

电针足三里对脾气虚模型大鼠骨骼肌线粒体呼吸链复合物活性和 ATP 含量的影响

勇入琳¹, 刘路², 董佳梓², 张立德²

(1. 浙江中医药大学, 杭州 310005; 2. 辽宁中医药大学, 沈阳 110847)

【摘要】 目的 观察电针足三里穴对脾气虚模型大鼠骨骼肌线粒体呼吸链复合物 I、II、III 和 IV 活性以及三磷酸腺苷(ATP)含量的影响。**方法** 将 32 只雄性 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、足三里组和非穴组, 每组 8 只。采用劳倦过度及饮食不节的复合因素制备大鼠脾气虚证候模型, 足三里组予电针双侧足三里穴治疗, 非穴组予电针双侧非经非穴点治疗。观察各组大鼠的毛色、进食量和粪便情况, 并测量各组大鼠前肢抓力以评估肌肉力量; 采用比色法检测大鼠骨骼肌组织三磷酸腺苷(ATP)含量, 用酶标法检测大鼠骨骼肌组织线粒体呼吸链复合物 I、II、III 和 IV 活性。**结果** 造模后, 与正常组比较, 模型组、足三里组和非穴组大鼠体质量和抓力显著下降($P < 0.05$), 骨骼肌组织线粒体呼吸链复合物 I、II、III 和 IV 活性及 ATP 含量明显降低($P < 0.05$)。与模型组比较, 足三里组大鼠体质量略增加、抓力明显增大($P < 0.05$), 骨骼肌组织线粒体呼吸链复合物 I、II、III 和 IV 活性及 ATP 含量显著升高($P < 0.05$); 非穴组大鼠上述指标与模型组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 电针足三里穴可明显提高脾气虚模型大鼠骨骼肌线粒体呼吸链复合物 I、II、III 和 IV 活性, 增加 ATP 含量, 参与线粒体呼吸及能量代谢的调控作用而发挥健脾益气的功效。

【关键词】 电针; 穴, 足三里; 脾气虚; 线粒体呼吸链复合物; 三磷酸腺苷; 大鼠

【中图分类号】 R2-03 **【文献标志码】** A

DOI:10.13460/j.issn.1005-0957.2022.12.1217

Effects of Electroacupuncture at Zusanli (ST36) on the Activities of Mitochondrial Respiratory Chain Complexes and ATP Content in Skeletal Muscles of Rats with Spleen Qi Deficiency YONG Rulin¹, LIU Lu², DONG Jiazhi², ZHANG Lidé². 1.Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310005, China; 2.Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China

[Abstract] **Objective** To observe the effects of electroacupuncture at Zusanli (ST36) on the activities of mitochondrial respiratory chain complexes I, II, III, and IV and the content of adenosine triphosphate (ATP) in skeletal muscles of rats with spleen Qi deficiency. **Method** Thirty-two male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly assigned to a normal group, a model group, a Zusanli group, and a non-acupoint group, with 8 rats in each group. The spleen-Qi-deficiency rat model was established using exhaustive swimming alongside improper diet. The Zusanli group was intervened by electroacupuncture at Zusanli, and the non-acupoint group received electroacupuncture at spots away from meridians. Hair color, food intake, and stool pattern were observed. The rats' front paw's grip force was measured to assess muscle strength; the skeletal muscle ATP content was determined using colorimetric assay; the enzyme labeling method was adopted to detect the activities of mitochondrial respiratory chain complexes I, II, III, and IV in rats' skeletal muscle tissues. **Result** After modeling, compared with the normal

基金项目: 国家自然科学基金项目(81603704); 浙江省自然科学基金项目(LQ20H270004); 浙江省教育厅科研项目(Y201840376); 浙江中医药大学中青年科研创新基金项目(KC201919)

作者简介: 勇入琳(1989—), 女, 讲师, Email:yongrulin@zcmu.edu.cn

通信作者: 张立德(1959—), 男, 教授, 博士生导师, Email:zhldtcm@163.com

group, rats in the model, Zusanli, and non-acupoint groups showed emaciated, with decreased body weight and declined grip force ($P < 0.05$); the activities of mitochondrial respiratory chain complexes I, II, III, and IV and the content of ATP in skeletal muscle tissues dropped significantly in the three groups ($P < 0.05$). Compared with the model group, rats in the Zusanli group had increased body weight and notably strengthened grip force ($P < 0.05$), and the activities of mitochondrial respiratory chain complexes I, II, III, and IV and the content of ATP in skeletal muscle tissues increased significantly ($P < 0.05$); the differences between the non-acupoint group and model group were statistically insignificant in comparing the indicators mentioned above ($P > 0.05$). **Conclusion** Electroacupuncture at Zusanli can significantly increase the activities of mitochondrial respiratory chain complexes I, II, III, and IV and the content of ATP in skeletal muscles of spleen-Qi-deficiency rats, playing a regulatory role in mitochondrial respiration and metabolism to strengthen the spleen and supplement Qi.

[Key words] Electroacupuncture therapy; Point, Zusanli (ST36); Spleen Qi deficiency; Mitochondrial respiratory chain complexes; Adenosine triphosphate; Rats

《素问·痿论》中“脾主身之肌肉”概括地提出脾脏与人体肌肉充实程度及功能活动的正常与否密切相关。至北宋《太平圣惠方》则将上述“脾主肌肉”具体如何发挥作用详加描述,“脾胃者……荣于肌肉也”认为脾胃通过将水谷中的精微物质化生为气血,从而濡养肌肉。可见机体肌肉之强健有力与脾胃功能正常与否密切相关,脾的运化正常,则谷气自旺,化源不乏,四肢肌肉乃得温养。在病理状态下,若脾脏功能失调,则会出现运动功能障碍等一系列临床表现。肢体的各项活动依赖于骨骼肌的舒缩,而其是一种主动的耗能过程,由线粒体所产生的三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)为全身各细胞提供充足的能量^[1]。其中分布于线粒体内膜上的4种复合物(复合物I、II、III和IV)被认为对完成线粒体的氧化磷酸化及ATP合成具有重要作用^[2-3]。足三里是健脾益气的要穴,课题组前期研究证实电针足三里能够增加脾气虚模型大鼠的进食量与活动性,同时改善其大便溏泄等症状,发挥健脾益气的作用,而其机制可能与上调能量代谢相关指标表达有关^[4-6]。本次研究采用饮食不节与劳倦过度的复合因素制备脾气虚大鼠模型,并给予电针足三里穴治疗,观察其对骨骼肌ATP含量及线粒体呼吸链复合物I、II、III和IV活性的影响,拟从骨骼肌线粒体呼吸链与能量代谢的角度揭示足三里健脾益气的作用机制。

1 材料与方

1.1 实验动物及分组

SPF级雄性Sprague Dawley(SD)大鼠32只,体质量(200±10)g,购自北京维通利华实验动物技术有限

公司,许可证号为SCXK(京)2016-0011。实验动物饲养于辽宁中医药大学实验动物中心,室温18~23℃,相对湿度45%~55%,大鼠自由进食饮水,适应性饲养1周后开始实验。实验过程严格按照《关于善待实验动物的指导性意见》^[7]对动物进行处置。采用随机数字表法将32只大鼠平均分配为4组,分别为正常组、模型组、足三里组和非穴组,每组8只。

1.2 主要仪器与试剂

华佗牌针灸针(0.19 mm×10 mm,苏州医疗用品厂有限公司),华佗牌电子针疗仪(SDZ-II型,苏州医疗用品厂有限公司),多功能酶标仪(SpectraMax I3,奥地利MD公司),微量冷冻离心机(Sorvall ST 16R,美国Thermo Scientific公司),大小鼠抓力测定仪(YLS-13A,济南益延科技发展有限公司)。ATP含量检测试剂盒(BC0300,北京索莱宝科技有限公司),线粒体呼吸链复合体I、II、III和IV测试盒(苏州科铭生物技术有限公司)。

1.3 造模方法

参照课题组前期研究^[8]方法,采用劳倦过度及饮食不节的复合因素复制大鼠脾气虚证候模型。大鼠先禁食2d,再饱食1d,自由饮水,每日于35~37℃水温下负重(质量为5%体质量的保险丝绑于大鼠尾部)游泳20 min,3d为1个造模周期,共5个周期。大鼠出现食少、神疲、乏力、皮毛无光泽或枯槁及体质量下降,符合《中医实验动物模型方法学》^[9]中记载脾气虚模型的评定标准,提示造模成功。

1.4 各组干预方法

造模成功后各组大鼠恢复正常饮食并分别予相应的干预措施。足三里组中,将大鼠固定于鼠架上,暴露

后肢,用 75% 乙醇溶液消毒局部皮肤,选择 0.19 mm×10 mm 一次性无菌针灸针刺双侧足三里穴,穴位定位参照《实验针灸学》^[10]中相关标准,直刺深度 5 mm,用 SDZ-II 型电针仪连接双侧两针柄上(左下肢接正极,右下肢接负极),采用疏密波,强度 0.5 mA,频率 2/15 Hz,每日 1 次,每次 20 min,连续 7 d。非穴组中以髂嵴连线上方 15 mm,后正中线左右旁开 20 mm 处为非经非穴点^[11],平刺 5~8 mm,用 SDZ-II 型电针仪连接双侧非经非穴点的两针柄上(左下肢接正极,右下肢接负极),余操作同足三里组。正常组和模型组予相同时间的固定,但不做其他处理。

1.5 取材方法

各组干预 7 d 后,大鼠禁食不禁水 12 h 以上,予腹腔注射麻醉。暴露股四头肌,快速切取股四头肌组织,置于液氮罐中,稍后冻存于 -80 °C 冰箱备用。

1.6 观察指标

1.6.1 大鼠体质量测定

从实验第 1 天开始,每 3 天在当日造模之前测量 1 次大鼠体质量,最后 1 次于实验第 22 天 20:00 点测量,记录并统计其变化。

1.6.2 大鼠抓力测定

YLS-13A 大小鼠抓力测定仪是目前使用广泛的测定大、小鼠抓力的仪器,可以直观评价动物衰老、神经肌肉损伤所引起的力量降低及药物等干预的效果。各组大鼠分别于造模前(第 0 天)、造模后(第 15 天)和治疗后(第 22 天)测量 3 次抓力。测量时一手固定抓力板,另一手将大鼠放于抓力板上,待大鼠前肢自然抓握住抓力板后右手顺势牵拉大鼠尾部。此时松开抓力板,右手匀速牵拉,待大鼠前肢从抓力板滑脱瞬间,记录抓力板数值即为前肢抓力。各组大鼠分别于造模前、造模后及治疗后进行抓力测定,每次测量 5 遍,由同一实验人员完成。所得数值取中间 3 位数计算平均值,即为该大鼠的抓力。

1.6.3 比色法检测大鼠骨骼肌组织 ATP 含量

称取 100 mg 骨骼肌组织,加入 1 mL 酸性提取液,在冰上进行匀浆,4 °C 下 8 000×g 离心 10 min,取上清至另一 EP 管中,加入等体积的碱性提取液使之中和,混匀,4 °C 8 000×g 离心 10 min,取上清,置于冰上待测。严格按照说明书操作依次加入样本和试剂,充分混匀后 37 °C 准确水浴 30 min,再按比例加入显色剂,37 °C 水浴 20 min。预热分光光度计 30 min,用蒸馏水

调零,在 700 nm 波长下测定各管吸光值,按公式计算 ATP 含量。

1.6.4 酶标法检测大鼠骨骼肌组织线粒体呼吸链复合物 I、II、III 和 IV 的活性

线粒体蛋白提取。准确称取 100 mg 骨骼肌组织,按说明书加入 1 mL 试剂一和 10 μL 试剂三,用冰浴匀浆器匀浆,离心弃沉淀,将上清液移至另一离心管中,离心弃上清,得到的沉淀即为线粒体。加入 200 μL 试剂二和 2 μL 试剂三,用超声波破碎(冰浴,功率 200 W,超声 3 s,间隔 10 s,重复 30 次),即可用于复合体 II/IV 酶活性测定。

测定步骤。酶标仪预热,调节波长至 340/605/550/550 nm,用蒸馏水调零,测定并记录各样本在 340/605/550/550 nm 处初始吸光值 A1 和 2 min 后的吸光值 A2,分别按公式计算复合物 I、II、III 和 IV 的活性。

1.7 统计学方法

采用 SPSS20.0 统计软件对数据资料进行统计分析。符合正态分布的计量资料采用均数±标准差表示,组间比较采用重复测量方差分析;进一步两两比较,方差齐性选用 LSD 或 Tamhane's $T_2(M)$ 检验。以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠体质量比较

造模前,各组大鼠体质量比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。从第 2 个造模周期开始,模型组、足三里组和非穴组大鼠体质量均较正常组明显下降($P < 0.05$);造模结束后,模型组、足三里组和非穴组大鼠体质量逐渐有升高的趋势;干预结束后,足三里组大鼠体质量较模型组和非穴组显著升高($P < 0.05$),而非穴组大鼠体质量与模型组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。详见表 1。

2.2 各组大鼠抓力比较

造模前,大鼠抓力维持在较低水平,且各组比较差异无统计学意义($P > 0.05$);随着动物年龄增加抓力有所增强。造模后,模型组、足三里组和非穴组大鼠抓力都有明显减弱,与正常组比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。干预后,模型组、足三里组和非穴组大鼠抓力仍较正常组弱,差异具有统计学意义($P < 0.05$);但足三里组大鼠抓力增强较为明显,与模型组比较差

异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 而非穴组大鼠抓力与模型组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。详见表 2。

表 1 各组大鼠体质量比较 ($\bar{x} \pm s, g$)

时间	正常组 (8 只)	模型组 (8 只)	足三里组 (8 只)	非穴组 (8 只)
造模前 (Day1)	208.43 ± 4.41	208.94 ± 3.98	206.48 ± 2.46	208.21 ± 2.94
第 1 个造模周期后 (Day4)	246.08 ± 4.43	213.19 ± 4.64 ¹⁾	211.43 ± 3.16 ¹⁾	208.90 ± 12.50 ¹⁾
第 2 个造模周期后 (Day7)	257.99 ± 7.40	211.49 ± 5.03 ¹⁾	208.64 ± 5.64 ¹⁾	213.09 ± 6.97 ¹⁾
第 3 个造模周期后 (Day10)	266.55 ± 6.64	203.50 ± 6.12 ¹⁾	205.81 ± 7.48 ¹⁾	207.43 ± 11.21 ¹⁾
第 4 个造模周期后 (Day13)	282.75 ± 10.06	197.80 ± 7.46 ¹⁾	201.55 ± 7.12 ¹⁾	197.01 ± 14.94 ¹⁾
第 5 个造模周期后 (Day16)	300.89 ± 7.72	199.79 ± 8.93 ¹⁾	201.95 ± 9.44 ¹⁾	194.96 ± 18.02 ¹⁾
干预 3 d 后 (Day19)	316.91 ± 11.01	208.44 ± 10.00 ¹⁾	212.79 ± 7.09 ¹⁾	211.88 ± 11.46 ¹⁾
干预结束后 (Day22)	336.31 ± 16.13	236.68 ± 10.26 ¹⁾²⁾	256.14 ± 11.66 ¹⁾	238.71 ± 8.98 ¹⁾²⁾

注: 与正常组比较 ¹⁾ $P < 0.05$; 与足三里组比较 ²⁾ $P < 0.05$ 。

表 2 各组大鼠抓力比较 ($\bar{x} \pm s, g$)

时间	正常组 (8 只)	模型组 (8 只)	足三里组 (8 只)	非穴组 (8 只)
造模前 (Day1)	913.75 ± 98.78	907.83 ± 142.21	908.63 ± 129.41	927.56 ± 248.51
造模后 (Day16)	1271.16 ± 110.93	975.69 ± 80.95 ¹⁾	972.55 ± 194.17 ¹⁾	985.46 ± 110.93 ¹⁾
干预结束后 (Day22)	1668.91 ± 184.05	1188.99 ± 61.81 ¹⁾	1385.19 ± 128.74 ¹⁾²⁾	1149.36 ± 81.58 ¹⁾

注: 与正常组比较 ¹⁾ $P < 0.05$; 与模型组比较 ²⁾ $P < 0.05$ 。

2.3 各组大鼠骨骼肌组织 ATP 含量比较

与正常组比较, 模型组、足三里组和非穴组大鼠骨骼肌组织 ATP 含量显著下降 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 足三里组大鼠骨骼肌组织 ATP 含量明显上升 ($P < 0.05$); 而非穴组与模型组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 足三里组大鼠骨骼肌组织 ATP 含量高于非穴组 ($P < 0.05$)。详见表 3。

2.4 各组大鼠骨骼肌组织线粒体呼吸链复合物 I、II、III 和 IV 的活性比较

与正常组比较, 模型组、足三里组和非穴组大鼠骨骼肌组织线粒体呼吸链复合物 I、II、III 和 IV 的活性均降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 足三里组大鼠骨骼肌组织线粒体呼吸链复合物 I、II、III 和 IV 的活性升

高 ($P < 0.05$), 而非穴组升高不明显 ($P > 0.05$); 足三里组与非穴组比较, 大鼠骨骼肌组织中线粒体呼吸链复合物 I、II、III 和 IV 的活性差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。详见表 4。

表 3 各组大鼠骨骼肌组织 ATP 含量比较 ($\bar{x} \pm s, \mu\text{mol/g}$)

组别	只数	ATP 含量
正常组	8	74.75 ± 1.69
模型组	8	45.60 ± 3.52 ¹⁾
足三里组	8	68.59 ± 1.69 ¹⁾²⁾
非穴组	8	45.74 ± 3.90 ¹⁾³⁾

注: 与正常组比较 ¹⁾ $P < 0.05$; 与模型组比较 ²⁾ $P < 0.05$; 与足三里组比较 ³⁾ $P < 0.05$ 。

表 4 各组大鼠骨骼肌组织线粒体呼吸链复合物 I、II、III 和 IV 的活性比较 [$\bar{x} \pm s, \text{nmol} \cdot (\text{min} \cdot \text{g})^{-1}$]

组别	只数	复合物 I	复合物 II	复合物 III	复合物 IV
正常组	8	1.06 ± 0.05	55.95 ± 2.59	8.44 ± 0.29	154.95 ± 6.97
模型组	8	0.54 ± 0.01 ¹⁾²⁾	15.45 ± 1.09 ¹⁾²⁾	2.86 ± 0.15 ¹⁾²⁾	45.73 ± 1.42 ¹⁾²⁾
足三里组	8	0.91 ± 0.06 ¹⁾	34.90 ± 1.73 ¹⁾	5.50 ± 0.23 ¹⁾	111.42 ± 5.67 ¹⁾
非穴组	8	0.60 ± 0.05 ¹⁾²⁾	14.75 ± 0.97 ¹⁾²⁾	2.59 ± 0.20 ¹⁾²⁾	44.95 ± 2.87 ¹⁾²⁾

注: 与正常组比较 ¹⁾ $P < 0.05$; 与足三里组比较 ²⁾ $P < 0.05$ 。

3 讨论

脾气虚证的主要临床表现有倦怠乏力、少气懒言、

腹胀纳呆、面色萎黄、大便溏薄等, 它可见于临床多系统、多疾病之中, 如冠心病、高血压、重症肌无力、肥

胖症等^[12-13]。现代研究表明,脾气虚证表现出的一系列虚象常与线粒体能量代谢不足密切相关,如脾虚模型大鼠的心、小肠和胃等组织中 ATP 含量及线粒体形态结构均较正常大鼠有所改变^[6,14-16]。足三里穴归属多气多血的足阳明胃经,具有补中气、健脾胃、调和气血之功。若脾胃亏虚,气血不足,则宗筋失养,纵缓不收,而见肌肉、关节痿弱不用,因此可选用足三里穴来达到治疗脾虚证的作用。在临床中足三里穴被广泛应用于增强免疫力^[17-18],调节消化系统^[19-20],调节血液系统^[21],调控物质、能量代谢^[22-23]等。合理运用电针能够增强足三里穴的治疗效果,而其参数是影响电针效应的重要因素。目前临床常用的电针波型多以连续波、疏密波为主。而其中疏密波特点是一种时疏时密、不断变换频率的调制脉冲波,因此可产生多种物质的共同释放,且不易为机体所适应。有研究发现,以 2/15 Hz 频率的疏密波刺激大鼠足三里穴能够明显促进其胃肠运动^[24]。

线粒体是细胞能量代谢的关键场所,因此被称为“细胞动力工厂”,机体生命活动的动力主要来源于线粒体氧化磷酸化所合成的 ATP。而在上述过程中,位于线粒体内膜上的线粒体呼吸链酶复合物(I、II、III和IV)与线粒体呼吸功能密切相关^[25]。既往研究发现,脾虚证与线粒体能量代谢障碍密切相关^[26-27]。本次实验结果显示,脾气虚大鼠的骨骼肌组织中线粒体呼吸链酶复合物 I、II、III和IV活性及 ATP 含量均明显下降,电针足三里治疗能够显著提高脾气虚模型大鼠骨骼肌线粒体上述复合物的活性以及 ATP 含量。前期研究^[8]已经证实,电针足三里穴可通过纠正脾气虚模型大鼠骨骼肌线粒体分裂融合的失衡状态,提高能量代谢水平。结合上述研究结果可知,脾气虚时,骨骼肌线粒体结构和功能失衡,其内膜上的线粒体呼吸链酶复合物 I、II、III和IV活性减弱,影响了线粒体呼吸链的氧化磷酸化,导致线粒体产生的 ATP 显著降低。而电针足三里穴可能是通过恢复线粒体分裂,融合动态平衡,从而提高线粒体呼吸链复合物的活性,增加 ATP 含量,提高线粒体能量代谢水平来发挥“健脾益气”之功效,进而改善脾气虚模型大鼠的形体瘦削、食少乏力等脾虚症状。而非经非穴点对脾气虚证大鼠的改善作用不明显,进一步印证了足三里经穴效应的特异性,与前期研究结果一致^[28]。

参考文献

- [1] 鲍成. “针刺预处理”对运动性疲劳大鼠股四头肌超微结构及 ATP 含量影响的研究[D]. 武汉:湖北中医药大学, 2018.
- [2] 马丹, 刘文俊, 于化新, 等. 脾气虚大鼠海马神经元线粒体呼吸链功能及 Lon 蛋白酶表达变化及意义[J]. 山东医药, 2018, 58(26):35-37.
- [3] 解霜雁, 林立, 邵华. 振动对家兔骨骼肌线粒体呼吸链酶及 ATP 酶活力的影响[J]. 济宁医学院学报, 2019, 42(1):15-18, 23.
- [4] 勇入琳, 曲怡, 李欣欣, 等. 电针“足三里”对脾气虚大鼠空肠组织胃生长激素释放激素/环磷酸腺苷/蛋白激酶 A 表达的影响[J]. 针刺研究, 2016, 41(6):497-501.
- [5] 刘路, 张立德, 曲怡, 等. 电针“足三里”穴对脾气虚大鼠心肌 PGC-1 α /NRFs/TFAM 信号通路表达的影响[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(1):96-99.
- [6] 董佳梓, 薛亚楠, 魏云涛, 等. 电针“足三里”对脾虚大鼠心肌细胞 AMPK-线粒体通路的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2020, 43(6):522-528.
- [7] 中华人民共和国科学技术部. 关于善待实验动物的指导性意见 [EB/OL]. 2006-09-30[2008-04-20]. <http://www.most.gov.cn/zfwj/zfwj2006/200512/t20051214-54389.htm>.
- [8] 勇入琳, 董佳梓, 张立德, 等. 电针“足三里”对脾气虚大鼠骨骼肌组织超微结构及线粒体动力学的影响[J]. 针刺研究, 2020, 45(1):15-20.
- [9] 郑小伟. 中医实验动物模型方法学[M]. 上海:上海中医药大学出版社, 1999:63-111.
- [10] 李忠仁. 实验针灸学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2003:327.
- [11] 林莺, 纪峰, 黄桂榕, 等. 针刺实验研究中大鼠非经非穴选取方法及思考[J]. 针刺研究, 2013, 38(4):334-338.
- [12] 高晓宇, 张哲, 王洋, 等. “从脾论治”对冠心病稳定型心绞痛脾虚痰浊证患者血同型半胱氨酸的影响及血同型半胱氨酸相关性分析[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(5):1122-1125.
- [13] 王桂玲, 周杰, 谢新才, 等. 贺氏针灸三通法治疗脾虚湿阻型单纯性肥胖症 80 例临床观察[J]. 中医杂志, 2015, 56(12):1030-1033.
- [14] 何丽娟, 贾连群, 张立德, 等. 脾气虚证大鼠 cAMP-PKA 信号通路基因表达变化及四君子汤干预作用[J]. 中华

- 中医药杂志, 2015, 30(11):4124-4127.
- [15] 彭艳, 易受乡, 林亚平, 等. 艾灸对脾虚大鼠空肠组织 ATP 含量和 ATP 酶活性的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2013, 23(1):8-13.
- [16] 李燕舞, 李耿, 巫燕莉. 补中益气丸对脾虚大鼠能量物质及 AMPK 的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2015, 21(5):592-594.
- [17] 曾荣华, 周露, 欧阳厚淦, 等. 针刺“足三里”穴对脾虚证模型大鼠肠系膜淋巴结 T 淋巴细胞亚群的影响[J]. 中国组织工程研究, 2018, 22(4):576-581.
- [18] 周婷, 李文涛, 于建春, 等. 艾灸足三里对晚期恶性肿瘤患者生存质量的影响[J]. 中国针灸, 2019, 39(2):133-136, 146.
- [19] 潘小丽, 王计雨, 康朝霞, 等. 电针“足三里”对功能性消化不良模型大鼠胃窦 Cajal 间质细胞自噬的影响[J]. 中医杂志, 2019, 60(16):1407-1411.
- [20] 金恒, 徐派的, 张红星, 等. 艾灸足三里穴对功能性消化不良模型大鼠肠神经胶质细胞的影响[J]. 中国中医急症, 2020, 29(1):18-21.
- [21] 周媛, 牛淑芳, 张秋菊. 针灸对急性脑梗塞神经功能、血清 SES 及 PAC-1 水平影响研究[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(2):414-416.
- [22] 董佳梓, 魏云涛, 许环宇, 等. 电针“足三里”对慢性疲劳综合征大鼠骨骼肌腺苷酸活化蛋白激酶/过氧化物酶体增殖物活化受体 γ 共激活因子 α 信号通路基因表达的影响[J]. 针刺研究, 2018, 43(6):335-340.
- [23] 邓婷月, 曲怡, 董佳梓, 等. 电针“足三里”穴对脾气虚大鼠小肽转运体表达的影响[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(4):810-813, 1038.
- [24] 李雯, 韩旭, 余芝, 等. 电针、温和灸足三里穴区对大鼠胃运动及迷走神经胃支放电频率的影响[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(4):1921-1925.
- [25] BRITTA M, WLADISLAW K, ILKA W, *et al.* Respiratory chain complexes in dynamic mitochondria display a patchy distribution in life cells[J]. *PLoS One*, 2010, 5(7):11910-11919.
- [26] 刘路, 张立德, 曲怡, 等. 电针“足三里”穴对脾气虚模型大鼠肌肉组织 COX4 表达的影响[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(6):1327-1330.
- [27] 赵思达, 王彩霞, 于漫, 等. 脾气虚证大鼠病理表现内在机制的实验探索[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(11):2635-2638.
- [28] 刘路. 电针足三里对脾气虚模型大鼠骨骼肌 PGC-1 α /SIRT3 信号通路影响的实验研究[D]. 沈阳:辽宁中医药大学, 2019.

收稿日期 2021-12-29