

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2020.23.016

电针“上巨虚”和“足三里”对阳明腑实证模型大鼠小肠运动及肠神经胶质细胞形态学的影响

许英^{1,2}, 谢明征^{1,2}, 齐清会^{1,2}, 张潇丹^{1,2}, 梁国刚^{1,2*}

1. 大连医科大学附属第一医院, 辽宁省大连市西岗区中山路 222 号, 116011; 2. 大连医科大学中西医结合研究院

摘要 目的 探讨电针上巨虚和足三里穴对阳明腑实证肠运动功能的影响及可能的作用机制。方法 60 只 Wistar 大鼠随机分为空白组、模型组、电针组, 每组 20 只。模型组与电针组连续灌服热性中药 12 天, 第 13、14 天自身粪便混悬液灌胃, 15 天腹腔注射大肠杆菌菌液, 建立阳明腑实证大鼠模型; 空白组用等量生理盐水灌胃和腹腔注射。电针组大鼠于造模成功后每日电针双侧“足三里”和“上巨虚”穴, 每次 30 min, 持续 5 天; 空白组和模型组仅捆绑固定不干预。干预完成后检测大鼠小肠上段肌电慢波频率和振幅, 评估小肠运动功能变化; 取小肠上段组织标本进行 HE 染色观察小肠病理损伤; 运用免疫荧光共聚焦显微镜、透射电镜观察肠神经胶质细胞形态及超微结构改变。结果 与空白组比较, 模型组大鼠小肠慢波频率减慢, 振幅降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 小肠病理损伤明显, 肠神经胶质细胞形态异常, 网络结构紊乱, 荧光强度 OD 值降低 ($P < 0.05$), 透射电镜观察肠神经胶质细胞染色质聚集, 分布不均, 线粒体肿胀; 电针组大鼠小肠慢波频率增快, 振幅升高 ($P < 0.05$), 小肠病理损伤及肠神经胶质细胞及网络结构损伤减轻, 荧光强度 OD 值增加 ($P < 0.05$), 肠神经胶质细胞超微结构损伤改善。结论 电针“上巨虚”和“足三里”可促进阳明腑实证模型大鼠小肠运动功能恢复, 其机制可能与修复肠神经胶质细胞网络损伤有关。

关键词 阳明腑实证; 电针; 上巨虚; 足三里; 肠神经胶质细胞; 肠道运动功能

阳明腑实证是许多外感热病出现的邪热内炽又伴有腑实证的一组全身症状综合征, 以“痞、满、燥、实、坚”为特点, 是阳明经邪热不解, 由经入腑, 与肠中糟粕相互搏结, 阻塞肠道, 出现以胃肠运动功能障碍为主的病症^[1]。现代医学的急性感染性疾病、急腹症、急性胆道感染、胆石症、急性胰腺炎等疾病病理状态下均可出现阳明腑实证^[2-3]。胃肠道运动功能障碍是其首要病理基础, 在此基础上肠道菌群繁殖、毒素积累、细菌移位, 从而出现严重的炎症反应, 甚至全身炎症反应综合征、多器官障碍综合征、休克等并发症^[4]。因此, 促进胃肠道运动是治疗阳明腑实证的关键。

参与胃肠运动功能调节的有神经有中枢神经系统和肠神经系统, 且肠神经系统的调控作用尤为重

要, 可独立于中枢神经系统调控胃肠道运动^[5-6]。研究^[7-8]表明, 肠神经胶质细胞 (enteric glial cells, EGCs) 是肠神经系统的主要组成部分, 肌间神经丛 EGCs 功能障碍、数量减少, 形态结构异常会引起胃肠运动功能障碍, 影响胃肠蠕动, 导致胃肠排空、运输减慢。针刺改善胃肠动力、治疗胃肠运动功能障碍性疾病已经取得显著疗效^[9-10]。按照“经脉所过, 主治所及”“合治内腑”等中医针灸治疗原则, 上巨虚和足三里同属于足阳明胃经腧穴, 为治疗胃肠疾患的主要腧穴。因此, 本研究通过观察阳明腑实证大鼠小肠运动功能障碍是否存在 EGCs 及其胶质网络结构的损伤, 探究电针大鼠“足三里”和“上巨虚”对阳明腑实证模型大鼠小肠动力及 EGCs 网络结构损伤变化的影响。

1 材料与方法

1.1 动物及分组

健康 SPF 级 Wistar 大鼠 60 只, 1.5 月龄, 雌

基金项目: 国家自然科学基金 (81873164, 81603428); 辽宁省科学技术计划项目 (20180550343, 20170540297)

* 通讯作者: anniu@163.com, (0411) 83635963 转 3284

雄各半, 体重 150 ~ 180 g, 由大连医科大学 SPF 级动物实验中心提供, 实验动物合格证号: SCXK (辽) 2018-0003。将 60 只大鼠按照体重顺序编号, 应用 SPSS 17.0 系统生成随机数字, 将大鼠分为空白组、模型组和电针组, 每组 20 只。

1.2 主要试剂与仪器

大肠杆菌菌液 1.5×10^8 cfu/ml, 由大连医科大学附属第一医院微生物室提供。兔抗大鼠胶质纤维酸性蛋白 (GFAP) 抗体 (货号 ab7260)、驴抗兔 IgG 抗体 (货号 ab150073)、牛血清白蛋白 BSA (货号 A8010)、曲拉通 TritonX-100 (货号 T8200)、三氨基甲烷 1M Tris-HCl (货号 T1140)、防荧光淬灭封片剂 (货号 ab104135), 英国 Abcam 公司; 乌拉坦 (合肥巴斯夫生物科技有限公司, 货号 W0001-400G); 4% 多聚甲醛 (沈阳赛维尔公司, 货号 G1101-500 ml); PBS 粉 (货号 ZLI-9063)、苏木素染色液 (货号 ZLI-9610)、伊红染色液 (货号 ZLI-9613), 北京中山金桥公司。

BF-420 生物技能系统 (成都泰盟科技有限公司, 型号: BF-420); 韩式小动物电针仪 (南京济生医疗有限公司, 型号: HANS-200); 共聚焦显微镜 (德国徕卡公司, 型号: Leica SP8); 透射电镜 (日本 JEOL 公司, 型号: JEM-1400 plus); 荧光显微镜 (型号: BX58)、解剖显微镜 (型号: SZX16), 日本 Olympus 公司。

1.3 模型制备及干预

炮附片、干姜、肉桂按 1 : 1 : 1 比例做水煎剂 (浓缩至含生药浓度 1 g/ml), 4℃ 保存, 中药饮片购自大连医科大学附属第一医院中药局。参照樊新荣等造模方法^[11], 按 20 g/kg 体重对模型组、电针组大鼠进行中药煎剂灌胃, 每日 1 次, 连续 12 天; 空白组大鼠灌胃等量生理盐水, 每日 1 次。第 13、14 天模型组、电针组灌胃大鼠自身粪便混悬液 (100 g/L) 2 ml, 每日 2 次; 空白组灌胃等量生理盐水, 每日 2 次。第 15 天, 模型组、电针组大鼠腹腔注射大肠杆菌菌液 3 ml, 空白组腹腔注射等量生理盐水。造模后, 电针组大鼠电针双侧“足三里”和“上巨虚”, 选穴定位参照《实验针灸学》^[12], 电针采用疏密波 2/50 Hz、3 mA, 每日 1 次, 每次 30 min, 连续 5 天; 空白组和模型组仅捆绑固定不做电针干预。

1.4 观察指标与方法

1.4.1 一般状况观察 观察各组大鼠精神状态、行为、饮水、排便情况, 记录各组大鼠体重, 计算

体重增长率。体重增长率 = (第 15 天体重 - 第 1 天体重) / 第 1 天体重 $\times 100\%$ 。便干率 = 便干动物数 / 该组动物总数 $\times 100\%$, 便干以粪便干燥、质硬、表面粗糙、不粘滤纸且滤纸无污迹为标准。

1.4.2 小肠肌电测定 根据 SPSS 17.0 系统生成的随机数字每组选出 6 只大鼠, 分别给予 20% 乌拉坦 (20 g/kg) 腹腔注射麻醉, 腹正中 3 ml 切口, 暴露小肠上段。在距离幽门下 5 cm 处将一对直径 0.2 cm 铂丝电极 (间距 1 ml) 插入浆肌层, 经切口引出, 与 BF-420 生物技能系统相连。待状态稳定后, 开始记录小肠慢波频率和振幅。参数设置慢波增益 6 mv, 扫描速度 1.25 ms/div, 每次连续记录 5 min, 每次记录后间隔 20 min, 待波形平稳后再记录下一次, 共记录 3 次, 求平均值。

1.4.3 HE 染色观察小肠病理形态 每组大鼠全部留取近端小肠组织, PBS 冲洗肠内容物, 4% 多聚甲醛组织固定, 4℃ 过夜。根据 SPSS 17.0 系统生成的随机数字每组选出 10 个小肠组织标本, 制作 HE 染色石蜡切片, 进行苏木素-伊红染色, 在光镜下观察小肠组织形态及病理改变, 每张切片于 100 倍下观察全部组织并采集图像。

1.4.4 小肠全肌层 GFAP 免疫荧光染色观察 EGCs 形态 根据 SPSS 17.0 系统生成随机数字每组选出 10 个小肠组织标本, 取出肠组织剪成 5 mm $\times$ 5 mm 块, 置于含 PBS 液的培养皿中。在解剖显微镜下, 去除黏膜层和黏膜下层, 保留环层肌和纵层肌。制备好的小肠全层肌在含 0.5% TritonX-100 的 0.05% mol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH = 7.6), 37℃ 孵育 4 h。1% BSA, 37℃ 封闭 1 h。弃去 BSA, 加入兔抗大鼠 GFAP 抗体 (1 : 1000), 4℃ 孵育 48 h, 然后加二抗驴抗兔 IgG 抗体 (1 : 200), 37℃ 避光孵育 1 h。PBS 洗涤, 将小肠全肌层组织标本置于防脱载玻片上, 滴加防荧光淬灭封片剂, 封片。在共聚焦显微镜下观察, 拍照。

1.4.5 小肠肌层 EGCs 超微结构 各组大鼠分别留取新鲜小肠上段组织 3 mm $\times$ 3 mm, PBS 液冲洗后, 立即进行 2.5% 戊二醛固定和 1% 锇酸固定并脱水。根据 SPSS 17.0 系统生成的随机数字每组选出 10 个小肠组织标本, 超薄切片机制作 5 ~ 7 μ m 厚度超薄切片, 2% 甲苯胺蓝染色, 光学显微镜下对肌间 EGCs 定位, 然后制作超薄切片厚度约 70 nm, 并收集在铜网上, 乙酸双氧轴和柠檬酸铅染色。应用透射电镜观察拍片, 记录大鼠小肠肌层 EGCs 超微结构。所有电镜图片取 3 个不同视野放大 10000 倍。

1.5 统计学方法

应用 SPSS 17.0 软件系统进行数据分析处理, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 经正态检验与方差齐性检验后组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般状况

空白组大鼠无明显变化, 自由活动, 精神状态良好, 饮水量无明显变化, 排便顺畅, 粪便表面湿润光滑, 尿色淡黄或清, 空白组便干率为 16.67%, 体重增长率为 25.0%。模型组大鼠在灌胃热性中药 10 天后, 呈现活跃、躁动、易激惹, 在第 11 天左右普遍出现排便缓慢, 粪便干燥, 表面粗糙, 颗粒变小, 甚至呈串珠样改变, 第 15 天便干率为 66.67%, 尿色深黄, 体重增长缓慢, 体重增长率为 6.3%。与模型组相比, 电针组大鼠经电针治疗后, 精神明显好转, 进食开始增加, 便干率为 65.66%, 体重增长率为 27.4%。

2.2 各组大鼠小肠组织病理形态结果

病理形态图片请扫描本文二维码获取, 见图 1。空白组大鼠小肠组织结构完整, 小肠绒毛发达, 腺体丰富且排列规整, 上皮细胞排列整齐; 与空白组相比, 模型组大鼠小肠黏膜脱落, 小肠绒毛稀疏、断裂, 绒毛上皮细胞脱落, 基底腺排列增宽, 下层有炎症细胞浸润, 毛细血管充血; 电针组大鼠肠黏膜部分脱落, 小肠绒毛排列紊乱、稀疏、变短, 病理变化相对模型组减轻。

2.3 各组大鼠小肠肌电测定结果比较

表 1 示, 与空白组比较, 模型组大鼠小肠慢波频率明显减慢、振幅减小 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较, 电针组大鼠小肠慢波频率升高, 振幅增大 ($P < 0.05$)。各组大鼠小肠肌电慢波波形图见图 2。

表 1 各组大鼠小肠肌电慢波频率和振幅变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	频率 (cpm)	振幅 (mv)
空白组	6	14.075 ± 1.359	5.735 ± 0.613
模型组	6	8.795 ± 0.938**	1.560 ± 0.224*
电针组	6	10.938 ± 0.834 [#]	4.138 ± 0.492 [#]

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, [#] $P < 0.05$

2.4 各组大鼠小肠全肌层 GFAP 免疫阳性 EGCs 荧光 OD 值比较

空白组 GFAP 免疫阳性 EGCs 网络结构排列清晰, 细胞体周围分布均匀细长、薄薄的胶质丝。与

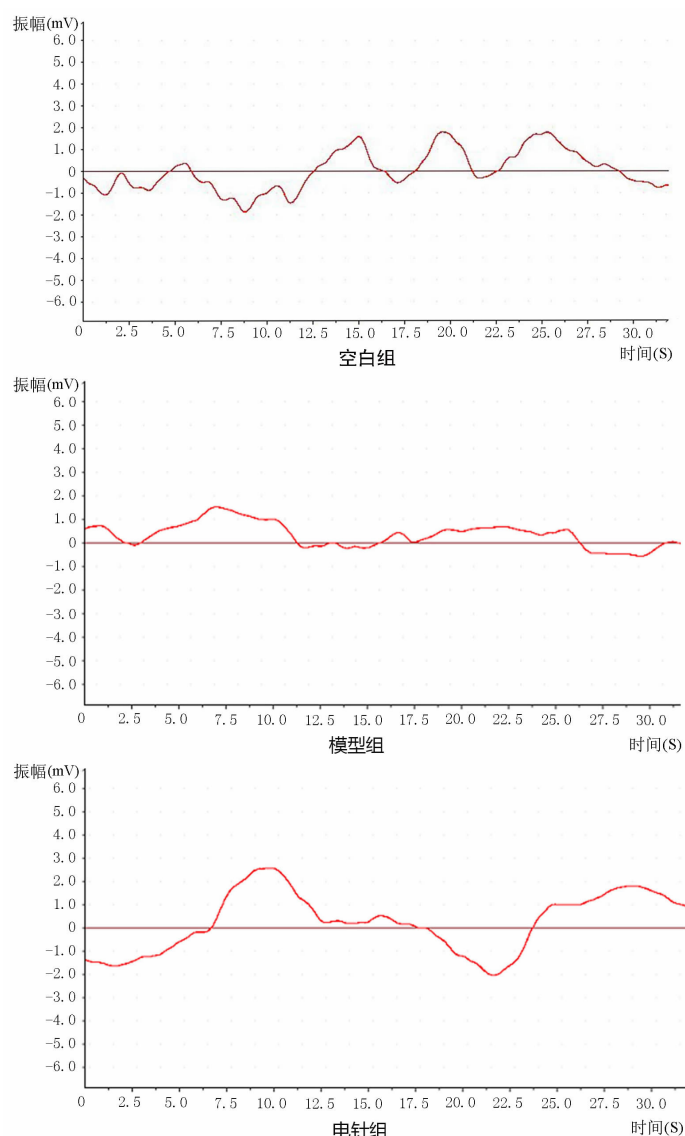


图 2 各组大鼠小肠慢波波形图

空白组相比, 模型组 EGCs 网络结构紊乱, 部分碎片化, 胶质丝分布不均, 突起的长度缩短, 与胞体的距离增大, 神经节数量减少。电针组 GFAP 免疫阳性的 EGCs 网络结构相对清晰, 但胶质丝扭曲, 厚薄不均。相关图片请扫描本文二维码获取, 见图 3。表 2 示, 与空白组比较, 模型大鼠小肠全肌层 GFAP 免疫阳性 EGCs 荧光 OD 值降低 ($P < 0.05$), 而电针组较模型组显著升高 ($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠小肠全肌层 GFAP 免疫阳性 EGCs 荧光 OD 值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	荧光强度 OD 值
空白组	10	1012.348 ± 128.99
模型组	10	703.011 ± 15.80*
电针组	10	866.218 ± 95.84 [#]

注: GFAP, 胶质纤维酸性蛋白; EGCs, 肠神经胶质细胞; 与空白组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, [#] $P < 0.05$

2.5 各组大鼠小肠 EGCs 超微结构情况比较

电镜下观察 EGCs 结构, 空白组可见胶质细胞细长, 大量胶质丝, 核膜清晰, 核染色质分布均匀, 形态正常, 1~2 个核仁, 细胞质内线粒体丰富, 内质网、溶酶体等细胞器结构清晰。模型组可见细胞核染色质聚集, 细胞质内线粒体明显减少、肿胀, 粗面内质网扩张; 电针组细胞核染色质分布欠均匀, 细胞质内线粒体减少, 细胞器结构相对清晰。相关图片请扫描本文二维码获取, 见图 4。

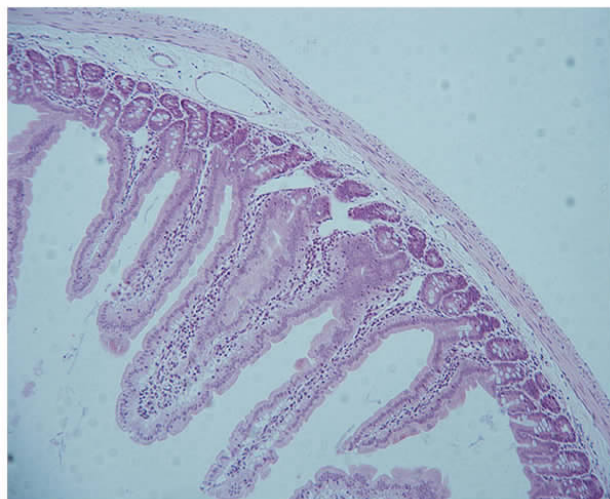
3 讨论

阳明腑实证是由于邪热内盛与肠中糟粕相互搏结, 燥屎内结, 胃肠腑气不通, 气机壅滞而形成阳明腑实热证; 外感邪热不解, 或邪热自内发, 由阳明经入胃肠腑, 与肠中糟粕相互搏结, 壅塞肠道, 气机郁滞, 从而出现一系列全身证候, 进一步发展会导致胃肠功能衰竭、全身炎症反应综合征^[3,13]。本研究动物模型制备时先运用热性中药附子、干姜、肉桂灌胃, 导致机体燥热, 津液耗伤, 再灌胃大鼠自身粪便, 壅滞肠道与邪热相互搏结, 最后腹腔注射大肠杆菌菌液, 增加机体热象, 进一步耗伤津液。中医学认为, 胃肠腑生理功能以通为用, 以降为顺, 当胃肠内燥屎阻结, 则胃肠通降受阻, 进一步影响胃肠气机, 浊气在上, 则生胀, 诸气怫郁, 则气壅于大肠, 大便乃结^[14-15]。本研究结果显示, 模型组大鼠粪便干燥, 表面粗糙, 小肠慢波频率减慢, 振幅降低, 表明阳明腑实证存在明显肠道运动障碍, 模拟了阳明腑实证动物模型。

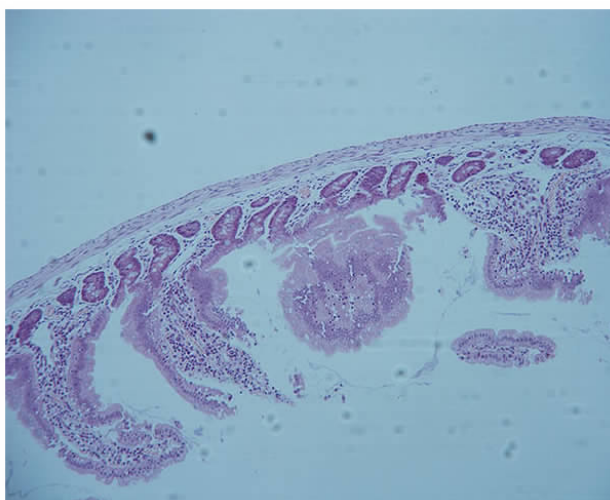
《素问·五脏别论篇》曰“六腑者, 传化物而不藏, 故实而不能满也”, 《伤寒论》中有“六腑以通为用”“通则不痛”的理论, 故促进胃肠运动、提高胃肠动力是治疗阳明腑实证的根本。足三里穴为胃经合穴, 也是胃的下合穴, 可治疗多种胃肠道疾病^[16]。《类经图翼》中记载“侠脐腹痛, 肠中切痛, 飧泄食不化, 喘息不能行, 胸胁支满, 狂走, 此穴主泻胃中之热, 与气街、三里、下巨虚治同”, 指出了上巨虚的治疗作用。因此, 肠腑之病常取胃经穴位上巨虚和足三里治疗。本研究选取大鼠“足三里”和“上巨虚”穴进行电针治疗, 发现电针可明显改善大鼠排便缓慢的症状, 提高小肠慢波频率和幅度, 说明电针“足三里”和“上巨虚”可明显改善阳明腑实证大鼠小肠动力, 促进肠道运动。

肠道运动功能调节受中枢神经系统和肠神经系统的双重支配, 研究表明肠神经系统的作用更为突出, 称为“肠脑”^[17]。EGCs 是肠神经系统的重要组成部分, 与中枢神经系统星形胶质细胞相似, 表达中间丝 GFAP, 紧紧围绕肠神经元, 具有细长胶质丝, 胞体之间彼此连接形成网络结构, 能够通过释放胶质递质调节神经功能并且对肠神经具有营养和支持的作用^[18]。亦有多项研究^[6,19-20]表明, EGCs 不仅仅参与营养支持肠神经元, 而且在胃肠道运动功能调节中发挥着重要作用, 是细胞间信息整合中心。既往研究发现, 肠肌间神经丛和黏膜下神经丛 EGCs 的减少增加了严重便秘患者的治疗难度^[21-22], 在先天性严重慢波需手术缓解的便秘患者体内小肠和结肠的 EGCs 数量显著减少, EGCs 畸形改变^[23]。当体内条件性敲除 EGCs 时可延迟胃肠道排空、降低肠道传输速率^[24]。此外, EGCs 与神经元存在动态交流过程, EGCs 的活化是肠神经反射的重要调节因子, 参与肠神经回路, 调控胃肠运动功能^[25]。体内胶质细胞损伤, 活性受损会破坏肠神经对肠道运动的调控, 并导致肠运动障碍的产生^[17,26]。因此表明肠神经胶质数量缺失、形态损伤是导致肠道异常的原因。本研究在免疫荧光共聚焦显微镜及透射电镜下进一步研究观察肠神经 EGCs, 发现与空白组相比, 阳明腑实证模型大鼠小肠 EGCs 网络结构紊乱, 突起缩短, 部分呈碎片化改变, 神经节数量减少; 电针治疗后大鼠小肠 EGCs 形态基本正常, 网络结构相对完整, 但胶质不均匀, 胶质丝不光滑, 可能是电针治疗促进了 EGCs 的活化和增生。透射电镜的结果亦显示, 阳明腑实证大鼠小肠肌层 EGCs 细胞超微结构明显损伤, 线粒体肿大, 内质网扩张, 而电针组 EGCs 细胞核染色质分布相对均匀, 细胞质内线粒体, 粗面内质网, 结构清晰。以上结果提示, EGCs 及胶质网络损伤可能是导致阳明腑实证大鼠小肠运动异常的因素, 电针“足三里”和“上巨虚”穴可能通过调节 EGCs, 修复其网络结构损伤, 进而改善肠道动力。

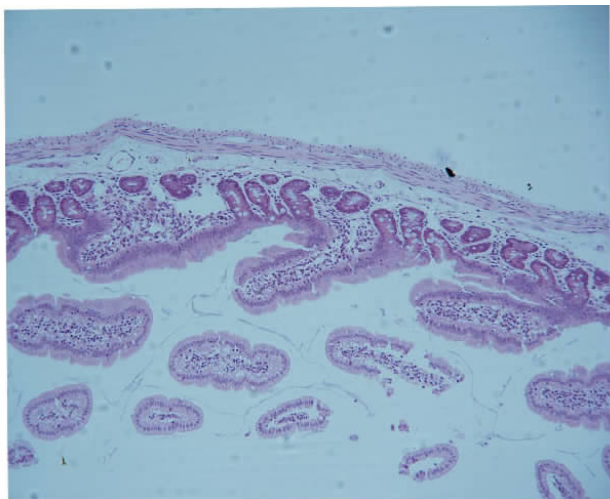
综上, 阳明腑实证大鼠小肠运动功能明显异常, 存在肌层 EGCs 网络结构改变, 超微结构损伤。而电针上巨虚和足三里穴可提高小肠动力, 修复 EGCs 网络损伤, 但具体作用机制需要更多深入的研究及多机制综合研究。



空白组

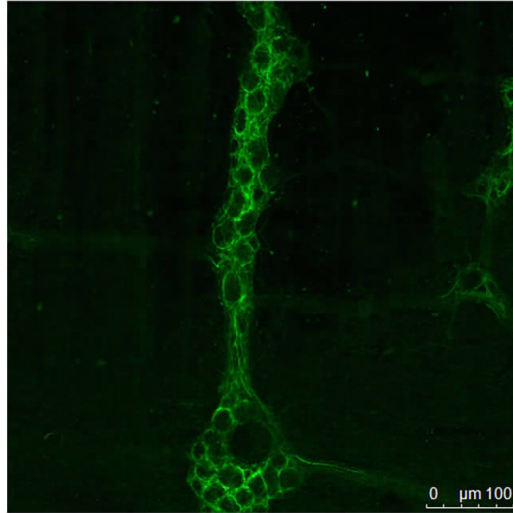


模型组

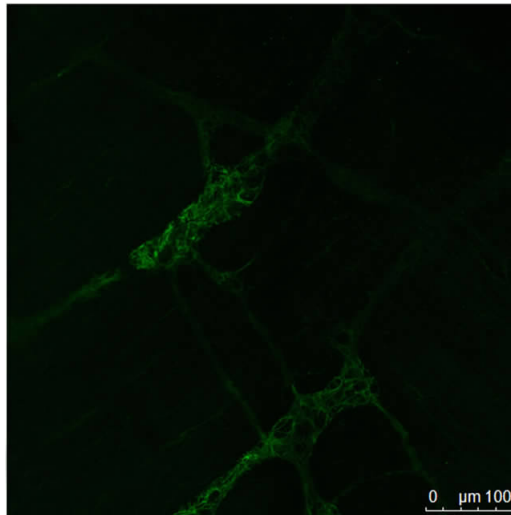


电针组

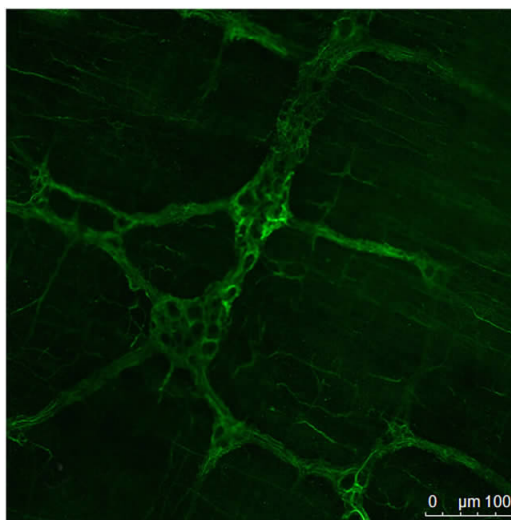
图 1 各组大鼠小肠组织病理形态 (×100, HE 染色)



空白组

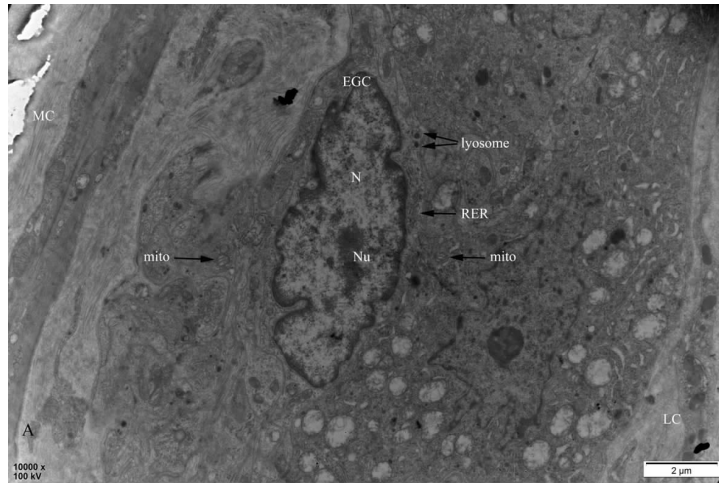


模型组



电针组

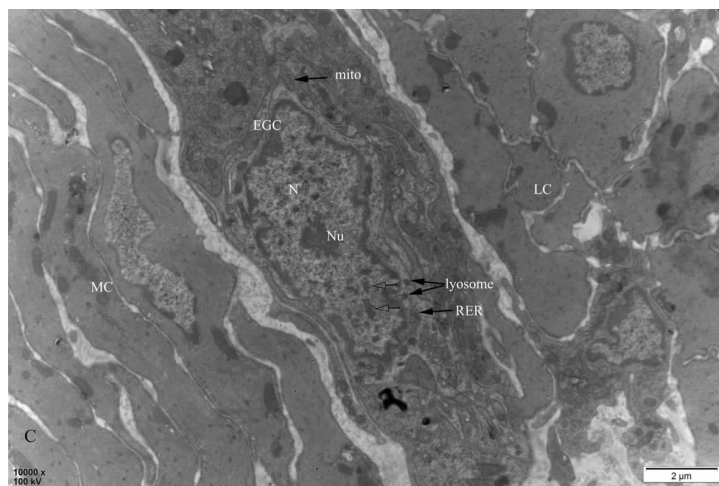
图 3 各组大鼠小肠全肌层胶质纤维酸性蛋白 (GFAP) 免疫阳性肠神经胶质细胞 (EGCs) 及网络结构共聚焦显微镜观察结果 ($\times 200$)



空白组



模型组



电针组

注: LC, 纵层肌; MC, 环层肌; EGC, 肠神经胶质细胞; N, 细胞核; Nu, 核仁; RER, 内质网; mito, 线粒体; lyosome, 溶酶体

图 4 各组大鼠小肠肌层肠神经胶质细胞 (EGCs) 超微结构透射电镜观察结果 (×10000)

参考文献

- [1] 郭任. 论“胃家实”本质[J]. 河南中医, 2010, 30(1): 26-28.
- [2] GHOSH G, JESUDIAN AB. Small intestinal bacterial overgrowth in patients with cirrhosis[J]. J Clin Exp Hepatol, 2019, 9(2): 257-267.
- [3] 赵飘飘, 王琦, 秦大莲, 等. 阳明腑实证大鼠内毒素血症与肺损伤的相关性及中药的干预作用[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(3): 1137-1140.
- [4] 陈海龙, 关凤林. 阳明腑实证本质的现代研究[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2007, 13(4): 353-355.
- [5] GRUBISIC V, VERKHRATSKY A, ZOREC R, et al. Enteric glia regulate gut motility in health and disease[J]. Brain Res Bull, 2018, 136: 109-117. doi: 10.1016/j.brainresbull.2017.03.011.
- [6] FURNESS JB. The enteric nervous system and neurogastroenterology[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2012, 9(5): 286-294.
- [7] BOESMANS W, CIRILLO C, VAN DEN ABEELE V, et al. Neurotransmitters involved in fast excitatory neurotransmission directly activate enteric glial cells[J]. Neurogastroenterol Motil, 2013, 25(2): e151-160.
- [8] BASSOTTI G, VILLANACCI V, ANTONELLI E, et al. Enteric glial cells: new players in gastrointestinal motility? [J]. Lab Invest, 2007, 87(7): 628-632.
- [9] 刘丽莎, 张微, 赵敏, 等. 针刺大肠俞募穴对慢传输便秘小鼠结肠组织形态学的影响[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(1): 255-258.
- [10] 杨玉平, 安宝泉, 谭奇纹. 电针足三里、上巨虚治疗术后腹胀临床疗效对比观察[J]. 浙江中医药大学学报, 2009, 33(2): 256-257.
- [11] 樊新荣, 王荣田, 朱文锋, 等. 阳明病肠热腑实证大鼠模型的建立与机制[J]. 世界华人消化杂志, 2007, 15(21): 2290-2294.
- [12] 曙光, 郭义. 实验针灸学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2009: 152.
- [13] 张西波, 崔乃强, 袁红霞, 等. 浅谈阳明腑实证与肠源性内毒素血症的相关性[J]. 山东中医杂志, 2007, 26(4): 219-221.
- [14] 资昌艳, 陈诚, 丁吉林, 等. 功能性便秘中医研究进展[J]. 实用中医药杂志, 2018, 34(10): 1277-1278.
- [15] 项玉, 曾斌芳. 功能性便秘中医研究进展[J]. 实用中医药杂志, 2020, 36(1): 129-132.
- [16] 王宽宇, 何岩涛, 孔祥定, 等. 基于“肚腹三里留”理论探讨足三里穴治疗术后胃肠功能紊乱的研究进展[J]. 针灸临床杂志, 2019, 35(10): 98-101.
- [17] BOESMANS W, HAO MM, FUNG C, et al. Structurally defined signaling in neuro-glia units in the enteric nervous system[J]. Glia, 2019, 67(6): 1167-1178.
- [18] KABOURIDIS PS, LASRADO R, MCCALLUM S, et al. Microbiota controls the homeostasis of glial cells in the gut lamina propria[J]. Neuron, 2015, 85(2): 289-295.
- [19] HEANUE TA, PACHNIS V. Enteric nervous system development and Hirschsprung's disease: advances in genetic and stem cell studies[J]. Nat Rev Neurosci, 2007, 8(6): 466-479.
- [20] SCHNEIDER S, WRIGHT CM, HEUCKEROOTH RO. Unexpected roles for the second brain: enteric nervous system as master regulator of bowel function[J]. Annu Rev Physiol, 2019, 81: 235-259. doi: 10.1146/annurev-physiol-021317-121515.
- [21] BASSOTTI G, VILLANACCI V, NASCIMBENI R, et al. Colonic neuropathological aspects in patients with intractable constipation due to obstructed defecation[J]. Mod Pathol, 2007, 20(3): 367-374.
- [22] MENDES CE, PALOMBIT K, VIEIRA C, et al. The effect of ischemia and reperfusion on enteric glial cells and contractile activity in the ileum[J]. Dig Dis Sci, 2015, 60(9): 2677-2689.
- [23] XIAO W, WANG W, CHEN W, et al. GDNF is involved in the barrier-inducing effect of enteric glial cells on intestinal epithelial cells under acute ischemia reperfusion stimulation[J]. Mol Neurobiol, 2014, 50(2): 274-289.
- [24] NASSER Y, FERNANDEZ E, KEENAN CM, et al. Role of enteric glia in intestinal physiology: effects of the gliotoxin fluorocitrate on motor and secretory function[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2006, 291(5): G912-G927.
- [25] MCCLAIN JL, FRIED DE, GULBRANSEN BD. Agonist-evoked Ca^{2+} signaling in enteric glia drives neural programs that regulate intestinal motility in mice[J]. Cell Mol Gastroenterol Hepatol, 2015, 1(6): 631-645.
- [26] LINAN-RICO A, TURCO F, OCHOA-CORTES F, et al. Molecular signaling and dysfunction of the human reactive enteric glial cell phenotype: implications for GI infection, IBD, POI, neurological, motility, and GI disorders[J]. Inflamm Bowel Dis, 2016, 22(8): 1812-1834.

Effects of Electroacupuncture at “Shangjuxu” (ST37) and “Zusanli” (ST36) on Intestinal Motility and Morphology of Enteric Glial Cells in Model Rats with Yangming Fu-viscera Excess Syndrome

XU Ying^{1,2}, XIE Mingzheng^{1,2}, QI Qinghui^{1,2}, ZHANG Xiaodan^{1,2}, LIANG Guogang^{1,2}

1. The First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian, 116011; 2. Institute of Integrative Medicine, Dalian Medical University

ABSTRACT Objective To investigate the effects and mechanism of electroacupuncture on Zusanli (ST36) and Shangjuxu (ST37) on intestinal motility of Yangming fu-viscera excess syndrome. **Methods** A total of 60 Wistar rats were randomly divided into a control group, a model group and an electro-acupuncture group, with 20 rats in each group. The model group and the electro-acupuncture group were continuously administrated with Chinese drugs of heat nature for 12 days. On the 13th and 14th day, the self-fecal suspension was intragastrically administered, and the E. coli bacterial liquid was injected intraperitoneally on the 15th day to establish a rat model of Yangming Fu-viscera excess syndrome; for the control group, the equal amount of normal saline was intragastrically and intraperitoneally injected. The rats in the electroacupuncture group were electro-acupunctured at bilateral “Zusanli (ST36) ” and “Shangjuxu (ST37) ” every day, 30 minutes each time for 5 days after the successful modeling; the control group and the model group were only bound and fixed without intervention. After the intervention was completed, the frequency and amplitude of myoelectric slow wave in the upper small intestine of rats are detected to assess the changes in small intestine motor function; the upper small intestine tissue samples were taken for HE staining to observe the pathological damage of the small intestine; the enteric glial cells were observed by immunofluorescence confocal microscope and transmission electron microscope changes in morphology and ultrastructure. **Results** Compared with the control group, the small intestine slow wave frequency and amplitude of rats in the model group were slowed down ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); small intestine pathological damage was obvious, enteric glial cell morphology was abnormal, network structure disorder, fluorescence intensity OD value decreased ($P < 0.05$), transmission electron microscope observation showed enteric glial cell chromatin aggregation, uneven distribution, mitochondria swelling; in the electroacupuncture group, the small intestinal slow wave frequency increased, the amplitude increased ($P < 0.05$), and the small intestine pathological damage and enteric glial cells and network structure damage were reduced, the fluorescence intensity OD value increased ($P < 0.05$), and enteric glial cell ultrastructure damage was improved. **Conclusion** Electro-acupuncture “Shangjuxu (ST36) ” and “Zusanli (ST37) ” can promote the recovery of small intestine motor function in Yangming Fu-viscera excess syndrome rats, and the mechanism may be related to repairing the damage of enteric glial cell network.

Keywords Yangming Fu-viscera excess syndrome; electroacupuncture; Shangjuxu (ST37) ; Zusanli (ST36) ; enteric glial cells; intestinal motility

(收稿日期: 2019 - 11 - 26; 修回日期: 2020 - 09 - 02)

编辑: 焦 爽

欢迎邮购《中医杂志》过刊

2000、2001 年合订本, 每本 100 元, 2002、2003 年合订本每本 105 元, 2004 年合订本 115 元, 2005 年合订本 125 元, 2007—2010 年合订本每年 140 元。2011 (缺 5、6 期) —2013 年每册 9.80 元, 2014 (缺 21 期) —2017 年 (缺 3、5、15、18 期) 每册 15 元, 2018 年每册 20 元 (缺 5、7、9 期), 2020 年每册 20 元 (缺 7、8 期)。2011—2013 年合订本, 每年 4 本, 全年 280 元, 2014、2015、2016、2017 年合订本 (每年 4 本), 全年 400 元。2018、2019 年合订本 (4 本), 600 元。2020 年上半年合订本 (2 本), 300 元 《中医杂志》2006—2008 年增刊每册 40 元。

以上免费邮寄, 如需挂号每件另加 3 元。

欲购者请汇款至北京市东直门内南小街 16 号, 收款人: 中医杂志社

或关注《中医杂志》官方微信 (zyzgzh) 购买。邮编: 100700, 电话: (010) 64089195。