

针刺对水液缺乏型干眼兔泪液分泌及泪腺微观形态的影响

张义彪, 高卫萍* (南京中医药大学第一临床医学院, 江苏 南京 210046)

摘要:目的 观察针刺对实验兔泪腺形态的影响及对应的泪液量的变化, 以此来探讨针刺对泪腺微观形态的影响, 从形态上直观的解释针刺增加泪流量的机理。方法 选取纯种新西兰大白兔, 以阿托品造模 3 d 成功后, 分成 2 组, 针刺组取眼周 5 个穴位针刺, 每天 1 次, 每次留针 15 min, 共针刺 10 d; 模型组不做处理。对比针刺对干眼模型兔泪流量及泪腺形态的影响。结果 分别在实验 5、7、14 d 测试针刺 24 h 后 2 组泪流量。针刺组泪流量 Schime I 试验 (SIT) 分别为: (9.79 ± 4.39)、(11.69 ± 4.76)、(10.36 ± 4.57) mm³/5 min; 分别高于模型对照组泪流量 (4.94 ± 3.79)、(3.38 ± 2.81)、(7.52 ± 5.04) mm³/5 min, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。针刺后光镜、电镜都显示泪腺形态有明显的变化, 显示细胞活动旺盛。结论 针刺能够改善神经反射敏感性, 促进泪腺代谢, 从而增加泪液的合成与分泌。

关键词: 针刺; 泪流量; 泪腺微观形态; 神经反射

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-5005(2010)01-0047-03

Effect of Acupuncture on Microscopic Morphology of Lacrimal Fluid of Dry Eye Rabbit with Hydropenia

ZHANG Yi-biao, GAO Wei-ping

(First Clinical College of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu, 210046, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To observe the effect of acupuncture on the morphology of lacrimal fluid of experimental rabbits and the changes in lacrimal fluid volume, so as to explain the mechanism of acupuncture in increasing lacrimal fluid. **METHOD** Pure-bred New Zealand rabbits were made into models using atropine. Three hours later the rabbits were divided into two groups. The rabbits in the acupuncture group were given acupuncture with five points around the eye once a day with the needles retained for 15 minutes. They were treated for 10 days. No treatment was given in the model group. **RESULT** Lacrimal fluid volume was determined 24 hours after acupuncture treatment on the 5th, 7th and 14th day. The lacrimal fluid volume in the acupuncture group were (9.79 ± 4.39) mm³/5 min, (11.36 ± 4.57) mm³/5 min and (10.36 ± 4.57) mm³/5 min, which were higher than the model group by (4.94 ± 3.97) mm³/5 min, (3.38 ± 2.81) mm³/5 min and (7.52 ± 5.04) mm³/5 min respectively, with statistical significance ($P < 0.05$). Optical and Electronic microscope showed marked morphological changes and active cell activities. **CONCLUSION** Acupuncture can improve neural reflex sensibility and promote lacrimal fluid metabolism, synthesis and secretion.

KEY WORDS: acupuncture; lacrimal fluid volume; microscopic morphology of lacrimal fluid; nerve reflex

任何原因引起的泪液质或量的异常, 都会导致干眼症。引起干眼症的常见病因可分为两类: 水液缺乏型, 脂质缺乏型。任何影响泪腺、副泪腺功能的因素, 都会影响水液的分泌, 引起水液缺乏性干眼症。神经反射异常引起的水液缺乏型干眼症十分常见。因此, 本研究用阿托品滴眼制作了水液缺乏型干眼症, 旨在研究针刺对泪液分泌及对泪腺形态的影响, 以探究针刺治疗水液缺乏性干眼症的机理。

1 材料与方法

1.1 器具及试剂

1% 硫酸阿托品滴眼液 (江苏省中医院)、0.25% 荧光素溶液 (江苏省中医院眼科配制); Schime 试纸 (天津晶明新技术开发有限公司生产); 华佗牌一次性使用无菌针灸针 ($\Phi 0.30$ mm \times 25 mm, 苏州医疗器械厂, 批号: 080157)。2.5% 戊二醛, 4% 甲醛溶液。

收稿日期: 2009-09-21; 修稿日期: 2009-10-15

基金项目: 南京中医药大学重点培养专项基金

作者简介: 张义彪 (1984-), 男, 河北石家庄人, 南京中医药大学 2007 级硕士研究生。* 通讯作者: gao-weiping@163.com

1.2 动物分组及模型的建立

健康新西兰白兔,雌雄不限,体质量 1.5 ~ 2.0 kg,裂隙灯显微镜、眼底镜检查眼前节及眼底无异常, Schirmer I 试验(SIT) ≥ 10 mm/5 min 的动物方可使用。

筛选出泪液分泌正常的兔 24 只,双眼滴用 1% 硫酸阿托品滴眼液,制成水液缺乏型干眼症模型,随机再取 12 只为模型对照组,12 只为针刺实验组。

模型建立方法:针刺组和模型组均用 1% 硫酸阿托品滴眼液每日滴眼 4 次(上午 8:00、12:00, 16:00、20:00)每次 1 滴,直至实验结束共 14 d。滴药 3 d 后 Schirmer I 试验均值 < 5 mm/5 min,水液缺乏型干眼症模型建立。

1.3 方法

①模型组:局部滴 1% 硫酸阿托品滴眼液,每日 4 次;②针刺组:从 1% 硫酸阿托品滴眼液滴眼 d 4 开始,用针刺治疗。穴位:睛明、攒竹、丝竹空、瞳子髎、太阳^[1]。睛明穴针尖向内下方斜刺入皮下 3 mm,睛明穴不行针。攒竹、丝竹空、瞳子髎采用直刺,不行针,太阳穴针尖向后外方斜刺入皮下 3 mm。留针 15 min,其间太阳穴每隔 5 min 行针 1 次,平补平泻,其他穴位不行针。每日针刺 1 次,连续针刺治疗 10 d。

1.4 观察指标、测定方法及观察点

(1)Schirmer I 试验:泪液检测滤纸条一端折叠放入下睑内 1/3 结膜囊内第三眼睑外侧,5 min 后取出滤纸,从折叠处测量其湿润长度。

(2)泪腺组织结构观察:兔处死后立即去除泪腺在 4% 甲醛溶液中固定 24 h,行光学显微镜检查;泪腺在 2.5% 戊二醛中固定 24 h 后,行透射电镜检查泪腺组织超微结构的变化。

(3)观察点:①针刺组、模型组分别于实验前 1 d 1% 硫酸阿托品滴眼液滴眼后 1,3,5,7,14 d 行 Schirmer I 试验,保留 Schirmer 试纸。(测试时间与针刺时间间隔 12 h 以上)

②滴药后 7,14 d 分别处死针刺兔、模型兔 6 只,取泪腺组织用 4% 甲醛溶液固定 24 h 行光学显微镜及 2.5% 戊二醛固定 24 h 行电镜检查。

检查由同一人在同一环境中进行。

1.5 统计学分析

采用 SPSS11.5 软件进行统计学分析,采用 LSD 方差分析法,设定 $P < 0.05$ 为有统计学差异。

2 结果

2.1 泪流量

造模 3 d 后 2 组 SIT 明显减少,针刺后 2 组 SIT 显示出明显的不同。针刺组与模型组不同时间点泪流量变化组内及组间比较结果见表 1。

(1)针刺组:实验 7、14 d 与滴药前无统计学差异($P > 0.05$),说明针刺可使干眼模型兔泪液分泌达到正常水平;滴药 3 d 后与实验 5、7、14 d 比较均有统计学差异($P < 0.05$)。说明针刺可以提高干眼症模型兔泪液分泌。

(2)模型组:滴药前 1 d 与滴药后 1、3、5、7、14 d 均有统计学差异($P < 0.05$);滴药 3 d 后与滴药后 5、7、14 d 无统计学差异($P > 0.05$)。说明造模后与正常兔泪流量有差异,而且 14 d 内模型稳定。

2 组相同时间点比较,实验前 1 天及实验后 1、3 d,2 组间比较无统计学差异($P < 0.05$),说明针刺前两组具有可比性;滴药后 5、7、14 d,2 组有统计学意义($P < 0.05$)。针刺组的泪流量从针刺后 1 d 到实验结束一直大于模型组。

表 1 不同时间点两组泪流量变化比较(n = 12)

组别	实验前 1 d	实验 1 d 后	实验 3 d 后	实验 5 d 后	实验 7 d 后	实验 14 d 后
针刺组	13.95 ± 2.66 [▲]	8.69 ± 5.87 *	4.85 ± 2.74 *	9.79 ± 4.39 ^{▲▲}	11.69 ± 4.76 ^{▲▲}	10.36 ± 4.57 ^{▲▲}
模型组	14.37 ± 3.28 [▲]	7.42 ± 5.87 ^{*▲}	4.36 ± 4.01 *	4.94 ± 3.79 *	3.38 ± 2.81 *	7.52 ± 5.04 *

注:与实验前 1 d 比较, * $P < 0.05$;与实验后 3 d 比较,▲ $P < 0.05$;同一时间点 2 组间比较,△ $P < 0.05$ 。

2.2 泪腺微观行态学变化

①光镜:模型组胞浆深染,腺泡内柱状上皮细胞萎缩,腺细胞内物质较少,说明腺细胞代谢功能低下(插页 III 图 1、2)。针刺后泪腺柱状上皮细胞扩张,胞浆丰富,说明腺细胞代谢旺盛(插页 III 图 3、4);②电镜:针刺后细胞质内扩张的粗面内质

网和高尔基体及大量低电子密度分泌泡,显示分泌旺盛,与光镜下泪腺柱状上皮细胞扩张饱满相符合(插页 III 图 5、6)。相反,模型组粗面内质网较少,功能低下,大量高电子密度的吞噬性溶酶体将衰老退化的粗面内质网等细胞器吞噬,吞噬后胞质内留下疏松的网格状结构,整个细胞萎缩,分

泌功能低下(插页Ⅲ图7、8)。与光镜下腺泡柱状上皮细胞萎缩相符合。

3 讨论

近年来研究,干眼症的发病机制多为炎症、细胞凋亡、神经调节异常、性激素失调等^[2]。任何机制导致的泪腺功能的异常都会引起干眼症。目前水液缺乏型干眼症的主要发病机制学说主要建立在泪腺功能单位的基础上^[3]。泪膜的中间层为水液层,由泪腺分泌产生。眼表、中枢神经、泪腺和它们之间的神经连接组成的泪腺功能单位,即反射弧,共同发挥对泪液分泌的调控作用,维护眼表的健康。任何原因导致感受器(眼表)、传入神经、中枢神经、传出神经的功能障碍都会引起效应器(泪腺)的正常代谢和功能。

阿托品是M受体阻断剂,能够阻断眼部副交感神经的作用,从而影响泪腺的分泌功能,导致水液分泌减少。这种模型是泪液分泌的神经调控障碍模型,符合水液缺乏型干眼症成因,而且该模型稳定,可以持续35 d^[4],为我们的研究提供了很好的模型。水液分泌不足,泪膜完整性被破坏,从而导致了水液缺乏性干眼症。针刺主要是通过泪腺这个靶器官进行泪液(主要是水液性)分泌调节^[5]。目前针刺治疗干眼症的机理尚不太明确。本实验中,阿托品阻断了神经递质的传递,从而引起泪腺细胞功能低下,泪液分泌减少。我们通过实验证明,针刺可以增加水液缺乏模型兔泪液的分泌,而且针刺后12 h仍对此模型兔泪液分泌有影响。针刺能够促进干眼模型兔的泪液分泌并有持续性。有研究证明,针刺可有效调整副交感神经活动^[6],针刺还可以双向性的调节机体的免疫功能^[7-8]。龚岚等^[9]研究发现针刺后兔泪腺中血管活性肠肽增加,这种物质能引起血管扩张微循环增加。Blom M等^[10]认为针刺能扩张血管,从而促进唾液腺的新陈代谢。因此我们认为针刺兔眼周穴位能够有效调整神经功能,提高神经反射通路的敏感性,降低角膜-泪腺反射弧阈值,促进泪腺分泌泪液。针刺还能够改善干眼症模型兔泪腺的代谢、维持泪腺的生理功能,使泪腺细胞代谢旺

盛(图3~6),从而增加泪液的分泌,很好的解释了针刺的远期效果。泪腺细胞分泌泪液,肌上皮细胞可协助泪液的排出^[11],泪腺排出泪液是一种即刻活动,通过泪腺肌上皮的收缩舒张才能使腺细胞产生的泪液不断排出。因此敏感的神经反射通路及泪腺细胞良好的代谢状态是泪液持续分泌增加的基础。但具体针刺是通过刺激那些神经递质和(或)神经调质的释放从而使得神经反射敏感性增加、泪腺细胞代谢旺盛的,有待进一步研究。

参考文献:

- [1]李忠仁主编.实验针灸学[M].北京:中国中医药出版社,2003.319.
- [2]刘祖国,杨文照.干眼症的发病机制[J].眼科,2005,14(5):342-345.
- [3]Stem ME, Gao J, Siemasko KF, et al. The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye[J]. Exp Eye Res, 2004, 78:409-416.
- [4]肖启国,刘祖国.局部滴用阿托品建立兔干眼模型的评价[J].眼科研究.2005,23(4):340-343.
- [5]Olyaei GR, Talebian S, HadianMR, et al. The effect of transcutaneous electrical nerve stimulation on sympathetic skin response[J]. Electromyogr Clin Neurophysiol, 2004, 44(1): 23-28.
- [6]Li Z, Jiao K, Chen M, et al. Effect of magnitopuncture on sympathetic and parasympathetic nerve activities in healthy drivers assessment by power spectrum analysis of heart rate variability[J]. Eur J Appl Physiol, 2003, 88(4/5): 404-410.
- [7]陕西省卫校电针疗法研究室.电针刺刺激对白血球吞噬作用的影响[J].中华医学杂志,1995,46(1):1007.
- [8]刘文琴,朱玉龙.中国电针学[M].西安:陕西科技出版社,1983.187-208.
- [9]龚岚,孙兴怀.针刺对兔泪液分泌及泪腺血管活性肠肽浓度的影响[J].针刺研究,2006,31(6):347-349.
- [10]Blom M, Lundeberg T, Dawidson I, et al. Effects on local blood flux of acupuncture stimulation used to treat xerostomia in patients suffering from Sjogren's syndrome[J]. J Oral Rehab, 1993, 20(5):541.
- [11]Wang YL. Morphological changes of myoepithelial cells of mouse lacrimal glands during postnatal development[J]. Histology and Histopathology, 1995, 10:821-827.

(编辑:李伟东)

针刺对水液缺乏型干眼兔泪液分泌及泪腺微观形态的影响

(正文见 48-49 页)

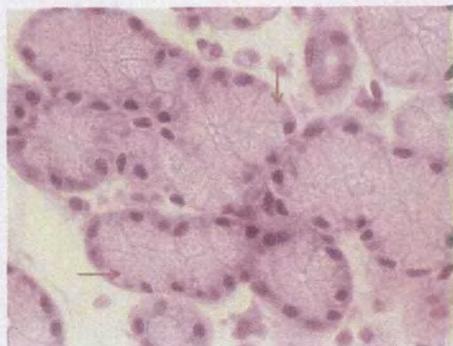


图1 模型组 (造模后 7 d, $\times 400$)

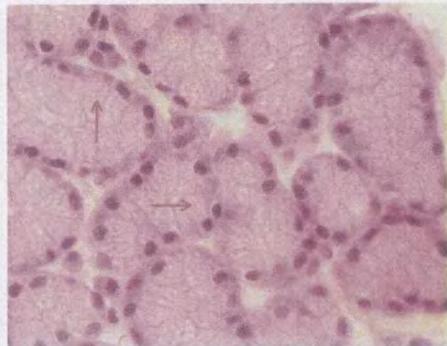


图2 模型组 (造模后 14 d, $\times 400$)

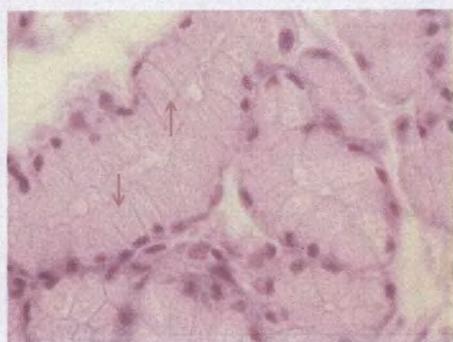


图3 针刺组 (针刺后 7 d, $\times 400$)

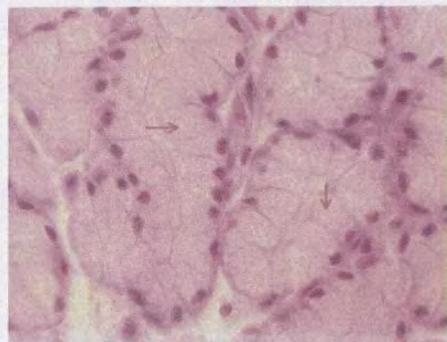


图4 针刺组 (针刺后 14 d, $\times 400$)

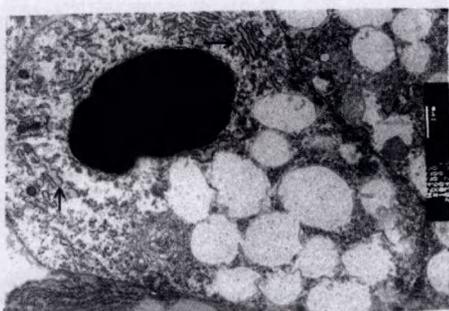


图5 针刺组 (针刺后 7 d, $\times 6000$)

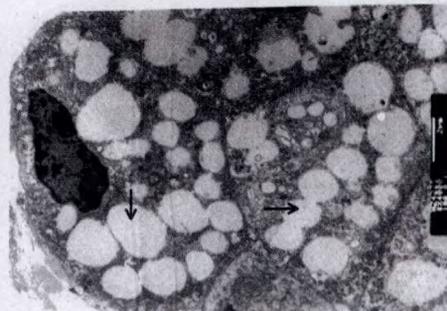


图6 针刺组 (针刺后 14 d, $\times 6000$)

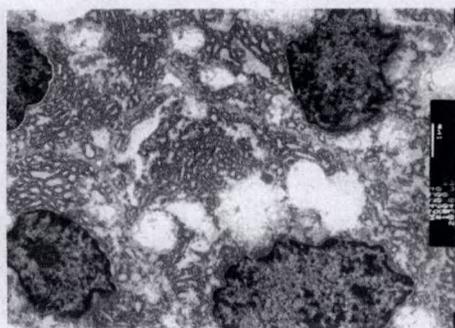


图7 模型组 (造模后 7 d, $\times 6000$)

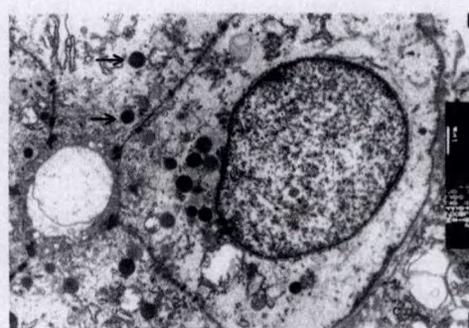


图8 模型组 (造模后 14 d, $\times 6000$)