

论 著

(基础研究)

电针联合丰富环境对糖尿病大鼠空间学习记忆能力的影响

唐明薇, 梅 希, 王风波

【摘要】 目的 观察电针联合丰富环境对糖尿病大鼠空间学习记忆能力改善的影响作用。 **方法** 40 只成年 Wistar 大鼠按随机数字表法分为空白组($n=8$)、非干预组($n=8$)、电针组($n=8$)、丰富环境组($n=8$)和电针联合丰富环境组($n=8$),除空白组外其他 4 组大鼠采用链脲佐菌素腹腔注射法制备糖尿病大鼠模型,并于模型制备成功次日开始电针干预及给予多感官刺激的丰富环境,所有大鼠于干预第 4 周进行 Morris 水迷宫空间学习记忆能力测验。 **结果** 与非干预组[(51.74±0.59)s]比较,电针组、丰富环境组、电针联合丰富环境组逃避潜伏期均显著缩短[(16.26±0.48)s、(15.41±0.87)s、(12.75±0.49)s, $P<0.01$];电针联合丰富环境组逃避潜伏期较电针组、丰富环境组大鼠缩短更明显($P<0.05$)。与非干预组[(2.83±0.27)次]比较,电针组、丰富环境组、电针联合丰富环境组平台穿越次数均明显增加[(5.75±0.66)次、(6.35±0.44)次、(8.73±0.68)次, $P<0.01$];电针联合丰富环境组穿越次数多于电针组及丰富环境组($P<0.05$)。 **结论** 电针联合丰富环境能显著改善糖尿病大鼠空间学习记忆能力,且优于单纯电针或丰富环境,提示电针联合丰富环境刺激更有利于糖尿病患者早期认知功能障碍的康复治疗。

【关键词】 电针;丰富环境;糖尿病;学习;记忆**【中图分类号】** R587.2**【文献标志码】** A**【文章编号】** 1672-271X(2019)01-0017-04**【DOI】** 10.3969/j.issn.1672-271X.2019.01.004

Effect of electroacupuncture combined with rich environment on spatial learning and memory ability of diabetic rats

TANG Ming-wei¹, MEI Xi¹, WANG Feng-bo²

(1. Department of Endocrinology, 2. Department of Rehabilitation, the First Affiliated Hospital of Chengdu Medical College, Chengdu 610500, Sichuan, China)

【Abstract】 Objective To observe the effect of electroacupuncture combined with rich environment on the improvement of spatial learning and memory ability of diabetic rats. **Methods** Forty adult wistar rats were divided into blank group($n=8$), non intervention group($n=8$), electroacupuncture group($n=8$), enriched environment group($n=8$) and electroacupuncture combined with enriched environment group($n=8$) by the random number table method. Diabetic rat model was established by intraperitoneal injection of streptozotocin in four groups except blank group. environment the following day after the preparation of diabetes model. After 4 weeks of intervention, all rats were used to detect spatial learning and memory ability by Morris water maze. **Results** Compared with non intervention group[(51.74±0.59)s], the escape latency of the rats in the electroacupuncture group, the rich environment group and the electroacupuncture combined with the rich environment group were significantly shortened [(16.26±0.48)s, (15.41±0.87)s, (12.75±0.49)s, $P<0.01$]. Inter group comparison, the escape latency of the electroacupuncture combined with enriched environment group was better than the electroacupuncture group or the enriched environment group ($P<0.05$). Compared with non intervention group(2.83±0.27), the traversing platform times of the rats in the electroacupuncture group, the rich environment group and the electroacupuncture combined with the rich environment group were significantly increased [(5.75±0.66), (6.35±0.44), (8.73±0.68), $P<0.01$]. Inter group comparison, the traversing platform times of the electroacupuncture combined with enriched environment group was more frequently than that in the electroacupuncture group or the enriched environment group ($P<0.05$). **Conclusion** Electroacupuncture

combined with rich environment can significantly improve the spatial learning and memory ability of diabetic rats, and it is superior to pure electroacupuncture or rich environment. The combination of electroacupuncture and environmental

作者单位: 610500 成都, 成都医学院第一附属医院内分泌科(唐明薇、梅 希), 康复医学科(王风波)

通信作者: 王风波, E-mail: 251205687@qq.com

stimulation are beneficial to the rehabilitation therapy of early cognitive dysfunction in diabetic patients.

[Key words] electroacupuncture; rich environment; diabetes; learning; memory

0 引言

糖尿病对认知功能的损害近年来逐渐受到重视,调查显示,存在认知功能障碍的糖尿病患者人数呈逐年上升趋势^[1-2]。目前普遍认为,糖尿病是认知障碍的独立危险因素,糖尿病患者血管性痴呆发病率是普通人群的 2.5 倍,糖尿病脑病理改变又与阿尔茨海默病有类似之处,如脑萎缩、活性氧聚积、氧化反应、神经细胞凋亡等,因此,糖尿病患者可能亦是阿尔茨海默病的易感人群^[3]。针刺治疗糖尿病在我国历史悠久,WHO 也已将针刺认定为糖尿病的临床疗法之一^[4]。丰富环境是指相对于标准环境更加复杂的生存和社会交往环境,多感官刺激的丰富环境是治疗脑损伤和血管性痴呆的有效方法,可促进运动及社交能力发展,改善注意力及学习能力,促进中枢神经系统可塑性改变^[5]。本研究通过对糖尿病模型大鼠进行电针联合丰富环境干预方式,观察及分析电针联合丰富环境对糖尿病大鼠早期认知功能障碍的空间学习记忆能力的影响作用,以进一步探讨对糖尿病患者认知功能障碍更为有效的康复治疗方法。

1 材料与方法

1.1 材料及主要设备 40 只成年雄性清洁级 Wistar 大鼠[成都医学院动物实验中心提供,合格证号:SYXK(川)2015-196],体重 260~300 g;血糖仪(Roche);链脲佐菌素(Sigma);Morris 水迷宫及记录分析系统(上海吉量软件科技);电针仪(华佗牌)。

1.2 分组及糖尿病模型制备 所有大鼠于 24℃ 左右室温适应性饲养 1 周后按随机数字表法分为空白组($n=8$)、非干预组($n=8$)、电针组($n=8$)、丰富环境组($n=8$)和电针联合丰富环境组($n=8$),除空白组外其他 4 组大鼠采用链脲佐菌素腹腔注射法制备糖尿病大鼠模型^[6];经 Morris 水迷宫实验确认大鼠无认知功能障碍,并测得尾静脉血空腹血糖 3.5~5.5 mmol/L,大鼠禁食 12 h 后一次性腹腔注射 0.1 mol/L 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液稀释的链脲佐菌素 50 mg/kg,注射 3 d 后测得随机血糖 ≥ 16.7 mmol/L,且连续 2 周随机血糖 ≥ 16.7 mmol/L 示模型制备成功。糖尿病模型大鼠成模次日行 Morris 水迷宫认知功能测验。

1.3 电针干预 电针组及电针联合丰富环境组大鼠于 Morris 水迷宫认知功能测验后次日开始电针干预,参照《实验针灸学》及曹昂焱等^[7]方法,取百会、

神庭及双侧肾俞穴,均连接电针仪,设置为疏密波,频率 3~5 Hz,以大鼠头颈部肌肉轻微抖动为宜,15 min/次,1 次/d,共 4 周。

1.4 丰富环境刺激 丰富环境组及电针联合丰富环境组大鼠于 Morris 水迷宫认知功能测验后次日开始丰富环境刺激,设置有转盘、秋千、爬梯、小球、管道、阶梯、玩具等,配合彩色小灯及轻音乐刺激,2 h/次,每周更换环境 2 次以保持多感官刺激,共 4 周。

1.5 Morris 水迷宫认知功能测验 全部大鼠于干预前及干预 4 周后行 Morris 水迷宫实验^[8]:①定位航行,考察大鼠空间学习能力,连续训练 3 d,第 4 天记录 90 s 内大鼠从入水至寻找到平台所需的时间,为逃避潜伏期;②空间探索,考察大鼠记忆能力,即第 5 天随机入水点将大鼠面壁置于水池,记录大鼠 90 s 内穿越虚拟平台的次数。

1.6 统计学分析 采用 SPSS 19.0 软件,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,2 组间均数比较用 t 检验,多组间均数比较用 q 检验,非正态分布和方差不齐时秩和检验。以 $P\leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况及血糖比较 造模成功后糖尿病模型大鼠出现多饮、多食、多尿“三多”现象,反应迟缓,皮毛光泽度下降,随着干预进程,电针组、丰富环境组、电针联合丰富环境组大鼠逐步改善。与空白组比较,非干预组、电针组、丰富环境组、电针联合丰富环境组大鼠干预前及干预第 4 周血糖显著升高($P<0.01$);与非干预组比较,电针组、丰富环境组、电针联合丰富环境组大鼠干预第 4 周血糖均明显降低($P<0.01$);电针联合丰富环境组大鼠血糖改善情况优于电针组、丰富环境组大鼠($P<0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠血糖情况比较($\bar{x}\pm s$, mmol/L)

组别	n	干预前	干预后第 4 周
空白组	8	5.76 \pm 0.59	5.68 \pm 0.32
非干预组	8	23.71 \pm 0.28*	25.65 \pm 0.43*
电针组	8	22.82 \pm 0.46*	13.58 \pm 0.67** Δ
丰富环境组	8	23.27 \pm 0.65*	12.79 \pm 0.18** Δ
电针联合丰富环境组	8	23.14 \pm 0.55*	10.26 \pm 0.41*#

与空白组比较,* $P<0.01$;与非干预组比较,# $P<0.01$;

与电针联合丰富环境组比较, $\Delta P<0.05$

2.2 Morris 水迷宫空间学习记忆能力测验情况 与空白组逃避潜伏期比较,非干预组大鼠明显延长

($P<0.01$);与非干预组比较,电针组、丰富环境组、电针联合丰富环境组大鼠均显著缩短($P<0.01$);多组间比较,电针联合丰富环境组逃避潜伏期较电针组、丰富环境组大鼠缩短更明显($P<0.05$),见表 2。与空白组比较,非干预组大鼠第 4 周穿越平台次数显著减少($P<0.01$);与非干预组比较,电针组、丰富环境组、电针联合丰富环境组大鼠干预第 4 周均明显增加($P<0.01$);干预第 4 周多组间比较,电针联合丰富环境组穿越平台次数多于电针组、丰富环境组大鼠($P<0.05$),见表 3。

表 2 各组大鼠逃避潜伏期比较($\bar{x}\pm s$,s)

组别	n	干预前	干预后第 4 周
空白组	8	12.35±0.58	11.25±0.64
非干预组	8	49.33±0.61*	51.74±0.59*
电针组	8	47.47±0.15*	16.26±0.48# [△]
丰富环境组	8	50.22±0.36*	15.41±0.87# [△]
电针联合丰富环境组	8	48.93±0.75*	12.75±0.49#

与空白组比较,* $P<0.01$;与非干预组比较,# $P<0.01$;
与电针联合丰富环境组比较, $\Delta P<0.05$

表 3 各组大鼠穿越平台次数比较($\bar{x}\pm s$,次)

组别	n	干预前	第 4 周
空白组	8	8.45±0.35	9.17±0.42
非干预组	8	1.32±0.45*	2.83±0.27*
电针组	8	1.29±0.52*	5.75±0.66# [△]
丰富环境组	8	1.63±0.18*	6.35±0.44# [△]
电针联合丰富环境组	8	1.79±0.26*	8.73±0.68#

与空白组比较,* $P<0.01$;与非干预组比较,# $P<0.01$;
与电针联合丰富环境组比较, $\Delta P<0.05$

3 讨 论

糖尿病认知功能障碍主要表现为学习、记忆、判断、理解等能力不同程度减退,并伴有情绪及行为上的异常改变,严重者甚至失去生活自理能力,不同糖尿病患者的认知功能障碍可能存在临床表现的异同,但大部分患者均以学习记忆力下降为主要特点^[9]。研究发现糖尿病模型大鼠脑血管、胶质细胞异常改变,海马区神经元超微结构退变^[10]。2 型糖尿病伴认知功能障碍患者颅脑核磁共振显示脑实质体积减小,密度下降,脑回沟加深,随着病程延长,脑萎缩状况可持续进展,且双侧海马区的萎缩相对明显,同时伴有糖尿病肾病和视网膜病变的患者脑萎缩改变及认知功能障碍更为明显^[11]。糖

尿病认知功能障碍的发病机制较为复杂,以下因素可能参与其中:①慢性糖代谢及胰岛素信号通路异常,血脂紊乱,脑血管病变,中枢神经细胞生长、分化及能量代谢障碍;②脑细胞凋亡,神经可塑性功能受损;③炎症反应及各类炎性因子表达的增高;④遗传、自身免疫、氧化应激、低血糖等^[12]。糖尿病认知功能障碍患者还与受教育程度、生活习惯、年龄、性别及情绪状态等有关。患者高血糖、胰岛素抵抗、遗传及年龄被认为是糖尿病认知功能障碍的独立危险因素^[13]。

近年来针刺疗法治疗认知功能障碍取得了一些临床研究成果,有学者用“智七针”电针疗法治疗非痴呆型血管性认知功能障碍,患者蒙特利尔认知评价(MoCA)整体疗效及简易精神状态检测量表(MMSE)比较均明显优于对照组,注意力、学习记忆力、思维及判断力等不同程度改善^[14]。王慧灵等^[15]采用电针百会、足三里诸穴治疗脑卒中患者认知功能障碍,患者 MMSE 和日常生活活动能力评分均明显提高,认知功能及生活自理能力均获得了改善。徐建国等^[16]采用电针治疗遗忘型轻度认知功能障碍,治疗对象排除血管性痴呆、阿尔茨海默病、帕金森病等器质性脑部病变,取百会、神庭、风池、神聪等穴,治疗组患者 MMSE、MoCA 及画钟测验(CDT)评分均高于尼莫地平对照组。基础研究方面,有研究显示电针百会、神庭穴干预脑缺血再灌注大鼠连续 7 d,大鼠神经行为学 Longa 评分降低,Barnes 迷宫测试成绩提高,电镜显示与模型组大鼠相比,电针组大鼠脑海马区神经突触结构、数量及囊泡改善,提示电针百会、神庭穴能有效改善缺血性脑损伤大鼠脑超微结构及学习记忆能力,其改善作用可能与中枢神经突触的可塑性提高有关^[17]。李晓洁等^[18]采用电针取穴大脑中动脉闭塞模型大鼠神庭、百会,同样连续干预 7 d,Morris 水迷宫测验显示电针组较模型组大鼠逃避潜伏期缩短,通过平台次数增多,同时电针组大鼠缺血侧海马区磷酸化环磷腺苷效应元件结合蛋白(p-CREB)及脑源性神经营养因子(BDNF)表达均较模型组增加,提示电针改善脑损伤大鼠认知功能与神经营养因子表达升高可能具有正相关性。针刺治疗糖尿病历史悠久,近年的大量临床研究证实了针刺疗法具有降血糖、改善胰岛素抵抗及防治糖尿病性周围神经病变等治疗作用,但对糖尿病认知功能障碍治疗作用的

相关研究及报道甚少查及。

丰富环境集合多感官刺激为一体,是治疗脑损伤后认知功能障碍和血管性痴呆的有效方法。有学者对颅脑外伤模型大鼠进行丰富环境干预,连续 11 d 后行 Morris 水迷宫测验大鼠认知功能,结果显示丰富环境组大鼠学习记忆能力较对照组显著改善,同时显微镜下大脑形态学显示丰富环境组大鼠海马区脑细胞凋亡水平较对照组明显降低^[19]。林俏明等^[20]用丰富环境刺激干预血管性痴呆模型大鼠,发现丰富环境组大鼠认知功能较模型组明显改善,脑组织 BDNF 表达水平升高。目前尚未见到丰富环境刺激对糖尿病认知功能障碍大鼠影响作用的相关报道。基于上述研究背景及提高糖尿病患者认知功能障碍临床治疗效果的迫切需要,本实验采用电针“百会、神庭、肾俞”穴联合丰富环境刺激的中西医结合方案对糖尿病认知功能障碍大鼠进行康复干预, Morris 水迷宫实验检测结果显示,电针组、丰富环境组、电针联合丰富环境组大鼠空间学习及记忆能力较非干预组均明显改善,且电针联合丰富环境组大鼠学习记忆能力及血糖水平的改善作用明显优于电针组和丰富环境组,其改善糖尿病大鼠认知功能的优势可能为集合了电针与丰富环境刺激治疗特点于一体,两者相互配合,产生了有效的协调治疗作用。目前在糖尿病大鼠认知功能障碍针刺及环境干预方面尚处于探索阶段,本实验首次将电针联合丰富环境的康复体系运用到糖尿病模型大鼠认知功能障碍的治疗,极大地拓展了治疗方法和思维,为糖尿病认知功能障碍患者的康复治疗思路制定提供理论依据。

[参考文献]

- [1] Kimura N. Diabetes Mellitus Induces Alzheimer's Disease Pathology: Histopathological Evidence from Animal Models[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(4): 503-508.
- [2] 潘玉萍,李树德,邹英鹰. NF- κ B 及其相关因子与糖尿病认知功能障碍关系的研究进展[J]. *医学研究生学报*, 2016, 29(7): 754-758.
- [3] Assar ME, Angulo J, Rodríguez-Mañas L. Diabetes and ageing-induced vascular inflammation[J]. *J Physiol*, 2015, 594(8): 2125-2146.
- [4] 中华医学会糖尿病学分会.中国 2 型糖尿病防治指南(2013 版)[J]. *中国糖尿病杂志*, 2014, 22(8): 2-38.
- [5] 王风波,唐明薇,王琼芬,等.丰富康复训练对脑出血大鼠 Sli2 表达的影响[J]. *中国老年学*, 2016, 8(36): 3886-3888.
- [6] 汪峰,何玉,刘宓,等.糖尿病认知功能障碍大鼠模型的建立及其认知功能障碍观察[J]. *重庆医学*, 2015, 44(16): 2234-2236.
- [7] 曹昂焱,李瑞,田环环,等.电针大鼠背俞穴降糖作用的实验研究[J]. *中国针灸*, 2016, 36(12): 1283-1287.
- [8] 胡志红,闫君宝,杨东伟.游泳训练次数对大鼠 Morris 水迷宫成绩的影响[J]. *山西医科大学学报*, 2016, 47(1): 18-21.
- [9] 汤学勤,张艳峰,赵红梅,等.高龄 2 型糖尿病合并缺血性脑血管病患者的临床特征分析[J]. *东南国防医药*, 2015, 17(5): 499-501.
- [10] 宋军营,贾亚泉,吕靖,等.糖尿病对大鼠脑组织超微结构及微血管内皮相关因子表达的影响[J]. *中国糖尿病杂志*, 2016, 24(10): 940-944.
- [11] Li W, Risacher SL, Huang E, et al. Type 2 diabetes mellitus is associated with brain atrophy and hypometabolism in the ADNI cohort[J]. *Neurology*, 2016, 87(6): 595-600.
- [12] 贺钰梅,汪丽丽,韩秀平,等.2 型糖尿病患者合并认知功能障碍的危险因素分析[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2016, 19(18): 80-82.
- [13] 高晓斐,张静,毛黎黎,等.醒脑益智剂对 2 型糖尿病轻度认知功能障碍小鼠的影响及机制研究[J]. *医学研究生学报*, 2016, 29(8): 796-800.
- [14] 廖穆熙,董楠楠,陈振虎.电针“智七针”对非痴呆型血管性认患者临床疗效的影响[J]. *针灸临床杂志*, 2016, 32(3): 46-48.
- [15] 王慧灵,冯晓东,陈卓.电针百会、足三里穴结合康复训练治疗脑卒中后认知障碍的临床疗效[J]. *中医临床研究*, 2017, 9(5): 67-69.
- [16] 徐建国,彭从斌.电针治疗遗忘型轻度认知功能障碍的临床研究[J]. *中华全科医学*, 2017, 15(3): 393-396.
- [17] 宋长明,黄佳,林冰冰.电针百会、神庭穴对脑缺血再灌注大鼠学习记忆能力及海马 CA1 区突触超微结构的影响[J]. *中国康复理论与实践*, 2017, 23(7): 750-755.
- [18] 李晓洁,俞坤强,赵从快,等.电针神庭、百会对大鼠中动脉闭塞大鼠学习记忆的影响及机制研究[J]. *中国康复医学杂志*, 2017, 32(8): 869-873.
- [19] 方杰,罗爱华,潘翠环,等.丰富环境对颅脑外伤大鼠学习记忆及海马神经元凋亡的影响[J]. *中国康复医学杂志*, 2015, 30(2): 117-121.
- [20] 林俏明,范玉华,李妙嫦.丰富环境对血管性痴呆大鼠学习记忆和海马区 BDNF、TrkB 表达的影响[J]. *广东医学*, 2015, 33(2): 147-150.

(收稿日期:2018-04-07; 修回日期:2018-05-13)

(责任编辑:叶华珍; 英文编辑:朱一超)