

腹针疗法对膝骨性关节炎实验动物模型血清 TNF- α 及 IL-1 水平的影响

葛鸿庆, 薄智云

广东省中医院, 广东 广州 510120

[摘要] 目的: 通过随机对照实验, 观察腹针疗法对膝骨性关节炎动物模型血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 及白细胞介素-1 (IL-1) 水平的影响。方法: 采用 Hulth 造模法, 建立膝骨性关节炎兔模型, 随机分为 2 组。腹针组予以腹针治疗, 对照组予以自由喂养, 分别于造模前后, 及治疗后在兔耳缘静脉抽取静脉全血, 以 ELISA 定量法测出 TNF- α 及 IL-1 的含量, 观察其变化情况。结果: 造模成功后, 血清 TNF- α 及 IL-1 含量均升高, 与造模前比较, 差异有显著性意义 ($P < 0.05$); 治疗前后血清 TNF- α 及 IL-1 含量比较, 腹针组治疗后低于治疗前, 差异有显著性意义 ($P < 0.05$); 对照组治疗后高于治疗前, 差异有显著性意义 ($P < 0.05$)。结论: 腹针疗法可以降低膝骨性关节炎模型动物血清 TNF- α 及 IL-1 水平, 从而保护关节软骨, 改善骨性关节炎的症状, 这可能是腹针治疗膝骨性关节炎的作用机理或靶点之一。

[关键词] 膝骨性关节炎; 腹针疗法; 动物模型; 肿瘤坏死因子- α (TNF- α); 白细胞介素-1 (IL-1)

[中图分类号] R684.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2014) 08-0178-02

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2014.08.081

膝骨性关节炎(Knee Osteoarthritis, KOA), 是一种常见的多发于中年以后的退行性疾病^[1]。随着我国老龄化社会的来临, 膝骨性关节炎已成为骨科临床最常见的疾病之一^[2]。近年来, 笔者应用腹针疗法治疗膝骨性关节炎, 取得较为满意的临床效果, 为进一步探索腹针疗法的作用机制, 设计了随机对照的动物实验, 结果报道如下。

1 实验材料

1.1 实验动物 健康成年新西兰纯种大白兔 25 只, 雌雄不限, 体重 2.5~3.0 kg, 年龄 6~12 月(广东省医学实验动物中心提供)。

1.2 试剂盒 检测白细胞介素(IL)-1 水平的 ELISA 定量试剂盒预购自美国 NEOMARKERS 公司。检测肿瘤坏死因子(TNF)- α 水平的 ELISA 定量试剂盒预购自英国 R&D SYSTEMS EUROPE 公司。

2 实验方法

2.1 造模方法 采用 Hulth 造模法: 取膝关节内侧纵行切口, 打开关节腔, 探查膝关节无原发病变后, 切断前后交叉韧带及内侧副韧带, 完整切除内侧半月板。术后放回笼中自由喂养, 每天上、下午强迫活动 30 min。4 周后随机处死造模成功的 1 只家兔, 切取双侧股骨髁软骨处理后, 电镜下观察, 证实造模成功, 而后进入实验研究。

2.2 分组与处理方法

2.2.1 动物分组 将最终造模成功的其余 20 只家兔按简单随机法分为 2 组: 腹针组 15 只, 对照组 5 只, 分别以苦味酸标识。

2.2.2 处理方法 腹针组: 给予腹针治疗, 每 3 天 1 次, 共 10 次。取穴方法: 依据“家兔穴位图谱”并以比较解剖和骨度分寸法为依据模拟定位。选取穴位: 天地针(中腕、关元), 外陵, 大横, 滑肉门, 下风湿点, 气旁。采用腹针行针三部法后, 留针 30 min。对照组: 自由喂养。2 组均观察 1 月。

2.2.3 取材时间与方法 分别于造模前后及治疗后于耳缘静脉抽取静脉全血 10 mL, 离心分离血清后, 留取 2 个标本送检。

3 统计学方法

采用 SPSS13.0 统计软件进行分析, 2 组间比较采用 t 检验。

4 研究结果

4.1 造模成功后 2 组一般情况比较 见表 1。造模成功后(治疗前), 2 组体重、年龄组间比较, 差异均无显著性意义($P > 0.05$), 提示一般情况均衡, 具有可比较性。

4.2 造模前后动物血清 TNF- α 及 IL-1 含量比较 见表 2。造

[收稿日期] 2014-04-20

[作者简介] 葛鸿庆 (1974-), 男, 医学博士, 副主任医师, 主要从事关节退行性疾病及创伤研究。

模前后动物血清 TNF- α 及 IL-1 含量比较, 差异有显著性意义($P < 0.05$), 提示造模成功后动物血清 TNF- α 及 IL-1 较造模前上升。

表1 造模成功后2组一般情况比较

组别	n	体重(kg)	年龄(月)
腹针组	15	2.73 \pm 0.18	11.23 \pm 2.32
对照组	5	2.80 \pm 0.16	9.98 \pm 3.87

表2 造模前后动物血清 TNF- α 及 IL-1 含量比较 pg/mL

时间	n	TNF- α	IL-1
造模前	25	12.93 \pm 0.54	60.26 \pm 1.52
造模后	21	22.09 \pm 2.76	103.87 \pm 11.56

与造模前比较, ① $P < 0.05$

4.3 2组治疗前后血清 TNF- α 及 IL-1 含量比较 见表3。腹针组治疗后血清 TNF- α 及 IL-1 含量下降, 治疗前后血清 TNF- α 及 IL-1 含量分别比较, 差异均有显著性意义($P < 0.05$); 对照组1月后血清 TNF- α 及 IL-1 含量上升, 治疗前后血清 TNF- α 及 IL-1 含量分别比较, 差异有显著性意义($P < 0.05$); 2组治疗后比较, 腹针组治疗后血清 TNF- α 及 IL-1 含量均低于对照组, 差异均有显著性意义($P < 0.05$), 提示腹针治疗能降低血清 TNF- α 及 IL-1。

表3 2组治疗前后血清 TNF- α 及 IL-1 含量比较 pg/mL

项目	指标	腹针组(n=15)	对照组(n=5)
治疗前	TNF- α	21.25 \pm 2.97	22.18 \pm 3.53
	IL-1	97.49 \pm 8.29	104.47 \pm 16.98
治疗后	TNF- α	19.62 \pm 3.22	28.60 \pm 1.80
	IL-1	86.39 \pm 16.06	126.57 \pm 11.67

与治疗前比较, ① $P < 0.05$; 与对照组治疗后比较, ② $P < 0.05$

腹针治疗可以降低膝骨性关节炎模型动物血清 TNF- α 及 IL-1 水平, 从而保护关节软骨, 改善骨性关节炎的症状, 这可能是腹针治疗膝骨性关节炎的作用机理或靶点之一。

5 讨论

本实验研究采用了 Hulth 造模法, 4周后, 获得了满意的膝骨性关节炎动物模型, 对照组在造模成功后1月, 其血清 TNF- α 及血清 IL-1 水平仍呈上升趋势, 提示其病情仍然处于进展状态, 若需观察膝骨性关节炎中期或晚期病变, 则可以适当延长造模时间。同时, 在造模过程中, 笔者有以下几点体会: 造模手术应严格无菌操作。此种造模方式需要行膝关节内侧切口, 并在关节腔内手术完成造模, 因此, 若不注意无菌操作, 很容易因感染而导致造模失败。前后交叉韧带只做切断, 无需切除; 处理前后交叉韧带的目的是为了造成膝关节不稳定, 因此, 只需要切断韧带就可, 以免加大创伤。内侧半

月板的切除应尽量彻底, 处理内侧半月板的目的, 其一是为了造成膝内翻, 改变肢体的力线; 其二是为了彻底破坏半月板对髌软骨的保护作用; 其三是为了改变膝关节间室的压力, 以模拟骨性关节炎的发病机理。因此, 内侧半月板要尽量多地切除, 以保证动物模型的质量。

膝骨性关节炎是一种关节软骨发生退行性改变的疾病。而关节软骨基质的正常结构和功能依赖于合成代谢和分解代谢的平衡, 此平衡是通过细胞因子来调控的。根据细胞因子对代谢的调节作用特征, 将其分为分解性细胞因子和合成性细胞因子^[3]。当细胞因子调控失常, 软骨的合成小于分解, 就会发展成骨性关节炎。在分解性因子中, 血清 TNF- α 及血清 IL-1 是最主要的两种因子^[4]。本实验显示, 随着骨性关节炎的加重, 两种因子的血清含量升高, 病情改善后, 两种因子的血清含量降低, 证实了细胞因子的失调是骨性关节炎的发病原因。然而, 骨性关节炎真正的发病过程是诸多细胞因子共同作用的一个复杂过程, 对其进一步的认识, 有待日后的深入研究。

腹针是薄智云教授创立的一种特殊针法。它通过针刺腹部穴位调节脏腑、经络及相关部位的气血功能, 从而达到治疗全身疾病的目的^[5]。本实验证实, 腹针治疗组较对照组可以降低试验动物血清中的 TNF- α 及 IL-1, 提示经过腹针治疗后, 可以使细胞因子对软骨的调控作用产生影响。因此, 可以推测调节细胞因子可能是腹针治疗膝骨性关节炎的作用机理或靶点之一, 但腹针的治疗作用机制及细胞因子的调控过程, 都是很复杂的, 本研究虽然揭示了两者之间存在一定的关联性, 然而, 仍然有诸多方面值得进一步深入探讨。

[参考文献]

- [1] 孙瑛. 实用关节炎诊断治疗学[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2002: 319-333.
- [2] 李宁华, 张耀南, 张毅, 等. 中国中老年人群手骨性关节炎患病危险因素地区比较分析[J]. 实用医学杂志, 2006, 22(13): 1575-1577.
- [3] 娄思权. 软骨修复和重建基础研究的现状[J]. 当代医学, 2001, 7(1): 35-38, 51.
- [4] Little CB, Flannery CR, Hughes CE, et al. Cytokine induced metalloproteinase expression and activity does not correlate with focal susceptibility of articular cartilage to degeneration[J]. Osteoarthritis and Cartilage, 2005, 13(2): 162-170.
- [5] 薄智云. 腹针疗法[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1999: 129-130.

(责任编辑: 刘淑婷)