

参麦注射液足三里穴位注射对大鼠 SIRS 时肿瘤坏死因子的影响*

兰 菲, 傅天啸, 华 晨, 周 剑, 任大为, 傅永清[△]

(浙江中医药大学, 浙江杭州 310053)

摘要: 目的 观察参麦注射液足三里穴位注射对大鼠全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)时肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的影响。方法 建立大鼠 SIRS 模型。40 只 SD 大鼠随机分成空白对照组、针灸治疗组、参麦注射组和生理盐水组,每组各 10 只。造模成功 1h 后观察各组大鼠的一般情况;经 5d 治疗后,收集样本,检测血常规(白细胞计数 WBC)、动脉血气分析(PCO₂、PO₂)、血清肿瘤坏死因子 α (TNF- α)水平。结果 参麦注射组 WBC、TNF- α 水平显著低于其余 3 组($P<0.05$)。参麦注射组 PO₂ 水平显著高于空白对照组($P<0.05$),参麦注射组 PCO₂ 水平显著低于空白对照组($P<0.05$)。结论 参麦注射液足三里穴位注射治疗大鼠 SIRS 可减轻炎症反应,抑制炎症因子,保护肺功能。

关键词: 大鼠;全身炎症反应综合征;参麦注射液;足三里穴位注射;TNF- α

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2014)05-0009-04

全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)常导致多器官功能障碍,治疗较为棘手,死亡率较高。目前关于 SIRS 发病机制及病理生理过程的认识仍处于初级阶段,使其难以从根本上得到治疗。严重创伤、感染、休克可刺激机体释放过量的炎症介质形成“瀑布样”连锁放大反应^[1-2]。

本研究通过参麦注射液足三里穴位注射对大鼠全身炎症反应综合征时 TNF- α 表达水平结合血常规、动脉血气分析等改变的分析研究,以探讨其在 SIRS 反应的作用,为临床应用奠定实验基础。

1 实验材料

1.1 实验动物

健康 SPF 级雄性 SD 大鼠 40 只,平均体质量(350 $\pm$ 40)g。由浙江中医药大学动物实验研究中心提供,动物许可号:SYXK(浙)2008-0115。

1.2 药品

3%戊巴比妥钠(美国 sigma 公司,货号 P3761);参麦注射液(杭州正大青春宝药业有限公司,批号 Z33020021);大肠杆菌内毒素(LPS, E Coil 055:B5 美国 Sigma 公司产品);生理盐水;针灸针

(0.35*40mm, 华佗牌,苏州医疗用品有限公司,批号:GB2024-1994)。

1.3 主要仪器及试剂

动物手术器械、苏制 00000153 电子天平(常熟市衡器厂)、ABL520 型全自动血气分析仪(丹麦雷度公司)、MIK6108K 型全自动血细胞计数仪(日本 Nibon Koden 公司)、BIO-RAD680 型酶标仪(美国 BIO RAD 公司)等均由浙江中医药大学动物实验研究中心提供;血清肿瘤坏死因子 α 试剂盒(购自南京建成生物工程研究所)。

2 实验方法

2.1 分组及造模

40 只大鼠随机分成空白对照组、针灸足三里治疗组(简称针灸治疗组)、参麦注射液足三里穴位注射组(简称参麦注射组)和生理盐水足三里穴位注射组(简称生理盐水组),每组各 10 只。大鼠尾静脉注入 LPS 5mg/kg,建立一次打击大鼠 SIRS 模型^[3]。

2.2 分组实验方法

空白对照组在造模成功后不予以处理;针灸治疗组,针刺足三里,造模 1h 后开始第 1 次干预,针灸足三里(据拟人比照法,大鼠膝关节外下方当腓

* 基金项目:浙江中医药管理局基金项目(2012ZA043)

收稿日期:2014-07-13

作者简介:兰菲(1987-),女,江西贵溪人,在读硕士研究生,主要研究方向:中西医结合肝胆外科。

[△]通信作者:傅永清, E-mail: Fuyongqing1949@163.com。

骨小头下约 5mm 处),留针 5min,以后每 24h1 次;参麦注射组,造模 1h 后开始第 1 次注射,参麦注射液足三里穴位注射,0.1mL/100g,以后每 24h1 次;生理盐水组,造模 1h 后开始第 1 次干预,生理盐水注射液足三里穴位注射,0.1mL/100g,以后每 24h1 次。在 SIRS 模型建立后经 5 d 治疗后,采集标本及检测,予 3%戊巴比妥钠 16mg/kg 腹腔麻醉,麻醉成功后,剖开腹腔,推开肠管,完全暴露腹主动脉,快速抽取腹主动脉血 8~10mL。

2.3 检验指标

①白细胞计数(WBC):取血 3mL,采用血细胞计数仪检测。②PCO₂、PO₂:取 2~3mL 动脉血,肝素抗凝,采用全自动血气分析仪检测。③血清 TNF-α 含量测定:取血 3mL,采用 ELISA 法测定,具体步骤按试剂盒进行。

2.4 统计学方法

计量资料数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,使用 SPSS17.0 软件包进行单因素方差分析,以最小显著差值法(LSD 法)进行不同组别之间的两两比较,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 一般情况观察

在造模成功后,对大鼠进行行为学观察。各组大鼠先后出现精神软、反应慢、少动;毛发少华、发黄、甚至掉毛;体温升高、心率加速;不欲饮食、大便秘结等症。

3.2 各组大鼠 WBC 水平比较

与空白对照组对比,参麦注射组 WBC 水平显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与参麦注射组对比,空白对照组、针灸治疗组和生理盐水组 WBC 水平均增高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠 WBC 水平比较($\times 10^9/L$)

组别	n	WBC
空白对照组	10	8.00±2.09 [△]
针灸治疗组	10	7.20±1.39 [△]
生理盐水组	10	7.00±2.28 [△]
参麦注射组	10	4.50±1.90*

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$;与参麦注射组比较,[△] $P < 0.05$ 。

3.3 各组大鼠动脉血气分析 PCO₂、PO₂ 水平比较

与空白对照组相比,参麦注射组、针灸治疗组

和生理盐水组 PCO₂ 水平降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);与空白对照组相比,参麦注射组 PO₂ 水平升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

表 2 各组大鼠动脉血气分析 PCO₂、PO₂ 水平比较(mmHg)

组别	n	PCO ₂	PO ₂
空白对照组	10	47.83±2.48	76.33±8.91 [△]
针灸治疗组	10	43.33±3.83*	81.67±7.89
生理盐水组	10	41.00±3.52*	81.00±10.57
参麦注射组	10	42.17±3.92*	90.33±10.96*

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$;与参麦注射组比较,[△] $P < 0.05$ 。

3.4 各组大鼠 TNF-α 水平比较

与空白对照组相比,参麦注射组、生理盐水组 TNF-α 水平均显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);与参麦注射组相比,空白对照组 TNF-α 水平显著增高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

表 3 各组大鼠 TNF-α 水平比较(pg/mL)

组别	n	TNF-α
空白对照组	10	145.50±21.07 [△]
针灸治疗组	10	131.60±19.03
生理盐水组	10	124.80±28.21*
参麦注射组	10	120.20±21.56*

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$;与参麦注射组比较,[△] $P < 0.05$ 。

4 讨论

穴位注射疗法^[4]是以经络学说为指导,将药物与针灸结合起来通过对穴位双重刺激对疾病的一种治疗方式。目前研究^[5],穴位注射在一定程度上药效更优于口服、肌注,甚至接近或超过静脉给药,这主要是与药物的药理作用特点及其对不同经脉不同穴位的作用紧密相关。参麦注射液源于《症因脉治》的参冬饮,主要由人参和麦冬两味药提取精炼而成的,具有益气固脱、养阴生津等功效,主要含有人参皂苷、人参多糖、麦冬黄酮、麦冬皂苷等成分,这些成分经相关研究表明具有增强机体抗应激能力,调节和增进机体免疫功能^[6-7]。焦鹏^[8]报道参麦注射液治疗组临床症状的改善、血常规、IL-6、INF-α 指标好转均优于对照组,治愈率高于对照组,参麦注射液对 SIRS 有明显疗效。

当机体受到各种打击之后,免疫功能低下,机

体内促炎-抗炎自稳系统失衡,促炎反应占优势,导致炎症反应,继而出现 SIRS,甚者出现 MODS。其中 TNF- α 是始发因子,有统计表明 SIRS 患者血中的 TNF- α 的水平高低与病情危重程度呈正相关^[9]。肿瘤坏死因子诱使炎症反应是通过使中性粒细胞内发生氧化反应、脱粒,以及增加吞噬细胞活力,促使白细胞参与下产生的。本研究中参麦注射组 WBC 水平较生理盐水组、针灸治疗组及空白对照组降低,参麦注射组 TNF- α 的水平较生理盐水组、针灸治疗组及空白对照组降低,可见在炎症反应及炎症因子的调控上,参麦注射液足三里穴位注射对减轻大鼠 SIRS 炎症反应具有更强的作用。

研究证明^[10],内毒素(LPS)是革兰阴性杆菌致 SIRS 的主要原因,LPS 进入血液循环后,会与脂多糖结合蛋白结合形成复合物,进一步损伤肺泡毛细血管膜,增加通透性,导致急性肺损伤。赵明^[11]等报道参麦注射液及丹参注射液均能降低 LPS 腹腔注射后的血清 TNF- α 和 IL-6 水平,减轻肺、肝、肾等器官的损害。在本研究中,从空白对照组可见 LPS 致 SIRS 形成后,出现 PO₂ 明显降低,PCO₂ 明显升高,表明 SIRS 对肺功能影响。参麦注射组与空白对照组指标相比,可使 PO₂ 升高,降低 PCO₂,表明参麦注射液足三里穴位注射治疗大鼠 SIRS 时能改善肺通气功能,有保护肺功能的作用。

膻穴是人体脏腑经络之气输注于体表的特殊部位^[12]。《伤寒论》曰:“阳明病,胃家实是也”^[13]。祖国医学认为,若病邪侵袭阳明,经络失调,则病邪易于深入机体,并炽盛于周身,形成“胃家实”。此时,可引起机体循环系统功能紊乱,微血管内皮细胞和脏器实质细胞缺血、缺氧和功能障碍,血管通透性改变,细胞因子和炎症介质大量释放,从而导致 SIRS^[14]。“胃者,水谷之海,其输上在气街,下至三里。”此三里系指足三里穴。足三里穴为足阳明胃经合穴,胃之下合穴,具有调理脾胃、通经活络、补中益气、扶正祛邪之功效^[15]。本实验研究发现参麦注射液足三里穴位注射组 WBC、TNF- α 水平较空白对照组、针灸治疗组和生理盐水组 3 组降低,表明参麦注射液足三里穴位注射在治疗大鼠 SIRS 时,抑制炎症因子,控制炎症发展,从而起到抗炎作用。

通过本实验研究,全身炎症综合症时,参麦注射液组肿瘤坏死因子 TNF- α 及 WBC 表达水平均

明显低于其他 3 组,说明参麦注射液足三里穴位注射对大鼠 SIRS 时炎症因子 TNF- α 有抑制作用。参麦注射组与空白对照组动脉血气分析中,可使 PO₂ 升高,降低 PCO₂,说明参麦注射液足三里穴位注射可减轻肺部损害。我们认为参麦注射液足三里注射在防治 SIRS 中作用的研究在动物方面值得肯定,在临床运用上面有进一步研究价值。

参考文献:

- [1] 吴在德,吴肇汉. 外科学 [M]. 北京:人民卫生出版社,2008:46.
- [2] 徐建国,潘娅静,赵洁. 严重创伤患者改良的全身炎症反应综合征评分与损伤严重程度评分相关性分析 [J]. 中国急救医学,2011,31(9):844-846.
- [3] 胡森,盛志勇,周宝桐. MODS 动物模型研究进展[J]. 中国危重病急救医学,1999,11:504-507.
- [4] 李镁. 穴位注射疗法临床大全[M]. 北京:中国中医药出版社,1996:68.
- [5] 康志强,陈华德. 穴位注射作用效应及机制的研究进展 [J]. 浙江中西医结合杂志,2010,20(2):119-120.
- [6] 曹旭东,丁志山,陈建真. 参麦注射液药理及临床研究进展[J]. 中国中医药信息杂志,2010,17(3):104-106.
- [7] 余健,辛艳飞,宣尧仙. 参麦注射液药理作用的物质研究进展[J]. 医药导报,2013,32(2):497-500.
- [8] 焦鹏. 参麦注射液对全身炎症反应综合征的临床疗效研究[J]. 当代医学,2009,15(36):8-9.
- [9] 奥德,叶玉芬,吴博文,等. 炎性介质在全身炎症反应综合征的动态变化及相关性研究 [J]. 现代医学,2010,10(1):25-27.
- [10] 李玉洁,杨庆,杨岚,等. 内毒素致小鼠 SIRS 模型建立及两种贯众醇提取物对其保护作用的初步观察[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(8):187-189.
- [11] 赵明,蒋鹏,汪小梅. 参麦、丹参注射液治疗全身炎症反应综合征[J]. 江苏医学,2009,35(12):1467-1469.
- [12] 王建国,张春艳. 膻穴特性探微[J]. 云南中医学院学报,2013,36(3):64-65.
- [13] 郭任. 论全身炎症反应综合征的中医机理即《伤寒论》之“胃家实”[J]. 国医论坛,2009,24(6):1-2.
- [14] 苏群,杜崇军. 肿瘤坏死因子- α 和白介素-8 水平在急性呼吸衰竭患者中的变化及意义 [J]. 中华急诊医学杂志,2003,12(6):420-421.
- [15] 石学敏. 针灸学 [M]. 2 版. 北京:中国中医药出版社,2007:45.

(编辑:杨阳)

Effects of Shenmai Injection Zusanli Acupoint Injection on Rats SIRS Inflammatory Factor TNF- α

LAN Fei, FU Tian-xiao, HUA Chen, ZHOU Jian, REN Da-wei, FU Yong-qing
(Zhejiang Chinese Medical University, Zhejiang 310053, China)

ABSTRACT: **Objective** To observe the protective effects of Shenmai injection in Zusanli acupoint injection on rats systemic inflammatory response syndrome inflammatory factor TNF- α . **Methods** To establish a comprehensive model of systemic inflammatory response syndrome in rats. Forty SD rats were randomly divided into four groups ($n=10$), including Vacuity-contrast group (VC group), Acupuncture in Zusanli group (AZ group), Shenmai injection in Zusanli acupoint injection group (SZ group) and Physiological saline Zusanli point injection group (PZ group). To observed the general condition of rats when modeling success after 1h. After 5D treatment the rats were sacrificed, collect samples, detection of blood (white blood cell count, WBC); arterial blood gas analysis (PCO_2 , PO_2); serum tumor necrosis factor alpha (TNF- α) level. **Results** The WBC, TNF- α levels of the SZ group were significantly lower than the other three group ($P<0.05$). The PCO_2 levels of the SZ group were significantly lower than VC group ($P<0.05$). The PO_2 levels of the SZ group were significantly higher than VC group ($P<0.05$). **Conclusion** Shenmai injection in Zusanli acupoint injection for treatment of SIRS in rats may reduce the inflammation response, inhibit inflammatory factors, to protect lung function.

KEY WORDS: rats; systemic inflammatory response syndrome; Shenmai injection; Zusanli acupoint injection; TNF- α

(原文见第 6 页)

The Influence on Cartilage Ultrastructure in the Rabbit Knee Osteoarthritis under the Electron Microscope by the Massage Manipulation of Stretch Pulls Loose

WANG Chun-lin¹, XIANG Yong¹, TIAN Qi-dong¹, HU Luan¹, SHAO Chang-li²,
ZHAO Zhi-yong¹, DONG You-kang², LIU Jin-chen², ZHANG Ji², ZHONG Zhi-shang²
(1. Yunnan University of Traditional Chinese Medicine First Hospital, Kunming 650021, China; 2. Yunnan University of
Traditional Chinese Medicine of Acupuncture-Moxibustion-Rehabilitation Academy, Kunming 650500, China.)

ABSTRACT: **Objective** To research the influence on cartilage ultrastructure in the rabbit knee osteoarthritis under the electron microscope by the massage manipulation of stretch pull loose. **Methods** The adult Japanese white rabbits which made model of knee osteoarthritis by the building methods of Videman T were randomly divided into the stretch pull loose manipulation group, the sodium hyaluronate injected group, the model group and the blank group. To observe the change in cartilage ultrastructure of the rabbit knee osteoarthritis under the electron microscope after the treatment. **Results** The stretch pull loose manipulation has accurate therapeutic for the repair of damaged cartilage cells of rabbit knee osteoarthritis and it can promote the repair of the surface structure of cartilage. **Conclusion** The stretch pull loose manipulation can promote the repair of injury of knee osteoarthritis chondrocytes and cartilage surface structure, and it is the objective basis for the treatment of knee osteoarthritis.

KEY WORDS: Stretch pull loose manipulation; rabbit knee osteoarthritis; electron microscope