

针刺对不完全肠梗阻模型大鼠血清TNF- α 、IL-6和小肠推进率的影响

刘莹, 李平

背景资料

自20世纪中叶以来, 抗生素和无菌术的应用降低了术后感染等并发症的发生率与死亡率, 但如何减少术后肠梗阻(postoperative ileus, POI)的发生仍是外科术后亟需解决的一项难题。国内外多个研究机构对于POI的发病机制进行了大量的研究, 提示手术触发肠道炎症介质的释放被认为是POI发生过程中的关键事件。目前尚未发现单用有效的POI特效治疗手段, 文献报道多种治疗手段联合疗效较好。近年来研究发现中医针刺治疗对于POI具有独到的疗效。

同行评议者

吴焕淦, 教授, 博士生导师, 上海市针灸经络研究所

刘莹, 天津市中西医结合医院(天津南开医院)消化内科 天津市 300100

李平, 天津市第三中心医院 天津市 300170

作者贡献分布: 此课题由刘莹与李平设计; 动物模型制作与实验操作由刘莹与李平完成; 论文写作由刘莹完成。

通讯作者: 刘莹, 主治医师, 医学博士, 300100, 天津市南开区三纬路122号, 天津市中西医结合医院(天津南开医院)消化内科。lylr05115@163.com

电话: 022-27435334

收稿日期: 2015-06-15 修回日期: 2015-07-19

接受日期: 2015-07-30 在线出版日期: 2015-08-28

Effect of acupuncture on serum TNF- α and IL-6 and small intestinal transit rate in rats with incomplete intestinal obstruction

Ying Liu, Ping Li

Ying Liu, Department of Gastroenterology, Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine (Tianjin Nankai Hospital), Tianjin 300100, China

Ping Li, the Third Central Hospital, Tianjin 300170, China

Correspondence to: Ying Liu, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine (Tianjin Nankai Hospital), 122 Sanwei Road, Nankai District, Tianjin 300100, China. lylr05115@163.com

Received: 2015-06-15 Revised: 2015-07-19

Accepted: 2015-07-30 Published online: 2015-08-28

Abstract

AIM: To reveal the mechanism by which acupuncture treatment promotes gastrointestinal function recovery in acute abdomen disease.

METHODS: Forty SD rats were randomly

divided into five groups. Rats in the normal group were not given any surgery or treatment, and rats in other four groups (1- and 2-day model groups and 1- and 2-day treatment groups) were given an operation to obstruct the ileum by thread ligation. The two treatment groups were given acupuncture at Zusanli and Yanglingquan acupoints. Serum levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) were compared between different groups, and the rate of small intestinal transit was also compared.

RESULTS: Serum concentrations of TNF- α and IL-6 differed significantly between the 1-day acupuncture group and 1-day model group, as well as between the 2-day acupuncture group and 2-day model group, although there was no significant difference between the 1- and 2-day acupuncture groups. The rate of small intestinal transit differed significantly between the 1-day acupuncture group and 1-day model group, between the 2-day acupuncture group and 2-day model group, as well as between the 1- and 2-day acupuncture groups.

CONCLUSION: Acupuncture at Zusanli and Yanglingquan acupoints can increase serum levels of TNF- α and IL-6 and the rate of small intestinal transit in rats with incomplete intestinal obstruction.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Incomplete intestinal obstruction; Tumor necrosis factor- α ; Interleukin-6; Acupuncture

Liu Y, Li P. Effect of acupuncture on serum TNF- α and IL-6 and small intestinal transit rate in rats with incomplete intestinal obstruction. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(24): 3894-3898 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3894.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i24.3894>

摘要

目的: 本实验旨在研究针刺足三里、阳陵泉治疗急腹症术后胃肠功能紊乱的机制。

方法: 将40只SD大鼠分为5组, 正常组作为对照组不进行处理, 其他4组选择丝线单纯结扎法制作不完全肠梗阻大鼠模型造模处理。模型1 d组和模型2 d组不进行处理, 针刺1 d组和针刺2 d组选取足三里、阳陵泉给予针刺治疗, 处死大鼠, 运用酚红试剂检测小肠推进率水平, 应用ELISA方法检测并对比模型大鼠血清中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)含量。

结果: TNF- α 和IL-6含量: 针刺1 d组和模型1 d组、针刺2 d组和模型2 d组比较均有显著差异($P<0.05$), 针刺1 d组和针刺2 d组比较无显著统计学差异($P>0.05$); 酚红试剂小肠推进率百分比: 针刺1 d组和模型1 d组、针刺2 d组和模型2 d组比较均有显著性差异($P<0.05$), 针刺2 d组和针刺1 d组比较亦有显著统计学差异($P<0.05$)。

结论: 针刺足三里、阳陵泉可以降低不完全肠梗阻模型大鼠血清中的TNF- α 和IL-6浓度含量。针刺足三里、阳陵泉可以提高不完全肠梗阻模型大鼠小肠的推进率, 加快肠道运动。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 不全性肠梗阻; 肿瘤坏死因子- α ; 白介素-6; 针刺

核心提示: 本文以针刺在不完全肠梗阻中的作用展开研究, 观察血清中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α)、白介素-6(interleukin-6)的表达, 并结合小肠推进率说明针刺对胃肠道作用。结果提示针刺足三里、阳陵泉能促进肠蠕动, 改善肠梗阻症状, 减轻局部炎症。

刘莹, 李平. 针刺对不完全肠梗阻模型大鼠血清TNF- α 、IL-6和小肠推进率的影响. *世界华人消化杂志* 2015; 23(24): 3894-3898 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3894>

asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i24.3894>

0 引言

不完全性肠梗阻是急腹症术后常见的并发症之一。其以胃肠道运动功能障碍为主, 表现为腹胀、纳差、恶心、呕吐、便秘, 甚或肛门停止排气排便等症状^[1], 急腹症术后肠梗阻在临床上主要有以下三种类型, 即术后麻痹性肠梗阻、术后早期肠梗阻和术后早期炎性肠梗阻^[2,3]。术后早期炎性肠梗阻发生在腹部手术后早期, 系指由于腹部手术创伤或腹腔内炎症等原因导致肠壁水肿和渗出, 形成的一种机械性与动力性同时存在的粘连性肠梗阻^[4]。目前在南开医院急腹症外科, 针刺治疗已广泛用于术后肠梗阻的患者, 术后尽快给予针刺, 这有利于术后胃肠道各项机能的恢复。在选取穴位上, 由于是腹部手术, 所以本文避开了腹部穴位的选取, 而是选取足三里、阳陵泉这些四肢穴位, 安全性较好。在临床疗效方面, 确实能加快肠道蠕动的恢复, 对术后腹腔炎症的发生及伤口的愈合, 也具有一定的疗效。

针刺作为一种中医独特的疗法, 已有几千年的历史, 被公认一种安全、简便、有效的治疗手段^[5]。在改善术后胃肠功能方面针刺有其独特的优势。首先, 针刺疗效值得肯定, 能够快速的改善急腹症腹部术后患者肠蠕动抑制情况, 加快排气排便, 使患者尽早的经肠道进食。其次, 针刺操作简便, 使用治疗器具简单, 不改变患者体位, 不影响手术部位, 只取四肢远端穴位。最后, 针刺通过调节自身免疫力达到恢复胃肠蠕动功能的目的, 没有外源性的物质进入身体, 所以不良反应很少, 相对安全性很高。针刺能有效调整胃肠动力且起效不需经胃肠消化吸收, 将其应用于术后可早期介入, 具有独特的优势^[6-8]。本实验选取炎性介质肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)和小肠推进率这些指标, 通过针刺大鼠的足三里及阳陵泉两穴, 来评估针刺对急腹症术后不全性肠梗阻胃肠功能的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 SPF级SD大鼠40只, 雌雄各半, 体质量250 g \pm 20 g。动物由南开医院实验动物中心提供, 实验动物质量合格证明编号

■ 研究前沿

目前对针刺治疗不完全性肠梗阻的研究重点和热点集中在对观察指标的选取, 从以前单纯通过肌电图法、影像法、胃动图等观察向激素水平、炎症介质、神经因子等指标转化, 还可从针刺的手法进行研究, 如提插手法、捻转手法, 也可适当加入电针、温针等。

■ 相关报道

手术后不完全性肠梗阻是外科手术术后常见并发症, 秦新裕等提出炎症因子是此并发症的病因之一, 这就促使研究者从病因病机中选取观察指标。李鸿雁等、戈宏焱等均提到针刺足三里对胃肠功能恢复的影响, 足三里属足阳明胃经, 为胃经下合穴, 选穴足三里, 意在调节升降气机, 使腑气以通为降, 从而改善胃肠功能状况。

■创新盘点

本文从针刺治疗不完全性肠梗阻的作用与机制思路入手,从胃肠功能紊乱的病因出发,选取炎症介质肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)作为观察指标,加深了对不完全性肠梗阻病因及机制的理解,也为临床研究拓宽了思路。

■应用要点

将本文所研究相关内容应用于临床,针刺治疗术后不完全性肠梗阻患者,不仅能促使患者尽快恢复胃肠道动力,缩短排气、排便时间,尽早进食,同时能减轻患者手术后的炎症反应,减少抗生素的使用,缩短平均住院时间。

SCXK-(军)2014-0015. PBS洗液、生理盐水、10%水合氯醛。小鼠IL-6酶联免疫检测试剂盒(武汉博士德公司)、TNF- α 酶联免疫检测试剂盒(武汉博士德公司)、酚红(大连医科大学附属第二医院中心实验室提供)、明胶(大连医科大学附属第二医院中心实验室提供)、华佗牌0.25 mm \times 25 mm毫针(苏州针灸用品有限公司)、酶标仪(KHB-ST-360酶标仪,上海)、孵育箱(上海医疗器械七厂)、洗板机(Ray to RT3000, 美国)、电子天平(Libro, 日本)、注射器、止血钳、直剪、试管等。

1.2 方法

1.2.1 实验分组及造模: 完全随机法分5组(8只/组): 空白对照组, 模型1 d组, 模型2 d组, 针刺1 d组, 针刺2 d组。10%水合氯醛过滤器过滤后, 再行腹腔注射进行麻醉, 给药剂量0.33 mL/100 g。麻醉后采用丝线单纯结扎法(EI-Awady等^[9])制作不完全肠梗阻大鼠模型。具体过程如下: 首先将禁食禁饮12 h的SD大鼠麻醉, 备皮, 开腹, 找到距回盲部约3-5 cm回肠肠管, 并平行放置中心静脉导管, 然后用带7号丝线的圆针, 避开血管穿透肠系膜, 把中心静脉导管合并结扎, 最后轻抽出中心静脉导管, 将肠段放回腹腔原位, 用连续缝合法缝合腹膜及肌层, 再用间断缝合法缝合大鼠皮肤。手术当天禁食禁水, 为指标检测做胃肠准备。

1.2.2 针刺干预: 随着针灸治疗和机制研究的深入, 国内外应用动物进行针灸实验研究日益普遍。动物的实验研究主要是服务于临床及针灸经络原理研究, 因此关于穴位的名称, 我们原则上以人体穴名为主, 以利于今后教学和科研工作。由于大鼠本身解剖名称, 我们改换了少数的穴位名称, 如足三里改为后三里, 手三里改为前三里。(1)取穴: 足三里(后三里), 阳陵泉。穴位定位参照中国针灸学会实验针灸分会制定的《动物针灸穴位图谱》及《实验针灸学》^[10]。足三里(后三里): 位于后肢胫骨粗隆外侧膝至踝间上1/5处。阳陵泉: 位于距后三里上外侧5 mm左右;(2)针刺: 术后动物清醒即予针刺。针刺1 d组、针刺2 d组: 将大鼠放于自制固定器(木板固定)中, 双手持针, 用直径0.25 cm, 长25 mm的针直刺入穴位, 每5 min缓慢提插捻转2-3次。模型组及空白组: 每天同一时间放于自制固定器中15 min。每日共治疗2次, 每次15 min。针刺1 d组治疗1 d, 针刺2 d组治疗2 d。

1.2.3 指标检测: (1)大鼠小肠推进率: 采用酚红排空测定法: 所有大鼠于实验完毕, 准备颈椎脱臼处死前30 min, 用0.04%酚红溶液(含明胶10%)0.0125 mL/g灌胃, 30 min后处死大鼠, 立即开腹取出整段小肠, 量取小肠全长(幽门至回盲部)及酚红在小肠内的推进长度, 计算小肠推进率^[11];(2)大鼠血清标本收集与血清IL-6、TNF- α 测定: 小鼠在颈椎脱臼处死前摘眼球取血1 mL, 并立即离心取血清, 后置于-20℃冰柜中保存, ELISA法测定血清IL-6、TNF- α 水平。

统计学处理 应用SPSS13.0统计软件进行数据分析。血清IL-6、TNF- α 水平及小肠推进率百分比进行5组间方差分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 造模情况及各组大鼠性别、体质量比较 将随机分组后除空白组外的其他4组进行不完全性肠梗阻模型造模, 造模过程顺利(图1)。造模后针刺1 d组死亡1只, 死亡原因为麻药过量, 其余31只模型大鼠均存活, 总计成功31例。另正常组因撕咬致死1只大鼠。造模1 d后观察大鼠排便情况, 正常组大鼠均有排便, 其余4组除针刺1 d组大鼠有1只排便外, 其他均未排便, 提示造模成功提示造模成功。正常值大鼠体质量245.875 g \pm 11.96 g, 模型1 d组体质量245.60 g \pm 9.62 g, 针刺1 d组体质量247.125 g \pm 8.38 g, 模型2 d组体质量244.25 g \pm 15.43 g, 针刺2 d组体质量248.12 g \pm 13.20 g, 体质量采用单因素方差分析, 结果两指标5组间及两两比较均无显著性差异($P>0.05$)。

2.2 各组大鼠血清中TNF- α 及IL-6浓度结果比较 对于血清IL-6、TNF- α 含量, 模型1 d组和模型2 d组分别与空白组比较, 两者含量均明显增高($P<0.05$); 针刺1 d组与模型1 d组比较, 针刺2 d组与模型2 d组比较, 两者含量均有不同程度的下降($P<0.05$), 而针刺2 d组与针刺1 d组比较, 血清IL-6、TNF- α 含量相差不大($P>0.05$)(表1)。

2.3 各组大鼠小肠推进率百分比结果比较 模型1 d组和模型2 d组分别与空白组比较, 小肠推进率明显减低(24.63% \pm 5.14%, 19.10% \pm 4.77% vs 60.40% \pm 12.77%); 针刺1 d组(41.02% \pm 8.83%)与模型1 d组比较, 针刺2 d组(51.75% \pm 10.10%)与模型2 d组比较, 小肠推进率水平

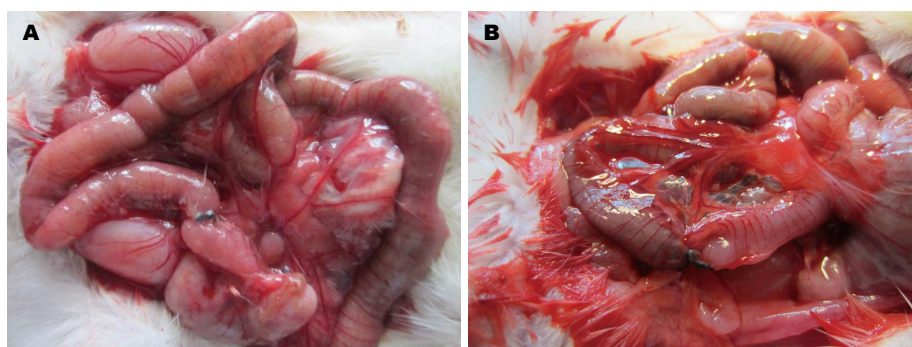


图1 大鼠造模情况. A: 造模后1 d; B: 造模后针刺1 d.

■名词解释

瀑布样效应: 在本文中即指炎症介质的不断增多, 增多的趋势呈现像瀑布一样强劲的姿态, 从而引起严重的炎症反应和组织损伤。

表1 不同组大鼠血清中IL-6和TNF- α 浓度水平比较 (mean \pm SD, pg/mL)

分组	n	IL-6浓度	TNF- α 浓度
正常组	7	42.355 \pm 16.831	77.35 \pm 21.12
模型1 d组	8	71.934 \pm 22.477	153.94 \pm 28.53
针刺1 d组	7	52.097 \pm 20.216	117.07 \pm 22.61
模型2 d组	8	94.246 \pm 26.713	179.26 \pm 30.88
针刺2 d组	8	60.506 \pm 23.170	128.50 \pm 21.17

IL-6: 白介素-6; TNF- α : 肿瘤坏死因子- α .

明显增加($P < 0.05$); 针刺2 d组与针刺1 d组比较, 小肠推进率水平亦有所增加($P < 0.05$).

3 讨论

3.1 关于TNF- α 和IL-6 腹部手术后不全性肠梗阻是腹部手术或污染手术后出现的以炎症为主要致病原因的肠梗阻. 肠梗阻引起组织损伤, 组织损伤可引起某些细胞因子和炎症介质的释放, 对胃肠动力产生抑制性作用, 在严重感染炎症反应明显的情况下, 术后发生的胃肠动力抑制更为显著^[12,13].

在各式各样的炎症反应、感染中, TNF- α 和IL-6具有重要意义. TNF- α 可直接启动机体的局部炎症反应过程, 也可刺激其他促炎症细胞因子的表达以及氧自由基的生成, 在所有促炎症因子中起核心和关键的作用. IL-6 是一种促炎症因子, 参与机体急性炎症反应过程^[14].

关于大鼠血清的IL-6和TNF- α 浓度含量, 本实验的结果显示: (1)模型1 d组和模型2 d组分别与正常组比较, 具有统计学差异, 说明发生不全性肠梗阻的大鼠血清内IL-6和TNF- α 含量明显增高, 不全性肠梗阻的发生, 使肠道细菌、毒素迅速增加, 并激发各种细胞因子和炎性介质的增多, 形成瀑布样效应, 引起严重

的细胞及组织损伤^[15]. 机体各种炎症因子的分泌, 会导致微循环障碍, 大量分泌亦会引起内分泌紊乱, 对胃肠动力产生抑制性作用. 在严重感染炎症反应明显情况下, 术后发生的胃肠动力抑制更为显著; (2)针刺1 d组和模型1 d组比较、针刺2 d组和模型2 d组比较, 针刺后大鼠血清内IL-6和TNF- α 含量均有明显下降, 说明针刺足三里、阳陵泉两穴位能减少炎症介质TNF- α 、IL-6等的释放, 并有效保护肠道黏膜, 减少肠道黏膜损害并降低肠道通透性, 对促进胃肠蠕动, 改善不全性肠梗阻大鼠的胃肠功能有重要意义; (3)针刺2 d组与针刺1 d组比较, 血清内IL-6和TNF- α 含量未见明显变化, 可能说明: 对于不全性肠梗阻的针灸治疗, 可能针刺时间延长并不能提高针刺的治疗效果; 由于模型2 d的大鼠有部分在结扎处出现化脓坏死情况, 且炎症介质TNF- α 、IL-6的释放呈现瀑布样增多趋势, 但从数据上对比, 针刺2 d与针刺1 d组的TNF- α 和IL-6浓度却无明显差异, 这可能也印证针刺2 d, 治疗延长, 确实比针刺1 d的治疗效果具有显著性好转, 但由于样本例数偏少以及本实验的设计所限, 没能从统计学层次上进一步印证, 这有待于以后改进方法, 增加样本例数以作更详尽有说服力的研究.

同行评价

本文能采用针刺解决手术后的不完全梗阻问题,具有一定的创新性,对于临床应用具有一定的参考价值。

3.2 关于小肠推进率 关于大鼠的小肠推进率比较,实验结果显示:(1)模型1 d组和模型2 d组分别与正常组比较,具有统计学差异,说明发生不全性肠梗阻的大鼠胃肠道运动受限,小肠运动减慢;(2)针刺1 d组和模型1 d组比较,针刺2 d组和模型2 d组比较,均具有统计学差异,小肠推进率明显加快,说明针刺足三里、阳陵泉两穴,并小幅度缓慢做手法,对不全性肠梗阻大鼠肠道动力的恢复、小肠传输功能的改善起到了良好的作用;(3)针刺2 d与针刺1 d组相比较,亦具有统计学差异,说明增加针刺治疗时间,对于小肠动力的恢复具有良好的改善意义,推及到临床应用,对于不全性肠梗阻的患者,应按照疗程每天给予针刺治疗,循序渐进,这对于患者肠道动力及肠道传输功能的恢复有重要的临床意义,改善预后。

3.3 不足与展望 今后关于腹部术后胃肠运动功能紊乱的研究,需加大对其基础研究的力度。(1)本研究所选取的动物模型,是对临床手术操作的直接模仿,其适用范围有一定局限性,且模型大鼠的肠管结扎处有少部分出现化脓情况,故对于腹部术后胃肠功能紊乱的通用动物模型及造模方法,尚需深入研究;(2)在样本例数上,在以后的实验中力求选取更多的样本量,因为大样本实验在数据上更具有说服力;(3)治疗方法的研究上,内容仍要进一步丰富。针灸宜加入不同针法及灸法的内容,电针的研究宜运用多种不同波形及频率,以观察不同刺激对术后胃肠功能紊乱的影响;(4)在观察指标的选取上,本实验没有选取提示胃肠功能紊乱的那些常见指标,而是从胃肠功能紊乱的病因出发,选取致炎因子作为观察指标,不仅加深了对不全性肠梗阻病因病机的理解,也为临床研究拓

宽了思路。

总之,腹部术后胃肠功能紊乱的实验研究,还处在一个起步阶段,其发展空间很大,有待进一步深入研究。

参考文献

- 何静. 中药敷脐治疗经腹术后患者胃肠功能紊乱51例临床观察. 河北医药 2009; 31: 2497
- 奚晓华, 杨刚. 腹部手术后胃肠功能障碍的现代概念. 吉林医学 2013; 34: 127-130
- 秦新裕, 刘凤林. 术后胃肠动力紊乱的研究进展. 中华胃肠外科杂志 2005; 8: 193-195
- 申莉萍, 雷春华. 电针加穴位注射对术后早期炎性肠梗阻患者血浆促炎因子及胃动素水平的影响. 中国针灸 2011; 31: 795-798
- 鲁跃英. 针刺联合治疗腹部手术后胃瘫综合征临床观察. 中国中医急症 2012; 21: 132-133
- 戈宏焱, 陈博, 李有田. 针刺对肾移植术后患者胃肠道反应的影响. 中国针灸 2008; 28: 177-178
- 王军武, 陈理国, 张显华. 针刺治疗对开腹术后胃肠蠕动恢复的影响. 西南国防医药 2009; 19: 795-796
- 李鸿雁, 杨丹宁, 李航. 针刺足三里对食管癌术后胃肠功能恢复的影响. 江苏中医药 2008; 40: 83-84
- El-Awady SI, El-Nagar M, El-Dakar M, Ragab M, Elnady G. Bacterial translocation in an experimental intestinal obstruction model. C-reactive protein reliability? *Acta Cir Bras* 2009; 24: 98-106 [PMID: 19377777 DOI: 10.1590/S0102-86502009000200005]
- 李忠仁. 实验针灸学. 第1版. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 313-315
- 庄林燕, 刘洁, 曹立幸, 陈志强, 蒋志, 陈其城, 梁倩君. 腹部术后胃肠功能评价指标的研究现状. 实用医学杂志 2014; 30: 3347-3349
- 张威庆, 张花花, 刘虎. 不同剂量皮硝外敷对胃肠外科术后早期炎性肠梗阻的影响. 贵阳医学院学报 2015; 40: 195-197
- 张翔伟, 张敏州, 翁燕娜, 李芳, 吴巧媚, 张晓璇, 韩云. 通腑泻下法干预危重症患者胃肠功能障碍的临床研究. 北京中医药大学学报 2011; 34: 707-710
- 王通. 通腑运肠汤内服加灌肠治疗粘连性肠梗阻46例. 广西中医学院学报 2014; 20: 12-15
- 刘昱非. 大承气汤对不完全性肠梗阻大鼠血清中IL-1和IL-6及回盲部形态学的影响. 湖南中医药大学学报 2014; 34: 89-93

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
8226 Regency Drive, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

