

• 论著 •

电针足三里激活胆碱能抗炎通路抗大鼠失血性休克的研究

李建国, 彭周全, 杜朝晖, 叶小丰, 周青, 贾宝辉, 王焱林

(武汉大学中南医院 ICU, 湖北 武汉 430071)

【摘要】 目的: 观察电针足三里穴对失血性休克大鼠平均动脉压(MAP)、动脉血乳酸及生存指标的影响, 探讨其对失血性休克的保护作用及其可能机制。方法: 100 只雄性 SD 大鼠按随机数字表法分为假休克组、休克组、非经非穴组、足三里组、迷走神经切断组、迷切后电针组、M 受体拮抗组、N 受体拮抗组、N 受体 $\alpha-7$ 亚单位拮抗组和胆碱酯酶抑制组 10 组, 每组 10 只。采用股动脉间断放血法复制失血性休克模型, 于模型制备成功即刻(0 min), 以 2~4 V 和 3 Hz 的强度持续电针刺激双侧足三里穴 30 min。刺激开始前颈总动脉置管连续监测 MAP, 0 min 和 43 min 时分别取股动脉血检测乳酸值。另取 40 只大鼠随机分为假休克组、休克组、非经非穴组和足三里组(处理与以上前 4 组相同) 4 组, 观察生存状况, 除此以外不作其他干预, 记录生存时间及存活率。结果: 休克组 MAP 持续较低, 43 min 时的乳酸值较 0 min 明显上升, 平均生存时间和各时间点的存活率也显著降低(P 均 < 0.01); 而非经非穴组上述情况与休克组相比无明显改变(P 均 > 0.05); 但电针足三里穴后 MAP 迅速显著升高, 43 min 时的乳酸值较 0 min 显著下降, 平均生存时间和各时间点的存活率均显著提高(P 均 < 0.01)。电针足三里前离断迷走神经, 上述作用则完全消失。电针足三里前静脉注射阿托品, 仍可产生与足三里组类似的保护效应, 但电针足三里前静脉注射六烃季胺或 α -BGT, 均可完全抵消上述保护效应。结论: 电针足三里穴具有潜在的抗失血性休克作用, 并且是通过激活胆碱能抗炎通路而实现的。

【关键词】 电针; 足三里穴; 休克, 失血性; 胆碱能抗炎通路

中图分类号: R245.97 文献标识码: A 文章编号: 1008-9691(2006)01-0027-05

Study on electroacupuncture at Zusanli points (足三里穴) against hemorrhagic shock of rats through activating cholinergic anti-inflammatory pathway LI Jian-guo, PENG Zhou-quan, DU Zhao-hui, YE Xiao-feng, ZHOU Qing, JIA Bao-hui, WANG Yan-lin. Department of Intensive Care Unit, Zhongnan Hospital, Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei, China

【Abstract】 **Objective:** To investigate the therapeutic effect and mechanism of electroacupuncture (EA) at Zusanli points (足三里穴) on the changes of mean arterial pressure (MAP), arterial lactate levels and survival indexes in rats with hemorrhagic shock (HS). **Methods:** One hundred SD rats were randomly divided into ten groups ($n=10$): sham shock group, HS group, non-acupoint group, Zusanli point group, bilateral cervical vagotomy group, vagotomy and EA group, muscarinic antagonist group, nicotinic antagonist group, α -bungarotoxin (α -BGT) group and tetrahydroaminoacridine (THA) group. Zusanli points were electroacupunctured with constant voltage (2-4 V, 3 Hz) for 30 minutes immediately after the shock model was established. Before the stimulation the carotid artery was intubated for continuously monitoring MAP. The levels of serum lactate in the femoral artery were detected at 0 and 43 minutes. Another 40 rats were randomly divided into sham shock group, HS group, non-acupoint group and Zusanli point group. Survival time and survival rate were observed in the four groups. **Results:** MAP was lower continuously, and the survival time and survival rate were lower in HS group, the levels of lactate was higher at 43 minutes compared with that of 0 minute (all $P < 0.01$). The differences of MAP, lactate level, survival time and survival rate were not significant in non-acupoint group compared to those of the HS group (all $P > 0.05$). After EA at Zusanli point, MAP, survival time and survival rate gradually increased but lactate obviously decreased at 43 minutes compare with that at 0 minute (all $P < 0.05$). And muscarinic antagonist group still had such effects ($P < 0.01$), but nicotinic antagonist group and α -BGT group had no such effects ($P > 0.05$). Atropine injected intravenously before EA at Zusanli point could produce the protective effects as same as that of Zusanli group, but after injecting hexamethonium bromide or α -BGT, the protective effects disappeared. **Conclusion:** The results suggest that EA Zusanli points produce a protective effect on HS of rats by the way of activating cholinergic anti-inflammatory pathway.

【Key words】 electroacupuncture; Zusanli points; hemorrhagic shock; cholinergic anti-inflammatory pathway

失血性休克是临床常见的危重症之一。新近发现,激活胆碱能抗炎通路(cholinergic anti-inflammatory pathway)不但能拮抗全身性炎症反应,对严重失血性休克也有治疗作用^[1]。该通路主要由迷走神经及其递质乙酰胆碱构成^[2]。大量资料证实,刺激足三里穴的信号冲动可到达迷走神经中枢的相关核团,使传出迷走神经兴奋性增加^[3-6]。故推测电针足三里穴有可能通过激活胆碱能抗炎通路,对失血性休克动物产生保护作用。本实验就此进行了研究。

1 材料与与方法

1.1 实验动物及分组:雄性 SD 大鼠 100 只(武汉大学医学院动物实验中心提供),体重(220±20)g,按随机数字表法分为 10 组,每组 10 只:①假休克组:除不抽血外,所有操作与休克组相同。②休克组:制备失血性休克模型。③非经非穴组:制模后电针刺激非经非穴。④足三里组:制模后电针刺激双侧足三里穴。⑤迷走神经切断组(迷切组):制模后切断双侧颈部迷走神经干。⑥迷切后电针组(迷切+电针组):制模并切断双侧迷走神经干,再电针刺激双侧足三里穴。⑦M 受体拮抗组(M 阻断组):制模后静脉注射 M 型胆碱能受体特异性拮抗剂阿托品,再电针刺激双侧足三里穴。⑧N 受体拮抗组(N 阻断组):制模后静脉注射 N 型胆碱能受体特异性拮抗剂六烃季胺,再电针刺激双侧足三里穴。⑨N 受体 α -7 亚单位拮抗组(α -BGT 组):动物制模后静脉注射 N 型胆碱能受体 α -7 亚单位拮抗剂 α -银环蛇毒素(α -bungarotoxin, α -BGT),电针刺激双侧足三里穴。⑩胆碱酯酶抑制组(THA 组):制模后直接静脉注射胆碱酯酶抑制剂四氢氨基吡啶(tetrahydroaminoacridine, THA, 他克林),模拟迷走神经兴奋的效应。另取 40 只雄性 SD 大鼠,体重(210±20)g,按随机数字表法分为假休克组、休克组、非经非穴组和足三里组(处理与以上前 4 组相同),仅观察生存状况至 180 min,不作其他干预。

1.2 失血性休克模型制备:采用股动脉间断放血法。用质量分数为 20%的乌拉坦(1 g/kg)腹腔注射麻醉后,行全身肝素化(600 U/kg 腹膜内注射)。分离颈总动脉并置管,通过压力传导系统与监护仪相连持续监测平均动脉压(MAP)。行左侧股动脉插管以备放血和采集标本用,并分离右侧髂静脉以注射药物。以 $1.8\sim 2.0\text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度放血,

15 min 内使 MAP 降至 25~30 mm Hg(1 mm Hg=0.133 kPa)^[1]。稳定 5 min 若血压不回升即为模型制备成功,并将此时间点定为 0 时(0 min)。

1.3 穴位刺激:双下肢剪毛备皮,取足三里穴于膝关节外下方腓骨小头下约 5 mm 处^[7],垂直进针 7 mm。自 0 min 开始,以脉冲电流持续刺激双侧穴位 30 min,刺激强度以大鼠下肢微颤为宜(频率 3 Hz, 2~4 V)^[8]。非经非穴点定位于足三里穴旁 0.5 cm 处^[8],刺激方法同足三里组。

1.4 药物处理及观察指标:电针刺激开始前, M、N 阻断组和 α -BGT 组及 THA 组分别经髂静脉注入阿托品(0.1 mg/kg)^[9]、六烃季胺(10.0 mg/kg)^[10]、 α -BGT(1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$)^[11]和 THA(1.5 mg/kg)^[10]。其余各组给予等量生理盐水。观察 MAP、血乳酸浓度、生存时间及存活率。

1.5 统计学分析:计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,用 SPSS12.0 For Windows2000 软件处理数据。采用单因素 ANOVA(analysis of variance)检验,独立样本间采用 post hoc(Bonferroni *t*)检验,生存率比较采用 Kaplan-Meier 方法分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

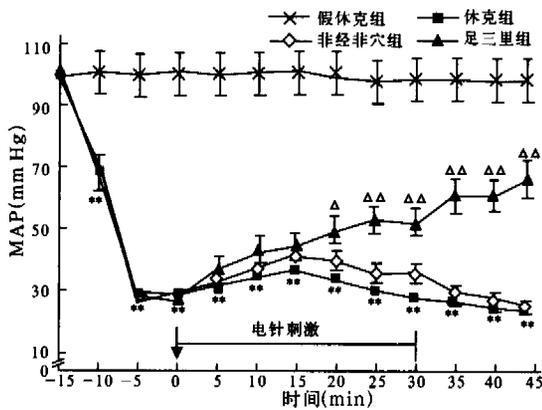
2 结果

2.1 MAP 的变化:由于到实验 43 min 时,已有部分大鼠开始死亡,故只观察 43 min 的 MAP 变化。休克组 MAP 持续处于低水平,均较假休克组相应时间点显著降低(P 均 <0.01 , 图 1)。非经非穴组 MAP 也持续较低,与休克组各相应时间点比较,差异均无显著性(P 均 >0.05)。而足三里组电针刺激后 MAP 进行性升高,于 43 min 左右时达高峰,与休克组各相应时间点比较,差异有显著性($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。迷切+电针组的 MAP 持续较低,均较足三里组刺激后各时间点显著降低(P 均 <0.01 , 图 2);但是与休克组相应时间点比较,差异均无显著性。THA 组的 MAP 也持续升高,与足三里组各相应时间点比较,差异均无显著性;而较休克组显著升高(P 均 <0.01)。M 阻断组的 MAP 也呈明显上升趋势,与足三里组各相应时间点比较,差异均无显著性;但与休克组相应时间点比较,均有显著升高(P 均 <0.01 , 图 3)。N 阻断组和 α -BGT 组各时间点的 MAP 与足三里组刺激后各相应时间点比较,均显著降低(P 均 <0.05 , 图 4);而与休克组比较,差异均无显著性。

2.2 血乳酸浓度(图 5):假休克组 0 min 和 43 min 的血乳酸水平差异均无显著性(P 均 >0.05),均处

基金项目:湖北省自然科学基金资助项目(2004ABA161)

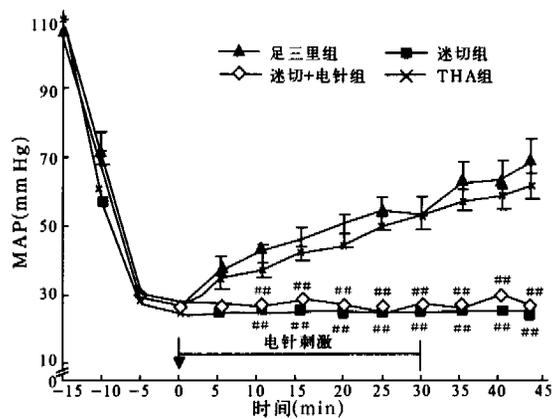
作者简介:李建国(1952-),男(汉族),河北隆克人,教授,硕士研究生导师,主任医师(Email: drlig@sina.com)。



注:与假休克组比较: * $P < 0.01$;
与休克组比较: $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

图 1 电针后假休克组、休克组、非经非穴组和足三里组 MAP 的动态变化

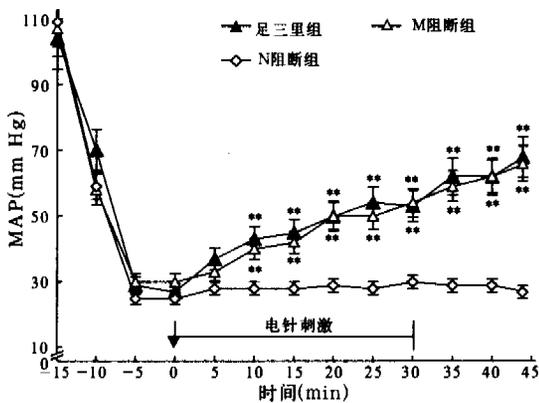
Figure 1 Changes of MAP after EA in sham shock group, hemorrhagic shock group, non-acupoint group and Zusanli point group



注:与足三里组和 THA 组比较: # $P < 0.01$

图 2 迷走神经离断后 MAP 的动态变化

Figure 2 Changes of MAP after bilateral cervical vagotomy



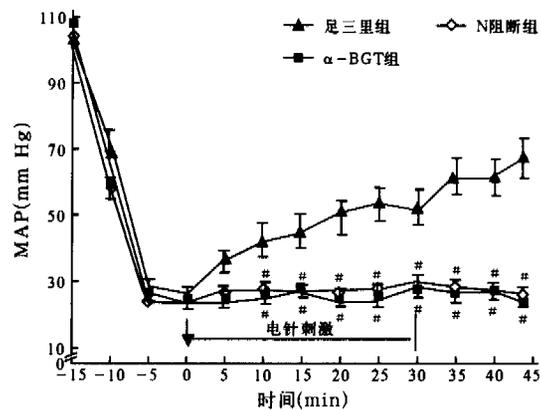
注:与 N 阻断组比较: * $P < 0.01$

图 3 M、N 受体阻断后 MAP 的动态变化

Figure 3 Changes of MAP after muscarinic antagonist and nicotinic antagonist

于低水平。休克组、非经非穴组和足三里组 0 min 的乳酸水平均较假休克组同时间点显著升高 (P 均 < 0.01), 而 3 组之间差异均无显著性 (P 均 > 0.05)。休克组、非经非穴组和足三里组 43 min 时的乳酸值与假休克组相同时间点值比较均显著升高 (P 均 < 0.01)。休克组和非经非穴组 43 min 时的乳酸值与本组 0 min 比较, 均显著升高 (P 均 < 0.01)。而足三里组 43 min 时的乳酸水平较本组 0 min 显著降低 ($P < 0.01$), 也显著低于休克组和非经非穴组相同时间点 (P 均 < 0.01)。

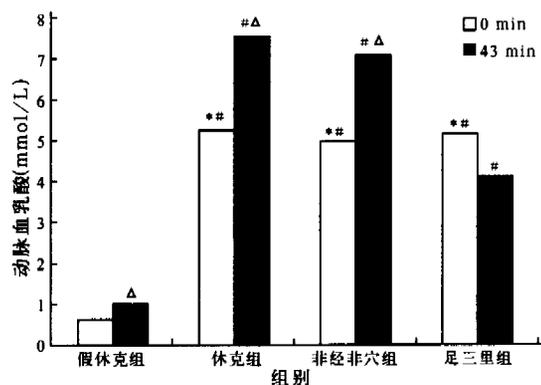
2.3 平均生存时间: 假休克组平均生存时间为超过 180 min, 休克组为 (48.7 ± 3.0) min (43~52 min), 非经非穴组为 (65.8 ± 3.3) min (34~98 min)、足三里组为 (165 ± 15) min (150~>180 min)。假休克组的平均生存时间显著长于其他各组 (P 均 < 0.01)。



注:与足三里组比较: # $P < 0.05$

图 4 N 受体及 $\alpha-7$ 亚单位阻断后 MAP 的动态变化

Figure 4 Changes of MAP after muscarinic antagonist and α -BGT administration



注:与同组 43 min 比较: * $P < 0.01$; 与假休克组同时间点比较: # $P < 0.01$; 与足三里组 43 min 比较: $\Delta P < 0.01$

图 5 0 和 43 min 时动脉血乳酸值比较

Figure 5 Changes of arterial blood lactate content at 0 and 43 minutes

非经非穴组的平均生存时间与休克组比较差异无显著性 ($P > 0.05$)。而足三里组的平均生存时间较休克组和非经非穴组显著延长 (P 均 < 0.01)。

2.4 存活率(图 6):休克组 60 min 存活率为 0,与假休克组各相应时间点比较显著下降($P < 0.01$)。非经非穴组各时间点的存活率与休克组各相应时间点相比,差异均无显著性(P 均 > 0.05)。足三里组 180 min 的存活率为 80%,与休克组和非经非穴组各相应时间点相比,均显著提高(P 均 < 0.01)。

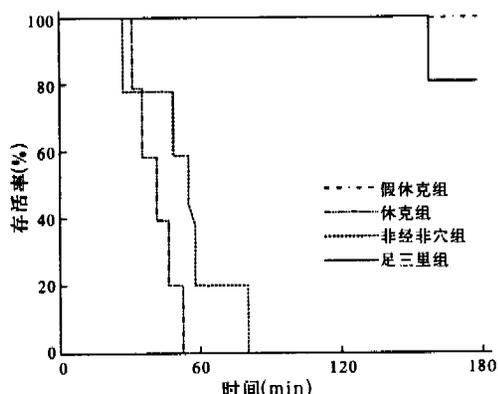


图 6 电针刺激后存活率的变化

Figure 6 Changes of survival rates after EA points

3 讨论

失血性休克的病理过程是严重血容量丢失,致组织有效血流灌注减少,严重时可触发自我破坏性全身炎症反应,能得不到及时治疗可发展为多器官功能障碍综合征(MODS)^[12,13]。因此,除积极进行止血和补充血容量以外,如何有效拮抗全身炎症反应的发生,也是近年研究的热点。

Borovikova 等^[2]发现,直接电刺激内毒素血症大鼠的外周迷走神经传出纤维,具有拮抗全身炎症反应和抗内毒素休克作用,从而提出了胆碱能抗炎通路的概念。随后又有研究证实,激活胆碱能抗炎通路对失血性休克动物也有保护作用^[1,14]。Guarini 等^[1]证实直接电刺激失血性休克大鼠迷走神经传出纤维,有明显的升压作用,并能显著延长动物的存活时间,提高存活率。我们也证实电刺激失血性休克大鼠迷走神经传出纤维与应用强效胆碱酯酶抑制剂 THA 有相同的保护作用,电刺激前静脉注射 N 胆碱能受体 $\alpha 7$ 亚单位的特异性拮抗剂 $\alpha - BGT$ 可以逆转电刺激迷走神经所产生的休克保护作用和抗炎作用,表明胆碱能抗炎通路的抗休克作用主要是通过 N 胆碱能受体 $\alpha 7$ 亚单位而实现的^[10]。最新的动物实验还发现,在促肾上腺皮质激素(ACTH)和高张盐水等措施逆转失血性休克时,胆碱能抗炎通路也发挥着必不可少的重要作用^[14,15]。因此设法激活胆碱能抗炎通路,如电刺激或针刺相关穴位来兴奋传出迷走神经等,有可能起到抗休克作用。大量研究资料

表明,针刺某些穴位能使传出迷走神经的兴奋性增高,其中最具有代表性的是足三里穴^[3-6,9,16]。有学者发现,电针刺激足三里穴能增强迷走神经中枢的兴奋性,明显影响 c-fos 基因和 P 物质在孤束核和迷走神经背运动核中的表达^[3,4]。Liu 等^[5,6]还证实,电针刺激足三里穴能明显增强大鼠胃肌电活动,使胃电图振幅降低、频率减慢,胃蠕动波的频率和幅值明显升高,并且血清胃泌素的含量明显降低,胃酸分泌抑制;而切断双侧迷走神经后,电针刺激足三里穴的上述作用消失,从而提出迷走神经胆碱能纤维是其传出途径。以上研究从中枢和外周神经及靶器官的变化方面证实了电针刺激足三里穴能兴奋传出迷走神经,因此电针刺激足三里穴可能具有激活胆碱能抗炎通路的潜能。

本实验中发现,电针刺激足三里穴后血压迅速显著回升,动脉血乳酸值明显下降,而且生存时间显著延长,存活率提高,证明对失血性休克动物确实具有保护作用。电针刺激足三里穴前若将动物的双侧迷走神经离断,上述抗休克作用完全消失,说明这种抗休克作用依赖于迷走神经的完整性。此外,电针刺激前应用 M 型胆碱能受体特异性拮抗剂阿托品,对上述休克保护效应并无影响,说明足三里穴的这种作用不是由 M 受体介导的。而电针刺激足三里穴前应用 N 型胆碱能受体拮抗剂六烃季胺或 $\alpha - 7$ 亚单位拮抗剂 $\alpha - BGT$, 均能完全抵消上述保护效应,证明足三里穴的这种作用是由 N 型胆碱能受体介导而实现的,并且主要是由含 $\alpha - 7$ 亚单位的 N 受体来介导。

Tracey 研究小组随后的实验发现,在巨噬细胞表面表达有 N 型胆碱能受体,并且明确鉴定出胆碱能抗炎通路就是通过该受体的 $\alpha - 7$ 亚单位发挥抗炎和抗休克效应的^[11]。我们的研究结果与 Tracey 小组的结论一致,证明胆碱能抗炎通路在其中确实发挥了重要作用。通过本实验,我们认为,电针刺激足三里穴对失血性休克具有保护作用,并且这种保护作用就是通过激活胆碱能抗炎通路来实现的。

参考文献:

- [1] Guarini S, Altavilla D, Cainazzo M M, et al. Efferent vagal fibre stimulation blunts nuclear factor- κ B activation and protects against hypovolemic hemorrhagic shock [J]. *Circulation*, 2003, 107:1189-1194.
- [2] Borovikova L V, Ivanova S, Zhang M, et al. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin [J]. *Nature*, 2000, 405:438-462.
- [3] 王景杰, 黄裕新, 王健, 等. c-fos 在电针调控大鼠胃运动中的表达及其意义 [J]. *针刺研究*, 2001, 26:274-278.

- [4]刘建华,李江山,严洁,等.针刺“足三里”对大鼠孤束核 P 物质的影响[J].针刺研究,2003,28:5-11.
- [5]Liu J H, Yan J, Hu J M, et al. Effects of electroacupuncture on gastric myoelectric activity and substance P in the dorsal vagal complex of rats[J]. Neurosci Lett, 2004, 356, 99-102.
- [6]张立德,闫醒予,王德山,等.针刺对健康家兔体表胃电图和 17 肽胃泌素的影响[J].中国针灸,1996,1:27-30.
- [7]华兴邦.大白鼠穴位图谱的研究[J].实验动物与动物实验,1991,1:1.
- [8]高魏,黄裕新,陈洪,等.电针“足三里”对大鼠脑肠肽含量的影响及其对免疫系统的调控作用[J].针刺研究,2002,27:50-56.
- [9]易受香,严洁,林亚平,等.针刺胃经穴对 M 受体阻断大鼠胃电及脑肠肽的影响[J].中国中西医结合杂志,2002,10:203-206.
- [10]李建国,胡正芳,杜朝晖,等.胆碱能抗炎通路对失血性休克大鼠保护和用的研究[J].中国危重病急救医学杂志,2005,17:24-27.
- [11]Wang H, Yu M, Tracey K J, et al. Nicotinic acetylcholine receptor α -7 subunit is an essential regulator of inflammation[J]. Nature, 2003, 384-388.
- [12]朱志宏.创伤性失血性休克[J].中国危重病急救医学,2001,13:383-385.
- [13]刘静杰,胡森.轻度低温对于非控制性失血性休克大鼠生存率及血清细胞因子的影响[J].中国危重病急救医学,2002,14:460.
- [14]Velasco I T, Baena R C. The role of the vagus nerve in hypertonic resuscitation of hemorrhagic shocked dogs[J]. Brazil J Med Biol Res, 2004, 37:419-425.
- [15]Guarini S, Cainazzo M M, Gualahi D, et al. Adrenocorticotropin reverses hemorrhagic shock in anesthetized rats through the rapid activation of a vagal anti-inflammatory pathway[J]. Cardiovasc Res, 2004, 63:357-365.
- [16]Liao J M, Lin C F, Ting H, et al. Electroacupuncture at HoKu elicits dual effect on autonomic nervous system in anesthetized rats[J]. Neurosci, 2002, 42:15-20.

(收稿日期:2005-06-10 修回日期:2005-12-01)
(本文编辑:郭方,李银平)

• 消息 •

第 13 届中国科技论文统计结果

2005 年 12 月 6 日,中国科技信息研究所在北京国际会议中心公布了 2004 年度中国科技论文统计与分析结果,其中医药学中影响因子较高的前 3 种期刊(根据 STPCD2004 年统计)分别如下。

2004 年度各医药学类期刊影响因子较高的前 3 种期刊

学科	排序	期刊	影响因子	学科	排序	期刊	影响因子
预防医学与卫生学类	1	中华结核和呼吸杂志	2.134	临床医学类	1	中华创伤骨科杂志	1.563
	2	中华传染病杂志	1.190		2	中华医学感染学杂志	1.410
	3	中华流行病学杂志	0.998		3	中华检验医学杂志	1.215
基础医学、医学综合类	1	中华医学管理杂志	1.289	保健医学类	1	中国康复医学杂志	0.704
	2	中华病理学杂志	1.084		2	中华物理医学与康复杂志	0.674
	3	中国危重病急救医学	1.080		3	中国运动医学杂志	0.409
医科大学学报类	1	第一军医大学学报	0.869	妇产科学、儿科学类	1	中华儿科杂志	1.310
	2	北京大学学报医学版	0.634		2	中华妇产科杂志	1.237
	3	中国医学科学院学报	0.535		3	中国儿童保健杂志	0.715
药理学类	1	中国药理学报	0.912	神经病学、精神病学类	1	中华神经科杂志	1.152
	2	中国新药与临床杂志	0.806		2	中华神经外科疾病研究杂志	1.011
	3	药物不良反应杂志	0.727		3	中华精神科杂志	0.985
口腔医学类	1	中华口腔医学杂志	0.771	内科学类	1	WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY	2.654
	2	口腔医学	0.555		2	世界华人消化杂志	1.769
	3	口腔颌面修复学杂志	0.528		3	中华消化杂志	1.315
外科学类	1	中华烧伤杂志	1.250	眼科学、耳鼻咽喉科学类	1	中华耳鼻咽喉科杂志	0.996
	2	中华骨科杂志	1.165		2	中华眼科杂志	0.877
	3	中国实用外科杂志	0.975		3	眼外伤职业眼病杂志	0.451
肿瘤学类	1	中华肿瘤杂志	1.079	中医学与中药学类	1	中西医结合学报	0.866
	2	中华放射肿瘤学杂志	0.661		2	中国中西医结合杂志	0.708
	3	癌症	0.598		3	中国中西医结合急救杂志	0.705
军事医学与特种医学类	1	中华放射学杂志	1.290	护理学类	1	中华护理杂志	1.494
	2	中华超声影像学杂志	0.712		2	中国实用护理杂志	1.147
	3	中国内镜杂志	0.614		3	解放军护理杂志	0.655