

高压氧联合针刺对2型糖尿病大鼠认知功能的影响

王风波, 魏晓霏, 唐明薇

【摘要】 目的:观察高压氧联合针刺治疗对2型糖尿病大鼠认知功能改善的影响作用。**方法:**将39只成年SD大鼠制备成2型糖尿病大鼠模型。予高糖高脂饮食6周后单次腹腔注射30mg/kg链脲佐菌素,注射3d后测得大鼠尾静脉随机血糖 ≥ 16.7 mmol/L为模型制备成功。造模成功后7d采用Morris水迷宫测验检测所有糖尿病大鼠认知功能,并随机分为对照组、高压氧组和高压氧联合针刺组各13只,分组次日高压氧组和高压氧联合针刺组大鼠开始干预,1次/d,连续30d后再次采用Morris水迷宫测验检测所有大鼠认知功能。**结果:**干预30d后,与干预前及对照组比较,高压氧组及高压氧联合针刺组血糖均明显降低($P<0.05, 0.01$);高压氧联合针刺组血糖改善优于高压氧组($P<0.01$)。与干预前及对照组比较,高压氧组及高压氧联合针刺组大鼠逃避潜伏期均明显缩短($P<0.01$),穿越平台次数均明显增加($P<0.01$);与高压氧组比较,高压氧联合针刺组逃避潜伏期缩短更显著($P<0.05$),穿越平台次数增加更显著($P<0.01$)。**结论:**高压氧治疗可明显改善2型糖尿病认知功能,高压氧联合针刺疗法对认知功能的改善作用更加显著,提示高压氧联合针刺疗法更有利于2型糖尿病患者认知功能障碍的早期康复。

【关键词】 高压氧;针刺;2型糖尿病;认知功能

【中图分类号】 R49;R587 **【DOI】** 10.3870/zgkf.2019.05.001

Effects of hyperbaric oxygen combined with acupuncture on cognitive function in type 2 diabetic rats Wang Fengbo, Wei Xiaofei, Tang Mingwei. Department of Rehabilitation Medicine, the First Affiliated Hospital of Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China

【Abstract】 Objective: To examine the effects of hyperbaric oxygen combined with acupuncture on cognitive function in type 2 diabetic rats. **Methods:** The type 2 diabetic rat models were established: 39 adult SD rats were fed on high-sugar and high-fat diet for 6 weeks, followed by intraperitoneally injection of streptozotocin (30 mg/kg) only once. Three days later, random blood glucose (RBG) was measured by tail vein sampling. If the RBG was more than 16.7 mmol/L, suggesting the successful establishment of the type 2 diabetic mellitus in rats. The Morris water maze test was used to measure the cognitive function in all diabetic rats. By using the random number table method the rats were divided into three groups: control group, hyperbaric oxygen group and hyperbaric oxygen combined with acupuncture group ($n=13$ in each group). The rats in hyperbaric oxygen group were treated with hyperbaric oxygen, and the rats in hyperbaric oxygen combined with acupuncture group were treated with hyperbaric oxygen combined with acupuncture (once a day, 30 days). After all the interventions, the cognitive function of all rats was tested by the Morris water maze test. **Results:** After 30 days of intervention, compared with the control group and before intervention, rats in the hyperbaric oxygen group and hyperbaric oxygen combined with acupuncture group had significantly lower blood glucose($P<0.05, 0.01$), and hyperbaric oxygen combined with acupuncture group was superior to hyperbaric oxygen group in blood glucose decrease($P<0.01$). Compared with the control group and before intervention, rats in the hyperbaric oxygen group and hyperbaric oxygen combined with acupuncture group had shorter escape latency($P<0.01$), more times of crossing the platform ($P<0.01$). Compared with hyperbaric oxygen group, rats in the hyperbaric oxygen combined with acupuncture group showed more significant improvement in escape latency($P<0.05$) and numbers of crossing platforms($P<0.01$). **Conclusion:** Hyperbaric oxygen therapy can significantly improve cognitive function of type 2 diabetes rats, and its combination with acupuncture has a more sig-

nificant improvement effect. This may suggest that hyperbaric oxygen combined with acupuncture therapy is more conducive to early rehabilitation of cognitive impairment in type 2 diabetic patients.

收稿日期:2018-07-15

作者单位:成都医学院第一附属医院康复医学科,成都 610500

作者介绍:王风波(1979-),男,副主任医师,主要从事中西医结合治疗脑损伤方面的研究。

【Key words】 hyperbaric oxygen; acupuncture; type 2 diabetes; cognitive function

流行病学调查显示,2型糖尿病患者并发认知功能障碍的比例呈不断上升态势,轻者影响记忆、学习能力,重者可发展至痴呆症,人格改变,生活自理能力缺失,社会参与功能障碍^[1]。作为独立危险因素,2型糖尿病患者发生认知功能障碍的几率约为普通人群的3倍,其脑病病理变化不但符合血管性痴呆特征,且与阿尔茨海默病有诸多相似之处,可以认为,2型糖尿病患者同样是阿尔茨海默病的易患人群^[2]。高压氧是一种应用于临床各种颅脑损伤的无创辅助治疗,安全易接受,疗效已得到广泛认可。针刺治疗糖尿病历史渊长,近年来大量研究证实针刺疗法可有效降低血糖,改善胰岛素抵抗,促进糖尿病周围神经病变恢复,是WHO认定的糖尿病临床疗法之一^[3]。本研究采用高压氧联合针刺疗法对2型糖尿病大鼠进行干预,观察、分析高压氧联合针刺对2型糖尿病大鼠早期认知功能障碍的影响作用,旨在探讨对早期2型糖尿病认知功能障碍更为安全、有效、可靠的康复治疗手段。

1 材料与方法

1.1 材料及主要设备 39只成年SD大鼠(成都医学院动物实验中心,合格证号SYXK(川)2015-196),体质量250~280g;小动物高压氧舱(烟台宏远科技,G2-Y900-002型);血糖仪(罗氏活力型);链脲佐菌素(Sigma);针灸针(华佗牌);Morris水迷宫实验系统(上海吉量科技)。

1.2 方法 ①2型糖尿病模型制备及分组:大鼠置于(24±2)℃室温适应性饲养10d,经Morris水迷宫检测确认无认知功能异常,并测得尾静脉血空腹血糖3.5~5.5 mmol/L,10d后制备2型糖尿病大鼠模型^[4]:高糖高脂(其中蔗糖18.0%,猪油18.0%,胆固醇3%)饲养6周后禁食12h,一次性腹腔注射链脲佐菌素30mg/kg,链脲佐菌素用0.1mol/L柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液稀释。注射3d后测得大鼠尾静脉血随机血糖≥[16.7mmol/L]确定造模成功。造模后7d采用Morris水迷宫测验所有大鼠认知功能,并按随机数字表法分为对照组、高压氧组和高压氧联合针刺组各13只。高压氧组和高压氧联合针刺组大鼠均于分组次日开始干预,1次/d,干预30d后再次测验认知功能。对照组不予任何处置。②高压氧治疗:高压氧组和高压氧联合针刺组大鼠每日上午置入高压氧舱,先用纯氧洗舱10min,匀速20min加压至2.0个绝对大气压(absolute atmosphere, ATA),稳压2.0 ATA吸氧40min,经20min匀速减压出舱,1次/d,10d为1个疗

程,连续3个疗程^[5]。③针刺治疗:参照《实验针灸学》及曹晏焱等^[6]的方法,高压氧联合针刺组大鼠取穴百、神庭、双侧肾俞穴,留针20min/次,1次/d,共30d。

1.3 检测指标 ①血糖监测:所有大鼠干预前及30d后测尾静脉血空腹血糖。②Morris水迷宫认知功能测验:所有大鼠干预前及30d后行Morris水迷宫实验^[7-8],包括:a.定位航行:训练3次/d,连续3d,第4天记录100s内大鼠从入水寻找并爬上平台所需的时间,为逃避潜伏期,平台位置在训练及测验过程中保持不变,考察大鼠学习能力;b.空间探索:第5天撤去平台,选择训练象限为入水点将大鼠面壁置于水池,记录大鼠100s内穿越虚拟平台的次数,考察大鼠空间记忆能力。干预前及30d后的测验方法保持一致,获得客观准确的实验数据。

1.4 统计学方法 采用SPSS 19.0软件,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间均数比较用 t 检验或单因素方差分析,非正态分布和方差不齐时采用秩和检验, $P<0.05$ 示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般及血糖情况 2型糖尿病模型制备成功后,大鼠皮毛光泽度变差,反应迟钝,出现“三多”现象(多饮、多食、多尿),随着治疗进展,高压氧组、高压氧联合针刺组大鼠上述症状逐步改善。治疗30d后,与干预前及对照组比较,高压氧组及高压氧联合针刺组血糖均明显降低($P<0.05$ 、 0.01);高压氧联合针刺组血糖低于高压氧组($P<0.01$)。对照组干预前后比较差异无统计学意义,见表1。

表1 3组大鼠干预前后血糖比较			mmol/L, $\bar{x}\pm s$
组别	<i>n</i>	干预前	干预30d后
对照组	13	22.51±0.38	24.25±0.63
高压氧组	13	23.12±0.72	18.29±0.55 ^a
高压氧联合针刺组	13	22.75±0.89	10.47±0.38 ^{bc}

与干预前及对照组比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$;与高压氧组比较,^c $P<0.01$

2.2 Morris水迷宫认知功能测验情况 治疗30d后,与干预前及对照组比较,高压氧组、高压氧联合针刺组大鼠逃避潜伏期均明显缩短($P<0.01$);与高压氧组比较,高压氧联合针刺组潜伏逃避期缩短更显著($P<0.05$);穿越平台次数:与干预前及对照组比较,高压氧组及高压氧联合针刺组大鼠均明显增加($P<0.01$);与高压氧组比较,高压氧联合针刺组穿越次数增加更显著($P<0.01$)。见表2。

表 2 3 组大鼠逃避潜伏期时间及穿越平台次数比较

组别	n	时间	逃避潜伏期(s)	穿越平台次数(次)
对照组	13	干预前	50.56±0.46	2.37±0.65
		干预 30d	49.45±0.52	2.04±0.33
高压氧组	13	干预前	49.37±0.42	2.58±0.46
		干预 30d	20.41±0.58 ^a	3.75±0.34 ^a
高压氧联合针刺组	13	干预前	51.29±0.62	2.27±0.82
		干预 30d	15.95±0.57 ^{ab}	5.36±0.27 ^{ac}

与干预前及对照组比较,^a*P*<0.01;与高压氧组比较,^b*P*<0.05,
^c*P*<0.01

3 讨论

本研究采用高糖高脂饮食加小剂量腹腔注射链脲佐菌素方式制备 2 型糖尿病大鼠模型,模拟人类 2 型糖尿病发病进程,造模成功,Morris 水迷宫测验显示糖尿病大鼠的逃避潜伏期明显延长,穿越虚拟平台次数显著减少。研究证实,2 型糖尿病患者认知障碍主要表现为学习、记忆、理解、判断等能力减退,并可出现人格的异常改变,甚至发展为痴呆,其中学习记忆能力的衰退为主要特点^[9]。其发病机制复杂,参与致病因素较多,至今尚未完全阐明,可能与以下因素有关:糖脂代谢异常、脑血管病变、脑细胞凋亡及代谢障碍、炎症反应、遗传、自身免疫、氧化应激等^[10]。此外,糖尿病患者的年龄、受教育程度、性别、生活习惯及情绪情感等被认为是认知功能障碍的影响因素^[11]。

本实验结果显示,经过 3 个疗程的治疗,高压氧组大鼠血糖降低,一般情况好转,逃避潜伏期缩短,穿越虚拟平台次数增多,均较对照组有所改善。高压氧疗法作为一种重要的辅助治疗手段,广泛运用于各种脑损伤的临床治疗中,疗效明确,安全可靠,越来越受到广大医务工作者及学者的重视。尽管机理尚未完全阐明,目前普遍认为,高压氧可以增加脑组织氧含量,清除氧自由基,抑制脑细胞炎症反应及凋亡,改善脑细胞功能,近年来的研究也提示高压氧疗法有利于脑损伤后学习记忆等能力的恢复^[12]。糖尿病大鼠脑病超微结构研究发现脑细胞线粒体、核糖体肿胀变性,毛细血管内皮退变,高尔基复合体扩张等变化^[13]。这种脑超微结构改变符合血管性痴呆脑组织病理变化特征。本实验表明,高压氧疗法对 2 型糖尿病认知功能障碍有着积极的治疗作用,其机制可能包括^[14-16]:①调节血糖脂代谢,促进脑微细血管生成,改善微循环及脑细胞代谢;②诱导超氧化物歧化酶及自由基清除酶增多并增强活性,提高氧自由基清除能力;③抑制白细胞介素(IL)-1β、IL-6、干扰素和肿瘤坏死因子等炎症因子的释放,降低环氧化酶-2mRNA 水平,抑制炎症反

应,减轻脑细胞肿胀、变性;④提高系统性氧化应激,增强 Bcl-2 表达,抑制细胞凋亡;⑤调节中枢神经系统神经生长因子、轴突导向因子及轴突生长抑制因子等的表达水平,促进受损脑细胞及神经髓鞘再生修复;⑥调节机体免疫功能,抑制变态反应,减轻神经脱髓鞘及轴突变性。

针刺疗法在改善血糖代谢及防治糖尿病性周围神经病等方面的作用已经得到了大量研究证实。本研究在高压氧治疗 2 型糖尿病认知功能障碍大鼠的基础上给予针刺疗法,取百会、神庭及双侧肾俞穴,每日 1 次,连续 30d。百会、神庭属督脉经穴,督脉又归属与脑,具醒脑开窍、镇静安神之效。有学者针取遗忘型轻度认知功能障碍患者百会、神庭、风池诸穴,8 周后患者简易精神状态检测量表及画钟测验评分均提高,同时血清超敏 C-反应蛋白、IL-6 水平明显下降^[17]。有研究显示,电针百会、神庭穴的脑缺血再灌注大鼠 Barnes 迷宫测试成绩提高,神经行为学 Longa 评分降低,电镜下显示脑海马区神经突触数量、结构及囊泡均有所改善,提示大鼠认知及行为学功能改善可能与中枢神经突触可塑性变化有关^[18]。肾俞穴归属足太阳膀胱经,功能调补肾气、通利腰脊,维持津液代谢平衡,是传统针刺治疗糖尿病的首选穴位之一^[19]。实验结果显示,相较高压氧组,高压氧联合针刺组大鼠血糖水平下降更为显著,“三多”现象、反应迟钝、皮毛光泽度均得到更明显的改善,大鼠逃避潜伏期及穿越虚拟平台次数均进一步改善,提示高压氧联合针刺疗法对 2 型糖尿病认知功能障碍的作用优于单纯高压氧治疗。

本实验将高压氧联合针刺疗法运用于 2 型糖尿病认知功能障碍大鼠的治疗,其改善认知功能及降低血糖水平的优势在于集合高压氧与针刺特点于一体,两种疗法相互配合,产生了积极的协调及促进作用。目前针刺疗法对糖尿病认知功能障碍影响方面的研究报道较少,高压氧联合针刺疗法的干预方式仍处于探索阶段,但在一定程度上拓展了 2 型糖尿病认知功能障碍的治疗思路。

【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] 李春花,郭昕,豆静,等. 2 型糖尿病患者认知功能障碍及其影响因素调查分析[J]. 吉林大学学报(医学版), 2018, 44(2): 431-437.
[3] 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.
[4] 唐明薇,黎瑶,王风波,等. 口服降糖药致低血糖对糖尿病大鼠神经生长因子 mRNA 表达的影响[J]. 重庆医学, 2017, 46(8): 1017-

1019.

[5] 吕裕霞,李卉,闫赋琴,等. 高压氧对阿尔茨海默病模型小鼠认知功能的影响[J]. 武警医学,2016,27(11):1126-1128.

[6] 曹曷焱,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.

[7] 刘颖,张淑珍,朱晓红,等. 高压氧治疗对创伤性脑损伤大鼠认知功能的影响[J]. 中国康复医学,2017,32(11):1214-1219.

[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] 唐明薇,黎瑶,王风波. 康复训练对糖尿病大鼠认知功能障碍的影响[J]. 中国医药导报,2018,15(10):18-21.

[10] 李和教,周吉银,刘远志,等. 2 型糖尿病认知功能障碍的作用机制研究进展[J]. 生理科学进展,2018,49(2):110-114.

[11] Li W, Risacher S L, 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] 种玉飞,夏文广,徐婷,等. 高压氧联合认知训练治疗脑卒中后认知障碍的疗效观察[J]. 中国康复,2016,31(4):298-300.

[13] 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.

[14] 周瑜欢,吴登宠,黄梁,等. 不同时间给予高压氧治疗对大鼠脑外伤后认知功能的疗效及对神经可塑性的影响[J]. 北京医学,2017,39(5):509-512.

[15] 魏丽夏,任青,王金慎,等. 高压氧与神经生长因子联合应用对 HIBD 新生大鼠学习记忆能力和感觉运动功能的影响[J]. 山东医药,2016,56(3):25-27.

[16] 涂杳然,牛凡,洪德全,等. 高压氧治疗对大鼠创伤性脑损伤后 Nogo-A 及 NgR 表达的影响[J]. 中国当代医药,2017,24(33):7-9.

[17] 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.

[18] 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.

[19] 贾宁,李瑞,曹曷焱,等. 电针“足三里”“肾俞”穴对 T2DM 大鼠 GLUT2、GCK 的影响[J]. 世界中医药,2017,12(5):1114-1119.

• 外刊拾粹 •

年轻中风患者的认知功能

大约 10%的中风发生在 50 岁以下的成年人。评估年轻中风患者认知功能的研究报告称，他们认知障碍的发生率高于老年脑卒中患者。本前瞻性研究进一步探究了年轻成人脑卒中患者认知功能障碍的发生率和过程。

连续入院的 18 至 55 岁缺血性中风患者被纳入到研究当中。在研究期间，招募了 150 名患者，都接受了基线上的神经及神经心理评估，包括 MRI 和脑卒中严重程度的评估。

患者的平均年龄为 44.5 岁，脑卒中的平均严重程度的在轻度范围内。入院后三周内，40%的患者出现认知功能受损，包括注意力受损。在三个月的随访中，在一般认知能力、处理速度、注意力和灵活性以及执行功能方面都有改善。然而，三分之一的患者仍然存在认知缺陷。

结论：这项针对 55 岁及以下年龄的急性缺血性脑卒中患者的前瞻性研究发现，在 3 个月时，有 40%的患者存在认知功能障碍。

Pinter, D., et al. Prevalence and Short-Term Changes of Cognitive Dysfunction in Young Ischemic Stroke Patients. Eur J Neurol. 2018; doi: 10.1111/ene.13879.

中文翻译由 WHO 康复培训与研究合作中心(武汉)组织
本期由中南大学湘雅二医院张长杰教授主译编