

针药对干眼兔模型泪液分泌及泪腺中乙酰胆碱含量的影响

刘雪, 徐雯, 高卫萍* (南京中医药大学第一临床医学院, 江苏 南京 210023)

摘要: **目的** 通过观察针刺及中药对于干眼兔模型泪液分泌量及泪腺中乙酰胆碱含量的变化, 探讨针刺和中药治疗干眼的作用机制。 **方法** 新西兰白兔随机分为空白组、模型组、针刺组、中药组及针药组 5 组, 每组各 10 只。空白组不作任何治疗。模型组双眼滴 1% 硫酸阿托品滴眼液, 每日 4 次, 直至试验结束。其余组干眼实验动物模型制作成功开始, 分别用针刺, 中药及针药结合对其治疗, 不同时段观察各组干眼兔模型泪液分泌及泪腺中乙酰胆碱的含量的变化。 **结果** 针刺、中药以及针刺结合中药均可以提高干眼兔模型泪液分泌量, 实验第 10、17 天针药组泪腺中乙酰胆碱的含量显著高于模型组 ($P < 0.05$), 差异有显著性。 **结论** 针刺与润目灵结合能明显促进泪腺中乙酰胆碱含量, 从而促进干眼泪液分泌。

关键词: 干眼; 针刺; 润目灵; 兔

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-0482(2014)05-0447-03

Effects of Acupuncture Combined with Chinese Medicine on Tear Secretion and Acetylcholine Content in Dry Eye Rabbit Model

LIU Xue, XU Wen, GAO Wei-ping*

(The First Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210023, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the curative mechanism of acupuncture and Chinese medicine for dry eye syndrome by observing the changes of tear secretion and tear ducts acetylcholine content in the rabbit model. **METHODS** New Zealand white rabbits were randomly divided into the blank group, model group, acupuncture group, Chinese medicine and acupuncture and Chinese medicine group (10 rats in each group). Patients in the blank group did not receive any treatment. Model group was treated with eyes drops of 1% atropine sulfate eye drops (four times a day until the end of the trial). The remaining group was treated with acupuncture, Chinese medicine and combination of acupuncture and Chinese medicine respectively. The lacrimal tear secretion and acetylcholine in each group at different stages were observed. **RESULTS** Acupuncture, Chinese medicine and acupuncture combined with Chinese medicine can improve tear secretion in dry eye rabbit model. In the 10th and 17th day of the experiment, the lachrymal acetylcholine levels in acupuncture combined with Chinese traditional medicine group were significantly higher than those of the model group ($P < 0.05$), and there was significant difference. **CONCLUSION** Acupuncture combined with Chinese medicine runmuling can obviously promote the Ach secretion of lacrimal gland and increase tear secretion.

KEY WORDS: dry eye; acupuncture; Runmuling; rabbit

干眼是影响人们工作、学习及生活的常见眼表疾病。西医对于干眼治疗目前临床上主要依靠局部点滴人工泪液; 中医对于干眼是针对病因病机进行治疗, 采用的方法主要有辨证内服中药、专方专药、针刺治疗等。根据文献^[1-4]表明中药、针刺治疗干眼有较好疗效, 但对其作用机制并不太清楚。我们通过实验, 用针刺、中药以及针药结合方法分别对干眼兔模型泪液分泌及泪腺中乙酰胆碱含量的影响进行研究, 为针刺、中药治疗干眼机制提供依据。

1 材料和方法

1.1 试剂和仪器

1% 硫酸阿托品滴眼液 (复旦大学附属耳鼻喉科医院), Schirmer 试纸 (天津晶明新技术开发有限公司生产), 华佗牌一次性无菌针灸针 (0.30 mm × 25 mm, 苏州医疗器械厂), WQ1002 韩氏电针治疗仪, MKIII 酶标仪 (Thermo fisher 公司), 中药润目灵颗粒 (江阴天江药业有限公司), 乙酰胆碱 (Ach) 测试盒 (南京赛研生物技术有限公司)。

1.2 实验动物

健康纯种新西兰白兔 50 只 (南京青龙山动物养殖场, SCXK-苏 2012-0008), 雌雄各半, 月龄 3~4 月, 体质量 1.5~2.0 kg, 裂隙灯显微镜、眼底镜检查

收稿日期: 2014-06-12; 修稿日期: 2014-07-18

基金项目: 江苏省自然科学基金 (BK2012856); 国家自然科学基金 (81373746)

作者简介: 刘雪 (1990-), 女, 甘肃定西人, 南京中医药大学 2012 级硕士生。* 通信作者: gao-weiping@163.com

眼前节及眼底均无异常, Schirmer I 试验 ≥ 10 mm/5 min。随机筛选空白组、模型组、针刺组、中药组及针药组各 10 只。

1.3 动物模型制备

1% 硫酸阿托品滴眼液每日滴双眼 4 次(8:00、12:00、16:00、20:00)每次 1 滴, 直至实验结束共 17 d。滴药 3 d 后 Schirmer I 试验均值 < 5 mm/5 min, 干眼实验动物模型建立。

1.4 实验方法

①空白组: 不作任何治疗。

②模型组: 双眼滴 1% 硫酸阿托品滴眼液, 每日 4 次, 直至试验结束, 共 17 d。

③针刺组: 针刺同时双眼点阿托品眼液, 从 1% 硫酸阿托品滴眼液滴眼 3 d 后(即第 4 天)开始, 用针刺治疗, 穴位: 睛明、攒竹、丝竹空、太阳、瞳子髁, 穴位定位参照《实验针灸学》^[5]。睛明针尖向内下方斜刺入皮下 3 mm, 攒竹向下平刺 3 mm, 太阳直刺 3 mm, 瞳子髁直刺 3 mm, 均不行针, 留针 15 min。丝竹空透太阳, 每侧电针正极接攒竹, 无关电极接丝竹空, 选用 WQ1002 韩氏电针治疗仪, 采用疏密波, 频率 2 Hz/15 Hz, 脉冲宽度 0.5 ms, 强度 1 mA, 留针 15 min(见图 1)。均双侧针刺, 每日 1 次, 连续治疗 14 d。

④中药组: 从 1% 硫酸阿托品滴眼液滴眼 3 d 后(即第 4 天)开始, 用成人临床有效的等效量 2 倍剂量, 进行折算润目灵颗粒溶液灌胃(见图 1), 润目灵颗粒每袋剂量相当生药为鬼针草 30 g, 枸杞子 10 g, 菊花 6 g^[3], 由鬼针草、枸杞子、菊花水煮喷雾干燥制成速溶颗粒剂分装。每日 1 次, 连续治疗 14 d。同时双眼滴 1% 硫酸阿托品滴眼液。

⑤针药组: 针刺结合润目灵溶液灌胃, 同时双眼点阿托品滴眼液, 方法同针刺组、中药组, 针刺、润目灵治疗时间相隔 4 h 以上。

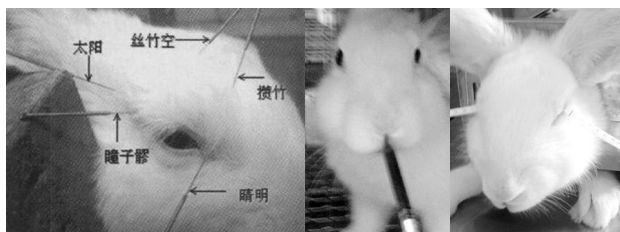


图 1 操作实验图

1.5 检测方法

1) Schirmer I 试验: 泪液检测滤纸条一端折叠放入下睑内 1/3 结膜囊内, 5 min 后取出滤纸, 从折

叠处测量其湿润长度。见图 1。

2) 泪腺组织中 Ach 含量检测: 用酶联免疫法测定 Ach 含量, 检查由同一人在同一环境中进行。采用空气栓塞法将兔处死后, 即刻在一侧眼眶颞上方泪腺窝内取出扁平的、不规则的长条形肉色腺体, 即泪腺, 生理盐水冲洗后称质量, 在冰浴中充分匀浆, 每个组织匀浆 5 min, 充分匀浆后加 300 μ L 生理盐水稀释, 4 $^{\circ}$ C 3 500 r/min 离心 3 min, 取上清液, 乙酰胆碱试剂盒检测, 酶标仪测定 Ach 含量^[6]。

1.6 观察时间

1) 针刺组、中药组、针药组分别在实验第 4、6、10、17 天行 Schirmer I 试验, 保留 Schirmer 试纸。模型组、正常组并随行检测, 5 组均在针前同一时段作眼部检查。

2) 针刺组、中药组、针药组分别实验第 10、17 天分别处死各组兔 5 只, 模型组、正常组并随行处死兔 5 只, 取泪腺组织检测 Ach 含量。检查由同一人在同一环境中进行。

1.7 统计学分析

采用 SPSS16.0 软件进行统计学分析, 采用重复测量方差分析法, 设定 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 5 组各时段泪液流量的比较

见表 1。结果表明针刺、中药以及针刺结合中药均可以明显提高干眼兔模型泪液分泌量。

2.2 5 组泪腺中乙酰胆碱的含量比较

见表 2。结果表明中药组、针刺组、针药组均可提高干眼兔模型泪腺中 Ach 的含量, 但针药组优于中药组、针刺组。

3 讨论

干眼是各种原因引起的泪液质和量或动力学的异常, 导致泪膜不稳定和眼表组织病变, 并伴有眼部不适症状为特征的一类疾病的总称。其中缺乏反射性泪液是常见原因之一^[7], 若眼表至泪腺神经反射通路出现问题, 泪液分泌减少, 形成水液缺乏性干眼。泪腺、副泪腺均存在神经支配, 以副交感神经为主^[8], 其神经终末主要含有乙酰胆碱(Ach)等神经递质, 当支配泪腺的胆碱能神经兴奋时, 其末梢释放 Ach, Ach 激动 M 型胆碱受体(M 受体), 产生效应^[9], 能够有力的刺激泪腺细胞分泌蛋白质、水和电解质, 促进泪液分泌。本实验正是试图通过针刺、中药以及针药结合的方法分别观察对于干眼兔模型泪液

分泌及泪腺中乙酰胆碱含量的影响,探讨针刺、中药 治疗干眼的作用机理。

表 1 5 组各时段泪液量比较($\bar{x} \pm s$, mm/5 min, $n=10$)

组别	实验前 1 天	实验第 4 天	实验第 6 天	实验第 10 天	实验第 17 天
空白组	11.30±1.80	12.20±2.66	15.95±2.50	14.30±2.50	14.70±1.57
模型组	11.95±1.28	4.20±2.08 *	4.95±1.17	4.75±1.00	4.60±0.89
中药组	11.55±1.92	3.95±1.12 *	8.05±3.45 #△	9.10±2.51 #△	10.20±2.66 #△
针刺组	12.35±1.92	4.00±1.18 *	6.85±3.00 #△	7.65±2.39 #△	9.30±1.79 #△
针药组	11.75±1.92	4.75±1.62 *	8.95±2.05 #△	10.15±2.83 #△	11.30±3.88 #△

注:与实验前 1 天比较, * $P<0.05$;与第 4 天比较, # $P<0.05$;与模型组比较, △ $P<0.05$ 。

表 2 5 组泪腺组织中 Ach 的含量
比较($\bar{x} \pm s$, nmol · L⁻¹, $n=5$)

组别	实验第 10 天	实验第 17 天
空白组	126.60±31.13	130.40±32.57
模型组	83.40±16.65 *	86.40±18.47 *
中药组	97.82±5.71	100.28±52.89
针刺组	112.16±31.63	137.48±39.24 △
针药组	168.08±56.97 △	156.40±17.53 △

注:与空白组比较, * $P<0.05$;与模型组比较, △ $P<0.05$ 。

本研究中的穴位以眼周穴位为主,可疏通眼部经络。根据多年的临床经验^[2],选取睛明、攒竹、丝竹空、太阳穴、瞳子髎等作为针刺穴位。睛明为足太阳经穴,为五脉之会,是治眼病要穴,可宣泄郁热,主治目疾;攒竹为膀胱经之穴,取之以资调眼部气血,滋阴清热;太阳为经外奇穴,主治目疾;瞳子髎为足少阳胆经头面部的第一穴,有祛风,泄热,明目之功效;丝竹空为手少阳之穴,主治目赤肿痛,该处布有面神经颧眶支及耳颞神经分支。各穴共奏滋阴清热的功效。润目灵是根据中医基础理论^[4],以养阴清热立法,筛选出鬼针草、枸杞子、菊花制成的中药口服颗粒制剂。方中主药为鬼针草清热散瘀;菊花归肺、肝经,可疏风散热、平肝明目;枸杞子归肝、肾经,可滋补肝肾,养阴明目,三药合用,共奏养阴润目,清热散瘀之功。

本研究结果显示:针刺、中药以及针刺结合中药均可以明显提高干眼兔模型泪液分泌量。在实验第 10、17 天,针药组泪腺中 Ach 的含量都明显高于模型组($P<0.05$),差异有统计学意义,针刺与润目灵结合能明显促进泪腺中乙酰胆碱含量,从而促进干眼泪液分泌。

参考文献:

[1] 魏立新,杨威,王宏才,等.针灸治疗干眼症 40 例临床观察[J].中国中医药信息杂志,2010, 17(5):65-66.
Wei LX, Yang W, Wang HC, et al.Clinical observation of acupuncture treating 40 cases of dry eye syndrome[J]. Chin J Inf Tradit Chin Med, 2010, 17(5): 65-66.

[2] 高卫萍,刘敏,张义彪.眼周针刺治疗干眼症疗效观察[J].中国针灸,2010, 30(6):478-480.
Gao WP, Liu M, Zhang YB.Observation of the curative effect of acupuncture treating dry eye syndrome[J]. Chin Acup Mox, 2010, 30(6): 478-480.

[3] 高卫萍,王育良,陆绵绵,等.润目灵治疗干眼病的临床研究[J].中国中医眼科杂志,1998, 8(3):30-32.
Gao WP, Wang YL, Lu MM, et al.Clinical research of Runmuling treating dry eye syndrome[J]. Chin J Chin Ophthalmol, 1998, 8(3): 30-32.

[4] 李凯,王育良,龚佳怡.润目灵联合针刺治疗水样液缺乏性干眼的临床研究[J].中国中医眼科杂志,2013, 23(3):165-168.
Li K, Wang YL, Gong JY.Clinical research of Runmuling combined with acupuncture treating dry eye syndrome[J]. Chin J Chin Ophthalmol, 2013, 23(3): 165-168.

[5] 李忠仁.实验针灸学[M].北京:中国中医药出版社,2003:314-319.
Li ZR. Experimental acupuncture[M]. Beijing: China medical science and technology press, 2003: 314-319.

[6] 高卫萍,张义彪,李桥.针刺对干眼兔模型泪液分泌及泪腺中乙酰胆碱含量的影响[J].新中医,2011, 43(3):134-136.
Gao WP, Zhang YB, Li Q.Effect of acupuncture on tear secretion and Acetylcholine content in dry eye rabbit model[J]. J New Chin Med, 2011, 43(3): 134-136.

[7] 刘祖国.眼表疾病学[M].北京:人民卫生出版社,2003:286-304.
Liu ZG. Ophthalmology[M]. Beijing: People's medical publishing house, 2003: 286-304.

[8] Ríos JD, Horikawa Y, Chen LL, et al. Age-dependent alterations in mouse exorbital lacrimal gland structure, innervation and secretory response[J]. Exp Eye Res, 2005, 80(4): 477-491.

[9] 周宏灏.药理学[M].北京:科学出版社,2008:46-53.
Zhou HH. Pharmacology[M].Beijing: Science press, 2008: 46-53.

(编辑:董宇)