

灸药结合对小鼠耐缺氧影响的实验研究^{*}

张小璇¹ 顾一煌^{2***} 李忠仁²

(1. 南京中医药大学基础医学院, 江苏 南京 210036; 2. 南京中医药大学第二临床医学院, 江苏 南京 210032)

摘要:目的 分别观察艾灸、独参汤及二者并用后小鼠耐缺氧时间,探索三种情况下小鼠对缺氧的耐受力。方法 将小鼠随机分为空白饲养组、空白对照组、艾灸组、独参汤组、艾灸结合独参汤组等5组,每组均为20只。艾灸组给予艾灸治疗、独参汤组以独参汤灌胃、艾灸结合独参汤组在艾灸后以独参汤灌胃,一周后,检测除空白饲养组外其余各组小鼠的耐缺氧时间。结果 艾灸组、独参汤组、艾灸结合独参汤组小鼠的耐缺氧时间分别为(26.7±2.5) min、(27.5±2.4) min、(30.9±1.9) min与空白对照组(21.3±2.8) min相比有显著差异($P<0.01$),同时艾灸结合独参汤组与艾灸组、独参汤组相比有差异($P<0.05$)。结论 艾灸、独参汤、艾灸结合独参汤均可以显著提高小鼠耐缺氧时间,艾灸结合独参汤优于单独艾灸或者单独使用独参汤。

关键词:艾灸;独参汤;艾灸结合独参汤;耐缺氧

中图分类号: R 245.8 R 2-03 文献标识码: A 文章编号: 1002-168X(2015)04-0080-03

DOI:10.13424/j.cnki.jsctcm.2015.04.030

Experimental Study on the Influence of Combination of Moxibustion with DuShen Decoction over Rats' Antihypoxia

ZHANG Xiaoxuan¹, GU Yihuang², LI Zhongren²

(1. Basic Medical College of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210036, China;

2. The Second Clinical Medical College of Nanjing University of Chinese Medicine Nanjing 210032, China)

Abstract Objective: To study the effect of moxibustion, DuShen Decoction and both combination on the rats' resistance to hypoxia according to the time they resist. **Methods:** Rats were randomized into breeding, control, moxa, DuShen and combining groups with 20 in each. The moxa group given moxibustion therapy, the DuShen group administered DuShen Decoction and the combining group receiving DuShen Decoction after moxibustion, the time rats resisted hypoxia was recorded except for the breeding group. **Results:** The antihypoxia time of rats in moxa, DuShen and combining groups was (26.7±2.5) min, (27.5±2.4) min and (30.9±1.9) min respectively significantly different from (21.3±2.8) min of the control group ($P<0.01$). Meanwhile, the difference in comparison of the combining, moxa and DuShen groups had been significant ($P<0.05$). **Conclusion:** Moxibustion, DuShen Decoction and both combination can remarkably increase the rats' antihypoxia time and the effects of combining method are better than the single methods.

Keywords moxibustion; DuShen Decoction; combination of moxibustion with DuShen Decoction; antihypoxia

缺氧(hypoxia)是许多疾病所共有的一个基本病理过程,会对人体组织器官造成多种损伤,如何提高机体对于缺氧的耐受性,是医学研究的热点。

人参是多年生草本植物,为五加科植物人参 *Panax ginseng* 干燥根和根茎^[1],性平、味甘、微温,微苦;归脾、肺经。单味人参,大量浓煎,即成独参

* 基金项目:江苏省高等学校大学生实践创新训练项目

*** 通讯作者:顾一煌(1965-),男,教授,研究方向:运动疲劳的中医药防治。

汤。独参汤具有大补元气、复脉固脱、补脾益肺、生津止渴、安神益智等功效。艾灸是中医重要的外治法之一,具有温补元气,温通经络等作用,为了观察艾灸、独参汤、艾灸结合独参汤合用对机体的影响,为此我们进行了下列研究,报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 由南京中医药大学实验动物中心提供1月龄健康昆明种雄性小鼠,其体重为18-22 g。雄性昆明种小鼠在正常实验室环境中适应性饲养3天,环境为湿度60%-70%、室温(23±2)℃、光照自然,自由进食、饮水,以笼饲养,每笼10只。3天后,用数字随机法随机分为5个组,分别为空白饲养组、空白对照组、艾灸组、独参汤组、艾灸结合独参汤组等,每组均为20只,仍以每笼10只正常饲养。

1.2 主要仪器与试剂 全自动生化分析仪(上海医疗器械厂),UV-1800型分光光度计(上海善可精密仪器有限公司),光学读数分析天平,广口瓶、试管、计时器等。乳酸酶法试剂盒、过氧化氢酶试剂盒:南京建成生物工程研究所提供。过氧化氢及其他试剂均为市售分析纯试剂。

1.3 实验方法 小鼠以每笼10只饲养,每日观察并记录小鼠的进食和生长情况。

独参汤的制备:称取生晒参药材25 g,切成约5 mm厚饮片,浸泡1小时,置于陶瓷药罐中,加入250 ml纯净水,用武火煎煮至沸腾后,改用文火(保持低沸状态)继续煎煮30 min,过滤取药液,再在陶瓷药罐中加入200 mL纯净水,同上煎煮,过滤取药液,然后再在陶瓷药罐中加入150 mL纯净水,同上煎煮取药液,将三次药液合并,浓煎至250 mL即得浓度为10%的独参汤。

艾条的制备:用清艾绒制成直径为5 mm的艾条。

空白饲养组:正常饲养,每日上午以2 mL/次/日生理盐水灌胃,连续10天;空白对照组:正常饲养,每日上午以2 mL/次/日生理盐水灌胃,连续10天;独参汤组:正常饲养,每日上午以自制独参汤2 mL/次/日灌胃,共10天;艾灸组:正常饲养,每日上午用自制清艾条悬灸关元穴、肾俞穴,每穴3分钟;穴位选取参照李忠仁主编的《实验针灸学》^[2]取穴方法定位,共10天;艾灸结合独参汤组:每日

上午用自制清艾条灸关元穴、肾俞穴,每穴3分钟,然后以自制独参汤2 mL/次/日灌胃,共10天。

1.4 检测指标

1.4.1 小鼠耐缺氧时间测定 于第11天,除空白饲养组外,分别将其余各组小鼠放入盛有20 g钠石灰的200 mL的广口瓶中,钠石灰用于吸收二氧化碳,钠石灰上垫有滤纸,用以吸收小鼠尿液。以凡士林涂广口瓶的瓶口、用木塞塞严使广口瓶不漏气,并开始计时,以小鼠呼吸停止为指标,记录小鼠死亡时间,此时间即为小鼠的耐缺氧时间。

1.4.2 生化指标 小鼠停止呼吸后立即取出,断头取血4 mL抗凝,以3000 r/min离心20 min,取上清,分别以乳酸氧化酶法检测血清乳酸、紫外吸收法测定过氧化氢酶(CAT)活性,操作严格按照试剂盒要求进行。

1.5 数据处理 所有数据使用SPSS18.0进行统计分析处理,计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,两组之间比较差异性采用t检验。

2 实验结果

2.1 各组小鼠的耐缺氧时间 如表1。

表1 小鼠的耐缺氧时间

组 别	n	耐缺氧时间(min)
空白对照组	20	21.3±2.8
艾灸组	18*	26.7±2.5 [△]
独参汤组	19*	27.5±2.4 [△]
艾灸结合独参汤组	20	30.9±1.9 ^{△**}

*艾灸组和独参汤组在饲养中分别有2只和1只小鼠死亡;艾灸组、独参汤组、艾灸结合独参汤组与空白对照组相比[△]*P*<0.01,艾灸结合独参汤组与艾灸组、独参汤组相比^{**}*P*<0.05。

2.2 各组小鼠的血乳酸和过氧化氢酶(CAT)活性 如表2。

表2 各组小鼠的血乳酸和过氧化氢酶(CAT)活性

组 别	n	血乳酸 (mmol/L)	过氧化氢酶(CAT) 活性(U/L)
空白饲养组	20	6.32±2.25	0.57±0.16
空白对照组	20	13.28±1.85 ^{**}	0.62±0.19
艾灸组	18	14.24±1.66 ^{**}	0.81±0.12 [△]
独参汤组	19	13.47±1.72 ^{**}	0.77±0.16 [△]
艾灸结合独参汤组	20	13.42±1.58 ^{**}	0.83±0.17 [△]

与空白饲养组血乳酸相比,空白对照组、艾灸组、独参汤组、艾灸结合独参汤组^{**}*P*<0.01;艾灸组、独参汤组、艾灸结合独参汤组与空白对照组、空白饲养组相比[△]*P*<0.05。

3 讨论

缺氧是对机体的一种不良刺激,可影响机体的氧化供能,严重缺氧可引起心、脑等重要组织器官的损伤,甚至因氧供应能力不足而死亡。耐缺氧时间是衡量机体对于缺氧耐受程度的指标,小鼠在密闭容器中为非特异性缺氧。本研究结果显示,艾灸、独参汤、艾灸结合独参汤都可以明显提高小鼠的耐缺氧时间,艾灸组、独参汤组、艾灸结合独参汤组小鼠的耐缺氧时间分别为 (26.7 ± 2.5) min、 (27.5 ± 2.4) min、 (30.9 ± 1.9) min,与空白对照组 (21.3 ± 2.8) min 相比 $P < 0.01$;而在艾灸组、独参汤组与艾灸结合独参汤三组中,艾灸组与独参汤组相比没有区别, $P > 0.05$;艾灸组、独参汤组与艾灸结合独参汤组相比有差异, $P < 0.05$ 。这又提示我们,艾灸结合独参汤使用,较二者单独使用有较好的效果。

人参具有补气生血、扶正祛邪等功效,《神农本草经》记载人参“补五脏、安精神、定魂魄、止惊悸、除邪气、明口开心益智”。人参单独浓煎即为独参汤,始记于元代葛可久撰写《十药全书》:丙字号独参汤,止血后,虚弱无动作者,此药补之^[3]。《景岳全书》对独参汤有较为详细的记载:独参汤,治诸气虚、气脱及反胃呕吐、喘促,粥汤入胃即吐。现代研究表明^[4]:人参皂苷是人参的主要有效成分之一,约占人参总质量的 4%,具有增强人体免疫、抗衰老、抗疲劳、治疗心血管疾病等作用,目前已成为一些特效药的主要成分。有研究指出^[5],人参的有效成份可作用于垂体前叶,使其释放 ACTH,血浆中 ACTH 分泌增加,促进了胆固醇的摄取及向皮质醇和皮质酮的转化,从而增强了耐缺氧能力。同时,廖氏^[6]认为人参皂苷 Rg1 能够抑制 Bax 的表达,增加 H9c2 细胞的活力,这也是其能提高耐缺氧时间的重要因素之一。

艾灸是中医学的重要组成部分之一,《医学入门》:“虚者灸之,使火气以助元阳也……寒者灸之使其气之复温也;热者灸之,引郁热之气外发,火就燥之义也。”艾灸借灸火温和的热力和药物的作用,通过经络传导起到扶正祛邪的作用,可以增强运动能力,抗自由基损伤,改善血液流变性等。

在正常供氧状态下,机体内的糖代谢主要通过有氧代谢经丙酮酸途径进入三羧循环并释放出大量 ATP,组织中乳酸生成量很少。但在缺氧时,组织中三羧循环不能顺利进行,糖代谢主要通过无氧酵解途径来实现,致使糖代谢至丙酮酸后,最终经 LDH 催化还原生成乳酸,ATP 生成量明显减少,于是造成组织中乳酸过量堆积,血乳酸含量也急剧升高。本研究中,小鼠在广口瓶中的缺氧状态,导致了乳酸的升高,与空白饲养组相比,空白对照组、艾灸组、独参汤组、艾灸结合独参汤组的血乳酸明显升高($P < 0.01$)。

过氧化氢酶存在于红细胞及某些组织内的过氧化体中,它的主要作用就是催化 H_2O_2 分解为 H_2O 与 O_2 ,小鼠缺氧后,体内过氧化氢增加,从而增加了机体的损伤,在本研究中,艾灸组、独参汤组、艾灸结合独参汤组三组之间,过氧化氢酶活性无差异,但与空白对照组相比,三组过氧化氢酶活性均有升高($P < 0.05$),它可能是提高小鼠耐缺氧能力的途径之一。

艾灸、独参汤或者二者结合使用,均能有效地提高小鼠的耐缺氧能力,其机理是多途径的,多环节的,与艾灸、人参能有效地提高过氧化氢酶的活性是密切相关的,其机理值得进一步研究。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 8.
- [2] 李忠仁. 实验针灸学[M]. 1 版. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 314.
- [3] 宋承吉. 《十药神书》与独参汤[J]. 人参研究, 2005, 2: 23.
- [4] 杨雨, 郑斯文, 金银萍, 等. 人参皂苷的提取分离方法研究进展[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(5): 214-217.
- [5] 刘能保, 洪小平, 李晓恒, 等. 慢性复合应激对学习记忆的影响及 cAMP/PKA-CREB 信号通路的作用[J]. 解剖学报, 2006, 37(6): 238.
- [6] 廖景光, 李敏妍, 谢兆丰, 等. 人参皂苷 Rg1 配伍丹参酮 IIA 对缺氧-复氧 H9c2 细胞的保护作用及机制研究[J]. 中国现代医学杂志, 2014, 24(22): 13-16.

(收稿日期: 2015-05-18 编辑: 文颖娟)