

芪参健骨颗粒对激素性股骨头坏死大鼠血液流变和小鼠微循环的影响

章建华¹, 尹华^{2*}, 李昌煜², 林婷², 王知青² (1.浙江中医药大学附属第一医院, 杭州 310006; 2.浙江中医药大学药学院, 杭州 310053)

摘要: 目的 考察芪参健骨颗粒对股骨头坏死模型大鼠血液流变学及小鼠微循环的影响。方法 血流变试验: SD 大鼠分为正常组、模型组、低、中、高剂量给药组、阳性对照组, 采用全自动血流变快测仪测量各组大鼠的血液流变值。微循环实验: ICR 小鼠分为空白组, 低、中、高剂量给药组, 采用多普勒微循环仪考察各组小鼠微循环。结果 芪参健骨颗粒能调节激素性股骨头坏死大鼠血流变, 低、中剂量药物具有较好的调节血液流变学的作用; 各剂量给药组均能促进小鼠耳部微循环。结论 芪参健骨颗粒能明显改善激素性股骨头坏死模型的血流变和促进正常小鼠微循环, 从而防治激素性股骨头坏死。

关键词: 芪参健骨颗粒; 血液流变学; 微循环

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2012)12-1067-03

Effect of Qishen Jiangu Granule on the Hemorheological Characteristics and Microcirculation of SINFH

ZHANG Jianhua¹, YIN Hua^{2*}, LI Changyu², LIN Ting², WANG Zhiqing² (1.Zhejiang Chinese Medical University First Affiliated Hospital, Hangzhou 310006, China; 2.College of Pharmacy, Zhejiang Chinese Medicine University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effect of Qishen Jiangu granule on the hemorheological characteristics of the rat model with steroid-induced necrosis of femoral head(SINFH) and microcirculation of mice. **METHODS** Hemorheological test: SD rats were randomly divided into 6 groups: control group, model group, low-, medium-, high-dose group, and the positive control group, respectively. The hemorheological values of rats from each group were measured by automatic hemorheological rapid detector. Microcirculation experiment: ICR mice were divided into 5 groups namely control group, model group, and low-, medium-, high-dose group. Laser Doppler perfusion flowmeter was adopted to detecting the microcirculation of the mice from each group. **RESULTS** Qishen Jiangu granule could regulate the hemorheological change on the rats with SINFH, low- and medium-dose group indicated a better drug effect on all hemorheological indexes; and the drug promoted microcirculation of mice from each group, especially the blood flow rate in the ears of mice. **CONCLUSION** Qishen Jiangu granule can obviously improve the hemorheological characteristics and microcirculatory disturbance on animal model with SINFH, so as to prevent it.

KEY WORDS: Qishen Jiangu granule; hemorheological; microcirculation

股骨头坏死, 为常见的骨关节病之一, 其发病机制较复杂, 主要有脂质代谢紊乱学说、血管内凝血学说、骨质疏松学说、骨内高压学说等。大量的临床和实验研究表明, 不论是何种原因引起的股骨头坏死, 均可导致股骨头内血液循环障碍和供血不足, 其最终病理演变结果是股骨头的坏死、塌陷, 从而造成了严重的髋关节功能活动障碍。

芪参健骨颗粒由黄芪、丹参、杜仲、当归、菟丝子、延胡索等中药组成, 具有调节血脂、血管内皮生长因子、提高骨密度、抗炎镇痛等作用^[1], 本实验以血液流变学实验和微循环实验来探讨芪参健骨颗粒防治股骨头坏死的作用。

1 材料与仪器

1.1 动物

ICR 小鼠, 体质量 18~20 g, ♀ ♂ 各半, SPF 级; SD 大鼠, 体质量 180~200 g, ♀, SPF 级, 均购于上海西普尔-必凯实验动物有限公司, 合格证号: SCXK(沪)2008-0016。大鼠和小鼠均饲养于屏障中, 温度: (22±1)℃, 相对湿度 50%~70%, 换风次数 15~20 次·h⁻¹, 光照 150~200 Lx, 12 h 明暗交替, 噪音<50 dB, 设有温度、湿度、光照、压力梯度等自动控制和显示系统; 饲喂 Co⁶⁰ 辐照全价营养饲料。

1.2 药物及试剂

芪参健骨颗粒流浸膏^[2](黄芪、丹参、杜仲、

基金项目: 浙江省科技厅科技计划项目(2006C33003); 浙江省中药现代化专项资金(浙财建字 2007-237 号); 浙江省中医药重点开发项目(2004Z004); 浙江省公益性技术应用研究计划(分析测试与实验动物)(2011C37094)

作者简介: 章建华, 男, 教授 Tel: 13588193391 E-mail: zhangjh311@163.com *通信作者: 尹华, 女, 教授 Tel: (0571)86613604 E-mail: maryyinhua@163.com

当归、菟丝子、延胡索按 6:6:3:6:6:2 比例混合,加 12 倍量水浸泡 1 h,加热回流提取 3 次,每次 0.5 h;过滤,合并滤液,减压浓缩至药液相对密度为 1.05~1.10,加 95%乙醇使含醇量为 50%,醇沉 24 h,减压浓缩至药液含原生药 3 g·mL⁻¹,质控指标为黄芪甲苷、丹酚酸 B。由浙江中医药大学中药标准化研究实验室制备,批号:100613)。脂多糖(美国 Sigma 公司,批号:L2880,规格:10 mg);注射用甲基强的松龙(Pfizer Manufacturing BeLgium NV 公司,批号:R04276);丹郁骨康丸(河南明善堂药业有限公司生产,批号:090712,规格:每盒 9 袋,每袋 10 g);双氯芬酸钠(北京诺华制药有限公司,国药准字 H10980297)。

1.3 仪器

7020 日立全自动生化分析仪(日本日立株式会社);AVANTI J-26 XP 低温高速离心机(美国贝克曼);Sartorius BS110S 万分之一天平(德国塞多利斯);FAGANG 全自动血液流变快测仪(重庆大学维多生物工程研究所);DRT4 激光多普勒微循环仪(英国 Moor Instruments 公司)。

2 方法与结果

2.1 血液流变学实验方法

2.1.1 动物分组及模型建立 SD 大鼠,随机分成 6 组,分别为正常组、模型组、低、中、高剂量给药组、阳性对照组,每组 10 只。在前期工作基础上通过查阅文献^[3-5],确定造模方法为:各组大鼠尾静脉注射脂多糖 20 μg·kg⁻¹连续 2 d,第 2 次注射脂多糖后,当天肌肉注射甲基强的松龙 20 mg·kg⁻¹连续 3 d,正常组注射同等剂量的生理盐水。6 周后随机选取造模大鼠 2 只,进行股骨头组织病理学检查,证实股骨头坏死造模成功。

2.1.2 给药方法 由于股骨头坏死病程不可逆转,因此选择预防性给药。造模成功后,给药组按低、中、高剂量(15, 30, 60 g·kg⁻¹)灌胃,阳性对照组按 3 g·kg⁻¹灌胃丹郁骨康丸混悬液,正常组灌胃

生理盐水 2 mL·(100 g)⁻¹,1 次·d⁻¹,连续 2 个月。

2.1.3 血液流变学测定 各组实验动物采血前禁食 12 h,用 10%水合氯醛溶液腹腔注射,麻醉大鼠,腹腔静脉取血 5 mL,注入含有 50 μL 肝素钠注射液的离心管中抗凝制成全血样本。取全血样本,使用全自动血液流变快测仪测定血浆黏度、全血高切、全血中切、全血低切、红细胞压积。

2.2 微循环实验

2.2.1 动物分组与给药 ICR 小鼠,♀♂各半,18~20 g,随机分成 5 组,分别为正常组、低、中、高剂量给药组、阳性对照组,每组 10 只。低、中、高剂量分别按 22.5, 45, 90 g·kg⁻¹灌胃给药,阳性对照组按 0.009 g·kg⁻¹灌胃双氯芬酸钠混悬液,正常组灌胃生理盐水 0.3 mL·(10 g)⁻¹,1 次·d⁻¹,连续 7 d。

2.2.2 微循环测定方法 末次灌胃给药 1 h 后用多普勒微循环检测仪观察小鼠耳廓、足背和尾中循环,记录数值,比较各组差异。

2.3 统计学处理方法

计量资料各组数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),以 $P < 0.05$ 为显著性差异, $P < 0.01$ 为非常显著性差异。所有数据均采用 SPSS 13.0 统计软件包统计。

2.4 结果

2.4.1 血液流变学 与正常组相比,模型组大鼠的血浆黏度升高,但是没有显著性差异;全血高切、中切、低切、红细胞压积水平升高,出现显著性差异。与模型组比较,低剂量给药组血浆黏度、全血高切、全血中切、全血低切、红细胞压积水平降低;中剂量给药组大鼠血浆黏度、全血中切水平降低,有显著性差异,全血高切,全血低切,红细胞压积与模型组比较有下降趋势,但没有显著性差异;高剂量给药组大鼠血浆黏度降低有显著性差异;阳性对照组血浆黏度和红细胞压积降低。结果见表 1。

表 1 芪参健骨颗粒对各组大鼠血液流变学的影响($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1 The effect of Qishen Jiangu granule on the hemorheological characteristics($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	血浆黏度比	全血高切/mPa·s ⁻¹	全血中切/mPa·s ⁻¹	全血低切/mPa·s ⁻¹	红细胞压积/%
正常组	1.13±0.18	4.05±0.77 ⁴⁾	4.50±1.37 ³⁾	9.53±2.40 ⁴⁾	0.51±0.50 ⁴⁾
模型组	1.22±0.11	4.88±0.38 ²⁾	5.78±0.48 ¹⁾	11.89±1.00 ²⁾	0.55±0.03 ²⁾
15 g·kg ⁻¹ 给药组	1.04±0.12 ⁴⁾	4.38±0.57 ³⁾	5.17±0.70 ³⁾	10.80±1.30 ³⁾	0.52±0.03 ³⁾
30 g·kg ⁻¹ 给药组	1.12±0.07 ³⁾	4.66±0.56 ¹⁾	5.39±0.52 ³⁾	11.24±1.36	0.53±0.00 ¹⁾
60 g·kg ⁻¹ 给药组	1.10±0.08 ³⁾	4.91±0.65 ²⁾	5.75±0.82	11.72±1.44	0.53±0.02 ¹⁾
阳性对照组	1.12±0.09 ³⁾	4.80±0.56 ¹⁾	5.64±0.63	11.60±1.08	0.52±0.02 ³⁾

注:与正常组比较,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较,³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$

Note: Compared with normal group, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; compared with model group, ³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$

2.4.2 微循环实验 芪参健骨颗粒对耳部的微循环影响较大。与正常组相比较芪参健骨颗粒低、中、高剂量给药组和阳性对照组对耳部微循环有较好的促进作用，且呈剂量依赖性。结果见表2。

表2 芪参健骨颗粒对各组小鼠微循环的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)
Tab 2 The effect of Qishen Jiangu granule on the micro-circulation($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	血流速度/ $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$		
	耳	脚	尾
正常组	28.37 $\pm$ 10.68	20.48 $\pm$ 4.94	15.40 $\pm$ 4.25
22.5 g $\cdot$ kg $^{-1}$ 给药组	38.36 $\pm$ 10.26 ¹⁾	22.44 $\pm$ 5.77	18.62 $\pm$ 6.38
45 g $\cdot$ kg $^{-1}$ 给药组	46.82 $\pm$ 9.45 ²⁾	23.43 $\pm$ 3.70	20.23 $\pm$ 4.02 ¹⁾
90 g $\cdot$ kg $^{-1}$ 给药组	55.23 $\pm$ 18.75 ²⁾	37.57 $\pm$ 18.36 ¹⁾	19.76 $\pm$ 10.43
阳性对照组	47.59 $\pm$ 21.95 ¹⁾	18.73 $\pm$ 8.09	15.26 $\pm$ 5.28

注：与正常组比较，¹⁾ $P<0.05$ ，²⁾ $P<0.01$

Note: Compared with normal group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$

3 讨论

中医认为激素性股骨头坏死的内因是先天不足，易受外邪入侵，外侵日久则先天更虚，伤劫阴血，阴亏血滞，阴虚及肾，肾气亏虚，骨髓失充，筋骨失养，癖血阻络而导致本病，一般认为其属“骨痹气”、“骨痰气”、“骨蚀”等范畴，通常以补益肝肾、活血化瘀、理气止痛为基本治疗原则，通过改善股骨头供血，促进成骨细胞的增殖，以逐渐恢复股骨头正常的生理机能。现代药理研究表明激素能使血液呈高黏滞状态，血液的凝固性增高，静脉栓塞，形成骨内高压^[6]，另一方面高黏滞状态的血液中血小板聚集，血管闭塞，局部酸性代谢产物聚集，毛细血管通透性增高，血浆外渗，造成骨髓间质水肿，也使骨内压升高^[7]，导致骨坏死^[8]。Vogt等^[9]研究发现激素可诱导微血管内皮细胞的调亡引起毛细血管数量减少，可能诱导微循环障碍。

芪参健骨颗粒由黄芪、丹参、杜仲、当归、菟丝子、延胡索等中药组成，具有益气补肾、活血化瘀、通络止痛之功效。现代研究表明，黄芪活性成分为黄芪甲苷等皂苷类，能双向调节免疫功能，使痉挛血管显著扩张，对血小板聚集有明显的抑制作用^[10]；丹参、当归，其活性成分为丹酚酸B、丹参素、阿魏酸等，具有扩张血管、改善微循环、抗血凝消血栓、降低血液黏度及抗菌抗

炎，提高机体免疫功能的作用；延胡索活性成分为延胡索甲素和乙素等生物碱，能理气止痛。

从本实验的结果看，长期服用低剂量芪参健骨颗粒能有效的防治股骨头坏死所出现的血液黏稠状态，且低、中剂量给药组效果较好，能有效促进小鼠微循环；但是高剂量组效果较差，提示服用芪参健骨颗粒能提高正常小鼠微循环，促进血流速度，但是中药的量效关系并非呈简单的线性。

本课题验证芪参健骨颗粒防治股骨头坏死是从组织病理学、提高骨密度、抗炎镇痛、血液流变及微循环等方面进行研究的，而本实验仅选择了芪参健骨颗粒在对股骨头坏死大鼠血液流变及微循环方面进行研究，其他方面尚需进一步研究。

REFERENCES

- [1] LIN T, LI C Y, YIN H, et al. Anti-inflammatory and analgesic effects of Qishen Jiangu granule [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2011, 17(4): 151-153.
- [2] YIN H, ZHANG C X, ZHANG J H, et al. Study on the extractive technology of Qishen Jiangu granules [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(12): 1106-1109.
- [3] TIAN K, TONG P J, XIAO L. Hormone avascular necrosis of animal model research progress [J]. J Jiangxi Coll Tradit Chin Med(江西中医学院学报), 2007, 38(1): 95-97.
- [4] SU Q, SUN T S, WANG Q L, et al. Different doses endotoxin established joint hormone from avascular necrosis of radiological assessment model [J]. China Tiss Eng Res Clin Rehabil(中国组织工程研究与临床康复), 2008, 12(11): 2108-2111.
- [5] LI H, JIA B S. Hormone merger endotoxin induction rats avascular necrosis of the scanning electron microscopy(sem) [J]. Chin J Comp Med(中国比较医学杂志), 2007, (5): 256-258.
- [6] LUO S F. Hemorheological in steroid-induced necrosis of femoral head [J]. Zhejiang J Integr Tradit Chin West Med(浙江中西医结合杂志), 2003, 13(8): 473-474.
- [7] ZHANG A N, LIANG M Q, LIU Y W. Clinical Common Rational Drug Use(临床常见合理用药) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House(人民卫生出版社), 2000: 363.
- [8] LI Y B, YAN L. Hormone induction bone marrow stromal cells into fat differentiation experimental study [J]. Chin J Orthop(中华骨科杂志), 1999, 38(11): 687-689.
- [9] VOGT C J, SEHMID G W. Microvascular endothelial cell death and rarefaction in the glucocorticoid-induced hypertensive rat [J]. Microcirculation, 2001, 8(2): 129-139.
- [10] HUANG R R, LI W P, LI W Z. Effect of extract of astragalus on alterations of blood brain barrier induced by local cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2010, 27(12): 1064-1068.

收稿日期：2011-05-09