

DOI:10. 11798/j. issn. 1007-1520. 201303016

· 论 著 ·

针刺内听宫穴对庆大霉素致聋大鼠 听性脑干反应的影响

周 萍, 张晓彤, 陈彦飞

(西安交通大学第二附属医院 耳鼻咽喉头颈外科病院, 陕西 西安 710004)

摘 要: **目的** 观察针刺内听宫穴对庆大霉素致聋大鼠听力的改善作用。**方法** 20 只成年大鼠平均分为 4 组, 庆大霉素组每日上午腹腔注射庆大霉素 100 mg/kg, 连续 14 d; 内听宫组庆大霉素给药方法同庆大霉素组, 自腹腔注射庆大霉素第 1 天开始, 隔日下午进行针刺内听宫穴, 共 10 次; 听宫组庆大霉素给药方法同庆大霉素组, 自腹腔注射庆大霉素第 1 天开始, 隔日下午进行针刺听宫穴, 共 10 次; 对照组每日上午腹腔注射等剂量生理盐水, 共 10 次。分析实验前、实验 14 d 及 20 d 各组大鼠听性脑干反应阈, 评价各组大鼠听力情况。**结果** 庆大霉素组的听性脑干反应阈明显高于内听宫组、听宫组及对照组, 内听宫组与听宫组听性脑干反应阈比较无明显差异。**结论** 针刺内听宫穴及听宫穴均可在一定程度上降低庆大霉素致聋大鼠听性脑干反应阈, 减轻庆大霉素耳毒性, 缓解药物对听力的损害作用, 是治疗药物性耳聋的有效穴位。

关 键 词: 穴位; 内听宫; 庆大霉素; 药物性聋; 针灸疗法; 听性脑干反应
中图分类号: R245; R764. 43 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-1520(2013)03-0242-05

Effect of acupuncture treatment at Neitinggong acupoint on auditory brain-stem response in rats with gentamycin-induced hearing impairment

ZHOU Ping, ZHANG Xiao-tong, CHEN Yan-fei

(Hospital of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, the Second Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China)

Abstract: **Objective** To observe the effect of acupuncture at Neitinggong acupoint on the gentamycin-induced deafness. **Methods** 20 rats were randomly divided into 4 groups of five. Gentamycin group received an intraperitoneal injection of gentamycin every morning in a dose of 100 mg/kg for 14 consecutive days. Neitinggong group and Tinggong group received intraperitoneal injection of gentamycin as the same as the Gentamycin group, and were given acupuncture at Neitinggong or Tinggong separately once every two days from the first day of injection for a total of 10 times. Control group received intraperitoneal injection of normal saline of the same volume of gentamycin every morning without other interventions. Auditory brainstem response (ABR) examination was performed in all animals at day one, the 14th day and the 20th day to analyze their ABR thresholds. **Results** The ABR threshold of Gentamycin group was significantly higher than those of the Neitinggong group, the Tinggong group and the control group separately. The difference of ABR threshold between the Neitinggong group and the Tinggong group was statistically insignificant. **Conclusions** Acupuncture at Neitinggong and Tinggong acupoints can decrease the auditory brainstem response threshold and therefore reduce gentamycin-induced ototoxicity to some extent, which indicates that the Neitinggong acupoint may be an effective acupoint for treatment of gentamycin-induced deafness.

Key words: Acupoint; Neitinggong; Gentamycin; Deafness, drug-induced; Acupuncture treatment; Auditory brain-

项目基金: 西安市科委攻关项目(YF 07176)
作者简介: 周 萍, 女, 硕士研究生, 住院医师。
通讯作者: 张晓彤, Email: tracylizhang@189. cn

stem response

针灸治疗耳聋近年来有较大进展,被认为疗效较为理想,且无毒副作用。从涉及文献的内容来看,临床治疗耳聋常用的穴位是听宫穴。樊玉林通过考察古代医学文献发现真正的听宫穴位并不在面部耳屏前,而是在鼓膜中央部鼓室内。《针灸甲乙经》及《灵枢·经脉》提到“听宫,在耳中珠子,大如赤小豆”,“小肠手太阳之脉起于小指之端,其支者,从缺盆循颈上颊,至目锐眦,却入耳中”,也就是说古时听宫穴位于“耳中”(鼓室)。为区别于目前公认的听宫穴,樊玉林将耳内的穴位命名为内听宫穴。本研究观察针刺内听宫穴及听宫穴对大鼠 ABR 阈值的影响,探讨针刺内听宫穴治疗耳聋的作用和机制,为治疗耳聋提供更有效的穴位和方法。

1 材料与方

1.1 动物来源

Sprague-Dawley 大鼠,雌雄不拘,250 ~ 350 g,耳廓反射灵敏,耳道通畅,鼓膜完整,无噪音及耳毒性药物使用史。饲养条件一致,实验动物和饲料由西安交通大学动物实验中心提供。

1.2 造模与针刺

20 只大鼠分笼饲养,自由摄食,大鼠按照随机数字表法分为 4 组,每组 5 只(10 耳)。庆大霉素组、内听宫组、听宫组每日腹腔注射硫酸庆大霉素(江苏康宝制药有限公司,批号:110710 号)100 mg/kg,连续 14 d。内听宫组及听宫组分别选内听宫穴及听宫穴,在给药的第 1 天开始隔日进行针刺治疗,共针刺 10 次。针灸针常规进行消毒。内听宫穴参照樊玉林的《听宫初考》,位于鼓膜脐周,在电耳镜直视下,直刺鼓膜脐周,深度 0.2 cm,以刚触及鼓岬为宜,留针 30 min;听宫穴的定位参照《实验针灸学》,位于大鼠耳屏正前方凹陷处,捻转进针刺入皮下,针刺深度 0.4 cm,平补平泻捻转行针,每隔 10 min 行针 1 次,每次约 0.5 min,留针 30 min。对照组每日腹腔注射等量生理盐水,共 10 次。每次用药前重新测量体重,调整药量,对照组与各实验组同样抓取。见图 1,2。

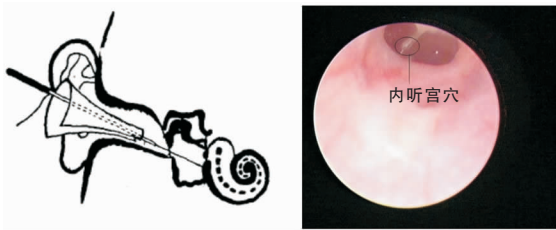


图 1 针刺内听宫示意图

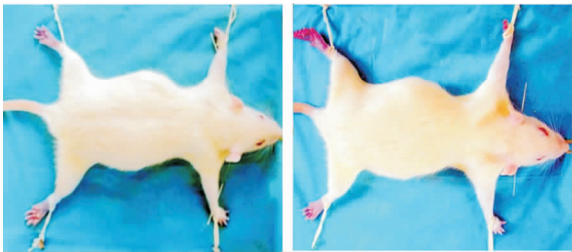


图 2 针刺治疗示意图

1.3 听性脑干反应

所有大鼠在实验前、实验 14 d^[1] 及 20 d^[2] 分别进行听觉脑干诱发电位 (auditory brain-stem response, ABR) 测试^[3]。受试大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛(西安交通大学第二附属医院,陕药管制字[2001]第 1408 号)0.3 ml/100 g 施行全身麻醉。测试仪器用丹麦 ICS CHARTR EP 脑干诱发电位仪。采用直径 0.35 mm、长 35 mm 针灸针作为电极,记录电极置于颅顶矢状正中与双侧外耳道连线的交点,针灸针斜向前刺入皮下 0.5 cm,参考电极置于双侧耳后皮下,接地电极置于鼻根,电极阻抗 < 3 KΩ。Click 音刺激,周期 100 μs,速率 21.1,扫描时间为 15 ms,滤波范围 100 ~ 3 000 Hz,叠加 1 024 次,测试自 100 dB SPL 以 5 dB SPL 为梯度向低强度进行,若出现Ⅲ波消失,则以 5 dB SPL 上升重复两次判断波形阈值。阈值小于 5 dB SPL 记为 5 dB SPL,大于 100 dB SPL 记为 100 dB SPL(图 3)。

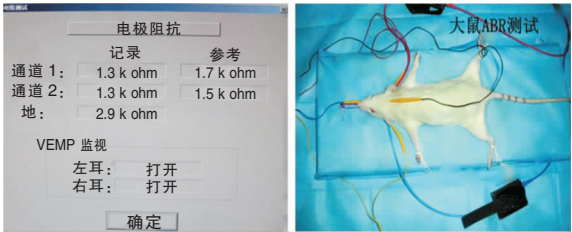


图 3 大鼠 ABR 测试示意图

1.4 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计学软件进行数据处理,实验数据计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。实验前大鼠 ABR 阈值采用单因素方差分析,实验 14 d、20 d 大鼠 ABR 阈值采用配对 t 检验及单因素方差检验。 $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 正常大鼠 ABR 波形及反应阈值

实验前各组大鼠 ABR 波形稳定,主要由 I、II、III、IV、V 波等组成,各波分化好,以 III 波振幅最大,为主波,各组大鼠 ABR 反应阈值约 5 dB ~ 20 dB,见图 4。各组大鼠 ABR 反应阈值经方差齐性检验,见表 1。对照组在整个实验过程中 ABR 反应阈值相对稳定,各时间点 ABR 阈值无显著性差异($t = 0.82, P = 0.43$)。

2.2 实验前与实验 14 d 各组大鼠 ABR 反应阈值比较

实验 14 d,除对照组外各组大鼠 ABR 反应阈值均有不同程度升高,与实验前 ABR 反应阈值进行比较,其中庆大霉素组大鼠 ABR 反应阈值增加至 (20.50 ± 6.85) dB。故采用非参数检验;实验 14 d,经检验庆大霉素组 ABR 反应阈值明显高于内听宫组、听宫组及对照组,见表 1。

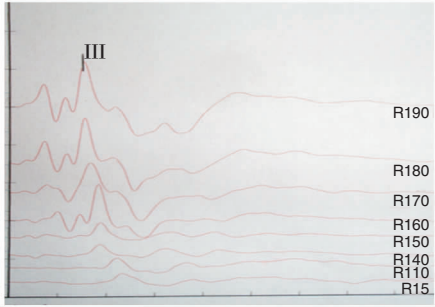


图 4 正常大鼠 ABR 波形图

表 1 实验前与实验 14 d 各组大鼠 ABR 反应阈值($\bar{x} \pm s$,dB SPL)

组别	鼠数(只)	实验前	实验 14 d	阈值差	t	P
庆大霉素组	10	9.50 ± 5.50	30.00 ± 6.67	20.50 ± 6.85	9.46	0.00
内听宫组	10	10.00 ± 5.27	21.05 ± 10.01	11.05 ± 12.03	3.02	0.01
听宫组	10	8.50 ± 4.12	22.50 ± 5.40	14.00 ± 3.94	11.23	0.00
对照组	10	9.50 ± 4.38	11.00 ± 5.16	1.50 ± 5.80	0.82	0.43

2.3 实验 14 d 与 20 d 各组大鼠 ABR 反应阈值比较

实验 20 d,庆大霉素组大鼠 ABR 反应阈值明显高于实验 14 d,经配对 t 检验两组差异具有统计学意义($t = 3.93, P < 0.01$)。而内听宫组及听宫组两组大鼠 ABR 反应阈值与实验 14 d 的 ABR 阈值经配对 t 检验差异无统计学意

义,见表 2。实验 20 d,各组大鼠 ABR 阈值经方差齐性检验, $P > 0.05$,认为方差齐次。经单因素方差分析,内听宫组及听宫组 ABR 反应阈值明显低于庆大霉素组($F = 41.382, P < 0.05$)。而两者之间及其与对照组相比,大鼠 ABR 反应阈值无统计学差别($P > 0.05$)。

表 2 实验 14 d 及 20 d 各组大鼠 ABR 反应阈值($\bar{x} \pm s$,dB SPL)

组别	鼠数(只)	实验 14 d	实验 20 d	阈值差	t	P
庆大霉素组	10	$30.00 \pm 6.67^{\#}$	$44.5 \pm 9.27^{\#}$	14.50 ± 11.65	3.93	0.00
内听宫组	10	$21.05 \pm 10.01^{*\blacktriangle}$	$22.50 \pm 7.55^{*\blacktriangle}$	1.00 ± 12.87	0.25	0.81
听宫组	10	$22.50 \pm 5.40^{*}$	$16.00 \pm 8.76^{*}$	-6.50 ± 11.56	-1.78	0.11
对照组	10	11.00 ± 5.16	8.00 ± 4.22	-3.00 ± 5.37	-1.77	0.11

注: $^{\#}$ 与其余各组比较, $P < 0.05$; * 与对照组相比 $P > 0.05$; $^{\blacktriangle}$ 与听宫组相比, $P > 0.05$

3 讨论

听性脑干反应(ABR)是检测声刺激诱发的

脑干生物电反应。张杰文等^[4]对 70 只 SD 大鼠进行 ABR 检测,发现大鼠 ABR 主要有 5 个波,偶可见 7 个波,其中 40 耳以 II 为主波,18 耳以 III 为主波,IV 及 V 波为主波同有 1 耳。杨旭春

等^[5]研究不同年龄组大鼠听性脑干反应,发现Wistar大鼠ABR以波Ⅲ为主波,其中幼年大鼠ABR阈值为 (29.00 ± 2.0) dB SPL,成年组 (31.50 ± 1.52) dB SPL,老年组 (53.00 ± 7.34) dB SPL。本研究所测大鼠ABR主要由Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ波等组成,各波分化好,以Ⅲ波振幅最大,最稳定,为主波,故本实验主要观察Ⅲ波反应阈的变化。

庆大霉素属于氨基糖苷类抗生素家族的一种广谱抗生素,可引起耳肾毒性,导致耳聋。张志存等^[6]对6~7周龄SD大鼠每日腹腔注射硫酸卡那霉素(500 mg/kg),连续2周,发现实验组大鼠ABR平均阈值上升超过60 dB,达到重度耳聋甚至全聋,经基底膜铺片、耳蜗冰冻切片检查,发现硫酸卡那霉素的耳毒性作用与螺旋神经节(SGCs)和内外毛细胞的损伤密切相关。Choung等^[7]研究韩国红参对庆大霉素耳毒性的拮抗作用时,以SD大鼠为研究对象,给予腹腔注射庆大霉素(160 mg/kg)5 d,12 d后测16 kHz及32 kHz的ABR阈值,庆大霉素组16 kHz的ABR阈值为 (27.7 ± 7.2) dB,32 kHz的ABR阈值为 (30.5 ± 6.6) dB,与正常组及对照组均有统计学差别,成功建立感音神经性耳聋模型。本实验中庆大霉素组、内听宫组及听宫组大鼠腹腔注射庆大霉素14 d后,ABR反应阈值均提高,且庆大霉素组ABR反应阈值提高 (20.50 ± 6.85) dB,与对照组比较差异具有统计学意义,说明感音神经耳聋模型成功建立;停止给予庆大霉素后庆大霉素组大鼠听力仍继续下降,实验20 d即停止注射庆大霉素后6 d,庆大霉素组ABR平均阈值为44.5 dB,与14 d比较差异具有统计学意义,考虑为体内蓄积庆大霉素对听力的继续损害。

临床试验及动物实验表明针灸可通过改善内耳微循环及血流变学状态^[8],解除内耳血管痉挛,同时降低血液黏度和血小板聚集,促进内耳毛细胞的再生和修复、抑制内耳毛细胞凋亡^[9]、改变听性脑干反应等多种途径来治疗感音神经性耳聋。临床上针刺治疗耳聋常用穴位有听宫穴、听会穴、翳风穴等,并且针刺听宫穴对ABR的影响明显强于其他穴位^[10-11]。已有研究表明针刺内听宫穴能够有效拮抗庆大霉素的耳毒性^[12],并且针刺内听宫穴能够提高突聋患者耳蜗听神经和外侧丘系桥脑的兴奋

性和传导性^[1]。本研究显示:实验14 d,内听宫组及听宫组大鼠ABR反应阈值与庆大霉素组ABR反应阈值有显著性差异($P < 0.05$),说明针刺治疗能够有效拮抗庆大霉素的致聋作用。内听宫组、听宫组大鼠20 d ABR反应阈值与14 d无显著性差异,说明停止注射庆大霉素后,针刺内听宫穴及听宫穴能够拮抗庆大霉素对大鼠听力的继续损害。对20 d各组大鼠ABR阈值进行单因素方差分析,发现内听宫组及听宫组大鼠ABR反应阈值均小于庆大霉素组,有显著性差异($P < 0.05$),说明针刺内听宫穴及听宫穴治疗均可降低庆大霉素致聋大鼠ABR阈值,减轻庆大霉素耳毒性,缓解药物对听力的损害,改善听力。

由于古代医疗设备条件简陋,无良好的照明设备,缺乏无菌消毒观念,限制了内听宫穴的应用,古人将听宫穴逐步由“耳中”演变为“耳前”、“耳门”直到“耳屏”;“耳中珠子”逐步改为“耳前珠子旁”、“耳门之前”、“耳屏前”直到“耳屏软骨根部中点前方0.5 cm处”,即现代公认的听宫穴,并使其得到广泛应用。本实验20 d内听宫组及听宫组大鼠ABR反应阈值无显著性差异($P > 0.05$),说明这针刺两个穴位对庆大霉素大鼠ABR的影响作用无明显差异,可见古人将听宫穴移至耳屏前是有其合理性的。

综上所述,针刺内听宫穴及听宫穴可以降低庆大霉素致聋大鼠ABR阈值,减轻庆大霉素耳毒性,改善听力,为治疗药物性耳聋提供新的思路。

参考文献:

- [1] 姜泗长,翟所强.耳鼻咽喉科实验技术[M].北京:人民军医出版社,1999:16-17.
- [2] 付平,郭长青,耿恩广.针刺翳风、耳门、中渚穴对药物中毒性听力损害豚鼠耳蜗基底膜病理组织形态的影响(英文)[J].中国临床康复,2006,10(23):183-185.
- [3] 付兴华,邓艳丽,张萍,等.大鼠弥漫性脑损伤后内耳听觉脑干反应和40 Hz听觉相关电位及多频稳态反应与血红素加氧酶-1的相关性研究[J].中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2012,18(5):333-338.
- [4] 张杰文,索爱琴,胡亚梅,等.大鼠脑干听觉诱发电位正常参考值研究[J].中原医刊,2006,33(19):4-6.

(下转第249页)