

痛风泰颗粒对急性痛风性关节炎模型大鼠炎症因子的影响^Δ

俞冰*,张剑勇#,黄华,翟惠嫦,邱侠,钟力,谢静静,王辉(深圳市中医院,广东深圳 518033)

中图分类号 R285;R589 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)23-2125-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.23.05

摘要 目的:研究痛风泰颗粒对急性痛风性关节炎模型大鼠基质金属蛋白酶(MMP)3、脂蛋白磷脂酶(LP-PL)A2的影响。方法:实验分为空白对照(等容生理盐水)、模型对照(等容生理盐水)、双氯芬酸钠(67.5 mg/kg)与痛风泰颗粒高、中、低剂量(22.68、11.34g、5.67 g/kg)组。大鼠踝关节腔注入50 μl尿酸钠溶液(20 mg/ml)以复制急性痛风性关节炎模型。分别于给药3、7 d后取关节滑膜进行组织匀浆,用ELISA法检测大鼠关节滑膜组织中MMP-3、LP-PLA2的含量。结果:给药3 d后,与模型对照组比较,痛风泰颗粒高、中剂量组大鼠滑膜组织MMP-3、LP-PLA2含量显著减少($P<0.05$);给药7 d后,痛风泰颗粒高、中、低剂量组大鼠滑膜组织中MMP-3、LP-PLA2含量显著减少($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。结论:痛风泰颗粒能减少急性痛风性关节炎模型大鼠关节滑膜组织中MMP-3与LP-PLA2的释放,减轻急性炎症反应。

关键词 痛风;关节炎;痛风泰颗粒;基质金属蛋白酶3;脂蛋白磷脂酶A2

Influence of Tongfengtai Granules on Inflammatory Factor in Acute Gouty Arthritis Model Rats

YU Bing, ZHANG Jian-yong, HUANG Hua, ZHAI Hui-chang, QIU Xia, ZHONG Li, XIE Jing-jing, WANG Hui (Shenzhen Hospital of TCM, Guangdong Shenzhen 518033, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of Tongfengtai granules on MMP-3 and (LP-PL)A2 in acute gouty arthritis model rats. METHODS: Rats were randomly divided into 6 groups, namely blank control group (constant volume of normal saline), model control group (constant volume of normal saline), diclofenac group (67.5 mg/kg), Tongfengtai high-dose, medium-dose and low-dose groups (22.68, 11.34 g, 5.67 g/kg). The acute gouty arthritis model was induced by injection of monosodium urate solution (20 mg/ml) into the ankle of rats. The homogenate of synovium of joint were collected after 3 or 7 days treatment. ELISA was used to determine the contents of MMP-3 and LP-PLA2 in joint synovial tissue. RESULTS: After 3 days treatment, the content of MMP-3 and LP-PLA2 in Tongfengtai high-dose, medium-dose group decreased significantly ($P<0.05$), compared with model control group. After 7 days treatment, the contents of MMP-3 and LP-PLA2 in Tongfengtai high-dose, medium-dose and low-dose groups decreased significantly ($P<0.01$ or $P<0.05$). CONCLUSIONS: Tongfengtai granules can reduce the release of MMP-3 and LP-PLA2 in acute gouty arthritis model rats, and relieve acute inflammatory reaction.

KEY WORDS Gouty; Arthritis; Tongfengtai granules; MMP-3; LP-PLA2

col, 2010(6), 78:1 059.

[6] 杨翠平,苏薇薇.肉苁蓉研究进展[J].中药材,2001,12(24):907.

[7] 毛新民,王晓雯,李琳琳,等.肉苁蓉总甙对大鼠心肌缺血的保护作用[J].中草药,1999,30(2):118.

[8] 李琳琳,王晓雯,王雪飞,等.肉苁蓉总甙的抗脂质过氧化和抗辐射作用[J].中国中药杂志,1997,22(6):364.

[9] 王晓雯,李琳琳,木胡亚提,等.肉苁蓉总甙对小鼠组织的抗氧化作用[J].中国中药杂志,1998,23(9):554.

[10] 王晓雯,蒋晓燕,邱利娅,伊明,等.肉苁蓉总甙体外清除自由基及对OH·引发的DNA损伤的保护作用[J].中国药理学杂志,2001,36(1):29.

[11] 葛继红,吴亚东,严波.正交试验优化管花肉苁蓉水提工

艺[J].中国药房,2009,20(30):2 347.

[12] 罗兰,阿尔孜古丽·吐尔逊,王晓雯.肉苁蓉总甙对Aβ₂₅₋₃₅诱导PC12细胞凋亡的神经保护作用[J].中国新药杂志,2010,29(2):115.

[13] 刘凤霞,王晓雯,罗兰,等.肉苁蓉总甙对β-淀粉样肽所致阿尔茨海默病小鼠模型学习记忆的影响及其机制[J].中国药理学通报,2006,22(5):595.

[14] 包新民,舒斯云.大鼠脑立体定位图谱[M].北京:人民卫生出版社,1991:3.

[15] 彭小松,陈晓春,黄俊山,等.人参皂苷Rg₁对Aβ₂₅₋₃₅诱导大鼠海马神经元tau蛋白异常磷酸化的影响[J].中国药理学通报,2005,21(3):299.

[16] 张均田,张庆柱.神经药理研究技术与方法[M].北京:人民卫生出版社,2005:297.

[17] 徐叔云,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M].3版.北京:人民卫生出版社,2002:827.

(收稿日期:2012-07-08 修回日期:2012-12-04)

Δ 基金项目:广东省自然科学基金资助项目(No.S2011010004462)

* 副主任药师。研究方向:药物分析。电话:0755-88359666-3335。E-mail:yubingszzyy@163.com

通信作者:主任中医师,硕士研究生导师,博士。研究方向:中医风湿病学。电话:0755-88359666-3272。E-mail:zhangjianyong@163.com

痛风性关节炎(Gouty arthritis)是一种异质性疾病,其病理过程是尿酸钠微结晶沉淀于关节的滑膜、肌肉、骨质及关节的周围软组织引起的非特异炎症反应,现已成为一种常见多发病。痛风泰颗粒为本院研制的经验方,临床应用已近10年,其在控制痛风性关节炎急性发作,减轻受累关节红肿热痛症状等方面有独到的优势,临床用于治疗急性痛风性关节炎,取得了较好疗效,有效率高达75%,与双氯芬酸钠联用较单一中/西药物疗效更为显著,有效率达到86.11%^[1]。本研究从动物实验角度研究痛风泰颗粒对大鼠急性痛风性关节炎的镇痛及抗炎作用机制,检测关节滑膜中基质金属蛋白酶(MMP)3、脂蛋白相关磷脂酶(LP-PL)A2含量变化,阐明痛风泰颗粒作用机制,为中药治疗急性痛风性关节炎提供理论依据。

1 材料

1.1 仪器

MK 3型酶标仪、4MK2型洗板机(芬兰雷勃公司);TGL-168型高速台式离心机(德国Eppendorf公司);移液枪(德国Brand公司)。

1.2 药品与试剂

双氯芬酸钠(江阴天江药业有限公司,批号:1012266,规格:75 mg/粒);尿酸钠晶体(MSU,美国Sigma-Aldrich公司,批号:310-143-1);MMP-3、LP-PLA2 ELISA试剂盒(美国Usen Life公司)。

1.3 动物

健康SD大鼠120只,♂,体质量(200±20)g,由广东省实验动物中心提供[动物使用许可证号:SCXK(粤)2008-0002]。自由饮水、进食,每天光照8~10 h,温度22~24℃,适应性喂养1周后开始实验。

2 方法

2.1 复制模型与分组、给药^[2-4]

参考文献方法复制模型,向大鼠右踝关节注入MSU溶液;另设空白对照组,20只大鼠右踝关节注入等量生理盐水。大鼠ip10%水合氯醛麻醉(0.3 ml/100 g),用5号注射针在大鼠右踝关节外侧后方为穿刺点,针口斜面朝前上方与胫骨成45°角穿入踝关节腔,注入50 μl MSU溶液(20 mg/ml)到关节腔,以关节囊对侧鼓起为注入目标,复制急性痛风性关节炎模型。实验分为6组,即空白对照(等容生理盐水)、模型对照(等容生理盐水)、双氯芬酸钠(67.5 mg/kg)与痛风泰高、中、低剂量(22.68、11.34、5.67 g/kg)组。ig给药,每天2次,连续7 d。

2.2 标本的采集

用药3、7 d后每组各取10只大鼠,断头处死,关节腔剖开,切取关节滑膜,加生理盐水稀释,匀浆,4 000 r/min离心5 min后取上清液,于-70℃贮藏,备用。

2.3 指标的检测

以ELISA测定大鼠踝关节滑膜组织中MMP-3、LP-PLA2的含量,检测步骤、方法严格按试剂盒说明书进行。

2.4 统计学方法

使用STATA 12.0统计软件进行统计学处理,计量资料指

标先进行正态分布检验,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间及组内差异采用成组资料 t 检验;计数资料均采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 一般情况

空白对照组大鼠皮毛光泽色白,精神佳,好动,饮食正常;模型对照组大鼠局部关节皮肤红肿,跛行,活动减少,摄食及饮水次数明显减少;给药3 d后,用药组大鼠局部关节皮肤红肿,跛行,活动减少,摄食及饮水次数明显减少,给药7 d后,用药组大鼠活动、摄食、饮水基本恢复。

3.2 痛风泰颗粒对模型大鼠关节滑膜组织中炎症因子的影响

给药3、7 d后,与空白对照组比较,模型对照组大鼠关节滑膜组织中MMP-3、LP-PLA2含量显著增加($P < 0.05$)。给药3 d后,与模型对照组比较,痛风泰高、中剂量组大鼠关节滑膜组织中MMP-3、LP-PLA2含量显著减少($P < 0.05$);给药7 d后,与模型对照组比较,痛风泰高、中、低剂量组大鼠关节滑膜组织中MMP-3、LP-PLA2含量显著减少($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。痛风泰颗粒对模型大鼠关节滑膜组织中MMP-3、LP-PLA2含量的影响见表1。

表1 痛风泰颗粒对模型大鼠踝关节滑膜组织中MMP-3、LP-PLA2含量的影响($\bar{x} \pm s$, ng/ml)

Tab 1 Effects of Tongfengtai granules on the contents of MMP-3 and LP-PLA2 in joint synovial tissue of rats ($\bar{x} \pm s$, ng/ml)

组别	给药时间	MMP-3, ng/ml	LP-PLA2, ng/ml
空白对照组	3 d后	135.56 ± 0.852	10.325 ± 0.752
	7 d后	134.64 ± 0.798	10.215 ± 0.638
模型对照组	3 d后	182.35 ± 0.845*	16.224 ± 0.458*
	7 d后	180.46 ± 0.712*	16.108 ± 0.549*
双氯芬酸钠组	3 d后	163.32 ± 0.654#	13.501 ± 0.369#
	7 d后	137.22 ± 0.754##	10.456 ± 0.690##
痛风泰低剂量组	3 d后	180.32 ± 0.564	14.988 ± 0.721
	7 d后	164.22 ± 0.748#	13.256 ± 0.664#
痛风泰中剂量组	3 d后	169.78 ± 0.251#	14.230 ± 0.225#
	7 d后	154.26 ± 0.589##	10.812 ± 0.725##
痛风泰高剂量组	3 d后	164.56 ± 0.782#	13.598 ± 0.421#
	7 d后	135.33 ± 0.412##	10.568 ± 0.658##

与空白对照组比较: * $P < 0.05$;与模型对照组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

vs. blank control group: * $P < 0.05$; vs. model control group: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

4 讨论

急性痛风性关节炎主要是由于尿酸盐刺激机体产生一系列的急性炎症反应。MSU能诱导促使滑膜细胞释放MMP-3及LP-PLA2,这两者都是结晶诱导关节炎发生时的重要介质。赵恒立等^[5]发现,痛风性关节炎大鼠关节周围组织MMP-3含量明显增加,而通过中药清肝祛痰饮、健脾肾清热利湿饮与西药秋水仙碱均能显著抑制炎症部位MMP-3含量的增加,表明MMP家族可能参与痛风性关节炎的炎症反应。张史昭等^[6]认为,LP-PLA2是一种脂酶,能水解糖磷脂产生溶血磷脂,

游离脂肪酸和花生四烯酸,花生四烯酸代谢产物在脂氧化酶作用下又可分为前列腺素和白三烯等炎性介质。因此,LP-PLA2在链式反应中是限速酶,故不仅是重要的炎症介质和致痛物质,也被认为是局部组织炎症的特殊标志,对神经根可产生直接刺激,可能是痛风性关节炎疼痛的主要产生机制。

本研究针对急性痛风性关节炎的发病机制,采用经典痛风性关节炎模型,探究痛风泰颗粒在治疗痛风性关节炎中的抗炎、镇痛作用。研究表明,给药3 d后高、中剂量痛风泰颗粒可显著减少模型大鼠关节滑膜组织中MMP-3、LP-PLA2的含量,给药7 d后高、中、低剂量痛风泰颗粒可显著减少模型大鼠关节滑膜组织中MMP-3、LP-PLA2的含量。

岭南地域位于亚热带,终年气温较高,雨湿较盛,且人们喜食海鲜阴柔之品,常贪凉饮冷,至脾胃内伤,湿浊内生。湿浊蕴久,内生湿热,与外之湿热气候相合,则易导致湿热内蕴。湿热蕴久则生痰,致瘀血阻络,痹阻关节而出现关节红肿热痛等症,湿痰之热煎阴耗液则成砂石;湿热夹痰,缠绵难愈,病久必虚,“穷必及肾”,致肾之气阴不足,肾络痹阻而并发肾结石、慢性肾功能不全等疾病。根据中医“急则治其标,缓则治其本”原则,针对痛风急性发作给患者带来的痛苦,采取“清热利湿、解毒化浊、祛瘀止痛”的原则制定痛风泰颗粒药方。本方由土茯苓45 g,山慈菇10 g,山茱萸6 g,川牛膝10 g,秦艽15 g,粉萆薢30 g,赤芍10 g等药物组成。方中君药山慈菇有清热解毒、消肿散结之功;土茯苓、川萆薢清热解湿,分清泄浊,是为臣药;佐以秦艽祛风湿,通经络,清虚热,质润而无助热之虞;赤芍凉血散瘀;川牛膝既能补益肝肾,又能活血化瘀,引药下行,直达病所,是为使药;山茱萸补益肝肾,扶正固本。纵观全方,补益而不留邪,祛邪而不伤正,诸药共奏清热祛湿、解毒化浊之功。现代中药药理研究表明,山慈菇中含有秋水仙碱成分,能迅速消炎止痛,对急性痛风有特效;土茯苓^[7]能降低血尿酸;赤芍有助于防止肾纤维化;秦艽能溶解尿酸并

解除尿酸所致疼痛;山萸肉能降低尿蛋白,保护肾功能。本院结合现代药理研究开发出痛风泰颗粒,对患者进行辩证治疗,取得了令人满意的临床疗效^[1],早前该制剂有关动物实验^[8]也提供了详实的研究基础。综上,本研究证实痛风泰颗粒是治疗急性痛风性关节炎的有效方剂,该结论可为扩大其临床应用提供客观的实验依据。

参考文献

- [1] 张剑勇,邱侠,刘题章,等.痛风泰颗粒治疗急性痛风性关节炎患者的临床研究[J].中外健康文摘,2010,7(30):308.
- [2] Coderre TJ, Wall PD. Ankle joint arthritis in rats: anaerobic animal model of arthritis to that produce by Freud's adjuvant[J]. *Pain*, 1987,28(3):379.
- [3] 陈奇.中药药理研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,1996:1103.
- [4] 徐叔云,卞如谦,陈修.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,2002:913.
- [5] 赵恒立,朱维平.中药不同配伍对急性痛风性关节炎模型MMP-3的影响[J].世界中西医结合杂志,2009,4(9):624.
- [6] 张史昭,于伟,李学铭,等.痛风1号胶囊治疗湿浊瘀阻型慢性尿酸性肾病131例临床观[J].中国中西医结合杂志,2004,24(5):273.
- [7] 郭淑云,张薇,张琰,等.土茯苓水提物对高尿酸血症模型小鼠血清尿酸和甘油三酯、胆固醇的影响[J].中国药房,2011,22(47):4439.
- [8] 张剑勇,刘题章,邱侠,等.痛风泰颗粒对兔滑膜细胞IL-1 β 和TNF- α 表达的影响[J].世界中西医结合杂志,2011,6(2):103.

(收稿日期:2013-01-21 修回日期:2013-03-15)

国家卫生和计划生育委员会副主任孙志刚出席2013年度香港医院管理局研讨大会

本刊讯 2013年5月15—18日,国家卫生和计划生育委员会副主任孙志刚应邀出席2013年度香港医院管理局研讨大会,会见了香港特别行政区行政长官梁振英,考察了香港食物及卫生局、医院管理局、卫生署以及香港大学玛丽医院等有关医疗卫生机构。

孙志刚在研讨大会上发表了题为《携手共创卫生事业发展美好明天》的致辞。他说,多年来,香港和内地联系日益加强、交流日益广泛。香港在医院管理、人才培养、学科建设、医疗监管等诸多方面形成了许多好的经验和做法,本次研讨会对于传播香港卫生工作经验,深化两地合作交流具有非常重要的意义。

孙志刚指出,党中央、国务院高度重视民生改善,2009年4月作出了深化“医改”的重大战略决策,目前五项重点改革统筹推进,进展顺利,取得了阶段性重大成效,人民群众得到了

明显实惠。下一步要在重点领域和关键环节继续深化医药卫生体制改革,加快健全全民“医保”体系,巩固完善基本药物制度和基层运行新机制,以县级公立医院为重点分层次推进公立医院改革,同时要统筹推进药品供应、监管体制等相关领域配套改革。

在会见梁振英特首时,孙志刚简要介绍了国家卫生和计划生育委员会机构改革情况,表示在重大疾病防控、医疗卫生管理体制、公私医疗机构协调发展等方面要进一步加强与香港的合作,共同携手为增进人民健康福祉做出新的更大贡献。梁振英特首感谢国家卫生和计划生育委员会在多方面给予香港的大力支持,并希望在深化“医改”以及中医药发展等方面加强交流合作,取得实际成效。

国家卫生和计划生育委员会体制改革司、医政医管局、药政司、国际司等有关司局负责人随同参加上述活动。