

实验研究

高频电针刺刺激“内关”穴和非穴后对心肌缺血大鼠“内关”“天泉”穴皮肤血流灌注量的影响

严明娜 嵇波 王丹 赵国桢 白红新 孙晓敏 戴健 路雅雯 刘翼天 苏杭 葛云鹏
(北京中医药大学,北京,100029)

摘要 目的:研究高频电针刺刺激“内关”穴和非穴后对大鼠“内关”“天泉”穴皮肤血流灌注量的影响。方法:选取30只雄性Wistar大鼠按照随机数字表的方法分成正常组、假手术组、模型组、高频电针“内关”组、高频电针非穴组5组。高频电针“内关”组采取每日电针大鼠左侧“内关”穴,高频电针非穴组采取每日电针非穴。于治疗结束30 min后,应用激光散斑衬比成像技术检测各组大鼠双侧“内关”“天泉”穴区域的皮肤血流灌注量。结果:与正常组比较,模型组各穴位血流灌注量均降低($P < 0.05$),且双侧“内关”穴区皮肤血流灌注量显著升高($P < 0.05$)。结论:高频电针“内关”穴组心肌缺血情况有所改善,且心肌处于不同状态时,“内关”穴区皮肤血流灌注量变化显著。

关键词 高频电针;心肌缺血;内关;郄门;天泉;皮肤血流灌注量;经穴脏腑相关;大鼠

Effects of High Frequency Electro Acupuncture at Acupoints and Non-acupoint on the Skin Blood Perfusion Volume of “Neiguan (PC 6)” and “Tianquan (PC 2)” Points in Rats

Yan Mingna, Ji Bo, Wang Dan, Zhao Guozhen, Bai Hongxin, Sun Xiaomin, Dai Jian, Lu Yawen, Liu Yitian, Su Hang, Ge Yunpeng
(Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

Abstract Objective: To study the effects of high frequency electro acupuncture at acupoints and non-acupoint on the skin blood perfusion volume of “Neiguan (PC 6)” and “Tianquan (PC 2)” points by using myocardial ischemia model in rats. **Methods:** Thirty male Wistar rats were randomly divided into 5 groups: normal group, sham operation group, model group, high frequency electro acupuncture at “Neiguan (PC 6)” group, high frequency electro acupuncture non-acupoint. Each group included 6 rats. High frequency electro acupuncture at “Neiguan (PC 6)” group took the daily electro acupuncture on the left side of the “Neiguan (PC 6)” points; high frequency electro acupuncture non-acupoint took daily acupuncture at non-points. Then, the skin blood perfusion volume of “Neiguan (PC 6)” and “Tianquan (PC 2)” points was tested by Laser Speckle Lining Imaging Technology after the treatment for 30 minutes. **Results:** Compared with the normal group, the blood perfusion of acupoints in model group was decreased ($P < 0.05$), and skin blood flow of bilateral “Neiguan (PC 6)” acupoints was significantly increased ($P < 0.01$, $P < 0.05$). **Conclusion:** The myocardial ischemia was improved in the high-frequency electro acupuncture at “Neiguan (PC 6)” group, and the blood perfusion volume of “Neiguan (PC 6)” acupoint was significantly changed when the myocardium was in different states.

Key Words High-frequency electro acupuncture; Myocardial ischemia; Neiguan (PC 6); Ximen (PC 4); Tianquan (PC 2); Skin blood perfusion volume; Meridian organs related; Rat

中图分类号:R245 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2018.04.034

随着饮食结构的改变以及生活节奏的加快等,心血管疾病已经严重影响了人类的健康。现代研究表明,我国心血管疾病发病人群年龄有年轻化的趋势,青壮年人群的发病与患病比例明显升高,2004年城市居民冠心病(Coronary Heart Disease, CHD)死亡占有心脏病死亡的48%,2006年中国城市CHD年龄死亡趋势有所上升,CHD死亡率的长期变化各

国有所不同,《柳叶刀》2012年宣布的全球疾病负担研讨的结果表明,1990—2010年,235种全球人群死亡原因中,排名第一位是缺血性心脏病,卒中位列第二位。2013年《柳叶刀》发表的中国疾病负担研究表明,卒中、缺血性心脏病与慢性阻塞性肺疾病分别是中国人死因前三位,并且前2个在全部心脑血管疾病中所占比例在90%左右,因此心血管疾病日益

基金项目:国家自然科学基金面上资助项目(81373558);国家自然科学基金面上资助项目(81674059)

作者简介:严明娜(1991.05—),女,在读硕士研究生,研究方向:针灸作用规律与机理研究,E-mail:854268025@qq.com

通信作者:嵇波(1965.02—),女,博士,教授,博士研究生导师,研究方向:针灸作用规律与机理研究,E-mail:jibo678@263.net

成为我国卫生事业中的一大挑战。CHD 的主要表现就是心肌缺血的的症状,因此现代临床和科研实验中关于心肌缺血的研究日益增多。

心肌缺血、CHD 等对应中医中的“胸痹”“心痛”等,现代临床中应用针灸治疗“胸痹”“心痛”等症较为广泛,国外也有文献报道,如丹麦 Hellerup 针灸中心职员临床观察了长期系统针刺治疗 CHD 和心绞痛患者,结果显示,针刺刺激在 CHD 的治疗中效果显著。内关穴位,心包经络穴,八脉交会穴,通阴维脉,主治心胸痛,心悸;胃痛,失眠等。《拦江赋》中有“胸中之病内关担”的说法,因此常用内关穴治疗心脏疾患。

经络学说中经穴-脏腑相关一直属于核心理论,现代关于穴位与内脏关系的研究更是日益增多。经穴脏腑相关理论的主要内容中提出脏腑的生理或病理改变可以在体表相关经脉的穴位上有一定的变化和反应,而穴位感受刺激也可以治疗相关脏腑的疾病。现代研究多集中在后者,有研究穴位感受刺激后脏腑机能的改变,如有研究表明,电针“内关”对缺血性心肌损伤大鼠钠离子通道相关蛋白的影响,认为电针“内关”可能通过下调蛋白酪氨酸磷酸酶(Protein Tyrosine Phosphatase, PTPs),上调电压-门控钠离子通道(Na^+ Voltage-gated Sodium Channel, Nav1.5),蛋白酪氨酸激酶(Protein Tyrosine Kinase, PTKs)蛋白的表达,实现对钠离子通道电流以及钙超载的调节,进而改善心肌缺血状态^[1];还有研究表明,电针“内关”穴可以发挥对缺血心肌的一定程度的保护作用,推测其机制可能是增强缺血心肌细胞活力,从而达到保护的作用^[2]。但对于脏腑处于不同状态时体表穴位的反应的研究则相对较少。

体表穴位的反应的一个重要方面就是穴区皮肤血流量的变化,皮肤血流量的改变可反映局部的变化,也可以通过研究脏腑的不同状态来监测血流量,因此,可以通过探测穴区血流量变化推断出脏腑的内在状态,对临床疾病的诊断、治疗以及愈后等都有一定的指导意义。有研究以激光多普勒血流测定仪测定健康成年人血流灌注量,结果显示,不同的性别对与皮温和血流灌注量的影响没有差异,不同的年龄对组织血管的血流储备的影响有明显差异,从部位上来看,腰部和胫前区的血流储备要高于手部和面部血管的储备^[3]。而在对比经穴和非穴的差异研究,表明这两者之间差异明显,两侧非经非穴部位皮肤血流灌注量远远低于经穴处皮肤血流灌注量^[4]。还有研究结果显示,人体安静状态下各穴位血流灌

注量比较稳定,但随着穴位分部位置不同,其灌注量也不相同,结果显示指尖的血流灌注量最高,甚至显示与情绪变化有一定的关系,具有潜在的心理研究价值^[5],还有研究发现,电针刺刺激合谷穴可以使大肠经的微循环血流灌注量略增,氧分压显著降低^[6]。由此可见,经穴皮肤血流的变化具有一定程度的特异性反应。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 雄性 Wistar 大鼠,动物来源:北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号:SCXK(京)2012-0001。饲养环境条件:日光灯照射,12 h 敏感交替,室内温度 20 ~ 25 °C,相对湿度(45 ± 5)%,饲料为普通清洁级大鼠饲料,不限制饮水,实验前动物进行 3 d 适应性饲养。

1.1.2 仪器与试剂 1) 仪器:BL-420E + 生物机能实验系统(成都泰盟科技有限公司);动物呼吸机(上海益联科教设备有限公司);医用冷光源(郑州康顺医疗器械有限公司);针灸针(华佗牌一次性使用无菌针灸针,规格 0.20 mm × 13 mm);电针仪(韩式二导穴位刺激仪,北京华睿通恒科技有限公司);激光散斑血流成像仪(瑞典帕瑞公司);TX51 显微镜(日本 Olympus 公司)。2) 试剂:10% 水合氯醛(北京拜尔迪生物技术有限公司);20% 乌拉坦(北京华菁美达科技有限公司);注射用青霉素钠(北京拜尔迪生物技术有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 将 30 只 Wistar 大鼠按照随机数字表法分成 5 组,分别为对照组、造模组、假手术组、高频电针“内关”穴组、高频电针非穴组。

造模根据所查阅参考文献^[7],造模方法为结扎大鼠冠状动脉左前降支。操作过程大致如下:20% 乌拉坦以 4.5 mL/kg 标准进行腹腔注射麻醉,采用 BL-420E + 生物机能实验系统连接大鼠四肢,采集大鼠肢体 II 导联心电图,随后经口腔行无创气管插管,进行大鼠胸部正中偏左侧皮,连接动物呼吸机,手术区消毒后进行胸腔心脏暴露手术操作,纵向断开第 4、5 胸肋关节连接处,采用开睑器进行伤口扩张,随后以眼科弯镊撕开心包膜,使手术视野更清晰,随后在动脉圆锥和左心耳交界下约 2 mm 位置,进行冠状动脉左前降支的结扎,最后进行缝合以及胸腔内气体和液体的排出工作,术后于大鼠颈部皮下注射青霉素,防止术后感染。手术完成后再次采集大鼠肢体 II 导联心电图。

造模评估:手术结扎部位冠脉向外膨出,颜色发绀即提示结扎成功;结扎后心电图J点立即抬高,幅度达0.2 mV^[8],提示初步证明造模成功;后期结合心肌HE染色进行评估。

随后去除心电图呈现异常、于造模术中死亡或者不符合造模评估标准的大鼠。术后注意大鼠保暖,及时进行排痰和保证术后正常排尿的术后护理操作,并根据个体情况进行适量的食水饲养。

1.2.2 电针干预 取穴:本实验干预选择大鼠“内关”穴,以《实验针灸学》大鼠穴位标准进行穴位定位,书中记载“内关”穴位定位为前肢内侧,距腕横纹约3 mm的尺桡骨缝间;非经非穴点定为“环跳”穴外5 mm(后肢髌关节后上缘外5 mm)左右^[9]。

实验干预措施。1)对照组:饲养环境如上述所述,其他不做处理。治疗时,在电针组治疗时间采取对应的抓取和固定等操作,减少相应的影响。2)假手术组:饲养环境如上述所述,术中对大鼠心脏冠状动脉左前降支血管不结扎、只穿线,其余操作同造模组相同。3)造模组:饲养环境如上述所述,术中结扎大鼠冠状动脉左前降支,造成心肌缺血损伤改变,其余操作与其他组相同。4)高频电针“内关”组:饲养环境如上述所述,造模成功后,采取毫针直刺左侧“内关”穴,深度约2 mm,同时在该穴外侧5 mm非穴位处,皮下平刺,深度为1 mm,随后与电针仪相连,“内关”穴针柄连接电针仪负极。电针参数为频率100 Hz,强度1 mA。每日采取电针处理1次。5)高频电针非穴组:常规饲养条件,造模成功后,用规格0.20 mm × 13.00 mm毫针直刺两侧环跳穴外5 mm(后肢髌关节后上缘外5 mm)处,电针参数同高频电针“内关”组。每日电针干预1次。

1.2.3 检测指标与方法 “内关”“邻门”“天泉”经穴区域血流灌注量检测。检测环境室内温度20~30℃,相对湿度为30%~80%。有效采样频率1帧图像/s,采样频率5帧图像/s,平均化记录5;观测距离为20~25 cm,观测范围为仰卧位3 cm × 14 cm。

相关穴位观察选择“内关”“邻门”“天泉”穴3个相关经脉穴位。检测24 h前将大鼠待测部位脱毛备皮。测试前进行大鼠腹腔注射麻醉,取仰卧位,充分暴露双侧“内关”“邻门”“天泉”穴,台架上固定,测试开始前观测并调整室内环境,以保证室内温度维持在25℃左右,且没有明显的空气对流及日光照射。

激光散斑血流成像仪扫描头固定在大鼠穴区正上方10~25 cm,对准测定部位,检测“内关”“邻门”

“天泉”3穴位区域皮肤的血流变化。检测过程中应注意大鼠保持相对安静的状态,无明显肢体活动,若发生因大鼠状态不稳定出现肢体活动度大等现象,则应该在后期数据采集时,应避免对“运动伪迹”部分的采集,时段应选择大鼠处于相对稳定状态时。

电针治疗后30 min,采集高频电针“内关”组与高频电针非穴组2组检测区域血流灌注图像,并将对应标记做好。

采集完5组检测区域血流图像后,后期采用设备对应软PIMsoft血流仪成像处理软件处理5组数据。在每组血流图像中,标注出“内关”“邻门”“天泉”为感兴趣区域(ROI),穴区测量面积采用1.1~1.3 mm²之间,血流值读取方法采用3人盲法,双侧穴位取平均值,从而计算出被检测大鼠的“内关”“邻门”“天泉”3穴位区域的血流灌注量的具体数值。选穴图像见图1。

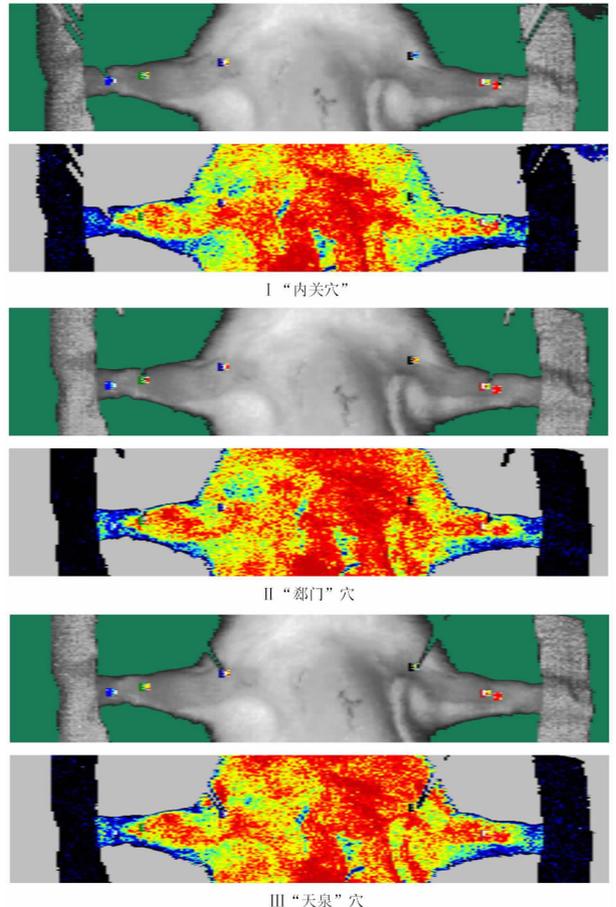


图1 穴位的选择和穴位皮肤血流成像图

心肌组织HE染色。穴位血流图采集结束后,经行腹主动脉取血,开胸取出大鼠心脏,放于生理盐水中,进行心脏内血液的排出工作,观察心脏内大致无残留余血后再用干净的生理盐水冲洗1遍,随后保存固定于4%多聚甲醛溶液中。固定后的心脏标

表1 4组双侧“内关”“郄门”“天泉”穴区皮肤血流灌注量比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

分组	“内关”穴	“郄门”穴	“天泉”穴
正常组	139.78 ± 18.13	178.71 ± 38.42	217.31 ± 53.98
假手术组	130.99 ± 15.06	157.03 ± 36.73	175.71 ± 32.65
模型组	106.12 ± 4.03*	134.88 ± 32.29*	170.28 ± 23.15*
高频电针“内关”组	146.51 ± 34.07 [△]	157.63 ± 42.37	171.16 ± 26.69
高频电针非穴组	105.53 ± 36.42	136.41 ± 14.28	167.08 ± 48.11
<i>F</i>	3.553	1.664	1.722
<i>P</i>	0.020	0.190	0.177

注:与正常组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$

本进行常规脱水操作,随后用 HE 染色。最后在显微镜下观察心肌组织的形态学变化。

1.3 统计学方法 数据处理软件采用 SPSS 20.0 统计软件,计量资料用平均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。检测组间差异的统计方法采用单因素方差分析,组间两两比较用 LSD 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4组大鼠心肌细胞 HE 染色结果 正常组心肌细胞完整心肌纤维排列正常;假手术组有心肌组织少量断裂,但是仍与周围心肌组织有所连续,无明显断裂及心肌细胞损伤现象;模型组心肌细胞镜下显示心肌细胞胞质呈不规则颗粒状,细胞核碎裂、消失,心肌纤维周围有少量中心粒细胞浸润,并有凝固性坏死等现象;高频电针“内关”组镜下显示缺血坏死区内有细胞增生的现象,并呈梭形排列;高频电针“非穴”组镜下心肌细胞与模型无明显差异。见图 2。

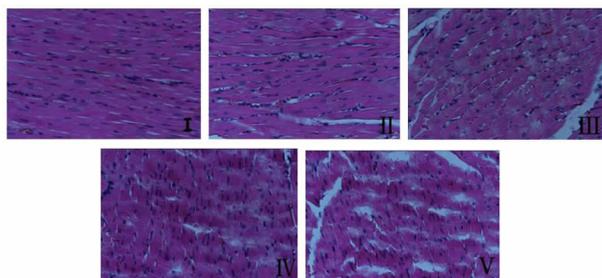


图2 4组大鼠心肌组织(HE染色,×400)

注: I 正常组; II 假手术组; III 模型组; IV 高频电针“内关”组; V 高频电针“非穴”组

2.2 4组大鼠双侧“内关”“郄门”“天泉”穴区域皮肤血流量比较 4组间“内关”穴区域皮肤血流量比较,正常组与模型组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),且与高频电针“非穴”组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);模型组与高频电针“内关”组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),而与高频电针“非穴”组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);高频电

针“内关”组与高频电针“非穴”组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

4组间“郄门”穴区域皮肤血流量比较,正常组与模型组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),与高频电针“非穴”组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);模型组与高频电针“内关”组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),而与高频电针“非穴”组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);高频电针“内关”组与高频电针“非穴”组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

4组间“天泉”穴区域皮肤血流量比较,正常组与模型组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),且与高频电针“非穴”组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);模型组与高频电针“内关”组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),而与高频电针“非穴”组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);高频电针“内关”组与高频电针“非穴”组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

3 讨论

近年来经穴区域血流灌注量的特异性表现研究日益增多,经穴区域血流灌注量的变化已经得到了临床与实验研究证实。有研究表明,提插补泻对于健康人足三里穴区血流灌注量有明显的提高作用,其中提插补法最为明显,其次为提插泻法,平补平泻的影响较为平稳。

随着心血管疾病发病率升高,对于心肌缺血的研究也日益增多,有研究表明“内关”“天泉”穴的皮肤电阻值在心肌缺血后有明显降低的现象^[10];还有研究表明“郄门”穴区皮肤血流量无显著变化,左侧相关经穴“内关”穴区皮肤血流量有明显升高,右侧非相关经穴“足三里”穴区皮肤血流量明显降低^[11]。有研究表明,交感神经调控皮肤血流量变化,并且主要体现在交感缩血管神经支配方面^[12]。激光散斑对比成像技术在临床与实验中广泛用于检测皮肤血流灌注量的变化,有研究表明刺激经上穴位与非穴

之间皮肤血流灌注量有显著性差异,“经脉所过,主治所及”。

本实验结果显示,心肌缺血造模成功后,双侧“内关”“郄门”“天泉”穴区域皮肤血流量均显著降低。高频电针“内关”穴与模型组比较,“内关”穴区域血流灌注量具有显著性增高,并且高频电针“内关”穴与高频电针非穴组行比较,“内关”穴区血流灌注量也具有显著性升高,而“郄门”“天泉”穴则无明显差异。提示高频电针“内关”穴对于心肌缺血状态有明显的改善作用,并且在心肌处于不同状态时,“内关”穴更具有反映心肌状态的意义。高频电针“内关”的改善作用可能与电针“内关”后中枢肾上腺素能系统的参与有关,电针“内关”可能通过兴奋 α 受体、抑制 β 受体兴奋作用,改善缺血心肌供血供氧的中枢机制,从而有助于心肌缺血的恢复。而3个穴位对于心肌处于高频电针干预态时的不同反应机制,可能和心脏与内关穴之间的神经联系有关,心脏和内关穴之间既有中枢性的长反射,也有与中枢神经系统无关的短反射,两者的联系途径是正中神经,有研究表明交感神经的2种分支支配皮肤血管的舒缩反应,一种是交感神经去甲肾上腺素能血管收缩系统,可以通过释放NE、神经肽Y等递质来使皮肤血流量减少;另一种则是非去甲肾上腺素能血管舒张系统,皮肤血流量的增加需要系统释放的NO、P物质等递质的共同作用^[13]。前期研究表明,心肌缺血后,大鼠“内关”“郄门”“天泉”等经穴NE含量均显著升高,提示交感神经去甲肾上腺素能血管收缩系统的激活,因此血管收缩,导致“内关”“郄门”“天泉”等穴均有一定程度的血流灌注量下降^[14];而有研究揭示迷走神经不是郄门心脏联系的主要传出途径,但有一定的作用,可能是一个次要途径^[15]。针刺对机体自主神经的功能活动有双向调节作用,其作用方式取决于机体的状态,心肌缺血高频电针干预后,机体交感、迷走神经兴奋,因此在“郄门”“天泉”穴血流灌注量虽有所回升,但无显著性差异,而“内关”穴可能由于与心脏的短反射等因素而显著性回升。从中医角度考虑,“郄门”为手厥阴心包经郄穴,为气血深聚的部位,而穴区血流灌注

量为浅表皮层,未达肌肉深层,因此血流灌注量回升有限,无法体现统计学意义。

综上所述,“内关”穴高频电针自己显示出改善心肌缺血情况的显著效果。并且心肌细胞处于不同状态时,“内关”穴位区域的皮肤血流灌注量变化显著,而其他相关经穴“郄门”“天泉”穴则没有明显变化。提示心肌处于不同状态时,内关穴有一定的特异性反应价值。

参考文献

- [1] 卞镛,田辉,隋月皎,等.电针“内关”对缺血性心肌损伤大鼠钠离子通道相关蛋白的影响[J].中国针灸,2016,36(1):64-68.
- [2] 李梦.电针内关、心俞改善急性心肌缺血大鼠血流变参数的协同作用[J].甘肃中医学院学报,2008,25(2):11-13.
- [3] 宋丹丹,李玉珍,郭渝成,等.健康国人皮肤温度、血流灌注量及局部加热效应[J].微循环学杂志,2013,23(3):28-30.
- [4] 郑淑霞,许金森,潘晓华,等.经脉线与非经脉线微循环血流灌注量的比较及针刺对其的影响[J].针刺研究,2012,37(1):53-58.
- [5] 邵毅全,唐洁媛,张兴龙,等.激光多普勒血流仪对人体经穴皮肤血流灌注量的观察[J].激光杂志,2007,28(4):81-82.
- [6] 袁强,张贵林,吴静晔,等.3D计算机导航下经椎弓根骨水泥增强螺钉的应用[J].中华创伤骨科杂志,2014,16(3):199-203.
- [7] 任之强,丁金勇,晋大祥,等.一期后路病灶清除植骨融合内固定治疗胸腰椎结核[J].脊柱外科杂志,2014(6):353-356.
- [8] 刘莉娟,谷淑玲.盐酸戊乙奎醚对大鼠心肌缺血/再灌注损伤血流动力学的影响[J].徐州医学院学报,2007,27(6):370-372.
- [9] 张露芬.实验针灸学[M].北京:化学工业出版社,2010:219-221.
- [10] 杨文君,张玮玮,付春梅,等.《中医教育》2003-2013年载文被引及下载情况分析[J].北京中医药大学学报,2014,37(10):718-720.
- [11] 胡琅琳.皮肤血流的影响因素及检测技术[J].微循环学杂志,2013,23(1):64-66,70.
- [12] 国外重要心血管杂志论文摘要[J].高血压杂志,2001,9(2):184.
- [13] Charkoudian N. Mechanisms and modifiers of reflex induced cutaneous vasodilation and vasoconstriction in humans. J Appl Physiol (1985),2010,109(4):1221-1228.
- [14] 刘巍,周玉杰,刘宇扬,等.有冠状动脉旁路移植术史的急性心肌梗死患者经皮冠状动脉介入治疗的临床预后[J].中国循环杂志,2013,28(3):179-182.
- [15] 齐金蕾,王黎君,周脉耕,等.1990-2013年中国男性前列腺癌疾病负担分析[J].中华流行病学杂志,2016,37(6):778-782.

(2017-09-12 收稿 责任编辑:杨觉雄)