交界,推开眼球,向内下方斜刺 0.3 cm。瞳子髎于眼外角旁开 0.5 cm 处,向外平刺 0.5 cm。太阳穴于外眼角后上方颞窝中,直刺 0.3 cm。合谷穴于第二掌骨中点桡侧,稍向后斜刺 0.5 cm。留针 20 min。

2.5 血浆 β -内啡肽浓度测定

采用酶联免疫检测法, β -内啡肽酶联免疫检测试剂盒购自上海百沃生物公司。将试剂和待测样本放置室温下平衡 25 min,每孔分别加入待测

样本和标准品 100 μ L(双孔试验),并做好标记。加入酶联亲合物 50 μ L,充分混匀。将包被微孔板覆膜并在 37℃孵育反应 60 min 后充分弃尽孔内液体并扣干孔内剩余残液,用预先稀释好的清洗液反复冲洗 5 次,并扣干孔内剩余液体。每孔依照次序分别加入底物 I 和 II 各 50 μ L,充分混匀,在室温下避光反应 15 min。再分别加入终止液 50 μ L,充分混匀,终止反应。在 30 min 内使用酶标仪在 450 nm 下读取 OD 值 2 次,取平均值计算出 β -内啡肽浓度。

2.6 统计学方法

采用 SPSS16.0 统计分析软件,各组数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组内比较采用 2 组配对样本 t 检验。

2.7 结果

2.7.1 眼部观察

前房内注射 20 g/L 甲基纤维素后 4 h,出现睫状充血,球结膜水肿,角膜轻度扩张,前房加深,瞳孔呈椭圆形扩大,对光反应消失,2 例 2 眼出现角膜上皮水肿,2 例 2 眼出现轻度角膜葡萄肿。针刺后 1 h 观察,对照组睫状充血、角膜扩张加重,瞳孔仍呈椭圆形扩大,对光反应消失,原来的 1 眼角膜葡萄肿加重并出现轻度混浊;针刺组也伴有睫状充血,瞳孔椭圆形扩大稍好转,原来的 1 眼角膜葡萄肿没有出现混浊。出现角膜葡萄肿的眼压均较其他兔眼为低。见图 1,造模后 4 h,睫状充血,角膜轻度扩张,前房加深,2 例出现角膜葡萄肿。



图 1 造模后 4 h 眼部观察

2.7.2 眼压结果

12 只家兔眼压值造模前为 (7.50 ± 1.62) mmHg,造模后 4 h 为 (19.86 ± 9.45) mmHg,两者比较有统计学差异($P < 0.05$)。针刺组针刺前后分别为 (20.89 ± 11.3) mmHg、 (7.55 ± 5.70) mmHg,两者比较有统计学差异($P < 0.05$)。对照组针刺前后分别为 (18.83 ± 8.01) mmHg、

(12.72±5.30) mmHg,两者比较没有统计学差异($P>0.05$)。见表1。

表1 实验组与对照组不同时间的眼压变化($\bar{x}\pm s,n=6$)

组别	针刺前/mmHg	针刺后/mmHg
针刺组	20.89±11.39	7.55±5.70*
对照组	18.83±8.01	12.72±5.30

注:同一组内针刺后与针刺前比较,* $P<0.05$ 。

2.7.3 血浆β-内啡肽浓度

血浆β-内啡肽浓度造模前为(22.13±7.70) ng/mL,针刺前针刺组与对照组比较没有统计学差异($P>0.05$),对照组针刺前、后分别为(42.53±13.61) ng/mL、(39.30±7.65) ng/mL,两者比较没有统计学差异($P>0.05$)。针刺组针刺前后分别为(42.2±8.51) ng/mL、(52.48±9.24) ng/mL,针刺后较针刺前有很大的提高,但没有统计学差异($P>0.05$),但针刺后针刺组比对照组明显升高,有统计学差异($P<0.05$)。见表2。

表2 血浆β-内啡肽浓度变化($\bar{x}\pm s,n=6$)

组别	针刺前/(ng·mL ⁻¹)	针刺后/(ng·mL ⁻¹)
对照组	42.53±13.61	39.30±7.65
针刺组	42.2±8.51	52.48±9.24*

注:针刺组与对照组比较,* $P<0.05$ 。

3 讨论

青光眼中医病机为肝气上逆、目络瘀滞、水液潴留。应用针刺疗法可以活血通络、平肝降逆,从而达到治疗目的。已有大量资料表明针刺有降低眼压及保护视网膜的作用,以及即刻降眼压作用^[1-2]。而针刺又可调整中枢及外周β-EP的水平,从而纠正机体功能的紊乱,达到治病的目的。

临床治疗青光眼针灸选穴多取足太阳膀胱经、足厥阴肝经、足少阳胆经穴,其次为足太阴脾经、手阳明大肠经及足阳明胃经穴。其中选用睛明、攒竹、风池、行间、合谷、太阳、三阴交、肝俞等的频率较高^[3-4]。经反复观察,我们取穴为睛明、

瞳子髎、太阳及双侧合谷穴。

实验结果显示,12只家兔眼压值造模前为(7.50±1.62) mmHg,造模后4h为(19.86±9.45) mmHg,两者比较有统计学差异($P<0.05$),说明造模是成功的。针刺组针刺后眼压较针刺前明显降低,有统计学差异($P<0.05$),而对照组没有明显下降,表明针刺有明显的降低眼压作用。

针刺前针刺组与对照组的血浆β-内啡肽浓度比较没有统计学差异,对照组针刺前与针刺后也没有统计学差异。针刺组针刺后的血浆β-内啡肽浓度较针刺前有很大的提高,但没有统计学差异($P>0.05$),但是与对照组针刺后比较有明显升高,有统计学意义($P<0.05$),说明针刺可以提高血浆β-内啡肽浓度。针刺组针刺后血浆β-内啡肽浓度高于针刺前,没有统计学差异可能和样本量小有关,也可能和针刺次数太少有关。

本文结果显示,针刺在降低眼压的同时,可以引起血浆β-内啡肽浓度升高,表明针刺后眼压的下降可能和β-内啡肽浓度的升高有关,β-内啡肽作为一种体液内分泌因素在针刺降眼压的调节过程中可能发挥着重要作用。

参考文献:

[1]李志勇,刘岩,张广庆. 针刺降低兔慢性高眼压机理的实验研究[J]. 中国中医眼科杂志,2003,13(4):195-196.
[2]李志勇. 针刺调整眼压的即时疗效观察[J]. 中国针灸,2002,22(8):509.
[3]庄卫. 电针睛明穴对家兔眼压的影响[J]. 中国中医眼科杂志,1996,6(1):7-9.
[4]Leskea MC,Heijl A,Hyman L,et al. Factors for progression and glaucoma treatment:the early manifest glaucoma trail[J]. Curr Opin Ophthalmol,2004,15(2):11-12.

(编辑:李伟东)