

清热祛痛搽剂对尿酸钠致大鼠痛风性关节炎的影响

王永, 赵越, 章嫡妮, 郭瑶, 卞慧敏*

(南京中医药大学药学院, 江苏省中药药效与安全性评价重点实验室, 南京 210029)

[摘要] 目的: 研究清热祛痛搽剂对尿酸钠诱导大鼠急性痛风性关节炎(GA)模型的治疗作用。方法: 取 45 只大鼠, 按体重随机分成 5 组。模型对照组, 造模后按时间点涂等容积赋形剂; 阳性药吲哚美辛组($4.5 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 于造模前 1 h 灌胃给药($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$); 清热祛痛搽剂高剂量组($0.91 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、中剂量组($0.46 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、低剂量组($0.23 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 于造模后立即涂药($0.1 \text{ mL}/\text{只}$), 并于致炎后 6, 12, 24, 48 h 检测大鼠踝关节容积。结果: 清热祛痛搽剂高、中、低剂量在致炎后各时间点均能不同程度的抑制尿酸钠所致大鼠踝关节疼痛, 减轻肿胀程度, 降低步态评分, 与模型对照组比较差异有显著性($P < 0.05$)。结论: 清热祛痛搽剂对尿酸钠引起的痛风性关节炎有较好的治疗作用。

[关键词] 清热祛痛搽剂; 痛风性关节炎; 尿酸钠

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)10-0253-04

The Effect of Heat-cleaning and Pain-relieving Liniment on Gouty Arthritis Rats by Sodium Urate

WANG Yong, ZHAO Yue, ZHANG Di-ni, GUO Yao, BIAN Hui-min*

(Department of Pharmacology, Nanjing University of Chinese Traditional Medicine, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Heat-cleaning and Pain-relieving liniment on acute gouty arthritis rats induced by sodium urate. **Method:** Forty-five SD rats were randomly divided into 5 groups: model group rats were smeared equal volume of excipient after modeling by time. Indomethacin group ($0.0045 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) rats were administrated drugs one hour before modeling ($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$). Heat-cleaning and Pain-relieving liniment high dose ($0.91 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) group, medium dose ($0.46 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) group and low dose ($0.23 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) group rats were smeared after modeling at once, and the volume of rats ankle were detected at 6, 12, 24, 48 h after modeling. **Result:** Different doses of Heat-cleaning and Pain-relieving liniment all could obviously inhibit the pain of ankle, reduce the degree of swelling, and decrease the score of gait. There was a significant difference compared with the model group ($P < 0.05$). **Conclusion:** There was a better therapeutic effect of Heat-cleaning and Pain-relieving liniment on gouty arthritis rats by sodium urate.

[Key words] Heat-cleaning and Pain-relieving liniment; gouty arthritis; sodium urate

痛风性关节炎(gouty arthritis, GA)是由于嘌呤代谢障碍引起血尿酸浓度过高而导致尿酸盐结晶沉积于关节所致的一种代谢性骨关节疾病^[1]。正常人的血清尿酸水平波动在一个比较窄的范围内,如

男性血尿酸 $\geq 417 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ($7.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$),女性血尿酸 $\geq 357 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ($6.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)时应考虑为高尿酸血症,尿酸钠就有可能析出并沉积于关节组织引起痛风发作^[2]。关节腔内注入尿酸钠晶体造成急性痛风性关节炎病变模型,其病理表现与临床极为相似。尿酸钠结晶沉积到关节腔周围时,可诱导炎症细胞聚集到其周围发生吞噬反应,在吞噬反应过程中吞噬细胞破裂释放出多种致炎致痛因子,从而引起关节周围广泛的炎症反应^[3-4]。清热祛痛搽剂由大黄、透骨草等中药制成,具有清热解毒、抗炎镇痛作用。本实验采用尿酸钠致大鼠关节炎模型,观察

[收稿日期] 2011-12-26(841)

[第一作者] 王永, 硕士研究生, 主管中药师, 从事中药新药药理研究, Tel: 13961900868, E-mail: wy60888@163.com

[通讯作者] * 卞慧敏, 硕士, 研究员, 从事中药新药药理研究, Tel: 025-86798398, E-mail: hmbian@sina.com

清热祛痛搽剂对痛风性关节炎模型的治疗作用,从而为临床应用提供依据。

1 材料

1.1 动物 清洁级 SD 大鼠,雄性,体重 160 ~ 180 g,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,动物许可证号 SCXK(沪)2007-0005。

1.2 药物与试剂 赋形剂(50%乙醇)、清热祛痛搽剂,由江苏南星药业有限责任公司提供,批号 20100502;吲哚美辛片,临汾奇林药业有限公司,批号 0911031;尿酸, Sigma-Aldrich,批号 STBB1642M9;氢氧化钠,国药集团化学试剂有限公司,批号 20031226。

1.3 仪器 Sartorius BS110S 电子天平(北京赛多利斯天平有限公司),XLS-7A 足跖容积测量仪(山东省医学科学院设备站)。

2 方法

2.1 尿酸钠结晶及尿酸钠溶液的制备^[5] 取 2 g 尿酸加入 400 mL 的沸水中,用 NaOH(1 N)调 pH 值至 7.4,再加热至 95 °C,室温冷却并轻轻搅拌,4 °C 放置 4 ~ 6 h,析出絮状沉淀,过滤,得微晶型尿酸钠,80 °C 高温灭菌。用前称取 1 000 mg 尿酸钠,充分研磨,加无菌生理盐水 20 mL 配成 50 g·L⁻¹(5%)的混悬液。

2.2 分组与给药 大鼠适应性喂养 3 d,按体重随机分为 5 组:模型对照组,阳性药吲哚美辛组(4.5 × 10⁻³ g·kg⁻¹),清热祛痛搽剂高剂量组(0.91 g·kg⁻¹)、中剂量组(0.46 g·kg⁻¹)、低剂量组(0.23 g·kg⁻¹)。阳性药吲哚美辛组在致炎前 1 h 灌胃给药(10 mL·kg⁻¹);其余各组于造模后立即涂药(0.1 mL/只),并于致炎后 6,12,24 h 检测后重新涂药,模型组涂等容积赋形剂。

2.3 模型制备^[5] 用记号笔在大鼠右后肢踝关节周围作标记,用 XLS-7A 足跖容积测量仪测量右踝容积作为正常值。各组在大鼠右踝关节的背侧(关节伸直、45 度进针)将 5% 尿酸钠混悬液 0.2 mL 注入关节腔造模。

2.4 观察指标

2.4.1 关节肿胀度 测定致炎后 6,12,24,48 h 的右踝关节的容积。并计算关节肿胀度,肿胀率和肿胀抑制率。

$$\text{肿胀度} = \text{造模后关节容积} - \text{造模前关节容积}$$

$$\text{肿胀率} = (\text{造模后关节容积} - \text{造模前关节容积}) / \text{造模前关节容积} \times 100\%$$

$$\text{肿胀抑制率} = (\text{对照组平均肿胀率} - \text{给药组平均肿胀率}) / \text{对照组平均肿胀率} \times 100\%$$

2.4.2 大鼠步态评分 造模 24 h,按 Coderre^[5] 方法观察大鼠步态,并评分,0 级:正常行走;1 级(1 分):轻微跛行,受试下肢略有弯曲;2 级(2 分):中度跛行,受试下肢刚触及地面;3 级(3 分):重度跛行,受试下肢离开地面,3 足着地行走。

2.5 统计学方法 采用 SPSS 11.5 软件,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间两两比较采用 *q* 检验,方差不齐时采用 *q'* 检验,*P* < 0.05 为有统计意义。

3 结果

3.1 对尿酸钠致大鼠踝关节肿胀容积的影响 造模 6 h 后大鼠踝关节容积明显升高,随时间延长肿胀逐渐减轻,但 48 h 仍未恢复正常,与致炎前比较差异有显著性(*P* < 0.01)。清热祛痛搽剂高剂量组能明显降低大鼠踝关节容积(*P* < 0.05, *P* < 0.01)与模型组比较差异有显著性。阳性药吲哚美辛和低剂量与模型组比较仅在 12 h 降低踝关节容积,差异也有显著性(*P* < 0.05)。见表 1。

表 1 清热祛痛搽剂对尿酸钠致大鼠踝关节肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n = 9$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	造模前容积 /mL	造模后容积/mL			
			6 h	12 h	24 h	48 h
模型对照	-	2.04 ± 0.20	2.71 ± 0.32	2.62 ± 0.36	2.39 ± 0.29	2.25 ± 0.25
吲哚美辛	4.5 × 10 ⁻³	2.04 ± 0.10	2.45 ± 0.24	2.26 ± 0.24 ¹⁾	2.20 ± 0.11	2.10 ± 0.10
清热祛痛	0.91	2.01 ± 0.20	2.36 ± 0.34 ¹⁾	2.20 ± 0.17 ²⁾	2.15 ± 0.16 ¹⁾	2.07 ± 0.18
	0.46	2.07 ± 0.12	2.59 ± 0.17	2.42 ± 0.16 ⁴⁾	2.23 ± 0.15	2.14 ± 0.11
	0.23	1.98 ± 0.21	2.45 ± 0.32	2.28 ± 0.26 ¹⁾	2.20 ± 0.27	2.10 ± 0.22

注:与模型组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01;与清热祛痛高剂量组比较³⁾ *P* < 0.05, ⁴⁾ *P* < 0.01;与吲哚美辛组比较⁵⁾ *P* < 0.05(表 2 ~ 4 同)。

3.2 对尿酸钠诱导大鼠踝关节肿胀度的影响 清热祛痛搽剂 3 个剂量、阳性药吲哚美辛在各时间点均能明显降低模型大鼠关节肿胀度,与模型对照组比较差异均有显著性(*P* < 0.05, *P* < 0.01)。清热祛

痛搽剂高剂量组抑制模型大鼠踝关节肿胀度的作用较中、低剂量组为好,尤其在 12 h 肿胀度的比较差异有显著性(*P* < 0.01)。见表 2。

表2 清热祛痛搽剂对尿酸钠诱导大鼠踝关节肿胀度的影响($\bar{x} \pm s, n=9$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	肿胀度/mL			
		6 h	12 h	24 h	48 h
模型对照	-	0.671 ± 0.176	0.584 ± 0.207	0.350 ± 0.148	0.213 ± 0.095
吡罗美辛	4.5 × 10 ⁻³	0.408 ± 0.153 ²⁾	0.226 ± 0.171 ²⁾	0.165 ± 0.057 ²⁾	0.062 ± 0.048 ²⁾
清热祛痛	0.91	0.350 ± 0.195 ²⁾	0.181 ± 0.091 ²⁾	0.135 ± 0.081 ²⁾	0.058 ± 0.047 ²⁾
	0.46	0.519 ± 0.113 ^{1,3)}	0.352 ± 0.101 ^{2,4)}	0.163 ± 0.084 ²⁾	0.075 ± 0.051 ²⁾
	0.23	0.464 ± 0.174 ¹⁾	0.300 ± 0.124 ^{2,3)}	0.215 ± 0.120 ¹⁾	0.120 ± 0.053 ^{1,3)}

3.3 对尿酸钠诱导大鼠踝关节肿胀率和抑制率的影响 清热祛痛搽剂高、中、低剂量组、阳性药吡罗美辛均能明显降低各时间点的肿胀率,与模型对照

组比较均有显著性差异($P < 0.05, P < 0.01$),以清热祛痛搽剂高剂量最强;在造模后12 h与中剂量组、48 h与低剂量组差异显著($P < 0.05$)。见表3。

表3 清热祛痛搽剂对尿酸钠诱导大鼠踝关节肿胀率和抑制率的影响($\bar{x} \pm s, n=9$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	6 h		12 h		24 h		48 h	
		肿胀率	抑制率	肿胀率	抑制率	肿胀率	抑制率	肿胀率	抑制率
		/%	/%	/%	/%	/%	/%	/%	/%
模型对照	-	32.79 ± 7.99	-	28.43 ± 8.70	-	16.09 ± 6.60	-	10.43 ± 4.47	-
吡罗美辛	4.5 × 10 ⁻³	19.79 ± 6.92 ²⁾	39.65	10.94 ± 7.84 ²⁾	61.55	8.13 ± 2.94 ²⁾	52.39	3.06 ± 2.40 ²⁾	70.65
清热祛痛	0.91	17.15 ± 8.98 ²⁾	47.71	9.29 ± 5.23 ²⁾	67.32	7.03 ± 4.68 ²⁾	58.86	3.01 ± 2.64 ²⁾	71.12
	0.46	25.10 ± 5.75 ^{1,3)}	23.45	17.08 ± 5.09 ^{2,4)}	39.92	7.91 ± 4.09 ²⁾	53.69	3.70 ± 2.62 ²⁾	64.51
	0.23	23.22 ± 8.17 ¹⁾	29.20	15.14 ± 6.57 ²⁾	46.74	10.79 ± 5.59 ¹⁾	36.87	6.06 ± 2.72 ^{1,3,5)}	41.91

3.4 对尿酸钠致关节肿胀大鼠步态的影响 各给药组均能明显降低模型大鼠步态评分,清热祛痛搽剂高、中、低剂量组与模型组比较,4个时间点差异都有显著性;阳性药吡罗美辛也有降低模型大鼠步

态评分的作用,除6 h外与模型组比较差异也有显著性;各给药组降低大鼠步态评分的作用以高剂量组为最好,在48 h与阳性药、清热祛痛搽剂中、低剂量组比较差异也有显著性($P < 0.05$)。见表4。

表4 清热祛痛搽剂对尿酸钠致关节肿胀大鼠步态的影响($\bar{x} \pm s, n=9$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	6 h	12 h	24 h	48 h
模型对照	-	2.33 ± 0.50	2.33 ± 0.50	2.00 ± 0.50	1.78 ± 0.67
吡罗美辛	4.5 × 10 ⁻³	2.00 ± 0.87	1.67 ± 0.71 ¹⁾	1.11 ± 0.60 ²⁾	1.00 ± 0.71 ^{1,3)}
清热祛痛	0.91	1.56 ± 0.73 ¹⁾	1.44 ± 0.53 ²⁾	1.22 ± 0.67 ¹⁾	0.33 ± 0.50 ²⁾
	0.46	1.67 ± 0.50 ¹⁾	1.56 ± 0.53 ²⁾	1.11 ± 0.60 ²⁾	1.00 ± 0.50 ^{1,3)}
	0.23	1.67 ± 0.71 ¹⁾	1.67 ± 0.50 ¹⁾	1.33 ± 0.50 ¹⁾	1.10 ± 0.33 ^{1,4)}

4 讨论

痛风是由于长期嘌呤代谢的障碍,尿酸盐沉积在关节而引起急性关节炎反应。该病均为急性发作,局部关节出现红、肿、热、痛症状,属于中医“痹证”范畴^[6]。Coderre等^[5]最早应用尿酸钠盐局部关节注射造成痛风性关节炎模型,引起关节周围组织广泛的炎症反应,被认为是经典的痛风性关节炎的造模方法。目前此法已在多种动物体内成功地诱

导出急性痛风性关节炎模型,其病理表现、机制与人类痛风性关节炎相似,故可用于评价抗痛风性关节炎药物的药效^[7]。我们的实验结果表明利用尿酸钠踝关节局部注射,可引起关节局部肿胀、疼痛,明显增加步态评分,成功复制类似痛风性关节炎急性发作时的症状。

目前西医对痛风性关节炎的治疗多采用秋水仙碱、非甾体类消炎药、别嘌醇以及激素等,虽然可

四物合剂对化疗后大鼠卵巢形态及颗粒细胞凋亡的影响

孙海芸^{1,2}, 陈云芝³, 薛晓鸥^{1*}

(1. 北京中医药大学东直门医院妇科, 北京 100700;

2. 国家中医药管理局三级实验室北京中医药大学东直门医院中药药理学实验室, 北京 100700;

3. 北京市西城区丰盛中医骨伤专科医院妇科, 北京 100033)

[摘要] **目的:**探讨四物合剂对化疗所致卵巢储备功能下降的大鼠卵巢颗粒细胞凋亡的影响。**方法:**以 40 只雌性 SD 大鼠为研究对象, 随机分为正常对照组(正常组)、顺铂模型组(模型组)、四物合剂组(四物组)和倍美力组, 每组各 10 只。模型组、四物组和倍美力组连续 7 d 腹腔注射顺铂 $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 正常组连续 7 d 腹腔注射等量的生理盐水, 随后正常组和模型组连续 7 d 纯净水灌胃 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 四物组连续 7 d 四物合剂灌胃 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、倍美力组连续 7 d 倍美力溶液灌胃 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。自实验第 1 天起, 每日制作大鼠阴道分泌物涂片以观察大鼠动情周期; 实验第 14 天大鼠称重、麻醉, 取血清运用放免法测血中卵泡刺激素(FSH)、黄体生成激素(LH)、雌二醇(E_2)和孕酮(Pro); 取双侧卵巢, 同侧切片后常规 HE 染色, 图像分析仪下进行颗粒细胞层最大厚度的显微测量, 并运用原位细胞死亡检测法检测颗粒细胞凋亡情况。**结果:**与正常组比较, 模型组大鼠 FSH 和凋亡指数均升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 同时 E_2 值下降。与模型组比较, 四物组大鼠 FSH 和凋亡指数降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 同时 E_2 值升高。**结论:**四物合剂对化疗后大鼠卵巢颗粒细胞的凋亡有一定的抑制作用, 能促进卵巢功能恢复, 但还不能起到完全修复的作用。

[关键词] 卵巢颗粒细胞; 四物汤; 细胞凋亡

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)10-0256-04

[收稿日期] 2012-02-06(148)

[基金项目] 首都医学科技发展基金项目(F-2007-III-11)

[第一作者] 孙海芸, 学士, 助理研究员, 从事中药药理学工作, Tel:010-84013195, E-mail:sunhaiyun1979@163.com

[通讯作者] *薛晓鸥, 博士, 主任医师, 从事中西医结合妇科工作, Tel:010-84013150, E-mail:xxo123@sina.com

暂时缓解症状, 但存在较严重的毒副反应, 且停用后常可复发。中医根据痛风的发病为本虚标实, 以邪实为主的特点, 制定了急则治其标, 缓则治其本的原则。在急性发作时多属风寒湿热邪气杂至, 痹阻经络, 瘀血凝滞, 气血不畅, 脉络不通, 不通则痛; 气血郁于骨关节局部, 则灼热红肿, 功能障碍, 痛不可触; 久病遂使瘀血凝滞, 络道阻塞, 以致关节畸形等。因此依据病机在治疗上常采用清热利湿、祛风通络、活血化瘀、消肿止痛等法^[8]。但中药口服治疗大多在 2~3 d 起效, 不能立即缓解病人的痛苦。因此我们研制了清热祛痛搽剂, 通过局部给药, 尽快缓解病人的痛苦。实验结果表明该药能够较快减轻尿酸钠引起的踝关节急性炎症, 降低肿胀率, 缓解局部疼痛, 对痛风性关节炎急性发作期有较好的治疗作用。

[参考文献]

[1] 马颖, 颜海燕, 刘梅, 等. 鸡矢藤提取物对尿酸钠晶体诱导大鼠急性痛风性关节炎影响的研究[J]. 中国药房, 2008, 19(6):411.

- [2] 王占奎, 张庆祥. 中医药治疗实验性高尿酸血症研究进展[J]. 山东中医杂志, 2010, 29(6):428.
- [3] 陈光亮, 吕红霞, 王媛媛, 等. 草薢牛膝总皂苷对尿酸钠诱导的大鼠急性痛风性关节炎的防治作用[J]. 中药药理与临床, 2010, 26(1):34.
- [4] 王新亚, 杨莉. 痛风舒合剂抗大鼠急性痛风性关节炎的实验研究[J]. 中药材, 2010, 33(3):435.
- [5] Coderre T J, Wall P D. Ankle joint urate arthritis in rats: an alternative animal model of arthritis to that produced by Freund's adjuvant[J]. Pain, 1987, 28(3):379.
- [6] 廖丽锦, 黄霞, 庞伟明, 等. 消肿定痛膏外敷治疗痛风性关节炎的临床观察[J]. 中国医药导报, 2010, 7(7):70.
- [7] 陈光亮, 韩茹, 谷仿丽. 等. 加味四妙汤对微晶型尿酸钠致兔急性痛风性关节炎的防治作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(2):42.
- [8] 王晓霞. 自拟山慈菇汤治疗急性痛风性关节炎 30 例[J]. 浙江中医杂志, 2010, 45(6):430.

[责任编辑 古云侠]