

通经利浊针法对急性痛风性关节炎大鼠模型影响的实验研究

龙天雷 黄腾蛟 高巧玲 许娜 杨晶 王朝辉

(长春中医药大学, 长春, 130117)

摘要 目的:比较通经利浊针法与秋水仙碱对急性痛风性关节炎的治疗效果。方法:将 40 只雄性实验昆明种大鼠随机分成空白组(不造模)、模型组(造模但不治疗)、西药组(秋水仙碱灌胃)和针刺组。造模采用微晶型尿酸钠混悬液注射大鼠后肢膝关节腔的方法。检测血清中肿瘤坏死因子(TNF- α)的含量。结果:针刺组、西药组与模型组组间比较均有统计学意义($P < 0.05$),针刺组与西药组比较有统计学意义($P < 0.05$)。结论:通经利浊针法可降低昆明种大鼠急性痛风性关节炎模型血清中 TNF- α 的含量。

关键词 通经利浊针法;痛风性关节炎;肿瘤坏死因子;实验研究

Effect of “Dredging Channels and Eliminating Turbid” Acupuncture on the Level of TNF- α in Mice with Acute Gouty Arthritis—an Experimental Study

Long Tianlei, Huang Tengjiao, Gao Qiaoling, Xu Na, Yang Jing, Wang Zhaohui

(Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

Abstract Objective: To compare the curative effect of “Dredging Channels and Eliminating Turbid” acupuncture and colchicine on acute gouty arthritis. **Methods:** Forty male rats were randomly divided into blank group (without modeling), model group (modeling without treatment), western medicine group (given colchicine orally) and acupuncture group. The rat models were made by injecting micro-crystal-sodium-urate suspension on knee joint cavity of hind limbs. Then to detect the content of tumor necrosis factor α (TNF- α) in serum. **Results:** 1) The TNF- α level disparity among blank group and model group are significant ($P < 0.05$), which indicates the success of modeling. 2) TNF- α levels in the western medicine group differs significantly from that of the blank group ($P < 0.05$), indicating the curative effect of colchicine. 3) TNF- α levels of the acupuncture group has significant difference with that of the western medicine group ($P < 0.05$), as a sign that the performance of acupuncture superior to that of colchicine. **Conclusion:** “Dredging Channels and Eliminating Turbid” acupuncture can decrease the level of TNF- α in rats with acute gouty arthritis.

Key Words “Dredging Channels and Eliminating Turbid” acupuncture; Acute gouty arthritis; Tumor necrosis factor α ; Experimental study

中图分类号:R2 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.02.008

痛风(Gout)是长期尿酸和嘌呤代谢紊乱引起的一组疾病^[1],临床主要表现为血尿酸升高,受累关节突发红、肿、热、痛,且疼痛剧烈,可伴有痛风石沉积、关节畸形等特异性症状。随着现代医学的发展,对痛风的认识逐渐加深,临床上取得一定的治疗效果,但是同时存在如西药副作用大^[2],中药治疗见效缓慢,治疗周期偏长等问题^[3-5]。针灸作为一种便捷、无毒副作用的治疗方法,在治疗痛风性关节炎时显示了其独特的作用^[6-7]。而不同医家针灸治疗痛风时,治则各异,选穴不一^[8-11]。课题组从大量的古今

文献整理及多年的临床经验中,总结出了针对急性痛风性关节炎行之有效的通经利浊针法,对抑制痛风症状发作取得了显著的疗效。我们通过引入现代实验研究的方法,对通经利浊针法治疗急性痛风性关节炎进行验证。

1 实验材料

1.1 实验动物与分组 雄性实验昆明种大鼠 40 只(吉林大学白求恩医学院实验动物中心,动物合格证号:SCXK(吉)2015-0003),体质量为(220 $\pm$ 20)g。动物在实验前适应性喂养 1 周,自由摄食,每天定时

基金项目:国家重点基础研究发展计划(“973”计划)资助项目(编号:2014CB543100);吉林省教育科学“十二五”规划课题(编号:GH13240);吉林省科技发展规划项目(编号:2016921)

作者简介:龙天雷(1987—),男,吉林吉林人,硕士研究生,研究方向:特定穴配伍规律及其效应机制研究,E-mail:ld871201@126.com

通信作者:王朝辉(1973—),女,吉林扶余人,教授,硕士研究生导师,博士,研究方向:特定穴配伍规律及其效应机制研究,E-mail:wzhqiwei@126.com

清洁、消毒。用简单随机法,将小鼠分成4组,即空白组(不造模)、模型组(造模但不治疗)、西药组(西药灌胃)和针刺组,每组10只。

1.2 药物试剂 1)秋水仙碱片(云南昆明制药集团股份有限公司出品,批号130331)。2)尿酸钠晶体(Sigma公司产品,批号201504)。3)大鼠IL-1 β 、IL-6、TNF- α ELISA检测试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

1.3 主要仪器 1)Heraeus低温离心机(德国Heraeus公司)。2)毫针:华佗牌,规格:0.25 mm $\times$ 40 mm(苏州医疗用品厂有限公司)。3)FA2004型电子天平(上海精密仪器厂)。4)BIO-RAD550型酶标仪(美国伯乐公司)。5)96孔聚苯乙烯塑料板(美国伯乐公司)。6)NBS,U410-80 $^{\circ}$ C超低温冰箱(美国NBS公司)。7)SW-CJ-1F超净工作台(上海乔跃电子有限公司)。8)TYZD-1微量振荡器(上海海步电子科技有限公司)。9)GZX-DH450恒温干燥箱(上海玺恒实业有限公司)。10)切片机(日本LEICA公司LKB-III型)。11)光学显微镜及摄像系统(日本COIC 980153型)。10)其他:离心管,EP管,微量加样器,载玻片、盖玻片等。

2 实验方法

2.1 动物造模 按照McCarty D. J^[12]经典造模方法,以无菌操作,用5号注射针将5%尿酸钠悬浮液(取250 mg尿酸钠结晶加入0.9%氯化钠注射液45 mL,再加入5 mL吐温-80,加热搅拌,配制成50 mL尿酸钠注射液0.2 mL,注射入大鼠右后肢内踝的胫附关节腔内,每只小鼠仅注射1次。

2.2 治疗方法 空白组和模型组采用生理盐水灌胃。西药组:造模后予以秋水仙碱^[13-14]悬浮液灌胃,剂量为0.1 mL/10 g,每日两次,治疗7 d。针刺组:取大鼠右侧“下三里(足三里)”“三阴交”和“阴陵泉”,直接快速刺入3 mm,捻转泻法1 min,频率2 Hz(120 r/min),不留针,1次/d,从造模前3 d开始治疗。穴位选取依据《实验针灸学》的动物穴位图谱,并以比较解剖和骨度分寸法为依据模拟定位。

2.3 血清取材方法 治疗7 d后,摘取眼球取血3~4 mL,静止30 min,2 500 r/min离心15 min,用此血清测量TNF- α 的活性。

2.4 指标检测 按照试剂盒说明,检测IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的含量。

3 统计方法

各组计量资料以均数标准差($\bar{x} \pm s$)表示,使用SPSS 22.0软件进行单因素方差分析,满足正态性且

方差齐时选择LSD法,方差不齐时选择Tamhane法进行两两比较。

4 结果与分析

4.1 各组血清中TNF- α 的含量,结果见表1、图1。

表1 血清中TNF- α 含量

组别	动物数量(只)	含量(pg/mL)
空白组	10	0.911 $\pm$ 0.261
模型组	10	1.070 $\pm$ 0.234 [*]
西药组	10	1.042 $\pm$ 0.328 [*]
针刺组	10	0.958 $\pm$ 0.154 ^{*Δ}

注:^{*}表示与空白组比较; ^{Δ} 表示与模型组比较; ^{$\blacktriangle$} 表示与西药组比较。

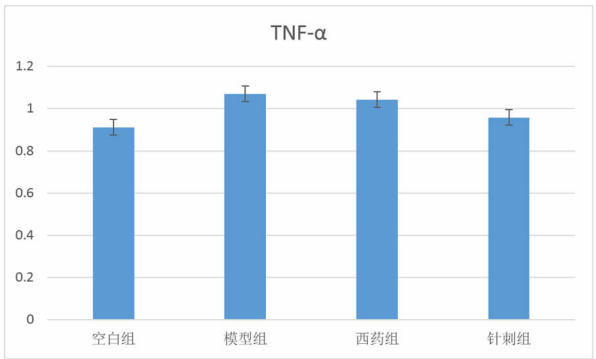


图1

4.2 各组血清中TNF- α 的含量结果的统计学分析

1)模型组与空白组相比,^{*} $P < 0.05$,提示造模成功。2)西药组与空白组相比,均^{*} $P < 0.05$,提示口服秋水仙碱治疗痛风性关节炎有效果。3)针刺组与空白组相比,^{*} $P > 0.05$,与模型组比较, ^{Δ} $P < 0.05$,且针刺组与西药组相比, ^{$\blacktriangle$} $P < 0.05$,提示通经利浊针法治疗痛风性关节炎有效,且疗效好于口服秋水仙碱。

5 讨论

中医学认为,痛风多因先天禀赋不足,加之后天过食肥甘厚味,或饮酒无度,引起脏腑功能失调,脾失健运,湿浊内生,闭阻于经络,则气血运行不畅。久之,化热灼伤肌骨筋脉,而发为关节红肿热痛^[15]。

通经利浊针法建立在大量临床实践和对古今文献资料的深入挖掘的基础之上,选取了足阳明胃经之合穴足三里、足太阴脾经之合穴阴陵泉,此两穴相配有健脾、化湿通络的作用。另外,选取三阴交以活血化瘀、宣壅通络,利尿通淋,促进湿浊邪气从小便排除。此三穴共用,共奏清热利湿、宣壅通络之效。现代医学研究证明针刺可调节机体多种代谢功能,并可以通过神经传导,抑制痛觉中枢,提高机体的痛阈,从而达到镇痛的作用^[16-18]。同时,研究还表明针刺足三里、阴陵泉、三阴交等穴位可改善血液在肾脏

细胞膜的通透性,从而恢复肾脏自身排泄尿酸的能力。针刺手法采用捻转泻法,具泻实作用,其手法主要提高单纯针刺对腧穴的行气效果及刺激^[19-20],可长时间保持针刺感应,疏通经络气血。采用“通经利浊”针法治疗痛风性关节炎,譬如在瘀阻的河道下游开闸决堤,减轻经脉压力差,通经利浊,宣壅通络,化痰除湿促使湿浊邪气排除,催运气血,促使尿酸快速排出,缓解炎症反应,减轻疼痛。

痛风做为一组以尿酸代谢紊乱为主要病理过程的异质性疾病,其重要的特点是血尿酸升高^[21]。但是高尿酸血症的发病率确远远高于痛风性关节炎,提示在血尿酸升高后,还要发生进一步的病理变化和过程,痛风性关节炎才会形成。

肿瘤坏死因子(TNF- α)是一种由单核细胞、淋巴细胞、巨噬细胞分泌的细胞因子,可诱导炎症的发生,也可调节机体的免疫功能。TNF- α 会改变血管内皮骨架,导致血管通透性增强^[22];肥大细胞和中性粒细胞是痛风性关节炎发作时产生的炎性细胞,肥大细胞活化后,可释放 TNF- α ,中性粒细胞的合成亦释放 TNF- α ,TNF- α 反过来还可以促进炎性细胞的聚集,并通过激活炎性细胞产生其他炎性递质,他们互相作用,互相影响^[23]。在尿酸盐沉积处加重组织的损伤和炎症进展^[24]。因此,检测血清中的 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的含量,可以反映通经利浊针法对痛风性关节炎的疗效。

目前,痛风做为一种虚实夹杂的病症,对其病因尚未有足够全面深入的认识,有待进一步发现。通经利浊针法虽在临床上取得不错的疗效,但是仍然有待从实验角度对治疗痛风的机理进行深入探讨,以便在临床上进一步的完善和推广。

参考文献

- [1] Richette P. Gout: an overview of available urate lowering therapies [J]. *Ann Pharm Fr.*, 2012, 70(3): 133-138.
- [2] Xu S, Liu X, Ming J, et al. A phase 3, multicenter, randomized, allopurinol-controlled study assessing the safety and efficacy of oral febuxostat in Chinese gout patients with hyperuricemia [J]. *Int J Rheum Dis*, 2015, 18(6): 669-678.
- [3] Liu YF, Tu SH, Chen Z, et al. Effects of Modified Simiao Decoction on IL-1 β and TNF α Secretion in Monoeytic THP-1 Cells with Monosodium Urate Crystals-Induced Inflammation [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014; 406816.
- [4] Zhou M, Wang YF, Zhou R, et al. Treatment of gouty arthritis in different phases by a series of tongfeng granule: an efficacy observation [J]. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*, 2013, 33(12): 1603-1607.
- [5] Zhu F, Yin L, Ji L, et al. Suppressive effect of Sanmiao formula on experimental gouty arthritis by inhibiting cartilage matrix degradation; An

- in vivo and in vitro study [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 30: 36-42.
- [6] Lee WB, Woo SH, Min BI, et al. Acupuncture for gouty arthritis: a concise report of a systematic and meta-analysis approach [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2013, 52(7): 1225-1232.
- [7] 刘畅, 韩东岳, 王朝辉等. 针刺治疗痛风性关节炎疗效 Meta 分析 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2015, 17(3): 110-112.
- [8] Zhang CN, Huang XK, Luo Y, et al. Effects of electro-acupuncture on expression of triggering receptor expressed on myeloid cells 1 in ankle joint synovial tissue of acute gouty arthritis rats [J]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 2015, 35(1): 133-136.
- [9] Zhang CN, Huang XK, Luo Y, et al. The effects of electro-acupuncture on the signaling pathway of TLR/MyD88 in ankle joint synovial tissue of acute gouty arthritis rats [J]. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2014, 45(6): 924-927.
- [10] Shao HY, He TY, Zhang L. Acupuncture at Yinlingquan (SP 9), Taichong (LR 3) mainly plus blood-letting therapy for 52 cases of gout [J]. *Zhongguo Zhen Jiu*, 2013, 33(6): 526.
- [11] 李艳丽, 王悦, 王朝辉等. 针灸治疗急性痛风性关节炎选穴规律研究 [J]. *长春中医药大学学报*, 2015, 31(6): 1208-1209.
- [12] Terkeltaub R. Pathogenesis and treatment of crystal-induced inflammation [J]. In: Mc Carthy D. J and Koopman WJ, editor: *Arthritis and applied conditions* Philadelphia: Lea & Febiger USA, 1993, 36: 1819.
- [13] 蒙龙, 李娟, 贾运涛. 小剂量与常规剂量秋水仙碱治疗急性痛风性关节炎的系统评价 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2014, 19(6): 656-662.
- [14] Vargas-Santos AB, Castelar-Pinheiro Gda R, Schlesinger N, et al. Adherence to the 2012 American College of Rheumatology (ACR) Guidelines for Management of Gout: A Survey of Brazilian Rheumatologists [J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0135805.
- [15] 符春平. 急性痛风性关节炎从痛论治 [J]. *贵阳中医学院学报*, 2011, 33(1): 62.
- [16] 牛舰星, 赵晓峰, 石学敏, 等. 再论“穴性” [J]. *中国针灸*, 2014, 34(6): 569-571.
- [17] 王富春, 周丹. 关于穴性研究的思考与展望 [J]. *时珍国医国药*, 2010, 21(6): 1567-1568.
- [18] 徐莉莉, 张露芬, 朱江, 等. 电针“三阴交”“合谷”“血海”穴对痛经大鼠镇痛效应的比较 [J]. *中国针灸*, 2010, 30(6): 491-494.
- [19] 周涛, 王江, 郭义, 等. 不同频率针刺手法诱发脊髓背角广动力范围神经元放电模式的非线性分析 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2012, 32(10): 1403-1406.
- [20] 杨霖, 洪菲, 杨华元. 针刺手法数据挖掘的关联规则与分类 [J]. *上海针灸杂志*, 2014, 33(11): 1064-1070.
- [21] 盛峰. 痛风的临床与基础研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2014.
- [22] 于杰, 朱立国, 高景华, 等. 腰椎间盘突出症患者血清白细胞介素 1 β 、白细胞介素 6、肿瘤坏死因子 α 表达与其疼痛的相关性 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007(2): 301-304.
- [23] 赵学强. 肿瘤坏死因子 α 转化酶对动脉粥样硬化的影响及其分子机制的研究 [D]. 济南: 山东大学, 2012.
- [24] 盛斌. 雌二醇调控白细胞介素 6 和 TGF- β 在成骨细胞分化中的研究 [D]. 长沙: 中南大学, 2014.