

不同施灸方向对寒凝血瘀证大鼠血液流变学的影响

王宽, 呼雪庆, 黄玉萨, 王清然, 高春鹏, 刘民, 刘慧荣

Wang Kuan, Hu Xue-qing, Huang Yu-sa, Wang Qing-ran, Gao Chun-peng, Liu Min, Liu Hui-rong

上海中医药大学, 上海 201203, 中国

Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

【摘要】目的:观察不同施灸方向对寒凝血瘀证模型大鼠血液流变学的影响。**方法:**将 32 只 Wistar 大鼠按随机数字表随机分成 4 组, 分别为正常组、模型组、顺经灸组和逆经灸组, 每组 8 只。除正常组以外, 其余 3 组制备大鼠寒凝血瘀证模型。造模成功后, 对顺经灸组和逆经灸组两组大鼠背部的膀胱经经段实施不同方向的艾灸治疗, 每天艾灸 10 min, 7 天为 1 疗程, 治 2 个疗程, 共计 14 d。观察大鼠症状和体征量化评分变化。每星期评分 1 次, 共计 7 次。治疗结束后, 检测大鼠血液流变学指标。**结果:**造模结束后, 模型组、顺经灸组和逆经灸组大鼠的症状和体征量化评分明显高于正常组($P < 0.05$)。治疗结束后, 模型组大鼠症状和体征量化评分明显高于正常组($P < 0.05$); 顺经灸组和逆经灸组大鼠症状和体征量化评分明显低于模型组($P < 0.05$), 顺经灸组大鼠症状和体征量化评分明显低于逆经灸组($P < 0.05$)。模型组大鼠全血粘度、红细胞聚集指数较正常组大鼠明显升高($P < 0.05$), 但红细胞压积和血沉升高不明显($P > 0.05$); 顺经灸组和逆经灸组大鼠全血粘度、红细胞聚集指数均显著低于模型组大鼠($P < 0.05$), 顺经灸组和逆经灸组两组差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论:**顺经灸及逆经灸对寒凝血瘀证大鼠血液流变学以及大鼠寒凝血瘀的症状均有不同程度的改善, 顺经灸对大鼠寒凝血瘀症状改善优于逆经灸, 顺经灸与逆经灸对大鼠血液流变学影响无明显差异。

【关键词】灸法; 膀胱经; 寒凝血瘀; 血液流变学; 大鼠

【中图分类号】R2-03 **【文献标志码】**A

【Abstract】

【Keywords】Moxibustion Therapy; Bladder Meridian; Blood Stasis Due to Coagulated Cold; Hemorheology; Rats

艾灸疗法是传统中医疗法的重要组成部分, 自古就被广泛应用于各类疾病的防治, 对某些病症的治疗效果更是超过了针和药^[1-2]。灸法种类繁多, 临床上不同灸法对疾病的治疗效果不同, 而施灸方向的不同便是其中之一。本实验观察不同施灸方向对寒凝血瘀证模型大鼠血液流变学的影响, 探索艾灸疗效产生的关键因素, 进一步阐释艾灸疗法的效应机制, 使得灸法操作更加科学, 以提高艾灸的临床疗效。

1 材料和方法

1.1 动物和分组

健康成年 Wistar 大鼠 32 只, 清洁级, 雌雄各半, 分笼饲养, 体重(200±20) g, 购自上海中医药大学医学实验动物中心[许可证号: SCXK(沪)2012-0002], 适应性喂养 7 d。

1.2 主要仪器与试剂

0.1% 盐酸肾上腺素注射液(上海禾丰制药有限公司生产, 批号: W131106, 中国); ST 16R 高速台式离心机(Thermo, USA); LBY-N6B 型

多功能自动血流变仪(北京普利生仪器有限公司, 中国)。

1.3 模型制备

按照 SPSS 软件生成的随机数字将大鼠分为正常组、模型组、顺经灸组和逆经灸组, 每组 8 只。

除正常组外, 其余 3 组大鼠通过皮下注射 0.1% 盐酸肾上腺素注射液加冰浴的方式制备寒凝血瘀证模型^[3-6]。

造模操作: 大鼠称重, 按 0.3 mL/(kg·bw) 标准计算 0.1% 盐酸肾上腺素注射液的注射总量, 采用背部皮下注射。先用生理盐水将 0.1% 盐酸肾上腺素注射液稀释 5 倍, 分 2 次注射, 每次注射总量的 1/2。在第 1 次注射 1 h 后, 将大鼠置于装有 4℃~6℃ 冰水的塑料桶内进行冰浴 4 min, 在冰浴时需要注意水平面不能没过大鼠头部, 冰浴结束 1 小时后进行第 2 次注射。

造模一共持续 4 星期, 前 2 星期照上述方法每天进行 1 次, 后 2 星期隔天进行, 且只冰浴不注射盐酸肾上腺素注射液。造模均于上午进行, 正常组大鼠除称重外不作其他任何处理。

1.4 分组干预

1.4.1 正常组

正常组大鼠不造模, 不进行任何干预, 只做与模型组相同的称重、抓取和装笼。

1.4.2 模型组

模型组大鼠造模后, 不进行任何干预, 只做与顺经灸组和逆经灸组相同的抓取和装笼。

1.4.3 顺经灸组

穴位: 大椎 Dazhui (GV 14) 至十七椎 Shiqizhui (EX-B 8) 两侧旁开 1 cm 的膀胱经循行部位^[7]。

穴位定位^[8]: 大椎位于第七颈椎与第一胸椎间, 背部正中; 十七椎位于第 6 腰椎横突的前内侧。

灸法操作: 造模后第 1 天开始进行艾灸治疗。采用长 15 cm、直径 1 cm 的自制艾条, 点燃后顺膀胱经循行的方向行单向反复悬灸操作。施灸时使艾条距施灸部位表皮 2 cm, 移动时须缓慢, 每一次单向操作时间为 5 s (图 1)。

每天每只大鼠艾灸治疗 10 min, 7 天为 1 疗程, 灸治 2 个疗程, 共计 14 天。

1.4.4 逆经灸组

取穴、穴位定位、开始艾灸干预的时间点、采用的艾条规格、灸法操作及艾灸疗程均与顺经灸组相同, 但施灸方向与顺经灸组相反, 即逆膀胱经循行方向行单向反复悬灸操作(图 1)。

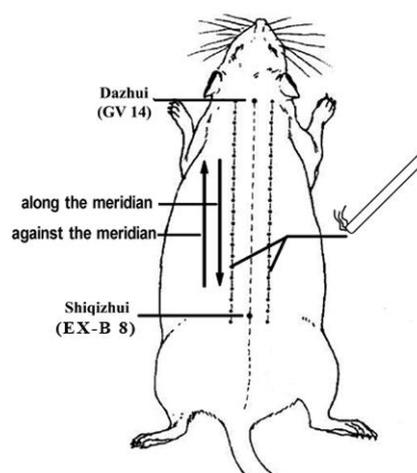


图 1. 顺经灸和逆经灸示意图

1.5 观察参数及检测方法

1.5.1 症状和体征观察

参照相关文献中制定的寒凝血瘀证小鼠症状和体征量化评分表^[5], 并依据中医证候模型制备的相关研究^[9-11], 将评分表稍作调整, 通过观察大鼠畏寒、毛发、小便、大便及脉络瘀血等情况进行评分(表 1), 并按照总评分将大鼠寒凝血瘀的程度分为轻、中、重三级, 即 1~5 分为轻度, 6~10 分为中度, 11~15 分为重度。

从开始造模到治疗结束, 每星期进行 1 次评分, 共计 6 次。

表 1. 寒凝血瘀证大鼠症状和体征量化评分表

畏寒蜷缩	毛发情况	大便情况	小便情况(敷料)	脉络瘀血	评分
正常	正常	正常	正常	正常	0
少动, 尚无寒战	稍有不整, 尚有光泽	量稍多, 成形	3 天更换	1 个部位	1
少动, 偶有寒战	不整, 无光泽	量多质软, 尚成形	2 天更换	2-3 个部位	2
不动, 寒战明显	毛发枯槁	量多质稀, 不成形	每天更换	≥3 个部位	3

1.5.2 血液流变学检测

治疗结束后对各组大鼠行腹主动脉取血, 抗凝处理, 采用自动血液流变仪测定其血液流变学指标。

1.6 统计学方法

所有实验数据采用 SPSS 18.0 统计软件进行统计学处理, 对数据作正态分布检验和方差齐性检验, 当计量资料符合正态分布时采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示; 若满足正态性和方差齐性条

件, 则采用方差分析; 反之, 则采用完全随机设计多个样本间的多重比较 Nemenyi 秩和检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠症状和体征量化评分

随着寒凝血瘀证大鼠模型制备的进行, 造模大鼠逐渐表现出畏寒喜暖、蜷缩少动、毛发暗淡无光泽、小便清长、大便量多质稀不成形、口周

发黑、舌暗淡、爪甲、肛周紫黯等中医寒凝血瘀的表征。在造模结束时,除正常组,其余3组大鼠均达到了寒凝血瘀的重度水平,经统计分析,造模后3组大鼠症状和体征量化评分无统计学差异($P>0.05$),且较长时间的造模过程,使得大鼠的整个机体都表现出了瘀的病理状态,提示了大鼠寒凝血瘀的程度在逐渐加重,这与中医证候的发展变化规律是基本相符的。通过2星期的艾灸治疗,顺经灸组和逆经灸组大鼠症状和体征量化评分均显著下降,与模型组比较差异有统计学意义($P<0.05$),且顺经灸组评分较逆经灸组降低明显($P<0.05$),详见图2和表2。

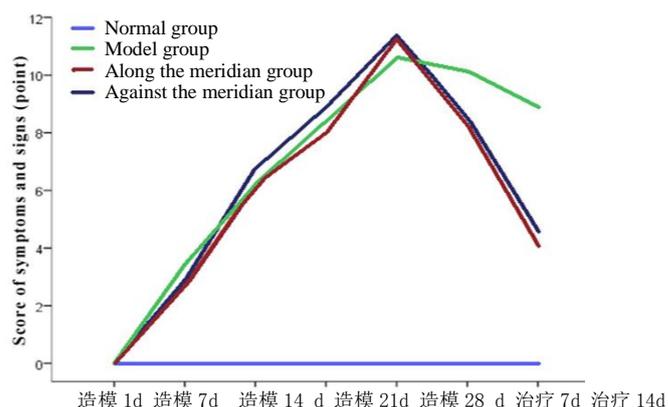


图 2. 各组大鼠症状和体征量化评分变化

表 2. 各组大鼠症状和体征量化评分比较 ($\bar{x} \pm s$, 分)

组别	n	造模前	造模第 7 天	造模第 14 天	造模第 21 天	造模第 28 天	治疗第 7 天	治疗第 14 天
正常组	8	0	0	0	0	0	0	0
模型组	8	0	3.38±1.06	6.25±1.58	8.38±1.51	10.63±0.92 ¹⁾	10.13±0.99	8.88±1.13 ²⁾
顺经灸组	8	0	2.75±0.89	6.25±0.89	8.00±1.20	11.25±1.28 ¹⁾	8.13±0.84	3.63±0.74 ²⁾³⁾⁴⁾
逆经灸组	8	0	2.87±0.35	6.75±0.89	8.87±1.13	11.38±0.92 ¹⁾	8.50±0.93	5.13±0.84 ²⁾³⁾

注:与本组造模前比较,1) $P<0.05$;与正常组比较,2) $P<0.05$;与同期模型组比较,3) $P<0.05$;与同期逆经灸组比较,4) $P<0.05$ 。

2.2 大鼠血液流变学指标检测

模型组大鼠的全血粘度、红细胞聚集指数均明显高于正常组,差异有统计学意义($P<0.05$);顺经灸组和逆经灸组大鼠全血粘度及红细胞聚集指数明显低于模型组,组间差异有统计学意义($P<0.05$);除逆经灸组全血粘度(200 S^{-1})外,

顺经灸组与逆经灸组大鼠全血粘度、红细胞压积、红细胞聚集指数以及血沉值较与正常组无统计学差异($P>0.05$);顺经灸组与逆经灸组大鼠全血粘度、红细胞压积、红细胞聚集指数及血沉值差异无统计学意义($P>0.05$), (表 3)。

表 3. 各组大鼠全血粘度、红细胞压积、红细胞聚集指数及血沉检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	全血粘度(mPa·s)				红细胞压积(L/L)	红细胞聚集指数	血沉(mm/h)
		200 S^{-1}	30 S^{-1}	5 S^{-1}	1 S^{-1}			
正常组	8	3.45±0.36	5.04±0.54	9.99±1.17	25.78±3.7	0.43±0.02	7.48±0.9	11.63±2.67
模型组	8	4.40±0.30 ¹⁾	6.71±0.54 ¹⁾	14.11±1.47 ¹⁾	38.3±4.94 ¹⁾	0.45±0.03	8.71±0.80 ¹⁾	10.13±3.94
顺经灸组	8	3.69±0.22 ²⁾	5.39±0.33 ²⁾	10.8±0.70 ²⁾	27.53±1.98 ²⁾	0.44±0.01	7.46±0.25 ²⁾	11.88±1.81
逆经灸组	8	3.89±0.09 ¹⁾²⁾	5.69±0.14 ²⁾	11.31±0.31 ²⁾	29.21±0.93 ²⁾	0.44±0.02	7.50±0.14 ²⁾	10.25±4.10

注:与正常组比较,1) $P<0.05$;与模型组比较,2) $P<0.05$

3 讨论

中医基础理论认为,寒性凝滞,主收引,为中医病因学中“六淫”之一。寒邪侵袭入血,血得寒则凝,凝则不通,不通即瘀,机体则会表现出畏寒蜷缩、口唇紫黯、舌暗淡、小便清长、大

便量多质稀等一派寒凝血瘀证候。中医古代文献对寒凝血瘀证的病因病机早有记载^[12-14],并指出“温而消之”是寒凝血瘀证的治疗原则。艾灸疗法作为我国传统医学中最古老的疗法之一,其温经散寒、行气活血、补虚培本的功效使其在临床

上的运用越来越广泛,灸法相关的研究也备受国内外学者的关注,古有“灸治百病”之说,而且对施灸的顺序颇为讲究^[15-18]。古代医家提出了灸法操作时的方向和顺序问题,说明不同方向的艾灸操作可能会对疗效产生影响。现代研究表明活血化瘀是艾灸疗法最显著的作用之一,其作用途径与降低血液黏度,加快血流速度,提高红细胞的变形能力,改善甲襞微循环,纠正血瘀时自由基代谢的紊乱,调节血管的舒缩功能活动,增强机体免疫功能,稳定内环境等多方面作用有关^[19-26],而关于施灸方向的研究却未见相关文献报道。

血液流变学是一门研究血液及其组分流动和变形规律的科学。临床很多疾病与血液流变特性密切相关,血液流变学检测现已广泛用于动物实验研究,它可以反映血液的流动性、粘滞性、变形性及凝固性。本实验所造动物模型,其寒凝血瘀证的病机特点可概括为“寒则凝,凝则瘀”,除动物表现出一些寒、瘀的表征外,其血液的流变性质也必然会受到一定的影响。因此,通过血液流变学的相关检测可以客观地反映大鼠寒凝血瘀证疾病状态的变化,从而分析判断大鼠疾病的转归情况及其症状的缓解程度。

本实验研究发现,造模结束时,模型组、顺经灸组及逆经灸组大鼠的症状和体征量化评分均达到重度水平,较正常组有显著性差异,而且模型组大鼠的全血粘度以及红细胞聚集指数均明显高于正常组大鼠,这说明通过较长时间的造模,模拟中医“寒则血瘀”的发病机制,成功制备出了具有中医表征特点的寒凝血瘀证大鼠模型,这与中医的整体观念是相符合的。在艾灸治疗结束后,从大鼠症状和体征量化评分的结果来看,顺经灸和逆经灸均会明显改善大鼠寒凝血瘀的症状,且顺经灸较逆经灸改善明显,两组有统计学差异;而从大鼠血液流变学指标检测的结果来看,顺经灸和逆经灸两组大鼠全血粘度及红细胞聚集指数较模型组大鼠均显著下降,但血流变结果尚不能证明顺经灸与逆经灸对大鼠血流变学影响有显著性差异。在中医辨证论治前提下,选用艾灸治疗临床某些疾病时规范其操作流程可为提高艾灸的临床疗效奠定基础。对于施灸方向的不同是否会影响艾灸疗效,仍需继续开展后续研究来加以验证。

参考文献

- [1] Wu HG, Yan J, Yu SG, Ma XP, Liu HR. 灸法研究的若干思考. Shanghai Zhenjiu Zazhi, 2008, 27(11):35.
- [2] Chang XR, Yan J, Yi SX, Yue ZH, Lin YP. Standardization of moxibustion in traditional Chinese medicine. Shijie Kexue Jishu: Zhongyiyao Xiandaihua, 2010, 12(2): 172-176.
- [3] Xie B, Deng HS, Yu B, Fang TH. Study on optimal screening of rat model with blood stasis due to cold syndrome. Nanjing Zhongyiyao Daxue Xuebao, 2013, 29(3): 262-265.
- [4] Yang JM, Shen XY, Zhang L, Shen SX, Yang S, Chen L, Zhu SP, Xu YS, Zhang LF, Zhu J. Evaluation and selection of animal model preparation in cold congealing and blood stasis. Zhongyi Xuebao, 2014, 29(1): 53-54.
- [5] Zhou HM, Guo Y. Building of mice's models with blood stasis due to cold syndrome and evaluation. Zhongguo Zhongyiyao Keji, 2010, 17(1): 1-2.
- [6] Zhao L, Wei HF, Li YL, Zhang L, Li L. Hemorheological changes in rat model with blood stasis syndrome induced by adrenaline. Zhongxiyi Jiehe Xinnao Xueguan Zazhi, 2010, 8(2):188-190.
- [7] 祝总骧, 郝金凯. 针灸经络生物物理学——中国第一大发明的科学验证. 第2版, 北京: 北京出版社, 1999: 331.
- [8] 余曙光, 郭义. 实验针灸学. 上海: 上海科学技术出版社, 2009: 150-152.
- [9] Du ZC, Hao EW, Deng JG. Quantitative research of chinese medicine representation of cold accumulation and blood stasis pattern/syndrome in rat models. Shijie Zhongxiyi Jiehe Zazhi, 2012, 7(7): 566-569.
- [10] Yin JX, Tian JZ, Wang YY, Shi J, Li LJ, Ren Y, Song CS, Hu Q, Yang JD. Evaluation criterion of tongue appearances in rat model of syndrome of blood stasis. Beijing Zhongyiyao Daxue Xuebao, 2007, 30(8): 529-531.
- [11] Zhu CH, Meng XW, Piao SA, Liu HP, Li DD. Progress of experimental research on the animal model of blood stasis with the syndrome of cold accumulation in recent five years. Jilin Zhongyiyao, 2014, 34(2): 211-213.
- [12] Jiang Y. 《医林改错》瘀血病证的初步探讨. Beijing Zhongyiyao Daxue Xuebao, 2014, 37(3): 152-155.

- [13] Zhao YH. "温则消而去之"与内科临床. *Shijie Zhongyiyao*, 2010, 5(3): 178.
- [14] Han YW, Wang XL. 寒凝血瘀证实验及临床研究近况. *Tianjin Zhongyiyao Daxue Xuebao*, 2009, 28(3): 167-168.
- [15] Zhang JB, Wang LL. 《内经》灸法概述. *Shanghai Zhenjiu Zazhi*, 2010, 29(5): 275-277.
- [16] Qi LZ, Ma XP, Hong J. Analysis on the Characteristics of Moxibustion Therapy in Zhen Jiu Zi Sheng Jing. *Zhonghua Zhongyiyao Xuekan*, 2011, 29(3): 512-514.
- [17] Shi Y, Wu HG. 《针灸大成》灸法辑要. *Liaoning Zhongyiyao Daxue Xuebao*, 2007, 9(3): 43-45.
- [18] Gao XY, Ma QL. Contributions of YANG Ji-zhou to moxibustion methods. *Zhongguo Zhenjiu*, 2006, 26(6): 451-453.
- [19] Tang ZL, Song XG, Wang NX, Zhang FQ, Chen QZ, Hou ZM. Study on blood-activating and stasis-removing effect of moxibustion and its mechanism. *Anhui Zhongyi Xueyuan Xuebao*, 2004, 23(2): 24-28.
- [20] Tang ZL, Song XG, Yuan J, Hou ZM, Chen QZ, Zhang FQ, Chen XT, Zhou MS. 艾灸对寒凝血瘀证大鼠活血化瘀作用的实验研究. *Zhongguo Zhongyi Jichu Yixue Zazhi*, 2000, 6(4): 43-46.
- [21] Li LN, Yu JD, Cao JH. 艾灸对血液流变性的影响. *Zhongguo Linchuang Yanjiu*, 2010, 23(3): 237-238.
- [22] Tang ZL, Song XG, Zhang FQ, Chen QZ, Hou ZM, Wang NX, Yuan J. Effects of moxibustion on ET and NO in plasma of rats with syndrome of blood stasis due to accumulation of cold. *Zhongguo Zhongyi Jichu Yixue Zazhi*, 2002, 8(3): 57-58.
- [23] Zhang ZL, Li B, Ma W. Effect of Moxibustion on nailfold microcirculation in healthy people. *Zhongguo Xueye Liubianxue Zazhi*, 2005, 15(1): 132-133.
- [24] Zhao NX, Guo RL, Ren QY, Guo RF, Pan N. Influence of moxibustion of Baihui (GV 20) on hemodynamics of common carotid artery in healthy subjects. *Zhen Ci Yan Jiu*, 2007, 32(4):252-254.
- [25] Jin MS. 艾灸膈俞穴对寒凝血瘀证模型大鼠血液流变学的实验研究. Master Thesis of Beijing University of Chinese Medicine, 2009: 3-4.
- [26] Tan LY, Liu HR, Wu HG, Jiang FY. 艾灸疗法活血化瘀作用研究进展. *Zhonghua Zhongyiyao Xuekan*, 2009, 28(2): 272-274.

作者简介: 王宽, 2013 级硕士研究生
通信作者: 刘慧荣, 研究员, 博士生导师。
E-mail: lhr_tcm@126.com