

荣肝合剂对刀豆蛋白 A 诱导急性免疫性肝损伤小鼠的保护作用

张引强 唐旭东 王凤云 刘燕玲 王 萍 卞立群 赵迎盼

(中国中医科学院西苑医院肝病科, 北京市海淀区西苑操场 1 号, 100091)

[摘要] **目的** 探讨荣肝合剂对刀豆蛋白 A (ConA) 介导的急性免疫性肝损伤小鼠的保护作用及其机制。 **方法** 乙型肝炎病毒转基因小鼠 60 只, 随机分为模型组、空白组、荣肝合剂组、茵陈蒿汤组、茵陈组、联苯双酯组, 每组 10 只, 采用 ConA 尾静脉注射法制作急性免疫性肝损伤模型。造模前 14 天, 模型组、空白组给予生理盐水灌胃, 其余组每日分别给予荣肝合剂、茵陈蒿汤、单味茵陈煎液、联苯双酯溶液灌胃。末次灌胃给药后 1h, 空白组给予磷酸盐缓冲液尾静脉注射, 其余各组按照 3 μg/g 体重尾静脉注射 ConA 造模。造模给药后 8h 处死动物取血或组织标本检测丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、门冬氨酸氨基转移酶 (AST)、总胆红素 (TBiL)、乙型肝炎病毒载量 (HBV DNA)、乙型肝炎表面抗原 (HBsAg)、超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) 等指标。 **结果** 与模型组及其他给药组比较, 荣肝合剂可降低小鼠 ALT、AST、TBiL 水平 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与联苯双酯组、茵陈组、茵陈蒿汤组相比较, 荣肝合剂可降低小鼠 HBV DNA 载量, 降低肝组织 MDA 含量, 提高肝组织的 SOD 水平, 其余各组均无此作用。 **结论** 荣肝合剂的降酶作用优于单味中药茵陈、茵陈蒿汤及联苯双酯, 其作用机制是通过抑制 HBV DNA, 减轻肝细胞膜脂质过氧化反应的损害, 起到肝保护作用。

[关键词] 荣肝合剂; 刀豆蛋白 A; 免疫性肝损伤; 细胞膜脂质过氧化; 茵陈; 茵陈蒿汤; 联苯双酯

Protective Effect of Ronggan Mixture on the Mice Model with the Concanavalin A-Induced Acute Immunological Liver Injury

ZHANG Yinqiang, TANG Xudong, WANG Fengyun, LIU Yanling, WANG Ping, BIAN Liqun, ZHAO Yingpan

(Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091)

ABSTRACT **Objective** To investigate the protective effect and mechanism of Ronggan Mixture (Herbal Decoction for liver diseases) on the mice model with concanavalin A-induced acute immunological liver injury. **Methods** Totally 60 HBV transgenic mice were randomized into model group, control group, Ronggan Mixture group, Yinchenhao Decoction group, Yinchen group, and Bifendate group, with 10 in each. The acute immunological liver injury models were established by the tail vein injection of concanavalin A. Fourteen days before modeling, the model group and control group were given normal saline by gavage, while the other groups were treated with Ronggan Mixture, Yinchenhao Decoction (Oriental Wormwood Decoction), Yinchen (Virgate Wormwood Herb), and Bifendate respectively by gavage everyday. One hour after the last intervention, the control group was given phosphate buffer solution (PBS) by the tail vein injection, and the others were given concanavalin A by the tail vein injection to establish models. Eight hours after modeling, the mice were sacrificed, the serum and tissue samples were collected to detect: alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total bilirubin (TBiL), hepatitis B virus quantity (HBV DNA), hepatitis B surface antigen (HBsAg), superoxide dismutase (SOD), and malondialdehyde (MDA). **Results** Compared with the model group and the others, Ronggan Mixture could decrease the level of ALT, AST, and TBiL ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the Bifendate group, Yinchen group, and Yinchenhao Decoction group, Ronggan Mixture could decrease the HBV DNA and the MDA of liver tissues, and increase SOD level of liver tissues. **Conclusion** Ronggan Mixture is of advantage in decreasing the enzymes as compared with Yinchen, Yinchenhao Decoction and Bifendate. The liver protective effect is achieved through inhibiting HBV DNA to reduce the injury of the lipid peroxidation of hepatocyte membrane.

Key Words Ronggan Mixture (Herbal Decoction for liver diseases); Concanavalin A; Immunological liver injury; Lipid peroxidation of cytomembrane; Yinchen (Virgate Wormwood Herb); Yinchenhao Decoction (Oriental Wormwood Decoction); Bifendate

对各种肝脏疾病发病机制的深入探讨与治疗药物的筛选, 很大程度上依赖于和人类肝病病理机制相似的实验动物模型的建立与应用^[1-2]。用刀豆蛋白 A (ConA) 诱导的小鼠急性肝损伤模型具有制作简便快

捷、有剂量依赖性和肝脏特异性等特点^[3], 被认为最适合研究人类病毒性肝炎、自身免疫性肝病等肝脏疾病的病理机制。荣肝合剂是临床治疗慢性乙型肝炎 (CHB) 疗效确切的经验方, 具有清热利湿、活血健脾的功效, 其降酶作用尤为显著。中医药的降酶效应已为学界所认可, 但因其机制尚不明确。本实验以乙肝转基因

小鼠为实验对象,成功复制了 ConA 性肝损伤动物模型,模拟 HBV 急性感染状态,观察小鼠血清酶学、病毒学及细胞膜脂质过氧化指标的变化,探讨中药复方荣肝合剂降酶的病理基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物

HBV/ayw 亚型全基因组的转基因小鼠(鉴定后进一步杂交传代),为 C57BL/6 品系,经血清抗原 HBsAg 的 ELISA 检测均阳性,由北京大学医学部实验动物科学部提供,许可证号:SCXK(京)2006-0008。共 60 只,8 周龄,雌雄各半,体重 18~25g,实验动物由中国中医科学院西苑医院实验动物中心饲养,SPF 级,22℃,55%湿度。

1.2 药物

荣肝合剂(鸡骨草、黄芪、白术、滑石、丹参等,比例 3:3:3:2:2)浓缩液含生药 2mg/ml,茵陈蒿汤(茵陈 18g、大黄 9g、栀子 6g,剂量参照《方剂学》^[1])浓缩液含生药 1mg/ml,茵陈浓缩液含生药 1mg/ml,均由中国中医科学院西苑医院制剂室提供。联苯双酯滴丸由北京协和药厂生产(批准文号:H11020980),每滴丸含联苯双酯 7.5mg,以生理盐水溶解成 10mg/ml 溶液。

1.3 试剂

ConA(100mg/支)购自Sigma 公司。丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TBiL)试剂盒购自北京中生北控生物科技股份有限公司(批号分别为 080521、080451、080381)。超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)试剂盒购自南京建成生物工程研究所(批号均为 20080626)。乙型肝炎病毒核酸定量检测试剂盒购自上海科华生物工程股份有限公司(批号:S20030059)。

1.4 分组与给药

将 60 只动物随机分为模型组、荣肝合剂组、茵陈蒿汤组、茵陈组、联苯双酯组、空白组,每组 10 只。适应性饲养 3 天后分别给予药物干预:荣肝合剂组以 26.52g/kg、茵陈组以 0.39g/kg、茵陈蒿汤组 7.02g/kg、联苯双酯组以 150mg/kg 灌胃给药,空白组、模型组以蒸馏水 0.2ml/10g 灌胃,每天 1 次,共给药 14 天。

1.5 模型制备

参照文献[5],末次灌胃给药后 1h,空白组小鼠尾静脉注射 PBS 缓冲液 0.3ml,其余各组小鼠均一次性按 3mg/g 体重尾静脉注射 ConA,ConA 以 0.9%的生理盐水稀释,浓度为 1mg/ml。

1.6 检测指标

1.6.1 血清 ALT、AST、TBiL 水平测定 造模给药

后 8h,摘眼球取血。室温静置 30min,3000r/min(离心半径 87mm)离心 15min 后,分离血清。按试剂盒说明测定血清 ALT、AST、TBiL。

1.6.2 血清 HBV DNA 载量及 HBsAg 的测定 采用 ELISA 法检测 HBsAg 含量,运用 PCR-荧光探针法检测血清中 HBV DNA 载量(同一血清样本)。

1.6.3 肝组织 MDA、SOD 测定 各组小鼠取肝组织在 4℃生理盐水中漂洗,除去血液,滤纸拭干,称取肝组织 0.24g,匀浆。将匀浆液以 3500r/min 离心 15min,取上清液,采用黄嘌呤氧化酶法测定 SOD 水平,采用硫代巴比妥酸(TBA)比色法测定 MDA 含量。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计学软件处理。计量数据均以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。各组数据进行正态性检验及方差齐性检验后,采用单因素方差分析。亚组间的比较,当方差齐时采用单因素方差分析 SNK 检验,当方差不齐时采用 Dunnett's T³ 检验。

2 结果

灌胃给药过程中,各组小鼠均毛色光泽较好,进食进水活动较多。造模组给药后,各组小鼠则均较安静,进水活动较少(已禁食)。造模后,除空白组外,其余各组均有小鼠死亡,其中茵陈蒿汤组死亡 2 只,其余各组各死亡 1 只。

2.1 各组小鼠血清中 ALT、AST、TBiL 的变化

表 1 示,与空白组比较,模型组小鼠血清 ALT、AST、TBiL 均显著升高($P < 0.01$)。荣肝合剂、联苯双酯均可显著降低血清 ALT、AST。ALT 方面,提示荣肝合剂组与茵陈组比较均有统计学差异($P < 0.01$),荣肝合剂较茵陈煎液降 ALT 效果更优。AST 方面,荣肝合剂组与茵陈组、联苯双酯组、模型组比较均有统计学差异($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),提示荣肝合剂较各组降 AST 疗效更佳。TBiL 方面,荣肝合剂组与模型组比较有统计学差异($P < 0.01$),提示荣肝合剂可降低小鼠 TBiL 水平。

2.2 各组小鼠血清中 HBV DNA 载量及 HBsAg 变化

表 2 示,HBV DNA 方面,荣肝合剂组与茵陈组、茵陈蒿汤组、联苯双酯组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$),提示荣肝合剂较其他观察药物更明显降低小鼠 HBV DNA 载量,但其余各组间比较均无统计学差异($P > 0.05$)。HBsAg 方面,各组间比较均无统计学差异($P > 0.05$),提示各药物干预对 HBsAg 的影响无明显差别。

2.3 各组小鼠肝组织 MDA、SOD 变化

表 1 示,模型组肝组织中 SOD 水平明显低于空白

组($P<0.01$),而MDA水平则明显高于空白组($P<$

表1 各组小鼠血清ALT、AST、TbIL、肝组织MDA、SOD比较($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	ALT(U/L)	AST(U/L)	TbIL(μmol/L)	SOD(U/mgprot)	MDA(nmol/mgprot)
空白组	10	37.03±9.16	37.54±4.29	4.85±3.02	109.93±19.49	29.77±12.70
模型组	9	204.39±67.78△△	421.13±84.11△△	31.54±6.58△△	76.95±37.50△△	41.84±15.62△
联苯双酯组	9	83.58±20.78△**	169.23±31.21**◆	28.30±7.81	99.42±24.39◆	43.36±34.76
茵陈组	9	184.03±48.95△△◆◆	297.52±32.71**△◆◆	26.51±7.36	81.78±22.22△◆	46.26±13.01**◆
茵陈蒿汤组	8	151.77±18.58△△	240.58±19.61**	26.11±9.30	99.49±29.81◆	38.75±12.95
荣肝合剂组	9	69.45±23.94**△	119.52±23.36**	18.39±4.99△△**	140.22±27.31△**	29.57±16.63*

注:与空白组比较,△ $P<0.05$,△△ $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与荣肝合剂组比较,◆ $P<0.05$,◆◆ $P<0.01$

表2 各组小鼠HBV DNA和HbsAg表达情况比较($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	HBV DNA (10 ⁴ copy/ml)	HbsAg(S/Co)
空白组	10	2.85±2.62*	4.23±9.13
模型组	9	2.96±2.34*	1.59±0.99
联苯双酯组	9	2.91±4.33*	2.81±4.12
茵陈组	9	2.17±1.21*	7.85±7.11
茵陈蒿汤组	8	2.26±4.03*	12.07±11.19
荣肝合剂组	9	1.88±3.15	1.81±1.15

注:与荣肝合剂组比较,* $P<0.05$

0.05)。荣肝合剂组可明显提高肝组织中SOD水平,与模型组、茵陈组、茵陈蒿汤组、联苯双酯组相比较,均有统计学差异($P<0.05$)。与模型组、茵陈组比较,荣肝合剂组可降低肝组织中MDA水平($P<0.05$),且其疗效优于单味茵陈。

3 讨论

ConA是一种植物凝集素,体外可以促进T细胞的分裂。Imose等报道静脉注射BALB/c小鼠8h后可引起明显的急性肝损害,并证明损伤机制为CD4⁺T细胞介导的^[6]。此结果与人类的急性肝炎发病机理非常相似,所以ConA诱导的肝损伤动物模型是一种理想的肝损伤动物模型。本课题组前期以荣肝合剂为干预药物,对ConA介导的HBV转基因小鼠形成的慢性肝损伤进行了研究,结果证实,荣肝合剂可降低血清酶学水平;减轻肝细胞的炎症、坏死和纤维化程度,促进损伤肝细胞的修复;可调节体内CD4⁺、CD8⁺T细胞的水平,提高机体免疫力^[7-8]。前期实验摸索了ConA干预HBV转基因小鼠的急性肝损伤模型,得出ConA3μg/g造模剂量较为可行。

急性肝损伤以湿热、血瘀为主要病机,但湿可困脾,脾运不能更助湿邪,因此,急性肝炎亦当健脾以祛湿,健脾亦为治本之法。荣肝合剂是治疗急慢性肝炎的经验方,由鸡骨草、黄芪、丹参、滑石、白术等组成,全方具有清热利湿、活血健脾之功,正中急性肝炎病机。

本实验旨在研究中医药保肝降酶表象后的分子机理,探讨乙型肝炎病毒学指标(HBV DNA与HbsAg)

对中医药治疗乙型肝炎在降酶基础上应考虑结合抗病毒治疗^[9]的依据。

氧自由基是生物体氧化-还原反应的代谢产物,在正常情况下,其产生和清除维持在一个平衡状态上,过多过少都会给机体造成损害^[10]。肝损伤过程中,T淋巴细胞介导的免疫反应常常导致肝细胞内大量氧自由基的产生,这些氧自由基作用于细胞膜脂质,进行脂质过氧化的链反应,主要体现在相互关联的SOD和MDA两指标的改变方面。本实验中,各用药组ALT、AST的含量有不同程度的降低,尤以荣肝合剂为著,说明荣肝合剂可以促进损伤细胞膜的修复,抑制细胞内酶的大量释放。细胞膜脂质过氧化的过程中,SOD可以清除细胞内的自由基,是衡量肝损伤程度的重要指标之一。本实验表明,荣肝合剂可显著提高SOD水平,增强机体抗氧化能力,加速自由基清除,抑制脂质过氧化反应。MDA是脂质过氧化反应过程中的稳定产物,具有很强的生物毒性,可严重破坏细胞膜结构,导致细胞肿胀、坏死,其含量直接反映了组织氧化损伤的程度,间接反映了肝细胞受自由基攻击后损伤的程度^[11]。本实验中荣肝合剂组MDA水平明显低于模型组和茵陈组,分析认为荣肝合剂干预免疫性肝损伤的作用机理可能是通过提高机体SOD水平、抑制过氧化产物MDA的产生及清除过量的MDA,从而保护肝细胞膜结构的完整性及对肝细胞膜的损伤进行修复。

中药茵陈具有清利湿热、利胆退黄的功效,常用于CHB的治疗。茵陈蒿汤来源于《伤寒论》,是清热利湿的祖方,也是临床治疗CHB的常用方剂。荣肝合剂较茵陈蒿汤更具健脾活血之功。本实验表明,较之单味茵陈煎液、茵陈蒿汤,荣肝合剂的降酶疗效也更为确切,说明中药复方疗效优于单味药,清利活血健脾法治疗CHB优于单纯清热利湿法。与单味茵陈、茵陈蒿汤、联苯双酯比较,荣肝合剂不仅对小鼠的AST、AST、TbIL有降低作用,同时对于病毒学与脂质过氧化指标有所改善。荣肝合剂可能是通过抑制了HBV DNA,改善了肝细胞膜脂质过氧化反应水平而起效。但荣肝合剂降

酶机制是多方面的,故荣肝合剂对 T 淋巴细胞亚群功能、细胞凋亡等方面的干预机制有待进一步研究。

参考文献

[1] Wei HS, Li DG, Lu HM, et al. Effects of AT¹ receptor antagonist, losartan, on rat hepatic fibrosis induced by CCl₄ [J]. World J Gastroenterol, 2000, 6(4) : 540-545.

[2] Liu HL, Li XH, Wang DY, et al. Matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 expression in fibrotic rat liver [J]. World J Gastroenterol, 2000, 6(6) : 881-884.

[3] 曲建慧, 张修礼. ConA 性小鼠肝损伤模型的研究及应用 [J]. 肝脏, 2001, 6(3) : 180-181.

[4] 段富津. 方剂学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1995: 241-242.

[5] Tiegs G, Hentschel J, Wendel A. A T cell-dependent experimental liver injury in mice inducible by concanavalin A [J]. J Clin Invest, 1992, 90(1) : 196-203.

[6] Imose M, Nagaki M, Kimura K, et al. Leflunomide protects

from T-cell-mediated liver injury in mice through inhibition of nuclear factor kappaB [J]. Hepatology. 2004, 40(5) : 1160-1169.

[7] 王凤云, 唐旭东, 刘燕玲, 等. 荣肝合剂对 ConA 诱导慢性免疫性肝损伤小鼠的影响 [J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2008, 17(6) : 492-495.

[8] 王凤云, 唐旭东, 许勇钢, 等. 荣肝合剂对 ConA 诱导慢性免疫性肝损伤小鼠细胞凋亡功能的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2008, 28(9) : 835-838.

[9] 张引强, 唐旭东, 刘燕玲, 等. 中医药对慢性乙型肝炎保肝降酶作用若干问题的思考 [J]. 中西医结合肝病杂志, 2009, 19(6) : 377-379.

[10] 陈援, 周玫. 自由基医学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 1991: 283.

[11] 刘成, 胡义扬, 汪润平, 等. 丹酚酸 A 抗氧化鼠肝损伤的作用 [J]. 世界华人消化杂志, 1999, 7(7) : 570-572.

(收稿日期: 2009-06-22; 修回日期: 2010-04-04)

[编辑: 行之]

• 临床解惑 •

面瘫的中医辨证施治应注意什么

吴沛田

(海南省三亚市中医医院, 572000)

面瘫分为中枢性和周围性两种, 症状、脑电图、脑 CT 可资鉴别。这里所说面瘫以一侧面部表情肌突然瘫痪, 同侧额皱纹消失, 眼裂扩大, 鼻唇沟变浅, 面部被牵向健侧为主要特征, 即周围性面神经瘫痪。现代医学认为大多数是由急性非化脓性茎乳突孔内的面神经炎引起, 故又称周围性面神经炎、面神经麻痹。属中医学“口眼喎斜”、“吊线风”、“卒口僻”范畴。

在病因病机方面, 中医认为是由络脉空虚, 感受风邪或寒邪, 致气血凝滞, 肌肉纵缓不收所致, 但不排除伏邪诱发和体质倾向。络脉具有易郁易滞的特点, 易为邪气所伏留结聚。伏邪可乘络虚或挟新邪而发; 若素体阳气偏虚, 则易为风寒湿所袭, 形成寒湿阻络证; 若素体阴血不足, 内有郁热, 则易为风湿热所袭, 或风寒湿邪从化蕴热, 形成湿热阻络证。

在治疗方面, 总以“通畅络脉”为目的, 采用分期辨证治疗。早期以络实为主, 当祛邪通络、兼和营卫。如感受寒邪, 症见患侧眼睑不能闭, 口角歪向健侧, 患侧面部紧束疼痛感, 伴麻木, 面色㿔白, 或大便溏泄, 舌苔薄白、舌质淡, 脉弦。治宜温经散寒、通络解痹, 用牵正散加味, 药用白附子、僵蚕、全蝎、白芷、羌活、防风、天麻、麻黄、牛蒡子、红花、地龙、细辛、柴胡。若感受风热, 症见口眼歪斜, 患侧呈麻木火烧样疼痛, 偶有眼皮跳动。伴面红目赤, 五心烦热, 或心烦易怒, 大便燥结, 小便黄, 舌苔薄黄或黄腻, 脉弦数或滑。治宜疏风清热、活络止痛, 方选大秦芩汤加味, 药用秦艽、川芎、当归、白芍、生石膏、黄芩、白芷、生地黄、薄荷、钩藤、胆南星、菊花、连翘、僵蚕、全蝎、地龙。中期虚实夹杂, 当化痰消瘀, 通畅络脉。如痰湿内阻, 除见口眼喎斜外, 尚有头重如蒙, 颜面麻木、知觉较差, 面色青黄, 耳塞耳聩, 呕恶痰涎, 纳食不香, 大便不爽, 舌苔白腻或黄腻, 脉滑或滑数。治宜理气化痰, 祛湿通络, 方选二陈平胃汤、牵正散加味, 药用陈皮、半

夏、苍术、厚朴、茯苓、白附子、僵蚕、全蝎、天南星、地龙、枳实、红花、川芎。若瘀血阻络, 则患侧颜面色暗或有瘀斑, 间有抽掣样疼痛, 往往日轻夜重, 舌苔薄, 舌质暗或边间有瘀斑, 脉细涩或弦。治宜活血化瘀、通络止痛, 方选通窍活血汤加味, 药用赤芍、川芎、桃仁、红花、生姜、地龙、僵蚕、全蝎、白附子、胆南星、半夏、威灵仙、络石藤、郁金。晚期络虚为主, 当培补肝肾、健脾益气、化痰通络。若肝肾阴虚, 面瘫多伴口干咽燥, 两目干涩, 腰膝酸软, 手足心热, 头晕耳鸣, 夜寐不宁, 舌红少苔, 脉细数, 治宜滋养肝肾, 降火通络, 方选二至丸、大补阴丸、牵正散加味, 药用生地黄、龟甲、女贞子、墨旱莲、山茱萸、牡丹皮、泽泻、丹参、川芎、红花、白附子、僵蚕、全蝎、白芥子、黄柏。若脾胃阳虚, 面瘫常伴面色㿔白, 倦怠乏力, 或畏寒肢冷, 腰膝或少腹冷痛, 大便溏薄或尿有余沥, 舌苔薄白或白腻, 舌体胖大, 脉沉弱。治宜温补脾胃, 化痰通络, 方选温经汤、桂枝茯苓丸加味, 药用桃仁、赤芍、红花、黄芪、党参、桂枝、茯苓、半夏、吴茱萸、牡丹皮、僵蚕、全蝎、白附子、鹿角霜、三七粉。

在辨证服药的同时, 配合中药外治大有裨益。如猪牙皂 200g, 研细末, 取适量用陈醋调成糊状, 涂患侧颊车、地仓穴, 每日换药 2 次, 10 天为 1 个疗程; 或用枯矾、生川乌、草乌各等分, 加冰片或麝香少许, 用纱布包如枣核大小, 左歪塞右鼻, 右歪塞左鼻, 2 小时取出, 每日 3 次; 或用羌活、独活、荆芥、忍冬藤、防风各 20g, 猪牙皂 30g, 细辛 8g, 薄荷 8g, 僵蚕、蝉蜕各 15g, 放药罐中加水 1000ml, 煎沸后趁热熏洗患侧面部, 并以文火维持药液沸腾状态, 每次 20~40min, 3 天为 1 个疗程。

值得注意的是, 面部血管神经非常丰富, 刺激过度会适得其反, 所以不能操之过急, 而且针灸疗法不宜过早采用。

[编辑: 李巍]