

分析马钱子对骨关节炎中软骨细胞凋亡与增殖的影响

吴建方

(苏州市吴江区中医医院(吴江区第二人民医院), 江苏 苏州)

摘要:目的 分析马钱子对骨关节炎中软骨细胞凋亡与增殖的影响情况。方法 通过使用硝普钠(SNP)方式制作出兔膝关节炎模型,数量为80例。将其分为对照组、低剂量组、中剂量组和高剂量组。对照组不做任何处理,低、中、高剂量组分别使用不同剂量的马钱子处理,观察对软骨细胞凋亡和增殖的相关影响。结果 对照组凋亡率最高,随着马钱子剂量的提升,凋亡率显著降低。同时细胞增殖OD值也随着马钱子剂量提升而提升,差异均显著($P<0.05$)。结论 马钱子能够明显降低关节炎软骨细胞的凋亡并提升细胞增殖效率,有较高应用价值。

关键词: 马钱子; 骨关节炎; 软骨细胞; 凋亡与增殖

中图分类号: R274.9

文献标识码: B

DOI: 10.19613/j.cnki.1671-3141.2018.77.131

本文引用格式: 吴建方. 分析马钱子对骨关节炎中软骨细胞凋亡与增殖的影响[J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(77): 167, 175.

0 引言

当前在对关节炎患者实施临床治疗时,马钱子是比较常见的药物类型。并且在实际的治疗中,通过使用马钱子也往往能够取得较好效果,对于患者而言有着相当重要的意义^[1]。但需要注意的是,马钱子对骨关节炎软骨细胞凋亡以增殖的影响,实际上并不明确。因此当前在对骨关节炎的治疗中,马钱子的使用也并不广泛。在这样的前提下,通过分析马钱子对骨关节炎中软骨细胞凋亡与增殖的影响,并找出其具体影响的方式和机制非常重要,对临床治疗也有着较大意义^[2-3]。本研究即通过制作兔膝关节炎模型的方式,分析了马钱子对于骨关节炎软骨细胞凋亡和增殖的具体影响,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 材料和仪器

本研究使用硝普钠(国药准字H20143166,河南省宛西制药股份有限公司),规格50mg/支。2日龄新西兰兔,我院动物房提供。德国产甲苯胺蓝。中国药品生物制品鉴定所生产的马钱子碱,规格20mg/支。仪器为美国BB5060二氧化碳培养箱,规格50mL/L。EPICS XL MCL 流式细胞仪。日本JEM-1230 透射电镜。

1.1.2 骨关节炎软骨细胞模型

软骨细胞系为自行制作的兔膝关节炎模型,数量为80例。需无菌操作取得家兔软骨,加入少量的100g/L的FCS DME 培养液,将其剪碎为 $1 \times 1\text{mm}^2$,在500r/min条件下离心5min处理,将上清液清除后放入到烧瓶中,加入消化液处理3h,消化后将细胞悬液进行离心处理,速度1600r/min,时间为5min。将上清液丢弃后接入到培养瓶中,放置在50mL/L的培养箱中进行培养,每隔2~3d需换液,本研究为三四代传代细胞,并且已经使用甲苯胺蓝染色鉴定确定其存在。同时需使用SNP诱导软骨细胞凋亡模型。将其随机分为4组,即对照组、低剂量组、中剂量组和高剂量组,每组均20例。

1.2 方法

需要对本研究的所有骨关节炎中软骨细胞模型进行马钱子的处理,在本研究中需要使用马钱子碱。软骨细胞需要按照每个孔中 1×10^5 个细胞,种植在24孔板中,在培养体系中分别加入2mol/L的SNP,并且分别对其进行孵育12h、24h以及48h,手机细胞对其实施流式细胞仪的监测。同时需要在低剂量组中加入125mg/L的马钱子碱,在中剂量组中加入250mg/L的马钱子碱,在高剂量组中加入500mg/L的马钱子碱。最后可对细胞的凋亡以及增殖情况进行检测。在本研究中,使用透射电镜的方法进行形态观察,即需要将细胞进行收集,并且离心成为细胞团块,使用25g/L的戊二醛对其进行固定处理,时间为2h,并使用10g/L的四氧化锇进行再固

定,时间为1.5h,使用梯度丙酮进行脱水处理,并应用环氧树脂浸透包埋,使用超薄切片机进行切片,并在染色后使用电子透射电镜进行观察,使用流式细胞仪检测,分析细胞的凋亡率以及增殖OD值。

1.3 观察指标

观察本研究中4组骨关节炎中软骨细胞的凋亡率以及增殖OD值。

1.4 统计学分析

本研究使用SPSS20.0软件进行统计学的分析,计量资料用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 形态分析

通过对形态进行分析后显示,细胞呈现出单层铺满的特点,并且在显微镜下显示呈现出梭形和多角形,细胞之间呈现出网状的特点,在密集位置可发现旋涡情况,使用甲苯胺蓝染色后显示呈现出异染性的特点。而在对其使用SNP诱导后显示,镜下呈现出软骨细胞膜完整的特点,细胞表面的微绒毛也有明显减少甚至消失,细胞浆较为致密,细胞器也比较完整,核染色质浓缩,在细胞核膜内部界限分明,细胞整体体积有所降低。

2.2 细胞凋亡和增殖的情况

通过本研究显示,对照组凋亡率最高,随着马钱子剂量的提升,凋亡率显著降低。同时细胞增殖OD值也随着马钱子剂量提升而提升,差异均显著,如表1所示。

表1 不同剂量骨关节炎中软骨细胞凋亡与增殖的影响对比($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	凋亡率	细胞增殖OD值
对照组	20	38.52 ± 6.12	0.001 ± 0.000
低剂量组	20	27.52 ± 2.32^a	0.112 ± 0.001^a
中剂量组	20	22.15 ± 1.65^{ab}	0.198 ± 0.002^a
高剂量组	20	10.58 ± 0.14^{abc}	0.214 ± 0.015^{abc}

注:“a”表示和对照组差异显著,“b”表示和低剂量组差异显著,“c”表示和中剂量组差异显著。

3 讨论

当前在临床对关节炎患者实施临床治疗时,马钱子是非常常见的药物,并且也能够取得较好的治疗效果。马钱子为马钱的干燥种子,一般在冬季可采收其成熟果实,并且取出种子晒干入药^[4-5]。在临床治疗时,使用马钱子能够取得较好的临床疗效,并且在当前临床治疗时也开始得到了越来越广泛的使用。

马钱子中的有效成分为马钱子碱。马钱子碱能够起到通

(下转第175页)

虚癸水不足。一般来说,年龄在 48 岁以上者出现肾衰、天癸将竭及至绝经原本属正常的生理现象。然而如果此阶段天癸衰竭过快或紊乱太过者,必然导致肾阴虚不能濡养于心肝,特别是不能濡养心血心神。心肾水火失于交济,则心火偏于亢盛,会影响到心主血脉和心主神明的功能。则心主血脉和心主神明功能失常,而汗为心之液,调节体温,故此易出现烘热、汗出、面红、心悸、失眠、烦躁、抑郁等症状,而其中以烘热汗出表现最为突出。虽然烘热汗发生于午后或夜间可以用阴虚火旺来解释,但我们在临床观察中发现,这种烘热如潮水上涌,遂之汗出,精神紧张、情绪激动或注意力过分集中时容易发作,不分时间随时出现,故不能以阴虚火旺来解释此汗出。《丹溪心法》云:“心之所藏,在内者为血,发外者为汗,盖汗乃心之液”。心火动则汗液外泄,心气虚则汗液亦能外溢。汗出与心密切相关,其烘热也系之于心肝,故我们认为本病的根本虽在于肾,在于肾阴癸水的不足,但发病时主要在于心,在于心神心血的功能失常,在于心火的偏旺则烘热面红,心气心阴的不足症见心悸、心慌、心烦、失眠多梦、健忘等。

3.2 烘热汗出与营卫之间的关系

自汗盗汗均为营卫失和阴阳失调所致。因阳虚(卫阳不足)不能固密肌表,玄府不密,津液外泄,故自汗出。因阴虚化燥生热,入睡时卫阳入里,不能固密肌表,虚热蒸津外泄,故睡眠时汗出较多醒后卫气复出于表,肌表固密,故醒则汗止。卫气,是运行于脉外之卫阳。卫气的生理功能有三方面,是护卫肌表,防御外邪入侵。二是温养脏腑、肌肉、皮毛等,三是调节控制腠理的开合、汗液的排泄,以维持体温的相对恒定如《灵枢·本藏》说:“卫气者,所以温分肉,充皮肤,肥腠理,司开合者也”“卫气和,则分肉解利,皮肤润柔,腠理致密矣”。营气和卫气,都以水谷精气为其主要的生成来源,但是“营在脉中”“卫在脉外”(《灵枢·营卫生会》);营主内守而属于阴,卫主外卫而属于阳,二者之间的运行必须协调,不

失其常,才能维持正常的腠理开合、正常的体温、“昼精而夜寐”(《灵枢·营卫生会》),以奏正常的防御外邪的能力;反之,若营卫不和即可出现恶寒发热、无汗或汗多,“昼不精而夜不寐”,以及抗御外邪能力低下等。可见围绝经期综合征之烘热汗出源于肾,表现为营卫不和。

3.3 共识

郑永新等^[1]根据古籍记载,认为本病的汗出、失眠等症的出现与营卫不和有关系。桂枝汤为调营和卫的代表方,故选用桂枝汤治疗围绝经期综合征,根据临证的具体情况辨证加减药物,如出现乏力、气短少言等气血亏虚的征象加气血双补的八珍汤;若失眠较重,则加白术、党参、黄芪、当归等组成的归脾汤。按上述方法服药后患者失眠、汗出等症状好转。调和营卫气血,由表及里治疗围绝经期综合征营卫不和,心肾不交。也证实围绝经期综合征的发病因素包括营卫不和,在治疗上注重调和营卫,会使气血调和,表里通顺,从而诸证消减。吴红斌^[2]通过临床观察发现,桂枝加龙骨牡蛎汤能够滋阴敛阳,阴阳双补,能有效缓解绝经前后诸证,运用本方治疗围绝经期患者观察中总有效率达到 90.63%。证明调整阴阳调和营卫在治疗围绝经期综合征中的意义。曹玲仙^[3]参附二仙汤合柴胡桂枝龙牡汤,若惊悸肉动,或冲气上逆者,则以前方合柴胡桂枝龙牡汤加减,以和营卫,调调阴阳,镇逆敛汗治疗围绝经期综合征。

参考文献

- [1] 郑永新,陈绍宏.桂枝汤治疗围绝经期综合征 47 例[J].成都中医药大学学报,2014,37(4):69.
- [2] 吴红斌,赖春华.桂枝加龙骨牡蛎汤治疗围绝经期综合征 4 例[J].使用中药杂志,2013,29(12):1001-1002.
- [3] 曹玲仙.围绝经期综合征中医治疗[J].现代中医药:北京,2005,25(2):38-40.

(上接第 167 页)

络止痛以及消肿散结的效果,在实际的治疗中,能够通过马钱子碱的方式改善其疼痛症状,从而让患者能够较好地面对治疗以及之后的护理^[6-7]。

但需要注意的是,当前在临床上对于马钱子治疗骨关节炎的研究仍然比较少。虽然已经将马钱子中的有效成分马钱子碱进行提取,并且将其制作成为马钱子散和腰痛舒等药物治疗,但马钱子碱能够取得的具体效果并不明确,因此对马钱子的治疗效果进行分析非常重要。

本研究对马钱子对骨关节炎中软骨细胞凋亡与增殖的影响进行了分析。通过本研究表明,在对骨关节炎中软骨细胞凋亡模型进行马钱子碱的处理后,发现模型的凋亡率有明显降低,同时增殖 OD 值有显著提升,而这种趋势随着马钱子碱的计量提升而加剧,由此可见,使用大剂量的马钱子能够对骨关节炎起到较好保护效果。

综上所述,在对骨关节炎患者实施临床治疗时,使用马钱子进行治疗能够取得安全有效的治疗效果,可有效抑制细胞凋亡,并促进细胞增殖,有较高使用价值。

参考文献

- [1] 唐迎雪,梁晓东,李茜,等.马钱子配伍苏木对佐剂性关节炎大鼠炎症反应及血液流变学的影响[J].中华中医药学刊,2017,35(3):522-525.
- [2] 梁晓东,陈涛,曹永仓,等.马钱子配伍白术前后对大鼠佐剂关节炎的影响[J].中华中医药杂志,2016,31(1):235-238.
- [3] 张董喆,孙曙光,李伟,等.制马钱子对佐剂性关节炎大鼠抗炎作用的实验研究[J].中医学报,2015,30(4):539-541.
- [4] 孙响波,于妮娜,杨子东,等.马钱子配伍苏木对佐剂关节炎模型大鼠滑膜组织 Cor、CIC 的影响[J].山东中医药大学学报,2013,37(5):428-430.
- [5] 宋晓亮,刘强,李晓东,等.马钱子碱对体外培养的人软骨细胞增殖的影响[J].中国医药指南,2013,11(19):10-11.
- [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] 方芳,陈海波,马凤森,等.马钱子生物碱组分对类风湿性关节炎滑膜细胞增殖作用的比较研究[J].浙江中医药大学学报,2013,37(1):1-4.