

针灸治疗失眠实验研究进展^{*}

何华香¹ 王 好^{2**} 赵仓焕² 郭尚函¹ 林炎龙¹

(1. 暨南大学医学院中医系, 广东 广州 510630; 2. 暨南大学附属第一医院, 广东 广州 510630)

摘 要:通过对针灸治疗失眠动物研究的有关文献进行搜集、整理,按照动物模型制作、针灸作用机理、刺灸法、选穴进行分类总结和分析,动物模型的建立方法常用的有强迫运动法、刺激法、平台睡眠剥夺法、PCPA 法等;实验研究从不同方面在一定程度上阐述了针灸治疗失眠的机理,刺灸法及穴位选择的研究对临床治疗有一定的指导作用。随着现代分子生物学和分子免疫学的不断发展,今后针灸治疗失眠的动物实验还有待更深入的研究。

关键词:针灸;失眠;动物实验研究;综述
中图分类号:R245 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-0571(2014)06-0085-04

失眠,中医学称为“不寐”,古代文献中亦称为“目不瞑”“不得眠”等,是因为阳不入阴所引起的经常不能获得正常睡眠为特征的病征。针灸治疗在临床中广泛运用,其治疗失眠是安全有效的^[1]。用动物模型实验研究阐明针灸疗效的作用机制是学科发展和中医科研的必然要求,现将有关针灸治疗失眠动物实验研究文献综述如下。

1 动物模型制作

1.1 强迫运动法 比较有代表性的是水平转盘睡眠剥夺法、旋转圆筒睡眠剥夺法、间断跑台睡眠剥夺法。其共同的特点是强迫动物不停地运动,使其无法入睡,从而失眠。此方法较易掌握,重复性较好,但须实验人员随时观察,工作强度较大。运动性失眠睡眠剥夺效果明显,根据“过劳伤气”的理论,中医辨证认为其主要属于劳倦伤气^[2]。

1.2 刺激法 主要是利用触觉、声音或光线等物理刺激,使动物无法进入睡眠达到睡眠剥夺目的。可通过不定时的拍打笼具、电刺激、播放声音刺激,甚至是用手触摸,使动物保持清醒。此法对动物的刺激强度小,产生的应激反应也较小,可建立慢性不完全性睡眠剥夺模型。此法虽然操作简单,但工作量巨大,耗时长,不适合长时间造模。

1.3 平台睡眠剥夺技术 有单平台睡眠剥夺法、

多平台睡眠剥夺法、改良多平台睡眠剥夺法。其原理是由于大鼠进入快速动眼睡眠 REM 时,全身骨骼肌张力降低,躯体失去平衡低头触水惊醒而无法入睡,达到睡眠剥夺目的。此类实验会让动物受到制动、浸水等一系列刺激从而使机体产生过强的应激反应,会对实验结果造成较大的干扰。

1.4 PCPA 法 将 PCPA 用弱碱性生理盐水配置成浓度为(45 mg/100 g)的混悬液,按 1 mL/100 g 用量对大鼠进行腹腔注射,1 次/d,连续注射 2 d 即可制作成大鼠失眠模型。PCPA 可抑制色氨酸羟化酶(TDH)合成,从而减少 5-羟色胺(5-HT)的合成,5-HT 是引发非快动眼睡眠(NREMS)的重要递质,其合成减少可达到睡眠剥夺目的。此方法具有良好的可重复性,操作简单、成功率高,是较为常用的失眠动物模型的复制方法。通过以方测定判断中医疾病证型的方法,其与中医心肾不交模型病证相似^[3]。

1.5 其他药物睡眠剥夺方法 给大鼠注射 5-羟色胺受体拮抗剂 SB2269970、咖啡因、硒化物等也可剥夺部分或全部睡眠。因大鼠存在个体差异,睡眠剥夺的效果及程度及不易掌握。

2 针灸治疗失眠的作用机制

失眠的发病因素和机理至今仍不太明确,现

^{*} 基金项目:广东省科技厅立项资助项目(NO. 2011B061300170);广东省中医药局立项课题(NO. 20112110)
^{**} 通讯作者:王好

代医学认为失眠是人的大脑睡眠中枢与觉醒中枢的协同作用失调所致,与脑内神经递质的动态变化密切相关,免疫系统则通过释放细胞因子参与调节和影响睡眠。目前动物实验研究主要通过观察针灸治疗对动物行为学、神经电生理、单胺类神经递质、氨基酸、免疫系统的作用影响,来探索性研究针灸治疗失眠的作用机制。

2.1 对行为学的作用 程少冰^[4]报道,随着睡眠剥夺造模时间的延长,动物兴奋性提高,甚至躁狂。表现为活动增多,易受惊吓(抓取时反抗并咬人),烦躁不安,食量减少,精神萎靡,反应迟钝。探究行为和攻击性增强,对环境刺激的警觉性和进攻行为也增加。而针刺治疗后的大鼠无明显反应迟钝和警觉力下降表现,精神比较稳定。说明针灸在行为学上可以改善失眠大鼠的认知能力,缓解大鼠的紧张程度,有镇静催眠的效果。

2.2 对神经电生理的作用 脑电是大脑的自发性生物电位,是大脑神经元突触后电位的综合,可反应脑组织功能状态。根据人在睡眠过程中的脑电变化特征,可将睡眠分为非快速眼球运动睡眠(REMs)和快速眼球运动睡眠(NREMS),在睡眠各期中SWS和REMs最为重要。睡眠剥夺可引起中枢神经系统电生理改变,所以脑电图现在是失眠症诊断和疗效评定的客观指标,是睡眠研究的重要手段之一。白研等^[5]用脑电图观察针刺后戊巴比妥钠所致大鼠的睡眠时相,发现电针是通过延长SWS2期来延长睡眠时间。提示电针通过增加慢波睡眠,提高慢波睡眠在总睡眠时间中所占的比例,改善睡眠结构来促进睡眠并改善睡眠质量。

2.3 对单胺类神经递质的影响 睡眠剥夺可引起中枢神经系统生化改变,导致单胺类神经递质如5-羟色胺(5-HT)、去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)等发生紊乱。赵仓焕^[6]、吴北峰^[7]、徐先伟^[8]、余军^[9]等通过荧光分光光度测定法测定大鼠下丘脑单胺类神经递质,发现与模型组比较针灸能使睡眠剥夺大鼠脑内5-HT、5-HIAA、5-HT1A、5-HT2A的含量升高,NE、DA的含量降低。提示针灸可能通过恢复5-HT与NE通路之间的相互平衡和制约,调节睡眠觉醒周期,实现其增加

睡眠,提高睡眠质量的作用。

2.4 对氨基酸类神经递质的影响 GLU和GABA是脑内最重要的氨基酸类神经递质,对神经元的活动及相互联系具有兴奋性及抑制性调控作用。睡眠剥夺导致大鼠脑组织氨基酸类神经递质含量及比例的改变,是睡眠剥夺过程的神经生物学机制之一^[10]。李裕和^[11]、周艳丽^[12]等用免疫组织化学法检测大鼠下丘脑的GLU、GABA、GABAA阳性细胞数,针刺能使睡眠剥夺大鼠脑内GLU、GABA、GABAA受体含量下降,增强中枢抑制作用,安神镇静而治疗失眠。

2.5 对免疫系统的影响 免疫细胞因子具有广泛的生物效应,IL-1 β 、IL-2、IL-6、TNF- α 等是比较常用于睡眠研究的细胞因子,能调节和影响睡眠。睡眠剥夺会导致下丘脑-垂体功能及细胞因子新陈代谢的改变,即睡眠与免疫系统存在着密切的关系。王雪梅等^[13]观察针刺四神聪对睡眠节律紊乱模型小鼠免疫功能的影响,结果显示针刺能显著提高胸腺、脾脏指数、血白细胞数。赵仓焕、宋媛^[14-15]、任莉^[16]、伦新^[17]等研究发现,针灸能使PCPA所致失眠大鼠免疫细胞因子IL-1 β 、IL-2、IL-6、TNF- α 含量升高,即针灸可以通过调节紊乱的免疫细胞因子来达到改善睡眠的目的。

2.6 其他 赵仓焕^[14]、吴北峰^[7]、王雪梅^[13]等研究发现针灸能使睡眠剥夺大鼠脑内NO、NOS、SOD的含量降低,CCK8含量升高,结果显示针灸能通过恢复CCK8与NO通路之间的平衡减轻睡眠剥夺大鼠的氧化应激反应,减少睡眠剥夺大鼠神经毒性作用。增强脑组织SOD活性从而延缓免疫器官萎缩、增强免疫功能。李裕和、张林挺等^[18-19]对运动性失眠大鼠进行针刺治疗的研究发现,针刺疗法可能是通过提升大鼠大脑内NGF含量,降低c-fos、c-jun的表达,来保护大脑,治疗运动性失眠。

3 针灸法的运用

3.1 针灸方法 相关针灸法的研究包括了体针、项针、艾灸、激光穴位照射、穴位敷贴等临床常用的治疗方法,但耳穴、皮内针、穴位埋线等还没有相关的动物实验研究。

赵仓焕、宋媛等^[14-15]报道艾灸能使下丘脑5-

HT、5-HIAA 含量升高,NE 和 DA 含量降低,IL- β 、TNF- α 、IL-6 明显升高,还降低下丘脑 NOS 的含量,抑制 NO 的合成,结果显示艾灸具有镇静催眠作用。周鹏等^[6]观察激光穴位照射治疗失眠的机制,结果显示激光穴位照射可通过升高失眠大鼠下丘脑 5-HT、5-HIAA,降低 NE、DA 来达到治疗失眠目的。刘改莲^[20]观察中药穴位敷贴对失眠大鼠下丘脑单胺类递质和 IL- β 的影响,结果显示:中药穴位敷贴能调节下丘脑 5-HT、5-HIAA、DA、NA、IL- β 等而改善睡眠,具有镇静催眠作用。张殿全等^[21]观察针刺四神聪穴对失眠大鼠下丘脑内 5-HT 和 5-HIAA 含量的变化,并对手针组和电针组进行比较,结果显示电针作用较为明显。吴北峰^[9]、张晓梅等^[22]探讨电项针对失眠大鼠促眠作用实验研究,结果显示电项针可多靶点、多层次、多环节、多途径的综合协调,作用于失衡的神经—内分泌—免疫网络,以达到调节睡眠、恢复正常睡眠—觉醒节律的作用。

3.2 量效关系 刺激量效关系的研究涉及了留针时间、单次刺激效应持续时间、刺激量的积累、刺激强度、及治疗间隔时间,对临床有较好的指导治疗作用。

赵仓焕等^[14]观察不同灸量麦粒灸对对氯苯丙氨酸(PCPA)所致失眠大鼠下丘脑一氧化氮(NO)、一氧化氮合酶(NOS)的影响。结果显示麦粒灸 5 壮比麦粒灸 3 壮、10 壮镇静催眠作用更好。说明麦粒灸的镇静催眠作用与灸量的累积有关,但过度的增加灸量不一定能提高疗效。姜莉^[23]研究不同留针时间失眠大鼠的催眠作用及其机制,实验结果提示电针 20 min 治疗失眠作用优于 10 min、30 min。兰妮^[24]、徐拥建^[25]通过观察失眠大鼠单次电针及不同间隔时间电针对下丘脑单胺类和氨基酸类递质的含量,探讨电针镇静催眠作用后效应随时间延续的变化,结论提示临床上电针治疗失眠间隔 6-12 h 效果更佳。刘祖丽等^[26]观察不同强度电针对睡眠节律紊乱大鼠下丘脑 GABA 和 GABAAR 的影响,探讨效应差异,结果表明 2 V 电针刺激效果优于 1 V 电针刺激。程少冰等^[27]观察针刺对不同时段睡眠剥夺大鼠模型行为学及 TNF- α 含量的影响,结果显示针刺后大鼠血

浆 TNF- α 含量整体呈升高趋势,其中针刺 72 h 组和 120 h 组的含量明显升高,说明治疗时间越长,效果越明显。

4 选穴配伍

在选穴方面有涉及到单穴的应用,亦有对穴位配伍的探索,但对穴位的特异性的研究相对较少。

任莉^[28]观察不同穴位处方电针对 PCPA 所致失眠大鼠下丘脑单胺类神经递质 5-HT、5-HIAA、DA、NE 及 IL- β 、TNF- α 、IL-6 含量的影响,结果提示穴位的特异性作用,三阴交和神门有良好的安神促眠作用,对失眠可能具有良好的预防作用,可作为临床治疗失眠的首选穴位。胡金凤、^[29]邵丹等^[30]观察针刺五脏俞穴对失眠大鼠脑内细胞因子及单胺类神经递质的影响,发现针刺五脏俞穴对失眠大鼠下丘脑单胺类神经递质紊乱的调节显著,针刺五脏俞穴是治疗失眠症的一种有效方法。高希言等^[31]研究针刺四神聪对睡眠紊乱模型小鼠生理功能的影响,针刺四神聪和足三里均可改善睡眠节律紊乱小鼠的一般生存状态、睡眠节律、睡眠质量,可显著提高小鼠脑组织 NOS 活性及 NO 含量,但四神聪组优于足三里组。

5 结语

失眠的发病因素和机理至今仍不太明确,治疗上主要是服用镇静剂,不但有各种副作用还可能诱发药物依赖。针灸疗法作为中国传统医学的重要部分治疗失眠具有安全可靠的疗效,得到广大人民群众的喜悦,但没有统一标准的治疗方案和疗效评价机制。这些年针灸治疗失眠动物实验研究,证明针灸治疗失眠确实有效,并从很多方面阐述了治疗的作用机制。对刺灸法及穴位选择的研究也对临床治疗有一定的指导作用,但仍有待更深入的研究。笔者以为可从如下几方面考量:(1)开发与中医辨证分型相适应的新失眠动物模型,这样就能更好地研究穴位特异性,探讨最佳用穴及不同证型的最佳穴位处方。(2)以客观实验指标为依据,对不同的针灸治疗方法及其综合疗法进行比较,从而选择最佳治疗方案。(3)深入探讨刺灸法的量学要素对治疗效果的影响,筛选最佳组合。(4)近年来现代医学对失眠发病机理的

研究已经逐步深入到了分子生物学、细胞因子、基因水平,我们应充分利用最新的研究方法和技术,在更深广的层面上揭示针灸治疗失眠的作用机理,从而更有效地指导临床实践。

参考文献

- [1] 刘维红,刘涛.国内文献有关针灸治疗失眠症疗效的循证医学评价[J].上海针灸杂志,2009,28(8):486-489.
- [2] 石幼琪,朱克俭,周志宏,等.劳倦伤气型运动性失眠辨证标准探析[J].中国运动医学杂志,2004,23(6):5-7.
- [3] 全世建,林杏娥,刘妮.PCPA 大鼠失眠模型的证候属性研究[J].中医药学刊,2006,24(3):450-1.
- [4] 程少冰,张毅敏,唐纯志,等.针刺对不同时段睡眠剥夺大鼠模型行为学及 TNF- α 含量的影响[J].中国老年学杂志,2012,32(1):77-79.
- [5] 白妍,张倩,东红升,东贵荣.电针太阳、印堂穴对戊巴比妥钠所致大鼠睡眠脑电活动的影响[J].针灸临床杂志,2006,22(2):36-37,56.
- [6] 周鹏,赵仓焕,马晓明,等.激光穴位照射对失眠大鼠下丘脑单胺类递质的影响[J].中国临床保健杂志,2012,15(1):50-52.
- [7] 吴北峰.电项针对大鼠睡眠剥夺及其诱发氧化应激反应影响机制的实验研究[D].黑龙江:黑龙江中医药大学,2008:63-77.
- [8] 徐先伟.针刺四神聪对大鼠脑电及血浆中 NE、DA 影响的实验研究[D].黑龙江:黑龙江中医药大学,2007:40.
- [9] 余军.针刺神聪穴对失眠大鼠脑干网状结构单胺类递质调控机制的研究[D].黑龙江:黑龙江中医药大学,2007:81-82.
- [10] 王升旭,李求实.睡眠剥夺对大鼠脑组织氨基酸类神经递质含量的影响[J].第一军医大学学报,2002,22(10):888-890.
- [11] 李裕和,张林挺.针刺对运动性失眠大鼠大脑内一氧化氮及谷氨酸含量的影响[J].河南中医,2009,29(6):554-556.
- [12] 周艳丽,高希言,王培育,等.针刺不同腧穴对失眠大鼠下丘脑 γ -氨基丁酸和 γ -氨基丁酸 A 受体的影响[J].针刺研究,2012,37(4):302-307.
- [13] 王雪梅,胡斌,高希言.针刺四神聪对睡眠紊乱模型小鼠免疫功能影响的实验研究[J].中医研究,2007,20(7):17-20.
- [14] 赵仓焕,林资闲,姜莉.不同灸量麦粒灸对失眠大鼠下丘脑 NO、NOS 含量的影响[C].北京:中国针灸学会,2011:6.
- [15] 宋媛.不同穴位处方艾灸催眠作用及其机理的研究[C].中国中医基础医学杂志,2009,15(4):304-305.
- [16] 任莉.不同穴位处方电针的催眠作用及其机理研究[D].广州:暨南大学,2006:26-36.
- [17] 伦新.电针对失眠模型大鼠睡眠免疫因子影响的实验研究[D].广州:广州中医药大学,2007:23-24.
- [18] 李裕和,张林挺.针刺对运动性失眠大鼠大脑 5-HT 和 NGF 水平的影响[J].浙江中医杂志,2009,44(6):402-403.
- [19] 张林挺,李裕和.针刺对运动性失眠大鼠大脑 c-fos 及 c-jun 含量的影响[J].时珍国医国药,2009,20(9):2233-2234.
- [20] 刘改莲.中药穴位敷贴对失眠大鼠下丘脑单胺类递质和 IL-1 β 的影响[D].广州:暨南大学,2007:39.
- [21] 张殿全,孙忠人,徐先伟.针刺四神聪对失眠大鼠下丘脑内 5-HT 5-HIAA 含量的影响[J].中华中医药学刊,2009,27(9):1975-1977.
- [22] 张晓梅,高维滨.电项针对失眠大鼠促眠作用实验研究[J].针灸临床杂志,2008,24(10):40-41.
- [23] 姜莉.不同留针时间电针对失眠大鼠的催眠作用及其机理研究[D].广州:暨南大学,2008:40.
- [24] 兰妮.失眠大鼠电针后不同时间单胺类和氨基酸类递质的变化[D].广州:暨南大学,2010:43.
- [25] 徐拥建.不同间隔时间电针对失眠大鼠下丘脑单胺类递质和 IL-1 β 的影响[D].广州:暨南大学,2010:45.
- [26] 刘祖丽,唐成林,余敏,等.不同强度电针对 PCPA 失眠大鼠下丘脑 γ -氨基丁酸及受体的影响[J].生命科学,2011,15(3):236-240.
- [27] 程少冰.针刺对不同时段睡眠剥夺所致失眠大鼠模型行为学及多种细胞因子水平的影响[D].广州:广州中医药大学,2010.
- [28] 任莉.不同穴位处方电针的催眠作用及其机理研究[D].广州:暨南大学,2006.
- [29] 胡金凤,王朝辉,齐燕英,等.“针刺五脏俞穴调五脏神”针法对失眠大鼠脑内细胞因子调节作用及其机制的研究[J].吉林中医药,2008,28(9):688-689.
- [30] 邵丹.针刺五脏俞对失眠大鼠脑内抑制性递质调节作用的实验研究[D].长春:长春中医药大学,2008.
- [31] 高希言,马巧琳,胡斌.针刺“四神聪”对睡眠紊乱模型小鼠生理功能的影响[J].中国针灸,2007,27(9):681-683.