

· 基础研究 ·

马钱子总碱对兔膝骨关节炎模型
软骨损伤修复作用及机制

洪振强 高弘建 苏友新 徐志斌 吴子健 何俊君

摘要 **目的** 探讨马钱子总碱对兔膝骨 Hulth-Telhag 关节炎模型的作用及机制。**方法** 新西兰兔随机分为正常对照组,模型组,假手术组,马钱子总碱高、中、低剂量组,玻璃酸钠组,每组 8 只。除正常对照组外,其余各组均以 Hulth-Telhag 方法造模。造模 8 周后,马钱子总碱高、中、低剂量组分别给予兔每个膝关节腔注射 0.3、0.2、0.1 mL 马钱子总碱注射液,玻璃酸钠组给予兔每个膝关节腔注射 0.2 mL 玻璃酸钠,每周 2 次,连续用药 5 周。正常对照组、模型组及假手术组常规饲养,无其他特殊处理。停药 1 周后光镜观察关节软骨病理改变和 Mankin's 评分,血液流变仪检测全血黏度(低切、中切、高切)及血浆黏度,ELISA 检测关节液 NO、SOD、过氧化脂质(LPO)及尿液吡啶酚(PYD)含量。**结果** 与正常对照组比较,模型组 Mankin's 评分、全血黏度、血浆黏度、NO、LPO 及 PYD 升高($P < 0.05$),SOD 降低($P < 0.05$)。与模型组比较,马钱子总碱高、中剂量组及玻璃酸钠组 Mankin's 评分降低($P < 0.05$);各给药组全血黏度、血浆黏度、NO、LPO 及 PYD 降低($P < 0.05$),SOD 升高($P < 0.05$)。马钱子总碱中剂量组较低剂量组中、高切变率全血黏度、SOD 升高($P < 0.05$),NO、LPO 及 PYD 降低($P < 0.05$);马钱子总碱高剂量组较中剂量组全血黏度、血浆黏度升高($P < 0.05$),NO、LPO 及 PYD 降低($P < 0.05$),SOD 升高($P < 0.05$)。与玻璃酸钠组比较,马钱子总碱低剂量组 Mankin's 评分、NO、LPO 及 PYD 升高($P < 0.05$),SOD 降低($P < 0.05$);马钱子总碱中剂量组 Mankin's 评分、SOD 降低($P < 0.05$),NO、LPO 及 PYD 升高($P < 0.05$);马钱子总碱高剂量组 Mankin's 评分、全血黏度及血浆黏度升高($P < 0.05$)。**结论** 马钱子总碱对骨关节炎的软骨损伤具有修复作用,其机制主要与通过 SOD 途径抑制 NO 介导的软骨细胞凋亡有关,还与改善软骨代谢有关。

关键词 马钱子总碱;兔膝骨关节炎 Hulth-Telhag 模型;作用机制

Effect of Total Alkaloids from *Semen Strychni* on Cartilage Injury in Rabbit Model of Knee Osteoarthritis and It's Mechanisms HONG Zhen-qiang, GAO Hong-jian, SU You-xin, XU Zhi-bin, WU Zijian, and HE Jun-jun College of Chinese Medicine, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou (350122)

ABSTRACT **Objective** To investigate the effect and mechanism of total alkaloids from *semen strychni* (TASS) in rabbit Hulth-Telhag model of knee osteoarthritis (OA). **Methods** New Zealand rabbits were randomly divided into the normal control group, model group, sham operation group, high, medium and low dose TASS groups, and the sodium hyaluronate group, 8 in each group. With the exception of the normal control group, all groups received the Hulth-Telhag surgical procedure on knees to induce OA. Eight weeks after osteoarthritis modeling, high, medium and low dose TASS groups were administered with 0.3, 0.2, or 0.1 mL TASS injection into each joint cavity, respectively. In the sodium hyaluronate group, 0.2 mL of sodium hyaluronate was injected into each joint cavity. The treatment was given 2 times per week, for 5 consecutive weeks. New Zealand rabbits in the normal control group, model group, and sham operation group were conventionally fed, without other special treatment. One week after intervention, pathological changes of articular cartilage and Mankin's score were observed by light microsc-

基金项目:福建省科技厅重点项目(No. 2012Y0039);福建省自然科学基金项目(No. 2017J01830)

作者单位:福建中医药大学中医学院(福州 350122)

通讯作者:洪振强, Tel: 0591-22861137, E-mail: 594710961@qq.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20180626.183

py. Hemorheology was used to detect whole blood viscosity (low shear, middle shear, high shear) and plasma viscosity. The levels of NO, SOD, and lipid peroxidase (LPO) in joint fluid and pyridol (PYD) in urine were measured by ELISA. Results Compared with the normal control group, the Mankin's score of cartilage, whole-blood viscosity and plasmatic viscosity, the levels of NO, LPO and PYD were increased in the model group ($P < 0.05$), while the SOD was decreased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the Mankin's score of cartilage was decreased in the high and low dose TASS groups and sodium hyaluronate group ($P < 0.05$); whole-blood viscosity and plasmatic viscosity, the levels of NO, LPO and PYD in the synovial fluid decreased while the SOD was increased in the treatment groups ($P < 0.05$). Compared with low dose TASS group, the medium dose TASS group exhibited an increased whole-blood viscosity and SOD levels ($P < 0.05$), decreased synovial fluid levels of NO, LPO and PYD ($P < 0.05$). Compared with medium dose TASS group, whole-blood and plasmatic viscosity, SOD levels were increased ($P < 0.05$), NO, LPO and PYD levels in the synovial fluid were decreased in high dose TASS group ($P < 0.05$). Compared with the sodium hyaluronate group, the Mankin's score, NO, LPO and PYD levels were increased in the low dose TASS group ($P < 0.05$), and SOD decreased ($P < 0.05$); the medium dose TASS group demonstrated decreased Mankin's score and SOD ($P < 0.05$), increased NO, LPO and PYD ($P < 0.05$); the high dose TASS group exhibited increased Mankin's score, whole-blood viscosity and plasmatic viscosity ($P < 0.05$). Conclusions The TASS treatment has a repairing function for cartilage injury in a model of osteoarthritis. The mechanism is likely related to inhibition of NO-mediated apoptosis of chondrocytes by the SOD pathway. Repair may also be mediated by the improvement of cartilage metabolism.

KEYWORDS total alkaloids from *semen strychni*; rabbit Hulth-Telhag model of knee osteoarthritis; mechanism

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 是一种以关节疼痛、僵硬、屈伸及行走受限甚至关节畸形为主要表现的骨科常见多发病, 在中国 OA 患者已超过 1 亿^[1]。关节内注射药物治疗 OA 是近年来推广应用的一种新疗法, 能促进软骨再生、延缓软骨退变^[2,3], 具有作用直接、起效迅速的特点, 越来越受到 OA 患者的青睐^[4,5]。马钱子是中医临床治疗关节炎常用药物之一, 具有祛风湿、通络、消肿止痛的功效, 马钱子生物碱为其主要有效成分。研究显示, 马钱子碱关节内注射可促进软骨损伤的修复^[6], 但其作用机制未明, 值得进一步探讨。OA 的发病机制复杂, 其致病因素主要与软骨细胞凋亡、骨内压等有关。因此, 本实验通过建立兔膝 OA Hulth-Telhag 模型并予关节腔注射马钱子总碱, 观察其对关节软骨病理改变和血液流变学的影响, 以及对关节液中一氧化氮 (nitric oxide, NO)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化脂质 (lipid peroxidase, LPO) 及尿液中吡啶酚 (pyridol, PYD) 表达的影响, 探讨马钱子防治 OA 的作用及其机制是否与软骨细胞凋亡、骨内压有关。

材料与方法

1 动物 健康新西兰兔 56 只, 4~6 月龄, 体重 2.0~2.5 kg, 雌雄各半, 由上海市松江区松联实验

动物场提供, 许可证号: SCXK (沪) 2012-0011。由福建中医药大学实验动物中心提供清洁级医学实验动物环境设施, 许可证号 SCXK (闽) 2012-0001。实验对动物的处理方法符合《关于善待实验动物的指导性意见》^[7]。

2 药物 马钱子 (福建省福州同春药业有限公司, 批号: 20100505), 经福建中医药大学药学院中药炮制教研室鉴定为马钱科植物马钱的干燥成熟种子, 其炮制工艺为砂烫法; 马钱子总碱注射液, 1 mL/支, 浓度为 3.125 mg/mL (福建中医药大学中西医结合研究院自制, 批号: 201101), 主要成分为马钱子总生物碱, 其制备方法已申请国家发明专利 (专利申请号: 201210013293)。

3 主要试剂及仪器 玻璃酸钠注射液 (20 mg/支, 上海昊海生物科技, 批号: H20051837); 兔 NO、SOD、LPO、PYD 酶联免疫检测试剂盒 (上海西唐生物科技有限公司, 批号: H7020); 青霉素 (80 万 IU/支, 上海新先锋药业有限公司, 批号: S120301)。生物组织包埋机 (BM-VII, 湖北省宏业医用仪器有限公司); 石蜡切片机 (HM315, Thermo 公司, 美国); 低温高速离心机 (64R, Beckman 公司, 美国); 酶联免疫检测仪 (Elx808, Biotek 公司, 美国); 光学显微镜 (BX40, Olympus, 日本); 酶标仪 (Elx808, Biotek 公司, 美国)。

4 实验分组 将 56 只 4~6 周龄健康新西兰兔采用随机数字表法分为正常对照组、模型组、假手术组、马钱子总碱高、中、低剂量组和玻璃酸钠组,每组 8 只。

5 造模方法 除正常对照组外,其余各组均参考 Hulth-Telhag 方法^[8]建立 OA 模型。选取兔左、右膝为手术对象,于兔耳缘静脉麻醉(戊巴比妥钠,30 mg/kg),仰卧固定,备皮,常规消毒铺巾。取双侧膝关节内侧纵形切口,长约 4 cm,打开关节腔,切断前、后交叉韧带及内侧副韧带,并完整切除内侧半月板。行抽屉试验、内侧应力试验,证实各韧带均已完全切断后,冲洗,逐层缝合。无敷料包扎,不固定伤肢。术中尽量避免损伤关节软骨面。假手术组探查关节腔后不作其他任何处理。术后采用单兔单笼喂养,每天肌肉注射青霉素 20 万 IU,连续 7 天。每日定时强迫兔活动 30 min,分 2 次进行,连续 8 周。本次实验造模成功率 100 %。

6 给药剂量与方法 造模 8 周后,马钱子总碱高、中、低剂量组分别给予兔每个关节腔注射 0.3、0.2、0.1 mL(含 12.5、6.25、3.125 mg 生药,相当于临床剂量的 1、0.5、0.25 倍)马钱子总碱注射液,玻璃酸钠组给予兔每个关节腔注射 0.2 mL^[9]玻璃酸钠,每周 2 次,连续用药 5 周。正常对照组、模型组及假手术组的新西兰兔常规饲养,无其他特殊处理。停药 1 周后,经腹腔麻醉后取材,耳缘静脉空气栓塞处死全部动物。

7 标本采集与制备 取材前动物禁食 10 h,兔耳缘静脉处取血 2 mL,注入抗凝试管,摇匀后立即送检,测血液流变学指标。取髌骨内缘作纵行切口,逐层分离至关节囊,反复屈伸关节以便将关节液挤压至髌上囊内侧,在关节液最集中处轻轻划开关节囊,注入 0.9 %氯化钠 1.5 mL,反复抽吸后将关节液尽量抽出,4 ℃,15 000 r/min 离心 15 min,取上清液,保存于 -80 ℃冰箱。切开膝关节囊,迅速切取股骨内髌关节软骨,修成 0.5 cm × 0.5 cm × 0.5 cm 大小的组织块,40 g/L 多聚甲醛固定,10 % EDTA-2Na 脱钙 8 周,石蜡包埋,连续切片,厚约 5 μm,HE 染色观察软骨组织病理变化。

8 检测指标及方法(表 1) 光镜观察关节软骨病理改变和 Mankin's 评分^[10];血液流变仪检测全血黏度(低切、中切、高切)及血浆黏度;ELISA 检测关节液中 NO、SOD、LPO 及尿液中 PYD 含量。

9 统计学方法 用 SPSS 18.0 软件进行数据统计,计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,进行 *t* 检验和 ANOVA,采用二元定距变量 Pearson 简单相关系数进行相关分析,*P* < 0.05 为差异有统计意义。

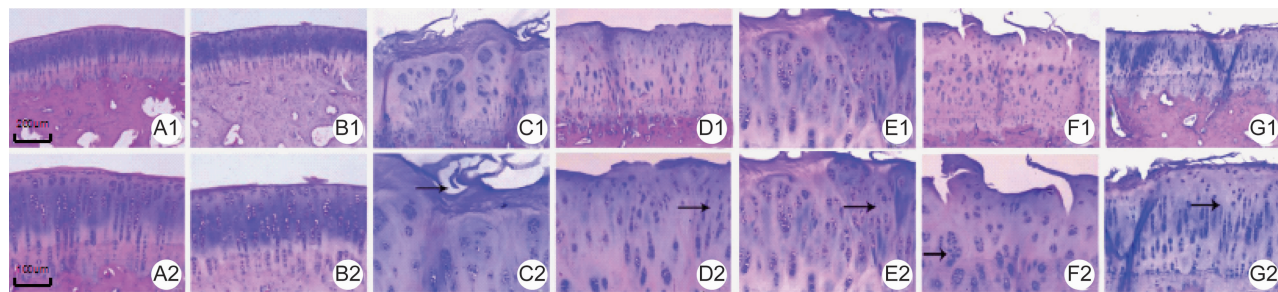
表 1 Mankin's 评分

分类	计分(分)
结构	
正常	0
表层破坏	1
血管翳及表层破坏	2
浅层裂隙形成达移行层	3
裂隙局限性深达骨质辐射层	4
深达骨质钙化层软骨缺损负重区	5
全层软骨缺损	6
细胞	
正常	0
细胞过多,紊乱	1
细胞成簇	2
细胞少	3
番红 O 染色	
正常	0
轻度失染	1
中度失染	2
重度失染	3
完全失染	4
潮线的完整性	
完整	0
不完整有血管翳通过	1
总分	0~14

结 果

1 各组一般情况比较 实验期间模型组新西兰兔排便、体温未见明显异常,精神状态欠佳,毛色稍晦暗,进食量稍减弱;给药组新西兰兔精神状态好,排便、体温和皮毛等未见异常,其体质量、进食量与对照组基本一致。实验过程动物无死亡。

2 各组病理结果比较(图 1) 正常对照组关节软骨表面光滑,四层结构清晰,潮线完整、黏合线明显,各层软骨细胞排列整齐、分布均匀,未见软骨细胞簇集现象。假手术组与正常对照组类似,关节软骨表面光滑、完整,四层结构尚明显,各层软骨细胞排列基本整齐、分布较为均匀,未见软骨细胞簇集现象。模型组关节软骨表面缺损、破裂严重,四层结构无法辨别。表层软骨细胞消失,移行层软骨细胞簇集成团,辐射层、钙化层软骨细胞数量明显减少、排列紊乱。马钱子总碱各剂量组关节软骨损伤较模型组均有修复,以中剂量组明显,表现为软骨表面裂隙得到改善,四层结构可分辨,各层软骨细胞数量增多、分布较均匀,软骨细胞簇集现象减少。玻璃酸钠组关节软骨损伤较模型组明显修复,表现为软骨表面较平整,四层结构较清晰,各层软骨细胞数量明显增多、排列较整齐、分布较均匀,簇集现象明显减少。



注: A 为正常对照组; B 为假手术组; C 为模型组; D 为马钱子总碱高剂量组; E 为马钱子总碱中剂量组; F 为马钱子总碱低剂量组; G 为玻璃酸钠组; 1 为 $\times 100$; 2 为 $\times 200$; 箭头所示为病理变化

图 1 各组病理结果比较 (HE)

3 各组关节软骨 Mankin's 评分比较(表 2)

与正常对照组比较,模型组 Mankin's 评分升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较,马钱子总碱高、中剂量组及玻璃酸钠组 Mankin's 评分降低 ($P < 0.05$)。与玻璃酸钠组比较,马钱子总碱高、低剂量组 Mankin's 评分升高 ($P < 0.05$),马钱子总碱中剂量组 Mankin's 评分降低 ($P < 0.05$)。与马钱子总碱中剂量组比较,马钱子总碱高剂量组 Mankin's 评分升高 ($P < 0.05$); 与马钱子总碱低剂量组比较,马钱子总碱高剂量组 Mankin's 评分降低 ($P < 0.05$)。

表 2 各组关节软骨 Mankin's 评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	Mankin's 评分
正常对照	8	$0.37 \pm 0.18^*$
假手术	8	0.38 ± 0.26
模型	8	8.75 ± 0.25
玻璃酸钠	8	$6.00 \pm 0.19^*$
马钱子总碱低剂量	8	$8.38 \pm 0.26^{\Delta\Delta}$
马钱子总碱中剂量	8	$5.75 \pm 0.16^{*\Delta\Delta}$
马钱子总碱高剂量	8	$7.50 \pm 0.27^{*\Delta}$

注:与模型组比较, $*P < 0.05$; 与玻璃酸钠组比较, $\Delta P < 0.05$; 与马钱子总碱高剂量组比较, $\Delta\Delta P < 0.05$

4 各组全血黏度及血浆黏度的比较(表 3)

与正常对照组比较,模型组的全血黏度及血浆黏度升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较,各给药组的全血黏度及血浆黏度降低 ($P < 0.05$)。与玻璃酸钠组比较,马钱子总碱高剂量组的全血黏度及血浆黏度升高 ($P < 0.05$)。

表 3 各组全血黏度及血浆黏度比较 ($\text{mPa} \cdot \text{s}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	全血黏度			血浆黏度
		低切(10 s)	中切(60 s)	高切(150 s)	
正常对照	8	$7.9 \pm 1.0^*$	$4.84 \pm 0.39^*$	$3.79 \pm 0.34^*$	$1.23 \pm 0.16^*$
假手术	8	7.9 ± 0.7	4.89 ± 0.21	3.84 ± 0.37	1.26 ± 0.11
模型	8	10.7 ± 0.5	7.94 ± 0.91	4.95 ± 0.11	1.48 ± 0.10
玻璃酸钠	8	$8.5 \pm 1.6^*$	$5.06 \pm 0.97^*$	$4.08 \pm 0.19^*$	$1.28 \pm 0.83^*$
马钱子总碱低剂量	8	$8.0 \pm 0.9^*$	$5.37 \pm 0.53^*$	$4.05 \pm 0.20^*$	$1.18 \pm 0.13^*$
马钱子总碱中剂量	8	$7.7 \pm 0.7^*$	$5.80 \pm 0.61^{*\Delta}$	$4.28 \pm 0.31^{*\Delta}$	$1.19 \pm 0.10^*$
马钱子总碱高剂量	8	$9.9 \pm 1.5^{*\Delta\Delta\Delta}$	$6.92 \pm 0.34^{*\Delta\Delta\Delta}$	$4.69 \pm 0.12^{*\Delta\Delta\Delta}$	$1.39 \pm 0.12^{*\Delta\Delta\Delta}$

注:与模型组比较, $*P < 0.05$; 与玻璃酸钠组比较, $\Delta P < 0.05$; 与马钱子总碱低剂量组比较, $\Delta\Delta P < 0.05$; 与马钱子总碱中剂量组比较, $\Delta\Delta\Delta P < 0.05$

与马钱子总碱低剂量组比较,马钱子总碱高剂量组全血黏度及血浆黏度升高 ($P < 0.05$); 马钱子总碱中剂量组中、高切变率全血黏度升高 ($P < 0.05$)。与马钱子总碱中剂量组比较,马钱子总碱高剂量组全血黏度及血浆黏度升高 ($P < 0.05$)。

5 各组关节液及尿液细胞因子比较(表 4) 与正常对照组比较,模型组 NO、LPO 及 PYD 升高 ($P < 0.05$),SOD 降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较,各给药组 NO、LPO 及 PYD 降低 ($P < 0.05$),SOD 升高 ($P < 0.05$)。与玻璃酸钠组比较,马钱子总碱中、低剂量组 NO、LPO 及 PYD 升高 ($P < 0.05$),SOD 降低 ($P < 0.05$)。与马钱子总碱低剂量组比较,马钱子总碱中、高剂量组 NO、LPO 及 PYD 降低 ($P < 0.05$),SOD 升高 ($P < 0.05$)。与马钱子总碱中剂量组比较,马钱子总碱高剂量组 NO、LPO 及 PYD 降低 ($P < 0.05$),SOD 升高 ($P < 0.05$)。

讨 论

马钱子主要功效是通络止痛、散结消肿、凉血散热,常用于关节炎的治疗,其抗炎作用的主要成分是马钱子生物碱。在 OA 的给药途径方面,关节内注射是主要方法之一,迄今已有 80 年的历史^[11]。目前关节内注射所用的药物以西药为主,其中,以透明质酸或皮质类固醇最具代表性。国际骨关节炎研究学会 (Osteoarthritis Research Society International, OARSI)

表 4 各组关节液 NO、SOD、LPO 及尿液 PYD 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	关节液			尿液
		NO($\mu\text{mol/L}$)	SOD(U/mL)	LPO(nmol/mL)	PYD(ng/mL)
正常对照	8	15.9 $\pm$ 1.0 [*]	119.8 $\pm$ 7.6 [*]	1.75 $\pm$ 0.28 [*]	0.87 $\pm$ 0.35 [*]
假手术	8	16.1 $\pm$ 0.8	115.6 $\pm$ 4.3	1.78 $\pm$ 0.21	0.91 $\pm$ 0.23
模型	8	64.6 $\pm$ 6.6	71.3 $\pm$ 2.9	8.52 $\pm$ 0.69	4.62 $\pm$ 0.66
玻璃酸钠	8	27.0 $\pm$ 4.8 [*]	105.5 $\pm$ 8.3 [*]	3.72 $\pm$ 0.66 [*]	2.09 $\pm$ 0.57 [*]
马钱子总碱低剂量	8	53.2 $\pm$ 8.5 ^{*△}	84.3 $\pm$ 4.2 ^{*△}	6.38 $\pm$ 1.01 ^{*△}	3.84 $\pm$ 0.15 ^{*△}
马钱子总碱中剂量	8	41.3 $\pm$ 6.6 ^{*△▲}	97.7 $\pm$ 2.6 ^{*△▲}	5.19 $\pm$ 0.31 ^{*△▲}	3.21 $\pm$ 0.22 ^{*△▲}
马钱子总碱高剂量	8	28.7 $\pm$ 4.0 ^{*△○}	107.4 $\pm$ 8.8 ^{*△○}	4.08 $\pm$ 0.69 ^{*△○}	2.36 $\pm$ 0.19 ^{*△○}

注:与模型组比较,^{*} $P < 0.05$;与玻璃酸钠组比较,[△] $P < 0.05$;与马钱子总碱低剂量组比较,[▲] $P < 0.05$;与马钱子总碱中剂量组比较,[○] $P < 0.05$

2014 年发表的膝 OA 治疗指南指出,西药在改善 OA 的临床症状方面有一定疗效,可缓解疼痛、改善关节活动度,但无法修复关节软骨损伤,也无法阻止 OA 发展^[12]。而中医药防治 OA,多以保护关节软骨为重点,可延缓关节软骨退变,阻止病情进一步发展^[13-15]。关节内注射中药防治 OA 的模式值得探索。因此,本实验通过建立兔膝 OA Hulth-Telhag 模型并予关节腔注射马钱子总碱,探讨马钱子防治 OA 的作用及其作用机制,为其临床应用提供依据。实验结果显示,模型组的关节软骨严重缺损、破裂,软骨细胞数量明显减少、排列紊乱,Mankin's 评分明显高于正常对照组,表明兔膝 OA 模型的关节软骨损伤严重。经过治疗后,软骨表面未见明显裂隙、四层结构可分辨,各层软骨细胞数量明显增多、分布较均匀,马钱子总碱高、中剂量组的 Mankin's 评分明显降低,上述实验结果表明马钱子总碱能有效修复 OA 的软骨损伤。PYD 是骨吸收的敏感和特异性生化标志物,可直接反映骨吸收的程度和 OA 的病情,在 OA 患者中,PYD 升高^[16]。本实验结果显示,模型组尿液中 PYD 升高,马钱子总碱治疗后尿液中 PYD 降低,也表明马钱子总碱对 OA 有修复作用。

OA 的发病机制复杂,软骨细胞凋亡是其重要发病机制之一^[17],与多种凋亡相关因子有关。其中,NO 诱导的凋亡是导致软骨细胞凋亡的一条重要途径,该途径与 NO、LPO 和 SOD 有关。在 OA 的发展过程中,机体会产生大量的自由基,促进凋亡发生。NO 是自由基中重要一员,可诱导软骨细胞凋亡^[18],导致软骨细胞损伤增多。LPO 是自由基脂质过氧化反应的代谢产物,能损伤细胞及细胞膜的结构,可间接反映出自由基对组织细胞的损伤程度。SOD 是体内清除氧自由基的重要酶,通过歧化作用清除氧自由基,保护滑膜和软骨细胞免受损伤,SOD 还能通过阻断细胞色素 C 依赖的线粒体凋亡途径来保护细胞^[19]。研究表明,减少 NO、LPO 的生成将抑制软骨细胞凋

亡^[20,21],提高 SOD 的活性将改善软骨代谢^[22]。本实验结果显示,模型组关节液中 NO、LPO 升高,SOD 降低,马钱子总碱治疗后关节液中 NO、LPO 降低,SOD 升高。可见,马钱子总碱对 OA 软骨损伤的修复作用可能通过抑制脂质过氧化反应而减少自由基的产生,增加 SOD 表达而促进自由基的清除,最终导致自由基减少而抑制软骨细胞凋亡,从而起到保护软骨和修复软骨的作用。

以骨内静脉瘀滞为特征的骨血流动力学异常及由此所致的骨内高压,也是导致 OA 发生发展的重要因素^[23],改善骨微循环和软骨代谢对于 OA 的防治具有重要意义。本实验结果显示,模型组的低、中、高切变率全血黏度及血浆黏度均升高,马钱子总碱治疗后其低、中、高切变率全血黏度及血浆黏度均降低。表明骨血流动力学异常是导致 OA 的一个重要因素,马钱子总碱能改善血液循环障碍、降低骨内压,从而减轻软骨损害,起到防治 OA 的作用。

综上,软骨细胞凋亡、骨内高压等是 OA 重要的致病因素,与 OA 的发生、发展密切相关。马钱子总碱对 OA 的软骨损伤具有修复作用,其作用机制主要与通过 SOD 途径抑制 NO 介导的软骨细胞凋亡有关,还与改善软骨代谢有关。因此,抑制软骨细胞凋亡和改善骨微循环对于 OA 的防治具有重要意义。

利益冲突:所有作者共同认可文章内容,不涉及相关利益冲突。

参 考 文 献

- [1] 刘媛,王永福.骨关节炎的经济学[J].中国骨质疏松杂志,2011,17(2):181-184.
- [2] Chen WH, Lo WC, Hsu WC, et al. Synergistic anabolic actions of hyaluronic acid and platelet-rich plasma on cartilage regeneration in osteoarthritis therapy[J]. Biomaterials, 2014, 35(36): 9599-9607.

- [3] Takayama K, Kawakami Y, Kobayashi M, et al. Local intra-articular injection of rapamycin delays articular cartilage degeneration in a murine model of osteoarthritis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2014, 16(6): 482.
- [4] Koenig KM, Ong KL, Lau EC, et al. The use of hyaluronic acid and corticosteroid injections among medicare patients with knee osteoarthritis[J]. *J Arthroplasty*, 2016, 31(2): 351–355.
- [5] 崔梦丽, 刘雅敏, 陈庆, 等. 中药治疗关节疼痛外用制剂的研究进展[J]. *风湿病与关节炎*, 2015, 4(9): 76–80.
- [6] 徐军, 刘强, 宋晓亮, 等. 马钱子碱液关节腔内注射对兔膝关节损伤软骨的影响[J]. *中国医药指南*, 2013, 11(18): 9–10.
- [7] 中华人民共和国科技部. 关于善待实验动物的指导性意见[J]. http://www.most.gov.cn/fggw/zfwj/zfwj2006/200609/t20060930_54389.htm [2006–09–30].
- [8] 卢向阳, 唐芳, 马武开, 等. 骨关节炎动物模型的研究进展[J]. *风湿病与关节炎*, 2017, 6(2): 63–67, 75.
- [9] 霍雷. 透明质酸钠注射配合自体富血小板血浆注射治疗膝骨关节炎的临床及实验研究[D]. 江苏: 苏州大学, 2014.
- [10] Mankin HJ, Dorfman H, Lippiello L, et al. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 1971, 53(3): 523–537.
- [11] Waugh WG. Acid Injection for Osteo-arthritis[J]. *Br Med J*, 1945, 1(4407): 873–874.
- [12] McAlindon TE, Bannuru RR, Sullivan MC, et al. OARSI guidelines for the non-surgical management of knee osteoarthritis [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2014, 22(3): 363–388.
- [13] Xu X, Lv H, Li X, et al. Danshen attenuates osteoarthritis-related cartilage degeneration through inhibition of NF- κ B signaling pathway *in vivo* and *in vitro* [J]. *Biochem Cell Biol*, 2017, 95(6): 644–651.
- [14] Zhong Y, Huang Y, Santoso MB, et al. Sclareol exerts anti-osteoarthritic activities in interleukin-1 β -induced rabbit chondrocytes and a rabbit osteoarthritis model[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(3): 2365–2374.
- [15] Qin N, Wei L, Li W, et al. Local intra-articular injection of resveratrol delays cartilage degeneration in C57BL/6 mice by inducing autophagy via AMPK/mTOR pathway [J]. *J Pharmacol Sci*, 2017, 134(3): 166–174.
- [16] Garner P, Piperno M, Gineyts E, et al. Cross sectional evaluation of biochemical markers of bone, cartilage, and synovial tissue metabolism in patients with knee osteoarthritis: relations with disease activity and joint damage [J]. *Ann Rheum Dis*, 2001, 60(6): 619–626.
- [17] Zamli Z, Adams MA, Tarlton JF, et al. Increased chondrocyte apoptosis is associated with progression of osteoarthritis in spontaneous Guinea pig models of the disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(9): 17729–17743.
- [18] Intekhab-Alam NY, White OB, Getting SJ, et al. Urocortin protects chondrocytes from NO-induced apoptosis: a future therapy for osteoarthritis? [J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4: e717.
- [19] Sugawara T, Noshita N, Lewén A, et al. Overexpression of copper/zinc superoxida dismutase in transgenic rats protects vulnerable neurons against ischemic damage by blocking the mitochondrial pathway of caspase activation [J]. *J Neurosci*, 2002, 22(1): 209–217.
- [20] Liu W, Wu YH, Liu XY, et al. Metabolic regulatory and anti-oxidative effects of modified Bushen Huoxue decoction on experimental rabbit model of osteoarthritis[J]. *Chin J Integr Med*, 2013, 19(6): 459–463.
- [21] Bentz M, Zaouter C, Shi Q, et al. Inhibition of inducible nitric oxide synthase prevents lipid peroxidation in osteoarthritic chondrocytes [J]. *J Cell Biochem*, 2012, 113(7): 2256–2267.
- [22] Kalaci A, Yilmaz HR, Aslan B, et al. Effects of hyaluronan on nitric oxide levels and superoxide dismutase activities in synovial fluid in knee osteoarthritis [J]. *Clin Rheumatol*, 2007, 26(8): 1306–1311.
- [23] 叶俊星, 白书臣, 吉璐宏. 骨痛胶囊对日本大耳白兔膝关节内高压和血液流变学作用的实验研究[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2007, 15(2): 45–48.

(收稿: 2017–03–25 在线: 2018–07–22)

责任编辑: 赵芳芳