

不同浓度艾烟长期干预对大鼠血清 vWF 及 ox-LDL 表达的影响

杨佳¹ 赵百孝¹ 韩丽¹ 刘平¹ 王磊¹ 白桦¹ 黄剑¹ 刘钧天¹ 朱茂祥² 杨陟华²

(1 北京中医药大学针灸推拿学院,北京,100029; 2 中国人民解放军军事医学科学院,北京,100071)

摘要 目的:观察不同浓度艾烟对大鼠血液微循环的影响,为临床安全使用艾烟提供参考。方法:将168只wistar大鼠随机分为四组,每组42只分别暴露于0%、10%、40%、70%浓度(以染毒柜不透光率度量),每天20 min,26周后取材,ELISA法检测不同浓度组大鼠血清中vWF、ox-LDL的含量。结果:vWF含量随艾烟浓度升高而逐渐下降,低、中、高浓度组vWF含量与空白对照组相比均有统计学意义;中浓度组艾烟干预后,血清中ox-LDL含量显著性升高,其余各组ox-LDL含量与空白组相比无统计学意义。结论:1)艾烟可使血小板聚集程度下降,提示艾烟可能具有改善微循环,从而促进机体新陈代谢的作用。2)低浓度艾烟对血管内皮未见明显损伤。

关键词 不同浓度;艾烟;vWF;ox-LDL;微循环

Effect of Long-term Intervention of Moxa Smoke with Different Concentrations on vWF, ox-LDL in Rats Blood Serum

Yang Jia¹, Zhao Baixiao¹, Han Li¹, Liu Ping¹, Wang Lei¹, Bai Hua¹, Huang Jian¹, Liu Juntian¹,

Zhu Maoxiang², Yang Zhihua²

(1 School of Acupuncture and Moxibustion, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

2 Chinese Military Academy of Medical Sciences, Beijing 100071, China)

Abstract Objective: To observe the effect of moxa smoke with different concentrations on blood microcirculation and provide reference on security of moxa smoke in clinic. **Methods:** A total of 168 rats were randomly divided into 4 groups 42 in each group. Rats in control group, low concentration group, medium concentration group, high concentration group were respectively exposed to moxa smoke of 0%, 10%, 40%, 70% concentration (in terms of opacity) for 20 min each day, after 26 weeks rats were executed and drawn materials and with ELISA method ox-LDL, vWF in rats blood serum of different group were tested. **Results:** vWF showed downtrend as the concentration of moxa smoke ascended, which of low, medium, high concentration group significantly declined compared with control group; It has significantly rise in medium concentration group compared with control group, the rest groups had no significant change by contrast with control group. **Conclusion:** 1) The rise of concentration of moxa smoke brings down Platelet aggregation, promotes body metabolism and improves microcirculation. 2) Low concentration of moxa smoke indicates no injury on vascular endothelial.

Key Words Different concentration; Moxa smoke; vWF; ox-LDL; Microcirculation

doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2013.08.004

微循环障碍是心血管疾病重要的病理基础,近年来颇受关注。艾灸因具有活血化瘀、温阳散寒、通经活络的作用而备受古代医家推崇。艾作为最佳的施灸材料,性苦微温,气味芳香,艾叶温辛通脉,具有活血行气的药理作用^[1],实验证明^[2]艾灸可以使局部皮肤充血,毛细血管扩张,增强局部的血液循环与淋巴循环,使局部的皮肤组织代谢能力加强。

灸法的治疗作用主要是由于温热刺激、光辐射等物理刺激,艾的药性作用以及艾燃烧生成物(艾烟)的共同作用。艾灸物理刺激及药性作用的研究比较明确,但艾烟的化学成分复杂,其对于人体各系统效应的

基础研究尚处于起步阶段。

已有报道表明^[3],香烟烟雾会造成微循环障碍,增加罹患心血管疾病的危险率,艾烟也经由皮肤或者呼吸吸入人体,而它对于微循环影响的相关报道缺如。本实验为艾烟长期毒理实验和安全性评估的一部分,通过观察不同浓度艾烟长期干预后大鼠的血管性假血友病因子(von Willebrand factor, vWF)、氧化性低密度脂蛋白(ox-LDL)的改变来探讨艾烟对微循环的影响,以期艾烟安全性评价提供参考。

1 材料与方法

1.1 试剂和仪器 3年陈艾条(规格18 mm×200 mm

基金项目:国家重点基础研究发展计划(编号:2009CB522906);国家自然科学基金(编号:81072862)

通信作者:赵百孝,男,教授,研究方向:灸法作用机制, E-mail: baixiao100@vip.sina.com

第一作者:杨佳,女,北京中医药大学针灸推拿学院2010级硕士, E-mail: yangjia902@126.com

×10 支;市售南阳汉医有限责任公司生产),全自动电子分析天平(河南爱博特科技发展有限公司生产)、动式染毒柜(产品型号 HOPE - MED8050;天津开发区合普工贸有限公司生产)、科研级生物显微镜(NIKON Eclipse 80i)、大鼠 ox-LDL、vWF 检测试剂盒均由美国 R&D 公司生产,北京环宇金科生物医学技术有限公司分装。

1.2 实验动物与分组 本实验选择 7 周龄雄性 wistar 大鼠 168 只,体重(60 ± 10) g,购自军事医学科学院实验动物中心。许可证号: [SCXK(津) 2008 - 0001]。所有动物均用标准饲料喂养,自由进水;饲养环境温度 18 ~ 22 °C,采用人工控制照明,保持 12 h 光照(8:00 - 20:00)和黑暗(20:00 - 次日 8:00)交替循环,相对湿度为 50% ~ 60%。

适应性饲养 1 周,按照随机数字表达法将 168 只大鼠随机分为四组,每组 42 只。低浓度组、中浓度组、高浓度组对应的动式染毒柜的不透光度分别为 10%、40%、70%,每组在不同浓度组艾烟中暴露 6 个月,每日 20 min,6 个月未取材;空白组只放置于动式染毒柜中每日 20 min,不进行任何干预,6 个月未取材。

1.3 用动式染毒柜进行艾烟干预 该实验选用动式染毒柜可精确控制艾烟浓度并维持染毒环境氧气、温度、湿度、压强的恒定。艾烟浓度用透光率度量,浓度越低,透光率越高。打开染毒柜电源,设置动式染毒柜各项参数:氧气为 26%、湿度 45% ~ 63%、温度 20 °C ~ 22 °C、压强 -70 kPa、时间 20 min,观察染毒柜屏幕显示,待染毒柜内艾烟浓度分别达到低、中、高相应浓度,打开舱门,迅速放入动物,待仪器显示干预时间已到,取出动物;空白组放置于染毒柜中,设置动式染毒柜各项参数:氧气为 26%、湿度 45% ~ 63%、温度 20 ~ 22 °C、压强 -70 kPa、时间 20 min,不进行任何干预。

1.4 取材 所有大鼠麻醉后,股动脉取血,所得血液放入 EP 管中,在室温(22 ~ 25 °C)下静置 2 h 后离心:转速 3 500 r/min,温度 4 °C,时间 15 min,离心完毕,用移液枪将上清液(血清)移入新的离心管后放入 -70 °C 的冰箱待测。

1.5 检测指标 血清 vWF、ox-LDL 含量的测定采用酶联免疫吸附双抗体夹心法(ELISA)原理定量测定血清 vWF、ox-LDL 含量,严格按照试剂盒说明书操作。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 18.0 统计软件进行统计学处理。计量指标均采用均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组数据若符合正态分布,组间比较采用单因素方差分析;若不服从正态分布,采用非参数检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义; $P < 0.01$ 为差异有显著性意义。

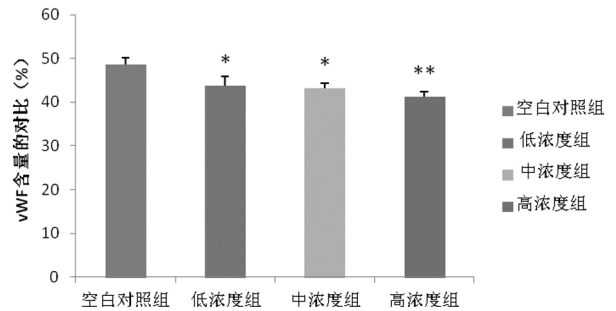
2 结果

2.1 血清中 vWF 含量的改变 结果如表 1 和图 1 所示:低浓度、中浓度艾烟干预均使血清中 vWF 含量下降,与空白组相比有差异, $P < 0.05$,高浓度艾烟干预后,vWF 含量显著性降低, $P < 0.01$,显示出随着艾烟浓度的升高,vWF 含量逐渐下降,这可能预示着血小板聚集程度下降,血流状态下抑制血栓形成。

表 1 各组血清中 vWF 含量的对比(% $\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 鼠数 | 血清中 vWF 含量 | P |
|-------|----|----------------|-------|
| 空白对照组 | 7 | 48.58 ± 1.58 | |
| 低浓度组 | 7 | 43.82 ± 2.04* | 0.043 |
| 中浓度组 | 7 | 43.11 ± 1.23* | 0.018 |
| 高浓度组 | 7 | 41.16 ± 1.31** | 0.003 |

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。



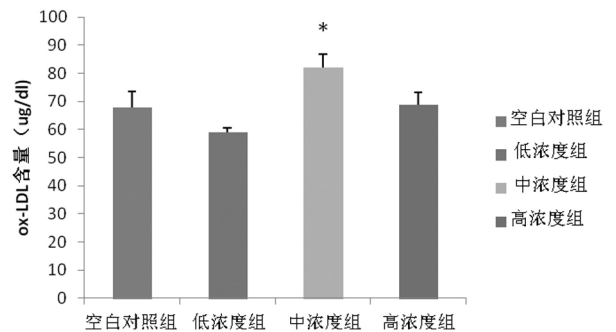
注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

图 1 各组血清中 vWF 含量的对比(% $\bar{x} \pm s$)

表 2 各组血清中 ox-LDL 含量的对比($\mu\text{g/dl}$ $\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 鼠数 | 血清中 ox-LDL 含量 | P |
|-------|----|---------------|-------|
| 空白对照组 | 7 | 67.95 ± 5.7 | |
| 低浓度组 | 7 | 58.95 ± 1.57 | 0.175 |
| 中浓度组 | 7 | 81.98 ± 4.79* | 0.034 |
| 高浓度组 | 7 | 68.7 ± 4.57 | 0.908 |

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。



注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

图 2 各组血清中 ox-LDL 含量的对比($\mu\text{g/dl}$ $\bar{x} \pm s$)

2.2 血清中 ox-LDL 的含量改变 低浓度艾烟干预后 ox-LDL 含量有下降趋势,但与空白组相比无统计学意义, $P > 0.05$;中浓度组艾烟使血清中 ox-LDL 含量升高,与空白组相比有统计学意义, $P < 0.05$;高浓度

艾烟干预与空白组相比有上升趋势,但无统计学意义, $P > 0.05$ 。结果如表2和图2所示。

3 讨论

血液流变异常是诱发心血管疾病的危险因素之一,血流速度减慢,血小板凝聚性增高,可以促使血栓的形成,进一步诱发动脉粥样硬化,导致心血管事件的发生。因此改善血液流变状态对于保证微循环的正常运行,维持物质代谢,能量代谢平衡,促进神经细胞的功能恢复具有重大意义。

vWF是反映血小板功能的重要指标^[4-6]。vWF主要在血管内皮细胞的Weibel-Palade小体中合成和储存,当血管内皮细胞受损时,vWF能够迅速释放,它对血小板黏附到已暴露胶原的内皮和血小板聚集起关键作用。越来越多的证据显示vWF在血流状态下的血栓形成中发挥关键作用,而血栓的形成则加速了心血管疾病的发生。

临床观察和实验研究证实,艾灸通过改善机体循环状态,提高氧自由基代谢、调整神经内分泌系统、稳定内环境等多种途径达到活血化瘀的作用^[7-9]。本实验结果显示:低浓度、中浓度艾烟干预均使血清中vWF含量下降,随着艾烟浓度的升高,vWF含量逐渐下降,提示艾烟可以使血流变快,降低血液凝集程度,具有加速机体新陈代谢,改善微循环,稳定内环境的作用。

艾性芳香辛燥是艾灸对机体产生效应的机制之一^[10]。艾烟能够起到调节微循环作用可能与艾叶的药性作用以及艾燃烧生成物的芳香作用有关。现代研究发现,艾叶的主要成分是挥发油,其化学成分中含有:桉叶素、樟脑、龙脑、甘菊环等^[11],这些成分也存在于罗勒、迷迭香、桉叶油等^[12],这些芳香物质可以对人体神经系统、血液循环系统、消化系统、呼吸系统、皮肤、泌尿系统都存在着治疗和辅助治疗作用^[13-14],可以促进血液运行,加快微循环,调节新陈代谢,加快体内毒素排除、消炎杀菌,扩张外周血管、降低血压、增加心灌流量而抗缺氧。

目前普遍认为^[15]芳香物质可经嗅觉系统传入大脑,抑制或兴奋中枢神经系统,亦可通过呼吸或皮肤渗透进入血液,随血液循环运行至全身,因此艾叶及艾燃烧生成物可能是通过其中的挥发油的芳香作用达到加快血液循环,通络散瘀的作用。

ox-LDL可以抑制内皮细胞NOS基因表达,从而抑制NO合成和释放,引起内皮功能障碍。在心血管疾病发展的过程中,首先是由于内皮功能受损或高胆固醇血症,因此ox-LDL是内皮损伤的有害因子。血管内皮损伤是造成微循环障碍的原因之一^[16]。

本实验结果显示,低浓度艾烟干预后ox-LDL含量无明显改变, $P > 0.05$;高浓度艾烟干预后,ox-LDL含量有上升趋势但不具有统计学意义, $P > 0.05$;中浓度艾烟干预使ox-LDL含量显著性上升,表明中浓度艾烟对血管内皮有一定损伤,但是由于本实验为毒理试验,中浓度(40%)艾烟相当于临床艾烟浓度的56倍,低浓度组艾烟(10%)为临床艾烟浓度9倍,低浓度艾烟干预对血管内皮无损伤,可以初步推断,临床使用艾烟可能不会对血管内皮造成损伤。进一步研究可以设置临床诊室浓度组,从而深入探讨临床使用艾烟对微循环的影响。

4 结论

随着艾烟浓度的升高,vWF含量逐渐下降,这可能预示着艾烟使血小板聚集程度下降,从而改善血液微循环,对促进机体新陈代谢,稳定内环境起到一定积极作用。低浓度艾烟未见明显血管内皮损伤,中浓度艾烟会造成一定血管内皮损伤。其损伤机制有待于进一步研究。

参考文献

- [1]许焕芳,赵百孝. 艾灸疗法作用机理浅述[C]. 中国针灸学会年会论文集, 2011.
- [2]唐照亮,宋晓鸽,王宁新. 艾灸活血化瘀作用机制的研究[J]. 安徽中医学院学报, 2004, 4(2): 24-26.
- [3]李万伟,李晓红,徐东群. 可吸入颗粒物心血管毒性作用机制研究进展[J]. 环境与健康杂志, 2011, 11(28): 1026.
- [4]王兴木,官莉莉. DM2大血管病变与血管内皮标志物相关性分析[J]. 放射免疫学杂志, 2009, 22(4): 322-323.
- [5]Dandona P. Endothelium, inflammation, and diabetes [J]. Curr Diab Rep, 2002, 2: 311-315.
- [6]Rosati E, Aracri N, Botton e A, et al. Statine and endothelium dysfunction in diabetes [J]. Minerva Cardioangio, 2002, 50: 63-68.
- [7]Ma SH, FENG Y, Liu H. The effect of moxibustion at Renzhong point in Lapoplexy [J]. Beijing zhongyiyao daxue xuebao (J Beijing TCM Univ), 1998, 21(3): 68-69.
- [8]赵宁侠,郭瑞林,任秦有. 艾灸三阴交穴对健康人血液流变学及红细胞聚集指数的影响[J]. 云南中医学院学报, 2003, 12(4): 31-33.
- [9]吴中朝. 艾灸对老年老年前期者血液流变性的影响[J]. 中国针灸, 1996, 16(11): 23-24.
- [10]崔莹雪,赵百孝. 艾灸与芳香疗法[J]. 中华中医药杂志, 2010, 10(25): 1548-1549.
- [11]文福姬,俞庆善,阎民变,等. 艾叶精油化学成分研究[J]. 香料香精化妆品, 2007, 102(3): 21.
- [12]宋爱华,王颖,刘艳梅,等. 蓝桉叶挥发油化学成分的气相色谱-质谱分析研究[J]. 食品与药品, 2009, 11(1): 31.
- [13]张季平. 中药成分知多少——香气由何处来[J]. 东阳药刊, 1997, 22(1): 3.
- [14]洪蓉. 日本芳香生理心理学研究进展[J]. 世界林业研究, 2001, 14(3): 61.
- [15]秦红. 从香薰器皿看古代香薰文化[J]. 上海工艺美术, 2009, 16(1): 112.
- [16]Maxwell K N, Breslow J L. Adenoviral-mediated expression of PCSK9 in mice results in a low-density lipoprotein receptor knockout phenotype [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(18): 7100-7105.

(2013-07-05 收稿)