

· 基础研究 ·

消肿止痛胶囊治疗兔急性软组织损伤的作用机制研究

邢花妮¹, 隋秀丽¹, 宋文静¹, 牟东珍²

(1. 山东省文登整骨医院, 山东 文登 264400; 2. 潍坊医学院, 山东 潍坊 261053)

摘要 目的:探讨消肿止痛胶囊对急性软组织损伤的治疗作用及可能的作用机制。**方法:**将 30 只健康新西兰兔随机分为正常组、模型组、治疗组, 每组 10 只。除正常组外, 其余 2 组建立兔急性损伤性血肿模型。正常组及模型组按 $4 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 体质量以生理盐水灌胃, 治疗组按 $4 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 体质量以 $20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 消肿止痛胶囊混悬液灌胃。造模后第 5 天肉眼观察伤肢损伤处的变化并参照冯芳军等的标准进行评分, 同时测定血清白细胞介素-1 β 、白细胞介素-6 水平及血液黏度, 并在光镜下观察其组织形态及炎性细胞的浸润情况。**结果:**①软组织损伤评分。治疗组软组织损伤评分低于模型组($t=8.760, P=0.000$)。②白细胞介素-1 β 。各组血清白细胞介素-1 β 含量比较, 差异有统计学意义($F=84.380, P=0.000$)。组间两两比较, 治疗组、模型组含量高于正常组($P=0.001, P=0.000$), 治疗组低于模型组($P=0.000$)。③白细胞介素-6。各组血清白细胞介素-6 含量比较, 差异有统计学意义($F=118.781, P=0.000$)。组间两两比较: 正常组、治疗组低于模型组($P=0.000, P=0.000$); 治疗组与正常组比较, 差异无统计学意义($P=0.838$)。④血液黏度。3 组间全血高切黏度、中切黏度、低切黏度及血浆黏度比较, 差异有统计学意义($F=106.650, P=0.000; F=169.403, P=0.000; F=145.910, P=0.000; F=23.972, P=0.000$)。组间两两比较, 治疗组、模型组全血高切黏度、中切黏度、低切黏度及血浆黏度均高于正常组(P 值均为 0.000), 而治疗组各指标均低于模型组(P 值均为 0.000)。⑤组织形态学观察。正常组肌纤维形态较一致, 肌细胞呈束状平行紧密排列, 细胞呈长梭形, 胞浆丰富; 模型组有的可见部分肌纤维肿胀, 有的可见白细胞呈弥漫性浸润; 治疗组肌纤维间质白细胞浸润不明显, 肌纤维形态大致正常。治疗组创伤病灶中炎性细胞浸润密度低于模型组($t=14.655, P=0.000$)。**结论:**消肿止痛胶囊能够明显减轻急性软组织损伤部位的肿胀、瘀血, 减少炎性细胞浸润, 降低全血黏度、血浆黏度及血清白细胞介素-1 β 和白细胞介素-6 水平。其治疗急性软组织损伤的机制可能是降低血液黏度, 并抑制炎性细胞因子白细胞介素-1 β 及白细胞介素-6 的释放。

关键词 软组织损伤 消肿止痛胶囊 白细胞介素-1 β 白细胞介素-6 血液黏度 动物实验

Study on the function mechanism of XIAOZHONG ZHITONG capsule on acute soft tissue injury in rabbits

XING Hua-ni*, SUI Xiu-li, SONG Wen-jing, et al. * Orthopedics Hospital of Wendeng City, Wendeng 264400, Shandong, China

ABSTRACT Objective: To explore the curative effects and possible function mechanism of XIAOZHONG ZHITONG capsule on acute soft tissue injury. **Methods:** Thirty healthy New Zealand rabbits were randomly divided into normal group, model group and treatment group, 10 cases in each group. Rabbits models with acute traumatic hematomas were built for all the groups except for normal group. Rabbits in the normal group and model group were lavaged with physiological saline, while the others in the treatment group were lavaged with XIAOZHONG ZHITONG suspension ($20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), the dosage of each solution mentioned above was $4 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$. Five days after the modeling, the injury changes of the wounded limbs were observed by naked eyes and the results were scored according to the standards formulated by Feng Fang-jun. In the meantime, the levels of interleukin-1beta (IL-1 β) and interleukin-6 (IL-6) of blood serum and the blood viscosity were evaluated, and their histomorphometric situations and infiltrations of inflammatory cells were observed under light microscope. **Results:** ① Scores of soft tissue injury: the scores of treatment group were lower than those of the model group ($t=8.760, P=0.000$). ② IL-1 β : there was statistical difference in IL-1 β content of blood serum among the 3 groups ($F=84.380, P=0.000$). IL-1 β contents of treatment group and model group were higher than those of normal group respectively ($P=0.001, P=0.000$), while the contents of treatment group were lower than those of model group ($P=0.000$). ③ IL-6: there was statistical difference in IL-6 content of blood serum among the 3 groups ($F=118.781, P=0.000$). IL-6 contents of normal group and treatment group were lower than those of model group respectively ($P=0.000, P=0.000$), while there was no statistical difference between treatment group and normal group ($P=0.838$). ④ Blood viscosity: there were statistical difference in the high shear viscosity of whole blood, medium shear viscosity of whole blood, low shear viscosity of whole blood and the plasma viscosity among the 3 groups ($F=106.650, P=0.000; F=169.403, P=0.000; F=145.910, P=0.000; F=23.972, P=0.000$). The high shear viscosity of whole blood, medium shear viscosity of whole blood, low shear viscosity of whole blood and

the plasma viscosity of treatment group and model group were higher than those of normal group respectively ($P=0.000$), while all index above of treatment group were lower than model group ($P=0.000$). ⑤Histomorphometric observation: such situations as unanimous shape of muscle fibers, tightly aligned parallel myocyte in sarciniform, fusiform cells and rich cells plasma were found in normal group; part of the muscle fiber swelling and diffuse infiltration of white blood cells were showed partly in model group; unobvious infiltration of muscle interstitial leukocyte and roughly normal shape of muscle fiber were found in treatment group. Infiltration density of inflammatory cells in the focus of traumatic lesions in the treatment group were lower than those of the model group ($t=14.655, P=0.000$). **Conclusion:** XIAOZHONG ZHITONG capsule can obviously relieve the situations of swelling and blood stasis for the parts of acute soft tissue injury, decrease the occurrence of infiltration for the inflammatory cells and lower down the blood viscosity, plasma viscosity and the levels of IL-1 β and IL-6 in blood serum. The mechanism of XIAOZHONG ZHITONG capsule on acute soft tissue injury maybe rely on the decrease of blood viscosity and the inhibition of the release of such inflammatory cytokines as IL-1 β and IL-6.

Key words Soft tissue injuries; XIAOZHONG ZHITONG capsule; Interleukin-1 β ; Interleukin-6; Blood viscosity; Animal experimentation

消肿止痛胶囊是山东省文登整骨医院研制的中药制剂,具有活血祛瘀、消肿止痛的功效,是治疗跌打损伤、活血止痛的良药^[1]。但其作用机制目前尚不完全清楚。我们通过动物实验研究对消肿止痛胶囊治疗急性软组织损伤的作用机制进行了初步探讨,现总结报告如下。

1 材料与仪器

1.1 实验动物 健康新西兰兔 30 只,雌雄各半,体质量 2.0~2.5 kg,由青岛市实验动物和动物实验中心提供,实验动物合格证号:SCXK(鲁)20090007。

1.2 实验药物 消肿止痛胶囊,由山东省文登整骨医院制剂中心提供,批号:090903。药物组成:丹参 60 g、当归 60 g、赤芍 60 g、醋延胡索 30 g、土鳖虫 30 g、酒大黄 18 g、三七 4 g、冰片 2 g 等。将胶囊内药粉取出,加入蒸馏水配成 20 mg·mL⁻¹的混悬液备用。

1.3 实验器材 自制软组织打击器;LG-R-80F 全自动血液黏度仪,北京中勒世帝科学仪器有限公司生产;日本 AP-960 全自动酶联免疫分析仪;兔白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β) ELISA 试剂盒(批号:0912251)和兔白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6) ELISA 试剂盒(批号:0912253),上海西唐生物科技有限公司进口分装。

2 方法

2.1 分组及造模 实验前 24 h,将实验兔右侧大腿根部毛剪掉,再涂以 8% 硫化钠脱毛剂,然后按体质量从大到小的顺序依次将 30 只兔子编号,采用随机数字表将其分为正常组、模型组、治疗组,每组 10 只。将模型组和治疗组兔子按以下方法造模^[2]:将兔俯卧固定于砸伤架上,使 500 g 的砝码从 40 cm 高处坠落,造成兔右侧大腿部损伤性血肿模型,打击面积为

2 cm²,打击后合并局部皮肤破损或骨折者予以筛除。造模后经肉眼观察,损伤处明显肿胀、皮下瘀斑以及肌肉颜色明显变深,说明造模成功。造模成功后所有兔子在 19~24 ℃,相对湿度 40% 的条件下用普通饲料喂养,自由饮水。

2.2 药物干预 造模后 1 h 开始给药:正常组及模型组按 4 mL·kg⁻¹体质量以生理盐水灌胃,每日 2 次;治疗组按 4 mL·kg⁻¹体质量以 20 mg·mL⁻¹消肿止痛胶囊混悬液灌胃,每日 2 次。

2.3 软组织损伤情况测定 造模后第 5 天肉眼观察伤肢肿胀、皮下结节等表现,并参照冯芳军等^[3]的标准进行评分。

2.4 血清 IL-1 β 及 IL-6 含量测定 造模后第 5 天从各组实验兔耳静脉采血 8 mL,其中 4 mL 分离血清,置 -20 ℃ 冰箱中保存备用;另 4 mL 迅速注入肝素抗凝管内,充分混匀备用。取出置于 -20 ℃ 冰箱中保存的血清采用双抗体夹心 ABC-ELISA 法检测血清 IL-1 β 及 IL-6 的水平,操作步骤严格按照酶联免疫试剂盒的说明进行。

2.5 血液黏度测定 用置于肝素抗凝管中的 4 mL 备用血测定血液黏度。采用 LG-R-80F 全自动血液黏度仪,在 37 ℃ 条件下从高切到低切检测全血黏度;再将余下血液离心,提取上层血浆,在 37 ℃ 条件下检测血浆黏度。

2.6 组织形态学观察 采血后处死各组家兔,模型组和治疗组分离皮下组织,用剪刀剪取损伤中心部位的肌肉组织,割取 1 cm×1 cm×0.3 cm 的组织块;正常组取相同部位的组织。用中性缓冲福尔马林溶液固定取出的组织块,制作石蜡切片,HE 染色,在光镜下观察创伤局部组织形态及炎性细胞的浸润情况。

每张切片随机选取 5 个高倍视野,由同一名操作人员以目镜测微网在 400 倍放大倍数下计数炎性细胞数,每张切片计算 10 个网格取平均值为炎性细胞浸润密度。

2.7 统计学方法 采用 SPSS 12.0 统计软件对所得数据进行统计学处理,模型组和治疗组软组织损伤评分、炎性细胞浸润密度比较采用 *t* 检验,3 组血清 IL-1 β 、IL-6 含量、全血黏度、血浆黏度比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 *q* 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结 果

3.1 软组织损伤评分 治疗组软组织损伤评分低于模型组($t=8.760, P=0.000$)。(表 1)

3.2 血清 IL-1 β 及 IL-6 含量 ①IL-1 β :各组血清 IL-1 β 含量比较,差异有统计学意义($F=84.380, P=0.000$)。组间两两比较:治疗组、模型组含量高于正常组($P=0.001, P=0.000$),治疗组低于模型组($P=0.000$)。②IL-6:各组血清 IL-6 含量比较,差异有统计

学意义($F=118.781, P=0.000$)。组间两两比较,正常组、治疗组低于模型组($P=0.000, P=0.000$);治疗组与正常组比较,差异无统计学意义($P=0.838$)。(表 1)

3.3 血液黏度 3 组间全血高切黏度、中切黏度、低切黏度及血浆黏度比较,差异有统计学意义($F=106.650, P=0.000; F=169.403, P=0.000; F=145.910, P=0.000; F=23.972, P=0.000$)。组间两两比较:治疗组、模型组全血高切黏度、中切黏度、低切黏度及血浆黏度均高于正常组(P 值均为 0.000),而治疗组各指标均低于模型组(P 值均为 0.000)。(表 1)

3.4 组织形态学观察 正常组肌纤维形态较一致,肌细胞呈束状平行紧密排列,细胞呈长梭形,胞浆丰富[图 1(1)];模型组有的可见部分肌纤维肿胀[图 1(2)],有的可见白细胞呈弥漫性浸润[图 1(3)];治疗组肌纤维间质白细胞浸润不明显,肌纤维形态大致正常[图 1(4)]。治疗组创伤病灶中炎性细胞浸润密度低于模型组($t=14.655, P=0.000$)。(表 1)

表 1 3 组动物各项观察指标比较

组别	软组织损伤评分	IL-1 β (pg · mL ⁻¹)	IL-6 (pg · mL ⁻¹)	全血黏度(mpa · s)			血浆黏度 (mpa · s)	炎性细胞浸润密度 (个/油镜视野)
				高切	中切	低切		
正常组		20.90 ± 0.92	13.69 ± 0.35	2.76 ± 0.46	3.63 ± 0.35	13.61 ± 0.76	1.09 ± 0.11	
模型组	3.90 ± 0.57	26.62 ± 1.70	16.40 ± 0.69	4.56 ± 0.58	6.17 ± 0.45	16.35 ± 0.68	1.39 ± 0.15	21.10 ± 3.54
治疗组	2.10 ± 0.32	22.34 ± 1.06	13.95 ± 0.54	3.63 ± 0.30	5.19 ± 0.56	14.23 ± 0.34	1.23 ± 0.13	2.59 ± 1.85
检验统计量	$t=8.760$	$F=84.380$	$F=118.781$	$F=106.650$	$F=169.403$	$F=145.910$	$F=23.972$	$t=14.655$
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

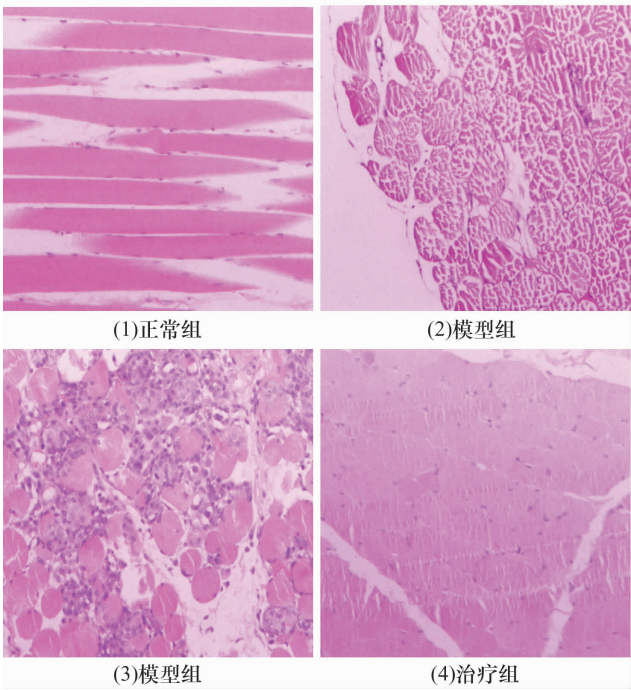


图 1 各组动物取材部位肌肉组织病理观察
(HE 染色 ×100)

4 讨 论

急性软组织损伤属于中医学“筋伤”范畴,是局部气血脉络损伤后的病理反应。《素问·阴阳应象大论》云:“气伤痛,形伤肿”“瘀结不散,则为肿为痛”。根据中医学对该病发病机理的认识,多采用“结者散之,逸者行之,留者攻之”的治法,故采用活血化瘀、消肿止痛的治则。现代医学则认为软组织损伤系创伤引起的急性无菌性炎症^[4],其病理变化以局部急性炎症与修复为主要特征,临床主要表现为局部疼痛、肿胀、青紫瘀斑以及肢体活动功能障碍等^[5]。急性软组织损伤时会出现局部肿胀、疼痛,同时伴有全血黏度、血浆黏度等异常,使血液处于高浓、黏、聚、凝状态。嗜中性粒细胞主要在无菌性炎症早期出现,在其吞噬过程中和崩解后溶酶体的释放及诱发自由基产生等因素均可造成局部组织细胞的进一步损害^[4]。IL-1 β 和 IL-6 是早期炎性细胞因子,在软组织损伤的发展过程中起重要作用^[6]。

消肿止痛胶囊主要成分包括丹参、当归、赤芍、醋延胡索、土鳖虫、酒大黄、三七、冰片等。丹参祛瘀止痛,是活血化瘀之要药;大黄能荡涤留瘀败血,引瘀血下行,酒制后可减缓泻下之力,且酒性善行,可助大黄通利血脉;土鳖虫活血化瘀;当归活血止痛;延胡索为常用理气止痛药,具有活血、利气、止痛的功效,醋制可使其中的生物碱与醋酸结合成易溶于水的醋酸盐,更好地发挥镇痛作用;赤芍清热凉血,散瘀止痛;三七散瘀止痛;冰片芳香走窜,为开窍要药。诸药合用有活血祛瘀、消肿止痛的功效,对急性软组织损伤修复有明显作用。

周娟等^[7]的研究表明丹参酮ⅡA 静脉乳剂可降低血液黏度,减少红细胞聚集,改善红细胞变形能力,抑制血栓形成,有活血化瘀的功效。聂克^[8]的研究表明,大黄可提高血浆渗透压,使组织水分向血管转移,以补充因大失血而丢失的血容量,降低血液黏度,有利于解除微循环障碍。土鳖虫提取液有抗凝血酶作用^[9],当归中多种有效成分有镇痛抗炎作用^[10]。赤芍具有较好的解痉作用,并有一定的镇静、镇痛等作用。三七能抑制急性炎症引起的毛细血管通透性升高、炎性渗出和组织水肿以及炎症后期肉芽组织增生^[11]。这些药物的综合作用有利于急性软组织损伤的修复。

本研究中治疗组软组织损伤评分明显低于模型组,说明消肿止痛胶囊能够明显减轻急性软组织损伤局部肿胀、瘀血,有利于急性软组织损伤的修复。治疗组血清 IL-1 β 和 IL-6 含量均明显低于模型组,说明消肿止痛胶囊能够明显降低血清 IL-1 β 和 IL-6 的水平,减少炎性介质的释放,使 IL-6 作为对 IL-1、TNF- α 、内毒素等刺激反应的第二信使的催化和放大炎症反应和毒性作用减弱^[12],有利于急性软组织损伤的修复。治疗组、模型组全血高切黏度、中切黏度、低切黏度及血浆黏度均明显高于正常组,而治疗组各指标均明显低于模型组,说明消肿止痛胶囊能够明显降低全血黏度、血浆黏度,从而有效改善血液高黏状态,改善微循环,有利于急性软组织损伤的修复。进行组织形态学观察时发现模型组有的可见部分肌纤维肿胀,有的可见白细胞呈弥漫性浸润,治疗组肌纤维间质白细胞浸润不明显,肌纤维形态大致正常,且治疗组创伤病灶中炎性细胞浸润密度明显低于模型组,说明消

肿止痛胶囊能够明显减少组织局部炎性细胞的浸润,从而抑制损伤局部无菌性炎症反应。由于本研究中治疗组血清 IL-1 β 和 IL-6 含量均明显低于模型组,笔者从分子免疫学角度初步推测,消肿止痛胶囊减少炎性细胞浸润的机制可能是抑制炎性细胞因子 IL-1 β 及 IL-6 的释放。

消肿止痛胶囊能够明显减轻急性软组织损伤部位的肿胀、瘀血,减少炎性细胞浸润,降低全血黏度、血浆黏度及血清 IL-1 β 和 IL-6 水平。其治疗急性软组织损伤的机制可能是降低血液黏度,并抑制炎性细胞因子 IL-1 β 及 IL-6 的释放。

5 参考文献

- [1] 董华军,唐丽,王锦伟. 消肿止痛胶囊的制备及临床应用[J]. 中国误诊学杂志,2008,8(22):5519.
- [2] 汤耿民. 骨伤科效方集[M]. 北京:人民卫生出版社,2003:1.
- [3] 冯芳军,杨毓华,苏荣梅,等. 消淤止痛膏治疗大鼠软组织损伤的实验研究[J]. 中医正骨,2002,14(3):3.
- [4] 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):6-7.
- [5] 孙树椿,孙之镐. 中医筋伤学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,2005:5.
- [6] 齐越峰,陈福林,卢建秋,等. 正骨散对急性软组织损伤家兔病理组织学和炎性细胞因子的影响[C]//中华中医药学会骨伤分会第四届第二次会议论文汇编. 北京:中华中医药学会,2007:101-105.
- [7] 周娟,王守涛,何晓静,等. 丹参酮ⅡA 静脉乳剂对大鼠血液流变学及血栓形成的影响[J]. 沈阳药科大学学报,2008,25(2):144-147.
- [8] 聂克. 大黄药理作用研究及思考[J]. 山东中医药大学学报,2009,33(3):239-240.
- [9] 贺卫和,成细华,徐爱良. 土鳖虫提取液对家兔抗凝血作用的实验研究[J]. 湖南中医学院学报,2003,23(2):7-9.
- [10] 李丽丽,刘向前,张晓丹. 当归属植物研究进展[J]. 中成药,2009,31(4):601-607.
- [11] 蒲清荣. 税丕先. 三七药理作用研究概述[J]. 现代医药卫生,2007,23(24):3704-3705.
- [12] Jiang CF, Shiao YC, Ng KW, et al. Serum interleukin - 6, tumor necrosis factor alpha and C - reactive protein in early prediction of severity of acute pancreatitis[J]. J Chin Med Assoc,2004,67(9):442-446.