

针刺对脑缺血并发多器官功能障碍综合征大鼠心组织保护机制实验研究

苏钦炎¹, 孟智宏², 李占茜¹

1. 天津中医药大学, 天津 300193; 2. 天津中医药大学第一附属医院, 天津 300193

[摘要] 目的: 研究针刺对脑缺血所致多器官功能障碍综合征(MODS)大鼠心组织的保护作用。方法: 采用阻断两侧颈总动脉, 建立脑缺血MODS大鼠模型。将100只大鼠随机分为正常对照组、假手术组、模型组、针刺组, 观察1h、6h、24h、72h 4个时间段。HE染色观察心组织内细胞形态变化; 原位杂交技术检测心组织中CD14 mRNA基因表达。结果: ①HE染色镜下观察显示: 脑缺血并发MODS 24h后模型组心肌纤维浊肿、断裂, 间质充血、水肿, 血管周围水肿, 心肌细胞空泡变性; 针刺组心脏病理改变较模型组减轻, 心肌纤维清晰可见, 间质少量充血、水肿。②24h心组织CD14 mRNA表达明显增强并达峰值, 针刺组比模型组升高显著($P < 0.01$), 72h心组织中CD14 mRNA表达明显回落, 但仍显著高于正常对照组水平($P < 0.01$)。结论: 针刺人中穴、内关穴对脑缺血并发MODS鼠心组织具有一定的保护作用。降低CD14 mRNA表达, 可能是针刺保护脑缺血并发MODS鼠心组织的机制之一。

[关键词] 脑缺血; 多器官功能障碍综合征(MODS); 针刺; 人中穴; 内关穴; CD14 mRNA

[中图分类号] R743 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0256-7415(2014)05-0204-02

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2014.05.078

针灸作为治疗脑缺血的有效手段, 在国内外得到广泛应用。尽管国内外学者对脑缺血并发多器官功能障碍综合征(MODS)进行了大量的研究, 但到目前为止, 仍然没有发现或研发出对脑缺血并发MODS具有确切疗效的针刺治疗方案。大量临床资料和实验研究表明, “醒脑开窍”针刺治疗脑缺血具有较好的疗效。“内关”、“人中”为“醒脑开窍”针刺法主穴, 同时内关穴也是八脉交会穴, 通阴维脉, 有宁心安神、疏通气血之功^[1]。脑为元神之府, 督脉入络脑, 人中穴是督脉穴, 可醒脑调神导气。笔者选取“内关”、“人中”治疗脑缺血并发MODS作为切入点, 进行实验研究。本研究以前脑缺血MODS鼠为模型, 以心组织为研究标本, 以与MODS密切相关的内毒素受体以及脏器病理形态等为观察指标, 探讨脑缺血并发MODS模型鼠多脏器内毒素受体CD14表达及病理形态变化规律, 揭示针刺人中穴、内关穴对急性脑缺血并发MODS的心组织保护作用及其可能机制, 为临床上针刺防治急性脑血管病并发MODS提供实验依据。

1 材料与方

1.1 实验分组 选择体重250~280g健康雄性Wistar大鼠100只, 由北京军事医学科学院实验动物中心提供[实验动物质量合格证号: 0014091; 动物防疫合格证号(京丰)动防20110004; 实验动物生产许可证: SCXK(军)2007-004], 分

为正常对照组、假手术组、模型组、针刺组。模型组和针刺组又分别分为1h、6h、24h、72h 4个时间段, 每个时间段10只。

1.2 模型制备 采用两侧颈总动脉阻断法建立前脑缺血MODS模型^[2], 具体步骤为: 禁食、水12h, 10%水合氯醛腹腔注射麻醉(250mg/kg)至动物对疼痛刺激反应消失为止, 背位固定于大鼠手术板, 局部消毒后备皮, 分离双侧颈总动脉, 用无损伤微动脉夹夹闭双侧颈总动脉30min, 此为缺血期; 30min后撤去双侧动脉夹, 此为再灌注期, 缺血达到以下标准: 即夹闭双侧颈总动脉10s左右, 大鼠出现意识丧失、角膜反射和翻正反射消失, 并在30min缺血期内, 意识和上述反射均未恢复者, 方可实施再灌注。在缺血期死亡或仅出现昏睡以及在整个实验过程中出现抽搐的大鼠均被废弃。假手术组除不用无损伤微动脉夹夹闭双侧颈总动脉30min外, 其他操作与手术组相同。

1.3 干预方法 针刺组: 在造模成功后待大鼠清醒, 约1h左右, 即给予第一次针刺干预, 之后每12h用同样的方法再干预, 72h共干预6次。具体针刺操作方法为: 先针刺双侧内关穴, 用捻转提插结合泻法持续手法操作1min。继刺人中穴, 施雀啄手法刺激10次左右, 2穴均留针10~15min。正常组、假手术组、模型组: 造模成功后相应时间段内, 用与针

[收稿日期] 2013-10-28

[基金项目] 天津市高等学校科技发展基金项目(编号: 20050312)

[作者简介] 苏钦炎(1985-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 针灸推拿。

[通讯作者] 孟智宏, E-mail: yj1988mzh@163.com。

刺组实施同等条件的抓取刺激,但不实施任何针刺干预,72 h共抓取6次。

1.4 观察指标及测定方法 各组别均随机选取5只进行HE染色,观察心组织内细胞形态变化;5只进行原位杂交检测技术,检测心组织中CD14 mRNA表达,并用CMIA真彩色医学图像分析系统检测表达CD14 mRNA阳性颗粒的面密度和光密度,作为细胞CD14 mRNA的相对含量。操作严格按照CD14原位杂交检测试剂盒说明书进行,试剂盒由武汉博士德生物有限公司提供。

1.5 统计学方法 采用SPSS17.0软件包,所有数据先经正态分布检验(Shapiro-Wilk检验,W检验),检验水准($\alpha=0.05$),正态分布($P>0.05$)者,所有数据以($\bar{x}\pm s$)表示,统计方法用单因素方差分析;单因素方差分析方差齐性(检验水准 $\alpha=0.05$)时用LSD法,方差不齐时用Tamhane's T2。

2 结果

2.1 病理学改变 病理改变为:模型组心肌纤维浊肿、断裂,间质充血、水肿,血管周围水肿,心肌细胞空泡变性;在相同相点针刺组心脏病理改变较模型组减轻,心肌纤维清晰可见,间质少量充血、水肿。正常对照组大鼠心组织结构完整,肺泡腔清晰,肺泡隔无水肿、炎症等特殊改变。

2.2 各组大鼠心组织CD14 mRNA变化比较 见表1。造模后,模型组、针刺组与假手术组比较,差异有显著性或非常显著性意义($P<0.05$, $P<0.01$),说明造模成功;24 h心组织CD14 mRNA表达明显增强并达峰值,针刺组比模型组升高显著($P<0.01$),72 h心组织中CD14 mRNA表达明显回落,但仍显著高于正常对照组水平($P<0.01$)。

表1 各组大鼠心组织CD14 mRNA变化比较($\bar{x}\pm s$)

组别	1 h	6 h	24 h	72 h
正常对照组	0.067±0.016	0.067±0.016	0.067±0.016	0.067±0.016
假手术组	0.070±0.004	0.071±0.010	0.073±0.009	0.070±0.012
模型组	0.133±0.028	0.377±0.041	0.610±0.032	0.202±0.034
针刺组	0.122±0.016	0.354±0.009	0.405±0.060	0.259±0.029

与假手术组比较,① $P<0.05$,② $P<0.01$;与模型组比较,③ $P<0.01$;与正常对照组比较,④ $P<0.01$

3 讨论

内关穴是治疗脑缺血病的传统穴位之一,内关穴为心包经络穴,又为八脉交会穴,通于阴维。《难经·二十九难》云“阴维为病苦心痛”,因此内关穴长期以来都是治疗心胸疾病的首选穴^[6]。人中穴为督脉腧穴,是督脉与手阳明大肠经、足阳明胃经的交会处,《难经·二十八难》谓“督脉者,起于下极之输,并于脊里,上至风府,入属于脑”,督脉的一分支从小腹直上,穿过肚脐中央,向上通过心脏,与心脏有密切联系。人中穴有开窍醒神的作用,为急救要穴,可醒脑调神导气。醒脑开窍针刺方法治疗缺血性脑血管疾病的基础及临床研究中发

现,针刺人中穴、内关穴具有改善微循环、增加脑组织血流量、改善脑组织能量代谢、拮抗自由基损伤、保护神经细胞等作用^[4-5]。而脑缺血并发MODS与缺血性脑血管疾病具有共同的缺血再灌注损伤机制,为针刺人中穴、内关穴对脑缺血并发MODS有心组织保护作用提供了一定的理论依据。

组织形态与疾病的发展有着紧密的联系^[6],本研究发现,脑缺血并发MODS 24 h后心肌纤维浊肿、断裂,间质充血、水肿,血管周围水肿,心肌细胞空泡变性;在相同相点,针刺组心脏病理改变较模型组减轻,心肌纤维清晰可见,间质少量充血、水肿。提示:随着时间推移,心组织中会出现不同程度的细胞变性反应;模型组细胞随致伤时间增加已出现明显的细胞变性反应和细胞的丢失,这很可能是其心脏受损的重要病理基础之一。本研究原位杂交测试结果显示:针刺组大鼠心脏组织CD14 mRNA含量升高幅度低于相对应时相的模型组,与相对应时相的模型组比较,差异有非常显著性意义($P<0.01$)。急性脑缺血后心脏组织CD14 mRNA的水平明显上调,造成炎细胞(以中性粒细胞为主)与血管内皮细胞的黏附加强,在它们的趋化作用下炎细胞穿越血管壁向周围心脏组织浸润,引发炎症反应,造成脑缺血损害。针刺能够下调上述黏附分子及其CD14 mRNA的表达水平,降低心脏组织中部分炎性细胞因子的含量及其CD14 mRNA的表达,通过抑制炎细胞的黏附及浸润来抑制炎症反应,减轻心脏组织损害程度。结合前期HE和原位杂交技术研究结果,笔者认为,针刺人中穴、内关穴能减轻针刺组心脏组织中细胞变性反应和细胞丢失,这很可能是针刺对其组织起保护作用的重要病理学基础机制之一。

【参考文献】

- 石学敏. “醒脑开窍”针刺法治疗中风病905例临床研究[J]. 中医药导报, 2005, 11(1): 3-5.
- 郭洪志, 屈传强, 麻琳. 前脑缺血大鼠肠、肝组织CD14 mRNA表达与多器官功能障碍综合征的关系研究[J]. 中风与神经疾病杂志, 2004, 21(2): 19-20.
- 郭晶晶, 孟智宏, 刘新桥, 等. 针刺水沟、内关穴对窒息型心肺复苏家兔心肌IL-6、TNF- α 水平的影响[J]. 中国中医急症, 2010, 19(2): 272-273.
- 王舒, 郑灏泳, 李谈. “醒脑开窍”针法对大脑中动脉阻断后局灶性脑缺血大鼠神经细胞功能的影响[J]. 现代康复, 2001, 5(3): 53.
- 孟智宏, 杜元灏, 石学敏. 脑梗死大鼠脑、肺组织及血液中能量代谢指标变化及针刺的干预作用[J]. 中国临床康复, 2005, 9(45): 96-98.
- 孙海荣, 郭宏志, 张金彪, 等. 脑出血大鼠肝、肠组织中内毒素及其受体CD14的基因表达与多器官功能障碍综合征的关系[J]. 山东医药, 2012, 37(6): 30-32.

(责任编辑: 马力)