

痛风宁对急性痛风性关节炎抗炎作用的时效性研究

朱亚菊¹ 黄露露¹ 蔡唐彦¹ 王建辉¹ 李保林¹ 赖兴泉¹
张艺强¹ 滕方舟¹ 郭洁梅^{1,2} 苏友新^{1,2△}

[摘要] **目的:**从炎症指标的变化探讨痛风宁对急性痛风性关节炎(AGA)模型大鼠抗炎作用的时效性。**方法:**将 SD 大鼠分成正常大鼠与造模大鼠,造模大鼠采用踝关节腔注射尿酸钠(MSU)混悬液建立 AGA 大鼠模型,正常大鼠同部位注射生理盐水。于造模后 4 h 模型鉴定成功后随机分成秋水仙碱组、痛风宁组、模型组和正常组,每组 18 只。秋水仙碱组及痛风宁组分别予相应药物灌胃,模型组与正常组同步予生理盐水灌胃,2 次/d,共 3 d。在造模后 24 h,48 h 及 72 h 三个时间点,每组各随机选 6 只取材。观察并检测各组各时间点关节液白细胞数、滑膜组织病理改变、关节液中炎症相关细胞因子 IL-1 β , TNF- α , PGE₂ 及 TGF- β 1 的含量。**结果:**痛风宁能降低关节液白细胞数、改善病变关节滑膜组织的病理形态及降低 IL-1 β , TNF- α 及 PGE₂ 含量,同时可升高 TGF- β 1 含量,各时间点与模型组相比差异均有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),且在 48 h 对各项指标的改善作用最明显,优于 24 h 和 72 h 两个时间点,差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。**结论:**痛风宁对 AGA 有明显的抗炎作用,其作用机理可能是通过升高 TGF- β 1 含量,抑制促炎性细胞因子 IL-1 β , TNF- α 和 PGE₂ 的释放,减少关节液中白细胞数及改善关节滑膜组织病理变化,从而达到对 AGA 的抗炎作用,且在用药后 48 h 效果最佳。

[关键词] 急性痛风性关节炎;痛风宁;炎症相关细胞因子;时效

[中图分类号] R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2018)07-0001-06

Effect of Chronergy of Tongfengning on Anti-inflammatory in Model Rats with Acute Gouty Arthritis

ZHU Yaju¹ HUANG Lulu¹ CAI Tangyan¹ WANG Jianhui¹ LI Baolin¹ LAI Xingquan¹
ZHANG Yiqiang¹ TENG Fangzhou¹ GUO Jiemei^{1,2} SU Youxin^{1,2△}

¹Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China;

²Fujian Health College, Fuzhou 350101, China.

Abstract objective: To observe the changes of inflammatory aspects and to investigate the effect of chronergy of Tongfengning on anti-inflammatory in model rats with acute gouty arthritis (AGA). **Methods:** SD rats were divided into normal rats and model rats. The model rats with AGA were established by injection of sodium urmonosodium urate (MSU) lens into ankle joint, while the normal rats were injected with physiological saline at the same site. After the successful model identification at 4 h after modeling, the rats were randomly divided into colchicine group, Tongfengning group, model group and normal group with 18 rats in each group. The treatment group was given the corresponding drugs. The model group and the normal group were given the same amount of physiological saline intervention, 2 times per day for 3 d. In the all groups, 6 rats were randomly selected at three time points (24 h, 48 h and 72 h). The number of white blood cells in the joint fluid and the pathological changes of synovial tissue and the contents of inflammatory cytokines (IL-1 β , TNF- α , PGE₂ and TGF- β 1) in articular fluid were observed and detected in each group. **Results:** Tongfengning could decrease the number of white blood cell in joint fluid, improve the pathological morphology of synovial tissue and decrease the content of IL-

1 β , TNF- α , PGE₂ and increase the content of TGF- β 1. Compared with the model group, there were significant difference at each time point ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), and the improvement of each index was the most obvious at 48 h, which was better than that at 24 h or 72 h ($P < 0.01$ or $P <$

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81473495)

¹ 福建中医药大学(福州, 350122)

² 福建卫生职业技术学院

△通信作者 E-mail: suyouxin777@hotmail.com

0.05)。 **Conclusion:** Tongfengning has obvious anti-inflammatory effect on AGA. The mechanism may be that Tongfengning can increase the content of TGF- β 1, inhibit the release of pro-inflammatory cytokine IL-1 β , TNF- α , PGE₂ and reduce the number of white blood cells in articular fluid. So, the pathological changes of synovial tissue can be improved and the anti-inflammatory effect on AGA can be achieved. The best effect was at 48 h after administration.

Keywords: acute gouty arthritis; Tongfengning; inflammatory cytokines; chronergy

急性痛风性关节炎 (Acute Gouty Arthritis, AGA) 是痛风的特征性临床表现, 受累关节及周围组织常表现为红、肿、热、痛和功能受限, 严重影响了患者的日常生活^[2], 如何有效防治该病已成为研究的焦点。痛风宁是用于治疗 AGA 的效验方, 前期研究^[3-5]证实该方对 AGA 具有较好的抗炎、消肿、镇痛等作用, 但其作用机理及时效性尚未完全阐明。本实验通过观察痛风宁对 AGA 模型大鼠不同时间点关节液白细胞数、滑膜组织病理形态及 IL-1 β , TNF- α , PGE₂ 和 TGF- β 1 含量的影响, 进一步探讨痛风宁对 AGA 的抗炎作用机理及干预的最佳时效。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康 3 月龄 SPF 级 SD 雄性大鼠 84 只, 体质量 (200 \pm 20)g, 由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供[许可证号为 SCXK(沪)2012-0002], 委托福建中医药大学实验动物中心[许可证号为 SYXK(闽)2014-0001]代购并饲养。

1.2 实验药物

痛风宁由土茯苓、萆薢、丹参、川牛膝、黄柏、肿节风、苍术等组成; 秋水仙碱片 (0.5 mg/片, 西双版纳制药厂, 批号 H53021369)。所有药材均由福建中医药大学附属国医堂提供。

1.3 主要试剂及仪器

尿酸钠 (Monosodium Urate, MSU) 晶体 (美国 Sigma 公司, 批号 101498836); 大鼠 IL-1 β , TNF- α , PGE₂ 和 TGF- β 1 试剂盒 (上海西唐科技有限公司提, 货号: F20190, F10180, F25160, F31510); RM2235 切片机 (德国 LEICA 公司); YF-7FB 摊片机 (中国亚光医用电子技术有限公司); DM4000B-LED 显微镜 (德国 LEICA 公司); MILLI-Q 型超纯水装置 (德国 MILLIPORE 公司); ELX800 型全自动酶标仪 (美国 Bio-Tek 公司); Chemi Doc XRS+ 化学发光成像系统 (美国 Bio-Rad 公司)。

1.4 MSU 混悬液的制备

用电子天平称取 500 mg 的 MSU 晶体, 加入 2 mL 吐温 80 并用无菌生理盐水定容至 20 mL, 用磁力搅拌器加热搅拌至晶体完全溶解, 制成浓度为 25 mg/mL 的 MSU 混悬液 20 mL, 高压灭菌后, 保存

于 4 ℃ 冰箱, 用前摇匀。

1.5 干预药品的制备

将痛风宁全方药物先用 600 mL 凉水浸泡 30 min, 头煎 30 min, 再加水 400 mL, 二煎 30 min, 混合两次药液, 用旋转蒸发仪浓缩成含生药 1 g/mL 的药液; 取 4 mg 秋水仙碱片溶于 100 mL 超纯水中, 制成浓度为 0.04 mg/mL 的秋水仙碱混悬液。密封, 4 ℃ 保存备用。

1.6 动物的分组及造模

84 只 SD 大鼠, 适应性喂养 1 周, 采用随机数字表法分为正常大鼠 24 只与造模大鼠 60 只, 称质量并编号。造模大鼠参照 Coderre 造模方法^[6]以大鼠右后肢背侧正中踝关节与胫腓骨之间的关节腔为进针点, 将踝关节摆放成直角, 充分暴露出踝关节与胫腓骨之间的间隙, 以 45° 从该间隙直插入关节腔, 注射 0.2 mL 的 MSU 晶体混悬液, 正常大鼠以同样方法向关节腔内注射 0.2 mL 无菌生理盐水。于造模后 4 h 正常大鼠与造模大鼠各随机取 6 只进行模型鉴定^[7]。模型鉴定成功后, 将造模成功的 54 只大鼠用随机数字表分为模型组、秋水仙碱组和痛风宁组各 18 只。

1.7 药物干预

痛风宁组按人与大鼠体表面积折算等效剂量换算^[8], 以 15.3 mL/(kg·d) 痛风宁药液灌胃; 秋水仙碱组按成人每日秋水仙碱最大用量 6 mg 换算, 根据人与大鼠药量关系换算得出每日药物用量为 0.6 mg/kg, 以 15 mL/(kg·d) 秋水仙碱混悬液灌胃; 正常组与模型组予等量生理盐水灌胃。所有大鼠于造模后 4 h 开始灌胃, 2 次/d, 共 3 d。

1.8 标本采集

分别在造模后 24 h, 48 h 和 72 h 三个时间点取材, 每次各组随机抽取 6 只。以 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉, 以右侧踝关节为中心, 常规备皮, 用碘伏消毒, 戴无菌手套, 然后切开右踝关节囊, 用 1 mL 注射器抽取生理盐水反复冲洗关节腔, 收集冲洗液, 置于 1.5 mL Ep 管中, 滴 1 滴于载玻片上涂片, 4% 中性多聚甲醛溶液固定进行白细胞计数检测, 其余关节液用于检测 IL-1 β , TNF- α , PGE₂ 及 TGF- β 1 含量。切取冲洗完关节液的大鼠右侧踝关节及其周围软组织 (关节近侧及远侧各保留约 0.5 cm), 去皮, 放入装有 4% 中

性多聚甲醛溶液的 50 mL 离心管中并标记后置于液氮罐里,最后置于一80℃冰箱中存放,用于关节滑膜组织苏木精-伊红染色病理形态观察。

1.9 指标检测

1.9.1 关节液白细胞计数检测 将固定于载玻片上的关节液进行苏木精-伊红染色,显微镜下观察 5 个 200 倍白细胞视野,计算平均数。

1.9.2 关节滑膜组织病理形态学观察 将充分固定 48 h 的组织从 4%中性多聚甲醛溶液中取出,随后具体步骤如下。1)充分水洗:首先取材组织以超纯水冲洗 3 次,之后切开踝关节取下滑膜组织,并裁成大小适宜包埋的块状。2)乙醇脱水:将块状滑膜放入乙醇脱水,浓度呈梯度,先低后高,时间不一:前四次时间均为 15 min,乙醇浓度分别为 70%,80%,90%和 95%;后三次乙醇浓度均为 100%,时间分别为 10 min,10 min 及 20 min。3)浸泡二甲苯:以滑膜浸泡二甲苯至透明样为度,第一次为 3 min、第二次为 5 min。4)浸蜡:首先用软蜡浸泡 10 min,后两道用硬蜡浸泡,时间分别为 10 min 和 20 min。5)包埋:包埋时,以滑膜一面垂直进行包埋为宜,以利于后续切片,保证滑膜部分能被多次取材,提高利用率。6)切片:切取厚度选择 5 μm。7)烘片:恒温烘箱调至 60℃,烘烤 3 h。8)脱蜡:前两道为二甲苯,时间分别为 5 min 和 10 min;后五次为乙醇,时间均为 8 min,浓度呈梯度下降,分别为 100%,95%,90%、80%和 75%;最后一道为纯水,时间为 5 min。9)染色:首先苏木素染色 10 min,伊红染数秒,然后吹干玻片,以中性树脂封片,防止产生气泡、灰尘,晾干后待用,在光镜下观察滑膜组织,并根据表 1 进行滑膜组织形态学评分^[9]。

表 1 滑膜组织形态学评分标准

| 评分 | 炎性细胞浸润 | 滑膜组织增生 | 纤维细胞增生 | 毛细血管充血 |
|----|--------|--------|--------|--------|
| 0 | 无 | 无 | 无 | 无 |
| 1 | 稀疏、散在 | 单层 | 少量增生 | 轻度 |
| 2 | 较密集 | 2 层 | 中等 | 中度 |
| 3 | 大量 | 3 层 | 大量 | 重度 |

1.9.3 关节液中 IL-1β,TNF-α,PGE₂ 及 TGF-β1 含

表 2 关节肿胀度、皮温、步态及滑膜组织形态学积分的比较(±s)

| 组别 | 鼠数 | 肿胀度(μL) | 皮温(℃) | 步态(分) | 积分 |
|----------|----|-----------------|------------|-----------|-----------|
| 正常大鼠 | 6 | 1 871.33±106.72 | 26.65±0.39 | 0 | 0.67±0.52 |
| 造模大鼠 | 6 | 2 216.67±81.42 | 27.75±0.50 | 2.67±0.21 | 6.83±0.75 |
| <i>t</i> | | 5.70 | 4.50 | 12.65 | 12.92 |
| <i>P</i> | | 0.002 | 0.006 | <0.01 | <0.01 |

2.2 关节液白细胞数变化情况

与正常组相比,各时间点模型组关节液中白细胞数均明显升高,具有极显著性差异;与模型组相比,各

量检测 采用 ELISA 试剂盒检测关节冲洗液中 IL-1β,TNF-α,PGE₂,TGF-β1 含量,具体步骤如下。1)加样:在酶标板孔中分别加入标准品或待检测样品 50 μL,混匀后置于 37℃温箱孵育 30 min。2)洗板:用洗涤液充分洗涤酶标板 5 次,最后在滤纸上拍干。3)加酶:每孔均加入酶标试剂 50 μL,混匀后将酶标板置于 37℃温箱孵育 30 min。4)洗板:同上。5)显色:避光下,先后注入 A 号显色剂、B 号显色剂各 50 μL,混匀后将酶标板置于 37℃温箱孵育 15 min。6)终止:每孔加入终止液 50 μL,颜色由蓝迅速转黄。7)检测:于 15 min 内,通过酶标仪检测 450 nm 波长时各孔吸光度(OD 值)。

1.10 统计学方法

统计分析采用 SPSS18.0 统计软件对实验数据处理分析,各组实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析, $P<0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 造模后 4 h 大鼠模型鉴定结果

与正常大鼠相比,造模大鼠关节肿胀度(足趾容积法测定)、皮温、步态及滑膜组织形态学积分均有所增高,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2;苏木精-伊红染色发现,光镜下正常大鼠滑膜呈半透明,滑膜细胞排列整齐呈单层排列,无炎性细胞浸润,无毛细血管充血、扩张(见图 1)。造模大鼠则出现滑膜增生,滑膜细胞排列紊乱,毛细血管扩张、充血,大量炎性细胞浸润等病理形态改变(见图 2)。

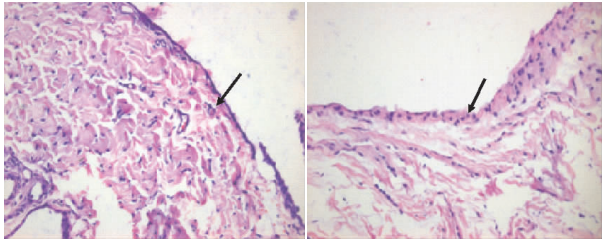


图 1 正常大鼠(200×) 图 2 造模大鼠(200×)

大鼠踝关节滑膜组织病理苏木精-伊红染色光镜下观察:图 1 中箭头所示正常滑膜组织,图 2 中箭头所指表示滑膜组织有增生、大量炎性细胞浸润等。

时间点秋水仙碱组和痛风宁组白细胞计数均明显降低,具有显著差异,且 48 h 各治疗组白细胞计数下降幅度最大,优于 24 h 和 72 h 两个时间点,见表 3。

表 3 各组关节液白细胞计数比较(̄x±s,个)

| 组别 | 鼠数 | 24 h | 48 h | 72 h |
|-------|----|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 正常组 | 6 | 2.83±1.83 | 2.50±1.05 | 2.83±1.47 |
| 模型组 | 6 | 27.33±4.41 ¹⁾ | 36.17±4.49 ²⁾ | 25.67±3.08 ³⁾ |
| 秋水仙碱组 | 6 | 16.83±3.06 ⁴⁾ | 10.67±1.75 ⁵⁾ | 6.83±3.06 ⁶⁾ |
| 痛风宁组 | 6 | 22.33±4.32 ⁷⁾ | 17.33±3.01 ⁸⁾ | 11.17±2.86 ⁹⁾ |

注:同时间点,与正常组相比:1) $t=12.82, P<0.01$;2) $t=18.89, P<0.01$;3) $t=26.17, P<0.01$.与模型组相比:4) $t=5.26, P=0.003$;5) $t=10.43, P<0.01$;6) $t=12.62, P<0.01$;7) $t=1.81, P=0.025$;8) $t=6.73, P=0.001$;9) $t=12.64, P<0.01$.

2.3 关节滑膜组织形态学变化情况

与正常组相比,模型组各时间点滑膜组织形态学评分明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$);与模型组相比,各时间点秋水仙碱组与痛风宁组滑膜组织形

态学评分均明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$),且 48 h 各治疗组滑膜病理形态改善最明显,优于 24 h 和 72 h 两个时间点,见表 4.

表 4 各组关节滑膜组织形态学积分比较(̄x±s)

| 组别 | 鼠数 | 24 h | 48 h | 72 h |
|-------|----|-------------------------|--------------------------|-------------------------|
| 正常组 | 6 | 0 | 0 | 0 |
| 模型组 | 6 | 9.33±1.03 ¹⁾ | 10.50±0.84 ²⁾ | 8.33±0.82 ³⁾ |
| 秋水仙碱组 | 6 | 6.17±0.41 ⁴⁾ | 4.33±0.52 ⁵⁾ | 2.83±0.75 ⁶⁾ |
| 痛风宁组 | 6 | 8.33±0.82 ⁷⁾ | 6.83±0.75 ⁸⁾ | 5.17±1.17 ⁹⁾ |

注:同时间点,与正常组相比:1) $t=22.14, P<0.01$;2) $t=30.74, P<0.01$;3) $t=25.00, P<0.01$.与模型组相比:4) $t=10.30, P<0.01$;5) $t=12.92, P<0.01$;6) $t=9.77, P<0.01$;7) $t=2.24, P=0.021$;8) $t=8.70, P<0.01$;9) $t=10.30, P<0.01$.

正常组滑膜光滑呈半透明样,滑膜细胞为单层有序,无炎性细胞浸润及毛细血管充血扩张(见图 3);模型组存在滑膜增生、滑膜细胞排列紊乱、毛细血管充血、炎性细胞浸润等病理形态改变(见图 4);秋水仙碱

组与痛风宁组较之模型组,能减轻滑膜增生、炎性细胞浸润、毛细血管充血等情况,且造模后 48 h 滑膜病理形态改善最明显(见图 5-6)。

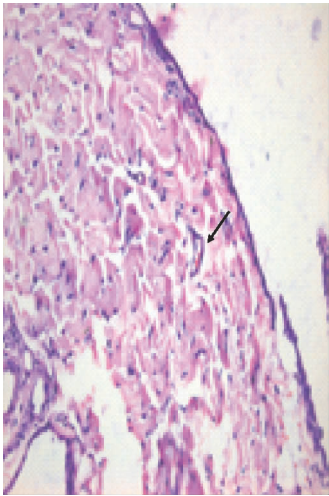


图 3 正常组(200×)

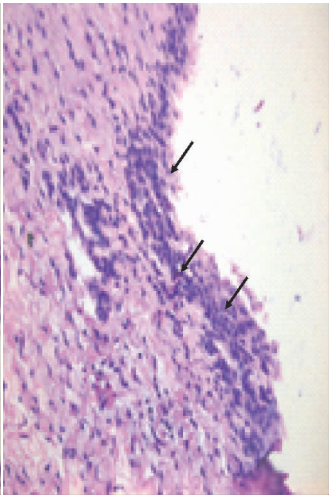


图 4 模型组(200×)

大鼠踝关节滑膜组织病理苏木精-伊红染色光镜下观察:图 3 中箭头所示为正常滑膜组织,图 4 中箭头所指表示滑膜增生、滑膜细胞排列紊乱、毛细血管充血、炎性细胞浸润等;图 5-6 箭头所指表示滑膜增生、炎性细胞浸润、毛细血管充血等情况有所改善。

2.4 关节液中 IL-1β, TNF-α, PGE₂ 及 TGF-β1 含量的变化情况

与正常组相比,各时间点模型组关节液中 IL-1β,

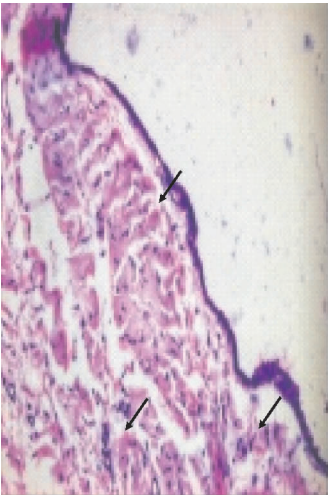


图 5 秋水仙碱组(200×)

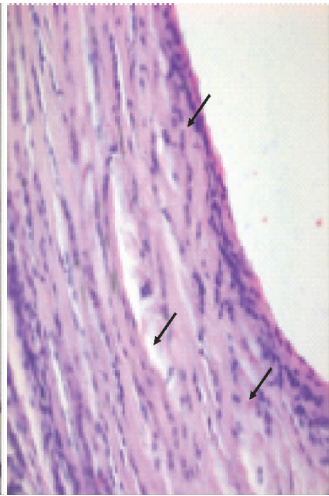


图 6 痛风宁组(200×)

TNF-α, PGE₂ 及 TGF-β1 含量均明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。与模型组相比,各时间点痛风宁组和秋水仙碱组 IL-1β, TNF-α 及 PGE₂ 含量均明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。痛风宁组 TGF-β1 含量均高于模型组,秋水仙碱组与模型组相比差异无统计学意义($P>0.05$),且 48 h 各治疗组 IL-1β, TNF-α 及 PGE₂ 下降幅度及 TGF-β1 上升幅度最明显,优于 24 h 和 72 h 两个时间点,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 5-8.

表 5 各组 IL-1β 含量的比较(̄x±s,pg/mL)

| 组别 | 鼠数 | 24 h | 48 h | 72 h |
|-------|----|--------------------------|----------------------------|---------------------------|
| 正常组 | 6 | 41.81±2.89 | 41.52±2.43 | 40.44±5.68 |
| 模型组 | 6 | 83.45±8.13 ¹⁾ | 128.96±12.88 ²⁾ | 91.43±18.99 ³⁾ |
| 秋水仙碱组 | 6 | 63.92±4.85 ⁴⁾ | 50.31±4.92 ⁵⁾ | 43.18±3.69 ⁶⁾ |
| 痛风宁组 | 6 | 74.97±7.21 ⁷⁾ | 63.26±5.86 ⁸⁾ | 49.94±7.37 ⁹⁾ |

注:同时间点,与正常组相比:1) $t=13.29,P<0.01$;2) $t=30.74,P<0.01$;3) $t=25.00,P<0.01$.与模型组相比:4) $t=3.24,P=0.023$;5) $t=13.89,P<0.01$;6) $t=13.96,P<0.01$;7) $t=2.20,P=0.048$;8) $t=8.76,P<0.01$;9) $t=16.70,P<0.01$.

表 6 各组 TNF-α 含量的比较(̄x±s,pg/mL)

| 组别 | 鼠数 | 24 h | 48 h | 72 h |
|-------|----|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 正常组 | 6 | 119.29±14.67 | 114.58±12.78 | 113.11±12.61 |
| 模型组 | 6 | 283.09±27.61 ¹⁾ | 417.25±48.67 ²⁾ | 336.78±40.01 ³⁾ |
| 秋水仙碱组 | 6 | 201.07±22.81 ⁴⁾ | 171.07±30.26 ⁵⁾ | 143.17±15.94 ⁶⁾ |
| 痛风宁组 | 6 | 244.46±31.37 ⁷⁾ | 209.43±12.63 ⁸⁾ | 167.11±15.47 ⁹⁾ |

注:同时间点,与正常组相比:1) $t=13.73,P<0.01$;2) $t=15.38,P<0.01$;3) $t=12.69,P<0.01$.与模型组相比:4) $t=6.71,P=0.001$;5) $t=11.22,P<0.01$;6) $t=11.68,P<0.01$;7) $t=1.64,P=0.014$;8) $t=9.10,P<0.01$;9) $t=14.66,P<0.01$.

表 7 各组 PGE₂ 含量的比较(̄x±s,pg/mL)

| 组别 | 鼠数 | 24 h | 48 h | 72 h |
|-------|----|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 正常组 | 6 | 77.98±7.14 | 76.34±7.39 | 77.38±3.66 |
| 模型组 | 6 | 175.12±10.47 ¹⁾ | 227.30±24.18 ²⁾ | 153.09±18.99 ³⁾ |
| 秋水仙碱组 | 6 | 117.42±21.92 ⁴⁾ | 95.13±9.21 ⁵⁾ | 87.07±6.72 ⁶⁾ |
| 痛风宁组 | 6 | 151.57±19.53 ⁷⁾ | 116.93±14.50 ⁸⁾ | 99.10±8.52 ⁹⁾ |

注:同时间点,与正常组相比:1) $t=18.96,P<0.01$;2) $t=13.58,P<0.01$;3) $t=9.70,P<0.01$.与模型组相比:4) $t=4.40,P=0.007$;5) $t=11.18,P<0.01$;6) $t=11.27,P<0.01$;7) $t=2.32,P=0.019$;8) $t=8.95,P<0.01$;9) $t=7.19,P=0.001$.

表 8 各组 TGF-β1 含量的比较(̄x±s,pg/mL)

| 组别 | 鼠数 | 24 h | 48 h | 72 h |
|-------|----|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| 正常组 | 6 | 59.86±5.53 | 58.63±8.63 | 57.94±6.29 |
| 模型组 | 6 | 68.86±7.80 ¹⁾ | 83.46±6.33 ²⁾ | 73.09±9.84 ³⁾ |
| 秋水仙碱组 | 6 | 65.75±7.57 ⁴⁾ | 80.81±10.43 ⁵⁾ | 67.78±6.85 ⁶⁾ |
| 痛风宁组 | 6 | 83.47±6.80 ⁷⁾ | 119.76±9.4 ⁸⁾ | 98.10±7.07 ⁹⁾ |

注:同时间点,与正常组相比:1) $t=1.93,P=0.037$;2) $t=11.15,P<0.01$;3) $t=2.58,P=0.049$.与模型组相比:4) $t=8.89,P=0.415$;5) $t=0.98,P=0.374$;6) $t=1.07,P=0.334$;7) $t=4.12,P=0.009$;8) $t=12.52,P<0.01$;9) $t=4.50,P=0.006$.

3 讨论

痛风的基本病因病机可归纳为先天禀赋不足、孤脏不盛,后天饮食不节、酒食过量,损及孤脏。二者共致湿浊内蕴,郁久化热,湿热蕴结,令气血运行受阻生瘀,湿热瘀积聚于筋脉骨节间,痹阻不通,发为痹痛。此湿浊主生于内,故为“内湿致痹”。痛风宁就是在“内湿致痹”发病观的指导下,经过多年临床实践的不断调整与完善,总结出的具有利湿排浊、消肿止痛的效验方。该方组成中的土茯苓有清热除湿、泄浊解毒、通利关节之效,辅以草薢对湿热蕴结导致的骨节胀痛有良效;苍术既可杜绝生湿之源,又可外散肌表诸邪,与黄柏、牛膝合为三妙丸,共奏清热泄浊之效;丹参、肿节风凑成活血通络、清热凉血功效,能加强对红肿热痛症状的治疗。现代药理研究表明黄柏不仅能迅速消除炎症水肿,改善局部微循环,也可以抑制黄嘌呤氧化酶活性控制血尿酸水平。土茯苓含皂苷、黄酮类物等,能抑制

黄嘌呤氧化酶活性,促进尿酸排泄,具备利尿、抗炎、镇痛等作用^[10-13]。草薢中所含的甾体皂苷可调节肾脏尿酸转运蛋白-1 的表达,从而促进尿酸排泄。

本实验通过观察痛风宁对 AGA 模型大鼠关节液白细胞数、滑膜组织病理形态及 IL-1β,TNF-α,PGE₂ 及 TGF-β1 的含量的影响,结果显示:在造模后各时间点痛风宁组关节液白细胞计数、滑膜组织形态学评分及 IL-1β,TNF-α 和 PGE₂ 含量与模型组相比均呈现下降趋势,而 TGF-β1 呈现上升趋势,且在 48 h 各指标改善最明显,优于 24 h 和 72 h 两个时间点($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。此外,在造模后 72 h,痛风宁组随着红肿热痛等炎症症状的改善,TGF-β1 含量有所下降,这与有关研究结果相符^[14,15],而秋水仙碱组 TGF-β1 含量跟模型组相比差异无统计学意义($P>0.05$),提示秋水仙碱未能促进 TGF-β1 生成。痛风发作时,沉积体内的 MSU 晶体能致 IL-1β 和 TNF-α 等炎性因

子表达增加,从而诱发白细胞渗出聚集来吞噬 MSU 晶体。在这一吞噬过程中白细胞破裂又释放出更多的炎性因子,改变体液环境,进一步引起更多的白细胞侵袭,形成恶性循环^[16,17]。此外,AGA 过程中的重要因子 PGE₂,是在炎症级联反应中由 IL-1 β 和 TNF- α 等诱导和激活磷脂酶 A₂,活化花生四烯酸代谢途径产生的^[18]。PGE₂ 可舒张组织中的毛细血管,使微循环通透性增加,加重渗出与水肿,并诱导白细胞聚集,使关节炎症反应更明显^[19]。而 TGF- β 1 水平升高能抑制 IL-1 β 和 TNF- α 等炎性因子,是重要的抗炎因子^[20-22]。

综上所述,痛风宁对 AGA 抗炎作用明显,其作用机理可能是通过升高 TGF- β 1 含量,抑制促炎性细胞因子 IL-1 β ,TNF- α 和 PGE₂ 的释放,减少关节液中白细胞数及改善关节滑膜组织病理变化,从而达到对 AGA 的抗炎作用。同时发现痛风宁对 AGA 抗炎作用在用药后 48 h 效果最佳。

参考文献

- [1] 高金良,高梓漠,董丽娟. 中医治疗湿热蕴结型痛风性关节炎的研究进展[J]. 医药卫生:文摘版,2016(10):201-203.
- [2] 胡志成,陈海鹏,刘志坤,等. 痛风性关节炎的中西医结合治疗现状[J]. 中医临床研究,2017,9(16):142-144.
- [3] 苏友新,陈伟宏,陈凡,等. 痛风宁颗粒治疗慢性痛风性关节炎 30 例临床研究[J]. 福建中医学院学报,2003,13(3):12-14.
- [4] 苏友新,刘晓平,郑良朴,等. 痛风宁颗粒对尿酸钠致新西兰兔痛风性关节炎模型关节液 IL-1 β 、TNF- α 的影响[J]. 福建中医药,2008,39(4):45-46.
- [5] 苏友新,陈宝军,赵富强,等. 痛风宁颗粒对急性痛风性关节炎模型大鼠膝关节 PGE-2、IL-8 及 I κ B- α 、IKK- α 的影响[J]. 福建中医药,2013,44(3):68-70.
- [6] Coderre TJ, Wall PD. Ankle joint urate arthritis in rats provides a useful tool for the evaluation of analgesic and anti-arthritic agents[J]. Pharmacol Biochem Behav,1988,29(3):461-466.
- [7] 蔡唐彦,王旭,何滇,等. 急性痛风性关节炎大鼠模型的建立及模型维持时间观察[J]. 中国实验动物学报,2017,25(5):494-499.
- [8] 徐叔云. 药理学实验方法[M]. 北京:人民卫生出版社,2002:203-204.
- [9] 刘建文. 药理实验方法学-新技术与新方法[M]. 2 版. 北

京:化学工业出版社,2008.

- [10] 林彬. 黄柏生品与各种炮制品滋阴及抗痛风作用比较[J]. 医学理论与实践,2016,29(19):3304-3305.
- [11] 沈映君. 中药药理学[M]. 北京:人民卫生出版社,2000:418,420.
- [12] 徐婷婷,承志凯,尹莲,等. 土茯苓抑制黄嘌呤氧化酶活性的物质基础研究[J]. 中药材,2012,35(4):582-585.
- [13] 王璐,那莎,陈光亮. 草薢总皂苷对大鼠急性痛风性关节炎 NALP3 炎性体信号通路的影响[J]. 中国药理学通报,2017,33(3):354-360.
- [14] 郑媛,王淳,李伟,等. 复方痛风康对高尿酸血症模型大鼠肾功能的保护作用及影响 IL-1 β 、TNF- α 、TGF- β 1 的研究[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2015,16(7):575-578.
- [15] Karmacharya P, Pathak R, Aryal MR, et al. Seasonal variation in acute gouty arthritis: data from nationwide inpatient sample[J]. Clin Rheumatol,2016,35(2):523-525.
- [16] 曹建梅,王晓霞,郭景煜,等. IL-1 β 在痛风性关节炎中的致炎作用及临床意义[J]. 中华临床医师杂志:电子版,2016,10(5):728-731.
- [17] 徐熠,徐玲玲,年华. 痛风颗粒抗炎降尿酸作用的实验研究[J]. 中国医院用药评价与分析,2011,11(1):52-54.
- [18] 王晓滨,黄公怡,薛庆云. 硫酸氨基葡萄糖对白细胞介素 1B 诱导人骨关节炎软骨细胞合成前列腺素 E₂ 的影响[J]. 中华老年医学杂志,2007,26(1):21-25.
- [19] 韩玉生,刘永武,朴成玉,等. 丹溪痛风胶囊对大鼠急性痛风性关节炎 PGE₂ 和 VCAM-1 表达的影响[J]. 中医药学报,2012,40(4):50-51.
- [20] 周天寒,黄学宽,张超男,等. 痛风消停汤对 AGA 大鼠踝关节炎性因子表达的影响[J]. 实用中医药杂志,2015,31(10):888-890.
- [21] Scanu A, Oliviero F, Ramonda R, et al. Cytokine levels in human synovial fluid during the different stages of acute gout: role of transforming in vivo by transforming growth factor beta1 in the resolution phase[J]. Ann Rheum Dis,2012,71(4):621-624.
- [22] Chen YH, Hsieh SC, Chen WY, et al. Spontaneous resolution of acute gouty arthritis is associated with rapid induction of the anti-inflammatory factors TGF- β 1, IL-10 and soluble TNF receptors and the intracellular cytokine negative regulators CIS and SOCS3[J]. Annals of the Rheumatic Diseases,2011,70(9):1655-1663.

(收稿日期:2018-03-06)