

刺络泻血对高脂血症模型大鼠血脂、NO 及 ET-1 影响的研究

战慧敏 赵慧玲 谭丽 陈子晨 张博 曾蕊 魏丹蕾

(北京中医药大学针灸推拿学院, 北京, 100029)

摘要 目的:观察刺络泻血疗法对高脂血症大鼠一氧化氮(NO)、内皮素-1(ET-1)及血脂的影响,探讨刺络泻血疗法对高脂血症模型大鼠调脂的作用及机制。方法:将 32 只雄性 SD 大鼠随机分为 4 组,每组 8 只即空白对照组、模型组、刺血观察组、药物观察组,除空白对照组外,其他组大鼠给予高脂饲料喂养建立高脂血症模型。造模成功后空白对照组不进行任何干预;模型组只进行抓取及按压;刺血观察组在大鼠后肢浅静脉进行刺血干预,0.3~0.5 mL/次,2 次/周,治疗 4 周;药物观察组给予辛伐他丁 2 mg/(kg·d)灌胃干预,治疗 4 周。观察大鼠的血清总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、一氧化氮(NO)、内皮素-1(ET-1)水平。结果:与空白组比较,模型组大鼠血清 TC、TG、HDL-C、ET-1 含量均显著上升,HDL-C、NO 含量显著降低,差异有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,刺血组及药物组大鼠血清 TC、TG、HDL-C、ET-1 含量均降低,HDL-C、NO 含量均上升,差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论:刺络泻血疗法可以纠正脂质代谢异常,并通过抑制 ET-1 含量的增加而维持血管内皮细胞平衡,从而减轻和延缓内皮细胞损伤。

关键词 刺络泻血;高脂血症;血脂;一氧化氮;内皮素-1;大鼠

Effect of Blood-letting Puncture on Blood Lipid, NO and ET-1 in Rats with Hyperlipidemia

Zhan Huimin, Zhao Huiling, Tan Li, Chen Zichen, Zhang Bo, Zeng Rui, Wei Danlei

(School of Acupuncture-Moxibustion and Tuina of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

Abstract Objective: To observe the effect of blood-letting puncture therapy on NO, ET-1 and blood lipid in rats with hyperlipidemia, and explore its therapeutic effect and mechanism in treating hyperlipidemia. **Methods:** A total of 32 male SD rats were randomly divided into 4 groups, which are control group, model group, blood pricking group and medical group. Except for the control group, the other three groups were made into hyperlipidemia models by high fat diet. After modeling, rats in control group received no treatment. The model group was fixed to receive blood-letting puncture therapy on the superficial vein of the rats hind leg, 0.3-0.5 mL each time, 2 times a week. To observe the levels of TC, TG, HDL-C, LDL-C, NO and ET-1. **Results:** Comparing to the control group, the level of TC, TG, LDL-C, ET-1 of the model groups significantly increased, and the level of HDL-C and NO content in the model groups significantly decreased with significant difference ($P < 0.01$). Comparing to the control groups, the levels of TC, TG, LDL-C, ET-1 content in the other groups decrease, and the levels of HDL-C and NO content in the blood-letting group and medicine group increased, and the difference is significant ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** Blood-letting puncture therapy can correct lipid metabolism abnormalities. Besides, by inhibiting the increase of ET-1 content and maintain vascular endothelial cell balance, it can reduce and delay endothelial cell injury.

Key Words Blood pricking therapy; Hyperlipidemia; NO; ET-1; Rats

中图分类号:R245.31 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2017.05.037

高脂血症(Hyperlipidemia, HLP)是脑卒中、冠心病、心肌梗死和动脉粥样硬化等心脑血管疾病的主要危险因素之一^[1]。世界卫生组织的报告也指

出,胆固醇水平的升高是全球五大主要致死原因之一^[2],我国在 2002 年 60 岁以上人群的患病率分已经达到 23.4%^[3],HLP 的发病率也会随着老年人

作者简介:战慧敏(1990.07—),女,硕士,北京中医药大学,研究方向:刺血疗法作用机制的实验与临床研究,E-mail:zhanzhanhm2008@163.com

通信作者:赵慧玲(1957.07—),女,硕士,主任医师,教授,北京中医药大学,研究方向:刺血疗法作用机制的实验与临床研究,E-mail:zhao-huiling3895@sohu.com

口的增长而不断升高。因此对 HLP 的防治研究已成为目前医学界一项重要的研究课题, 积极寻求安全、有效的调脂方法具有重要的临床意义。刺血疗法是一种使用安全、操作简便且不良反应小的传统中医疗法, 有研究表明刺血疗法能降低血液黏滞度, 刺激血管引起血管平滑肌细胞复杂的信号传导变化, 产生细胞内、细胞间及血管中部和整体的调节反应^[4]。我们在本实验采用高脂饲料喂养建立 HLP 模型大鼠, 观察刺血对大鼠的血清总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、一氧化氮 (NO)、内皮素-1 (ET-1) 的影响。探讨刺血疗法治疗 HLP 的相关机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 清洁级雄性 SD 大鼠 32 只, 体重 (200 ± 20) g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 许可证号: SCXK (京) 2012—0001。饲养于室温 22 ℃, 相对湿度 45% 清洁条件下, 自由进食及饮水, 适应性饲养 1 周。

1.1.2 试剂与仪器 高脂饲料 (82.5% 基础饲料, 10% 猪油, 5% 蛋黄粉, 2% 胆固醇, 0.5% 胆酸钠) 由科奥协力有限公司生产; 10% 水合氯醛 (北京中医药大学生理教研室配制); 辛伐他汀 (杭州默沙东制药有限公司生产, 批号: 20130068); 小号三棱针 (华佗牌); 一次性注射针头 (上海金塔医用器材有限公司); TC、TG、HDL-C、LDL-C、NO、ET-1 试剂盒 (北京环宇金科生物医学技术有限公司); 离心机 (Eppendorf 公司高速冷冻离心机 5810R)。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 动物适应性饲养 1 周后, 采用完全随机设计法, 利用随机数字表将 32 只 SD 大鼠随机分为 4 组, 每组 8 只, 即 A 空白组、B 模型组、C 刺血组、D 药物组。空白组喂以普通饲

料, 其余 3 组采用喂养特制高脂饲料法诱发大鼠 HLP 模型, 依据每周测定的大鼠体重设定 1 周饲料剂量, 均分为每日量饲养, 每日的饲养量为 70 g/kg, 至 8 周末。

1.2.2 干预方法 第 5 周起开始干预治疗, 空白组、模型组不给予任何治疗, 只抓取按压; 刺血组取双侧足三里、丰隆穴 (参考实验针灸学^[5]) 刺血, 总计出血量 0.5 mL, 2 次/周; 药物组给予辛伐他汀 2 mg/(kg·d) 灌胃治疗。

1.2.3 指标检测与方法 第 8 周末, 全部大鼠禁食、禁水 12 h, 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉, 腹主动脉取血 5 mL, 静置 1 h 后, 4 ℃, 3 000 r/min 离心 15 min, 取分离的上层血清, 送检血脂 4 项 (TC、TG、HDL-C、LDL-C); 采用 ELISA 法测定一氧化氮 (NO)、内皮素-1 (ET-1) 含量, 严格按照试剂盒说明书操作。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 20.0 软件进行数据统计分析, 所有数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 计量资料若符合正态分布且方差齐, 则采用单因素方差分析检验, 反之采用多个独立样本非参数检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠血脂 4 项指标比较 与空白组比较, 模型组大鼠血清 TC、TG、LDL-C 含量显著上升, HDL-C 含量显著下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 刺血组及药物组大鼠血清 TC、TG、LDL-C 含量均降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。HDL-C 含量均上升, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 各组大鼠血清 NO、ET-1 比较 与空白组比较, 模型组大鼠血清 NO 含量显著降低, ET-1 含量显著升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 刺血组及药物组大鼠血清 NO 含量均上升, ET-1 含量均降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表 2。

表 1 各组大鼠血清血脂 4 项含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)
空白组	8	1.28 ± 0.19	0.52 ± 0.04	1.18 ± 0.18	0.28 ± 0.10
模型组	8	2.56 ± 0.58*	0.68 ± 0.09*	1.51 ± 0.21*	0.12 ± 0.04*
刺血组	8	1.32 ± 0.20 ^{△△}	0.52 ± 0.04 ^{△△}	1.22 ± 0.26 [△]	0.23 ± 0.06 [△]
药物组	8	1.31 ± 0.21 ^{△△}	0.56 ± 0.07 ^{△△}	1.23 ± 0.20 [△]	0.24 ± 0.10 [△]

注: 与正常对照组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$ 。

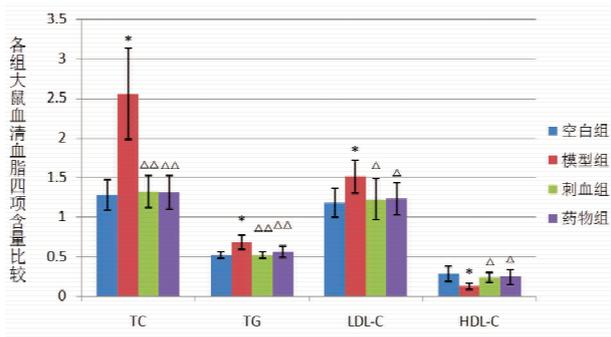


图1 各组大鼠血清血脂4项含量比较

表2 各组大鼠血清 NO、ET-1 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	NO ($\mu\text{mol/L}$)	ET-1 (pg/mL)
空白组	8	43.77 \pm 11.29	1.55 \pm 0.13
模型组	8	28.05 \pm 6.06 *	1.85 \pm 0.17 *
刺血组	8	38.54 \pm 9.94 [△]	1.57 \pm 0.23 [△]
药物组	8	44.20 \pm 11.76 ^{△△}	1.57 \pm 0.26 ^{△△}

注:与正常对照组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

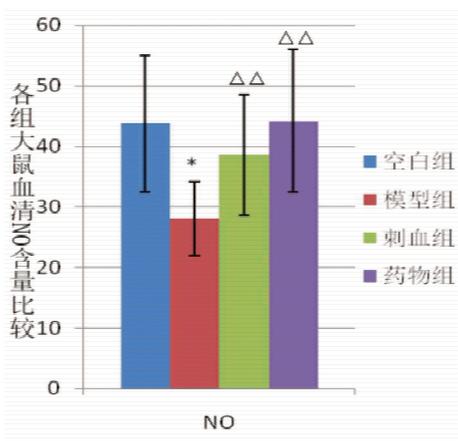


图2 各组大鼠血清 NO 含量比较

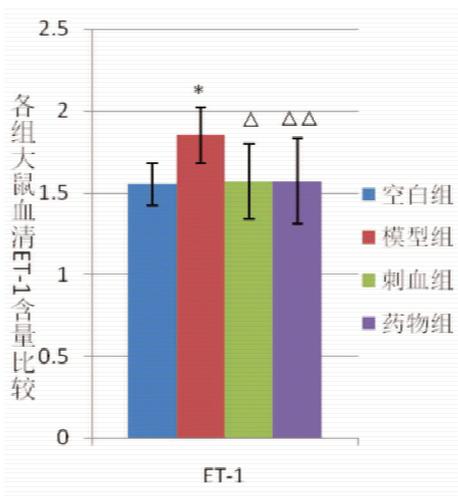


图3 各组大鼠血清 ET-1 含量比较

3 结论

HLP,即脂质代谢紊乱,是指由于脂肪代谢或运转异常使血浆中一种或几种脂质高于正常水平的病

症。可直接引起一些严重危害人体健康的疾病,同时也是老龄化社会中危害老年人身心健康的严重全身性代谢性紊乱疾病。

中国古代医籍中并没有“高脂血症”这一病名记载。HLP 是一个现代医学概念,根据 HLP 的临床表现,其应当归属于“脂”“膏”范畴,病因责之于“痰浊”“瘀血”,肝失疏泄,脾失健运,痰湿偏盛,是该病的基本病机^[6],因此与肝、脾、肾功能失调关系密切。《素问·血气形志》云:“凡治病必先去其血,乃去其所苦,伺之所欲,然后泻有余,补不足。”刺血治疗 HLP 是在总结前人运用针灸治疗 HLP 的经验基础上产生的,且现代研究表明刺血疗法治疗 HLP 有显著疗效^[7]。本实验基于临床经验及文献分析,选取足三里及丰隆穴为治疗 HLP 的主要穴位。足三里穴是足阳明胃经合穴,是“四总穴”之一。《千金要方》记载:“胸中瘀血稽满,胁膈痛不能久立,膝痞寒,三里主之。”同时足三里为下合穴,可以调六腑功能,有调理中焦、疏通经络、扶正祛邪的功效。足三里穴对消化系统有明显的调整作用,“肚腹三里留”说明足三里可以调理胃肠及消化功能;可以纠正血脂代谢异常。现代研究表明足三里穴能够提升 HDL-C 水平^[8]。丰隆穴为胃经的络穴,可以治疗脾胃二经疾患,在《针灸集成》中指出:“针灸法祛痰饮病取丰隆”。因此丰隆穴具有通调脾胃,健脾化痰的作用。且是目前临床及实验研究治疗 HLP 使用频次最高的穴位^[9]。HLP 治疗当以化痰,祛瘀为主^[10],因此本实验选取足三里和丰隆穴进行刺血的治疗。

目前已有大量研究证实,TC 的升高与冠心病(CHD)及动脉粥样硬化(AS)的发生具有很强的相关性^[11]。TC 在血液中的含量每增加 1%,CHD 的危险就会增加 2%~3%^[12]。TG 升高可使 LDL-C 的升高和 HDL-C 的降低,而导致 AS 的发生,同时还有不少研究表明,HDL-C 升高与 CHD 发生率呈负相关,而 LDL-C 升高则与 CHD 的发生率呈正相关^[13]。因此降低 TC、TG、LDL-C 含量,升高 HDL-C 是治疗 HLP 的关键,也是防止 AS 及心脑血管疾病发生的有效途径。

本实验结果显示,刺络泻血疗法可有效降低 HLP 大鼠血清中 TC、TG、LDL-C 含量及升高 HDL-C 含量。运用足三里穴的调理胃肠消化功能及丰隆穴的通调脾胃,健脾化痰的作用,于此二穴刺血,充分发挥了经络的调节作用。通过疏通经络,调节机体脏腑功能,进一步促进体内脂质代谢,下调血清中

TC、TG、LDL-C 含量,上调 HDL-C 含量;同时刺络泻血疗法能够发挥“祛瘀生新”的功用,将体内代谢异常的脂质随泻出的血液自然排出体外,并抑制体内脂质过合成,以此来降低血液黏稠度,起到对血液成分良性调节的作用,从而纠正血液中脂质代谢的紊乱。且刺血组与辛伐他丁药物治疗组比较无明显差异,更好的说明刺络泻血疗法治疗 HLP 的有效性及其实用性。

NO、ET-1 是一种活性物质,由血管内皮分泌释放。能够调节小血管的舒张和收缩、抑制血小板聚集、炎性反应细胞浸润及炎性反应因子的过度表达^[14]。NO 为血管舒张因子,ET-1 为缩血管物质,它们相互拮抗但又共同保持血管功能。HLP 会抑制内皮型一氧化氮合成酶(eNOs)的表达并使之失活,NO 合成与释放减少,同时 ET-1 的含量会明显增加,导致血管内皮细胞功能受损^[15-17]。

本实验结果显示,刺络泻血疗法能够提高一氧化氮合酶的活性,促进 NO 的合成与释放,并将高脂状态下血管内皮中异常增多的 ET-1 随泻出的血也排出,从而有效调节血管的舒张和收缩,维持血管张力,抑制血小板的聚集,减轻和延缓血管内皮细胞受损,降低由 HLP 所引发的 AS 及心脑血管疾病的发生率。尤其刺血观察组与辛伐他丁观察组并无差异,说明刺络泻血疗法在保护血管内皮细胞方面与辛伐他丁效果相当。

参考文献

[1] 林建潮,李金涛,谭晓华,等.老年高脂血症危险因素调查[J].中国老年学杂志,2011,31(18):3582-3584.
 [2] World Health Organisation. The World Health Report 2002[A]. Reducing Risks, Promoting Healthy Life[C]. WHO, Geneva;2002.
 [3] 赵文华,张坚,由悦,等.中国 18 岁及以上人群血脂异常流行特点研究[J].中华预防医学杂志,2005,39(5):306-310.
 [4] 马庆宇,赵慧玲.刺血疗法作用机制的现代研究概况及展望[J].

国际中医中药杂志,2009,31(2):179-181.
 [5] 张露芬.实验针灸学[M].北京:化学工业出版社,2010:217.
 [6] 侯小青,徐红.杨少山治疗高脂血症经验[J].浙江中西医结合杂志,2010,20(5):265-266.
 [7] 马庆宇.刺络放血治疗痰瘀互结型高脂血症的临床研究[D].北京:北京中医药大学,2010.
 [8] 张悦.温针灸足三里对高脂血症血脂影响的临床研究[D].济南:山东中医药大学,2005.
 [9] 刘迈兰,胡薇,谢慎,等.针灸治疗高脂血症的选穴用经特点与规律分析[J].中国针灸,2015,35(5):512-516.
 [10] 李淑玲.从肝脾肾论治老年高脂血症[J].中国老年学杂志,2013,33(20):5220-5221.
 [11] ShePherd J, Cobbe SM, Ford I, et al. prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group[J]. N Engl J Med, 1995, 333(20):1301-1307.
 [12] MultiPle risk factor intervention trial. Risk factor changes and mortality results. MultiPle Risk Factor intervention Trial Research Group[J]. JAMA, 1982, 248(12):1465-1477.
 [13] Downs JR, Clearfield M, Weis S, et al. primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels; results of AFCAPS/texCAPS. Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study[J]. JAMA, 1998, 279(20):1615-1622.
 [14] Sandoo A, wvan Zanten JJ, Metsios, et al. The endothelium and its role in regulating vascular tone[J]. Open Cardiovasc Med J, 2010, 4:301-312.
 [15] 焦宏,马建伟,陈彦静,等.桂枝汤对高脂血症心肌缺血大鼠炎性细胞因子的影响[J].中国中药杂志,2012,37(11):1634.
 [16] Pernow J, Gonon AT, GOUrine A. The role of the endothelium for reperfusion injury[J]. Eur Heart J Suppl, 2001, 3:C22-C27.
 [17] Feron O, Dessy C, Monitte S, et al. Hypercholesterolemia decreases nitric oxide production by promoting the interaction of caveolin and endothelial nitric oxide synthase[J]. J Clin Invest, 1999, 103:897-905.

(2016-11-07 收稿 责任编辑:王明)

(上接第 1100 页)

[38] 肖达,陈汉平,赵粹英,等.艾灸对老年人 IL-2 及其受体的影响[J].上海免疫学杂志,1997,17(3):184-185.
 [39] 赵伟康,张洪度,金国琴,等.艾灸关元穴对老年大鼠下丘脑-垂体-甲状腺轴和 IL-2 的影响[J].上海针灸杂志,1996,15(3):28-30.
 [40] 谢甦,李丽红.艾灸关元、足三里对衰老小鼠免疫功能影响的实验研究[J].贵阳中医学院学报,2003,25(2):44-46.
 [41] 詹睿.逆针逆灸关元穴对更年期大鼠 IL-2RmRNA 表达及相关因子影响的实验研究[D].北京:北京中医药大学,2006.
 [42] 康湘萍,金国琴,董献文,等.补肾方药对老年大鼠血清皮质酮

含量、LTP 及空间学习记忆能力的影响[J].中国老年学杂志,2011,31(24):4815-4818.
 [43] Huang MC, Liao JJ, Bonasera S, et al. Nuclear factor-kappaB-dependent reversal of aging-induced alterations in T cell cytokines[J]. FASEB J, 2008, 22(7):2142-2150.
 [44] Lei Fei, Shen Wen-bin, Cui Yun-hua, et al. Effect of moxibustion at Shenshu (BL 23) on the ethology, corticosterone and glucocorticoid receptor in aging rats[J]. J Acupunct Tuina Sci, 2016, 14(4):250-256.

(2017-04-19 收稿 责任编辑:王明)