

• 中医护理 •
• 论 著 •

耳穴贴压改善家兔腹部术后胃肠功能的作用机制研究

黄惠榕¹, 薛佳璐², 余真铃², 余梦霞², 吴翠娟², 仇志琴²

摘要:目的 探讨耳穴贴压对腹部术后胃肠功能紊乱家兔模型的作用机制,为耳穴贴压治疗腹部术后胃肠功能紊乱提供参考。方法 将 30 只 SD 清洁型家兔采用随机数字表法分为空白组、模型组、耳穴组各 10 只。耳穴组于造模成功后耳穴贴压胃、大肠、耳中穴,每日按压 3 次,每次每穴 30 s,连续干预 7 d;模型组进行造模手术未进行耳穴贴压;空白组不给予任何处理。结果 耳穴组术后首次排便时间及肠鸣音恢复时间显著早于模型组(均 $P<0.05$)。三组术后 6 h、3 d 及 7 d 血清皮质醇浓度的干预效应、时间效应、交互效应显著,模型组及耳穴组术后 6 h 及 3 d 血清皮质醇浓度显著高于空白组,且术后 3 d 耳穴组显著低于模型组(均 $P<0.05$)。干预后,三组小肠推进率、C-kit 蛋白阳性表达、iNOS 活性有显著差异,其中耳穴组、空白组小肠推进率、C-kit 蛋白阳性表达显著高于模型组,但 iNOS 活性显著低于模型组,耳穴组的 C-kit 蛋白阳性表达显著低于空白组(均 $P<0.05$)。结论 耳穴贴压可缩短腹部术后家兔首次排便及肠鸣音恢复时间,降低血清皮质醇浓度及应激反应,有助于提升小肠推进率及结肠组织中 C-kit 蛋白阳性表达,促进腹部术后胃肠蠕动恢复。

关键词:家兔; 耳穴贴压; 结肠吻合术; 胃肠功能; 应激反应; 首次排便时间; 肠鸣音恢复时间; 血清皮质醇浓度; 小肠推进率; C-kit 蛋白; 诱导型一氧化氮合酶活性

中图分类号:R47;R248 **文献标识码:**A **DOI:**10.3870/j.issn.1001-4152.2022.15.043

The mechanism where by auricular acupoints plastering improves gastrointestinal motility after abdominal surgery in rabbits Huang Huirong, Xue Jialu, Yu Zhenling, Yu Mengxia, Wu Cuijuan, Qiu Zhiqin. Nursing Department, The People's Hospital Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350004, China

Abstract: **Objective** To explore the mechanism of auricular acupoints plastering on the rabbit model with gastrointestinal disorder after abdominal surgery, and to provide reference for auricular acupoint plastering treating gastrointestinal dysfunction after abdominal surgery. **Methods** A total of 30 SD clean rabbits were divided into a blank group, a model group and an auricular acupoint plastering group using a random number table, with 10 rabbits in each group. After successful modeling, the auricular acupoint plastering group were pressed the acupoints of stomach, large intestine and Erzhong three times a day, 30 seconds each time per acupoint, lasting 7 days. The model group received modeling surgery without plastering, and the blank group wasn't handled. **Results** The first postoperative defecation and bowel sound recovery in the auricular acupoints plastering group were significantly earlier than those in the model group ($P<0.05$ for both). The intervention effect, time effect and intervention×time effect of serum cortisol concentration in the three groups at 6 hours, 3 days and 7 days after surgery were significant, the serum cortisol concentration of the blank group at 6 hours and 3 days after surgery were significantly lower than those of the other two groups, and it was significantly lower in the auricular acupoint plastering group than the model group at 3 days after surgery ($P<0.05$ for all). After the intervention, there were significant differences in the small intestine advancement rate, C-kit protein positive expression and iNOS activity among the three groups, and the small intestine advancement rate and C-kit protein positive expression in the model group were significantly lower than those in the other two groups, while its activity of iNOS was significantly higher, and the positive expression of C-kit protein in the auricular point plastering group was significantly lower than that in the blank group ($P<0.05$ for all). **Conclusion** Auricular acupoint plastering can accelerate the occurring of first defecation and bowel sound recovery in rabbits after abdominal surgery, reduce their serum cortisol concentration and stress reaction, and it is conducive to enhancing the small bowel advancement rate and the positive expression of C-kit protein in the colon tissue, then improving the recovery of gastrointestinal peristalsis.

Key words: rabbit; auricular acupoint plastering; colon anastomosis; gastrointestinal function; stress reaction; first defecation time; recovery time of bowel sounds; serum cortisol concentration; small bowel advancement rate; C-kit protein; inducible nitric oxide synthase activity

术后胃肠功能紊乱(Postoperative Gastrointesti-

nal Disorder, PGID)是指术后患者胃肠内容物传输延迟,出现不同程度的腹痛、腹胀、恶心、呕吐及自主排气排便时间延长等症状^[1]。研究显示,腹部术后 24 h 内,胃肠功能紊乱发生率高达 10%~30%^[2],主要因为手术对胃肠器官牵拉、创伤,术中麻醉及术后镇痛药物的使用,术后患者禁食、长期卧床等^[3]。若术后胃肠功能紊乱未及时处理,可导致肠梗阻、肠粘连、全

作者单位:1 福建中医药大学附属人民医院护理部(福建 福州, 350004);2 福建中医药大学护理学院
黄惠榕:女,本科,主任护师,护理部主任,1436682921@qq.com
科研项目:中华护理学会科研课题(ZHKY201923)
收稿:2022-03-22;修回:2022-05-12

身炎症反应综合征等一系列严重并发症。目前术后胃肠功能紊乱发病机制尚未明确,可能与神经、体液、肌源性三大调节系统失衡有关^[4]。胃肠 Cajal 间质细胞是一类在胃肠道发现的具有产生慢波,调节胃肠道节律性运动特殊功能的间质细胞^[5],其特异性表达 C-kit 蛋白,这是 Cajal 间质细胞发育和功能表现的标志^[6]。诱导型一氧化氮合酶(inducible Nitric Oxide Synthase,iNOS)仅在应激创伤状态下表达在巨噬细胞上,催化产生大量一氧化氮,通过影响 Cajal 细胞抑制胃肠蠕动^[7]。耳穴贴压是指于耳穴处贴上药豆或磁珠,按压刺激耳部穴位使其产生酸、麻、胀、热等感觉的一种传统中医外治疗法^[8]。前期本课题组临床研究发现,耳穴贴压应用于腹腔镜术后患者可缩短患者肛门排气时间,缓解术后腹胀和患者焦虑,降低术后应激状态^[9],但对其相关作用机制尚未阐明。因此,本研究以结肠吻合术胃肠功能紊乱家兔模型为研究对象,运用免疫印迹法及免疫组化方法测量 C-kit 蛋白阳性表达与 iNOS 活性,探讨 Cajal 间质细胞介导术后胃肠运动紊乱的机制,为阐明该疗法治疗术后胃肠功能紊乱提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物 成年健康 SD 清洁型家兔共 30 只,雌雄各半,体质量 2.0~2.5 kg,由福建中医药大学实验动物中心代购并饲养[动物许可证号:SYXK(闽)2020-0003],并通过福建中医药大学医学伦理委员会批准(批号:2020048)。严格按照福建中医药大学实验动物管理与保护的有关准则饲养实验动物,开展实验。将 30 只 SD 清洁型家兔按照随机数字表法分为空白组、模型组、耳穴组各 10 只。

1.2 主要实验试剂与设备 10%水合氯醛(天津市大茂化学试剂厂);4%多聚甲醛(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);兔 eECL 试剂盒(美国 Advansta 公司);兔抗 C-kit 蛋白阳性表达与 iNOS 活性,即 BCA 蛋白试剂盒(HonorGene 公司);离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)。

1.3 模型制备 10%水合氯醛腹腔注射麻醉,剂量 0.33 mL/100 g。将麻醉好的家兔仰卧位固定于手术板上,常规备皮、消毒、铺无菌巾,于下腹部正中逐层入腹,切口长约 2 cm,找到家兔盲肠下 2 cm 处结肠剪断,原位缝合后关腹。手术过程中注意保暖,至动物清醒后将其放于笼中,单笼饲养。干预期间定期更换切口敷料,防止感染。手术当天禁食,术后第 1、2 天流质饮食,将温开水与芝麻糊按 6:1 配成 70 g。第 3 天后予固体兔粮喂养,50 g/只至干预结束。

1.4 干预方法 ①耳穴组于造模成功后耳穴贴压胃、大肠、耳中穴。根据《实验针灸学》^[10]耳穴定位图中定位方法确定穴位区域。胃:位于耳轮脚基部周围区;耳中穴:位于耳轮脚基部正中;大肠穴:位于耳甲腔内侧下 1/3。具体操作:术后经穴探测仪器辅助定

穴,取穴后常规消毒,0.5 cm×0.5 cm 无菌胶布粘贴王不留行籽固定于相应穴位,单侧取穴,每 3 天更换至对侧耳穴,用示指和拇指按压,手法由轻到重,3 次/d,每次每穴 30 s,连续干预 7 d。②模型组只进行造模术不干预。③空白组不进行任何干预。

1.5 评价方法 ①首次排便时间、术后肠鸣音恢复时间。从腹部手术后 6 h 开始,1 次/2 h 观察并记录各组术后首次排便时间、术后肠鸣音恢复时间。②血清皮质醇浓度。酶联免疫吸附试验(ELISA)法测定各组术后 6 h、术后第 3 天以及干预结束时的血清皮质醇浓度。③小肠推进率。使用灌胃注射针抽取 2 mL 墨水灌胃,30 min 后用 10%水合氯醛(0.4 mL/kg)腹腔注射,过量麻醉后处死动物,剖开腹部暴露胃肠道。直尺测量小肠全长及幽门到墨水前沿推行的距离,推行长度值除以小肠全长,得出小肠推进率。④实验室相关指标。以结肠吻合口为中央、取 1 cm 结肠,用 0℃生理盐水平清洗内容物。纵向分为 2 份,分别用于免疫印迹检测 C-kit 蛋白阳性表达和免疫组化测 iNOS 活性。免疫印迹法检测 C-kit 蛋白阳性表达方法:提取蛋白;制备电泳凝胶;蛋白质电转移;蛋白质的免疫印迹;蛋白质的化学发光(ECL)检测;灰度分析。免疫组化法检测 iNOS 表达方法:脱水;石蜡切片;脱蜡;淬灭内源性过氧化物酶;抗原修复;加一抗;加二抗;DAB 显色;复染细胞核;脱水封片。

1.6 统计学方法 采用 SPSS26.0 软件进行统计描述、*t* 检验、单因素方差分析及重复测量的方差分析,采用 LSD 法进行两两比较。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 两组术后首次排便时间、肠鸣音恢复时间比较 见表 1。

表 1 两组术后首次排便时间、肠鸣音恢复时间比较

h, $\bar{x}\pm s$			
组别	只数	首次排便	肠鸣音恢复
模型组	10	28.91±4.86	36.52±4.34
耳穴组	10	21.27±4.17	27.98±2.65
<i>t</i>		3.773	5.310
<i>P</i>		0.001	<0.001

2.2 三组术后不同时间血清皮质醇浓度比较 见表 2。

表 2 三组术后不同时间血清皮质醇浓度比较

ng/mL, $\bar{x}\pm s$				
组别	只数	术后 6 h	术后 3 d	术后 7 d
空白组	10	118.54±8.55	117.64±10.06	119.64±8.19
模型组	10	161.47±19.45 ^a	150.77±15.11 ^{*a}	127.10±21.46 ^{*&}
耳穴组	10	163.99±17.85 ^a	132.59±12.94 ^{*ab}	123.96±17.81 [*]
<i>F</i>		25.429	16.614	0.498
<i>P</i>		<0.001	<0.001	0.613

注: $F_{干预}=13.946$, $F_{时间}=45.786$, $F_{交互}=12.205$,均 $P<0.05$ 。组内两两比较,与术后 6 h 比较,^{*} $P<0.05$;与术后 3 d 比较,[&] $P<0.05$ 。组间两两比较,与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$ 。

2.3 三组小肠推进率比较 见表 3。

表 3 三组小肠推进率比较				$\bar{x} \pm s$
组别	只数	幽门至回盲部 长度(cm)	墨染长度 (cm)	小肠推进率 (%)
空白组	10	275.75±29.15	189.75±26.29	68.38±4.25 ^a
模型组	10	278.50±26.75	141.75±37.08	50.85±11.13
耳穴组	10	277.50±29.86	175.88±8.49	65.73±3.36 ^a

注:三组小肠推进率比较, $F=17.495, P<0.001$ 。与模型组比较,^a $P<0.05$ 。

2.4 三组 C-kit 蛋白阳性表达及 iNOS 活性比较 见表 4。

表 4 三组 C-kit 蛋白阳性表达及 iNOS 活性比较				$\bar{x} \pm s$
组别	只数	C-kit 蛋白阳性 表达($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	iNOS 活性 (U/mgprot)	
空白组	10	2.25±0.17	0.65±0.25	
模型组	10	1.88±0.18 ^a	1.06±0.34 ^a	
耳穴组	10	2.08±0.15 ^{ab}	0.74±0.29 ^b	
F		12.309	5.122	
P		<0.001	0.013	

注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$ 。

3 讨论

3.1 耳穴贴压有助于缩短腹部术后家兔首次排便时间与肠鸣音恢复时间,提升小肠推进率 耳穴贴压在调节术后胃肠功能中运用广泛。王晓庆等^[11]对耳穴贴压干预患者术后胃肠功能恢复的相关文献进行 Meta 分析,结果显示耳穴贴压疗法可明显缩短患者术后排气时间、排便时间,促进肠鸣音恢复,改善腹胀的症状。耳穴分布全息律指出:耳廓的阳性反应点可反映相应脏腑的机能状态,当某一器官、脏腑功能异常时,可以通过刺激相应的耳部穴区来治疗^[12]。刺激耳穴胃区有助于促进结肠平滑肌运动,改善胃肠蠕动^[13]。本研究结果显示,耳穴组家兔首次排便时间与肠鸣音恢复时间显著早于模型组,且耳穴组小肠推进率显著高于模型组(均 $P<0.05$),提示耳穴贴压对调节腹部术后家兔的胃肠功能具有积极作用。

3.2 耳穴贴压有助于降低腹部术后家兔应激反应 应激反应是指机体受到刺激导致交感神经—肾上腺髓质系统兴奋,下丘脑—垂体—肾上腺皮质分泌功能活跃,引起机体各种功能和代谢变化的过程^[14]。血清皮质醇是反映应激状态的敏感指标,测定血清皮质醇浓度能有效反映机体的应激水平。本研究对三组家兔术后 6 h、3 d、7 d 的血清皮质醇进行检测,结果显示干预效应、时间效应、交互效应显著,术后 6 h、3 d 模型组和耳穴组的血清皮质醇显著高于空白组,且术后 3 d 时耳穴组显著低于模型组(均 $P<0.05$)。反映手术后家兔处于应激状态,分泌血清皮质醇增多,且耳穴贴压有助于降低术后家兔的应激反应,与

魏丽君等^[15]的研究结果一致。术后 7 d 三组血清皮质醇浓度差异无统计学意义($P>0.05$),可能因为术后 7 d 胃肠道功能逐步恢复,机体应激反应减弱。模型组术后 6 h、3 d、7 d 血清皮质醇浓度两两比较有显著差异,而耳穴组术后 3~7 d 无显著差异,反映耳穴贴压能加速机体抑制腹部术后的应激反应。研究表明,耳穴贴压能降低剖宫产术后及不孕患者行体外受精—胚胎移植术后的血清皮质醇浓度^[16],可能与耳穴贴压有助于调节机体应激反应有关。

3.3 耳穴贴压有助于降低 iNOS 表达,促进 C-kit 蛋白阳性表达 iNOS 仅在应激状态下高度表达,胃肠手术的应激状态使巨噬细胞上调 iNOS 表达,并产生一氧化氮作用于 Cajal 细胞,抑制其产生起搏电位,使得平滑肌松弛,过多的一氧化氮可激活胃肠道内的巨噬细胞发挥其细胞毒性,引起胃肠组织损伤^[17]。Cajal 细胞是胃肠运动的起搏细胞,腹部手术破坏胃肠道的完整性,Cajal 细胞数量减少且网络结构破坏^[18]。C-kit 蛋白作为 Cajal 细胞的特异性标志物,具有调控 Cajal 细胞增殖与发育的作用^[19]。本研究结果表明,iNOS 活性水平在耳穴组和模型组之间差异显著,耳穴组 iNOS 活性水平与空白组家兔结果接近;耳穴组干预后 C-kit 蛋白浓度显著高于模型组,但低于空白组,提示耳穴贴压有助于减少 iNOS 表达与催化,降低一氧化氮对 Cajal 细胞的抑制作用;耳穴贴压在一定程度上可促进 C-kit 蛋白表达,促进 Cajal 细胞修复与增殖,有助于胃肠蠕动恢复。

3.4 基于气机升降理论耳穴贴压改善腹部术后胃肠功能的机制 《素问·六微旨大论篇》曰:“是以升降出入,无器不有。”^[20]气机的升降出入运动是人体生命活动和脏腑功能的基本表现形式,若气机运动失常便会引发疾病。脾宜升则健,胃宜降则和,脾胃为脏腑气机升降之枢纽,人体之斡旋^[21]。脾胃气机出现升降不及或升降反作,则可直接导致胃肠运动功能障碍^[22]。中医学通常将术后胃肠功能紊乱归属于“肠痹”“肠结”等范畴,认为术后脾胃气虚气滞,腑气不通,脾胃升降失常是胃肠功能障碍的病机所在^[23]。本研究结果显示,耳穴贴压有助于促进家兔腹部术后胃肠蠕动,降低应激反应,加速胃肠动力恢复。耳廓的经络与神经分布丰富,并与人体的脏腑经络组织一一对应。《灵枢》记载:“十二经脉,三百六十五络,其血气皆上于面而走空窍。共别气走于耳而为听”^[24]。刺激耳穴阳性反应点对于相应的脏腑经络组织可以起到疏通经络、调畅气血作用^[25]。本研究选取胃、大肠、耳中皆为腹部穴位,胃主纳降下行,大肠主传化糟粕、主津,耳中穴主要调节胃的功能,对上述穴位进行按压刺激,共同调节胃肠气机,推动清气上升浊气下降,顺气导滞,脏腑气机正常运行,从而促进术后胃肠功能恢复。