

蒙医灸疗法抗衰老二三穴组穴 配伍规律实验研究*

□斯钦图** 阿古拉 (内蒙古医学院 呼和浩特 010059)

于天源 (北京中医药大学 北京 100029)

乌仁图雅 斯 琴 乌云格日乐 陈英松 (内蒙古医学院 呼和浩特 010059)

包伍叶 那仁格日乐 (内蒙古民族大学 通辽 028043)

摘 要:目的:在前期研究基础上,以顶会穴、胃穴、火衰穴、肾穴为切入点,通过实验研究探讨蒙医灸疗法抗衰老组穴配伍规律。方法:将 120 只 Wistar 大鼠随机分二穴组和三穴组,采用 D-半乳糖造模方法,观察和检测体重变化、SOD、CAT、MDA 变化、脾脏(胸腺)指数以及学习能力、记忆力等指标。结果:从血清 SOD、CAT、MDA 变化、脾脏(胸腺)指数以及学习能力、记忆力等相关指标的观察发现,二穴组配伍中的顶会穴、火衰穴配伍组和三穴组配伍中的顶会穴、火衰穴、肾穴配伍组与模型组比较,SOD 活性、MDA、CAT 含量均无显著差异($P>0.05$),其他配伍组 SOD 活性、CAT 含量均明显提高($P<0.01$)。从大鼠脾脏、胸腺指数变化上看,各配伍组大鼠脾脏、胸腺指数与模型对照组比较,明显提高($P<0.01$ 或 $P<0.05$),而与正常对照组比较无明显差异($P>0.05$)。顶会穴与火衰穴配伍组、肾穴与火衰穴配伍组以及顶会穴、火衰穴、肾穴配伍组学习能力、记忆力与模型对照组比较无明显差异($P>0.05$)。结论:①D-半乳糖衰老模型适用于蒙医灸疗法抗衰老有效穴位的筛选和配伍规律实验研究领域。②具有抗衰老作用的顶会穴、胃穴、火衰穴、肾穴在不同配伍组穴情况下显示出配伍禁忌。③该研究为灸疗法抗衰老临床提供了客观依据,能够促进蒙医灸疗法作用机理研究。

关键词:蒙医灸疗法 抗衰老 组穴配伍 实验研究

doi: 10.3969/j.issn.1674-3849.2010.06.027

随着蒙医灸疗法抗衰老研究的推进,多穴配伍规律研究已成了将来发展趋势。该课题近 3 年来,在探索灸疗法组穴原理^[1-2]、筛选有效抗衰老单穴^[3]的基础上,以顶会穴、胃穴、火衰穴、肾穴为切入点,通过施灸单穴抗衰老作用研究以及二穴、三穴组穴实验

研究,探讨蒙医灸疗法抗衰老组穴配伍规律,旨在为多穴组穴配伍规律研究奠定基础,推动和促进蒙医灸疗法抗衰老研究。

一、材料与方法

1. 材 料

(1) 动物。

收稿日期: 2010-03-20

修回日期: 2010-12-10

* 国家自然科学基金地区科学基金项目(30760323):蒙医灸疗法抗衰老组穴配伍规律实验研究,负责人:斯钦图。

** 通讯作者:斯钦图(蒙族),博士,教授,主要研究方向:蒙医传统疗法基础与临床研究,Tel:0475-8423529,E-mail:mdsq@163.com。

120 只纯种 7 个月龄 Wistar 大鼠, 体重为 270 ± 20 g、雄雌各半, 合格证号: SCXK(蒙)2002-0001。

(2) 器材。

UV-1601 型分光光度计、固定热水盒、AE160 型电子分析天平、高速冷冻离心机、4~20℃和 -80℃冰箱、水迷宫、游泳盒

(3) 试剂及施灸器。

D-半乳糖(南京建成生物研究中心, 批号: 20080122)、血清超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(南京建成生物研究中心, 批号: 20080328)、过氧化氢酶(CAT)试剂盒(南京建成生物研究中心, 批号: 20080521)、丙二醛(MDA)试剂盒(南京建成生物研究中心, 批号: 20080321)、艾灸由北京中医药大学提供, 直径 3mm, 长 1cm、灸垫厚度 0.5mm。

2. 方法

(1) 分组。

将 120 只 Wistar 大鼠按体重随机分成 12 组。分别为正常对照组、模型对照组、二穴组(按 C_4^2 组合方法组穴为: 顶会与胃穴组、顶会与火衰穴组、顶会与肾穴组、胃穴与火衰穴组、胃穴与肾穴组、肾穴与火衰穴组)和三穴组(按 C_4^3 组合方法组穴为: 顶会穴、胃穴、火衰穴组; 顶会穴、胃穴、肾穴组; 胃穴、火衰穴、肾穴组; 顶会穴、火衰穴、肾穴组)。造模前将大鼠雄雌分开, 在干净舒适环境中饲养。每天将更换颗粒饲料饮水和窝垫。实验第 6 周开始分别对所进饲料和水量进行记录。

(2) 造模。

除正常对照组外均用 D-半乳糖按每天 $150\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的比例颈背部皮下注射, 正常对照组注射同剂量生理盐水。在造模期间每周称一次大鼠体重, 并观察大鼠运动举止和皮毛的颜色等外部特征。造模时间为 6 周。出现大鼠皮毛颜色变黄脱落, 眼光变呆, 动作缓慢, 出现无精打采、驼背、怕冷, 体重增加不明显等外部特征, 与文献报道一致^[4], 即造模成功。

(3) 施灸。

从第 7 周开始施灸, 其中对正常对照组和模型对照组只给固定条件, 不做任何处理。对灸疗组参照文献^[5-6]在大鼠顶会穴(头颅正中间)、胃穴(在大鼠第 12 脊椎下凹处)、肾穴(在大鼠第 14 脊椎下凹处)、火衰穴(在脐上 10mm 处)剪去穴位周围鼠毛, 二穴、三穴进行施灸。合计时间为 15min, 7 天为一疗程, 隔一天施灸一次(每次行 3 艾柱), 共施灸 3 个

疗程。

(4) 迷宫实验。

灸疗结束前一周进行该试验, 用于大鼠的学习记忆能力的检验, 实验前进行培训。迷宫由塑料板制成的, 深度为 22cm, 水温度为 $24 \pm 1^\circ\text{C}$, 分终点、A、B、C 等 4 区, 终点区将设有大鼠的上岸台, 在做认识练习前, 先将大鼠放在岸台附近, 让大鼠自己上岸台两次, 其后分 3 个阶段进行训练。第 1 阶段: 封住 A 区的一端让大鼠从 A 区游到终点; 第 2 阶段: 训练大鼠从 B 区游到终点; 第 3 阶段: 训练大鼠从 C 区游到终点。每阶段进行 3 次训练。每次训练后休息 5min。整个训练过程结束后休息 2h 并开始检测。实验时将记录大鼠从 C 区到达终点安全岸台时所用的时间和在迷宫中出错次数, 5min 中内如果不出去的按 5min 记录。从而检测大鼠的学习技能, 24h 后再进行检查评定大鼠的记忆能力。

3. 标本收集及检测方法

采用断头取血方法, 将新取出的血放入高速离心机, 按 3500rpm 的速度离心 15min 后提取血清。超氧化物歧化酶(SOD)活性采用黄嘌呤氧化酶法测定, 丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法测定, 过氧化氢酶(CAT)含量采用比色法测定。之后取脾脏和胸腺, 用生理盐水洗干净后进行称重。计算出脾(胸腺)指数公式为: 脾(胸腺)指数 = 脾(胸腺)重量(mg)/体重(g)。

4. 统计方法

数据统计采用 spss17.0 软件处理。数据以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{X} \pm S$)表示, 各组之间比较用 Q 检验。

二、结果

1. 造模状况

正常对照组与模型对照组比较, 体重有明显差异 ($P < 0.01$), 表明造模后模型对照组体重增长变缓慢, 结果见表 1。

造模后各灸疗组与模型组大鼠体重比较, 各灸疗组大鼠体重增加比模型组快 ($P < 0.05$), 说明造模成

表 1 造模 3 周后正常对照组与模型对照组大鼠体重比较 ($\bar{X} \pm S$, $n=10$)

组别	体重(g)	P 值
正常对照组	307.54 ± 16.91	$P < 0.01$
模型对照组	245.52 ± 14.98	

功后模型组大鼠体重增长受限,见表2。除此之外,我们还观察到,模型大鼠动作比正常对照组变迟缓,毛色枯黄,精神萎靡不振等外部特征。

2. 不同组穴方法对血清超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

模型对照与组正常对照组比较,SOD活性明显下降($P<0.01$),二穴组中的顶会穴与火衰穴配伍组和三穴组中的顶会穴、火衰穴、肾穴配伍组与模型组比较,SOD活性无明显差异($P>0.05$),其他配伍组SOD活性均明显提高($P<0.01$),见表3。

3. 不同组穴方法对血清过氧化氢酶(CAT)含量的影响

模型对照组与正常对照组比较,CAT含量明显下降($P<0.01$),二穴组中的顶会穴、火衰穴组和三穴组中的顶会穴、火衰穴、肾穴组与模型组比较,CAT含量无明显差异($P>0.05$),其他组与模型对照组比较CAT含量明显增多($P<0.01$),见表4。

4. 不同组穴方法对血清丙二醛(MDA)含量的影响

二穴组中的顶会穴、肾穴配伍组和三穴组中的顶会穴、火衰穴、肾穴配伍组与模型组比较,MDA含量无明显差异($P>0.05$),其他各灸疗组血清MDA与模型组比较均有明显降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),见表5。

5. 不同组穴方法对大鼠脾和胸腺指数的影响

模型对照组与正常对照组比较,大鼠脾脏、胸腺指数明显低于正常对照组($P<0.01$);各灸疗组大鼠脾脏、胸腺指数明显高于模型对照组($P<0.05$)。大鼠脾脏、胸腺指数与正常对照组比较无明显差异,见表6。

6. 不同组穴方法对模型大鼠学习记忆力的影响

模型对照组与正常对照组比较,大鼠学习能力和记忆能力明显低于正常对照组($P<0.01$);二三穴组配伍中顶会穴与火衰穴配伍组、肾穴与火衰穴配伍组、顶会穴、火衰穴、肾穴配伍组学习能力和记忆能力与模型对照组比较无明显差异($P>0.05$),其他配伍组学习能力和记忆能力与模型对照组比较均有明显差异($P<0.01$ 或 $P<0.05$),见表7。

三、结论与讨论

正常对照组与模型对照组体重变化、SOD、CAT、MDA变化、脾脏(胸腺)指数以及学习能力、记忆力等指标的比较均有明显差异($P<0.01$ 或 $P<0.05$),说明本实验所用模型成功,D-半乳糖衰老模型适用于蒙医灸疗法抗衰老实验研究。

表2 造模后各灸疗组和模型对照组大鼠体重比较($\bar{X}\pm S$, $n=10$)

组别	体重
模型对照组	245.52±14.98
顶会、胃穴	340.64±49.81 [☆]
顶会、肾穴	338.68±47.00 [☆]
顶会、火衰穴	340.90±37.49 [☆]
胃穴、肾穴	342.04±46.96 [☆]
胃穴、火衰穴	338.51±42.88 [☆]
肾穴、火衰穴	337.00±37.57 [☆]
顶、胃、火衰	298.03±9.23 [☆]
顶、胃、肾	301.70±3.22 [☆]
胃、火衰、肾	301.05±11.12 [☆]
顶、火衰、肾	305.70±13.02 [☆]

注:☆各灸疗组与模型对照组之间比较 $P<0.05$ 。

表3 不同组穴方法各组之间SOD活性比较($\bar{X}\pm S$, $n=10$)

组别	SOD活性	P值
正常对照组	149.52±21.063	
模型对照组	61.19±29.617	$P<0.01^{**}$
顶会、胃穴	141.11±9.243	$P<0.01^{☆}$
顶会、肾穴	139.88±8.649	$P<0.01^{☆}$
顶会、火衰穴	80.68±26.057	$P>0.05^{☆}$
胃穴、肾穴	146.79±15.669	$P<0.01^{☆}$
胃穴、火衰穴	135.64±10.454	$P<0.01^{☆}$
肾穴、火衰穴	142.79±10.043	$P<0.01^{☆}$
顶、胃、火衰	162.03±10.13	$P<0.01^{☆}$
顶、胃、肾	158.70±9.32	$P<0.01^{☆}$
胃、火衰、肾	151.05±11.23	$P<0.01^{☆}$
顶、火衰、肾	68.70±9.09 [☆]	$P>0.05^{☆}$

注:※表示表示正常对照组与模型对照组比较;☆表示二、三穴组灸疗各组与模型组之间比较。

表4 不同组穴方法各组之间CAT含量比较($\bar{X}\pm S$, $n=10$)

组别	CAT含量	P值
正常对照组	131.861±17.50	
模型对照组	52.958±22.08	$P<0.01^{**}$
顶会、胃穴	120.83±23.33	$P<0.01^{☆}$
顶会、肾穴	126.67±20.28	$P<0.01^{☆}$
顶会、火衰穴	69.85±23.04	$P>0.05^{☆}$
胃穴、肾穴	127.79±15.45	$P<0.01^{☆}$
胃穴、火衰穴	121.76±18.73	$P<0.01^{☆}$
肾穴、火衰穴	83.25±27.89	$P<0.05^{☆}$
顶、胃、火衰	152.03±21.01	$P<0.01^{☆}$
顶、胃、肾	148.05±11.56	$P<0.01^{☆}$
胃、火衰、肾	150.23±19.03	$P<0.01^{☆}$
顶、火衰、肾	67.52±8.98	$P>0.05^{☆}$

注:※表示正常对照组与模型对照组比较;☆表示二、三穴配伍各灸疗与模型组之间比较。

表5 不同组穴方法各组之间 MDA 含量比较($\bar{X} \pm S, n=10$)

组别	MAD 含量	P 值
正常对照组	8.766±1.511	
模型对照组	14.1±3.26	P<0.01*
顶会、胃穴	10.24±1.69	P<0.01*
顶会、肾穴	13.78±2.32	P>0.05*
顶会、火衰穴	11.75±2.44	P<0.05*
胃穴、肾穴	9.98±1.452	P<0.01*
胃穴、火衰穴	11.68±2.84	P<0.05*
肾穴、火衰穴	11.06±2.082	P<0.05*
顶、胃、火衰	9.03±3.01	P<0.01*
顶、胃、肾	10.05±2.56	P<0.01*
胃、火衰、肾	10.23±3.03	P<0.01*
顶、火衰、肾	9.87±4.32	P>0.05*

注:※表示表示正常对照组与模型对照组比较;☆表示二、三穴配伍各灸疗与模型组之间比较。

表6 各组大鼠脾和胸腺指数对比情况($\bar{X} \pm S, n=10$)

组别	脾指数	胸腺指数	P 值			
正常对照组	0.887±0.429	0.583±0.085				
模型对照组	0.582±0.194	0.442±0.041		P<0.01*	P<0.01**	
顶会、胃穴	0.783±0.347	0.498±0.099	P<0.05*	P>0.05**	P<0.05△	P>0.05△△
顶会、肾穴	0.793±0.344	0.573±0.036	P<0.05*	P>0.05**	P<0.05△	P>0.05△△
顶会、火衰穴	0.831±0.284	0.531±0.015	P<0.05*	P>0.05**	P<0.05△	P>0.05△△
胃穴、肾穴	0.828±0.167	0.519±0.067	P<0.05*	P>0.05**	P<0.05△	P>0.05△△
胃穴、火衰穴	0.783±0.196	0.567±0.074	P<0.05*	P>0.05**	P<0.05△	P>0.05△△
肾穴、火衰穴	0.822±0.249	0.516±0.065	P<0.05*	P>0.05**	P<0.05△	P>0.05△△
顶、胃、火衰	0.793±0.301	0.536±0.065	P<0.05*	P>0.05**	P<0.05△	P>0.05△△
顶、胃、肾	0.851±0.256	0.516±0.061	P<0.05*	P>0.05**	P<0.05△	P>0.05△△
胃、火衰、肾	0.823±0.303	0.516±0.064	P<0.05*	P>0.05**	P<0.05△	P>0.05△△
顶、火衰、肾	0.819±0.324	0.526±0.062	P<0.05*	P>0.05**	P<0.05△	P>0.05△△

注:※表示表示正常对照组与模型对照组脾指数比较;※※表示表示正常对照组与模型对照组胸腺指数比较;☆表示各灸疗组与模型对照组之间脾指数比较;☆☆表示各灸疗组与正常对照组之间脾指数比较;△表示各灸疗组与模型组之间胸指数比较;△△表示各灸疗组与正常对照组之间胸指数比较。

表7 各组大鼠学习记忆力的对比($\bar{X} \pm S, n=10$)

组别	学习能力	记忆能力	P 值	
正常对照组	0.635±0.733	0.847±0.961		
模型对照组	2.982±1.789	3.663±1.665	P<0.01*	P<0.01**
顶会、胃穴	1.726±1.437	2.129±1.686	P<0.05*	P<0.05**
顶会、肾穴	0.829±0.323	1.053±0.776	P<0.01*	P<0.01**
顶会、火衰穴	2.917±1.803	3.278±1.045	P>0.05*	P>0.05**
胃穴、肾穴	1.064±1.182	1.977±1.742	P<0.01*	P<0.05**
胃穴、火衰穴	1.442±1.454	1.485±1.661	P<0.05*	P<0.01**
肾穴、火衰穴	2.906±1.494	3.552±1.495	P>0.05*	P>0.05**
顶、胃、火衰	1.733±1.201	1.486±1.035	P<0.01*	P<0.05**
顶、胃、肾	1.942±0.956	1.416±1.762	P<0.01*	P<0.05**
胃、火衰、肾	1.833±0.802	1.516±1.373	P<0.01*	P<0.05**
顶、火衰、肾	2.819±1.342	3.496±0.863	P>0.05*	P>0.05**

注:※表示表示正常对照组与模型对照组之间学习能力比较;※※表示表示正常对照组与模型对照组之间记忆能力比较;☆表示各灸疗组与模型组之间学习能力比较;☆☆表示各灸疗组与模型组之间记忆能力比较。

二穴组配伍中的顶会穴、火衰穴配伍组和三穴组配伍中的顶会穴、火衰穴、肾穴配伍组与模型组比较,SOD 活性、MDA、CAT 含量均无显著差异,这可能说明,这 3 个具有抗衰老作用的单穴在配伍时互相抵消或 3 个穴位作用途径并不是通过同样机理完成的,这对灸疗法抗衰老临床组穴配伍给于实验学提示,也就是临床上的配伍禁忌。我们从大鼠脾脏、胸腺指数变化上看到,各配伍组大鼠脾脏、胸腺指数与模型对照组比较,差异显著(P<0.01 或 P<0.05),而与正常对照组比较无明显差异(P>0.05)。说明蒙医灸疗法抗衰老是通过提高免疫力来达到目的的,但并不是唯一的抗衰老途径。

顶会穴与火衰穴配伍组、肾穴与火衰穴配伍组

以及顶会穴、火衰穴、肾穴配伍组学习能力、记忆力与模型对照组比较无明显差异(P>0.05),说明顶会穴的“开窍醒目、通白脉”^[7]作用与肾穴的“固精补肾,补翁格吉勒”^[8]途径与火衰穴“助胃火,促进精华糟粕分化”^[9]等作用在同时施灸时可能互相干扰。除了上述配伍禁忌外,该 4 个穴位在抗衰老临床上可以自由配伍组穴。该结论能够为抗衰老临床提供客观依据。

蒙医灸疗法抗衰老作用

研究是近年来兴起新研究领域,也是蒙医传统疗法作用研究中的前沿课题,我们认为蒙医灸疗法抗衰老途径不仅仅表现在上述方面,可能还有其他作用途径^[10],该研究只是蒙医灸疗法作用机理研究的开端,因为实验经验和条件所限,主要是采取正常对照组与模型对照组之间比较和模型对照组与各灸疗组之间进行

比较方法,我们下一步将通过寻找更先进成熟模型大鼠、更敏感、特异性更强得客观指标,努力揭示蒙医灸疗抗衰老奥秘,为蒙医灸疗法甚至各民族医学外治疗法作用机理研究提供更可靠的客观依据,促进民族医学外治疗法作用机理研究。

参考文献

- 1 斯钦图,乌云格日乐.“胃穴”、“火降穴”施灸对功能性消化不良大鼠的影响及其组穴原理.针灸临床杂志,2008,3(24):33~35.
- 2 乌云格日乐,斯钦图.蒙医灸疗法对功能性消化不良模型大鼠胃排空和血浆胃动素、血清促胃液素的影响.内蒙古医学院学报,2008,3(30):30195~30198.
- 3 包伍叶,斯钦图.蒙医灸疗法对衰老模型大鼠血清SOD、MDA的影响.内蒙古民族大学学报(自然科学版),2008,1(23):75~76.
- 4 徐智,吴国明,钱桂生,等.大鼠衰老模型的初步建立.第三军医大学学报,2003,4(25):312~315.
- 5 林文注,王佩.实验针灸学.上海:上海科学技术出版社,1999:285.
- 6 成英松.蒙医实验疗法学.内蒙古大学出版社,2008.
- 7 白青云主编.中国百科全书?蒙医学(下).赤峰:内蒙古科技出版社,1987:751.
- 8 明干巴雅尔主编.五种疗法.赤峰:内蒙古科技出版社,1984:238.
- 9 博.阿古拉.蒙医传统疗法大成.赤峰:内蒙古科学技术出版社,2000:358.
- 10 乌云格日乐,斯钦图.蒙医灸疗的保健作用及其机理.中国民族医药杂志,2007,4(4):72~74.

Experimental Study on Two and Three Acupoint Combination of Anti-aging Acupoints in Mongolian Moxibustion

Siqintu¹, Agula¹, Yu Tianyuan², Wurentuya¹, Siqin¹, Wuyungerile¹, Cheng Yinsong¹, Baowuyer³, Narengerile³

(1. Inner Mongolia Medical College, Huhhot 010059, China;

2. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

3. Inner Mongolian University for the Nationalities, Tongliao 028043, China)

Abstract: This study aimed to study Mongolian moxibustion rules for anti-aging through experiments. Based on previous studies, acupoints such as Dinghui, Stomach point, Huoshuai, and Kidney point are used in the study. All 120 Wistar rats were divided into the two-acupoint group and three-acupoint group randomly. D-galactose was used in the establishment of models. The change of indexes, such as weight, SOD, CAT, MDA was observed. The spleen (thymus) index, study ability and memory were also measured. The results showed that there was no obvious difference of the content change of SOD, MDA and CAT between the two-acupoint (Dinghui and Huoshuai) group and the three-acupoint (Dinghui, Huoshuai and Kidney point) group ($P>0.05$). The SOD was also obviously increased in groups with other combinations ($P<0.01$). Compared with the model group, the spleen (thymus) index was obviously increased in all groups ($P<0.01$, or $P<0.05$). But there was no remarkable difference ($P>0.05$) comparing with normal control group. There was no obvious difference among the model group with Dinghui-Huoshuai combination, Kidney-Huoshuai combination, and Dinghui-Huoshuai-Kidney combination on the aspect of study ability and memory ($P>0.05$). The results showed that D-galactose aging model was suitable for the research of screening effective acupoints and combination rules for applying Mongolian moxibustion for anti-aging treatment. The combination contradictions were shown among different combinations with Dinghui, Stomach point, Huoshuai, and Kidney point. This study also provided objective basis for Mongolian moxibustion in anti-aging treatment. It also provided experiences for the mechanism of Mongolian moxibustion.

Keywords: Mongolian moxibustion treatment, Anti-aging treatment, Acupoint combination, Experimental study

(责任编辑:张志华 李沙沙,责任译审:王 晶)