

# 川芎嗪防治膝关节软骨退变的实验研究

王文瑞<sup>1</sup>, 刘宏泽<sup>1</sup>, 卫小春<sup>2</sup>, 张剑宇<sup>2</sup>, 闫俊萍<sup>1</sup>

(1. 包头市第三医院, 内蒙古 包头 014040; 2. 山西医科大学二附院)

**摘要** 目的:应用膝制动动物模型,探讨中药川芎嗪对膝关节 OA 软骨退变的保护作用。方法:24 只健康成年家兔,随机分为两组,每组 12 只,动物的右后肢采用膝关节伸直位管形石膏制动的方法建立骨性关节炎模型。实验组膝关节注射川芎嗪 0.3 ml,每周 1 次,对照组注射 0.3 ml 生理盐水,每周 1 次,在模型建立 6、9 周时,每组分别取 6 只动物,进行超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、糖胺多糖(GAG)含量测定,并观察滑膜、软骨的病理改变。结果:实验组 MDA 的浓度低于对照组的浓度,两者差异有显著性(6 周,  $P < 0.05$ ; 9 周,  $P < 0.01$ ),6 周时,对照组的 GAG 含量明显上升,与正常组及实验组相比,均有显著性差异( $P < 0.01$ )。实验组 SOD 浓度在不同时期均高于对照组(6 周,  $P < 0.05$ ; 9 周,  $P < 0.01$ )。光镜观察可见,实验组滑膜和软骨病理改变较对照组轻。结论:川芎嗪对早期膝关节 OA 的软骨退变具有保护作用。

**关键词** 川芎嗪; 骨关节炎; 膝; 软骨

**Experimental study of therapeutic and preventive effects of ligustrazine on OA cartilage degeneration of the knee** WANG Wen-ru, LIU Hong-ze, WEI Xiaochun, ZHANG Jian-yu, YAN Jun-ping. The 3th Hospital of Baotou (Mongolia Baotou, 030001, China)

**Abstract Objective:** To explore the protective effects of ligustrazine on degenerated cartilage in OA animal model in rabbits. **Methods:** OA animal model was made in rabbits by the way of fixing right posterior knee joint in stretching state with plaster cast in 24 healthy adult rabbits. They were divided randomly into ligustrazine treated group and control group (12 rabbits for each group). 0.3 ml ligustrazine was injected into the right knee joints in ligustrazine group and 0.3 ml saline in the control group once a week. At different time (6th week and 9th week), 6 rabbits of each group were killed, malonaldehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) and glycosaminoglycan (GAG) were measured. **Results:** The concentrations of MDA were significantly lower in ligustrazine group than in control group ( $P < 0.05$  at 6th week;  $P < 0.01$  at 9th week). There were no obvious differences in GAG at 6th week ( $P > 0.05$ ), but significant differences were observed at 9th week ( $P < 0.01$ ); SOD were significantly higher in ligustrazine group than in control group ( $P < 0.05$  at 6th week;  $P < 0.01$  at 9th week). There was statistically significant difference between two groups. Under microscope, the cartilage degeneration was less in ligustrazine group than in control group. **Conclusion:** It suggests that the Chinese medicine ligustrazine has a protective effect on early OA cartilage degeneration.

**Key words** Ligustrazine; Osteoarthritis, knee; Cartilage

本研究旨在探讨在家兔膝 OA 动物模型的发生过程中川芎嗪对关节软骨的保护作用及其作用机制。

## 1 材料和方法

**1.1 动物分组及模型建立** 24 只家兔分为两组,右膝关节石膏制动造模,左膝关节做正常对照。造模同时,对照组膝关节注入生理盐水 0.3 ml,实验组注入 0.3 ml 川芎嗪注射液,每周 1 次。模型建立 6 周、9 周后,取对照组和实验组各 6 只,抽取关节液

0.5 ml 进行 GAG 含量测定,然后处死动物,取滑膜、软骨标本进行有关测定项目的检查。

### 1.2 测定项目及方法

**1.2.1 软骨组织 MDA 的测定**(nmol/mg pro/ml) 采用八木国夫的 TBA 荧光法测定<sup>[1]</sup>。试剂盒由南京生物医学工程研究所提供。

**1.2.2 软骨组织 SOD 的测定**(nu/mg pro/ml) 采用黄嘌呤氧化酶法测定。试剂盒由南京生物医学工程研究所提供。

表 1 Mankin 滑膜组织学改变的的组织学分级标准

Tab 1 Mankin's graded standard in histological alteration of synovium

观察项目	计分	观察项目	计分
滑膜内衬层		滑膜下组织	
1 滑膜内衬细胞增生		1 肉芽组织增生	
正常	0	正常	0
轻度	1	轻度	1
中度	2	中度	2
重度	3	重度	3
2 滑膜内衬细胞肥大		2 血管组织长入	
正常	0	正常	0
轻度	1	轻度	1
中度	2	中度	2
重度	3	重度	3
3 炎性细胞浸润		3 炎性细胞浸润	
正常	0	正常	0
轻度	1	轻度	1
中度	2	中度	2
重度	3	重度	3

1.2.3 关节液 GAG 的测定 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 采用 Alcine 法测定<sup>[2]</sup>。

1.2.4 光镜观察 滑膜标本, HE 染色, 软骨标本 HE 和 AB - PAS 染色, 镜下观察, 按改良 Mankin 法进行软骨、滑膜组织评分, 评分标准见表 1, 2。

表 3 MDA、GAG 和 SOD 含量均值表 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 3 Mean value of MDA, GAG and SOD ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	6 周			9 周		
	MDA (nmol/ mg pro/ ml)	GAG ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	SOD (nu/ mg pro/ ml)	MDA (nmol/ mg pro/ ml)	GAG ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	SOD (nu/ mg pro/ ml)
正常组	0.46 $\pm$ 0.06	4.83 $\pm$ 0.42	10.39 $\pm$ 1.35	0.46 $\pm$ 0.07	4.83 $\pm$ 0.50	10.39 $\pm$ 1.35
实验组	0.47 $\pm$ 0.03	5.10 $\pm$ 0.33	10.44 $\pm$ 0.6	0.59 $\pm$ 0.05	5.20 $\pm$ 0.37	9.24 $\pm$ 0.32
对照组	0.65 $\pm$ 0.05 *	5.16 $\pm$ 0.23	8.28 $\pm$ 0.58 *	0.73 $\pm$ 0.04	5.70 $\pm$ 0.40	7.98 $\pm$ 0.21

注:与同期正常组和实验组相比 \*  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$

GAG 含量相比, 差异无显著性 ( $P > 0.05$ ), 故可作为正常对照组。6 周时, 实验组 MDA、SOD 与正常组相比, 无明显变化 ( $P > 0.05$ ); 对照组 MDA 高于实验组和正常组 ( $P < 0.05$ ); 对照组 SOD 低于实验组和正常组 ( $P < 0.05$ ); 对照组 GAG 与实验组和正常组相比, 有上升趋势 ( $P > 0.05$ )。9 周时, 实验组 MDA 高于正常组 ( $P > 0.05$ ), 实验组 SOD 低于正常组 ( $P > 0.05$ ), 对照组 MDA 明显高于实验组和正常组 ( $P < 0.01$ ), 对照组 SOD 明显低于实验组和正常组 ( $P < 0.01$ ), 对照组 GAG 高于实验组和正常组 ( $P < 0.01$ )。

2.2 滑膜和软骨的病理改变 6 周和 9 周时, 对照组及实验组与正常组相比, 滑膜和软骨的病理积分

表 2 Mankin 软骨组织学改变的的组织学分级标准

Tab 2 Mankin's graded standard in histological alteration of cartilages

观察项目	计分	观察项目	计分
表层软骨细胞分裂增生		中度降低	2
正常	0	严重降低	3
轻度增生	1	不着色	4
中度增生	2	潮线	
明显增生	3	完整	0
细胞排列		多层次	1
正常	0	模糊	2
排列稍乱, 但层次可分	1	有血管穿过	3
排列明显不规则, 层次紊乱	2	血管翳样物生成	
严重紊乱	3	无	0
AB - PAS 染色		轻度	1
正常	0	中度	
轻度降低	1	重度	3

1.3 统计学处理 实验数据以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 用 SPSS 10.0 软件处理, 行单因素方差分析及 SNK 法组间两两比较, 结果以  $P < 0.05$  为显著差异。

## 2 结果

2.1 软骨组织 MDA、SOD 及关节液中 GAG 含量的变化 (见表 3) 6 周与 9 周家兔左膝 SOD、MDA、

均明显升高 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) (表 4, 5)。

表 4 关节滑膜病变积分均值表 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 4 Mean value of lesion of synovium ( $\bar{x} \pm s$ )

正常组	对照组		实验组	
	6 周	9 周	6 周	9 周
1.67 $\pm$ 0.7	6.0 $\pm$ 0.9	7.5 $\pm$ 0.8	2.33 $\pm$ 0.8 *	3.83 $\pm$ 0.6 *

注:与同期正常组相比 \*  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$

表 5 关节软骨病变积分均值表 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 5 Mean value of lesion of articular cartilage ( $\bar{x} \pm s$ )

正常组	对照组		实验组 p	
	6 周	9 周	6 周	9 周
1.75 $\pm$ 0.4	4.66 $\pm$ 1.2	6.0 $\pm$ 0.8	2.0 $\pm$ 1.4 *	3.66 $\pm$ 1.6 *

注:与同期正常组相比 \*  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$

6 周时,实验组滑膜、软骨与正常结构相似,基质 AB - PAS 染色正常,未见明显的病理改变;对照组滑膜细胞明显增生,软骨表面粗糙不平,有裂隙,软骨细胞减少,AB - PAS 染色着色下降。9 周时,实验组滑膜细胞、纤维组织轻度增生,软骨表面粗糙,偶可见裂隙,软骨细胞排列紊乱,AB - PAS 染色轻度下降;对照组滑膜明显增厚,纤维组织大量增生,软骨下骨外露,基质 AB - PAS 染色几乎不着色。

### 3 讨论

川芎嗪(四甲基吡嗪,tetramethy pytazine)系从中药川芎中分离提纯的一种生物碱单体,具有行气、活血和化瘀等功效。有研究认为,给家兔静脉注射川芎嗪可观察到肠系膜微循环血流速度和微血管开放数目增加,其中对微动脉作用最为明显。动物试验表明,川芎嗪对肢体组织<sup>[3]</sup>、脑组织、肾脏组织、心肌组织和骨骼肌组织等缺血性损害有保护作用。研究认为川芎嗪是氧自由基的有效清除剂。本实验结果表明造模不同时期实验组与对照组相比,SOD 升高、MDA 下降均有显著差异(6 周,  $P < 0.05$ ; 9 周,  $P < 0.01$ )。表明川芎嗪能提高关节软骨 SOD 活性,从而能更有效地清除氧自由基,延缓了关节软骨的退化性变。

川芎嗪防治膝 OA 的可能机制:川芎嗪关节腔内注射,通过血液循环,淋巴循环进入关节周围的滑膜

组织、骨组织,改善了关节周围组织的血液瘀滞状态,血流畅通,使局部组织的理化环境恢复正常,纠正了氧自由基代谢紊乱,从而阻断了膝 OA 病理发生过程中,微循环障碍 - 氧自由基 - OA 的恶性循环。另外,由于关节软骨的营养主要来源是关节滑液,所以关节腔内注入的川芎嗪可能以某种方式进入关节软骨组织,对软骨组织中的氧自由基起到直接的清除作用,从而对软骨细胞和基质起到保护作用。实验中发现膝关制动 9 周时,实验组 SOD 有下降趋势,MDA 和 GAG 均有上升趋势且病理观察滑膜有轻度增生,关节软骨也开始出现退变。故川芎嗪对于早期膝 OA 具有明显延缓软骨细胞退变,抑制基质降解的作用,从而起到防治膝 OA 的作用。川芎嗪清除氧自由基防治膝 OA 的作用可能还与川芎嗪抑制血小板凝集,降低血液粘度,改善血液流变学,改善血流动力学有关。

### 参考文献

- 1 八木国夫.血清脂质过氧化物测定及临床意义.临床病理,1981,3:211.
- 2 Xiaochun Wei, Jizong Gao, Karola Messnet, et al. Concentrations of proteoglycan fragments in relation to maturation, sex and time of day. Acta Orthop Scand, 1996, 67(2):185-188.
- 3 庄洪,黄枫,郑晓辉,等.川芎嗪对兔肢体缺血损伤早期影响的实验研究.中国骨科新技术.北京:中国科技出版社,1996:25.

(收稿日期:2003 - 04 - 04 本文编辑:李为农)

## 北京市京华行科贸有限责任公司

### 生产研制产品报价单

京药管械经营许 20000737 号 京医械广备(字)第 200312099 号

#### 一、牵引康复设备 (D)代表全电脑控制

1. JKF 系列多功能脊柱牵引康复床:电脑程控,腰椎、颈椎、全身静止、间歇牵引、侧扳、腰部热疗按摩。  
 型 19800 元/台      A 型:26500 元/台      A(D)型:38000 元/台  
 IB 型:8800 元/台      IB(D)型:19800 元/台      IC 型:13000 元/台      IC(D)型:23900 元/台
2. FYC 系列伏卧式多功能腰椎治疗床:屈膝伏卧位牵引、捶击、热疗一体化,颈牵、下肢摇摆。  
 型:9850 元/台      A 电动型:13900 元/台      A(D)型:29000 元/台
3. JQY 系列多功能颈椎牵引治疗仪:颈牵、电针、热疗一体化。  
 型:5800 元/台      (B)型:12600 元/台      (A)型:8800 元/台      C 家用型:520 元/台

#### 二、RL Y - A 系列 BH 型中频热场针灸按摩仪

该系列产品均为电脑程控,型产品具有人工针灸的各种针法及按摩手法,手法逼真、柔和、深沉,力度等同人工。中频波渗透性强,可调至较深层次的穴位及病灶处。型和型增设远红外线热疗、药物离子导入,配有与人体各部位相吻合的药物模具。主治:风湿病、腰椎间盘突出症、颈椎病、骨质增生、关节炎、急性扭拉伤、偏瘫肢体恢复等。

型:6000 元/台      型:9000 元/台(双功能型)      型:12000 元/台(双功能智能型)

#### 三、其它设备

1. XN 心脑检查治疗仪      A 型 2960 元/台
2. GZ 骨质增生药物电泳治疗仪      A 型 3260 元/台
3. FD 风湿治疗仪      A 型 2880 元/台
4. DJS 胆结石治疗仪      A 型 3380 元/台

邮购办法:(1)邮局,银行汇款均可,款到后立即发货。(2)厂家销售,所售产品保修壹年,长期维修。运费保险费由我方负责。(3)面向全国常年办理邮购,欢迎来函电索取资料。公司地址:北京广安门外大街 305 号八区荣丰嘉园 8 号楼 2722 号 邮编:100055 联系人:徐照 电话:010 - 63275185,63275186 值班电话:010 - 66031777 手机:13901040602,13910097637 银行汇款户名:北京市京华行科贸有限责任公司 开户行:北京建行玉泉支行 帐号:6510006032630017010