

中药外敷治疗急性软组织损伤的动物实验研究进展

朱春城¹, 彭力平², 谢增军²

(1. 湖南中医药大学, 长沙 410007; 2. 深圳市第二中医院, 广东 深圳 518034)

[摘要] 对急性软组织损伤动物模型及各项实验指标的研究进行文献整理和分析。检索收集 CNKI 有关文献 25 篇, 综合归纳整理。急性软组织损伤动物模型的建立方法常用的有捶打法、撞击法、注射法、压迫法和切割法等; 实验研究中的各种实验观察指标选择大多都集中在宏观的大体观察、镇痛及抗炎消肿作用的研究和微观的病理组织学、生化因子、血液流变学的测定。随着现代分子生物学和分子免疫学的不断发展, 分子及基因水平的研究将会是今后中药外敷治疗急性软组织动物实验研究的发展方向。

[关键词] 中药外敷; 急性软组织损伤; 动物实验

[中图分类号] R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)14-0298-04

External Application of Chinese Medicine Treatment of Acute Soft Tissue Injury in Experimental Animal Research Progress

ZHU Chun-cheng¹, PENG Li-ping², XIE Zeng-jun²

(1. Hunan University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Changsha 410007, China;

2. The Shenzhen Second Hospital of TCM, Shenzhen 518034, China)

[Abstract] Acute soft tissue injury animal models and experimental indicators of the collation and analysis of the literature. Collection of relevant literature and conduct search to sum up. Acute soft tissue injury animal model commonly used beat method, the impact method, injection, compression method and the cutting method. Experimental studies in a variety of experimental observations are mostly concentrated in selected indicators of the general macro-observation, analgesic and anti-inflammatory effects of swelling and microscopic histological, biochemical factors, the determination of blood rheology. With modern molecular biology and the development of molecular immunology,

[收稿日期] 20101107(002)

[第一作者] 朱春城, Tel: 13632970370, E-mail: zccspring@sina.com

[通讯作者] * 彭力平, Tel: 0755-83548609, E-mail: plp001@sina.com

- [29] 高永红, 邢雁伟, 袁拯忠, 等. 清开灵有效组分对大鼠脑微血管内皮细胞体外缺血再灌注损伤模型核转录因子- κ B 的影响 [J]. 中西医结合学报, 2009, 7(2): 135.
- [30] Zheng S, Qian Z, Tang F, et al. Suppression of vascular cell adhesion molecule-1 expression by crocetin contributes to attenuation of atherosclerosis in hypercholesterolemia rabbits [J]. Biochem Pharmacol, 2005, 70(8): 1192.
- [31] Tang F T, Qian Z Y, Zheng S G. Effects of crocetin on serum nitric oxide content of atherosclerotic quail and its mechanism [J]. Chin J Nat Med, 2005, 3(5): 316.
- [32] Tang F T, Qian Z Y, Liu P Q, et al. Crocetin improves endothelium-dependent relaxation of thoracic aorta in hypercholesterolemic rabbit by increasing eNOS activity [J]. Biochem Pharmacol, 2006, 72(5): 558.
- [33] Suzuki Y, Kondo K, Ikeda Y, et al. Antithrombotic effect of geniposide and genipin in the mouse thrombosis model [J]. Planta Med, 2001, 67(9): 807.
- [34] 徐沁蕾, 钱之玉. 西红花酸抗凝血和抗血栓形成的实验研究 [J]. 中草药, 2007, 38(1): 89.
- [35] 杨云, 钱之玉. 西红花酸对体内外大鼠血小板聚集的影响 [J]. 中国天然药物, 2007, 5(5): 374.

[责任编辑 邹晓翠]

molecular and gene levels in the future will be the external application of Chinese medicine treatment of acute soft tissue animal research direction.

[Key words] external application of Chinese medicine; acute soft tissue injury; experimentation on animals; summarize

急性软组织损伤是临床上的常见病、多发病,中药外敷治疗有良好的效果,并且围绕该伤病开展了许多相关的动物实验研究。近10年来对急性软组织损伤动物模型的建立以及各项实验观察指标的研究逐渐深入,现将近年来文献报道的中药外敷治疗急性软组织损伤的动物实验研究情况作一概述,以促进这一领域工作的更深一步开展。

1 急性软组织损伤模型的建立

1.1 捶打法 张乐之等^[1]取Wistar大鼠,于试验前24 h用8%硫化钠脱去左后小腿部毛,将大鼠侧位固定在软组织打击器上,选择小腿中部外侧软组织做好标记,用200 g打击锤升至30 cm高度,对准标记处释放打击锤让其自由落下,连续打击5次,造成局部急性软组织损伤。刘忠何等^[2]用10%硫化钠溶液对家兔两后肢脱毛,在家兔两后肢大腿外侧,距腓窝4~7 cm处做好标记,被打击部固定于木板上,用剪刀剪断打击器的固定线,使打击棒自由落体,连续捶击家兔大腿2次,可造成软组织损伤。

1.2 撞击法 冯芳军等^[3]选用体重150~200 g大白鼠,先用10%硫化钠溶液脱除大鼠小腿部鼠毛,用自制撞击器,撞击接触面直径0.8 cm,撞击冲量为 $2 \text{ kg} \cdot \text{m} \cdot \text{s}^{-1}$,在小腿中部外侧连续撞击3次,造成局部软组织挫伤。周富飞等^[4]用自制的软组织打击器内芯对准小鼠臀部软组织,连续撞击3次,受击的小鼠臀部皮肤和皮下软组织出现瘀血和肿胀。

1.3 注射法 吕丽萍等^[5]取大鼠40只,雌雄各半,随机分4组,每组10只,先注射5%戊巴比妥钠 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,并测量大鼠右后足体积,在无菌操作下,取大鼠自体心脏血0.15 mL,立即注入已消毒的足跖底部造成局部血肿。

1.4 压迫法 毕胜等^[6]对兔损伤组用水囊在膝关节前方压迫髌下脂肪垫,将所压迫的膝关节进行屈伸运动,可见脂肪垫内小血管扩张、血管内充血及小片状出血,脂肪间质水肿,淋巴细胞、浆细胞、肥大细胞和巨噬细胞浸润,脂肪垫表面滑膜细胞增生及滑膜绒毛状增生。说明该动物模型的脂肪垫及滑膜符合急性挤压伤的表现。

1.5 切割法 雷波等^[7]用清洁级小鼠,消毒左侧腿部皮肤,将小鼠膝下外侧皮肤备皮,沿腓骨长短肌最丰满处横向切割,使骨骼肌完全断离,不伤及骨膜。处死动物后,在切割的骨骼肌纵面向面、横面向面取材,肉眼及镜下观察,并采用“+”,“++”,“+++”,“++++”标记愈合程度。

2 观察指标的研究

2.1 局部大体观察 许瑞明等^[8]在研究红楼消肿膏对实验用新西兰兔无创面骨折及软组织损伤的治疗作用时,分别于造模损伤处敷红楼消肿膏(A组)和止痛消炎软膏(B组),并

与空白组(C组)进行比较。结果治疗至第10天,A,B组大部分兔造模部位的红肿、疼痛反应逐渐减轻;治疗至第20天,A,B组大部分兔造模部位的红肿逐渐减轻,肿块消失,瘀血不明显;治疗至第30天,A,B组兔造模部位均已痊愈。王萧枫等^[9]为观察评价伤科II号膏药对急性筋伤的药效作用,建立急性筋伤兔模,分为伤科II号组、扶他林软膏组和空白对照组,观测对外表损伤指数,结果显示伤科II号组在消肿散瘀、损伤组织修复方面均优于扶他林组,与空白药物组比较有显著性差异。

2.2 镇痛作用 镇痛实验主要选择热刺激小鼠的镇痛实验或大鼠的热板实验、甩尾实验、化学刺激的镇痛实验、扭体实验。彭松云等^[10]研究柃龙消肿膏对热板法所致小鼠后足痛镇痛的作用,结果表明柃龙消肿膏在给药60 min后起效并且随着时间的推延其镇痛作用增强,与七厘散比较镇痛作用相当。周建华等^[11]用冰醋酸致小鼠疼痛模型研究西红花膏镇痛效果,设大小剂量西红花膏组、万花油组、空白组(蒸馏水),发现大小剂量西红花膏组、万花油组与空白组间在潜伏期和扭体次数上有明显差异,而西红花膏对冰醋酸所致小鼠疼痛的镇痛作用稍好于万花油。董晓俊等^[12]采用小鼠扭体法和温浴致痛法研究中药伤痛膏的镇痛作用,结果伤痛膏能明显抑制热水所致的小鼠疼痛,减少醋酸引起的小鼠扭体次数。

2.3 抗炎消肿作用 抗炎消肿实验常用非特异性炎症模型,使用的致炎因子有异性蛋白(如鸡蛋清等)、颗粒性异物(如角叉莱胶等)以及某些化学物质(如二甲苯等)。赵文海等^[13]报道,损伤康复膏和阳性对照辽源七厘散对鲜鸡蛋清和0.8%交叉莱胶引起的大鼠足肿胀有抑制作用,对二甲苯所致的小鼠肿胀也有明显抑制作用。陈华元等^[14]观察治伤I号软膏对二甲苯致小鼠耳廓肿胀度的影响。结果表明该软膏对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的急性炎症有抗炎作用,与对照组比较差异有显著性。董晓俊等^[12]采用小鼠耳肿胀法和大鼠足肿胀法研究伤痛膏外用的抗炎作用,以镇江膏为对照组测定伤痛膏对小鼠皮肤毛细血管通透性的影响,结果表明,伤痛膏可对二甲苯所致的小鼠耳肿胀、蛋清所致的大鼠足肿胀有明显抑制作用,对小鼠皮肤毛细血管的通透性具有明显的抑制作用。

2.4 血液流变学的测定 主要研究局部微循环血流速度、血流量变化和血液黏稠度等。彭力平等^[15]进行了消瘀散外敷治疗急性软组织损伤的实验研究,其中血液流变学检测显示,消瘀散组用药后各时相全血黏度(低、中切)、红细胞压积、全血还原黏度(低切)都明显低于空白对照组,说明消瘀

散外用治疗急性血瘀证模型大鼠,能明显降低血液黏度、改善其血液流变性、促进损伤组织的修复。王永志等^[16]为观察奇正消痛贴膏对活体兔耳软组织微循环的影响,采用显微放大、数字采集系统、红外测温仪及测厚仪等对用药后 0, 0.5, 3, 5 h 的兔耳软组织局部微循环血流速度、温度的变化进行观察。结果与模型组(外用生理盐水)比较,实验组 5 h 血流速度明显缓慢,兔耳损伤部位肿胀程度于 3, 5 h 明显缩小。说明奇正消痛贴膏能明显降低损伤急性期微循环血流速度,防止进一步水肿及出血。孟宪军等^[17]为研究川花膏抗急性软组织损伤药效及作用机制,用扶他林涂抹作为对照,观察全血黏度(高切、中切、低切)、血浆黏度、红细胞变形指数、红细胞聚集指数。结果在大鼠急性软组织损伤的早期,应用川花膏治疗能降低其血液黏度,有明显的改善血液循环作用。

2.5 组织形态学观察 急性软组织损伤主要表现为局部的变质、渗出及增生,局部组织细胞形态有明显变化。曾平等^[18]为探讨五方膏对大鼠急性软组织损伤的治疗效果和作用机制。将 60 只 Wistar 大鼠随机分为五方膏组、芬必得乳膏组与空白组,光镜下观察创伤局部皮下组织、肌肉组织和创伤性无菌性炎症反应等病理表现,结果显示五方膏能显著地减轻损伤局部肌纤维的肿胀、变性坏死和炎细胞浸润、促进损伤局部肌纤维再生。何朝勇等^[19]观察奇正消痛贴膏对大鼠损伤性血肿局部软组织形态学的改变,对比模型组的病理变化,奇正消痛贴膏和扶他林用药组均有较好的改善病理损伤的作用,表现为皮下组织和肌肉组织损伤减轻、嗜中性粒细胞浸润减少、组织修复较快。鲁光华等^[20]研究筋舒止痛贴对动物软组织损伤的药理作用,将大鼠随机分为空白对照组、阳性对照组和实验组,分别给药后进行软组织损伤修复实验,病理检查显示,筋舒止痛贴可减轻局部组织的炎性渗出,促使皮下瘀血和水肿吸收及血管外膜细胞和结缔组织增生。

2.6 与损伤有关生化因子的实验研究 在软组织损伤过程中有大量的炎性介质及细胞因子参与炎症反应和组织修复,如血管活性胺、花生四烯酸代谢产物、白细胞产物、细胞因子及血小板活性因子等,它们在炎症反应和组织修复中发挥着重要的作用。目前,在软组织损伤实验中运用的指标主要有前列腺素(PGE₂),白细胞介素(IL-1 β), IL-6, 一氧化氮(NO), bFGF mRNA(损伤修复因子)等。章建华等^[21]探讨三黄软膏对急性软组织损伤大鼠的作用机制,结果表明,三黄软膏能够缓解损伤局部的症状,明显抑制损伤局部的 PGE₂ 的含量,减少损伤局部的炎症反应。潘敏求等^[22]观察三王止痛膏对小鼠的影响,结果显示三王止痛膏能提高致痛小鼠血清及贴药部位的 NO 含量,降低 PGE₂ 含量,尤以对贴药局部皮肤影响明显。罗毅文等^[23]研究复方西红花膏对大鼠急性软组织损伤后局部组织 bFGF mRNA 基因表达的影响,结果发现复方西红花膏早期能提高损伤组织中 bFGF mRNA 基因表达水平,且表达水平下降比对照组缓慢。说明

复方西红花膏通过调节 bFGF mRNA 水平,直接刺激成纤维细胞及细胞外基质的蛋白合成,形成胶原纤维,并与相应的受体结合,诱导内皮细胞的迁移,促进毛细血管的增生,形成纤维细胞,是其促进损伤组织修复的作用机制之一。

3 小结

对于急性软组织损伤的中药外敷治疗,临床上主要有敷贴、涂擦、熏洗和热熨等方法。随着制药技术的进步和药用新辅料(特别是高分子药用材料)的应用,骨伤科外敷中药正在由传统剂型向现代剂型转型,具有代表性的现代剂型主要有巴布剂、涂膜剂、凝胶剂及湿敷贴剂。在使用过程中,新剂型都具有给药量准确、血药浓度稳定、副作用小和使用方便等优点。

从实验研究现状看,中药外敷治疗软组织损伤的机制主要是:①通过提高痛阈起到镇痛作用;②通过抑制炎性细胞渗出、浸润,调节炎性介质的合成与释放而达到抗炎作用;③通过改善损伤部位微循环,改善血液流变学性质,纠正 pH,降低毛细血管通透性来发挥其治疗作用;④改善机体代谢,既能促进增生病变的转化吸收,又能使萎缩的结缔组织恢复,使因损伤引起的负氮平衡很快转为正常平衡状态,有利于组织和创伤的恢复;⑤提高机体特异性免疫力,增强巨噬细胞的吞噬能力,促使机体能加速清除体内淤血,从而起到直接或间接的抑菌作用^[24]。

软组织由于机械性的损伤致使组织断裂或细胞破裂,损伤的程度和持续时间的不同,引起的后果也不同,因此实验动物模型的选择尤为重要。经查阅文献得出,现急性软组织损伤模型多采用直接击伤的方法造模,此方法简单,易操作,有良好的重复性,但实验时必须控制打击的高度和重量,在同等条件下造成软组织损伤的强度才能一致。利用小鼠和大鼠作为实验动物模型,较为经济实用,对外敷中药的筛选具有一定的意义;而家兔软组织损伤模型具有治疗及观察方便、准确等特点,对实验治疗的深入研究更具有实用价值。

目前实验观察指标的研究方法多样,从不同方面阐述了中药外敷疗效的机制,特别是近年来已有深入到炎症因子、损伤修复因子检测的文献报道,另外通过血药浓度检测来反映中药外敷的疗效,也具有一定意义^[25]。通过中药外敷治疗急性软组织损伤的实验设计可以看出,这一领域的研究主要还集中在病理学和组织学的观察上,大多只集中在药效学的研究上,没能从分子及基因水平阐述损伤的机制和药物作用的机制,亦未能解决炎症、微循环改变、组织修复三者之间的关系问题。随着现代分子生物学和分子免疫学的发展,如何从中药影响生长因子的信息传递而参与调节局部炎症反应、局部组织的修复等过程等方面开展研究,是今后的发展方向。

[参考文献]

[1] 张乐之,孟德胜,温宝书,等.祛瘀宁痛贴治疗急性软组织损伤的实验研究[J].中国中医骨伤科杂志,

- 2004,12(1):33.
- [2] 刘忠何,李盛华.陇中消肿止痛液对外伤后软组织损伤的实验研究[J].甘肃中医,2005,18(8):46.
- [3] 冯芳军,杨毓华,苏荣梅,等.中药外治大鼠软组织损伤的实验研究[J].颈腰痛杂志,2002,23(3):206.
- [4] 周富飞,朱小强,侯粤峰,等.复方田七跌打软膏治疗急性软组织挫伤的实验研究[J].现代中西医结合杂志,2004,13(15):1992.
- [5] 吕丽萍,赵秋云,陈艳华.伤痛宁康合剂的药效学实验研究[J].时珍国医国药,2007,18(1):132.
- [6] 毕胜,王福根,侯京山.兔髌下脂肪垫损伤动物模型的制备和组织病理变化[J].颈腰痛杂志,2000,21(2):108.
- [7] 雷波,刘安定,黄树明,等.三黄软膏治疗急性软组织损伤的实验研究[J].中国中医药科技,2002,9(4):214.
- [8] 许瑞明,曾庆强,王干威,等.红楼消肿膏对实验用新西兰兔无创面骨折软组织损伤的治疗作用[J].甘肃中医,2005,18(7):67.
- [9] 王萧枫,张鸿振,刘焕兴,等.伤科Ⅱ号膏药对急性筋骨伤兔模作用的实验研究[J].中医正骨,2007,19(11):3.
- [10] 彭松云,刘金华,方玉珍.梔龙消肿膏外敷对小鼠急性软组织损伤抗炎镇痛作用疗效观察[J].贵州医药,2007,31(5):451.
- [11] 周建华,孙之镐.西红花膏治疗急性软组织损伤的实验研究[J].中医外治杂志,2001,10(3):8.
- [12] 董晓俊,张汉庆,张朝阳,等.中药伤痛膏治疗软组织损伤部分药效学及毒理学研究[J].中国中医骨伤科杂志,2006,14(3):29.
- [13] 赵文海,冷向阳,黄丹奇,等.损伤康复膏治疗闭合性软组织损伤的实验研究[J].中医药学刊,2003,21(5):656.
- [14] 陈华元,黄建国,姜君贤,等.治伤Ⅰ号软膏治疗急性软组织损伤的实验与临床研究[J].江苏临床医学杂志,2000,4(6):449.
- [15] 彭力平,孙德毅,林松青,等.消瘀散外敷治疗急性软组织损伤的实验研究[J].中国中医骨伤科杂志,2008,16(5):16.
- [16] 王永志,董福慧,钟红刚,等.奇正消痛贴对兔耳软组织损伤影响的活体观察[J].中医正骨,2008,21(5):356.
- [17] 孟宪军,谢忠礼.川花膏抗急性软组织损伤药效及作用机制研究[J].江西中医学院学报,2007,19(2):74.
- [18] 曾平,廖小波,欧海玲,等.五方膏外敷治疗大鼠急性软组织损伤的实验研究[J].中医正骨,2007,19(4):6.
- [19] 何朝勇,李楠,陈丽华,等.奇正消痛贴治疗急性软组织损伤实验研究[J].中医正骨,2008,20(11):9.
- [20] 鲁光华,安维.筋舒止痛贴治疗软组织损伤的实验研究[J].深圳中西医结合杂志,2006,16(4):204.
- [21] 章建华,丁伟国,袁建迪.三黄软膏治疗急性软组织损伤的实验研究[J].浙江中医药大学学报,2009,33(2):116.
- [22] 潘敏求,蒋益兰,苏旭春,等.三王止痛膏实验研究[J].湖南中医杂志,2001,17(2):55.
- [23] 罗毅文,孙之镐,谭新华,等.复方西红花膏对损伤组织bFGF mRNA表达的影响[J].中国中医骨伤科杂志,2003,11(6):1.
- [24] 张志强,刘强.中药治疗急性软组织损伤的研究进展[J].实用医学杂志,2008,24(1):4.
- [25] 彭力平,孙德毅,林松青,等.消瘀散不同剂型外用治疗急性软组织损伤疗效比较的实验研究[J].中国中医骨伤科杂志,2009,17(10):14.

[责任编辑 邹晓翠]