

· 论著 ·

电针内关对内毒素休克大鼠血浆一氧化氮及肿瘤坏死因子 浓度的影响

黎 晖¹, 李 春², 杜少辉³, 李伊为², 陈东风¹

(1. 广州中医药大学解剖学教研室, 广东 广州 510405; 2. 广州中医药大学护理学院, 广东 广州 510405; 3. 深圳市中医院, 广东 深圳 518000)

[摘要] 目的 观察电针内关对内毒素休克大鼠血压和血浆一氧化氮(NO)、肿瘤坏死因子 (TNF) 浓度的影响。方法 静脉注射内毒素 1.5 mg/kg、腹腔注射 D-氨基半乳糖 100 mg/kg 造成内毒素休克大鼠模型, 用电针内关和氨基胍作对照干预处理, 右颈总动脉插管测量血压, 取血浆检测 NO、TNF 浓度。结果 电针内关可以使内毒素休克大鼠血压回升, 降低血浆 NO、TNF 浓度。结论 电针内关可以改善内毒素休克时的低血压, 有抗休克作用, 这种保护作用可能是通过调节血浆 NO、TNF 浓度而产生的。

[关键词] 内关; 电针疗法; 休克, 内毒素性; 一氧化氮; 肿瘤坏死因子

[中图分类号] R245.31 [文献标识码] A [文章编号] 1672-1977(2003)04-0281-04

Influence of electro-acupuncture of Neiguan on plasmic concentrations of NO and TNF in endotoxin shock rats

LI Hui¹, LI Chun², DU Shao-Hui³, LI Yi-Wei², CHEN Dong-Feng¹

(1. Department of Anatomy, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong Province 510405, China; 2. Nurse College, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong Province 510405, China; 3. Shenzhen Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen, Guangdong Province 518000, China)

[ABSTRACT] **Objective** To observe the effect of electro-acupuncture of Neiguan(PC 6) on mean systemic arterial blood pressure and plasmic concentrations of NO and TNF in endotoxin shock rats. **Methods** The model of endotoxin shock was induced by lipopolysaccharide (1.5 mg/kg i.v.) and D-galactosamine (100 mg/kg i.p.). Aminoguanidine (100 mg/kg i.p.) and electro-acupuncture of bilateral Neiguan(PC 6) were administered. A catheter was inserted into the right subclavian artery to record the change of blood pressure and the blood was abstracted out and centrifuged to determine the NO and TNF concentrations. **Results** Electro-acupuncture of Neiguan(PC 6) retrieved the blood pressure and reduced the plasmic NO and TNF concentrations. **Conclusion** Electro-acupuncture of Neiguan(PC 6) expresses an anti-endotoxin shock effect by repressing the plasmic NO and TNF concentrations smoothly and retrieving the blood pressure stably.

[KEY WORDS] Neiguan; electro acupuncture; shock, endotoxic; nitric oxide; tumor necrosis factor-alpha

[J Chin Integr Med, 2003, 1(4) : 281-284]

脂多糖(lipopolysaccharide, LPS), 即细菌内毒素(endotoxin), 是革兰氏阴性菌细胞外壁的一种糖脂复合物成份。20 世纪 90 年代末期, 针对内毒素休克发病机制的各个环节, 展开了抗内毒素因子、抗低血压、抗 CD14、抗肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor-alpha, TNF) 和抗一氧化氮 (nitric oxide, NO) 等一系列新型疗法的探索研究。但是, 临床治疗实践未能取得预期的效果, 败血症休克、多器官功能衰竭等的死亡率有增无减。因此, 在这个问题的解决方法上, 传统的针刺疗法引起了我们的注意。以往研究表明, 针刺内关等穴位有抗失血性休克、抗过敏性休克等作用, 但是电针内关是否有抗内毒素休克作用, 可能与什么因素有关, 尚未见报道。

1 材料与方 法

1.1 材料 健康普通级 Sprague-Dawley 大鼠 150 只, 220 ~ 250 g, 雌雄不限, 雌鼠无孕, 由广州中医药大学实验动物中心提供。LPS, Sigma 产品; D-氨基半乳糖 (D-galactosamine, D-GalN), 重庆医科大学生产; 氨基胍 (aminoguanidine AG), CN CORP 产品; BL-410 生理仪, 广州中医药大学生理学教研室提供; 多频波电麻治疗仪 (海狮牌 ZJ7 型); NO 试剂盒和 TNF 试剂盒, 南京聚力生物医学研究所提供。

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (No. 39970914)、广东省中医药管理局基金资助项目 (No. 98447) 及深圳市科技局基金资助项目 (No. 200004087)

[作者简介] 黎 晖 (1972-), 男, 硕士, 讲师. Email: li_hui_@163.net

1.2 分组及处理 大鼠随机分成正常组、模型组、AG 组、电针内关组(以下简称电针组)、电针内关 + AG 组(以下简称电针 + AG 组)5 组,分 3 批进行实验,每批每组 10 只。动物于实验前 12 h 禁食,自由饮水,实验时腹腔注射 10% (W/V) 水合氯醛 0.3 ml/kg 麻醉,分离右颈总动脉,插 PE50 管,BL-410 生理仪观察并记录血压变化。待 10~20 min 血压稳定后记录血压并定为记录 0 点。除正常组外,其余各组于尾静脉注射 LPS 1.5 mg/kg,腹腔注射 D-GalN 100 mg/kg,正常组相应注射等量生理盐水。30 min 后 AG 组、电针 + AG 组腹腔注射 AG 100 mg/kg,电针组电针双侧内关,取穴参照《实验针灸学》^[1] 中有关大鼠取穴标记的方法,电针采用疏密波 2/14 Hz,强度 20~30 V(约为 1 mA),以上肢出现与电针频率相一致的轻微颤动为宜,持续至实验完毕。以上各组均于 0 min、30 min、60 min、90 min、180 min 各点取血 2 ml,同时回输等量生理盐水。所取血用肝素生理盐水抗凝,3 000 rpm 离心 30 min,取上清液用灭菌试管标记备用。

1.3 观察指标

1.3.1 平均动脉压的测定 右颈总动脉插 PE50 管,经三通管与压力变换器连接,输入台式电脑,由 BL-410 生理仪分析软件记录血压波形变化和数值。

1.3.2 血浆 NO 浓度的测定 按 NO 试剂盒(硝酸还原酶法)说明操作。取 3 支试管分别为标准(S)、测定(U)和空白(B)管,S 管内加入 100 μmol/L 标准液 100 μl,U 管加样品 100 μl,各管加 0.1 ml 试剂 1,靠近液面上方加 50 μl 试剂 2,用旋涡混合器充

分混匀,37℃ 水浴 1 h。加 0.5 ml 试剂 3 和 0.5 ml 试剂 4 混匀,置室温 10 min。540 nm 波长,0.5 cm 比色杯,B 管调零,测各管消光值。按下列公式计算:NO 浓度(μmol/L) = 样品消光值 × 100 / 标准管消光值。

1.3.3 血浆 TNF 浓度测定 按 TNF 试剂盒说明操作。从已洗涤 4 次保存的密封袋中取出所需抗体包被板条,平衡到室温,除空白孔外,分别加入样本和不同浓度的标准品(浓度分别为 500、250、125、62.5、31.25 ng/L),用封板胶封住反应孔,室温孵育 120 min。洗板 4 次,除空白孔外,加入检测工作液 100 μl/孔,封住板孔,室温孵育 60 min。洗板 4 次,加入底物 A (5a)、B (5b) 各 1 滴,避光室温 5~30 min。加入终止液(6)1 滴,混匀后即刻(5 min 内)测量 OD₄₅₀ 值。每个标准品与样本的 OD 值均减去空白孔 OD 值,手工绘制标准曲线,以标准品浓度作横坐标,OD 值作纵坐标,以平滑线连接各标准品的坐标点,标出样本 OD 值,在标准曲线上查出样本 TNF 浓度。

1.4 统计学方法 所有数值输入 SPSS 统计软件,计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 平均动脉压的测定结果 LPS 注射即时血压迅速下降,15 min 后血压有反跳现象,其后缓慢下降,成稳定的低血压趋势,30 min 注射 AG 或电针内关或电针内关 + AG 后,血压均有上升。各组比较结果见表 1,血压波动变化见图 1。

表 1 各组大鼠平均动脉压的变化

组别	n	$\bar{x} \pm s$ (kPa)								
		0 min	15 min	30 min	45 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min
正常组	10	14.3 ± 1.0	13.7 ± 0.8	13.9 ± 0.7	14.0 ± 1.2	13.8 ± 0.6	13.6 ± 2.0	13.7 ± 1.0	13.8 ± 0.8	13.8 ± 0.5
		13.8 ± 0.6	9.5 ± 0.4**	10.2 ± 0.3**	8.4 ± 1.0**	6.3 ± 0.3**	6.0 ± 0.1**	5.8 ± 0.5**	5.8 ± 1.0**	5.5 ± 1.2**
模型组	10	14.2 ± 0.6	9.0 ± 1.1**	10.0 ± 1.0**	11.2 ± 0.7	12.3 ± 1.3	12.1 ± 0.8	13.1 ± 0.5	13.6 ± 1.0	14.3 ± 1.2
		13.9 ± 1.2	8.8 ± 1.0**	9.5 ± 0.8**	9.2 ± 0.5**	8.8 ± 1.3**	8.6 ± 0.7*	8 ± 0.2**	8.6 ± 0.4**	8.3 ± 0.5**
AG 组	10	14.0 ± 0.8	9.3 ± 0.3**	9.6 ± 0.7**	11.0 ± 0.7	13.0 ± 0.4	12.6 ± 1.0	13.0 ± 0.2	13.3 ± 0.6	13.6 ± 0.3
		13.9 ± 1.2	8.8 ± 1.0**	9.5 ± 0.8**	9.2 ± 0.5**	8.8 ± 1.3**	8.6 ± 0.7*	8 ± 0.2**	8.6 ± 0.4**	8.3 ± 0.5**
电针组	10	14.0 ± 0.8	9.3 ± 0.3**	9.6 ± 0.7**	11.0 ± 0.7	13.0 ± 0.4	12.6 ± 1.0	13.0 ± 0.2	13.3 ± 0.6	13.6 ± 0.3
		13.9 ± 1.2	8.8 ± 1.0**	9.5 ± 0.8**	9.2 ± 0.5**	8.8 ± 1.3**	8.6 ± 0.7*	8 ± 0.2**	8.6 ± 0.4**	8.3 ± 0.5**
电针 + AG 组	10	14.0 ± 0.8	9.3 ± 0.3**	9.6 ± 0.7**	11.0 ± 0.7	13.0 ± 0.4	12.6 ± 1.0	13.0 ± 0.2	13.3 ± 0.6	13.6 ± 0.3
		13.9 ± 1.2	8.8 ± 1.0**	9.5 ± 0.8**	9.2 ± 0.5**	8.8 ± 1.3**	8.6 ± 0.7*	8 ± 0.2**	8.6 ± 0.4**	8.3 ± 0.5**

注:与正常组比较,* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与模型组比较, $P < 0.05$, $P < 0.01$;与 AG 组比较, $P < 0.05$, $P < 0.01$

2.2 血浆 NO 浓度的测定结果 模型组 NO 浓度持续上升, AG 可抑制 NO 浓度, 电针内关对 NO 浓度有影响。各组比较见表 2。以血压和 NO 浓度作相关性统计分析, 其相关系数为 - 0.8024, $P < 0.01$, 两者负相关关系有显著性。

2.3 血浆 TNF 浓度的测定结果 模型组 TNF

浓度于 90 min 时达峰值, AG 对 TNF 浓度无影响, 电针内关可抑制 TNF 浓度。各组比较见表 3, 标准曲线见图 2。以血压和 TNF 浓度作相关性统计分析, 其相关系数为 - 0.3642, $P > 0.05$, 说明两者无负相关关系。

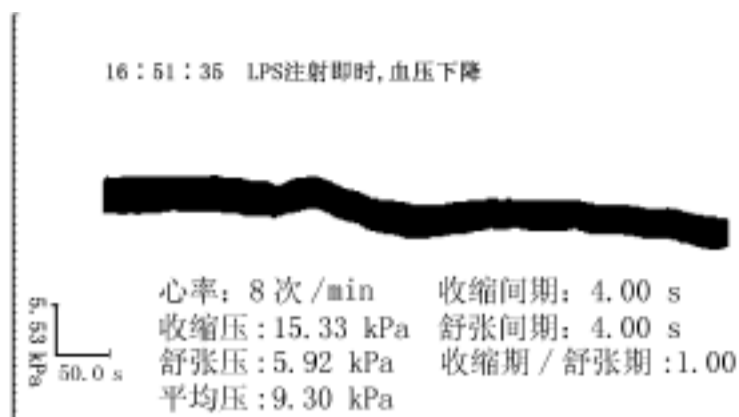


图 1 LPS 注射即时血压波形持续下降

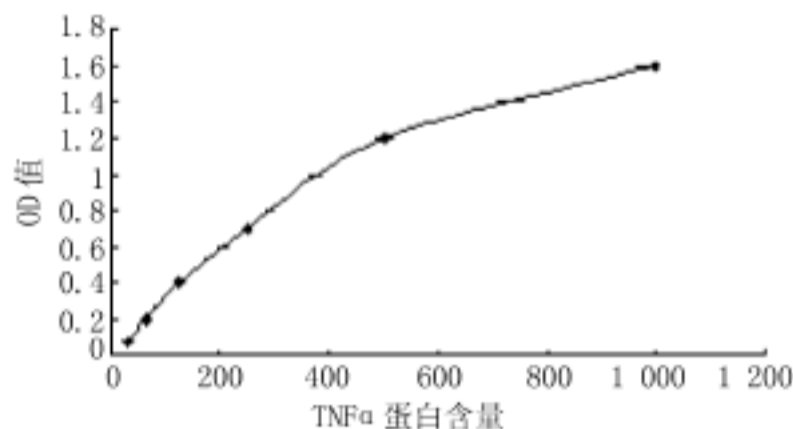


图 2 TNF 含量标准曲线

表 2 各组大鼠血浆 NO 浓度的变化

组别	n	0 min	30 min	60 min	90 min	180 min
正常组	10	18.03 ± 1.3	19.22 ± 4.8	20.82 ± 5.5	20.14 ± 4.8	22.94 ± 7.63
模型组	10	17.12 ± 1.5	57.52 ± 10.4**	65.12 ± 10.9**	88.33 ± 9.3**	137.34 ± 11.32
AG 组	10	16.80 ± 0.6	51.79 ± 9.5**	24.38 ± 6.7	22.34 ± 9.1	17.21 ± 10.44
电针组	10	16.31 ± 2.1	55.32 ± 14.3**	52.49 ± 15.4	75.91 ± 23.3*	74.55 ± 24.10*
电针 + AG 组	10	17.22 ± 1.1	64.85 ± 11.3**	25.73 ± 10.7	25.45 ± 12.5	28.36 ± 13.4

注:与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与模型组比较, $P < 0.05$, $P < 0.01$;与 AG 组比较, $P < 0.05$

表 3 各组大鼠血浆 TNF 浓度的变化

组别	n	0 min	30 min	60 min	90 min	180 min
正常组	10	4.3 ± 1.5	4.1 ± 2.1	3.8 ± 1.3	3.7 ± 1.3	4.2 ± 1.7
模型组	10	4.2 ± 1.4	28.5 ± 9.7*	60.4 ± 18.0**	247.0 ± 42.0**	180.0 ± 36.0**
AG 组	10	3.9 ± 2.6	30.1 ± 11.2*	65.6 ± 21.8**	260.0 ± 35.0**	210.0 ± 38.0**
电针组	10	3.8 ± 1.9	29.8 ± 10.6*	42.5 ± 20.3*	115.0 ± 33.0**	62.5 ± 19.0**
电针 + AG 组	10	4.1 ± 2.2	32.2 ± 13.3*	55.7 ± 22.6**	210.0 ± 52.0**	110.0 ± 39.0**

注:与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与模型组比较, $P < 0.05$, $P < 0.01$;与 AG 组比较, $P < 0.01$

3 讨论

虽然抗生素和血管升压治疗的研究取得较大进展, 败血症仍维持极高的病死率, 特别是伴随休克和多器官衰竭的病人。据文献报道, 败血症休克发病率目前仍在上升, 且死亡率高达 40% ~ 60%, 死于败血症的患者中约有 50% 存在持久的低血压和低血管阻力以及对升压治疗无反应性^[2]。细菌内毒素及其诱导的炎性细胞因子(如 TNF)刺激 NO 过度产生为败血症休克病理发生中关键性的中介机制^[3]。

NO 作为一个强大的血管扩张剂和细胞毒因

子, 在内毒素性休克中的大量合成、释放是导致机体血压下降的重要因素^[4]。生理状态下, 血管内皮细胞可持续释放 NO 以维持基础的血管舒张力和正常血压。当病原体直接侵入血液或全身性释放内毒素时, 触发巨噬细胞、T 淋巴细胞等释放 TNF 等炎性细胞因子, 这些炎性细胞因子诱导血管平滑肌及组织巨噬细胞等过度生成 NO, 一方面松弛平滑肌, 一方面产生细胞毒性而损伤组织。在内毒素的刺激诱导下, 机体各种细胞均可被诱导产生过多的 NO, 引起血管的广泛扩张和严重的低血压, 造成内毒素休克晚期持续性严重低血压及组织细胞和多器官的

严重损害。

内毒素源于外源性的细菌感染,中医病机应为邪盛内陷,内闭外脱,内关穴主治心痛、惊悸、神昏等,功能回阳救逆、醒神定志。针刺内关治疗的原理是扶正祛邪、调和阴阳、疏通经络,使失调的气血津液或脏腑趋向正常状态。

氨基胍是较受重视的非氨基酸类氮氧化物合酶抑制剂,因其对诱导型氮氧化物合酶有选择性,急性毒性较低,能有效升高内毒素休克时的血压,可能有临床应用前景^[5]。本实验结果表明,AG 和电针内关均可使内毒素休克鼠血压回升。AG 有显著的升压作用,用药 15 min 后即可使血压上升接近正常水平,至 180 min 甚至高于原基础血压;电针内关也有升压作用,血压回升稳定而缓慢,与模型组对比有差异,维持在脱离休克状态,提示电针内关可使内毒素休克大鼠血压回升,有抗内毒素休克作用,升压稳定而缓慢,可能更有利于机体恢复;电针 + AG 时主要显示为 AG 的升压作用。

本实验还观察到,AG 和电针内关均可使内毒素休克鼠血浆 NO 浓度降低。提示电针内关可使内毒素休克鼠血浆 NO 浓度缓慢下降,抑制 NO 的过量生成;AG 对 NO 浓度的抑制快速而且稳定;电针 + AG 对 NO 浓度也主要表现为 AG 的作用,与血压变化一致。但是,电针内关可使内毒素休克鼠血

浆 TNF 浓度降低,而 AG 对 TNF 浓度无影响,提示电针内关与 AG 在升高血压和降低 NO 浓度两方面有不同的作用机制;电针 + AG 也可使 TNF 浓度降低,表现为电针的作用,但其作用显著弱于单纯电针,提示 AG 可能通过某种机制减弱电针作用。因此,我们认为,电针内关可以改善内毒素休克造成的持续低血压,这种保护作用可能是通过调节组织内 TNF、NO 浓度而产生的。对电针内关可能通过何种机制调节 TNF、NO 浓度,我们正在作一步研究。

[参考文献]

- 1 林文注,王佩主编.实验针灸学[M].上海:上海科学技术出版社,1999.276-291.
- 2 罗正曜,刘双.败血症休克[A],见:罗正曜主编.休克学[M].天津:天津科学技术出版社,2001.5.
- 3 Parvillo JE. Pathogenetic mechanisms of septic shock [J]. N Eng J Med,1993,328:1471-1478.
- 4 Kilbourn RG, Griffith OW. Overproduction of nitric oxide in cytokine-mediated and septic shock [J]. J Natl Cancer Inst, 1992,84(11):827-831.
- 5 钟慈声,孙安阳主编.一氧化氮的生物医学[M].上海:上海医科大学出版社,1997.148-149.

[收稿日期] 2003-06-26 [本文编辑] 周庆辉

· 经验交流 ·

泮托拉唑或奥美拉唑合旋覆代赭汤治疗反流性食管炎的对比观察

王长洪,王立新,杨卓,陈山泉,朱虹,陆宇平
(沈阳军区总医院中医科,辽宁沈阳 110016)

[关键词] 胃食管反流;泮托拉唑;奥美拉唑;旋覆代赭汤

[中图分类号] R571 [文献标识码] A [文章编号] 1672-1977(2003)04-0284-01

反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)系指胃内容物反流至食管,引起食管黏膜糜烂性炎症改变,严重者可导致食管溃疡或狭窄,是消化道常见的动力障碍性疾病。我科 2001~2002 年,应用泮托拉唑(pantoprazole)加旋覆代赭汤治疗 RE 30 例,并与奥美拉唑(omeprazole)加旋覆代赭汤治疗的 30 例进行对比观察,现报告如下。

1 资料和方法

1.1 临床资料 本组 60 例 RE 系我科住院及门诊患者。其中男 42 例,女 18 例,年龄 24~69 岁,平均 38.5 岁,病程 3 个月~5 年,平均 2.35 年,均因反酸、灼心、胸痛等反流症状而就

诊。经胃镜证实为 RE,4 周内未服用过抑酸药及其他影响胃肠功能的药物。胸痛患者均经心电图除外冠心病心绞痛。

1.2 内镜检查 RE 的内镜诊断及分级按中国试行标准^[1]。共分 4 级,患 Barrett 食管(BE)或食管狭窄等并发症者,即列入 Ⅳ 级。

1.3 治疗和观察方法 根据反酸、灼心、胸痛症状严重程度进行记分。0 分为无症状;1 分为症状轻微可以忍受;2 分为症状介于 1 分、3 分之间;3 分为症状明显,不能忍受,需休息

(下转第 311 页)

[作者简介] 王长洪(1944-),男,硕士,主任医师。