

参麦注射液足三里穴位注射对大鼠全身炎症反应综合征血清 IL-6、IL-8、TNF- α 的影响*

傅天啸¹ 兰菲¹ 华晨² 周剑² 傅永清^{2**}

(1. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053; 2. 浙江省中医院, 浙江 杭州 310006)

摘要:目的 研究参麦注射液足三里穴位注射对大鼠全身炎症反应综合征时的改善作用及炎症反应的抑制作用。方法 将80只大鼠随机分成四组:参麦组、针灸组、模型组和正常组。予以脂多糖(LPS)大鼠腹腔注射建立SIRS模型,分别给予参麦注射液足三里穴位注射、单纯针灸穴位刺激、生理盐水足三里穴位注射三种不同干预措施,正常组不作处理。观察干预后各组大鼠生命体征变化,测定血常规(白细胞、红细胞、血小板计数)、动脉血气分析(PCO₂、PO₂)及血清炎症因子(IL-6、IL-8、TNF- α)变化。结果 与模型组比较,参麦组白细胞计数显著降低($P<0.05$);与模型组比较,参麦组PO₂水平显著升高($P<0.05$)、PCO₂水平两者比较无统计学意义($P>0.05$);与模型组比较,参麦组血清IL-6、IL-8、TNF- α 表达水平显著降低($P<0.05$)。结论 参麦注射液足三里穴位注射能有效改善机体全身情况,减少白细胞,提高PO₂、降低PCO₂,抑制IL-6、IL-8、TNF- α 炎症因子表达水平,从而有效治疗全身炎症反应综合征,为临床提供依据。

关键词:参麦注射液;足三里穴位注射;大鼠;全身炎症反应综合征;炎症因子

中图分类号: R 965 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-168X(2015)05-0076-04

DOI: 10.13424/j.cnki.jsctcm.2015.05.028

Effect of ShenMai Injection in Zusanli on Serum IL-6, IL-8, TNF- α of SIRS Rats

Fu Tianxiao¹, Lan Fei¹, Hua Chen², Zhou Jian², Fu Yongqing²

(1. Zhejiang University of Chinese Medicine, Hangzhou 310053, China;

2. Zhejiang Hospital of Chinese Medicine, Hangzhou 310006, China)

Abstract Objective: To study the effect of ShenMai Injection in Zusanli on improving the condition of SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome) rats and inhibiting the inflammatory reaction. **Methods:** Totally 80 rats were randomly divided into four groups: the treatment group, acupuncture group, normal group and model group. SIRS models were established by injecting lipopolysaccharide (LPS) in rats' abdomen and given ShenMai Injection and normal saline in Zusanli point as well as just acupuncture, while the normal group received nothing. After the intervention, the records of rats' vital signs, the determination of blood (counts of white blood cell, red blood cell, platelet), arterial blood gas analysis (pCO₂, PO₂) and the determined changes of serum inflammatory cytokines (IL-6, IL-8, TNF alpha) were conducted. **Results:** Compared with the model group, the white blood cell counts of ShenMai group significantly decreased ($P<0.05$) and the levels of PO₂ markedly elevated ($P<0.05$) while the levels of PCO₂ in comparison of the two groups

* 基金项目:浙江省中医药管理局资助项目(2012ZA043)

** 通讯作者:傅永清(1964-),浙江杭州人,教授,硕士研究生导师,研究方向:中西医结合外科。E-mail: fuyongqing1949@163.com

had no statistical meaning ($P>0.05$); the expressions of serum IL-6, IL-8 and TNF- α of ShenMai group remarkably reduced compared with those of the model group ($P<0.05$). **Conclusion:** ShenMai Injection at Zusanli acupoint can effectively improve the general condition of the body, reduce white blood cells, elevate PO_2 level, decrease PCO_2 level and inhibit the expression of serum IL-6, IL-8 and TNF- α to conduct the SIRS treatment and provide evidences in clinic.

Keywords ShenMai Injection; acupoint injection on Zusanli; rat; SIRS; inflammatory factors

全身炎症反应综合征 (Systemic Inflammatory Response Syndrome, SIRS) 是机体遭遇伤害性刺激时宿主防御反应扩大,超出机体正常代偿范围而引起的广泛组织细胞损伤的全身炎症反应。机体受到外源性损伤或感染毒性物质时,可促发初期炎症反应,也是各种原因导致机体多器官功能障碍综合征 (Multiple Organ Dysfunction Syndrome, MODS) 的共同通路,临床治疗较为棘手,死亡率高,因此早期治疗干预 SIRS 对预防 MODS 有重要意义^[1]。

1 材料和方法

1.1 实验动物 SD 大鼠,雄性,SPF 级,体重 350 ± 40 g,由浙江中医药大学实验动物中心提供,合格证号:SYXK(浙)2008-0115。

1.2 药物与试剂 参麦注射液(杭州正大青春宝药业有限公司,批号 Z33020021)、脂多糖(LPS, E Coil 055:B5,购自美国 Sigma 公司产品)、IL-6、IL-8、TNF- α 酶联免疫试剂盒(购自南京建成生物工程研究所)、针灸针(规格:0.35 mm \times 40 mm,华佗牌,苏州医疗用品有限公司,批号 GB2024-1994)、3% 戊巴比妥钠(美国 sigma 公司,批号 P3761)。

1.3 仪器设备 BECKMAN CX7 全自动生化分析仪、TGL-20M 高速低温离心机、GEM Premier 3000 全自动血气分析仪、URIT-5500 全自动血液细胞分析仪(均由浙江中医药大学实验室提供)。

1.4 模型建立、分组给药 将 80 只 SD 大鼠适应性喂养 7 天后,按大鼠体重从高到低排序,查随机数字表,随机分成 4 组,每组 20 只。分别为参麦注射液足三里穴位注射组(简称参麦组)、单纯针灸足三里穴位刺激组(简称针灸组)、生理盐水足三里穴位注射组(简称模型组)、正常对照组(简称正常组)。按 5 mg/kg 予 LPS 注入各组大鼠尾静脉,建立动物 SIRS 模型,将动物放回笼内自由饮食。24 h 内造模死亡 7 只大鼠,剔除后重新补充相

应的动物模型,以确保造模成功。正常组,造模成功后不予处理;针灸组,造模 1 h 后进行第 1 次干预,即针刺足三里(大鼠足三里穴位于后腿前,膝关节后外侧,在腓骨小头下 5 mm 靠胫骨外侧),留针 5 min,以后每 24 h 针灸刺激 1 次;参麦组,造模 1 h 后进行第 1 次干预,即参麦注射液足三里穴位注,0.1 mL/100 g,以后每 24 h 注射 1 次;模型组,造模 1 h 后进行第 1 次干预,即生理盐水注射液足三里穴位注射,0.1 mL/100 g,以后每 24 h 注射 1 次。5 天干预结束后,各组大鼠先眼眶取静脉血 6 mL,后予 3% 戊巴比妥钠 16 mg/kg 进行腹腔麻醉,剖开腹腔,推开肠管,暴露腹主动脉,快速抽取腹主动脉血 5 mL,并处死全部大鼠。

1.5 指标检测 (1)外周血细胞计数:每只大鼠取血 3 mL,采用 URIT-5500 全自动血液细胞分析仪测定。(2)血气分析:每只大鼠取动脉血 3-5 mL,肝素抗凝后,采用 GEM Premier 3000 全自动血气分析仪测定。(3)血清 IL-6、IL-8、TNF- α 表达水平:每只大鼠取血 3 mL,严格按试剂盒说明采用 ELISA 法测定。

1.6 体征观察 观察大鼠的一般状态,包括活动、精神状况、食欲、毛色、呼吸、大小便、死亡情况等,实验前中常规监测大鼠心率、体温计测肛温。

1.7 统计学方法 实验数据用 SPSS19.0 统计软件进行统计学分析,计量资料数据以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组样本间比较采用单因素方差分析,进一步的组间两两比较采用 LSD 法,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对 SIRS 模型大鼠一般情况的影响 各组大鼠先后出现蜷缩少动、活动度下降、精神软、反应迟钝不欲饮食、毛竖少泽、发黄甚至出现掉毛现象、双目微闭、呼吸急促和大便不成形,无大鼠死亡情况。心率加速、肛温升高,采血时血液粘稠。参麦组小鼠的一般状态明显好于模型组。

2.2 对 SIRS 模型大鼠外周血细胞计数的影响
见表 1。

表 1 对 SIRS 模型大鼠外周血细胞计数的影响

组别	n	白细胞 ($\times 10^9/L$)	红细胞 ($\times 10^9/L$)	血小板 ($\times 10^9/L$)
正常组	20	10.02 \pm 1.57	6.89 \pm 1.17	623.83 \pm 226.60
模型组	20	8.21 \pm 1.29 *	7.04 \pm 1.67	626.55 \pm 191.42
参麦组	20	5.50 \pm 1.90 * Δ	6.69 \pm 1.20	611.70 \pm 185.39
针灸组	20	8.10 \pm 1.45 *	7.11 \pm 0.94	589.03 \pm 217.37

注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较, $\Delta P<0.05$ 。

结果表明,参麦组、针灸组、生理盐水组的白细胞计数与正常组比较,差异具有统计学意义($P<0.05$)。与模型组比较,参麦组白细胞显著降低,差异具有统计学意义($P<0.05$)。各组间红细胞、血小板比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.3 对 SIRS 模型大鼠血气分析的影响 见表 2。

表 2 对 SIRS 模型大鼠血气分析的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	PCO ₂ (mmHg)	PO ₂ (mmHg)
正常组	20	49.52 \pm 2.69	77.65 \pm 8.00
模型组	20	42.01 \pm 3.32 *	80.92 \pm 10.70
参麦组	20	41.38 \pm 2.70 **	92.20 \pm 9.40 Δ
针灸组	20	42.89 \pm 3.88 *	82.78 \pm 11.26

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

结果表明,参麦组、针灸组、模型组与正常组相比,PCO₂ 显著降低,差异具有统计学意义($P<0.05$)。与模型组相比,参麦组 PCO₂ 降低不显著,差异无统计学意义($P>0.05$)。与模型组相比,参麦组 PO₂ 显著升高,差异具有统计学意义($P<0.01$)。

2.4 对 SIRS 模型大鼠血清 IL-6、IL-8、TNF- α 表达水平的影响 见表 3。

表 3 对 SIRS 模型大鼠血清 IL-6、IL-8、TNF- α 表达水平的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	IL-6 (pg/ml)	IL-8 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)
正常组	20	283.350 \pm 3.249	347.722 \pm 9.257	149.000 \pm 6.070
模型组	20	280.550 \pm 4.071	343.800 \pm 8.806	146.250 \pm 10.244
参麦组	20	221.550 \pm 5.286 * Δ	325.900 \pm 7.085 * Δ	119.750 \pm 6.955 * Δ
针灸组	20	251.700 \pm 5.362 *	285.501 \pm 6.329 *	131.100 \pm 5.330 *

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

结果表明,参麦组与针灸组的 IL-6、IL-8、TNF- α 表达水平与正常组比较,差异具有统计学

意义($P<0.05$)。参麦组的 IL-6、IL-8、TNF- α 表达水平与模型组比较显著降低,差异具有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨论

SIRS 是感染、创伤、休克中最严重的并发症,其中肠源性内毒素血症与肠源性感染是腹部外科中引发 SIRS 的最主要原因^[2]。感染或非感染因素作用于机体时,内毒素入侵机体,当数量超过肝脏降解能力后,进入体循环或侵入重要脏器,刺激免疫细胞释放大炎症介质,如 IL-6、IL-8、TNF- α ,引发白细胞过度激活-炎症因子级联“瀑布效应”,最终导致多器官功能障碍综合征(Multiple Organ Dysfunction Syndrome,MODS)的一种动态临床发展过程^[3-4]。大量文献表明,参与 SIRS 的众多介质中,最有影响效应的是 TNF- α 和 IL-6。钱莉等^[5]研究证实,LPS 通过促进淋巴细胞分泌 IL-6、TNF- α ,引起血清 TNF- α 和 IL-6 水平增高,其中起中心作用的是 TNF- α ,是 SIRS 中导致炎症介质级联反应的主要因子。Sharif F 等^[6]实验发现 IL-6 通过降低补体 C5aR、调节巨噬细胞产生 TNF,促进 SIRS 发生。当 IL-6、TNF- α 持续呈高水平时,可能发展成为 MODS,甚至死亡。因此,我们推测有效的干预措施来降低 IL-6、TNF- α 有利于减少 SIRS。本次研究通过检测大鼠血清中 IL-6、IL-8、TNF- α 的表达水平进行实验干预的疗效评估。

穴位注射疗法是以经络学为指导,将药物与针灸结合通过对穴位双重刺激,临床操作简便易行,不良反应及痛苦较小,易被患者接受,适合实验室研究。对于注射的药物,近年来动物实验证实一些单味中药及有效提取物如黄芪、丹参、三七总皂苷等,可通过中和内毒素、抑制炎症介质释放、改善循环调节免疫以减轻组织或器官的炎症损伤^[7]。参麦注射液是古方参麦散的基础上加以现代技术改良的中药静脉注射剂,由人参、麦冬两味药物提取精制而成,具有大补元气、益气固脱、养阴生津之功效。从中医辨证角度看,感染类疾病属外感热病,势必伤阴,阴损及阳,而参麦注射液可滋阴助阳从而早期防治 SIRS;从西医药理研究角度看,人参中的胸腺肽成分,具有提高细胞免疫功能,对阻断炎症反应及炎症-免疫联合反应起

重要作用。焦鹏^[8]的临床报道证明,参麦注射液治疗组患者的临床症状改善显著、血常规、IL-6、INF- α 等指标好转均优于对照组,治愈率高于对照组,参麦注射液对SIRS有明显临床疗效。赵明等^[9]通过比较参麦注射液治疗组与丹参注射液治疗组对大鼠SIRS的治疗情况发现,参麦组疗效更为明显,大鼠经治疗后IL-6、INF- α 两指标均下降,下调了过高的炎症反应,SIRS大鼠存活率明显提高。足三里为人体足阳明胃经上的重要穴位,是一个强壮身心的大穴。现代针刺研究证实^[10],针灸刺激足三里穴,可使胃肠蠕动规律有力,提高多种消化酶的活力,改善微循环,消除炎症反应。因此足三里穴位注射在防治SIRS中作用的研究有积极意义。本次实验治疗组行参麦注射液足三里穴位注射与足三里针灸穴位刺激旨在比较两者对SIRS改善程度。

实验中通过对比治疗前后大鼠体征发现,参麦组临床表现最接近正常,仅有轻度异常,表明参麦注射液可以较好地改善SIRS的临床症状,与参麦注射液消除炎症细胞、炎症介质有关。分析实验后血常规变化发现,参麦组对外周白细胞计数的改善程度显著好于其余三组,说明参麦注射液可有效抑制炎症反应,对炎症进展有更好的控制作用,各组红细胞与血小板的改变无显著差异。参麦组与各组对比发现,参麦注射液穴位注射和针灸刺激两者均有效降低血清中IL-6、IL-8、TNF- α 三种炎症因子,以参麦组降低程度更为明显,而TNF- α 、IL-6是导致SIRS发生的两个重要核心因素,分析参麦注射液可显著改善核心炎症因子的表达水平,减轻内皮细胞损伤度,减轻自身过度“瀑布效应”,从而起到治疗SIRS的作用。根据正常组 PO_2 、 PCO_2 的变化得出,LPS导致SIRS形成后,会对肺功能产生影响,造成肺部损伤,也解释了大鼠体征改变中呼吸急促的表现。参麦组与模型组数据对比,参麦组可使 PO_2 升高,但 PCO_2 降低不显著,表明参麦注射液足三里穴位注射治疗大鼠SRIS时能一定程度改善肺通气功能,有保护肺脏的作用,推测也具有预防MODS的作用,对MODS的具体防治效果,有待课题项目进一步深入研究。

综上,本实验证明参麦注射液足三里穴位注射可以通过有效减少白细胞,提高 PO_2 、降低 PCO_2 来改善肺功能,抑制IL-6、IL-8、TNF- α 炎症因子表达水平,从而有效治疗SIRS,预防MODS产生,同时为临床用药提供了新思路。

参考文献

- [1] Friswell A C. Surviving Sepsis Campaign previews updated guidelines for 2012 [J]. Pulmonary Reviews, 2012, 17 (5):1-5.
- [2] 段吉明,李文星.全淋巴细胞在内毒素导致全身炎症反应综合征中作用机制的研究现状[J].中国临床研究, 2014,27(6):746-748.
- [3] Good DW, George T, Watts BA 3rd. Toll-like receptor 2 is required for LPS-induced Toll-like receptor 4 signaling and inhibition of ion transport in renal thick ascending limb [J]. J Biol Chem, 2012, 287(24):20208-20220.
- [4] Malmstrom ML, Hansen MB, Andersen AM, et al. Cytokines and organ failure in acute pancreatitis: inflammatory response in acute pancreatitis [J]. Pancreas, 2012, 41 (2):271-277.
- [5] 钱莉,佟大可,潘兴元,等.脂多糖对B细胞的活化作用及机制的初步研究[J].第二军医大学学报, 2011, 32 (11):1231-1234.
- [6] Sharif F, Mohebbi S, Tabatabaee HR, et al. Effects of psycho-educational intervention on health-related quality of life (QOL) of patients with chronic liver disease referring to Shiraz University of Medical Sciences [J]. Health Qual Life Outcomes, 2005, 3:81.
- [7] 吕根法,王国治,石宏伟,等.中草药拮抗内毒素作用机制研究进展[J].河南科技大学学报(医学版), 2010, 28 (3):230-232.
- [8] 焦鹏.参麦注射液对全身炎症反应综合征的临床疗效研究[J].当代医学, 2009, 15(36):8-9.
- [9] 赵明,蒋鹏,汪小梅.参麦、丹参注射液治疗全身炎症反应综合征[J].江苏医药, 2009, 35(12):1467-1469.
- [10] Yan C C, Peng Y, Lin Y P, et al. [Effect of manual acupuncture stimulation of “Zusanli” (ST 36) on gastric motility, and SP and motilin activities in gastric antrum and nucleus raphe magnus in gastric hyperactivity and hypoactivity rats] [J]. Zhen Ci Yan Jiu, 2013, 38(5): 345-351.