

文章编号: 1005-0957 (2023) 12-1308-06

• 动物实验 •

电针足三里对失血性休克合并海水浸泡损伤大鼠的作用研究

王莉莉¹, 胡森², 张海湃³, 田雨沫⁴, 孟祥熙⁴, 张慧苹², 关玲¹

(1. 解放军总医院第六医学中心中医医学部, 北京 100048; 2. 解放军总医院医学创新研究部创伤修复与组织再生研究中心, 北京 100037; 3. 战略支援部队兴城特勤疗养中心, 葫芦岛 125105; 4. 承德医学院附属医院, 承德 067000)

【摘要】 目的 研究电针足三里对失血性休克(hemorrhagic shock, HS)合并海水浸泡损伤后延迟静脉补液大鼠的平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)、心率(heart rate, HR)、乳酸(lactate, LAC)及腹腔脏器血流量的影响。**方法** 选取 84 只 SPF 级雄性 SD 大鼠, 随机分为 HS+海水浸泡+延迟静脉补液组(对照组)和 HS+海水浸泡+电针足三里+延迟静脉补液组(电针组)。大鼠经右侧颈总动脉快速放血, 失血量为全身血容量的 45%。失血后立即将剑突以下 0.5 cm 的身体浸泡在 (23±1) °C 人工海水中 30 min。海水浸泡后 2 h, 回输全部失血及 2 倍失血量的乳酸林格氏液。电针组于浸泡后 0.5 h 电针双侧足三里, 对照组仅进行固定。监测失血前(基线)、浸泡后即刻、浸泡后 2 h、浸泡后 5 h 和浸泡后 24 h 的 MAP、HR、LAC 和腹腔脏器血流量的变化。**结果** 浸泡后即刻, 两组大鼠 MAP 及 HR 均显著低于失血前 ($P<0.01$); 浸泡后 2 h, 电针组的 MAP 及 HR 显著高于对照组 ($P<0.05$)。浸泡后即刻两组大鼠的 LAC 水平较失血前显著升高 ($P<0.01$); 浸泡后 5 h, 电针组 LAC 显著低于对照组 ($P<0.05$)。两组大鼠海水浸泡后肾、肝及小肠黏膜血流量比失血前均显著降低 ($P<0.01$)。浸泡后 2 h, 电针组肾、肝及小肠黏膜血流量较对照组明显改善 ($P<0.01$); 浸泡后 5 h, 电针组肝脏及小肠黏膜血流量仍然显著高于对照组 ($P<0.05$)。**结论** 电针足三里能显著提高失血性休克海水浸泡损伤动物的 MAP 和 HR, 降低血 LAC 水平, 改善腹腔脏器血流量, 具有一定的抗海战伤休克作用。

【关键词】 电针; 穴, 足三里; 休克, 失血性; 海水浸泡; 大鼠

【中图分类号】 R2-03 **【文献标志码】** A

DOI: 10.13460/j.issn.1005-0957.2023.13.3004

Study of the effect of electroacupuncture at Zusanli (ST36) on rat models of hemorrhagic shock combined with seawater immersion injury WANG Lili¹, HU Sen², ZHANG Haipai³, TIAN Yumo⁴, MENG Xiangxi⁴, ZHANG Huiping², GUAN Ling¹. 1.Traditional Chinese Medicine Department, The 6th Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100048, China; 2.Research Center of Trauma Repair and Tissue Regeneration, Medical Innovation Research Division, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100037, China; 3.Strategic Support Force Xingcheng Special Duty Sanatorium, Huludao 125105, China; 4.Affiliated Hospital of Chengde medical University, Chengde 067000, China

[Abstract] Objective To study the effects of electroacupuncture (EA) at Zusanli (ST36) on the mean arterial pressure (MAP), heart rate (HR), lactate (LAC), and blood flow in the abdominal organs of rats with delayed intravenous rehydration after the hemorrhagic shock (HS) and seawater immersion injury. **Method** Eighty-four SPF-grade male Sprague-Dawley rats were selected and divided into an HS+seawater immersion+delayed intravenous rehydration group (control group) and an HS+seawater immersion+EA at ST36+delayed intravenous rehydration group

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81774422); 军队十三五项目 (BHJ17J010)

作者简介: 王莉莉 (1988—), 女, 主治医师, Email: wanglili8812@163.com

通信作者: 关玲 (1971—), 女, 主任医师, Email: guanling301@sina.com

(EA group). Rapid bloodletting through the right common carotid artery was performed till the blood loss reached 45% of the total blood volume, immediately followed by immersion of the body from 0.5 cm below the xiphoid process in the artificial seawater at $(23\pm 1)^\circ\text{C}$ for 30 min. Two hours after seawater immersion, the extracted blood and lactated Ringer's solution twice of the volume of the blood loss were intravenously infused. The EA group received EA at bilateral Zusanli 0.5 h after seawater immersion, while the control group was only fixed without interventions. Changes in the MAP, HR, LAC and abdominal organ blood flow were monitored before blood loss (the baseline), immediately after immersion, and 2 h, 5 h, and 24 h after immersion. **Result** Immediately after immersion, the MAP and HR were significantly lower in both groups than before blood loss ($P<0.01$), and the MAP and HR were significantly higher in the EA group than in the control group 2 h after immersion ($P<0.05$). The LAC level was significantly higher immediately after immersion than before blood loss in both groups ($P<0.01$), and the LAC level was markedly lower in the EA group than in the control group 5 h after immersion ($P<0.05$). The blood flow volume in the kidney, liver, and intestinal mucosa decreased significantly in both groups after seawater immersion compared with that before blood loss ($P<0.01$). The blood flow volume in the kidney, liver, and intestinal mucosa notably improved in the EA group compared with the control group 2 h after immersion ($P<0.01$), and the blood flow in the liver and small intestinal mucosa was still notably larger in the EA group than in the control group 5 h after immersion ($P<0.05$). **Conclusion** EA at Zusanli can significantly increase the MAP and HR, reduce blood LAC level, and improve blood flow in the abdominal organs of the animal model of hemorrhagic shock combined with seawater immersion, thus having certain anti-shock effects on sea warfare injuries.

[Key words] Electroacupuncture; Point, Zusanli (ST36); Shock, Hemorrhagic; Seawater immersion; Rats

海战伤休克是战(创、烧)伤合并海水浸泡引起的战伤休克。海水具有低温、高渗及含菌量高等特点,因此海战伤伤员病死率高于陆地伤^[1]。休克的成功治疗需要通过积极的止血以及尽快恢复血管内容量实现^[2],但在战场或突发事件现场,由于海上人员集中、条件恶劣、医疗资源有限,无法及时开展静脉输血输液等抗休克措施。因此,研发疗效确切、简易可行的现场救治措施,为后续治疗争取时间,具有重要意义。针刺是一种常用的急救治疗手段。文献记载及现代多项研究均证明,针刺足三里和水沟穴具有抗休克作用^[3-5]。本研究通过制作失血性休克海水浸泡延迟静脉补液大鼠模型,观察电针足三里对失血性休克(hemorrhagic shock, HS)海水浸泡损伤大鼠生命体征及腹腔脏器血流量的影响,研究电针足三里对海战伤休克的治疗作用,为其救治提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康无特定病原体(specific pathogen free, SPF)级雄性SD大鼠84只,10周龄,体质量 (280 ± 20) g,由斯贝福(北京)生物技术有限公司提供,合格证书号

为SCXK(京2019-0010)。动物在恒温 $(24\pm 2)^\circ\text{C}$,恒湿50%~55%条件下适应性饲养1周。动物实验前12 h禁食,4 h禁饮。本研究经解放军总医院医学伦理委员会批准。

1.2 主要仪器和试剂

PowerLab 多通道电生理仪(ADInstruments, 澳大利亚);激光多普勒血流仪(Peri Flux System 5000, PERIMED, Järfälla, 瑞典);RAPIDPoint 500 血气分析仪(SIEMENS, Berlin, 德国);热核探针(BW-TH1101, Billion, 上海);长城KWD-808I 脉冲电疗仪(常州市武进长城医疗器械有限公司, 常州),一次性使用无菌针灸针 $(0.30\text{ mm}\times 25\text{ mm})$ 。戊巴比妥钠(Sigma, mP3761)。

1.3 动物分组

按随机数字表法分为两组:HS+海水浸泡+延迟静脉补液组(对照组)和HS+海水浸泡+电针足三里+延迟静脉补液组(电针组)。

1.4 模型制作

动物按每100 g体质量腹腔注射3%戊巴比妥钠溶液0.1 mL进行麻醉后,实施无菌手术,依次切开右颈总动脉置管监测动脉血压和抽血,颈外静脉置管输血和输液,两导管的血管外段由皮下穿出固定于体表。根据

SHULTS C 等^[6]的方法进行改良,放血时用注射器经颈总动脉抽取 45%全身血容量(total blood volume, TBV) $[TBV(mL) = \text{weight}(g) \times 0.06(mL/g) + 0.77]$ ^[7]造成失血性休克(先快速抽血,5 min 内失血 35%TBV,间隔 5 min 后,再缓慢抽血,在 10 min 内失血 10% TBV),0.1% 肝素钠注射液(上海上药第一生化药业有限公司)0.2 mL 保持管道通畅,采用柠檬酸钠采血管(沈阳宝康生物有限公司)无菌保存并标记抽取血液以备回输。动物失血后立即将剑突以下 0.5 cm 身体部位进行海水浸泡 $[(23 \pm 1)^\circ\text{C}, 30 \text{ min}]$,人工海水配方采用国家海洋局第三研究所配方,即 pH 值 8.2,渗透压为 $(1250.00 \pm 11.52)\text{mmol/L}$, Na 离子 $(630.00 \pm 5.33)\text{mmol/L}$, K 离子 $(10.88 \pm 0.68)\text{mmol/L}$, Cl 离子 $(658.80 \pm 5.25)\text{mmol/L}$ 。浸泡后大鼠体温在室温 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 下立即自然复温。失血和海水浸泡完成 2 h 后,经颈静脉导管回输抽取的全部失血(5 min 完成)和 2 倍失血量的乳酸林格氏液(30 min 完成)。

1.5 干预处理

电针组浸泡后 0.5 h,将大鼠固定在手术台上,电针双侧足三里穴,足三里穴位于膝关节后外下方,腓骨小头下 5 mm 处^[8],使用 0.30 mm $\times$ 25 mm 针灸针刺入约 7 mm 深度,连接电针仪,以脉冲电流连续模式持续刺激 25 min,电流为 0.5 mA,频率为 10 Hz。对照组在相同时间点将大鼠固定在手术台上,不进行针刺治疗,时间 25 min。干预过程大鼠保持麻醉状态。

1.6 观察指标和方法

实验分成 2 批。

第 1 批各组取 10 只大鼠用于平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)、心率(heart rate, HR)、直肠温度(rectal temperature, RT)和乳酸(lactate, LAC)监测,分别观察两组大鼠失血前(基线)、浸泡后即刻、浸泡后 2 h、浸泡后 5 h 以及浸泡后 24 h 上述指标变化。MAP 和 HR 将生理记录仪探头连接至动脉导管,连续监测 1 min,取其中 30 s 稳定数据的平均值作为动物的 MAP 和 HR;RT 将热核探针插入大鼠直肠 2 cm 测量机体的直肠温度(测量 3 次取平均值);LAC 使用动脉血气针经动脉导管抽取 0.5 mL 动脉血,放入血气分析仪检测 LAC 的水平。

第 2 批各组每个时间点取 8 只大鼠,监测两组大鼠失血前(基线水平),浸泡后即刻,浸泡后 2 h,浸泡后 5 h 的腹腔脏器血流量。脏器血流量将激光多普勒的

光纤检测器分别放置在大鼠肝脏中叶、左肾上极及小肠黏膜,检测腹腔脏器血流量,将信号转换成血液灌注单位(blood perfusion unit, BPU),用 PERIMED 软件包 PSW2.0 绘制曲线。每次测量 30 s,并取覆盖 10 s 的稳定曲线计算平均值。

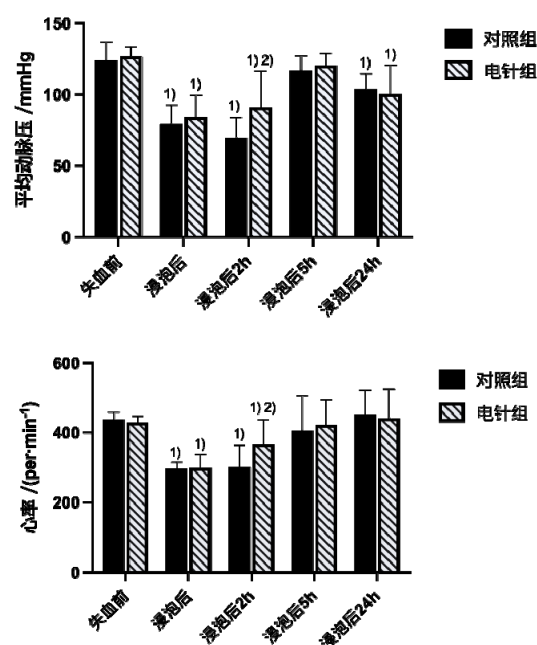
1.7 统计学方法

使用 SPSS26.0 统计软件进行数据分析。计量资料符合正态分布,以均数 $\pm$ 标准差表示,两组数据及组内不同时间点比较采用独立样本 *t* 检验;计量资料不符合正态分布则以中位数及四分位间距表示,比较采用非参数检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组大鼠 MAP 和 HR 比较

对照组和电针组大鼠浸泡后即刻 MAP 比失血前显著降低($P < 0.01$)。HR 较失血前显著减慢($P < 0.01$)。浸泡后 2 h,电针组 MAP、HR 较对照组明显改善($P < 0.05$)。浸泡后 5 h,两组 MAP 及 HR 均恢复至失血前水平。浸泡后 24 h,两组 HR 恢复至失血前水平;而两组 MAP 均显著低于失血前($P < 0.05$),但组间差异不显著($P > 0.05$)。详见图 1。



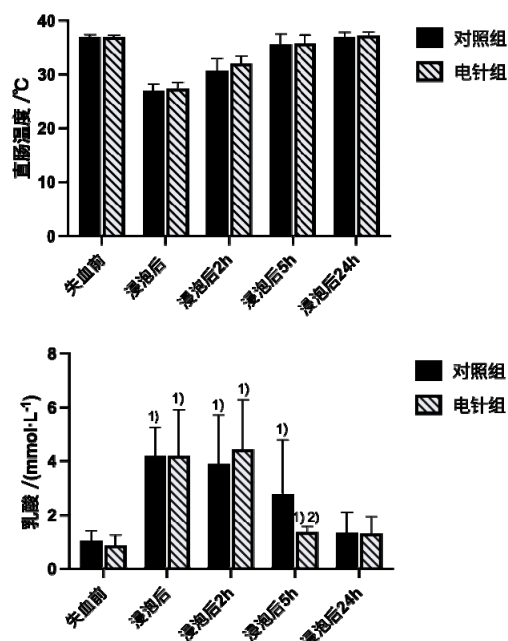
注:与同组失血前比较 ¹⁾ $P < 0.05$;与对照组比较 ²⁾ $P < 0.05$ 。

图 1 两组大鼠 MAP 和 HR 比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

2.2 两组大鼠 RT 和 LAC 比较

海水浸泡后,两组大鼠的 RT 较失血前均显著降低

($P < 0.01$), 组间差异不显著 ($P > 0.05$)。浸泡后即刻两组大鼠的 LAC 水平较失血前升高 ($P < 0.01$), 浸泡后 5 h, 电针组 LAC 显著低于对照组 ($P < 0.05$)。浸泡后 24 h, 两组 RT 及 LAC 恢复至失血前水平。详见图 2。



注: 与同组失血前比较 ¹⁾ $P < 0.05$; 与对照组比较 ²⁾ $P < 0.05$ 。

图 2 两组大鼠 RT 和 LAC 比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

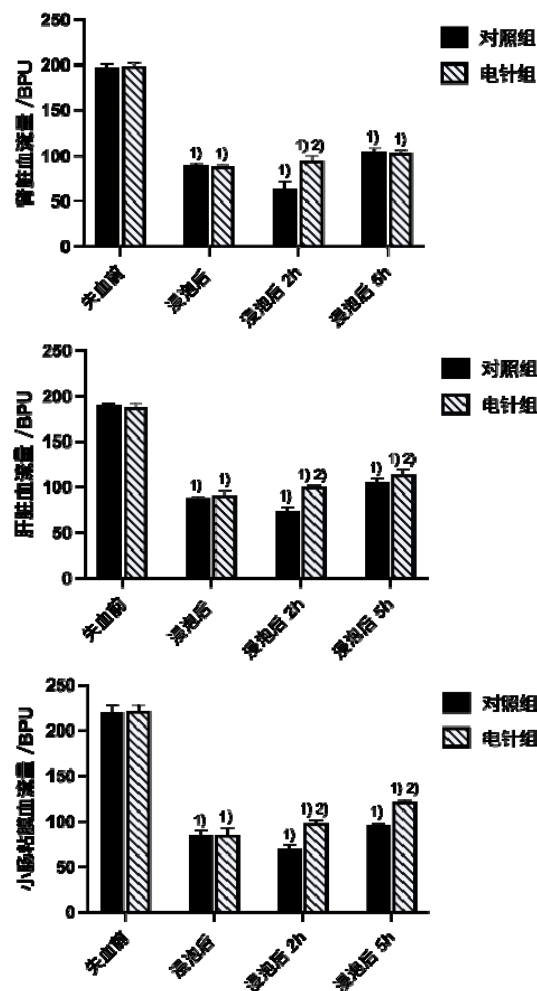
2.3 两组大鼠脏器血流量比较

两组大鼠浸泡后即刻肾、肝、小肠黏膜血流量比失血前均显著降低 ($P < 0.01$)。浸泡后 2 h, 电针组较对照组明显改善 ($P < 0.01$)。浸泡后 5 h, 电针组小肠黏膜及肝脏血流量仍然显著高于对照组 ($P < 0.05$)。详见图 3。

3 讨论

海战伤大量失血合并海水浸泡损伤导致休克、低体温、高渗脱水, 加重微循环障碍^[9]和脏器功能损伤^[10], 导致高死亡率。因此, 研究现场简易有效的自救互救技术, 为后续静脉抗休克治疗争取时间, 具有重要的临床意义。钟毓贤等^[11]研究发现电针足三里可以提高 60% 失血性休克延迟静脉复苏大鼠的 MAP, 改善腹腔脏器肾、肝及小肠黏膜血液灌流, 改善组织供氧, 保护脏器功能, 提高休克大鼠生存率, 提示电针足三里可部分替代静脉液体复苏而发挥抗休克作用。WANG H 等^[12]研究电针足三里对失血性休克大鼠心脏功能的影响, 表明电针足三里可增强延迟复苏对失血性休克大鼠心肌组

织的保护作用。但是目前尚缺少针刺对于失血性休克合并海水浸泡损伤的实验研究, 因此本研究采用 45% 失血性休克合并海水浸泡损伤的动物模型, 观察电针足三里对失血性休克合并海水浸泡的治疗作用。



注: 与同组失血前比较 ¹⁾ $P < 0.05$; 与对照组比较 ²⁾ $P < 0.05$ 。

图 3 两组大鼠脏器血流量比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

维持休克患者血液动力学的稳定, 可以纠正组织灌注不足导致的代谢紊乱, 是成功治疗失血性休克患者的重要措施之一^[13]。本研究结果表明, 电针组浸泡后 2 h 的 MAP、HR 显著高于对照组, 提示电针足三里可以提高海战伤休克大鼠的心率, 升高动脉压, 改善海战伤休克大鼠血液动力学指标。在组织灌流方面, 电针组浸泡后 2 h 的肾、肝、小肠黏膜等腹腔脏器血流量显著高于对照组, 且浸泡后 5 h, 电针组的肝、小肠黏膜血流量仍然高于对照组, 说明电针足三里可以显著改善海战伤休克动物腹腔脏器组织血液灌流, 对腹腔脏器具有保护作用。

乳酸是反应休克严重程度和预后的重要指标^[14]。

浸泡后 5 h, 电针组的血乳酸水平显著低于对照组, 与前期电针足三里可以改善失血性休克大鼠的血乳酸水平结果一致^[11], 证明电针足三里对海战伤休克同样具有保护作用。海战伤休克模型常常伴有低体温, 本研究中失血前与浸泡后体温具有显著差异, 与前期结果一致^[10], 但在体温方面, 本研究暂未观察到两组之间的差异性。综上, 电针足三里可以提高失血性休克合并海水浸泡大鼠的 MAP 及 HR, 降低血乳酸水平, 改善肾、肝、小肠黏膜等腹腔脏器组织的血流量, 保护脏器功能。

国内外多项研究表明电针足三里抗休克的作用机制与兴奋迷走神经有关^[15-16]。李建国等^[17-19]通过犬和大鼠 HS 模型的研究, 推论电针足三里穴对 HS 动物的保护作用可能是通过兴奋迷走神经激活胆碱能抗炎通路, 从而抑制全身炎症反应实现的。兴奋胆碱能抗炎通路虽然能解释电针足三里对抗感染和炎症所致脓毒性休克的作用, 但对于失血或失液所导致的低血容量休克, 其原发机制和主要矛盾是有效血流灌注不足所导致的缺血缺氧性损害, 而炎症反应损害则为继发因素和次要矛盾。因此, 兴奋胆碱能抗炎通路并不能合理和直接解释电针足三里的抗休克机制, 尤其是电针足三里对失血性休克早期的保护作用。因此, 电针足三里抗失血性休克的机制仍需进一步探索。

笔者所在课题组前期采用肠缺血再灌注损伤大鼠模型^[20], 探究电针足三里治疗肠缺血再灌注损伤的作用机制, 发现电针足三里可以增加多巴胺(小剂量能提高肾和腹腔脏器组织灌注, 增加尿量, 发挥抗休克作用)的释放, 增加肠黏膜的血流量, 保护肠屏障。我们研究发现深部弱刺激减轻失血性休克, 浅部强刺激加重失血性休克, 与 LIU S B 等^[21]采用脓毒症模型研究电针抗炎作用的结果相似, 推测深部弱刺激兴奋迷走-肾上腺髓质通路, 改善交感与副交感失衡, 增强了多巴脱羧酶的活性, 提高多巴胺生成, 加强舒血管效应, 增加内脏血流和尿量发挥抗休克作用。

本研究不足之处在于, 低温是海战伤休克的一个特点, 该研究中浸泡后大鼠体温明显低于失血前, 而电针足三里对海水浸泡休克大鼠具有抗休克作用, 推测电针足三里除可以影响大鼠血流动力学之外, 可能对低体温也有影响, 但两组间直肠温度未见统计学差异, 考虑与体温检测间隔时间过长有关, 下一步可缩短检测时间或连续监测大鼠体温变化, 观察电针足三里对失血性休克海水浸泡大鼠体温的影响。

综上所述, 电针足三里能提高海战伤休克大鼠的 MAP, 降低血乳酸水平, 改善腹腔脏器血流量, 保护脏器功能。其抗休克作用机制及对体温的影响仍需进一步研究。

参考文献

- [1] LIU Y Y, ZHU Y, ZHANG ZS, *et al.* N-acetyl-L-Cysteine protects organ function after hemorrhagic shock combined with seawater immersion in rats by correcting coagulopathy and acidosis[J]. *Front Physiol*, 2022, 2022 (13): 831514.
- [2] CANNON J W. Hemorrhagic shock[J]. *NEngl J Med*, 2018, 378 (4): 370-379.
- [3] 张景岳(明). 景岳全书[M]. 北京: 中医古籍出版社, 2021: 217-227.
- [4] DU M H, LUO H M, HU S, *et al.* Electroacupuncture improves gut barrier dysfunction in prolonged hemorrhagic shock rats through vagus anti-inflammatory mechanism[J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19 (36): 5988-5999.
- [5] 陆化梅, 于国军, 郭永娟, 等. 电针足三里对重度失血性休克大鼠肝脏损伤的影响[J]. 数理医药学杂志, 2021, 34 (1): 7-9.
- [6] SHULTS C, SAILHAMER E A, LI Y, *et al.* Surviving blood loss without fluid resuscitation[J]. *J Trauma*, 2008, 64 (3): 629-638.
- [7] LEE H B, BLAUFOX M D. Blood volume in the rat[J]. *J Nucl Med*, 1985, 26: 72-76.
- [8] 李忠仁. 实验针灸学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 156-157.
- [9] ZHU Y, DENG H Y, HAN S, *et al.* Protective effect of moderate hypotonic fluid on organ dysfunction via alleviating lethal triad following seawater immersion with hemorrhagic shock in rats[J]. *Front Physiol*, 2022, 2022 (13): 827838.
- [10] 刘艳丽, 田昆仑, 朱焜, 等. 低温海水浸泡合并失血性休克对大鼠致死三联征及器官功能的影响[J]. 第三军医大学学报, 2020, 42 (8): 752-757.
- [11] 钟毓贤, 张慧苹, 王海滨, 等. 电针足三里穴复合延迟静脉液体复苏对 60%血容量失血性休克大鼠的作用研究[J/CD]. 中华损伤与修复杂志(电子版), 2020,

- 15(1):18-25.
- [12] WANG H, LIU Z, LIU Y S, *et al.* Heart protective effects of electroacupuncture in an animal experimental study with delayed fluid resuscitation after hemorrhagic shock[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2018, 2018:2513791.
- [13] 富维军, 滕青山, 黎檀实, 等. 创伤性休克液体复苏的探讨[J]. 中国危重病急救医学, 2003, (12):739-741.
- [14] EASTRIDGE B J, HOLCOMB J B, SHACKELFORD S. Outcomes of traumatic hemorrhagic shock and the epidemiology of preventable death from injury[J]. *Transfusion*, 2019, 59(S2):1423-1428.
- [15] GUARINI S, ALTAVILLA D, CAINAZZO M M, *et al.* Efferent vagal fibre stimulation blunts nuclear factor-kappa B activation and protects against hypovolemic hemorrhagic shock[J]. *Circulation*, 2003, 107(8):1189-1194.
- [16] HU S, ZHAO Z K, LIU R, *et al.* Electroacupuncture activates enteric glial cells and protects the gut barrier in hemorrhaged rats[J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(5):1468-1478.
- [17] 李建国, 彭周全, 杜朝晖, 等. 电针足三里激活胆碱能抗炎通路抗大鼠失血性休克的研究[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2006, 13(1):27-31.
- [18] SUO X Y, DU Z H, WANG H S, *et al.* The effects of stimulation at acupoint ST36 points against hemorrhagic shock in dogs[J]. *Am J Emerg Med*, 2011, 29(9):1188-1193.
- [19] 索小燕, 杜朝晖, 李建国, 等. 电针刺激足三里穴对失血性休克犬的保护作用[J]. 武汉大学学报(医学版), 2016, 37(1):34-37.
- [20] LI Y M, XU G C, HU S, *et al.* Electroacupuncture alleviates intestinal inflammation and barrier dysfunction by activating dopamine in a rat model of intestinal ischaemia[J]. *Acupunct Med*, 2021, 39(3):208-216.
- [21] LIU S B, WANG Z F, SU Y S, *et al.* A neuroanatomical basis for electroacupuncture to drive the vagal-adrenal axis[J]. *Nature*, 2021, 598(7882):641-645.

收稿日期 2023-01-20