

克痹宁凝胶对佐剂性关节炎大鼠的缓解作用

徐志立, 梁晗业, 陶新知, 张明波, 窦德强, 康廷国*
(辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600)

摘要: **目的** 考察克痹宁凝胶对佐剂性关节炎大鼠的缓解作用。**方法** 弗氏完全佐剂建立模型, 50只大鼠随机分为正常对照组, 模型对照组, 克痹宁凝胶高、中、低剂量组(1.2、0.6、0.3 g/kg), 每组10只。给药后, 测定大鼠体质量、关节炎指数、足趾肿胀率、耳肿胀率、甲醛致痛分值, 试剂盒法检测SOD活性及MDA、TNF- α 含量, 观察大鼠踝关节病理学变化。**结果** 与模型对照组比较, 克痹宁凝胶组可显著抑制大鼠原发性、继发性炎性足肿胀, 抑制迟发型免疫反应, 降低甲醛致痛反应($P < 0.05$, $P < 0.01$); 明显升高SOD活性, 降低MDA和TNF- α 含量($P < 0.05$, $P < 0.01$); 缓解关节水肿及淋巴细胞浸润。**结论** 克痹宁凝胶可通过下调TNF- α 、抑制脂质过氧化来改善佐剂性关节炎大鼠症状及组织病理损伤。

关键词: 克痹宁凝胶; 佐剂性关节炎; 缓解作用

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2018)10-2135-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.10.005

Alleviating effects of Kebining Gel on adjuvant arthritis in rats

XU Zhi-li, LIANG Han-ye, TAO Xin-zhi, ZHANG Ming-bo, DOU De-qiang, KANG Ting-guo*
(College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

KEY WORDS: Kebining Gel; adjuvant arthritis; alleviating effects

类风湿关节炎是可导致患者丧失劳动力及致残的全球分布性疾病^[1], 目前其病因尚不明确, 尚无根治方案及预防措施, 其治疗目的主要为缓解症状, 保持关节功能, 提高生活质量, 临床常用治疗药物包括非甾体类抗炎药、慢作用抗风湿药、糖皮质激素类^[2], 但长期使用后均会引起不良反应, 如消化道溃疡、骨髓抑制、免疫力低下、肝肾损害、心脏毒性等, 从而导致治疗中断、治疗失败甚至药源性疾病发生^[3]。

根据临床表现及中医辨证, 风湿及类风湿性关节炎、骨关节炎、反应性关节炎等均属于中医“痹证”的范畴, 祖国医学对“痹证”病因、病机及辨证论治的探讨有两千多年的历史, 已形成较完整的理论体系, 临床疗效确切, 不良反应少, 有着独特的优势^[4], 相关中药的药效与机制考察始终是中医临床与基础研究的热点^[3]。近年来, 临床上中药复方治疗在缓解病情、改善证候等方面具有

不可替代的价值^[5], 被患者高度肯定。

克痹宁凝胶来源于临床验方, 由杜仲、桑寄生、威灵仙、丹参、地龙、生地、木瓜、乌梢蛇、三七、独活、红花、白芍、鸡血藤、当归、蜈蚣15味药材组成, 功效益肝肾、补气血、祛风湿, 可有效减轻“痹证”的临床症状。方中杜仲味甘性温, 补肝肾, 强筋骨; 独活辛散苦燥、气香性温, 祛风湿, 止痹痛; 威灵仙辛散温通, 性猛善走, 既祛风湿, 又通经络、止痛; 乌梢蛇性走窜, 能搜风邪, 透关节, 通经络; 木瓜善舒筋活络, 和胃化湿; 桑寄生祛风湿, 补肝肾, 强筋骨, 并且独活为君药, 威灵仙、木瓜、鸡血藤、乌梢蛇俱为臣药, 地龙、蜈蚣、丹参、红花、三七、当归、杜仲、桑寄生、生地、白芍共为佐药。

“痹证”以肢体关节疼痛、肿胀、酸楚、麻木、重着及活动不利为主要症状, 病因以风、寒、湿邪为主^[6]。为了将克痹宁凝胶开发成防治类风

收稿日期: 2017-07-14

基金项目: 中国博士后科学基金资助项目(2012M510834)

作者简介: 徐志立(1972—), 男, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为中药药理学。E-mail: xu_zhili@126.com

* 通信作者: 康廷国(1955—), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药鉴定学。E-mail: kangtg@lnutcm.edu.cn

湿关节炎的新型中成药, 本实验参考文献 [7], 采用弗氏完全佐剂结合佐剂性关节炎大鼠模型, 考察该制剂对佐剂性关节炎的治疗作用, 为相关新药开发与深入研究提供药理学依据。

1 材料

1.1 动物 SD 大鼠, 雌雄各半, 体质量 220 ~ 240 g, 购自辽宁长生生物技术有限公司, 许可证号 SCXK (辽) 2010-0001。于清洁级环境中饲养, 温度 (22 ± 2) °C, 相对湿度 40% ~ 60%, 控制照明时间为 14 h, 适应 2 周后开始实验。

1.2 试药 杜仲、桑寄生、威灵仙、丹参、地龙、生地、木瓜、乌梢蛇、三七、独活、红花、白芍、鸡血藤、当归、蜈蚣均购自大连国药大药房, 经辽宁中医药大学中药鉴定教研室初正云教授鉴定为正品。弗氏完全佐剂 (美国 Sigma 公司, 批号 SLBM9312V); 超氧化物歧化酶 (SOD) (批号 20161226)、丙二醛 (MDA) (批号 20161222)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) (批号 20170103) ELISA 检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.3 仪器 MR-96A 型酶标仪 (深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司); UV-5600 型紫外可见分光光度计 (上海元析仪器有限公司); TG-16W 型台式离心机 (长沙湘仪离心机有限公司); MA240D 型电子分析天平 (上海第二天平仪器厂)。

2 方法

2.1 凝胶制备^[8-10]

2.1.1 药材称取 杜仲 6 g, 桑寄生 6 g, 威灵仙 7 g, 丹参 6 g, 地龙 5 g, 生地 8 g, 木瓜 6 g, 乌梢蛇 6 g, 三七 5 g, 独活 5 g, 红花 5 g, 白芍 6 g, 鸡血藤 6 g, 当归 7 g, 蜈蚣 3 g。

2.1.2 醇提物制备 将白芍、杜仲、威灵仙、桑寄生、丹参、三七、独活、红花加 75% 乙醇浸泡后, 90 °C 回流提取 3 次, 即得。

2.1.3 水提物制备 将生地、地龙、鸡血藤、当归、蜈蚣、乌梢蛇、木瓜加水浸泡后, 75 °C 下回流提取 3 次, 即得。

2.1.4 基质配制 称取卡波姆 3 g, 加蒸馏水溶胀后放置过夜, 第 2 天将其搅拌均匀, 加入 4 g 三乙胺、10 g 甘油, 搅拌均匀。再称取对羟基苯甲酸酯 0.5 g, 加到 10% 乙醇中搅拌均匀, 倒入卡波姆溶液中, 加入蒸馏水使其总质量为 200 g, 充分搅拌使其成为均匀的黏稠状, 即得。

2.1.5 浓缩 将“2.1.2” ~ “2.1.3”项下提取液混合, 置于旋转蒸发仪中, 75 °C 下浓缩

(90 g), 将浓缩液与 200 g “2.1.4”项下基质混合, 搅拌均匀, 即得凝胶 (每 100 g 凝胶中含有 30 g 生药)。

2.2 分组及模型建立^[11-13] 大鼠适应性饲养 2 周后, 随机选出 10 只作为正常对照组, 其余均用于造模。禁食 12 h 后, 除正常对照组外, 其余大鼠置于 4 ~ 8 °C 冷水中, 水面高度 2 cm, 30 min 后取出, 电风扇吹干大鼠身体, 右后足垫皮下注射弗氏完全佐剂 (0.1 mL/只), 正常组大鼠注射等体积生理盐水, 连续 2 d。致炎后 9 d, 大鼠左后足相继出现继发性关节炎症状及双前肢的关节红肿, 精神萎靡、毛发松散, 表明模型成功建立, 选择 40 只大鼠, 按体质量随机分为 4 组, 每组 10 只, 分别为模型对照组及克痹宁凝胶高、中、低剂量组 (1.2、0.6、0.3 g/kg), 给药组大鼠四肢涂抹凝胶, 正常对照组、模型对照组大鼠四肢涂抹凝胶基质, 每天 1 次, 连续 28 d。

2.3 大鼠一般体征及关节炎指数测定 观察造模及给药前后大鼠体毛色泽、神志、四肢活动、食量增减、体质量变化。分别在大鼠给药后 14 d (弗氏完全佐剂致炎后 23 d)、28 d (弗氏完全佐剂致炎后 37 d) 记录大鼠四肢关节病变程度, 根据文献 [14-15] 记录临床评分: 0 分, 无红肿; 1 分, 单个趾关节明显红肿; 2 分, 数个趾关节明显红肿; 3 分, 整个足及跖关节明显红肿; 4 分, 严重的关节肿胀或变形。

2.4 克痹宁凝胶对大鼠关节炎原发病变的抗炎作用^[16-17] 取 50 只大鼠, 按体质量随机分为 5 组, 即正常对照组、模型对照组及克痹宁凝胶高、中、低剂量组 (1.2、0.6、0.3 g/kg), 各组每天给药 1 次, 连续 20 d。第 5 天给药 1 h 后, 游标卡尺测定给药前后大鼠右后足趾厚度, 计算肿胀率, 公式为 肿胀率 = [(致炎后足趾厚度 - 致炎前足趾厚度) / 致炎前足趾厚度] × 100%。

2.5 克痹宁凝胶对大鼠关节炎继发病变的抗炎作用^[18] 致炎后第 9 天给药, 于给药后第 3 天 (致炎后第 12 天)、第 7 天 (致炎后第 16 天)、第 14 天 (致炎后第 23 天)、第 21 天 (致炎后第 30 天)、第 28 天 (致炎后第 37 天) 测定继发性左后足肿胀。

2.6 克痹宁凝胶对大鼠迟发型超敏反应 (DTH) 的影响^[19] 给药后第 22 天, 各组大鼠腹部脱毛, 50 μ L 0.5% 二硝基氟苯丙酮溶液涂抹于腹部致敏, 第 27 天 20 μ L 0.5% 二硝基氟苯丙酮溶液涂抹于大

鼠右耳激发。24 h 后处死动物，左右耳相同部位用 8 mm 打孔器取耳片，称定质量，计算耳肿胀率，公式为肿胀率 = [(右耳片重 - 左耳片重) / 左耳片重] × 100%。

2.7 克痹宁凝胶对大鼠甲醛致痛的影响^[20] 末次给药后 2 h，于大鼠左足趾皮下注射 50 μL 2.5% 甲醛，观察 1 ~ 10 min (第 1 时相) 和 10 ~ 30 min (第 2 时相) 的行为反应。评分标准为抬足 1 次，计 1 分；舔足、咬足或抖足 1 次，计 2 分，计算大鼠 2 个时相内的累积得分。

2.8 克痹宁凝胶对大鼠 SOD 活性，MDA、TNF-α 含有量的影响^[21-22] 末次给药 2 h 后，各组大鼠眼眶后静脉丛采血，离心取上清，按试剂盒说明书测定血清中 SOD 活性，MDA、TNF-α 含有量。

2.9 克痹宁凝胶对大鼠踝关节组织形态学的影响^[23] 末次给药 2 h 后，各组大鼠处死，取下包括踝关节在内的整个右后足，4% 多聚甲醛固定 48 h，10% 硝酸脱钙完全后，常规脱水，透明，浸蜡，包埋，切片，HE 染色，显微镜下观察病理

变化。

2.10 统计学分析 通过 SPSS 21.0 软件进行统计学处理，结果以 ($\bar{x} \pm s$) 表示，组间比较采用方差分析和 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 为具有显著性差异。

3 结果

3.1 克痹宁凝胶对大鼠一般体征及关节炎指数的影响 在免疫初期，大鼠饮食量、精神状态、自主活动等无明显改变；在 9 ~ 11 d 内，大鼠四肢从足趾部分开始，首先出现皮肤、足趾部位红肿等炎症信号；随着时间延长，大鼠食欲减退，毛色稀疏，活动减少，生殖器红肿，部分大鼠在尾部、耳部出现炎症小结，后肢关节硬化，并逐渐丧失运动功能，体质量增长减慢。表 1 显示，与模型对照组比较，给药 10 d 后克痹宁凝胶高剂量组可显著增加大鼠体质量，给药 14 d 后高、中剂量组也有上述作用 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。表 2 显示，与模型对照组比较，给药 14、28 d 后克痹宁凝胶高、中剂量组大鼠关节炎指数显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

表 1 克痹宁凝胶对大鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Tab. 1 Effect of Kebining Gel on rat body weight ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	造模前/g	给药前/g	给药后/g						
			3 d	7 d	10 d	14 d	17 d	21 d	24 d
正常对照组	304.80 ± 22.10	322.00 ± 20.44	336.00 ± 28.04	346.40 ± 28.73	361.60 ± 17.74	383.60 ± 25.53	397.00 ± 26.94	418.40 ± 27.29	448.40 ± 28.48
	301.29 ± 17.81	294.43 ± 28.30 ^{##}	282.73 ± 28.60 ^{##}	297.01 ± 29.16 ^{##}	301.10 ± 31.59 ^{##}	297.89 ± 30.34 ^{##}	316.16 ± 20.16 ^{##}	323.31 ± 24.41 ^{##}	339.34 ± 24.58 ^{##}
模型对照组	298.80 ± 20.50	292.87 ± 27.23	309.73 ± 34.97	318.36 ± 38.60	328.11 ± 39.16 [*]	346.47 ± 30.50 ^{**}	359.47 ± 29.24 ^{**}	366.33 ± 33.68 ^{**}	375.29 ± 34.26 ^{**}
	303.17 ± 19.42	299.14 ± 12.62	302.44 ± 25.97	298.06 ± 30.69	305.21 ± 18.63	327.26 ± 30.07 ^{**}	343.89 ± 19.58 ^{**}	348.17 ± 28.52 [*]	359.59 ± 30.85
克痹宁凝胶高剂量组	297.49 ± 26.92	298.87 ± 19.14	312.09 ± 17.64	297.84 ± 18.29	299.74 ± 25.15	313.37 ± 26.58	335.79 ± 20.39	346.97 ± 22.90	357.43 ± 21.55
	297.49 ± 26.92	298.87 ± 19.14	312.09 ± 17.64	297.84 ± 18.29	299.74 ± 25.15	313.37 ± 26.58	335.79 ± 20.39	346.97 ± 22.90	357.43 ± 21.55

注:与正常对照组比较,^{##} $P < 0.01$;与模型对照组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$

表 2 克痹宁凝胶对大鼠关节炎指数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Tab. 2 Effect of Kebining Gel on rat arthritis index ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	14 d	28 d
正常对照组	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
模型对照组	9.8 ± 2.0 ^{##}	8.8 ± 0.8 ^{##}
克痹宁凝胶高剂量组	7.2 ± 1.2 ^{**}	4.1 ± 1.4 ^{**}
克痹宁凝胶中剂量组	8.4 ± 1.4 [*]	5.6 ± 0.8 ^{**}
克痹宁凝胶低剂量组	9.3 ± 1.8	7.7 ± 1.4

注:与正常对照组比较,^{##} $P < 0.01$;与模型对照组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$

3.2 克痹宁凝胶对大鼠原发性足趾肿胀的影响 表 3 显示，与正常对照组比较，模型对照组大鼠右后足趾肿胀率显著升高 ($P < 0.01$)；与模型

对照组比较，克痹宁凝胶高、中剂量组其肿胀率显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

3.3 克痹宁凝胶对大鼠继发性足趾肿胀的影响 表 4 显示，各组大鼠给药后 3、7、14、21、28 d 均出现继发性左后足趾肿胀，与正常组比较差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)；给药后 14 d，克痹宁凝胶高、中剂量组大鼠左后足趾肿胀率显著降低 ($P < 0.01$)。

3.4 克痹宁凝胶对大鼠耳肿胀及甲醛致痛的影响 表 5 显示，与模型对照组比较，克痹宁凝胶高、中剂量组耳肿胀率、甲醛致痛分值显著降低 ($P < 0.01$)，同时低剂量组也可显著降低甲醛致痛分值 ($P < 0.01$)。

表3 克痹宁凝胶对大鼠原发性足趾肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 3 Effect of Kebining Gel on primary rat toe swelling ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	致炎前足趾		致炎后足趾肿胀率/%				
	厚度/mm		1 d	3 d	6 d	9 d	12 d
正常对照组	5.61 ± 0.38	6.76 ± 2.63	5.31 ± 3.14	6.52 ± 3.90	4.90 ± 2.90	5.04 ± 3.70	4.16 ± 2.15
模型对照组	5.58 ± 0.39	77.84 ± 10.54 ^{###}	58.35 ± 16.69 ^{###}	64.65 ± 11.78 ^{###}	64.30 ± 9.20 ^{###}	55.22 ± 28.49 ^{###}	52.09 ± 11.86 ^{###}
克痹宁凝胶高剂量组	5.52 ± 0.20	51.75 ± 18.52 ^{**}	35.47 ± 8.13 ^{**}	48.96 ± 8.26 ^{**}	32.08 ± 12.55 ^{**}	29.40 ± 4.18 ^{**}	23.49 ± 4.05 ^{**}
克痹宁凝胶中剂量组	5.59 ± 0.30	57.30 ± 18.33 ^{**}	42.36 ± 13.46 ^{**}	46.49 ± 16.17 ^{**}	43.21 ± 11.26 ^{**}	39.70 ± 9.23 [*]	34.92 ± 6.72 ^{**}
克痹宁凝胶低剂量组	5.54 ± 0.44	75.19 ± 12.74	50.98 ± 13.82	64.61 ± 9.25	51.47 ± 8.66	62.90 ± 10.53	59.83 ± 15.37

注:与正常对照组比较,^{###} $P < 0.01$;与模型对照组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$

表4 克痹宁凝胶对大鼠继发性足趾肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 4 Effect of Kebining Gel on secondary rat toe swelling ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	给药前左后		给药后右后足趾肿胀率/%			
	足趾厚度/mm		3 d	7 d	14 d	21 d
正常对照组	5.17 ± 0.33	0.85 ± 0.23	1.35 ± 0.40	1.13 ± 0.24	1.88 ± 0.55	1.37 ± 0.43
模型对照组	5.25 ± 0.45	7.26 ± 1.67 ^{###}	25.99 ± 9.61 ^{###}	26.23 ± 7.03 ^{###}	22.20 ± 6.81 ^{###}	20.77 ± 6.00 ^{###}
克痹宁凝胶高剂量组	5.29 ± 0.37	6.95 ± 2.26	22.65 ± 3.99	13.23 ± 4.15 ^{**}	12.85 ± 4.84 ^{**}	8.92 ± 1.56 ^{**}
克痹宁凝胶中剂量组	5.26 ± 0.29	7.58 ± 2.13	22.31 ± 3.36	15.69 ± 3.30 ^{**}	13.99 ± 2.81 ^{**}	12.87 ± 4.20 ^{**}
克痹宁凝胶低剂量组	5.27 ± 0.34	6.89 ± 2.53	23.60 ± 3.23	20.59 ± 2.99	17.82 ± 3.81	17.90 ± 2.76

注:与正常对照组比较,^{###} $P < 0.01$;与模型对照组比较,^{**} $P < 0.01$

表5 克痹宁凝胶对大鼠耳肿胀及甲醛致痛的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 5 Effects of Kebining Gel on rat ear swelling and formaldehyde-induced pain ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	耳肿胀率/%	甲醛致痛分值	
		第1时相(1~10 min)	第2时相(10~30 min)
正常对照组	36.07 ± 11.08	2.5 ± 1.2	1.2 ± 1.2
模型对照组	101.92 ± 14.60 ^{###}	33.7 ± 4.1 ^{###}	15.0 ± 2.9 ^{###}
克痹宁凝胶高剂量组	59.45 ± 15.91 ^{**}	11.3 ± 3.1 ^{**}	3.3 ± 1.3 ^{**}
克痹宁凝胶中剂量组	71.51 ± 8.83 ^{**}	16.0 ± 3.0 ^{**}	5.4 ± 1.8 ^{**}
克痹宁凝胶低剂量组	94.71 ± 14.02	19.9 ± 2.7 ^{**}	6.5 ± 1.4 ^{**}

注:与正常对照组比较,^{###} $P < 0.01$;与模型对照组比较,^{**} $P < 0.01$

3.5 克痹宁凝胶对大鼠SOD活性及MDA、TNF- α 含有量的影响 表6显示,与正常对照组比较,模型对照组大鼠SOD活性显著降低,MDA、TNF- α 含有量显著升高($P < 0.01$);与模型对照组比较,克痹宁凝胶高、中剂量组大鼠SOD活性显著升高,MDA、TNF- α 含有量显著降低($P < 0.01$)。

表6 克痹宁凝胶对大鼠SOD活性及MDA、TNF- α 含有量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 6 Effects of Kebining Gel on SOD activity and MDA, TNF- α contents in rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	SOD/ (U·mL ⁻¹)	MDA/ (nmol·mL ⁻¹)	TNF- α / (ng·L ⁻¹)
正常对照组	144.25 ± 15.32	7.75 ± 1.98	31.25 ± 3.59
模型对照组	87.13 ± 16.12 ^{###}	17.10 ± 3.20 ^{###}	57.93 ± 13.54 ^{###}
克痹宁凝胶高剂量组	130.60 ± 8.02 ^{**}	9.94 ± 1.80 ^{**}	33.46 ± 2.28 ^{**}
克痹宁凝胶中剂量组	117.79 ± 10.43 ^{**}	11.29 ± 1.50 ^{**}	42.28 ± 10.15 ^{**}
克痹宁凝胶低剂量组	106.23 ± 11.72	13.35 ± 2.80	50.74 ± 22.99

注:与正常对照组比较,^{###} $P < 0.01$;与模型对照组比较,^{**} $P < 0.01$

3.6 克痹宁凝胶对大鼠关节组织病理学变化的影
2138

响 图1显示,正常组大鼠踝关节滑膜未见充血、水肿,滑膜皱褶处无淋巴细胞浸润;模型组大鼠关节滑膜可见明显的充血、水肿,滑膜皱褶处上皮细胞明显增生并见明显的淋巴细胞浸润;克痹宁凝胶高剂量组大鼠踝关节滑膜略见水肿,滑膜皱褶处未见淋巴细胞浸润;中、低剂量组大鼠踝关节滑膜见充血、水肿,滑膜皱褶处见少许淋巴细胞浸润。

4 讨论

上个世纪80年代,名老中医焦树德教授提出现代医学中的类风湿性关节炎、强直性脊柱炎等(尤其是前者)归属中医“尪痹”之证^[24],是指具有关节变形或骨质破坏的痹病,病机在于风寒湿邪入肾伤骨,骨质受损,关节变形;病邪深入至肝肾致骨损肉削,寒湿、贼风、痰浊、瘀血,互为胶结、凝聚不散,使病情持续加重,临床治疗常采用具有破血行气、通经止痛之功效的中药,从而达到祛风除湿、通筋活络的目的^[25]。中药外治是祖国医学重要组成部分,亦为治疗类风湿关节炎不可忽

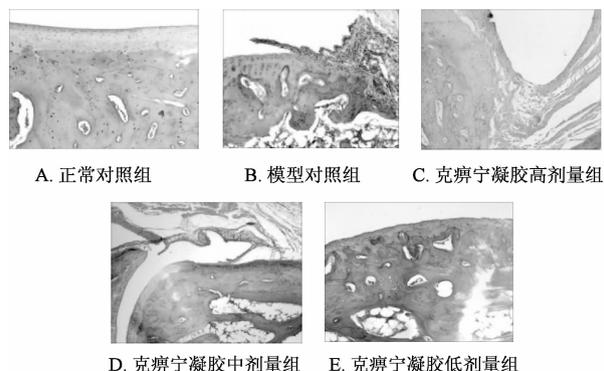


图1 大鼠踝关节组织病理变化 (×100)

Fig. 1 Histopathological changes of rat ankle joints(×100)

视的重要方法,《理论骈文》云:“外治之理,即内治之理,外治之药,即内治之药,所异者法耳。医理药性无二,而法则神奇变化”。中药熏蒸、贴敷辛温祛寒,祛风除湿,可直达身体各关节,促进局部血液循环,有着驱寒、散热除湿、活血通络等功效,从而达到治疗类风湿关节炎的目的^[26]。

类风湿关节炎动物模型的建立方法包括胶原诱导性关节炎模型、佐剂性关节炎模型、胶原抗体诱导性关节炎模型等^[27],其中佐剂性关节炎是一种广泛应用的动物模型,其建模原理是由于结核杆菌上某些蛋白分子与关节滑膜上某些糖蛋白分子具有结构相似性,从而形成抗体,诱发对关节的免疫反应。大鼠右后足注射弗氏完全佐剂后18h,即可出现明显的足肿胀(原发性炎症),2~3周达到高峰,随后有自愈倾向;免疫后继发病变在第10天开始出现,3周左右达到高峰,在造模对侧和前爪出现肿胀,并呈进行性加重、活动不便、耳和尾部出现类风湿结节等现象,这些继发性自身免疫性肿胀与人类类风湿关节炎表现相近,可为探索药物对该疾病初期炎症的缓解作用及关节功能的保护作用提供较理想的实验模型^[27]。

克痹宁凝胶来源于临床常用验方,在中医外治法理论指导下采用现代中药制剂技术制成凝胶剂型,可用于皮肤、黏膜及腔道,避免口服给药存在的首过消除,减轻传统膏剂使用时吸收慢、不规则等缺陷,以及应用过程中产生的过敏、皮疹等不良反应,具有使用方便、舒适、生物相容性好、工艺条件简单等优点,适合中药复方制剂的生产,便于推广应用。

本实验结合风寒湿邪诱因建立佐剂性关节炎大鼠模型,既运用中医发病学说,又考虑西医致病机制,更接近中医“尪痹”证候。结果显示,与正

常对照组比较,各组大鼠右后足趾出现原发性肿胀,对侧及前肢足趾出现继发性肿胀,关节炎指数升高,体质量增长缓慢,提示造模成功;克痹宁凝胶组可明显抑制大鼠足趾肿胀,降低关节炎指数,增加体质量,对关节炎具有显著缓解作用,同时组织病理学检查发现,该组大鼠踝关节水肿、滑膜淋巴细胞浸润均明显减轻,可通过抑制炎症细胞浸润改善类风湿关节炎症状。

氧化应激在类风湿关节炎发病过程中起到重要作用,可导致过氧化损伤^[28]。炎症细胞因子参与了该疾病而加重炎症反应,并且TNF- α 可促进滑膜及内皮成纤维细胞因子产生,破坏滑膜细胞和软骨细胞,引起滑膜增生和软骨破坏^[18]。本实验发现,克痹宁凝胶能提高大鼠体内SOD活性,降低MDA含量,抑制过氧化脂质损伤;对大鼠体内高表达的TNF- α 水平也具有明显抑制作用,可通过下调血清中其水平来抑制过氧化,从而发挥抗炎作用,同时还改善了类风湿关节炎临床症状及关节组织病理改变,呈现出良好的治疗作用。

参考文献:

- [1] 陆再英,钟南山.内科学[M].7版.北京:人民卫生出版社,2008:848.
- [2] 姜远英.临床药物治疗学[M].3版.北京:人民卫生出版社,2011:369-370.
- [3] 陈晓俊,王健英,金素安,等.中药影响类风湿性关节炎信号通路的研究进展[J].中华中医药学刊,2016,34(7):1735-1739.
- [4] 叶菁,胡子毅,潘亮亮,等.基于“治未病”理论从肝脾辨治类风湿关节炎[J].山东中医杂志,2015,34(11):831-832.
- [5] 熊江华,李艳.中药复方对类风湿关节炎干预机制的研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(9):230-234.
- [6] 吴勉华,王新月.中医内科学[M].9版.北京:中国中医药出版社,2013:427-428.
- [7] 强宇靖,罗奎元,高慧琴.类风湿性关节炎动物模型研究进展[J].甘肃中医学院学报,2015,32(6):74-78.
- [8] 陈志洪,林钰文,周海玲,等.地白湿疹凝胶的制备[J].北方药学,2016,13(7):124-125.
- [9] 黄柳芳,赵红宁,刘喜乐,等.复方疮疡凝胶剂的制备工艺优选[J].医药导报,2016,35(9):1001-1003.
- [10] 李保院,姜宏,边瑞民,等.复方氟康唑凝胶的制备与质量控制[J].中国药师,2016,19(9):1682-1685.
- [11] 祁芳,李艳玲,艾坤,等.SD佐剂性关节炎大鼠模型的建立与评估[J].湖南中医药大学学报,2016,36(1):23-26.
- [12] 张国恩,杨德华,钱玉中,等.痹康饮合剂对佐剂性关节炎大鼠的实验研究[J].北京中医药大学学报,2006,29(2):

- 104-107, 149.
- [13] 陈浩, 何小女, 邓运明, 等. 温通止痛膏对类风湿性关节炎风寒湿痹阻证模型大鼠的治疗作用研究[J]. 江西中医药大学学报, 2016, 28(6): 77-80.
- [14] 佟丽, 辛增辉, 陈育尧, 等. Mtb 诱导的 SD 佐剂性关节炎大鼠模型的建立及评价[J]. 中国药理学通报, 2009, 25(2): 259-263.
- [15] 刘维, 张磊, 吴沅皞. 解毒通络法控制类风湿关节炎症状的实验研究[J]. 天津中医药, 2011, 28(3): 234-236.
- [16] 张雪萍, 蔡广知, 安娜, 等. 两头尖醇提物抗佐剂性关节炎作用的研究[J]. 中药药理与临床, 2016, 32(2): 131-134.
- [17] 龙静雯, 曹永孝, 刘静, 等. 克痹康胶囊的抗炎、抑制免疫和镇痛作用[J]. 中成药, 2006, 28(8): 1200-1202.
- [18] 赵会勤, 李超杰, 徐玉洁, 等. 瑶药岗松抗佐剂性大鼠关节炎的实验研究[J]. 中国民族民间医药, 2017, 26(5): 37-41.
- [19] 吕邵娃, 苏红, 于风明, 等. 类叶牡丹提取物对佐剂性关节炎大鼠治疗作用及机制研究[J]. 中药新药与临床药理, 2017, 28(2): 164-171.
- [20] 鄢顺琴, 吴榛清, 凤良元, 等. 芍药甘草汤的镇痛作用机制[J]. 安徽中医学院学报, 2001, 20(6): 42-44.
- [21] 莫晓川, 冯光霞, 曾佳, 等. 苗药四大血对佐剂性关节炎大鼠抗炎作用研究[J]. 湖北中医药大学学报, 2015, 17(1): 15-18.
- [22] 姜辉, 刘健, 高家荣, 等. 五味温通除痹胶囊对类风湿性关节炎风寒湿痹阻证模型大鼠的治疗作用[J]. 风湿病与关节炎, 2012, 1(6): 23-27.
- [23] 曾聪彦, 吴凤荣, 戴卫波, 等. 宽筋藤对类风湿性关节炎模型大鼠踝关节组织病理学的影响[J]. 天然产物研究与开发, 2017, 29(1): 147-151.
- [24] 曹艳红, 胡建东. 中医药治疗类风湿性关节炎研究进展[J]. 河南中医, 2015, 35(7): 1564-1566.
- [25] 高远, 李永吉. 类风湿性关节炎发病机制及中药靶向治疗的研究进展[J]. 中国药房, 2016, 27(35): 5030-5034.
- [26] 徐晖, 黄颖. 中药治疗类风湿关节炎的研究进展[J]. 云南中医中药杂志, 2015, 36(1): 88-90.
- [27] 吴晶金. 类风湿关节炎动物模型研究进展[J]. 风湿病与关节炎, 2016, 5(12): 70-73.
- [28] 许家栋, 上官嫵婉, 徐孟杰, 等. 类风湿关节炎的氧化应激与 SOD 抗氧化研究进展[J]. 风湿病与关节炎, 2016, 5(7): 65-70.

香附挥发油对慢性束缚应激小鼠焦虑行为的影响

李世英, 谢云亮*

(北华大学附属医院, 吉林 吉林 132013)

摘要: 目的 探讨香附挥发油对慢性束缚应激小鼠焦虑行为的影响。方法 60 只小鼠随机分为正常组、模型组、氟西汀组 (20 mg/kg) 及香附挥发油高剂量组 (200 mg/kg)、中剂量组 (100 mg/kg)、低剂量组 (50 mg/kg), 每组 10 只, 采用慢性束缚应激法建立小鼠焦虑模型。通过强迫游泳实验、悬尾实验、旷场实验、明暗箱实验、高架十字迷宫实验分析挥发油对小鼠焦虑行为的影响, 并检测海马乙酰胆碱酯酶 (AChE)、5-羟色胺 (5-HT) 水平。结果 与模型组比较, 香附挥发油组可减少强迫游泳不动时间及悬尾不动时间, 提高进入旷场中央区域次数、中央区域时间及直立次数, 增加明箱停留时间、明暗箱穿梭次数及进入开臂次数、开臂停留时间, 同时还能降低 AChE 水平, 升高 5-HT 水平, 以上差异均有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论 香附挥发油能改善慢性束缚应激小鼠焦虑行为, 其作用机制可能与调节中枢胆碱能系统、增加海马单胺类递质 5-HT 水平有关。

关键词: 香附; 挥发油; 慢性束缚应激; 焦虑行为

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2018)10-2140-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2018.10.006

Effects of volatile oils from *Cyperus rotundus* on the anxiety behaviors of mice exposed to chronic restraint stress

LI Shi-ying, XIE Yun-liang*

收稿日期: 2017-07-14

基金项目: 吉林省教育厅“十二五”科学研究计划项目 (吉教科文合字 [2014] 499)

作者简介: 李世英 (1977—), 男, 硕士, 主治医师, 从事神经系统疾病的诊断及治疗研究。E-mail: lishiying1979@126.com

* 通信作者: 谢云亮 (1980—), 男, 博士, 副主任医师, 从事神经系统疾病的诊断及治疗研究。Tel: 13944225857, E-mail: 2047415819@qq.com