

临床诊室浓度的艾烟暴露 12 周对 Wistar 雄性大鼠尿常规的影响

韩 丽^{1,2} 白 桦³ 王 磊² 杨 佳² 刘钧天^{2,4} 王 晶⁵ 黄 畅²

刘耀萌² 邢 敏² 潘秀颖⁶ 赵百孝²

(1 北京中医药大学中医养生研究所,北京,100029; 2 北京中医药大学针灸推拿学院,北京,100029; 3 西安市中医院,西安,710021; 4 北京中医药大学附属护国寺中医医院,北京,100035; 5 世界中医药学会联合会,北京,100101; 6 中国人民解放军军事医学科学院,北京,100039)

摘要 目的:观察临床诊室浓度的艾烟暴露 12 周对 Wistar 雄性大鼠尿常规影响。方法:应用全自动动态染毒柜,艾烟的浓度以遮光率 SR 表示。将 Wistar 雄性大鼠 48 只随机分成 4 个艾烟浓度梯度组($n=12$):对照组(C,SR 0%)、低浓度组(L,SR 0.4%)、中浓度组(M,SR 2%)、高浓度组(H SR 15%),分别为无艾烟组,1,3,9 倍于临床浓度艾烟组。暴露 200 min/d,5 d/周,连续暴露 12 周。应用尿干化学分析法检测大鼠尿常规等指标。结果:艾烟暴露各组尿的颜色、SG、PRO、GLU、BLD、URO 和 BIL 检查等均未见显著改变($P>0.05$)。结论:临床诊室浓度的艾烟暴露未对雄性大鼠尿常规指标产生毒性影响。

关键词 艾烟;艾灸;遮光率;尿常规;尿

The Effects of Twelve-week Moxa Smoke Exposure on Urinary Parameters in Male Wistar Rats

Han Li^{1,2}, Bai Hua³, Wang Lei², Yang Jia², Liu Juntian^{2,4}, Wang Jing⁵, Huang Chang², Liu Yaomeng²,
Xing Min², Pan Xiujie⁶, Zhao Baixiao²

(1 Institute of Health Preserving of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;
2 School of Acupuncture-Moxibustion and Tuina Department, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;
3 Xi'an Traditional Chinese Medicine Hospital, Xi'an 710021, China; 4 Huguosi Hospital of traditional Chinese Medicine,
Beijing 100035, China; 5 World Federation of Chinese Medicine Societies, Beijing 100101, China;
6 Chinese Military Academy of Medical Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract Objective: To investigate the effects of the 12-week moxa smoke intervention on urinary parameters in Wistar rats. **Methods:** An automatic dynamic exposure device was applied for whole-body mode exposure. The moxa smoke concentration was represented by shading rate (SR: %). Forty-eight male Wistar rats were randomly divided into 4 groups ($n=12$ /group): three moxa smoke groups according smoke concentrations (L 0.4%, M 2.0% and H 15%) and one control group (C). Three moxa smoke groups were respectively 1, 3, and 9 times the clinical concentration. The exposure lasted for 12 weeks (200 min/d and 5 d/week). After the exposure, urine samples were tested by uric dry chemical analysis method. **Results:** Compared with C group, no statistically differences in the color, SG, PRO, GLU, BLD, URO, BIL were found in smoke-exposed groups ($P>0.05$). **Conclusion:** The 12-week moxa smoke exposure induced no smoke-related toxicity on urinary parameters in male Wistar rats.

Key Words Moxa Smoke; Moxibustion; Shading Rate; Urinary Parameters; Urine

中图分类号: R245.81 文献标识码: A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.10.047

灸法是一种中医传统疗法,常与针刺一起使用,合称“针灸”。艾灸是应用点燃后的艾绒在体表一定的部位进行烧、灼、熏,给人体以温热、药物刺激作用,以防治疾病,具有确切疗效^[1-5]。艾烟作为具有特殊的芳香气味的艾灸生成物,具有多种生物活

性^[6-10],已成为艾灸启效的关键环节。随着人们对环境中雾霾的毒性的研究深入,艾烟是否安全渐渐引起争议。由于艾烟暴露引起的毒性问题和艾灸环境中空气质量标准研究的缺乏,我们进行了此项研究。尿常规是医学检验“三大常规”项目之一,是很

基金项目:国家重点基础研究发展计划(“973”计划)项目(编号:2009CB522906);国家自然科学基金项目(编号:81373730;81403449;81574068);国家国际科技合作专项项目(编号:2011DFA31370)

作者简介:韩丽(1981.04—),女,博士,助理研究员,研究方向:保健灸的机制及安全性,E-mail:doctorhanli@163.com

通信作者:赵百孝(1963.03—),男,博士,教授,研究方向:艾灸的作用原理及安全性,E-mail:baixiao100@vip.sina.com

多疾病的辅助性检验。尿常规主要对肝、肾和胰岛功能损害有一定的参考价值,本研究观察了临床浓度的艾烟暴露 12 周对雄性大鼠尿常规的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 Wistar 大鼠 48 只,雄性,体重 50 ~ 70 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司(动物许可证号:SCXK-(京)2012-0001)。所有大鼠均用标准动物饲料喂养,自由进水,饲养环境温度(22 ± 2)℃,相对湿度 50% ~ 60%,保持 12 h 光照(8:00 至 20:00)和 12 h 黑暗(20:00 至次日 8:00)交替循环。大鼠先适应性喂养 1 周。按随机数字表法将其随机分为空白组、低浓度组、中浓度组和高浓度组,每组 8 只,浓度分别为 0、0.4%、2% 和 15%。实验过程中对动物的处置符合 2006 年国家科技部发布的《关于善待实验动物的指导性意见》的规定。

1.2 主要实验材料、仪器及试剂 3 年陈艾条(规格:18 mm × 200 mm,河南南阳汉医艾绒有限公司);动式染毒柜(Hope-MED 8050,天津开发区合普工贸有限公司,L = 95 cm,艾烟浓度用遮光率表示,浓度越低,遮光率越低);P-5L2C 型便携式数字微电脑粉尘仪(北京宾达绿创科技有限公司)。

1.3 实验方法 本课题组前期对京津地区的艾灸诊室内艾烟的浓度进行抽样调查^[11],参照抽样浓度设置 1、3、9 倍于临床浓度的艾烟,进行试验。试验前,采用自动动式染毒装置 Hope-MED 8050,分别检测不同倍数的临床艾烟浓度对应的遮光率值,并以此遮光率设置不同的艾烟浓度梯度,分别为低剂量组 L 0.4%,中剂量组 M 2%,高剂量组 H 15%。对照组 C 0% 暴露于同一房间的空气。暴露方法:全自动染毒柜启动后,设置相应的环境参数值,待艾烟浓度稳定后一次性放入整组大鼠,每组 12 只,待浓度再次达到稳定后开始计时(L 和 M 组大约需要 10 s, H 组需要 1 min 左右),计时 200 min,艾烟暴露期间大鼠自由食水。浓度设置如下,染毒柜内环境控制:温度控制在(24 ± 0.2)℃,氧气浓度保持在(21 ± 0.2)% ,200 min/d,共 12 周。操作顺序:空白组 C-低剂量组 L-中剂量组 M-高剂量组 H。

1.4 标本采集与指标检测 12 周干预结束后,大鼠单笼饲养于大鼠代谢笼(大鼠代谢笼由鼠笼、笼内粪便隔离层、隔离层下层滤网、接尿漏斗以及套在接尿漏斗口的 50 mL 的洁净的 EP 管组成)内 24 h,在此期间大鼠尿液经大鼠代谢笼粪便层的滤网向下流,经接尿漏斗,最终收集在 50 mL 的洁净的 EP 管

内。尿液收集后送中西医结合医院检验科,采用尿干试纸法检测,尿检项目包括:URO:Urbilinogen, BIL: Bilirubin, KET: Ketonebody, BLD: Blood, PRO: Protein, NIT: Nitrite, WBC: White Blood Cell Count, GLU: Glucose, pH: pH Value, SG: Specific Gravity.

1.5 统计学方法 所有数据采用 SPSS 18.0 进行统计学处理。计量资料采用单因素方差分析, Dunnett's post-test, 结果以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。计数资料进行非参数检验,结果计数表示,组间比较采用基于秩的方差分析。以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

经临床浓度的艾烟 12 周暴露后,雄性 Wistar 大鼠的尿常规检测结果见表 1,从表中可见雄性大鼠的尿胆原(Urbilinogen URO),胆红素(Bilirubin BIL),酮体(Ketonebody KET),潜血(Blood BLD),尿蛋白(Protein PRO),亚硝酸盐(Nitrite NIT),白细胞计数(White Blood Cell Count WBC),维生素 C(Vitamin Vit C),尿比重(Specific Gravity SG)等均未见显著改变。M 组尿液的酸碱度(pH Value pH)(7.6 ± 0.7)较对照组(8.4 ± 0.2)有显著改变($P < 0.01$),未见剂量反应关系,参数的变化在正常的生理波动值范围内(pH:4.5 ~ 8.0)。综上,1、3、9 倍于临床浓度的艾烟暴露 12 周末对雄性大鼠的尿常规产生明显的毒性影响。

表 1 临床诊室浓度的艾烟暴露 12 周后 Wistar 雄性大鼠尿常规指标 (n = 10)						
项目	参数	对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组	P 值
尿胆原		1	5	3	1	0.1261
	+ -	9	5	7	9	
胆红素	-	10	10	10	10	0.05
	+	0	0	0	0	
酮体	-	4	4	3	2	0.0925
	+ -	6	6	6	6	
潜血	+	0	0	1	2	0.2764
	-	10	8	10	9	
	+ -	0	0	0	0	
尿蛋白	+	0	2	0	1	0.6945
	-	0	0	0	0	
	+ -	0	0	0	0	
	+	1	0	0	0	
亚硝酸盐	+++	0	6	6	1	0.5616
	++	9	4	4	9	
	+	9	10	9	10	
白细胞计数	+	1	0	1	0	0.3916
	-	10	10	9	10	
维生素 C	+	0	0	1	0	0.1042
	-	10	10	10	8	
尿液酸碱度	+	0	0	0	2	0.006
尿比重		8.4 ± 0.2	8.1 ± 0.4	7.6 ± 0.7 *	8.1 ± 0.5	
		1.01 ± 0.01	1.02 ± 0.00	1.02 ± 0.01	1.02 ± 0.00	0.570

注:与对照组比较 * $P < 0.01$ 。

3 讨论

艾灸自古沿用至今,并已经推广至海外。艾烟作为艾燃烧生成物与香烟、棉花等其他材料燃烧所产生的烟气的成分不同,效果^[12]也有所不同,其中含有大量小分子芳香烃类化合物^[13],部分成分已证明具有杀菌^[14]、抗炎^[15]和抗氧化酶^[16]损伤等作用,可能为艾烟作用的活性物质。这提示艾绒作为灸材具有一定的不可替代性。临床艾灸环境下艾烟浓度升高直接造成可吸入颗粒物水平的升高,使得艾烟安全性问题一再受到争议。

本研究通过观察暴露于不同倍数于临床浓度艾烟中雄性 Wistar 大鼠尿常规指标变化,在一定程度上为临床诊室是否安全提供参考。尿常规检查项目。见表 1。主要对肝、肾和胰岛功能损害有一定的参考价值,是毒理学观察中常用的指标,也是临床的基础检查之一,同样是国标烟气吸入实验毒性观察的必备指标^[18]。不少肾脏病变在早期就会出现 PRO,因此一旦发现尿异常,常是肾脏或尿路疾病的第一个指征。尿中如果出现大量红细胞、大量白细胞或亚硝酸盐为生殖感染疾病的征兆,其中亚硝酸盐为细菌的还原产物;同时尿比重受年龄、饮水量和出汗的影响,尿比重的高低,可以看出生殖感染疾病中的某些信息;大鼠尿内通常会有少量蛋白质,其中雄性更多一些。本研究结果提示 1、3、9 倍于临床浓度的艾烟暴露 12 周末对雄性大鼠的尿常规产生明显的毒性影响。

尽管如此,灸诊室内的可吸入颗粒物的质量浓度也高于中国和 WHO 的规定^[19]。以至于有文献报道^[20]通过对艾灸诊室的醛类物质的调查计算出艾灸的使用癌症风险提高,提示一定的健康威胁。前期本课题组进行了艾灸场所可吸入颗粒物的理化特性^[21]、质粒 DNA 氧化损伤^[19,22]的研究结果显示,艾燃烧所产生的可吸入颗粒物具有低金属离子含量、低氧化损伤等特点,与大气环境中的可吸入颗粒物具有显著不同。与此同时,本课题组前期采集艾烟中的可吸入颗粒成分,进行的高浓度的艾致突变实验^[23-24],肯定了高浓度的艾烟染毒液的毒性。John Wheeler^[25]利用国际组织中的标准条件的烟草测试实验室,对艾烟进行了预定的机组挥发物的检测,并根据测试结果计算出短期和长期的染毒水平,认为正常的操作条件下,不论是挥发物还是一氧化碳都不会带来安全威胁;靳然等^[13]采用固相微萃取-气相色谱-质谱联用(SPME-GC-MS)技术对艾烟进行定

性分析,发现艾烟中的多数成分可用于香精香料,有少数成分在高浓度时有一定的毒性,也证实 John Wheeler 的结论。许焕芳^[17]研究发现一定浓度的艾燃烧生成物接触一定的时间可以提高 SAMP 小鼠的抗氧化能力,提升 SOD 含量,减少自由基等代谢产物,从而起到显著的抗衰老的作用。两者的结论也是一致的,艾烟具有抗氧化性也得到进一步的论证。

因此,艾烟的毒性以及安全性均相对而言,本实验条件下的艾烟对 Wistar 大鼠的尿常规未见明显的毒性影响。把握更为准确的艾烟的浓度是今后工作的方向,在艾烟浓度较高时进行适当的过滤或排风设备是非常必要的。

参考文献

- [1] 朱英,陈日兰,姬乐,等.隔药灸神阙穴治疗原发性痛经疗效观察[J].中国针灸,2010,30(6):453-455.
- [2] Li X, Hu J, Wang X, et al. Moxibustion and other acupuncture point stimulation methods to treat breech presentation: a systematic review of clinical trials[J]. Chin Med, 2009, 4:4.
- [3] 吴峰,康明非,熊鹏,等.针刺阿是穴配合艾灸热敏化腧穴治疗项背筋膜疼痛综合征临床随机对照观察[J].针刺研究,2011,36(2):116-120.
- [4] 关玲,石现,邹怡,等.艾灸阳陵泉对慢性背部筋膜疼痛综合征患者体表热像的影响[J].中国针灸,2010,30(6):485-489.
- [5] Matsumoto T, Terasawa S. Influence of acupuncture and moxibustion on QOL of the elderly living in nursing home and care house [J]. Nihon Ronen Igakkai Zasshi, 2001, 38(2):205-211.
- [6] 刘平,潘秀颖,韩丽,等.长期艾烟干预对 Wistar 大鼠外周血 T 淋巴细胞亚群及 CD4⁺CD25⁺Treg 的影响[J].中国针灸,2013,33(2):145-148.
- [7] Xu H, Zhao B, Cui Y, et al. Effects of Moxa Smoke on Monoamine Neurotransmitters in SAMP8 Mice[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013:178067.
- [8] Sakagami H, Matsumoto H, Satoh K, et al. Cytotoxicity and radical modulating activity of Moxa smoke [J]. In Vivo, 2005, 19(2):391-397.
- [9] MATSUMOTO H, SHIMADA J, NAGASAKA H, et al. Inhibition by Moxa smoke of NO production and iNOS expression in mouse macrophage-like cells raw 264.7 [J]. In Vivo, 2005, 19(2):471-474.
- [10] Hitosugi N, Ohno R, Hatsukari I, et al. Induction of cell death by pro-oxidant action of Moxa smoke [J]. Anticancer Res, 2002, 22(1A):159-163.
- [11] 黄茶熙,赵百孝,刘平,等.京津地区艾灸场所夏季可吸入颗粒物(PM10)的质量浓度及微观形貌分析[J].中华中医药杂志,2012,27(12):3104-3108.
- [12] 刘钧天,崔莹雪,黄玉海,等.艾烟与香烟对载脂蛋白 E 基因敲除小鼠自主行为与海马 GFAP 表达的影响[J].上海针灸杂志,2015,3(10):1009-1012.
- [13] 靳然,赵百孝,于密密,等.艾燃烧生成物组分固相微萃取气相色谱-质谱法定性分析[J].北京中医药大学学报,2011,14(9):632-636.

- [14] 张国山, 兰蕾, 常小荣, 等. 艾烟空气消毒的研究进展[J]. 世界中西医结合杂志, 2011, 6(11): 1006-1009.
- [15] 许焕芳, 崔莹雪, 黄茶熙, 等. 艾燃烧生成物对 SAMP8 小鼠血清 Th1/Th2 细胞因子的影响[J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(5): 1387-1390.
- [16] 杨梅, 江丹, 易筠, 等. 艾叶燃烧物清除自由基作用的观察[J]. 中国针灸, 2009, 29(7): 547-549.
- [17] 许焕芳, 崔莹雪, 黄茶熙, 等. 艾燃烧生成物对快速老化模型小鼠 SAMP8 血清抗氧化酶的影响[J]. 中国针灸, 2012, 32(1): 53-57.
- [18] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 21759-2008 化学品慢性毒性试验方法[S]. 2008.
- [19] Huang J, Lim MY, Hwang C, et al. Contrasts in spatial and temporal variability of oxidative capacity and elemental composition in moxibustion, indoor and outdoor environments in Beijing[J]. Environ Pollut, 2015, 202: 78-84.
- [20] Hsu YC, Chao HR, Shih SI. Human exposure to airborne aldehydes in Chinese medicine clinics during moxibustion therapy and its impact on risks to health[J]. J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng, 2015, 50(3): 260-271.
- [21] 黄茶熙. 艾灸诊室可吸入颗粒的物理化学特征及生物活性研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2012.
- [22] Huang J, Lim MY, Zhao B, et al. PM10 mass concentration and oxidative capacity of moxa smoke[J]. QJM, 2015, 108(9): 705-710.
- [23] 韩丽, 刘平, 胡海, 等. 艾烟中可吸入颗粒诱发染色体畸变效应的实验研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2013, 20(1): 34-36.
- [24] 韩丽, 胡海, 刘平, 等. 艾烟中可吸入颗粒物致鼠伤寒沙门氏菌回复突变试验[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(6): 1860-1863.
- [25] Wheeler J, Coppock B, Chen C. Does the burning of moxa (*Artemisia vulgaris*) in traditional Chinese medicine constitute a health hazard? [J]. Acupunct Med, 2009, 27(1): 16-20.

(2016-01-27 收稿 责任编辑: 王明)

世界中联肿瘤专业委员会换届大会在京召开

2016年10月21日-22日,由世界中医药学会联合会肿瘤专业委员会主办,中国中医科学院肿瘤研究所、中国中医科学院广安门医院承办的“世界中医药学会联合会肿瘤专业专业委员会换届大会暨第四届学术年会暨肿瘤扶正培本理论与实践与创新研讨会”在北京广西大厦隆重召开。

世界中医药学会联合会主席余靖,北京市卫生计生委党委委员兼北京市中医管理局局长屠志涛,中国中医科学院首席研究员、世界中医药学会联合会肿瘤专业专业委员会会长朴炳奎,世界中医药联合会学术部主任邹建华,中国中医科学院广安门医院副院长花宝金,新加坡中医师公会会长、世界中医药学会联合会副主席赵英杰,世界中医药学会联合会肿瘤专业专业委员会副会长、韩国传统肿瘤学会副会长俞和承出席了大会开幕式并致辞。来自海内外中西医肿瘤专家、学者共计200余人参加了此次盛会。大会收到论文100余篇,论文围绕中医肿瘤文献、临床以及基础研究成果进行汇报,并展示了相关交叉学科学术进展,论文质量较前提高。

世界中医药学会联合会主席余靖讲话,她回顾了世界中联近年的重大学术活动,介绍了世界中联组织结构及学会规模,强调了肿瘤专业委员会作为世界中联的重要组成部分,在推进世界中联向国际辐射、建立一流中医学术交流平台等方面做出的重大贡献,并对肿瘤专业委员会的稳步发展寄予殷切

期望。

北京市卫生计生委党委委员兼北京市中医管理局局长屠志涛致辞,表示北京市各级政府部门对中医事业的发展给予了高度关注和支持,向前来参会的海内外专家表示热烈欢迎,希望北京市中医界能与全国乃至世界开展多层次、多领域的科研与临床合作,实现共同发展。

本次换届大会,选举肿瘤专家朴炳奎教授继续担任肿瘤专业委员会第三届理事会会长,由中医科学院广安门医院副院长花宝金教授任秘书长,理事会共计132人。

大会邀请了俞和承(韩国)、侯炜、陈新(中国澳门)、张培彤、苏进成(中国台湾)、朱钟天(韩国)等海内外知名专家发表了精彩的学术报告。俞和承、陈新教授切合当下热点,就中医院调控肿瘤免疫的研究进行了汇报,苏进成、朱钟天教授报告了中药治疗胰腺癌、肾癌的分子机制研究成果。侯炜、张培彤、卢雯平则以肿瘤扶正培本为主题,分别介绍了朴炳奎肿瘤扶正培本学术思想的传承、恶性肿瘤与血瘀证的关系以及中医体质学说在乳腺癌治疗中的应用。大会还特邀刘嘉湘、郁仁存、邵梦杨、李佩文、潘敏求、张代钊等中西医结合肿瘤界的老前辈就扶正培本理论与实践与创新进行了研讨,老前辈们各抒己见,热情高涨,启迪后学,听众们讨论积极,气氛热烈,将大会推向高潮。