

·中医中药·

不同时期天灸对去卵巢大鼠骨量、血清骨钙素、骨力学性能的影响

李晓泓 李学武 张露芬 田阳春 张冰
王昱 王磊 马文珠 刘仁权 刘忠厚

摘要 天灸属中医外治法,我们曾用此法进行了防治去卵巢大鼠骨质疏松症的实验研究,取得了一定的结果。在研究中我们还发现天灸在大鼠摘卵巢后不同时期的施用对其骨量、骨钙素、以及骨力学参数产生一定的影响。结果表明:摘卵巢后马上天灸与摘卵巢3个月后天灸均可使血清骨钙素提高;摘卵巢后马上天灸可使股骨横截面积增加明显($P<0.01$);摘卵巢后马上天灸比摘卵巢3个月后再天灸更能抑制骨密度的下降,二者比较差异非常显著($P<0.01$);摘卵巢后马上天灸与摘卵巢3个月后再天灸均可使股骨最大载荷有所回升($P<0.01\sim P<0.05$),摘卵巢3个月后再天灸对此影响不大($P>0.05$)。结果提示:摘卵巢后马上天灸可有效地减少骨量丢失,对抗骨密度的下降,使骨干增粗、承载外力作用加强。摘卵巢3个月后天灸也有一定疗效,但比起早期施灸效果要逊色。说明天灸疗效与治疗时机有一定的关系。

Effect of Celestial moxibustion on bone mass, serum osteocalcin,
and bone dynamics in ovariectomized rats.

Li Xiaohong, Li Xuewu, Zhang Lufen et al

Department of Acupuncture and Massage, Beijing, University of
Traditional Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Abstract Celestial Moxibustion (CM) is an external treatment method in traditional Chinese medicine. We used this method for prevention and treatment of osteoporosis in ovariectomized rats and obtained positive result. Our research discovered that at varying time following ovariectomy CM treatment had a definite influence on bone mass, serum osteocalcin levels and bone dynamics in rats. The results showed that in the rats treated with CM immediately or three months after ovariectomy had greater ability to control the loss of bone density than a repeated CM three month after ovariectomy with significant difference ($P<0.01$) in both groups there resulted recovery of femoral maximal loading ($P<0.01\sim 0.05$) in rats immediately treated upon ovariectomy, there was a marked increased in loading flexibility ($P<0.01$), while in rats treated three months after, this effect was not significant ($P>0.01$). In conclusion, CM immediately after ovariectomy can effectively curtail loss of bone mass, prevent reduction in bone density, increase thickness of diaphyses, and strengthen bone load bearing in ovariectomized rats. CM administered three months after ovariectomy also has some effects, but inferior to those by early administration, suggesting the effectiveness of CM is related to the time period of treatment.

随着骨质疏松症研究的日益深入,近年来中医许多学者根据补肾壮骨原则研制了疗效肯定,副作用小的治疗骨质疏松的中药制剂,取得了可喜的成果。依照同样的原则,结合经络理论,我们曾用天灸法进行防治去卵巢大鼠骨质疏松症的实验研究并取得较好的结果。研究过程中,我们还发现在大鼠去卵巢的不同时期施用天灸对骨量、骨钙素、以及力学参数的变化产生一定的影响。提示:天灸疗效与治疗时机有一定的关系。

1 材料与方法

1.1 动物造模及分组:10月龄 Wistar 种雌性大鼠由中国医学科学院实验动物繁育场提供。体重280~310g。造模及分组情况见表1。

表1 动物分组及处置

分组	简称	数量	处置
正常组	A	8	不摘卵巢6个月
造模6个月	B	8	摘双侧卵巢6个月
造模天灸6个月	C	8	摘双侧卵巢、施用天灸6个月
造模9个月	D	8	摘双侧卵巢9个月
造模3个月后天灸6个月	E	8	摘双侧卵巢、3个月后天灸6个月

1.2 天灸用中药膜及治疗方法:(1)天灸用中药膜由北京中医药大学中药系制剂室制备。是在临床经验用方的基础上提炼而成。内含补肾壮骨以及对穴区有较强刺激作用的中药。(淫羊藿、刺五加、丹参、蛇床子、辣椒等)。(2)天灸方法:肾俞穴处剪净1.5cm见方的鼠毛,露出皮肤。每次外敷约0.3g的中药膜,每次1穴。24~36小时后自然干落。每周天灸两次,由于本药膜刺激作用较强,天灸后穴区多为潮红或并发小泡。(3)所有鼠均在同等条件下饲养,饮用自来水。(4)A、B、D组不施用天灸法。C、E组施用天灸法。C组为摘除双侧卵巢后开始施用天灸,连用6个月,B组为同时期对照组。E组为摘除双侧卵巢3个月后再施天灸,连用6个月,D组为

同时期对照组。

1.3 取样及分析:A、B、C三组6个月后取样,D、E组9个月后取样。(1)血样及分析:用乙醚麻醉大鼠后开腹取主动脉血,离心后取部分上清。用放射免疫法测血清骨钙素(BGP)。放射免疫分析试剂盒由北京中国原子能科学研究院提供。(2)骨样及分析:①用美国 Lunar DPX 型双能X线骨密度仪,测大鼠股骨骨密度,单位g/cm²。②用QTS-25型流变仪(英国)进行股骨三点弯曲力学试验(跨距20~22mm,加载速度6~10mm/min),并测量股骨一定部位截面皮质内外径。(3)*t*检验用组间差异比较, $P<0.05$ 为显著性水平。

2 结果

2.1 各组大鼠股骨最大载荷、弹性载荷、最大挠度,弹性挠度的变化见表2。

表2 各组大鼠股骨最大载荷、弹性载荷、最大挠度、弹性挠度变化($\bar{x} \pm s$)

组别	最大载荷(g)	弹性载荷(g)	最大挠度(mm)	弹性挠度(mm)
A	13531±1693	9077±1259	0.600±0.120	0.255±0.050
B	9872±654	7756±826	0.576±0.185	0.300±0.120
C	11833±833	9689±1141	0.726±0.241	0.500±0.189
D	9541±1444	7783±2057	0.443±0.198	0.280±0.110
E	10429±2332	8473±1685	0.482±0.164	0.282±0.100

①A与B比 $P<0.01$; $P<0.05$; $P>0.05$; $P>0.05$; ②A与C比 $P>0.05$; $P>0.05$; $P>0.05$; $P<0.01$; ③A与D比 $P>0.001$; $P>0.05$; $P>0.05$; $P>0.05$; ④A与E比 $P<0.01$; $P>0.05$; $P>0.05$; $P>0.05$; ⑤B与C比 $P<0.01$; $P<0.01$; $P>0.05$; $P<0.05$; ⑥B与D比 $P>0.05$; $P>0.05$; $P>0.05$; $P>0.05$; ⑦C与E比 $P>0.05$; $P>0.05$; $P<0.05$; $P<0.05$; ⑧D与E比 $P>0.05$; $P>0.05$; $P>0.05$; $P>0.05$;

由表2中可看到:摘除卵巢后,最大载荷逐渐下降,与正常组比有非常显著性差异($P<0.01\sim0.001$)天灸后最大载荷逐渐回升,其中以6个月内效果更好($P<0.01$)。但与正常组比差异仍显著($P<0.05\sim P<0.01$)。天灸对弹性载荷仅在6个月内有效($P<0.01$)。在摘卵早期(6

个月内)天灸可使挠度升高明显。

2.2 各组大鼠股骨横截面积、股骨骨密度变化见表3。

表3 各组大鼠股骨横截面积(mm²)
骨密度(g/cm²)($\bar{x} \pm s$)

组别	股骨横截面积(mm ²)	骨密度(g/cm ²)
A	11.700±0.76	0.276±0.022
B	9.710±1.042	0.257±0.009
C	11.670±1.094	0.262±0.011
D	10.515±1.090	0.238±0.013
E	10.037±0.800	0.244±0.011

①A与B比 $P>0.001$; $P<0.05$;②A与C比 $P>0.05$; $P>0.05$;③A与D比 $P>0.05$; $P<0.01$;④A与E比 $P<0.001$; $P<0.01$;⑤B与C比 $P<0.01$; $P>0.05$;⑥B与D比 $P>0.05$; $P<0.01$;⑦C与E比 $P<0.01$; $P<0.01$;⑧D与E比 $P>0.05$; $P>0.05$

由表3可看到:天灸可使股骨横截面增加明显,但是仅在摘卵后马上天灸组有效($P<0.01$)。摘卵巢3个月后再天灸对截面积增加不明显($P>0.05$)。骨密度变化是逐渐下降的,天灸虽然可使骨密度有所上升,但与同时期对照组比较差异不显著($P>0.05$)。摘卵巢马上天灸比摘卵巢3个月后再天灸效果明显,二者差异十分显著($P<0.01$)。

2.3 各组大鼠血清骨钙素的变化见表4。

由表4中可看到:摘除卵巢后血清骨钙素明显上升,随着时间的延长含量渐减天灸后(无论是摘卵后马上灸还是三个月后再灸)均可使血清骨钙素升高。

表4 各组大鼠血清骨钙素变化($\bar{x} \pm s$)

组别	血清骨钙素
A	9.60±4.27
B	34.71±19.59
C	42.86±13.58
D	15.62±5.18
E	23.39±16.80

①A与B比 $P<0.01$;②A与C比 $P<0.001$;③A与D比 $P<0.05$;④A与E比 $P<0.05$;⑤B与C比 $P>0.05$;⑥B与D比 $P<0.05$;⑦C与E比 $P<0.05$;⑧D与E比 $P>0.05$

3 讨论

摘除成熟大鼠双侧卵巢建立绝经后骨质疏松模型是目前常用的方法。该模型与人类绝经后骨质疏松的特征基本相似^[1]。从本研究的摘除卵巢与未摘除卵巢鼠的骨密度、股骨横截面积以及力学参数的比较看,差异呈现显著性,说明我们已建立了骨质疏松模型。

绝经后骨质疏松主要是由于体内雌激素水平下降对破骨细胞抑制作用减弱,破骨细胞活性增强,虽然此时机体已出现了骨形成增加的代偿反应,但最终骨吸收大于骨形成,造成负钙平衡的骨丢失。假如能在此期加强骨形成的代偿能力并同时抑制骨吸收以抵消亢进的骨吸收,纠正负钙平衡,则会有利于骨质疏松症的防治。

天灸法属于特殊的中医外治法。是用补肾壮骨及对穴区有较强刺激作用的中药制成粘附性、渗透性好的中药膜,贴敷在一定的俞穴上,产生调整代谢的作用。

一般认为成骨细胞功能衰退,使骨形成减弱是骨质疏松症发生的病理机制之一^[2]。因此刺激成骨细胞的活性是治疗本病的一种方法。骨钙素由成骨细胞分泌,它属于骨组织中非胶原的能结合钙的蛋白质,是构成骨基质的有效成分之一,具有维持骨的正常矿化率,反映成骨细胞活性以及骨转化的特异性指标^[6]。血中骨钙素水平与骨形态计量学测量、骨形成参数呈明显正相关^[3]。去卵巢后血清骨钙素的上升,说明成骨细胞活跃,是机体的一种代偿反应。在研究中,我们发现施用天灸后可使血清骨钙素明显提高。尤其摘卵巢后马上天灸骨钙素上升的绝对水平更高。可能此时机体自身的代偿作用明显,天灸在此基础上起到进一步的促进作用。随着摘卵巢时间的延长,机体产生了适应,血清骨钙素含量有所下降。但与同时期对照组比较天灸仍可使骨钙素上升。本研究结果还表明:天灸可对抗早期治疗组(摘卵巢后马上施用天灸)的骨密度的下降,使骨密度维持在正常水平。与

摘卵巢3个月后再天灸的骨密度比较差异显著($P < 0.05$)。显然摘卵后马上施灸是防治本病的关键时机。

从研究的其它结果分析看也支持此观点。骨力学参数是反映骨质量可靠的指标。骨质疏松症引起骨力学强度下降。主要机理不仅为骨量丢失,还有骨正常结构布局合理性遭到了破坏^[4]。骨的横截面积增加,骨干增粗主要反应了骨膜成骨作用增强,反之则说明成骨作用减弱^[7]。骨干横截面积增加是机体的一种自我保护的代偿反应。从力学上分析,这种代偿是非常有意义的。因为骨分布远离中心可使骨的载荷力提高^[6]。即当骨干增粗时,使骨干强度也增加。我们测量的载荷值虽然不等于骨强度,但在一定程度上反映了骨强度。本研究的结果提示:天灸可使去卵巢大鼠股骨干的横截面积有所增加,但仅局限在去卵巢马上天灸组。此结果又一次说明天灸的早期施用的重要意义。此外,无论摘卵巢后马上施灸还是3个月后再施灸的天灸组,最大载荷均明显增加。其中摘卵后马上天灸组与对照组比较呈现非常显著性差异($P < 0.01$)。天灸对弹性载荷的影响也仅体现在摘卵巢马上天灸组($P < 0.01$)。

综上所述,我们发现天灸在摘卵巢后马上

施用与摘卵巢3个月后再施用效果有显著差异。通常摘卵巢后马上天灸可有效地减少骨量丢失,对抗骨密度的下降,骨干增加、承载外力作用也有一定的提高。摘卵巢3个月后再施用天灸也有一定疗效,但比起早期施灸的效果要逊色些。可见施用天灸,抓住治疗时机是提高疗效最关键的环节。

参 考 文 献

- 1 李洪洋等. 去势雌鼠骨质疏松模型的研究. 现代预防医学, 1992, 19(1): 5.
- 2 朱宪彝主编. 代谢性骨病学. 天津: 天津科技出版社, 1989, 266~305.
- 3 孟昭亨. 见: 刘忠厚主编. 骨质疏松症. 北京: 化学工业出版社, 1992, 173.
- 4 Sgaard CH, Mosekilde L, Schwartz W, et al. Effects of fluoride on rat vertebral body biomechanical competence and bone mass. Bone, 1995, 16(1): 163.
- 5 程小光. 骨质疏松的形态改变及对骨强度影响. 中国骨质疏松杂志, 1997(4): 25.
- 6 姚清华. 骨质疏松发病机制和治疗原则. 中华骨科杂志, 1982, 2(1): 60.
- 7 闫景龙. 低负荷对大鼠皮质骨结构和力学性能影响的实验研究. 中国骨质疏松杂志, 1996(3): 41.
- 8 孟昭亨. 骨钙素及其临床意义. 中华内分泌代谢杂志, 1992, 8(1): 41.
- 9 Wronski TJ, Dann LM, Horner SL. Time course of vertebral osteopenia in ovariectomized rats. Bone, 1989, 10: 295~301.
- 10 Omi N, Ezawa I. The effect of ovariectomy on bone metabolism in rats. Bone, 1995, 17(Suppl): 163~168.
- 11 Shen V, Birchxan R, Xu R, et al. Short-term changes in histomorphometric and biochemical turnover markers and bone mineral density in estrogen- and dietary calcium-deficient rats. Bone, 1995, 16: 149~156.
- 12 Hansson T, Ross B. Microcallouses of the trabeculae in lumbar vertebral relation to the bone mineral content. Spine, 1981, 6: 375~380.
- 13 Sandber MM, Aro HT, Vuorio EI. Gene expression during bone repair. Clin Orthop, 1993, 289: 292~312.

(上接第12页)

- 4 胡侦明, 戴克戎. 小梁骨改建特点, 国外医学创伤与外科基本问题分册, 1996, 3: 162.
- 5 Mosekilde L, Mosekilde Le. Sex differences in age-related changes in vertebral size, density and biomechanical competence in normal individual. Bone, 1990, 11: 67~73.
- 6 胡侦明, 戴克戎. 椎体结构与其力学强度的关系. 医用生物力学, 1997, 2: 143.
- 7 Parfitt AM. Implications of architecture for the pathogenesis and prevention of vertebral fracture. Bone, 1992, 13: 41~47.
- 8 Snyder BD, Piazza S, Edwards WT, et al. Role of trabecular morphology in the etiology of age-related vertebral fracture. Calcif Tissue Int, 1993, 53(Suppl): 14~22.