

穴位埋线早期干预对糖尿病大鼠血浆内皮素及胃窦一氧化氮含量的影响

陈耀龙¹ 陈淑慧² 指导:陈荣钟³

(1 广州中医药大学第一附属医院, 广东省广州市机场路 14 号; 2 广州中医药大学附属广东省中医院; 3 广州中医药大学附属深圳医院针灸科)

摘要 目的:探讨 ET、NO 在糖尿病胃肠运动功能障碍发病进展过程中的作用和穴位埋线法早期干预的作用机理。方法:采用前瞻性随机对照动物试验,用自制的高脂饲料喂养+链脲佐菌素腹腔注射的方法制作出 38 只糖尿病模型大鼠,随机分为穴位埋线治疗组和模型空白对照组,每组 19 只,另外取 13 只健康大鼠作为正常空白对照组。穴位埋线治疗组大鼠用埋线治疗,7 天 1 次,共埋线 12 次;模型空白对照组大鼠给予自由饮食,不做任何处理,饲养 12 周。12 周后抽血和取胃窦组织进行血浆内皮素和胃窦一氧化氮(NO)含量的测定。结果:模型空白对照组大鼠血浆内皮素含量明显高于穴位埋线治疗组和正常空白对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),穴位埋线治疗组与正常空白对照组血浆内皮素含量比较无统计学意义($P > 0.05$);模型空白对照组大鼠胃窦 NO 含量明显低于穴位埋线治疗组和正常空白对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),穴位埋线治疗组与正常空白对照组胃窦 NO 含量比较无统计学意义($P > 0.05$)。结论:血浆 ET、胃窦 NO 含量的变化提示糖尿病胃肠局部微循环障碍是糖尿病胃肠并发症的主要病理基础,早期采用穴位埋线法进行干预,能降低 ET,升高 NO 水平。

关键词 糖尿病大鼠/穴位埋线;一氧化氮

Impact of Acupoint Catgut Embedment on Contents of ET and NO in Diabetic Rats

Chen Yaolong¹, Chen Shuhui², Chen Rongzhong³

(1 the First Hospital, Guangzhou University of Chinese Medicine, Add.: No. 14, Airport Road, Guangzhou, Guangdong Province; 2 Guangdong Hospital of Chinese Medicine, GUCM; 3 Acupuncture Department of Shenzhen Hospital, GUCM)

Abstract Objective: To discuss the role of endothelin (ET) and nitrogen monoxidum (NO) in gastrointestinal motility dysfunction and the mechanism of catgut embedment at acu-points for early intervention. **Methods:** In the prospective randomized controlled animal trial, the diabetic model was established on 38 rats by giving lipoproteine rich feeds and intraperitoneal injection of streptozotocin, which were randomized to a positive control group, or be embedded with catgut at acupoints (12 times, once per 7 days). Another 13 healthy rats were taken as normal controls. After 12 week, the contents of ET and NO in sinus ventriculi were determined. **Results:** The positive control group showed significantly higher ET content, and significantly lower NO content ($P < 0.05$) when compared with the embedment and normal groups, the two of which were not statistically different ($P > 0.05$). **Conclusion:** The gastrointestinal microcirculation disturbance could be the main pathological basis of the diabetic gastrointestinal complication, as indicated by the content changes of ET and NO, which can be regulated by acupoint catgut embedment if applied at the early stage.

Key Words Diabetic rats/ Acupoint catgut embedment; NO

糖尿病胃肠运动功能障碍是糖尿病慢性合并症之一,现代医学对于其发病机制尚未完全阐明,在诸多的致病假说中,ET 和 NO 的比例失衡是研究的热点之一。本实验通过比较血浆 ET、胃窦 NO 含量的变化,以及穴位埋线早期干预对其影响,来探讨 ET、NO 在糖尿病胃肠运动功能障碍发病进展过程中的作用和穴位埋线法早期干预的作用机理。

1 材料

1.1 实验动物 健康 3 月龄雄性 SD 大鼠 51 只,SPF 级,体重 180 ~ 220g,均购自南方医科大学实验动物中心。大鼠饲养于 12h 阳光照、12h 黑暗的广州中医药大学第一附属医院清洁级动物实验室,实验动物合格证号 SCXK(粤)2006-0015,2006B023,2006A051,每

笼 5 只,普通大鼠饲料饲养,自由摄食、饮水,室温控制在 23℃ ~ 26℃,相对湿度 60%。

1.2 主要试剂 链脲佐菌素(streptozotocin, STZ):美国 Sigma 公司产品,500mg/瓶,购自广州威佳科技有限公司。内皮素(ET)测试盒:采用北京普尔伟业生物科技有限公司生产的碘[125I]内皮素放射免疫分析药盒,型号 50T。一氧化氮试剂盒:南京建成生物工程研究所第一分所生产,型号 50T。BCA 法蛋白浓度试剂盒:广州市达晖生物技术有限公司,批号 DH-B001。PBS:中山大学达安基因股份有限公司,批号 070919。常规试剂:广州试剂厂。

1.3 主要仪器 SN-695B 型放免 γ 测量仪:上海原子核研究所日环仪器厂。UV-754 型紫外可见分光

光度计:上海第三分析仪器厂。752S 型紫外可见分光光度计:上海棱光技术有限公司。

2 方法

2.1 实验动物分组及糖尿病模型制作 将实验大鼠购回先稳定饲养 7 天,抽样监测其基础血糖,然后随机抽取 51 只,按完全随机的方法分为 3 组,13 只作为正常空白对照组,其余 38 只制作糖尿病模型。正常空白对照组在整个实验过程中使用普通饲料喂养,糖尿病组用自制的高脂饲料喂养 2 个月,进行饮食诱导。两种饲料组成及热量比较如表 1。糖尿病组大鼠在高脂饲养 2 个月后,造模前禁食 12h 称重,然后将新鲜配制的 2% 链脲佐菌素溶液按 30mg/kg 的剂量经腹腔一次性注射,正常对照组大鼠单次腹腔注射等容量的柠檬酸钠缓冲液。大鼠造模后,给予自由饮食。每日观察动物健康状况,包括精神与体态、毛色、饮食、二便等,称量体重变化。至造模后第 7 天,所有实验大鼠在非禁食情况下剪尾采血,用 8 号血糖试纸在美国 ONE TOUCH 血糖仪测血糖值,以血糖 $\geq 16.7\text{mmol/L}$,尿糖在(+++)以上,并出现进食、饮水量增加及体重下降症状,视为糖尿病模型成功^[1]。符合实验纳入标准(血糖 $\geq 16.7\text{mmol/L}$)的有 38 只大鼠,成模率 100%。糖尿病模型大鼠编号后查随机数字表,按奇偶数随机分为穴位埋线治疗组和模型空白对照 2 组,每组各 19 只。模型成功后,使用普通饲料饲养 12 周,期间不用降糖药控制血糖,自由摄食、饮水,每天观察并记录动物一般状况(包括饮食、排泄物、分泌物、毛发、精神状态、自主运动、眼白内障、死亡等的变化)。取标本前再次测定血糖,若血糖值降低至 $< 16.7\text{mmol/L}$,则剔除该标本。

2.2 埋线处方与方法

2.2.1 穴位处方 选取脾俞、中脘、足三里、关元、气海、天枢作为穴位埋线处方,其中,脾俞和中脘一组,足三里和关元一组,气海和天枢一组,3 组交替埋线,脾俞、天枢和足三里穴两侧交替埋线(参照全国针灸学会实验针灸研究会制定的《实验动物针灸穴位图谱》中“大鼠针灸穴位”定穴)。

2.2.2 埋线方法 先进行腹部腧穴的埋线操作,将大鼠在清醒状态下仰卧固定于大鼠操作台上,先将针芯向外拔出约 1cm,用有齿血管钳将 0.4~0.6cm 长的小段医用羊肠线装入 8 号注射针针头中,埋线时,穴位皮肤局部消毒后,将注射针头刺入穴位,抵住毫针针尾,同时缓慢将注射针头退出,使针头内的羊肠线植入穴位内,待觉指下有空虚感后方可出针,检查羊肠线尾端无外露,无出血,用消毒干棉球按压针孔片刻。随后将

大鼠俯卧固定于大鼠操作台上,按照相同的操作方法进行脾俞穴的埋线。穴位埋线治疗组大鼠从成模后第 1 天开始埋线治疗,7 天 1 次,共埋线 12 次。模型空白对照组大鼠给予自由饮食,不做任何处理,饲养 12 周。

2.3 观察指标及方法

2.3.1 血浆内皮素(ET)测定 造模完成后 12 周,各组大鼠术前禁食 24h 后,称量体重、测血糖并作记录,再分别给予每只大鼠半固体糊灌胃,2mL/只。30min 后用 1% 戊巴比妥钠($30\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)腹腔麻醉,腹主动脉抽血 2mL 置于已含 10% EDTA 二钠 30uL 和抑肽酶 40uL 的试管中,摇匀血样,将摇匀的血样于 4℃,3000r/min 离心 15min,吸取上清液,放入 -20℃ 冰箱保存,待测 ET。采用上海原子核研究所日环仪器厂 SN-695B 型放免 γ 测量仪进行测定,操作环境 $< 10^\circ\text{C}$,根据试剂盒说明书,按放射免疫法测定血浆内皮素的含量。

2.3.2 胃窦 NO 测定 腹主动脉取血后迅速打开腹腔,先测定胃排空率和小肠推进率,再迅速剪取胃窦,胃窦组织去掉黏膜与浆膜,保留平滑肌,用预冷的磷酸缓冲液(PBS)(PH = 7.4)冲洗干净,取 300mg 的组织块,滤纸吸干,精确称重后组织匀浆,4℃,1000r/min 离心 5min,收集上清即为 NO 提取物待测。根据试剂盒说明书进行 NO 含量及蛋白浓度的测定。

2.4 统计学方法 样品测定数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组内治疗前后的计量资料的差别和 2 组间计量资料的差别以 One-way ANOVA 模型进行分析(SPSS13.0 统计软件)。

表 1 2 种饲料的组成

	普通饲料		高脂饲料	
	比例(%)	占总能量百分比	比例(%)	占总能量百分比
脂肪	3.67	10.21	28.27	56.89
碳水化合物	53.77	66.5	31.68	28.34
蛋白质	18.83	23.29	16.51	14.77
其它	23.73	—	23.54	—
合计	100	100	100	100

表 2 各组大鼠血浆内皮素和胃窦 NO 含量比较

组别	血浆内皮素($\mu\text{g/mL}$)	胃窦 NO($\mu\text{mol/gprot}$)
正常空白组	89.23 $\pm$ 15.20	3.29 $\pm$ 0.70
DM 模型组	273.91 $\pm$ 21.46	0.94 $\pm$ 0.26
埋线组	110.82 $\pm$ 18.69*	2.87 $\pm$ 0.38 $\Delta\Delta$

注:与 DM 模型组比较,* $P < 0.05$;与正常空白组比较, $\Delta P > 0.05$;与 DM 模型组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

3 结果

3.1 各组大鼠血浆内皮素含量的比较 与正常空白对照组比较,模型空白对照组血浆 ET 水平显著升高

($P < 0.05$); 穴位埋线治疗组血浆 ET 水平略有升高, 与正常空白对照组比较无显著性差异 ($P > 0.05$); 与模型空白对照组比较, 穴位埋线治疗组血浆 ET 水平明显下降 ($P < 0.05$)。见表 2。

3.2 各组大鼠胃窦 NO 含量的比较 与正常空白对照组比较, 模型空白对照组胃窦 NO 水平显著降低 ($P < 0.05$); 穴位埋线治疗组胃窦 NO 水平略有下降, 与正常空白对照组比较无显著性差异 ($P > 0.05$); 与模型空白对照组比较, 穴位埋线治疗组胃窦 NO 水平明显升高 ($P < 0.05$)。见表 2。

4 讨论

ET 和 NO 是内皮系统分泌的血管活性物质, ET 是强血管收缩肽, 可以促进平滑肌细胞有丝分裂和增殖。NO 的效应是使血管舒张, 抑制血小板聚集, 同时可以限制细胞有丝分裂, 抑制平滑肌细胞增殖, 防止血管粥样硬化。国外有学者认为 NO 是糖尿病血管学说和神经病变代谢学说之间的潜在桥梁, 而 ET 是与之效应相反的血管活性物质。体内许多物质的舒张血管作用依

赖完整的血管内皮释放 NO。同时, NO 作为抑制性非肾上腺素能-非胆碱能神经 (NANC) 神经元的递质, 可以直接参与胃运动功能的调节。它在胃排空的肠壁机械感受器和化学感受器的反馈中发挥重要作用^[2]。本实验结果表明, DM 模型组大鼠血浆 ET 水平明显高于正常空白组大鼠, 胃组织 NO 水平明显低于正常鼠, 提示成模鼠已存在血管内皮细胞 (VEC) 的结构损伤和功能障碍, 以及周围神经 (迷走神经) 的病变。穴位埋线早期干预能降低 ET, 升高 NO 水平, 提示本法有保护 VEC, 改善其功能障碍, 保护周围神经 (迷走神经) 和减轻糖尿病对周围神经 (迷走神经) 的损伤, 具备了对糖尿病并发的胃肠运动功能障碍的早期防治作用。

参考文献

- [1] 王春梅, 刘艳, 王艳, 等. 内皮素、一氧化氮与糖尿病周围神经病变关系的研究. 医学新知杂志, 2002, 12(1): 10-12.
- [2] Orihata M, et al. Nitric oxide mediates mechano-and chemoreceptor activated intestinal feedback control of gastric emptying. Dig Dis Sci, 1996, 41(14): 1303.

(2009-12-01 收稿)

赵云芳治疗青春期痤疮经验

臧 海 洋

(新沂市中医院内科, 江苏省新沂市钟吾路 80 号, 221400)

关键词 青春期痤疮/中医药疗法

赵云芳, 河南中医学院教授, 硕士生导师, 从事教学、临床、科研工作 30 余年, 现将其治疗青春期痤疮的经验总结如下。

1 病因病机

青春期痤疮, 中医学将其称为粉刺、肺风粉刺、酒刺等, 俗称青春痘。赵老师总结多年临床经验认为本病是因素体阳热亢盛, 肺经郁热, 腠理不密, 风邪乘袭, 邪毒肺热蕴于肌肤所致, 诱因由饮食不节, 过食辛辣油腻之品, 使脾胃积湿生热, 湿热上蒸颜面等处, 使毛孔壅闭, 皮肤排泄不畅所致。故肺热壅盛, 腠理郁闭是本病之病机。

2 辨证论治

在治疗上赵老师主张以宣肺清热、散结消肿为治疗大法, 针对病机常用临证经验方“宣表祛痘汤”。基本方为: 荆芥 12g, 防风 10g, 羌活 12g, 白芷 12g, 黄芩 12g, 黄柏 10g, 桑白皮 12g, 枇杷叶 12g, 茜草 12g, 牡丹皮 12g, 赤芍 15g, 蝉蜕 10g, 皂角刺 12g, 僵蚕 12g, 白花蛇舌草 15g。用药方法: 先将上 15 味药置于锅内, 加水 500mL 浸泡 10min 后, 急火煎 10min 左右, 煎约 300mL 药汁分 2 次温服; 再将锅内药渣加水 600mL, 煎 5min 左右即可, 取药汁分两次外洗, 每次洗约 5min, 15 天为 1 个疗程。药物加減: 若见颜面、胸、背部米粒大小的白色丘疹, 或底部微红者, 方中清热凉血之品黄芩、黄柏、茜草、牡丹皮、赤芍皆可减量, 一般为 3~6g, 其他药物剂量同上。若见颜面部鲜红色丘疹, 较米粒稍

大, 有时融合成片者, 方中荆芥、防风、羌活、白芷皆可减量至 3g, 加水牛角 15g, 其他药物剂量同上。

3 病例

患者某, 女, 22 岁, 大学生。面部、额、面颊、鼻满布红色丘疹, 甚至融合成片, 后背部可见少量, 伴皮肤发热、烦躁、少汗、口渴、大便干结, 月经先期, 量多等症状, 舌质红, 苔薄黄, 脉洪数。经多方求治未效, 多以清热解毒利湿为法。赵老师辨证为肺热壅盛, 腠理郁闭。方选“宣表祛痘汤”; 处方: 荆芥 3g, 防风 3g, 羌活 3g, 白芷 3g, 黄芩 12g, 黄柏 10g, 桑白皮 12g, 枇杷叶 12g, 茜草 12g, 牡丹皮 12g, 赤芍 15g, 蝉蜕 10g, 皂角刺 12g, 僵蚕 12g, 白花蛇舌草 15g, 水牛角 15g。用药 7 天后, 红色斑丘疹逐渐消失, 颜面疤痕减小。继续用药, 共用 1 个疗程, 患者痤疮消失, 颜面光滑润泽。半年后随访未见复发。

4 体会

痤疮是一种青春期常见的毛囊皮脂腺的慢性炎症性疾病, 表现为粉刺、丘疹, 好发于富含皮脂腺的部位, 面部较为常见。赵老师辨治本病, 着眼于“肺热壅盛”, 以宣肺清热为主, 佐以散结, 临床取得满意疗效。方中桑白皮、枇杷叶清肺中郁热, 宣散肺气; 黄芩、黄柏、清热燥湿; 白花蛇舌草、茜草、牡丹皮、赤芍凉血散瘀; 皂角刺软坚散结; 蝉蜕、僵蚕、荆芥、防风、羌活、白芷辛温芳香, 畅达阳气化湿, 可引药上行头目, 驱邪毒外泄, 诸药相配, 痤疮可愈。同时嘱患者饮食有节, 少食辛辣肥甘之品, 畅情志, 适当运动, 起居有时。

(2009-07-21 收稿)