

盘龙七片对椎动脉型颈椎病大鼠的干预作用

明瑞蕊^{1,2}, 徐腾腾², 王金霞², 贾可欣², 刘春芳^{2*}, 陈卫衡³, 林娜^{1,2*}

(1. 承德医学院, 河北承德 067000; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;
3. 北京中医药大学第三附属医院, 北京 100029)

[摘要] 目的:采用混合造模方法建立椎动脉型颈椎病(CSA)大鼠模型,观察盘龙七片(PLQT)对CSA大鼠的干预作用。方法:SD大鼠,设立正常,模型,PLQT(0.16,0.32,0.64 g·kg⁻¹),阳性药颈复康颗粒(JFK,1.35 g·kg⁻¹)组,于最后一次注射完造模剂24 h后开始给药,模型组灌服等体积生理盐水,持续给药8周。斜板实验检测肢体运动功能、小动物多模高频声波检测椎动脉血流速度、激光多普勒检测软脑膜微循环血流量、微计算机断层扫描(Micro CT)检测颈椎影像学改变程度并进行评分,酶联免疫吸附测定(ELISA)检测血清中血清内皮素-1(ET-1),一氧化氮(NO),组织纤维溶酶原激活物(t-PA),纤溶酶原激活物抑制物(PAI)的含量。结果:与正常组比较,CSA模型组大鼠肢体运动功能、椎动脉血流速度、软脑膜微循环血流量显著降低,颈椎影像学改变程度和评分明显升高($P<0.05$, $P<0.01$),PLQT作用后可剂量依赖性地改善CSA大鼠的运动功能、升高椎动脉血流速度和软脑膜微循环血流量,并明显降低颈椎影像学改变程度和评分($P<0.05$, $P<0.01$);CSA模型组大鼠较正常组明显下调血清中NO和t-PA含量,升高ET-1,PAI含量,PLQT作用后明显升高血清中NO,t-PA含量,明显降低ET-1,PAI含量($P<0.05$, $P<0.01$)。结论:PLQT能改善CSA大鼠的肢体运动功能、促进椎动脉和软脑膜微循环的血流量、改善颈椎影像学改变程度,调节血管舒缩功能和改善凝血纤溶系统,具有较好的治疗CSA的潜能。

[关键词] 盘龙七片;大鼠;椎动脉型颈椎病;椎动脉血流;血管舒缩功能

[中图分类号] R2-0;R289;R33;R274 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)22-0051-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20212238

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20211011.1435.002.html>

[网络出版日期] 2021-10-12 8:41

Effect of Panlongqi Tablet on Cervical Spondylosis of Vertebral Artery Type in Rats

MING Rui-rui^{1,2}, XU Teng-teng², WANG Jin-xia², JIA Ke-xin², LIU Chun-fang^{2*},
CHEN Wei-heng³, LIN Na^{1,2*}

(1. Chengde Medical University, Chengde 067000, China; 2. Institute of Chinese Materia Medica,
China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;
3. The Third Affiliated Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a model of cervical spondylosis of vertebral artery type (CSA) in rats by mixed modeling method, and observe the intervention effect of Panlongqi tablet (PLQT) on CSA rats. **Method:** SD rats were divided into a normal control group, a model group, low- (0.16 g·kg⁻¹), medium- (0.32 g·kg⁻¹), and high-dose (0.64 g·kg⁻¹) PLQT groups, and a Jingfukang granule (JFK, 1.35 g·kg⁻¹) group. The rats were treated correspondingly 24 hours after modeling for eight weeks, and those in the normal control group received an equal volume of normal saline by gavage. The limb movement was tested by the inclined plate

[收稿日期] 20210902(004)

[基金项目] 中国中医科学院科技创新工程项目(C12021A03808);中国中医科学院中药研究所技术研发项目(20191306);国家“重大新药创制”科技重大专项(2019ZX09731002)

[第一作者] 明瑞蕊,在读硕士,从事中药药理学研究,Tel:010-64014411-2869,E-mail:mingruirui921@163.com

[通信作者] *刘春芳,博士,副研究员,从事抗炎中药药理研究,Tel:010-64014411-2869,E-mail:chunfang666@126.com;

*林娜,博士,研究员,博士生导师,从事抗炎中药药理研究,Tel:010-64014411-2869,E-mail:linna888@163.com

assay, vertebral artery flow volume by multi-mode high-frequency sound wave for small animals, and microcirculatory blood flow in the pia mater by the laser Doppler. The imaging of the cervical spine was recorded and scored by X-ray micro-computed tomography (Micro CT). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect serum levels of endothelin-1 (ET-1), nitric oxide (NO), tissue plasminogen activator (t-PA), and plasminogen activator inhibitor (PAI). **Result:** Compared with the normal control group, the model group showed decreased limb movement, vertebral artery flow volume, and microcirculatory blood flow in the pia mater, and increased imaging of the cervical spine and score ($P<0.05$, $P<0.01$). PLQT could dose-dependently improve the motor function, increase the vertebral artery flow volume and microcirculatory blood flow in the pia mater, and reduce the degree and score of imaging of the cervical spine in CSA rats ($P<0.05$, $P<0.01$). The serum levels of NO and t-PA were decreased and those of ET-1 and PAI were increased in the model group as compared with those in the normal control group, while such changes were reversed by PLQT treatment ($P<0.05$, $P<0.01$). **Conclusion:** PLQT can enhance the limb movement, promote the vertebral artery flow volume and microcirculatory blood flow in the pia mater, improve the degree of imaging of the cervical spine, regulate the vasomotor function, and improve the coagulation and fibrinolysis system of CSA rats, which shows good potential for the treatment of CSA.

[Keywords] Panlongqi pill; rats; cervical spondylosis of vertebral artery type; vertebral artery blood flow; vasomotor function

椎动脉型颈椎病(CSA)是指颈椎间盘组织退行性改变及其他继发病理改变累及椎动脉,造成椎-基底动脉供血不足,以眩晕、颈部活动时症状加重为主要症状,伴有恶心、呕吐、耳鸣、视物模糊、甚至猝倒等临床表现的综合征^[1]。其病因病机复杂、不明确,有机械压迫、血管病变、交感神经、体液、血液流变、自身免疫等不同学说^[2]。CSA发病率约为17.3%,占颈椎病发病率的10%~15%^[3-4],且随生活方式改变,发病率逐渐升高,发病年龄也越来越年轻化,已成为影响人们生活质量和工作效率的常见疾病^[5]。其治疗除了手法、针灸、针刀等保守疗法外^[6],目前的药物治疗均以调节椎动脉循环、抑制眩晕等改善症状为主,疗效个体差异较大、易复发^[7-8]。因此,针对CSA的药物治疗窘境,迫切需要开发能针对CSA的药物干预方案。

中成药盘龙七片(PLQT)是中医骨伤科专家兼《中国中医辞典》编写顾问王家成老先生所献祖传秘方,经科学研制而成。本品由盘龙七、当归、丹参、重楼、牛膝、秦艽、五加皮、杜仲、红花、竹根七、羊角七、过山龙等29味中药组成,具有活血化瘀、祛风除湿、通络止痛之功,用于风湿性关节炎,腰肌劳损,骨折及软组织损伤^[9]。现代研究显示,PLQT具有抗炎、镇痛、扩张血管等作用^[10-12],对软组织损伤、外伤性骨折等病所表现的活动受限、疼痛、麻木均具有显著的治疗效果^[9]。临床报道显示PLQT则能有效治疗神经根型颈椎病^[13-14],配合手法还能治疗

CSA^[15]。但是PLQT单用对CSA的作用如何尚不清楚。本项目中,拟采用混合造模法建立CSA大鼠模型,通过检测运动功能、椎动脉血流和脑循环血流量、颈椎影像学改变程度、血管舒缩功能一氧化氮(NO)和血清内皮素-1(ET-1)及凝血纤溶系统中组织型纤溶酶原激活剂(t-PA)和纤溶酶原激活物抑制物(PAI)的变化等,开创性地对PLQT干预CSA的疗效进行评价,研究结果将为拓展其临床新适应证提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 SD大鼠,雄性,8~10周龄,体质量(200±20)g,60只。购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号SCXK(京)2016-0006。于中国中医科学院中药研究所实验动物中心饲养,日光灯照明,12h明暗周期。空调控温,温度22~24℃。动物饮用SPF级灭菌饮用水,动物使用SPF大小鼠维持饲料,北京科澳协力饲料有限公司。本实验通过中国中医科学院中药研究所动物实验方案符合伦理原则、动物保护和动物福利,编号为2020B089。

1.2 药物和试剂 PLQT(陕西盘龙药业集团股份有限公司,批号20190401);颈复康颗粒(JFK,承德颈复康药业集团有限公司,批号国药准字Z13022204);消痔灵注射液(吉林省集安益盛药业股份有限公司,批号20061301);10%甲醛(北京九州柏林生物科技有限公司,批号20201020);生理盐水(石家庄四药有限公司,批号2008282002);碘伏

(山东安捷高科消毒科技有限公司,批号20200090226);t-PA,PAI,ET-1,NO酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(上海酶联公司,批号分别为ml560971-2,ml003021-2,ml002890-2,ml397140)。

1.3 仪器 Vevo 3100型小动物多模高频声波(日本FUJIFILM VisualSonics公司);FX PRO型活体小动物可见光成像仪(德国布鲁克公司);Moor VMS-LDF型激光多普勒血流检测仪(英国摩尔仪器公司);BS224S型电子天平[赛多利斯(上海)贸易有限公司];CP-6800型科德士宠物用电推剪(深圳科德士电器有限公司);RS0800604-0063型微计算机断层扫描(Micro CT,美国GE Healthcare公司);自制斜板仪。

2 方法

2.1 椎动脉型颈椎病模型的制备^[16-19] 10%水合氯醛 $3\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 腹腔注射麻醉大鼠,俯卧位固定于手术固定架上,将颈部剃毛清洗,碘伏消毒皮肤,铺无菌手术洞巾,取颈背部正中纵形切口(自寰枕关节至T2处),切开皮肤、皮下筋膜组织,分离切除C3~C5左侧肌肉群,止血后,生理盐水冲洗伤口,并洒青霉素钠,缝合切口,碘伏消毒。术后2周所有造模的大鼠右侧颈部肌群内注射消痣灵注射液 2 mL ,术后4周再追加注射消痣灵注射液 1 mL 。

2.2 分组及给药 60只SD大鼠,随机分成6组,每组10只,按体质量随机分为正常组,模型组,PLQT低、中、高剂量组($0.16, 0.32, 0.64\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,相当于临床等效剂量的0.5,1和2倍),JFK组($1.35\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,相当于临床1倍等效剂量)。于最后一次注射完造模剂24 h后开始灌胃给药,正常组,模型组灌服等容积生理盐水,以体质量给药,每日1次,持续给药8周。

2.3 斜板实验 分别于造模前1 d,造模期间、给药后每周检测2次。将大鼠身体纵轴与斜板上层木板纵轴平行放置,通过按钮逐渐增大板的高幅度,每升高 5° 可停留观察5 s,直至大鼠不能保持在该停留位置时,读取测量仪上显示的数值。每只大鼠重复3次,取平均值。斜板由3 mm橡胶长方形木板、角度测量仪、电动推杆升降器组成。

2.4 激光多普勒检测软脑膜微循环的血流量 大鼠麻醉后,分离切开大鼠颞骨处表皮层、肌肉暴露颞骨,在颞骨处用转刀将颅骨钻孔,放于激光多普勒血流检测仪下进行检测。

2.5 小动物多模高频声波检测椎动脉左右两侧血流速度 大鼠前侧颈部脱毛后,保持气麻状态,用探头MX201检测大鼠左侧椎动脉(LVA),右侧椎动

脉(RVA)的血流速度。

2.6 Micro CT对大鼠椎体进行扫描 取出甲醛固定72 h后的C1~C7椎体,采用GE Healthcare公司RS0800604-0063型Micro CT系统对大鼠椎体进行扫描,扫描分辨率为 $25\ \mu\text{m}$,单次扫描时间72 min;采用GEHC Microviw进行三维重建和数据分析。影像学评分方法^[20]如下,颈椎生理弯曲、椎间隙狭窄、钩椎关节及关节突关节、椎体前后缘骨赘4项内容分别计0~3分,①颈椎生理弯曲:生理弯曲存在(0分),生理弯曲轻度僵硬(1分),生理弯曲丧失(2分),生理弯曲完全丧失并有反屈(3分);②椎间隙狭窄:正常(0分),轻度狭窄(1分),中度狭窄(2分),重度狭窄(3分);③钩椎关节及关节突关节:正常(0分),模糊不清(1分),轻度增生硬化(2分),明显增生硬化(3分);④椎体前后缘骨赘:无(0分),轻度增生(1分),中度增生(2分),重度增生(3分),计算总得分。

2.7 ELISA检测血清ET-1, NO, t-PA, PAI的含量 大鼠麻醉后沿其腹部正中逐层切开,仔细分离,清晰可见腹主动脉血管搏动,用一次性采血针一侧穿刺腹主动脉,另一侧连接采血管,采血约 4 mL ,静置1~2 h后, $3\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 $10\ \text{min}$ (离心半径为 $0.5\ \text{cm}$),取上层血清。放入标记好的离心管中,转至 $-80\ ^\circ\text{C}$ 冰箱保存备用。ELISA法检测血清上清中ET-1, NO, t-PA, PAI的含量,具体操作参考试剂盒说明书。

2.8 统计学分析 数据用GraphPad Prism3或SPSS 15.0软件进行分析,实验数据统计采用单因素方差分析,实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对CSA模型大鼠肢体运动功能的影响 与正常组比较,模型组斜板倾斜角度明显降低($P < 0.05, P < 0.01$),提示CSA大鼠运动功能减弱;与模型组比较,PLQT各组给药第2周开始斜板倾斜角度明显升高($P < 0.05, P < 0.01$),且呈剂量依赖性,JFK组也能明显升高斜板倾斜角度,且作用与PLQT低剂量组相近。见表1,2。

3.2 对CSA大鼠椎动脉血流速度的影响 与正常组比较,模型组LVA和RVA的血流速度均显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,PLQT各剂量组LVA和RVA的血流速度均明显增加($P < 0.05, P < 0.01$),JFK组两侧椎动脉的血流速度也均显著增加($P < 0.01$),且与PLQT低、中剂量组效果相近。见图1,表3。

表1 盘龙七片(PLQT)对CSA大鼠术前及造模期间斜板倾斜角度的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 1 Effect of Panlongqi pill (PLQT) on tilt angle before operation and during modeling in CSA rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

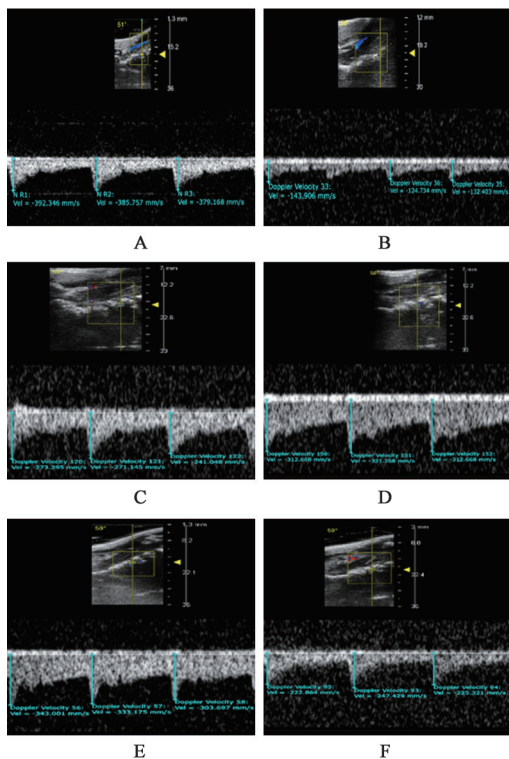
组别	剂量/ $g\cdot kg^{-1}$	术前倾斜角度/ $^{\circ}$		造模期间倾斜角度/ $^{\circ}$			
		第1天	第1周	第2周	第3周	第4周	
正常		56.72 \pm 5.69	61.21 \pm 3.36	60.86 \pm 4.09	62.40 \pm 5.19	62.44 \pm 4.33	
模型		57.15 \pm 6.24	51.67 \pm 3.54 ¹⁾	52.68 \pm 3.44 ¹⁾	50.53 \pm 3.18 ¹⁾	53.09 \pm 3.76 ¹⁾	
PLQT	0.16	56.44 \pm 4.92	54.53 \pm 3.98	51.08 \pm 2.31	51.55 \pm 3.13	52.10 \pm 2.16	
	0.32	58.39 \pm 5.33	52.38 \pm 2.30	52.47 \pm 2.60	51.55 \pm 5.23	53.62 \pm 5.07	
	0.64	59.46 \pm 6.82	51.97 \pm 3.38	53.03 \pm 2.92	52.95 \pm 3.88	53.21 \pm 3.37	
JFK	1.35	55.76 \pm 6.45	52.36 \pm 3.17	52.18 \pm 2.45	51.46 \pm 2.30	51.89 \pm 3.94	

注:与正常组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与模型组比较³⁾ $P<0.05$,⁴⁾ $P<0.01$ (表2同)。

表2 PLQT对CSA大鼠给药期间斜板倾斜角度的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 2 Effect of PLQT on tilt Angle during administration in CSA rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/ $g\cdot kg^{-1}$	给药期间倾斜角度/ $^{\circ}$							
		第1周	第2周	第3周	第4周	第5周	第6周	第7周	第8周
正常		60.12 \pm 3.37	61.99 \pm 5.14	59.36 \pm 4.25	58.22 \pm 3.62	60.49 \pm 4.04	63.68 \pm 4.78	62.45 \pm 3.61	63.45 \pm 3.93
模型		54.00 \pm 4.74 ¹⁾	48.91 \pm 2.54 ²⁾	48.16 \pm 2.64 ²⁾	48.72 \pm 2.19 ²⁾	50.88 \pm 3.95 ²⁾	49.03 \pm 3.25 ²⁾	50.28 \pm 2.95 ²⁾	50.70 \pm 3.35 ²⁾
PLQT	0.16	53.53 \pm 3.41	53.80 \pm 3.25 ³⁾	54.43 \pm 3.97 ³⁾	53.85 \pm 2.76 ³⁾	55.86 \pm 2.02 ³⁾	54.98 \pm 2.78 ³⁾	57.66 \pm 3.05 ⁴⁾	58.26 \pm 3.76 ⁴⁾
	0.32	54.65 \pm 3.55	54.89 \pm 2.45 ⁴⁾	56.36 \pm 3.29 ⁴⁾	57.28 \pm 3.33 ⁴⁾	58.39 \pm 3.28 ⁴⁾	59.67 \pm 3.41 ⁴⁾	59.27 \pm 4.09 ⁴⁾	59.50 \pm 3.83 ⁴⁾
	0.64	58.25 \pm 4.91	60.17 \pm 4.03 ⁴⁾	59.70 \pm 3.39 ⁴⁾	58.03 \pm 3.82 ⁴⁾	62.50 \pm 3.90 ⁴⁾	63.08 \pm 2.77 ⁴⁾	62.09 \pm 3.38 ⁴⁾	61.18 \pm 3.46 ⁴⁾



A. 正常组; B. 模型组; C~E. PLQT 0.16, 0.32, 0.64 $g\cdot kg^{-1}$ 组; F. JFK组(图2,3同)

图1 PLQT对CSA大鼠左右侧椎动脉血流速度的影响

Fig. 1 Effect of PLQT on blood flow velocity of left and right sides of vertebral artery in CSA rats

表3 PLQT对CSA大鼠左右侧椎动脉血流速度的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 3 Effect of PLQT on blood flow velocity of left and right sides of vertebral artery in CSA rats ($\bar{x}\pm s, n=10$) $mm\cdot s^{-1}$

组别	剂量/ $g\cdot kg^{-1}$	椎动脉血流速度	
		LVA	RVA
正常		222.99 \pm 11.80	257.94 \pm 40.06
模型		133.70 \pm 36.81 ¹⁾	194.73 \pm 19.94 ¹⁾
PLQT	0.16	197.06 \pm 14.66 ²⁾	213.43 \pm 31.51 ²⁾
	0.32	216.95 \pm 33.19 ³⁾	220.26 \pm 39.61 ³⁾
	0.64	221.07 \pm 45.72 ³⁾	253.88 \pm 37.40 ³⁾
JFK	1.35	203.15 \pm 44.22 ³⁾	226.98 \pm 43.77 ³⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较²⁾ $P<0.05$,³⁾ $P<0.01$ (表4~7同)。

3.3 对CSA大鼠软脑膜微循环的血流量影响 与正常组比较,模型组左、右侧软脑膜微循环血流量显著降低($P<0.01$);与模型组比较,PLQT各剂量组左、右侧软脑膜微循环血流量均明显升高($P<0.05$, $P<0.01$),JFK组两侧软脑膜微循环血流量显著升高($P<0.01$)。见图2,表4。

3.4 对CSA大鼠颈椎影像学改变的影响 三维和二维Micro CT结果显示,正常组大鼠颈椎生理弯曲

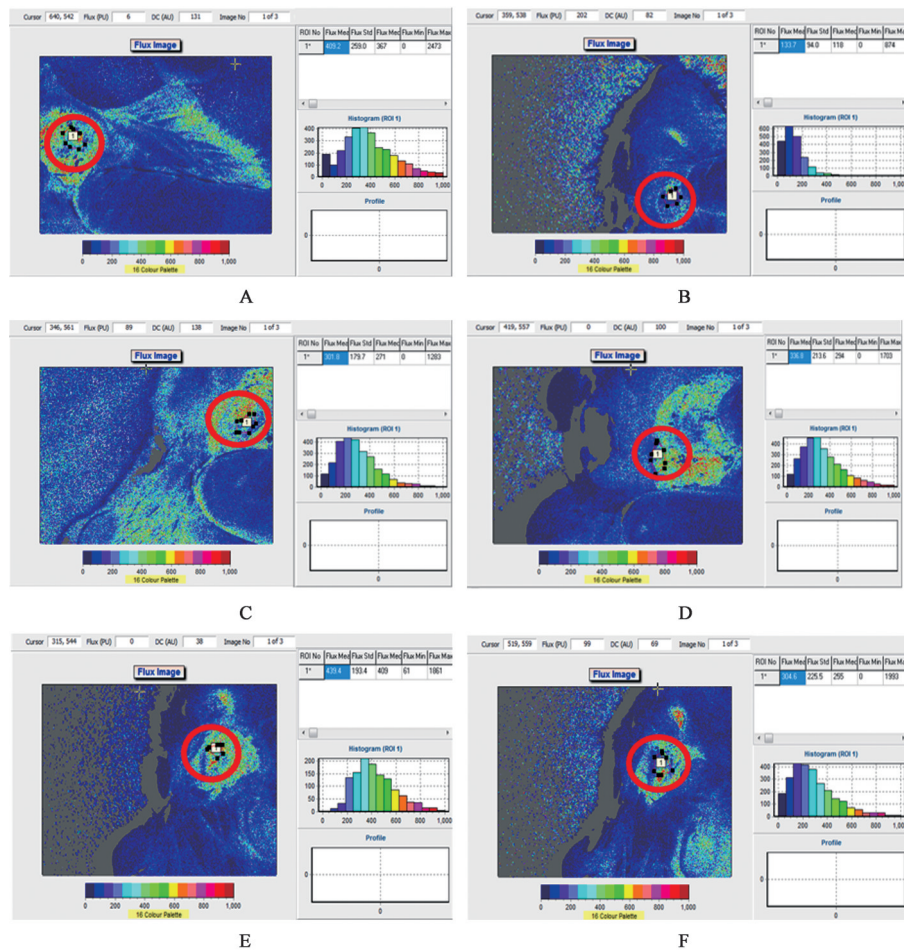


图2 PLQT对CSA大鼠软脑膜微循环血流量的影响

Fig. 2 Effect of PLQT on pia meningeal microcirculation blood flow in rats with vertebral artery type cervical spondylosis

表4 PLQT对CSA大鼠软脑膜微循环血流量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)
Table 4 Effect of PLQT on pia meningeal microcirculation blood flow in rats with vertebral artery type cervical spondylosis ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	软脑膜微循环血流量	
		左	右
正常		419.64±84.40	422.28±33.22
模型		188.47±64.63 ¹⁾	193.67±74.32 ¹⁾
PLQT	0.16	228.06±31.97 ²⁾	298.50±29.34 ²⁾
	0.32	236.46±49.65 ³⁾	303.60±47.76 ³⁾
	0.64	321.38±51.27 ³⁾	358.40±76.06 ³⁾
JFK	1.35	275.40±88.91 ³⁾	282.98±91.53 ³⁾

正常、椎间隙正常、关节突关节清晰、无硬化增生，模型组大鼠颈椎出现不同程度的椎体歪曲、椎间隙狭窄、模糊不清等病变，PLQT各剂量组颈椎歪曲不明显，椎间隙正常、关节突关节清晰等。进一步的影像学评分结果显示，与正常组比较，模型组颈椎生理弯曲、椎间隙、钩椎关节及关节突、椎体前后缘骨赘等评分均显著升高($P<0.01$)；与模型组比较，除

钩椎关节及关节突评分中的低剂量组外，PLQT各剂量组的各评分均明显降低($P<0.05, P<0.01$)，JFK组仅生理弯曲评分和椎体前后缘骨赘评分显著降低，而椎间隙评分和钩椎关节及关节突评分无明显影响。见图3，表5。

3.5 对椎动脉型颈椎病大鼠血清中ET-1, NO含量的影响 与正常组比较，模型组ET-1含量显著升高($P<0.01$)，NO含量显著降低($P<0.01$)；与模型组比较，PLQT各剂量组ET-1含量降低，NO含量升高，其中PLQT中、高剂量组作用差异有统计学意义($P<0.05, P<0.01$)；JFK组也均显著降低ET-1并升高NO含量($P<0.01$)，且与PLQT高剂量组相近且略优。见表6。

3.6 对CSA大鼠血清中t-PA, PAI含量的影响 与正常组比较，模型组t-PA含量显著减低($P<0.01$)，PAI含量显著升高($P<0.01$)；与模型组比较，PLQT各剂量组t-PA含量升高，PAI含量降低，其中PLQT中、高剂量组作用差异显著($P<0.01$)，JFK组也显著升高t-PA和降低PAI含量，且与PLQT高剂量组相

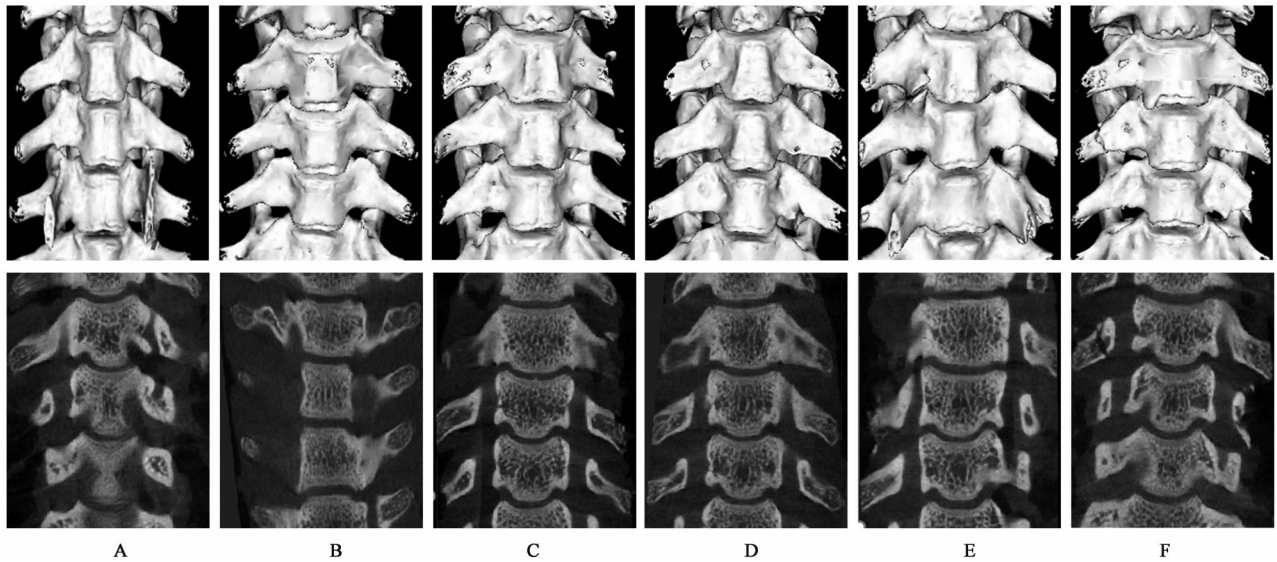


图3 PLQT对CSA大鼠颈椎影像学及评分的影响

Fig. 3 Effect of PLQT on imaging and score of cervical vertebra in CSA rats

表5 PLQT对CSA大鼠颈椎影像学评分的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 5 Effect of PLQT on imaging and score of cervical vertebra in CSA rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	影像学评分/分
正常		0.00±1.00
模型		1.69±1.33 ¹⁾
PLQT	0.16	1.08±1.03 ²⁾
	0.32	1.00±0.76 ²⁾
	0.64	0.62±1.10 ³⁾
JFK	1.35	0.85±0.74 ²⁾

表6 PLQT对CSA大鼠血清ET-1,NO含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 6 Effect of PLQT on serum ET-1 and NO contents in CSA rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	ET-1/ng·L ⁻¹	NO/ μ mol·L ⁻¹
正常		24.93±7.44	49.14±5.77
模型		32.05±2.79 ¹⁾	23.83±5.32 ¹⁾
PLQT	0.16	29.25±1.87	37.41±6.78
	0.32	27.72±1.33 ²⁾	38.34±5.47 ²⁾
	0.64	25.95±1.17 ³⁾	44.36±7.49 ³⁾
JFK	1.35	26.78±0.95 ³⁾	45.23±8.11 ³⁾

近($P<0.05, P<0.01$)。见表7。

4 讨论

PLQT的药物组成中,盘龙七、当归、丹参活血化瘀,改善血液循环,有利于改善局部微环境;秦艽、五加皮、络石藤祛湿止痛;杜仲、壮筋丹补肾强骨;竹根七、羊角七、过山龙舒筋通络、消肿止痛。现代医学证明,PLQT中多种中药有增强吞噬细胞吞噬功能、抗炎、镇痛、改善微循环等作用^[9],但对

表7 PLQT对CSA大鼠血清t-PA和PAI含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 7 Effect of PLQT on serum t-PA and PAI contents in CSA rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	t-PA/ μ g·L ⁻¹	PAI/ng·L ⁻¹
正常		4.13±0.42	418.30±42.35
模型		2.17±0.25 ¹⁾	558.32±68.98 ¹⁾
PLQT	0.16	2.71±0.27	479.70±8.22
	0.32	2.83±0.18 ³⁾	430.03±34.19 ³⁾
	0.64	3.37±0.51 ³⁾	422.78±39.75 ³⁾
JFK	1.35	3.28±0.65 ³⁾	450.09±1.79 ²⁾

CSA的作用如何尚不清楚。CSA是由各种机械性与动力性因素使椎动脉受到压迫或者刺激、痉挛,以致血管狭窄、扭曲而造成以基-椎动脉供血不足为特征表现的一种疾病^[21]。有关CSA的动物造模主要有混合造模法、植骨压迫法、注射组织硬化剂法、力学失衡法等多种^[18]。其中,混合造模法以力学失衡法结合注射硬化剂法造成椎动脉狭窄,其以安全、经济、较为贴近人CSA慢性发病机制、且成功率高而被广泛采用^[19]。因此,本次实验采用混合造模法建立大鼠CSA模型,以观察PLQT对CSA的干预疗效,并选用了临床治疗颈椎病疗效确切的JFK作为阳性药物对照。

一般情况下脊柱靠肌肉的收缩和松弛来达到动静平衡,一旦失衡将导致小关节退变,进而引起椎间盘退变。斜板实验通过肢体的运动功能来反映肌肉的动静平衡状态,因而对肌力的检查较敏感^[22]。血流动力学是反映CSA血供的客观指标,多普勒超声检测血流动力学是诊断CSA的主要依据,

颈椎影像学评分是临床与实验研究中检测颈椎退变的可靠手段^[17]。多项研究报道显示,通过斜板运动功能,激光多普勒和小动物多模高频声波检测血流量和血流速度的改变及颈椎影像学检测等可综合评价CSA模型的成功与否^[17,21]。实验中,斜板运动功能结果显示,CSA大鼠斜板倾斜角度能较正常大鼠显著降低,提示模型大鼠颈部的力学失衡,运动功能减弱;多模高频声波和激光多普勒检测结果显示CSA大鼠左右两侧椎动脉血流速度和软脑膜微循环血流量均较正常组明显降低,提示CSA大鼠椎动脉和脑内血供不足;Micro CT检测结果显示,CSA大鼠正位片可见钩椎关节变尖、椎间隙狭窄,侧位片反曲、椎体前后缘骨赘形成。这些结果提示,CSA大鼠模型成功建立。进一步,利用该模型,笔者发现PLQT能明显改善CSA大鼠斜板肢体运动功能,升高CSA大鼠左右侧椎动脉血流速度、增加左右侧软脑膜微循环的血流量,并改善颈椎影像学改变程度,提示PLQT能有效干预CSA大鼠。

NO和ET是血管活性物质中维持血管张力的重要因子。其中,血管舒张剂NO释放减少或活性降低可导致血管舒张功能障碍;ET是一种内源性血管收缩多肽,可引起血管痉挛。多项实验研究表明,CSA的发病期、稳定期ET明显升高,NO降低^[2,23-24]。研究显示,丹参^[25]具有扩张血管功能,配合当归^[11]活血养血,改善局部血液循环,维持血管的正常张力,调节NO和ET的动态平衡。为了观察含有丹参、当归的PLQT治疗大鼠CSA是否也与调节血管舒缩功能有关,本实验检测了血清中NO和ET-1的含量。结果显示,模型组NO含量降低ET-1含量升高,经PLQT给药后可呈剂量依赖性地升高CSA大鼠血清中NO含量并降低ET-1含量,尤其以PLQT高剂量的作用最明显,提示PLQT通过调节血管舒缩功能干预大鼠CSA。

血液的正常流动除了依赖血管的张力外,还依赖于凝血-纤溶系统的调控,其中t-PA可以防止纤维蛋白过度沉积,促进纤溶进而发挥抗凝血作用;PAI-1为t-PA抑制剂,与t-PA形成1:1复合物形式灭活t-PA,促进血栓形成,具有促凝血作用^[26-27]。大量研究证实^[28-31],PAI含量增高,t-PA含量下降会明显影响血流速度,降低血流量。为了观察PLQT对凝血-纤溶系统的影响,本实验检测了血清中t-PA和PAI的含量。结果显示,模型组PAI含量升高,t-PA含量下降,PLQT干预后t-PA含量增加,PAI含量降低,提示PLQT调节凝血-纤溶系统异常有效干预大

鼠CSA。这与丹参^[32]、红花^[33]等单味药调节t-PA和PAI有效促纤溶和抗凝血的作用一致。

综上,采用混合造模法建立CSA大鼠模型,证明PLQT改善大鼠肢体运动功能、促进椎动脉血流和软脑膜微循环的血流量、降低颈椎影像学改变程度,有效干预大鼠CSA,其作用机制与调节血管舒缩功能和改善凝血纤溶系统异常有关。相关研究结果将有助于指导PLQT的临床合理用药,为拓展其临床新适应症提供实验依据。

【利益冲突】 本文不存在任何利益冲突。

【参考文献】

- [1] 钱宇章,王楠,董煜祺,等. 椎动脉型颈椎病的证候分型及其方药疗效探析[J]. 中医学报,2020,48(9):61-65.
- [2] 曾姿霏,苏美意,范德辉. 近10年椎动脉型颈椎病发病机制的研究进展[J]. 心电图杂志:电子版,2019,8(2):200-203.
- [3] 罗晓,刘康,杨维新. 某医院2014-2016年颈椎病住院患者流行病学现状分析[J]. 解放预防医学杂志,2018,36(1):124-126.
- [4] SULTAN M J, HARTSHORNE T, NAYLOR A R. Extracranial and transcranial ultrasound assessment in patients with suspected positional 'vertebrobasilar ischaemia'[J]. Eur J Vasc Endovasc Surg, 2009, 38(1):10-13.
- [5] OGUNTONA S A. Cervical spondylosis in south west nigerian farmers and female traders [J]. Ann African Med, 2014, 13(2):61-64.
- [6] 陆福,赵亚男,刘浩伟,等. 椎动脉型颈椎病的中医药临床治疗进展[J]. 中国中医基础医学杂志,2017,23(7):1035-1038.
- [7] 占欢腾,吴春玉,洪冰. 中医综合疗法治疗椎动脉型颈椎病的效果[J]. 中国老年学杂志,2019,39(10):2394-2397.
- [8] 范荣. 中药治疗椎动脉型颈椎病的研究进展和机理分析[J]. 中医药导报,2009,15(7):98-100.
- [9] 耿维凤. 盘龙七片的药理作用与临床评价[J]. 中国现代药物应用,2009,3(18):130-131.
- [10] 龚庆凤. 盘龙七片的药理作用和临床用途[J]. 中外医疗,2009,28(21):167.
- [11] 王璐,徐颖,刘春芳,等. 基于网络药理学探讨盘龙七片治疗骨性关节炎配伍的合理性[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(18):166-174.
- [12] 贾可欣,刘春芳,王金霞,等. 盘龙七片对慢性炎性疼痛大鼠的镇痛作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(15):61-68.

- [13] 任婕,邹季. 盘龙七片治疗神经根型颈椎病的临床观察[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2009, 17(5):50-51.
- [14] 周世恒. 盘龙七片配合牵引治疗外伤性神经根型颈椎病[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2008, doi:10.3969/j.issn.1005-0205.2008.01.030.
- [15] 史达,孙银娣,张平安,等. 盘龙七配合手法治疗椎动脉型颈椎病的临床观察[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2012, 20(3):42-43.
- [16] 陆永雷,陈朝晖,程露露,等. 三种椎动脉型颈椎病动物模型的比较研究[J]. 中医药临床杂志, 2016, doi:10.16448/j.cjtem.2016.0450.
- [17] 贾力莉,牛艳艳,靳桂春,等. 茛菪止眩颗粒对椎动脉型颈椎病大鼠药效学实验研究[J]. 山西中医, 2018, 34(9):52-54.
- [18] 张翔,钱宇章,谢林,等. 椎动脉型颈椎病动物造模的技术方法与结果评价[J]. 中国组织工程研究, 2019, 23(15):2427-2435.
- [19] 柴居堂,宋敏,董万涛,等. 椎动脉型颈椎病动物模型国内研究进展及评价[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2015, 23(1):26-30.
- [20] 余家阔,吴毅文,戴先进,等. 颈椎病生物力学发病机制实验研究[J]. 安徽医科大学学报, 1990, 25(1):47-51.
- [21] 宫菲. 中医针灸特色疗法治疗椎动脉型颈椎病的研究进展[J]. 中国中医药现代远程教育, 2021, 19(3):188-191.
- [22] 宋沛松,孔抗美,齐伟力,等. 肌力失衡与后柱失稳大鼠颈椎病模型的研究[J]. 汕头大学医学院学报, 2004, 17(2):70-71, 77.
- [23] 董平. 活血定眩胶囊通过PI3K/Akt/mTOR信号通路对CSA模型大鼠的影响[D]. 兰州:甘肃中医药大学, 2020.
- [24] 范志勇,谢兵,查和萍,等. 从血管内皮功能探讨手法治疗椎动脉型颈椎病的分子机制[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2012, 20(12):67-68.
- [25] 方苏亭,徐阳平,何勇,等. 盘龙七片治疗急性慢性软组织损伤的近期疗效分析[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2006, doi:10.3969/j.issn.1005-0205.2006.04.016.
- [26] 刘伟志,裴玲燕,张纯芳,等. 蒙药阿给炭对急性胃溃疡合并出血模型大鼠凝血、纤溶系统影响的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(12):2817-2819.
- [27] 李宜珊,康睿男,张舒婷,等. 低氧性肺动脉高压患者凝血纤溶因子和血细胞比容的变化及其意义[J]. 中国临床研究, 2019, 32(8):1045-1048.
- [28] RAZIEL A, KORNBORG Y, FRIEDLER S, et al. Hypercoagulable thrombophilic defects and hyperhomocysteinemia in patients with recurrent pregnancy loss[J]. Am J Reprod Immunol, 2001, 45(2):65-71.
- [29] CRANDALL D L, ELOKDAH H, DI L, et al. Characterization and comparative evaluation of a structurally unique PAI-1 inhibitor exhibiting oral *in vivo* efficacy[J]. J Thromb Haemost, 2004, 2(8):1422-1428.
- [30] SHEN Z Q, DONG Z J, PENG H, et al. Modulation of PAI-1 and t-PA activity and thrombolytic effects of corilagin[J]. Planta Medica, 2003, 69(12):1109-1112.
- [31] 李清林,宋敏,孙定平,等. 活血定眩胶囊对CSA模型大鼠椎动脉血流量及血浆PAI、t-PA水平的影响[J]. 四川大学学报:医学版, 2016, 47(6):862-865.
- [32] 葛志红,张敏洲,陈伯钧,等. 通冠胶囊对不稳定型心绞痛患者凝血-纤溶系统的作用[J]. 新医学, 2010, 41(12):794-796.
- [33] 王玉玉. 红花黄色素氯化钠注射液联合低分子肝素对腹腔镜子宫全切术围术期凝血纤溶系统及肾功能的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2018, 27(20):2192-2195.

[责任编辑 孙丛丛]