

蠲痹历节清方对急性痛风性关节炎动物模型 消肿抗炎疗效的实验研究

向黎黎¹, 杨卓², 熊辉², 齐新宇²

(1. 湖南中医药大学第二附属医院, 湖南长沙, 410005;

2. 湖南中医药大学, 湖南长沙, 410208)

[摘要] 目的:探讨蠲痹历节清方对急性痛风性关节炎动物模型肿胀与炎症的影响,探讨其可能的作用机制。方法:将48只SPF级健康雄性湘黄鸡随机分为正常组、模型组、蠲痹历节清方组、别嘌醇组,每组12只。采用高蛋白饮食的方法(饮食中的蛋白含量为50%)建立鸡痛风性关节炎模型。正常组及模型组予0.9%氯化钠注射液灌胃,蠲痹历节清方组予蠲痹历节清方汤剂(30ml/kg)灌胃,别嘌醇组予别嘌醇溶液(15ml/kg)灌胃,每天2次,共21d。观察干预后不同时间点各组动物踝关节肿胀程度及炎症细胞数量。结果:1)踝关节肿胀指数。干预1d,与正常组相比,模型组、蠲痹历节清方组及别嘌醇组踝关节肿胀指数均上升,差异有统计学意义($P < 0.05$);干预7、14、21d,与模型组相比,蠲痹历节清方组及别嘌醇组踝关节肿胀指数均下降,差异均有统计学意义($P < 0.05$);干预21d,蠲痹历节清方组与别嘌醇组差异无统计学意义($P > 0.05$)。2)炎症细胞数量。干预21d,与正常组相比,模型组白细胞、淋巴细胞、中性粒细胞数量均升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与模型组相比,蠲痹历节清方组及别嘌醇组白细胞、淋巴细胞、中性粒细胞数量均下降,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论:蠲痹历节清方对鸡急性痛风性关节炎模型有明显的消肿抗炎作用,且有助于缓解关节疼痛。

[关键词] 痛风性关节炎;蠲痹历节清方;消肿抗炎;实验研究

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **DOI:**10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2019.11.060

Detumescence and anti-infection effects of Juanbi Lijieqing prescription in an animal model of acute gouty arthritis: An experimental study

XIANG Lili¹, YANG Zhuo², XIONG Hui², QI Xinyu²

(1. The Second Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410005, Hunan, China;

2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effect of Juanbi Lijieqing prescription on swelling and inflammation in an animal model of acute gouty arthritis and its mechanism of action. Methods: A total of 48 specific pathogen-free healthy male Hunan yellow chickens were randomly divided into normal group, model group, Juanbi Lijieqing prescription group, and allopurinol group, with 12 chickens in each group. Protein-rich diet with a protein content of 50% was used to establish a model of gouty arthritis. The normal group and the model group were given 0.9% sodium chloride injection by gavage, the Juanbi Lijieqing prescription group was given the decoction of Juanbi Lijieqing prescription (30ml/kg) by gavage, and the allopurinol group was given allopurinol solution (15ml/kg) by gavage, twice a day for 21 days. The degree of ankle joint swelling and the number of inflammatory cells were observed at different time points after intervention. Results: As for ankle joint swelling index, compared with the normal group on day 1 of intervention, the model group, the Juanbi Lijieqing prescription group, and the allopurinol group had a significant increase in ankle joint swelling index ($P < 0.05$); compared with the model group on days 7, 14, and 21 of intervention, the Juanbi Lijieqing prescription group and the allopurinol group had a significant reduction in ankle joint swelling index ($P < 0.05$); on day 21 of intervention, there was no significant difference in ankle joint swelling index between the Juanbi Lijieqing prescription group and the allopurinol group ($P > 0.05$). As for the number of inflammatory cells, compared with the normal group on day 21 of intervention, the model group had significant increases in the numbers of white blood cells, lymphocytes, and neutrophils ($P < 0.05$), and compared with the model group, the Juanbi Lijieqing prescription group and the allopurinol group had significant reductions in the numbers of white blood cells, lympho-

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:81574005);湖南省教育厅科学研究项目(编号:17CJ234)

第一作者:向黎黎,男,医学硕士,主治医师,研究方向:骨病、筋伤疾病的中医药防治

通讯作者:齐新宇,男,医学硕士,助理教师,研究方向:骨病、筋伤疾病的中医药防治, E-mail:421811625@qq.com

cytes, and neutrophils ($P < 0.05$). Conclusion: In a chicken model of acute gouty arthritis, Juanbi Lijieqing prescription has marked detumescence and anti-infection effects and can relieve joint pain.

[Key words] gouty arthritis; Juanbi Lijieqing prescription; detumescence and anti-infection; experimental study

痛风是一种因嘌呤代谢紊乱及(或)尿酸排泄减少的晶体相关性关节病^[1],尿酸晶体沉积在关节内和关节周围的空间,并激活先天免疫系统。降低尿酸盐治疗是治疗本病的基石,当血清尿酸盐明显下降后,急性痛风发作的风险明显降低^[2]。蠲痹历节清方在急性痛风性关节炎的临床治疗中发挥了一定的功效,但具体作用机制尚不明确。本实验通过采用高蛋白饮食的方法(饮食中的蛋白含量为 50%)建立鸡痛风性关节炎模型,探讨蠲痹历节清方治疗痛风的作用机制。现将实验结果报告如下。

1 实验材料

1.1 动物 30 日龄 SPF 级健康雄性湘黄鸡 48 只,体质量(500 ± 50)g,由湖南中医药大学动物实验中心代购,合格证号:2017-0004。本实验通过湖南中医药大学医学实验动物伦理委员会批准。

1.2 药物及试剂 蠲痹历节清方药物组成:苍术 20g,黄芩 10g,黄柏 10g,防己 10g,土茯苓 15g,茵陈 15g,泽泻 10g,白术 10g,当归 15g,甘草 6g。生药购自湖南中医药大学第二附属医院,由湖南中医药大学药学院统一煎制、浓缩至含生药 0.83g/ml,4℃ 保存;别嘌醇片(广东彼迪药业有限公司,批号:H44021368),以蒸馏水配置成 1.95mg/ml,4℃ 保存;水合氯醛(天津科密欧化学试剂有限公司,批号:20140303)。

1.3 主要仪器 JY3002 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司);Shandon325 型石蜡切片机(Shandon 公司);LEICA DM LB2 型双目显微镜(LEICA 公司);HHS-2 电子恒温不锈钢水浴锅(上海南阳仪器有限公司);MIAS 医学图像分析系统(北航公司);Haier 医用微波炉(Haier 集团);S2-93 自动双重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂);DNP-9162 型电热恒温培养箱(上海精宏实验设备有限公司);Motic B5 显微摄像系统(麦克奥迪实业集团公司)。

2 实验方法

2.1 动物分组及模型制备 采用随机数字表法将 48 只湘黄鸡随机分为正常组、模型组、蠲痹历节清方组及别嘌醇组,每组 12 只。正常组以正常饲料(蛋白含量 19.8%、钙含量 5%),湖南省农科院畜牧所饲料厂提供,批号:20170803)喂养,其余 3 组按照相关文献^[3-5]制备急性痛风性关节炎模型,方法:以模型饲料喂养(以 15kg 为 1 个基本单位,含鱼粉 12.50kg、石粉 2.50kg、蛋白含量 50%、钙含量 9.17%)。所有动物均保证每天食量,每天饮水量 ≤ 100ml,连续喂养 21d。

2.2 给药方法 自造模结束后第 1 天开始给药,蠲痹历节清方给予蠲痹历节清方汤剂(30ml/kg)灌胃,别嘌醇组给予别嘌醇(15ml/kg)灌胃,其余 2 组均以等体积 0.9% 氯化钠注射液灌胃,每天 2 次,共 21d。

2.3 观察指标 参考刘海蛟等^[6]的测量方法,采用缚线法测量踝关节周径,分别于造模前及药物干预后 1、7、14、21d

5 个时相点测量各组鸡左后足踝关节三叉处外部绕踝关节的周径,测量 2 次后取平均值为周长,并根据公式计算膝关节肿胀指数。膝关节肿胀指数 = (造模后周长 - 造模前周长) / 造模前周长。末次给药 30min 后,将鸡翅展开以暴露翼根的静脉,并将血管垂直穿刺采血 1ml,加 10μL EDTA 抗凝,显微镜下读取 200 个白细胞,统计白细胞、淋巴细胞、中性粒细胞数量。

2.4 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析,实验数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 各组不同时间点鸡模型踝关节肿胀指数比较 干预 1d,与正常组相比,模型组、蠲痹历节清方组及别嘌醇组鸡踝关节肿胀指数上升,差异有统计学意义;干预 7、14、21d,与模型组相比,蠲痹历节清方组及别嘌醇组鸡踝关节肿胀指数下降,差异均有统计学意义;干预 21d,蠲痹历节清方组与别嘌醇组鸡踝关节肿胀指数差异无统计学意义。(见表 1)

表 1 各组不同时间点鸡模型踝关节肿胀指数比较($\bar{x} \pm s$)

Table with 7 columns: 组别, 只数, 剂量, 干预 1d, 干预 7d, 干预 14d, 干预 21d. Rows include 正常组, 模型组, 蠲痹历节清方组, 别嘌醇组.

注:与正常组相比,^a $P < 0.05$;与模型组相比,^b $P < 0.05$;与别嘌醇组相比,^c $P > 0.05$ 。

3.2 各组干预 21d 后鸡模型白细胞、淋巴细胞、中性粒细胞比较 与正常组相比,模型组鸡血液中的白细胞、淋巴细胞和中性粒细胞数量均升高,差异有统计学意义;与模型组相比,蠲痹历节清方组及别嘌醇组鸡的白细胞、淋巴细胞和中性粒细胞数量均下降,差异有统计学意义。(见表 2)

表 2 各组干预 21d 后鸡模型白细胞、淋巴细胞、中性粒细胞比较($\bar{x} \pm s, \times 10^9/L$)

Table with 6 columns: 组别, 只数, 剂量, 白细胞, 淋巴细胞, 中性粒细胞. Rows include 正常组, 模型组, 蠲痹历节清方组, 别嘌醇组.

注:与正常组相比,^a $P < 0.05$;与模型组相比,^b $P < 0.05$ 。

4 讨论

急性痛风性关节炎发病急骤,常表现为关节及周围组织红肿热痛,且伴活动受限,常常持续 1 周余。临床广泛应用皮质类固醇、别嘌醇、非甾体抗炎药等西药治疗急性痛风性关节炎,但均有不同程度的毒副作用,如胃肠道反应、

组织器官损害等。近年来,IL-1R 拮抗剂广泛应用于对秋水仙碱和非甾体类抗炎性药物的禁忌症患者,但其作用机制尚不清楚,也未提及其毒副作用。元代朱丹溪在《格致余论》中首次提出“痛风”的病名,其病因各代医家多责之湿热之邪,常治以清热利湿法,如四妙散^[7-8]、宣痹汤^[9]、针刺与中药结合治疗^[10]等。

蠲痹历节清方为熊辉教授治疗痛风性关节炎湿蕴结证的经验方,临床应用多年,具有良好的临床疗效。该方由苍术、黄芩、黄柏、防己、土茯苓、茵陈、泽泻、白术、当归、甘草等组成,功效以清热燥湿为主,辅以活血止痛、通利关节,标本同治,除体内湿热之邪,以止邪闭不通之痛。方中以苍术健脾燥湿、祛风散寒,茵陈清热利湿,共为君药;黄柏、黄芩清热燥湿,为臣药;佐以当归活血止痛,防己祛风止痛、利水消肿,泽泻利水渗湿、泄热,白术补气健脾、燥湿利水,土茯苓解毒除湿、通利关节;甘草为使,缓急止痛、调和诸药。全方合用,共奏健脾清热燥湿、活血通利止痛之功。现代药理研究表明,苍术具有镇静、排钠、排钾作用;茵陈、黄柏、黄芩具有解热作用,能够抑制多种细菌;泽泻具有利尿、抗炎等作用;当归具有改善微循环作用;土茯苓具有利尿、镇痛作用^[11]。

本次实验结果显示,鸡痛风性关节炎模型采用蠲痹历节清方药物干预后,关节肿胀明显减轻,炎症细胞亦显著减少,表明该方有利于关节肿胀恢复和炎症的控制,可达到缓解急性痛风性关节炎关节肿胀、关节局部红肿热痛的炎症反应的症状。其药物作用的靶点或信号通路尚不明确,有待进一步研究发现。

参考文献

[1] 中华医学会风湿病学分会. 2016 中国痛风诊疗指南[J]. 中

(上接第 105 页)程度、分析能力、自学能力、学习兴趣及查阅文献能力得到提高的人数均多于对照组,说明“三位一体”教学法可提高中医院本科护理实习生的学习能力和综合分析能力。而对教学满意度的比较,观察组非常满意人数为 45 人,总满意人数为 49 人,说明学生对该种方法的满意度非常高。

综上,采用“三位一体”教学法,通过教师设计多媒体课件、现场演示辅助检查、最后发放思考题等一系列方法,可较大地提高中医院本科护理专业学生实践能力和学习能力,且学生的满意度高,是一种值得推广的教学方法。

参考文献

[1] 陈兆军,王庆甫,刘丽芬. 案例式教学法在中医骨伤科教学中的应用体会[J]. 中医教育,2012,31(2):75-76.
[2] 祖雄兵,张晖辉. 案例式立体教学法在泌尿外科教学中的应用[J]. 中国现代医学杂志,2012,22(1):103-104.

华内科杂志,2016,55(11):892-899.

- [2] Khanna D, Fitzgerald JD, Khanna PP, et al. 2012 American College of Rheumatology guidelines for management of gout. Part 1: systematic nonpharmacologic and pharmacologic therapeutic approaches to hyperuricemia[J]. Arthritis Care Res (Hoboken), 2012(64): 1431-46.
[3] 齐新宇,向黎黎,熊辉,等. 基于高蛋白饮食建立鸡痛风性关节炎模型的量效关系研究[J]. 中医正骨,2015,27(2):1-6.
[4] 朱小甫,吴旭锦,郑义华. 高钙高蛋白日粮复制禽痛风病例研究[J]. 黑龙江畜牧兽医,2013,21(6):36-37.
[5] 任予勇. 实验性鸡高尿酸血症模型的建立[J]. 淮北职业技术学院学报,2013,12(5):133-135.
[6] 刘海姣,范轶鑫,潘秀秀,等. 原花青素对小鼠急性痛风性关节炎的实验研究[J]. 中国现代药物应用,2016,10(22):194-196.
[7] Yu XZ, Hong DG, Wang XZ. Curative effect observation of 32 cases of Simiao powder and Auricular point sticking treating acute gouty arthritis[J]. Journal Gansu University of Traditional Chinese Medicine, 2013(30):69-71.
[8] Zeng XZ, Song YM. 60 cases of acute gouty arthritis treated with Modified Simiao powder[J]. Hunan Journal of Traditional Chinese Medicine, 2013(29):68-69.
[9] Li HF. Clinical observation of 73 cases of Xuanbitang Decoction for the treatment of gouty arthritis[J]. Guiding Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacology, 2012(18):83-84.
[10] Wu J, Xu Y. Clinical observation of acupuncture combined with Qinglishi decoction in the treatment of acute gouty arthritis[J]. Journal of Emergency in Traditional Chinese Medicine, 2015(24):717-719.
[11] 高学敏. 中药学[M]. 北京:中国中医药出版社,2007.

(收稿日期:2019-06-17)

- [3] 陈坚林. 试论立体式教材与立体式教学方法[J]. 外语电化教学,2011,31(6):3-7.
[4] 张磊,王少清,周鹏,等. 案例式教学法在内科学教学中的应用[J]. 成都医学院学报,2010,5(1):91-92.
[5] 谢翠英,洗绍祥,方熙茹. 推进教学改革、提高教学质量——案例式教学法在中医临床教学中的应用和探讨[J]. 中医药管理杂志,2009,17(7):617-618.
[6] 刘水英. CTTM 教学法在泌尿外科临床护理教学中的运用[J]. 中医药管理杂志,2013,21(10):1069-1071.
[7] 徐向田. 一种新的医学教学方法——案例式立体教学法 (CTTM)[J]. 科技信息,2009,26(6):344.
[8] 孙梦霞,姜娜,廖桂香. 案例教学法与情境教学法在《老年护理》教学中的应用[J]. 护理研究,2011,39(9):2140-2141.
[9] 张鸥. 病例引导立体式教学法在医学生心血管疾病见习中的应用效果[J]. 中医继续教育,2016,8(12):10-11.
[10] 曾展鹏,黄枫,庄洪,等. 案例式立体教学法在中医骨伤科学中的构建与应用[J]. 中国高等医学教育,2011,26(5):87-88.

(收稿日期:2019-02-19)