

基于线粒体能量代谢探讨刺络拔罐法对内毒素致热家兔退热作用的影响

刘文字¹, 王鑫¹, 王莹², 吴瑾², 相博文¹, 裴莹^{1,3}

(1. 辽宁中医药大学第一临床学院, 辽宁 沈阳 110847; 2. 辽宁中医药大学中医药创新工程技术中心, 辽宁 沈阳 110847;

3. 辽宁中医药大学附属医院, 辽宁 沈阳 110000)

摘要: **目的** 通过观察刺络拔罐法对内毒素致热家兔的退热作用, 从骨骼肌线粒体能量代谢的角度探讨刺络拔罐法的退热机制。**方法** 将 72 只家兔随机分为空白组、模型组、西药组、刺络组、拔罐组和刺络拔罐组, 每组 12 只; 复制内毒素致热家兔模型, 并进行相应治疗干预。连续 6 h 记录家兔体温; 利用透射电镜观察线粒体结构; 采用 Oxygraph-2k 系统检测线粒体功能; 检测各组家兔大腿肌肉组织中 ATP 含量; 采用 Wes 全自动蛋白质印迹定量分析系统检测家兔大腿肌肉组织解偶联蛋白 2 (UCP2)、线粒体融合蛋白 2 (Mfn2) 蛋白表达。**结果** 模型复制成功, 4 个治疗组家兔体温均低于模型组; 空白组家兔骨骼肌线粒体形态完整, 其中经刺络拔罐法治疗后线粒体形态最接近正常; 刺络拔罐组线粒体 CII OXPHOS 阶段耗氧量较模型组明显升高; 与模型组相比, 刺络拔罐组家兔肌肉组织 ATP 含量显著升高; 与模型组比较, 刺络拔罐组肌肉组织 Mfn2 蛋白表达显著升高, UCP2 蛋白表达明显降低。**结论** 刺络拔罐法对内毒素致热家兔具有良好的退热效果, 其机制可能与抑制骨骼肌中 UCP2 蛋白表达, 促进 Mfn2 蛋白表达, 推动骨骼肌内线粒体氧化磷酸化进程, 增加线粒体内 ATP 合成相关。

关键词: 刺络拔罐; 线粒体能量代谢; 退热; UCP2; Mfn2

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1672-0482(2025)01-0102-07

DOI: 10.14148/j.issn.1672-0482.2025.0102

引文格式: 刘文字, 王鑫, 王莹, 等. 基于线粒体能量代谢探讨刺络拔罐法对内毒素致热家兔退热作用的影响[J]. 南京中医药大学学报, 2025, 41(1): 102-108.

Effect of Pricking-Cupping Therapy on Endotoxin-Induced Fever in Rabbits Based on Mitochondrial Energy Metabolism

LIU Wenyu¹, WANG Xin¹, WANG Ying², WU Jin², XIANG Bowen¹, PEI Ying^{1,3}

(1. The First Clinical College, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China; 2. Traditional Chinese Medicine Innovation Engineering Technology Center of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China; 3. Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To observe the fever-reducing effect of pricking-cupping method on endotoxin-induced fever in rabbits, and to further explore the fever-reducing mechanism of pricking-cupping method from the perspective of skeletal muscle mitochondrial energy metabolism. **METHODS** A total of 72 rabbits were randomly divided into blank group, model group, Western medicine group, pricking group, cupping group and pricking-cupping group, with 12 rabbits in each group. The rabbit model of endotoxin-induced fever was reproduced and the corresponding therapeutic intervention was carried out. The body temperature of rabbits was recorded continuously for 6 h. The mitochondrial structure was observed by transmission electron microscopy. Oxygraph-2k system was used to detect mitochondrial function. ATP content in thigh muscle tissue of rabbits in each group was detected. The expression of uncoupling protein 2 (UCP2) and mitochondrial fusion protein 2 (Mfn2) in thigh muscle of rabbits was detected by Wes automated western blot quantitative analysis system. **RESULTS** The model was successfully replicated, and the body temperature of rabbits in the four treatment groups was lower than that in the model group. The skeletal muscle mitochondrial morphology of rabbits in the blank group was intact, and the mitochondrial morphology was closest to normal after the treatment of pricking-cupping. Moreover, the oxygen consumption of mitochondrial CII OXPHOS stage in the pricking-cupping group was significantly higher than that in the model group. Compared with the model group, the ATP content in the muscle tissue of rabbits in the pricking-cupping group was significantly increased, Mfn2 protein expression was significantly increased, and UCP2 protein expression was significantly decreased. **CONCLUSION** The pricking-cupping method has a good fever-reducing effect on endotoxin-induced fever in rabbits, and its mechanism may be related to inhibiting UCP2 protein expression in skeletal muscle, promoting Mfn2 protein expression, promoting the oxidative phosphorylation process in skeletal muscle mitochondria, and increasing ATP synthesis in mitochondria.

KEYWORDS: pricking-cupping; mitochondrial energy metabolism; fever-reducing; UCP2; Mfn2

收稿日期: 2024-08-19

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(82104992); 辽宁省青创团队后备培育项目(重点项目)(2024-JYTCB-006); 辽宁省教育厅高校基本科研项目(LJ212410162047)

第一作者: 刘文字, 男, 硕士研究生, E-mail: 1034621252@qq.com

通信作者: 裴莹, 女, 主任医师, 主要从事刺络拔罐机制研究, E-mail: abc_py@sina.com

发热是疾病的常见症状之一,会严重影响疾病的预后与康复,临床治疗中,西医通常使用非甾体抗炎药物进行治疗。药物治疗虽然退热快,治疗效果显著,但同时伴随心血管疾病、肝肾损伤等诸多不良反应^[1-2]。

发热产生的病理过程中,线粒体能量代谢起到关键作用^[3],线粒体的氧化磷酸化能够产生大量ATP,将热能转换为生物化学能储存在体内,达到降低体温的效果。肌肉是哺乳动物体内最主要的产热器官,其产热方式主要为颤抖型产热和非颤抖型产热^[4],主要与有氧组织内线粒体相关酶活性、骨骼肌内解偶联蛋白(UCP)活性相关^[5],这两种方式都是在体温调节中枢下丘脑的调控下,通过肌肉收缩调控线粒体三磷酸腺苷(ATP)的合成和氧化磷酸化(OXPHOS)过程^[6-8],从而调节机体温度的变化。

拔罐疗法作为传统中医的外治法,能够加快新陈代谢、调整免疫功能,起到良性调节的作用,促进机体恢复至正常状态^[9]。刺络疗法具有良好的泻热清火的作用,尤其适用于治疗外感发热疾病^[10]。刺络拔罐法结合两者的优势,正如清代《伤寒贯珠集》云:“用刺法者,以邪陷血中,刺之以行血散邪耳”,能够起到直接消除局部瘀血,降低血管黏稠度、改善微循环的作用^[11],可作为一种较为安全的替代治疗手段,其退热作用显著且无不良反应,在临床应用中已得到证实^[12-14];前期研究证明,刺络拔罐能够通过调控IL-1 β 、IL-6等细胞因子和iNOS、COX-2蛋白表达起到良好的退热效果^[15-16];但刺络拔罐能否通过调控肌肉线粒体能量代谢来发挥退热作用,相关的实验研究还未证实。因此本文将基于内毒素致热家兔,以肌肉组织内线粒体能量代谢为切入点,进一步探讨刺络拔罐法退热的分子机制,期望为刺络拔罐疗法的临床应用与推广提供更多的科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

普通级雄性日本大耳白兔72只,体质量2.0~2.5 kg,基础直肠温度38.5~39.5℃,购于辽宁中医药大学实验动物中心并进行饲养[生产许可证号:SCXK(辽)2018-0002]。适应性饲养7 d后将72只家兔按照随机分组原则分为空白组、模型组、西药组(吲哚美辛)、刺络组、拔罐组、刺络拔罐组,每组12只。

1.2 主要仪器与试剂

电动拔罐器(DNG-9, HBMST), Wes全自动蛋白质印迹定量分析系统[Protein Simple, 建发(北京)有限公司], Oxygraph-2k线粒体呼吸功能测定系统[OROBOROS O2k, 伍广(上海)实业有限公司], 多功能全波长酶标仪(SpectraMaxi3, 美国MD), 透射电子显微镜(HT7800, 日本日立)。

脂多糖(LPS, IL2020, 北京索莱宝科技有限公司), Wes全自动蛋白定量分析试剂盒(SM-W004-1, Protein Simple), BCA蛋白定量试剂盒(CW0014S, 北京康为世纪生物科技有限公司), RIPA裂解液(CW2333S, 北京康为世纪生物科技有限公司), PBS[CBS101.05, 赛澳美细胞技术(北京)有限公司], 牛血清白蛋白BSA-V(不含脂肪酸)(A8850-5g, 北京索莱宝科技有限公司), ATP含量检测试剂盒(BC0305, 北京索莱宝科技有限公司), Mir05(60101-01)、谷氨酸(G1626)、丙酮酸(P2256)、苹果酸(M1000)、ADP(117105)、解偶联剂(C2759)、鱼藤酮(R8875)、抗霉素A(A8674)(北京华威中仪科技有限公司), 吲哚美辛胶囊(H13020834, 石药控股集团河北永丰药业), GAPDH Monoclonal antibody(60004-1-1g)、UCP2 Polyclonal antibody(11081-1-AP)、Mfn2 Polyclonal antibody(12186-1-AP)(武汉三鹰)。

1.3 动物模型制备

除空白组,其他各组家兔适应性饲养1周后进行造模,每只家兔造模1次,均通过耳缘静脉注射LPS模拟家兔的发热症状^[17];将LPS与生理盐水混合稀释至200 ng·mL⁻¹,后按照200 ng·kg⁻¹的剂量通过家兔耳缘静脉进行注射。

1.4 干预方法

造模成功1 h后,西药组给予吲哚美辛悬浮液灌胃,剂量为10 mL·kg⁻¹,其他组别分别给予相同容积生理盐水灌胃,刺络组、拔罐组、刺络拔罐组在灌胃后给予相应治疗。

1.4.1 选穴 大椎穴依据《基础医学实验动物操作基本技能》^[18]中动物穴位图谱、《中国兽医针灸学》^[19]及解剖学,根据骨度分寸法对家兔进行穴位的模拟定位。

1.4.2 刺络拔罐方法 造模成功1 h后,除西药组外,其余5组给予与西药组吲哚美辛悬浮液相同容积的生理盐水灌胃,后将家兔以俯卧位固定于家兔

固定器上。

刺络组:用宠物推毛器剃除家兔后颈部及背部毛,使穴区皮肤充分暴露后用酒精消毒,后采用 0.3 mm×25 mm 一次性毫针针刺家兔大椎穴(固定深度 2 mm)点刺出血^[20]。

拔罐组:使用 25 mm 内径的透明塑料罐在联通经络罐通仪后,于大椎穴处进行拔罐治疗,罐压-0.02 MPa,持续 15 min^[21]。

刺络拔罐组:模型复制成功 1 h 后进行操作,刺络方法与刺络组相同,拔罐方法与拔罐组相同。空白组、模型组与西药组固定方法与上述 3 组保持一致,不进行其他操作。

1.5 家兔情况观测

造模成功后,观察家兔呼吸状况、体表温度、精神状态、异常体征等。

1.6 体温监测

各组造模后,每间隔 1 h 使用肛温计由家兔肛门探入直肠 2 cm 测量家兔体温并记录,连续测量 6 h,绘制体温曲线,观察家兔体温变化趋势。

1.7 透射电镜观察家兔大腿肌肉组织线粒体超微结构

连续测量家兔体温 6 h 后,采用 1%戊巴比妥(100 mg·kg⁻¹)腹腔注射处死家兔,选取家兔大腿肌肉(10 g)进行取材,后立即将家兔大腿肌肉组织放入 2.5%戊二醛固定液内进行保存,随后用 PBS(pH7.2)漂洗 3 次,每次 10 min。将组织放入 1%的锇酸(四氧化锇)中固定 2 h,再次使用 PBS 漂洗 3 次,每次 10 min。然后,经过 50%~90%的乙醇逐级脱水和丙酮脱水处理,脱水后的组织用环氧树脂 618 进行包埋,并在 38、45、60℃下依次聚合 36 h,使用 LKB-V 超薄切片机将组织切成约 70 nm 的薄片,采用醋酸铀-枸橼酸铅染色剂进行双染色,之后在透射电子显微镜下观察各组家兔大腿肌肉组织线粒体的超微结构并拍照记录。

1.8 采用 Oxygraph-2k 线粒体呼吸功能测定系统分析各组家兔下丘脑线粒体功能

造模成功 2 h 后,处死家兔,取新鲜下丘脑组织立即与呼吸介质 Mito5 混合后制备新鲜组织匀浆液,后置入双仓内开始实验,根据底物-解耦联-抑制剂滴定方案按顺序加入谷氨酸 10 μL,苹果酸 10 μL,丙酮酸 5 μL,MgCl₂ 10 μL,ADP 10 μL,琥珀酸 20 μL,解耦联剂每次 1 μL,鱼藤酮 1 μL,抗霉素 A 1 μL,观察各阶段线粒体耗氧量及呼吸速率的变

化。

1.9 各组家兔肌肉组织 ATP 含量检测

严格按照 ATP 含量检测试剂盒说明书制备样品,配制好标准品、试剂一、工作液,按顺序加入 96 孔板内,使用酶标仪在 340 nm 下测定吸光值 A₁,之后将样本放入水浴锅 37℃下反应 3 min 立即测定吸光值 A₂,根据说明书上的公式计算 ATP 含量。

1.10 采用 Wes 全自动蛋白质印迹定量分析系统检测各组家兔大腿肌肉组织中 UCP2 和 Mfn2 蛋白表达水平

提前设计好板子布局,每组上样量 3 μL,其中包括 5×Master Mix 0.9 μL、待测样本与 0.1×Sample Buffer 合为 2.1 μL,在 95℃条件下变性 5 min。样本制备完毕后,按样品、封闭液、一抗、二抗、发光液和清洗缓冲液的顺序先后加入板内,完成机器自检后分别放入毛细管芯和板子,2.5 h 后完成检测,进行结果分析。

1.11 统计学分析

采用 SPSS 27 和 GraphPad Prism10.0 软件进行统计学分析,并采用 GraphPad Prism10.0 和 Adobe Photoshop 2023 进行统计学绘图。符合正态分布的数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析;不符合正态分布的数据用中位数(上下四分位数) [$M(P_{25}, P_{75})$] 表示,多组间比较用非参数检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组家兔一般情况比较

各组家兔造模成功后均出现呼吸急促、焦躁、口干喜饮、体温升高的表现;西药组灌胃治疗后 2 h 体温恢复正常且症状缓解,刺络组、拔罐组、刺络拔罐组经过相应治疗后 1~2 h 体温下降且症状有所缓解。

2.2 各组家兔治疗后体温各时段变化

家兔造模后体温逐渐升高,2、4 h 左右模型组温度出现 2 次峰值,出现经典的双峰热特征,标志模型复制成功。造模后 1 h,与空白组相比,各治疗组和模型组家兔体温均有不同程度上升($P < 0.05$, $P < 0.01$)。造模后 2 h,各治疗组家兔较模型组体温均有明显降低($P < 0.01$);与西药组相比,刺络拔罐组无明显差异,刺络组、拔罐组体温较高($P < 0.01$);且刺络拔罐组体温低于单纯刺络组($P < 0.05$)。造模后 3 h,与模型组相比,西药组温度显著降低($P < 0.01$),刺络组、拔罐组及刺络拔罐组温度均有所降

低($P<0.05$);与西药组相比,刺络拔罐组无明显差异,刺络组($P<0.05$)、拔罐组($P<0.01$)温度较高;刺络拔罐组温度低于单纯刺络组($P<0.05$)。造模后4 h,各治疗组家兔较模型组体温均有明显降低($P<0.01$),刺络拔罐组与西药组无明显差异,刺络组较西药组温度较高($P<0.05$)。造模后5 h,西药组、刺络拔罐组温度明显低于模型组($P<0.01$);与西药组相比,刺络拔罐组无明显差异,刺络组、拔罐组温度较高($P<0.05$);与刺络拔罐组相比,刺络组、

拔罐组温度较高($P<0.01$)。造模后6 h,各治疗组家兔较模型组体温均有明显降低($P<0.01$);与西药组相比,刺络拔罐组无明显差异,刺络组、拔罐组温度较高($P<0.05$);与刺络拔罐组相比,刺络组($P<0.01$)、拔罐组($P<0.05$)温度较高。

结果表明,刺络拔罐法与西药治疗在退热方面都有显著效果且无明显差异性,且在治疗大部分时间内,刺络拔罐联合治疗的效果优于单纯刺络或单纯拔罐治疗。见表1。

表1 各组家兔治疗后体温各时段变化[$M(P_{25},P_{75})$, $^{\circ}\text{C}$, $n=8$]

Table 1 Changes in body temperature of rabbits in each group after treatment [$M(P_{25},P_{75})$, $^{\circ}\text{C}$, $n=8$]						
组别	造模后1 h	造模后2 h	造模后3 h	造模后4 h	造模后5 h	造模后6 h
空白组	38.79(38.62, 38.90)	38.65(38.20, 38.89)	38.60(38.32, 38.61)	38.90(38.53, 39.13)	38.74(38.63, 38.87)	38.70(38.60, 38.70)
模型组	39.72(39.31, 39.96)**	41.22(40.85, 41.55)**	40.50(39.88, 40.65)**	41.53(40.97, 41.77)**	40.25(39.97, 40.48)**	40.40(40.00, 40.60)**
西药组	39.49(38.76, 39.68)*	39.45(39.07, 39.78)##	39.49(39.06, 39.68)##	39.50(39.03, 39.74)##	39.10(39.02, 39.44)##	39.10(38.66, 39.42)##
刺络组	39.73(39.19, 40.09)**	40.46(40.33, 40.60)##▲▲△	39.96(39.82, 40.08)##▲▲△	39.84(39.48, 40.13)##▲	39.90(39.55, 40.30)▲△△	39.70(39.35, 39.98)##▲△△
拔罐组	39.75(39.41, 39.96)**	40.25(39.87, 40.45)##▲▲	39.74(39.34, 39.80)##▲	39.8(39.14, 39.96)##	39.9(39.50, 40.33)▲△△	39.49(39.04, 39.50)##▲△
刺络拔罐组	39.56(39.45, 39.67)**	39.76(39.59, 40.25)##	39.49(38.84, 39.95)#	39.62(39.06, 39.89)##	39.25(38.92, 39.40)##	39.10(38.89, 39.28)##

注:与空白组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组相比,# $P<0.05$,## $P<0.01$;与西药组相比,▲ $P<0.05$,▲▲ $P<0.01$;与刺络拔罐组相比,△ $P<0.05$,△△ $P<0.01$ 。

2.3 各组家兔大腿肌肉组织线粒体超微结构比较

空白组家兔骨骼肌线粒体呈椭圆形结构,嵴完整且排列规则,线粒体内外双层膜存在完整且线粒体形态正常;模型组家兔骨骼肌线粒体形状不规则,线粒体基质颜色变淡,膜结构出现破坏和缺损,嵴部分断裂甚至完全消失。

经西药治疗后,家兔骨骼肌组织线粒体形态较规则,嵴完整,未出现明显断裂;经单纯刺络或拔罐治疗后,骨骼肌线粒体形态较为规则,但嵴形态模糊甚至发生断裂;刺络拔罐组线粒体形态规则、膜形态完整、嵴完整且排列整齐,与空白组家兔骨骼肌组织线粒体形态最为接近。见图1。

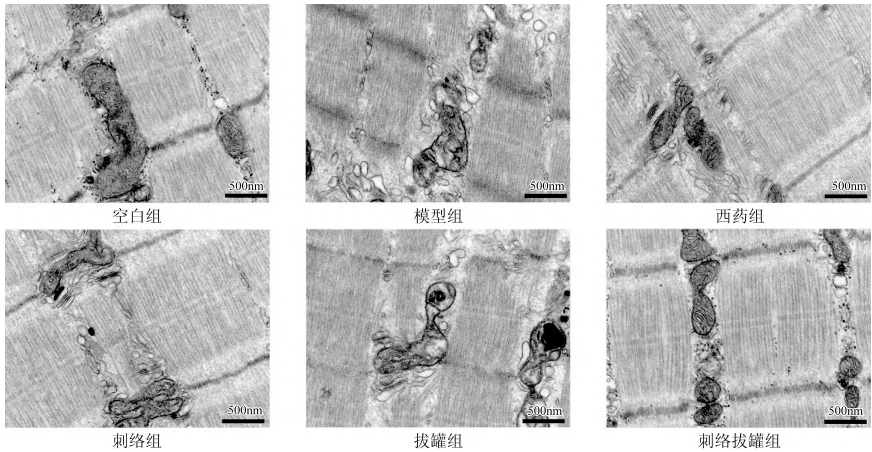
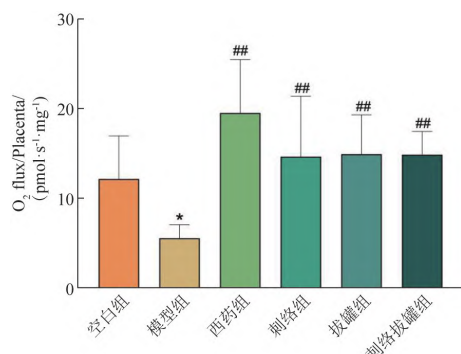


图1 各组家兔大腿肌肉组织线粒体超微结构

Fig. 1 Ultrastructure of mitochondria in thigh muscle tissue of rabbits in each group

2.4 各组家兔大腿肌肉组织线粒体 CII OXPHOS 阶段呼吸功能的比较

与空白组相比较,模型组给予琥珀酸滴定 20 μL 后,线粒体耗氧量明显降低 ($P<0.05$);与模型组相比,西药组、刺络组、拔罐组、刺络拔罐组在给予琥珀酸滴定 20 μL 后,线粒体耗氧量均明显升高 ($P<0.01$)。见图 2。



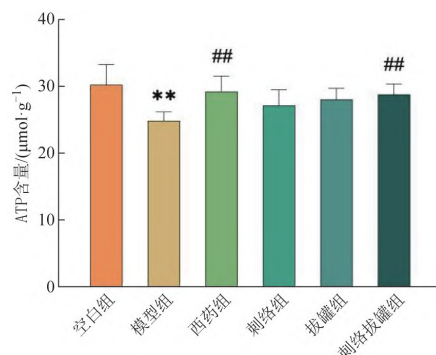
注:与空白组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。 $\bar{x}\pm s, n=8$ 。

图 2 各组家兔线粒体 CII OXPHOS 阶段呼吸功能的比较
Fig. 2 Comparison of respiratory function of mitochondria in CII OXPHOS stage of rabbits in each group

2.5 各组家兔大腿肌肉组织中 ATP 含量的比较

与空白组比较,模型组家兔肌肉组织 ATP 含量明显减低 ($P<0.01$);经干预治疗后,与模型组相比,西药组、刺络拔罐组家兔肌肉组织 ATP 含量均明显升高 ($P<0.01$),刺络组、拔罐组家兔肌肉组织 ATP 含量虽然从数值上看有所升高,但未见统计学差异;刺络拔罐组与刺络组、拔罐组组间无统计学差异,但

从数值上来看,刺络拔罐组家兔肌肉组织内 ATP 含量具有高于单纯刺络组和单纯拔罐组的趋势。见图 3。



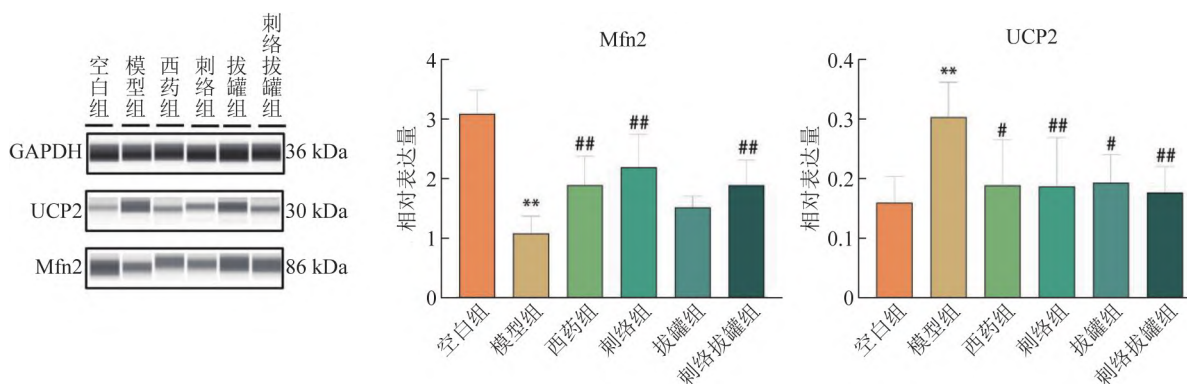
注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。 $\bar{x}\pm s, n=8$ 。

图 3 各组家兔大腿肌肉组织中 ATP 含量的比较

Fig. 3 Comparison of ATP content in thigh muscle tissue of rabbits in each group

2.6 各组家兔大腿组织 UCP2、Mfn2 蛋白表达水平比较

与空白组比较,模型组家兔肌肉组织 Mfn2 蛋白表达降低 ($P<0.01$),UCP2 蛋白表达升高 ($P<0.01$);与模型组比较,西药组、刺络组、刺络拔罐组肌肉组织 Mfn2 蛋白表达升高 ($P<0.01$),拔罐组 Mfn2 蛋白从数据上看表达升高,但与模型组相比未见统计学差异;与模型组比较,西药组、拔罐组、刺络组、刺络拔罐组肌肉组织 UCP2 蛋白表达降低 ($P<0.05, P<0.01$),见图 4。



注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。 $\bar{x}\pm s, n=8$ 。

图 4 各组家兔大腿组织 UCP2、Mfn2 蛋白表达水平比较

Fig. 4 Comparison of UCP2 and Mfn2 protein expression levels in thigh tissue of rabbits in each group

3 讨论

本研究采用耳缘静脉注射 LPS 复制家兔双峰发热模型,干预后,各治疗组体温明显下降。随后,采用电子显微镜观察各组家兔大腿肌肉组织内线粒

体超微结构。结果显示空白组家兔线粒体形态正常,嵴与双侧膜结构完整;模型组家兔线粒体形态被破坏,嵴和线粒体膜均出现明显断裂;经干预后,各治疗组线粒体形态破坏程度减轻,其中刺络拔罐组

家兔线粒体嵴形态与结构完整,与正常家兔线粒体形态最为接近。嵴由线粒体内膜向基质内侧凹陷形成,其表面富含大量线粒体呼吸复合物,可通过氧化磷酸化(OXPHOS)途径合成ATP,加速葡萄糖等物质在线粒体内的氧化分解^[22]。以上结果表明刺络拔罐法能够明显改善内毒素致热家兔的线粒体形态完整性,保证线粒体结构与功能的正常。

线粒体是细胞氧化呼吸和产生能量的主要场所,线粒体内的氧化磷酸化反应是产生ATP最重要的途径,在线粒体内膜的嵴结构上,参与氧化磷酸化的体系以复合体的形式分布,这些复合体共同构成了呼吸链,即电子传递链。该呼吸链复合体主要包括以下几个部分:复合体I,即NADH-Q还原酶;复合体II,即琥珀酸-Q还原酶;复合体III,即细胞色素还原酶;以及复合体IV,即细胞色素氧化酶;其中复合体II是连接线粒体氧化磷酸化与呼吸链的枢纽之一,其作用于底物琥珀酸盐并通过电子受体氧分子,进一步将电子转移到醌池^[23-24]。本研究结果表明,向组织匀浆液内加入琥珀酸后,西药组线粒体耗氧量明显上升,ATP生成明显增多,刺络组、拔罐组和刺络拔罐组线粒体耗氧量均有不同程度的上升,ATP生成增多,说明刺络拔罐法能够有效促进线粒体内CII OXPHOS阶段氧化磷酸化反应的进行,从而推动线粒体氧化磷酸化的正常进行。

在呼吸链中,电子和磷酸化之间的偶联是线粒体合成ATP的关键步骤^[25],UCP2作为线粒体内膜的质子载体,可以消除线粒体内膜两侧的跨膜质子浓度差,限制电子进入呼吸链,降低了电子通量^[23],使氧化磷酸化进入空转状态,导致葡萄糖氧化过程受阻^[26]。在本实验中,家兔经刺络拔罐治疗后其肌肉组织内UCP2表达明显降低,ATP含量有所升高,说明刺络拔罐法能够有效抑制UCP2的表达,保证电子和磷酸化之间的偶联过程,促进氧化磷酸化的正常进行。另一方面,线粒体是持续动态变化的细胞器,线粒体的稳态是保证氧化磷酸化正常进行的必要条件^[27]。呼吸链底物端产生的ROS能够调控Mfn2,影响线粒体的动态平衡^[28]。Mfn2存在于线粒体外膜,能够参与线粒体融合,减少线粒体的呼吸缺陷,同时抑制线粒体内ROS的生成^[29-31],本实验观察到刺络拔罐法能够明显提高家兔肌肉Mfn2的表达,说明刺络拔罐法能够有效保护线粒体稳态,促进线粒体能量代谢的顺利进行。

综上所述,刺络拔罐法对内毒素致热家兔

具有良好的退热效果,其机制可能是通过抑制骨骼肌UCP2的解偶联作用,调节Mfn2表达,推动线粒体氧化磷酸化进程,促进ATP的合成来发挥退热效应。刺络拔罐法退热疗效显著,无不良反应,值得在临床上进行推广。

参考文献:

- [1] 曾德浩, 闫雪, 廖小红, 等. 非甾体抗炎药的不良反应情况分析与研究[J]. 中国实用医药, 2020, 15(24): 137-139.
- [2] ZENG D H, YAN X, LIAO X H, et al. Analysis and study on adverse reactions of non-steroidal anti-inflammatory drugs[J]. China Pract Med, 2020, 15(24): 137-139.
- [3] MEARA A S, SIMON L S. Advice from professional societies: Appropriate use of NSAIDs[J]. Pain Med, 2013, 14(Suppl 1): S3-S10.
- [4] ORTEGA S P, CHOUCANI E T, BOUDINA S. Stress turns on the heat: Regulation of mitochondrial biogenesis and UCP1 by ROS in adipocytes[J]. Adipocyte, 2017, 6(1): 56-61.
- [5] NOWACK J, GIROUD S, ARNOLD W, et al. Muscle non-shivering thermogenesis and its role in the evolution of endothermy[J]. Front Physiol, 2017, 8: 889.
- [6] HULBERT A J, ELSE P L. Mechanisms underlying the cost of living in animals[J]. Annu Rev Physiol, 2000, 62: 207-235.
- [7] TALBOT D A, DUCHAMP C, REY B, et al. Uncoupling protein and ATP/ADP carrier increase mitochondrial proton conductance after cold adaptation of king penguins[J]. J Physiol, 2004, 558(Pt 1): 123-135.
- [8] REY B, DUCHAMP C, ROUSSEL D. Uncoupling effect of palmitate is exacerbated in skeletal muscle mitochondria of sea-acclimated king penguins (*Aptenodytes patagonicus*) [J]. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, 2017, 211: 56-60.
- [9] 胡一帆, 翟孝庭, 徐鑫宇, 等. 寒冷环境对骨关节炎发病及损伤影响的研究进展[J]. 武警医学, 2024, 35(3): 247-251.
- [10] HU Y F, ZHAI X T, XU X Y, et al. Research progress of the effects of cold environment on the onset and injury of osteoarthritis [J]. Med J Chin People's Armed Police Force, 2024, 35(3): 247-251.
- [11] 洪寿海, 吴菲, 卢轩, 等. 拔罐疗法作用机制探讨[J]. 中国针灸, 2011, 31(10): 932-934.
- [12] HONG S H, WU F, LU X, et al. Study on the mechanisms of cupping therapy [J]. Chin Acupunct Moxibustion, 2011, 31(10): 932-934.
- [13] 张立文. 大椎穴刺血拔罐法治疗小儿风热型外感发热的临床研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2013.
- [14] ZHANG L W. Clinical study on the treatment of exogenous fever of wind-heat type in children by pricking blood and cupping therapy at Dazhui point [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2013.
- [15] 徐佳, 刘立公, 郑敏宇, 等. 刺络拔罐配合针刺治疗原发性高血压病的血液流变学观察[J]. 上海针灸杂志, 2015, 34(12): 1165-1168.
- [16] XU J, LIU L G, ZHENG M Y, et al. Observation on the hemorheology in the treatment of primary hypertension with bloodletting cupping plus acupuncture[J]. Shanghai J Acupunct Moxibustion, 2015, 34(12): 1165-1168.
- [17] 张大娜. 观察点刺放血、穴位刺络拔罐配合背部拔罐对风热感冒发热的退热作用[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2020, 8(6): 165.
- [18] ZHANG D N. Observation on the antipyretic effect of bloodletting, acupoint pricking and cupping combined with back cupping on fever caused by wind-heat cold[J]. Cardiovasc Dis J Integr TCM & Western Med, 2020, 8(6): 165.
- [19] 王静嫄. 大椎穴刺络拔罐治疗小儿流感发热疗效观察[J]. 实用中西医结合临床, 2019, 19(4): 45-47.
- [20] WANG J L. Observation on therapeutic effect of puncturing collaterals and cupping at Dazhui point on influenza fever in children [J]. Pract Clin J Integr Tradit Chin West Med, 2019, 19(4): 45-47.
- [21] 徐子寒. 刺络拔罐治疗哺乳期急性乳腺炎的临床疗效研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2023.
- [22] XU Z H. Clinical study on the treatment of acute mastitis in lacta-

- tion by pricking collaterals and cupping[D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2023.
- [15] 裴莹, 陈泽林, 金颖, 等. 刺络拔罐法对内毒素致热家兔的退热作用及机制研究[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(7): 1588-1592.
- PEI Y, CHEN Z L, JIN Y, et al. Study on mechanism of antipyretic effect of acupuncture collaterals and cupping method on endotoxin fever in rabbits[J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2019, 37(7): 1588-1592.
- [16] 裴莹, 陈泽林, 金颖, 等. 刺络拔罐法对内毒素致热家兔血清细胞因子水平的影响[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(6): 1385-1388.
- PEI Y, CHEN Z L, JIN Y, et al. Effect of needling collaterals and cupping method on serum cytokines levels of endotoxin fever rabbits[J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2019, 37(6): 1385-1388.
- [17] 额尔敦朝鲁, 巴图德力根, 韩志强, 等. 内毒素致家兔发热模型的研究[J]. 内蒙古民族大学学报(自然科学版), 2011, 26(2): 198-200.
- E E, BA T, HAN Z Q, et al. Research on rabbit fever model caused by endotoxin[J]. J Inn Mong Univ Natl Nat Sci, 2011, 26(2): 198-200.
- [18] 王春田. 基础医学实验动物操作基本技能[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2009.
- WANG C T. Basic skills of animal operation in basic medical experiments[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2009.
- [19] 中国畜牧兽医学会. 中国兽医针灸学[M]. 北京: 农业出版社, 1984.
- Chinese Society of Animal Husbandry and Veterinary Medicine. Veterinary acupuncture in China[M]. Beijing: Agricultural Press, 1984.
- [20] 牟成林, 逯子衡, 蔡青城, 等. 针刺结合刺络拔罐治疗气滞血瘀型膝关节关节炎的临床研究[J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(8): 3944-3947.
- MU C L, LU Z H, CAI Q C, et al. Clinical study on the treatment of knee osteoarthritis of qi stagnation and blood stasis type by acupuncture combined with pricking collaterals and cupping[J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2023, 38(8): 3944-3947.
- [21] 金科旭, 冯慧勇, 阿力米热·阿布都外力, 等. 脂多糖诱导雏鸡发热及肺炎模型建立[J]. 畜牧与兽医, 2024, 56(2): 110-115.
- JIN K X, FENG H Y, ALMIRA A, et al. Establishment of a model of fever and pneumonia induced by LPS in chickens[J]. Anim Husb Vet Med, 2024, 56(2): 110-115.
- [22] SHI P, REN X Y, MENG J, et al. Mechanical instability generated by Myosin 19 contributes to mitochondria cristae architecture and OXPHOS[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 2673.
- [23] GNAIGER E. Mitochondrial pathways and respiratory control: An introduction to OXPHOS analysis. [J]. Bioenerg commu, 2020, 2020: 2-2.
- [24] MONZEL A S, ENRIQUEZ J A, PICARD M. Multifaceted mitochondria: Moving mitochondrial science beyond function and dysfunction[J]. Nat Metab, 2023, 5(4): 546-562.
- [25] VERCELLINO I, SAZANOV L A. The assembly, regulation and function of the mitochondrial respiratory chain[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2022, 23(2): 141-161.
- [26] DIANO S, HORVATH T L. Mitochondrial uncoupling protein 2 (UCP2) in glucose and lipid metabolism[J]. Trends Mol Med, 2012, 18(1): 52-58.
- [27] ADEBAYO M, SINGH S, SINGH A P, et al. Mitochondrial fusion and fission: The fine-tune balance for cellular homeostasis[J]. FASEB J, 2021, 35(6): e21620.
- [28] 李香云, 余剑波. 线粒体的融合、分裂与炎症反应研究进展[J]. 中国病理生理杂志, 2016, 32(12): 2295-2299.
- LI X Y, YU J B. Progress in mitochondrial fusion, fission and inflammatory response[J]. Chin J Pathophysiol, 2016, 32(12): 2295-2299.
- [29] DIANO S, HORVATH T L. Mitochondrial uncoupling protein 2 (UCP2) in glucose and lipid metabolism[J]. Trends Mol Med, 2012, 18(1): 52-58.
- [30] ZOROV D B, JUHASZOVA M, SOLLOTT S J. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release[J]. Physiol Rev, 2014, 94(3): 909-950.
- [31] HAN B, JIANG W, LIU H J, et al. Upregulation of neuronal PGC-1 α ameliorates cognitive impairment induced by chronic cerebral hypoperfusion[J]. Theranostics, 2020, 10(6): 2832-2848.

(编辑:董宇 郭小燕)