

Effect of aescin sodium combined with dot-type straight polarized light on microcirculation in a model of rat hind limb joint injury

Zhiwei Liu Minghua Yu Bo Gao

Guangdong University of Technology Hospital, Guangzhou, Guangdong, 511436, China

Abstract

Objective: To study the effect of sodium on the microcirculation of joint injury. **Methods:** 24 healthy SD rats were selected to develop rat joint injury model by Hulth model method, which were randomly divided into control group, model group, aescin sodium group and combined group, 6 in each group. After molding, aescin sodium group was coated with aescin sodium gel. The combination group was exposed on the arthritis limb arthritis of the arthritis one once per day for 2 weeks. The arthritis indices were calculated on days 7 and 28 in each group. To observe the microcirculation changes in the rat hindlimb joints, ANGII expression was determined by immunoradiography and TGF- β 1 expression was detected by immunohistochemistry. **Results:** On days 7 and 28 after mold creation, the AI score increase in the model group compared with the control group and compared with the model group was statistically significant ($P < 0.05$). Compared with the control group, the morphology, loop flow state, loop status and the total integral content of the microcirculation were significantly higher in the model group, and the difference were statistically significant ($P < 0.05$). TGF- β 1 and ANGII were significantly increased compared with control rats, and TGF- β 1 and ANGII were significantly decreased in aescin and combined rats, being statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion:** The combination of sodium with linear polarized light can significantly improve the microcirculation disturbance, reduce arthritis symptoms and effectively suppress the expression of inflammatory factors TGF- β 1 and ANGII.

Keywords

aescin sodium; point type linear polarized light; rat; hind limb joint injury; microcirculation

七叶皂苷钠联合点式直线偏振光对大鼠后肢关节损伤模型微循环的影响

刘志伟 余名华 高波

广东工业大学医院, 中国·广东广州 511436

摘要

目的: 研究七叶皂苷钠联合点式直线偏振光对大鼠后肢关节损伤模型微循环的影响。**方法:** 选取24只健康SD大鼠, 通过Hulth造模法建立大鼠动物关节损伤模型, 随机分为对照组、模型组、七叶皂苷钠组和联合组, 每组各6只。造模后, 七叶皂苷钠组外涂七叶皂苷钠凝胶。联合组在给予七叶皂苷钠治疗的同时, 使用点式直线偏振光照射大鼠后肢关节炎部位, 1次/天, 连续治疗2周。计算各组大鼠第7、28天的关节炎指数。观察大鼠后肢关节的微循环变化, 采用免疫放射法测定ANGII的表达, 用免疫组化法检测TGF- β 1的表达变化。**结果:** 在造模后第7、28天, 与对照组相比, 模型组大鼠AI积分显著升高; 与模型组相比, 七叶皂苷钠组和联合组大鼠AI积分均显著降低, 四组比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。与对照组相比, 模型组大鼠微循环中管袢形态、管袢流态、袢周状态及总积分含量均显著升高; 与模型组相比, 七叶皂苷钠组和联合组微循环各含量均显著降低, 四组比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。与对照组相比, 模型组大鼠TGF- β 1和ANGII蛋白表达量均显著升高; 与模型组相比, 七叶皂苷钠组和联合组大鼠TGF- β 1和ANGII蛋白表达量均显著降低, 各组比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论:** 七叶皂苷钠联合点式直线偏振光能够显著改善大鼠后肢关节损伤模型的微循环障碍, 降低关节炎症状, 并有效抑制炎症因子TGF- β 1和ANGII的表达。

关键词

七叶皂苷钠; 点式直线偏振光; 大鼠; 后肢关节损伤; 微循环

【课题项目】七叶皂苷钠及橙皮甙联合点式直线偏振光治

疗改善大鼠关节软组织微循环的疗效分析(项目编号:

202204211849154050)。

【作者简介】刘志伟(1987-), 男, 中国广东龙川人, 本科, 主治医师, 从事外科学研究。

1 引言

近年来兴起全民健身热潮, 但不科学健身或过度运动反而会有损健康。调查研究^[1-2], 大学生运动性损伤发病率高达40.58%, 因膝关节构造复杂, 运动频繁, 易于损伤; 患者滑膜受损, 血管扩张并发长期炎症, 引发肿胀、疼痛乃

至关节功能丧失,严重降低生活质量。目前该病仍以非甾体抗炎药治疗为主,但疗效欠佳,不良反应较大,易复发^[9]。因此,寻求更加安全有效的联合治疗方案,对于优化运动性关节损伤的治疗预后至关重要。七叶皂苷钠是一种从天然植物药中提取的活性成分,集抗炎、抗渗出、增强静脉张力及血液循环改善等药效于一身。它在多种炎症与创伤后肿胀治疗中表现优异,且副作用轻微,为关节损伤治疗开辟了新径。点式直线偏振光作为非侵入性物理疗法,利用其独特光学属性深入组织,增强局部血液循环,加速炎症消解,有效缓解RA等症状。基于此,研究旨在将两者联合应用于大鼠后肢关节炎模型,探讨其对模型动物微循环的影响。

2 资料与方法

2.1 实验动物

SD大鼠24只(雌雄各半),体质量170~200g,由湖南斯莱克景达试验动物有限公司提供,许可证号:SYXK(粤)2022-0178。所有大鼠饲养于SPF级动物房:温度21~24℃、湿度55~60%,每天光照6h,自由饮水进食,适应性饲养3周后进行实验。

2.2 实验仪器及试剂

七叶皂苷钠凝胶(国药准字:H20020168)、0.9%生理盐水、弗氏完全佐剂、VEGFELISA试剂盒、普利生血流变仪(型号LBYN6A),微循环检测仪(型号ZL102)。

2.3 分组及造模方法

2.3.1 分组

将24只大鼠按照随机数字表法分为对照组、模型组、七叶皂苷钠组和联合组,每组各6只。除对照组外,其余组进行造模。七叶皂苷钠组给予七叶皂苷钠类凝胶外涂于手术关节周围皮肤,联合组在给予七叶皂苷钠治疗的同时,使用点式直线偏振光照射大鼠后肢关节损伤部位,1次/天,连续治疗2周。

2.3.2 造模方法

采用Hulth造模方法:以动物呼吸机对大鼠气体麻醉后,右后肢脱毛、消毒、铺单。在膝关节内侧切开皮肤,暴露关节囊,沿髌骨内侧缘切开关节囊,并从股四头肌内侧头和长头间隙钝性分离,然后切断前后交叉韧带及内侧副韧带,并完整切除内侧半月板,保留关节软骨面不受损伤,之后彻底止血,冲洗关节腔,逐层缝合,术后不固定术肢,让其自由活动。

2.4 各组大鼠关节炎程度评价

利用关节炎指数(AI)评分系统来量化评估实验大鼠的关节炎严重程度。研究过程中,于治疗前(第7d)与实验终点(第28d)两个时间节点,细致观察并记录大鼠的关节炎状况,并据此计算其AI评分。大鼠每只爪子的炎症程度被划分为五个等级,评分规则细化如下:0级,爪子无异常;1级,单个或多个趾关节出现红肿;2级,整个爪子区域红肿;3级,红肿扩展至踝关节以下;4级,包括踝

关节在内的整个爪子全面红肿。通过对每只大鼠四只爪子的评分进行累加,得到该大鼠的总AI评分,该评分的上限为16分。

2.5 微循环指标检测

在检测前,将大鼠置于温暖、安静的环境中,使用微循环观察仪对大鼠后肢关节炎模型部位的皮肤或黏膜进行观测,通常选择关节附近的微血管网区域。管祥形态:在显微镜视野下,对微血管区域进行观测。记录管祥的直径、长度、形状以及分支情况。管祥流态:观察并记录微血管内血流的速度和类型。血流速度可以通过观察红细胞在血管内的移动速度来估计。血流类型则根据血流的连续性和红细胞分布情况进行分类,如线流、粒流、停滞等。祥周状态:仔细观察微血管周围的组织状态。可以通过图像采集系统保存典型的观测结果。

2.6 TGF-β1 和 ANGII 蛋白表达的检测

采用免疫组化SP法结合DAB显色技术,操作步骤如下:石蜡切片经二甲苯脱蜡、梯度乙醇复水后,用0.01M PBS洗涤三次(每次3min)。以新鲜3% H₂O₂室温孵育10min阻断内源性酶,再次PBS洗涤。抗原修复采用枸橼酸盐微波法(循环3次,每次8min,期间补充枸橼酸防脱片),之后PBS冲洗。室温下山羊血清封闭30min,滴加TGF-β1和ANGII抗体4℃过夜孵育,PBS洗涤后,加通用二抗37℃孵育45-60min,再次PBS洗涤。DAB显色时,将1滴试剂溶于1ml蒸馏水,滴加至切片,控制显色时间至满意后蒸馏水终止。随后苏木素复染、盐酸乙醇分化、PBS返蓝。经乙醇脱水、二甲苯透明后,中性树脂封片。半定量分析依据棕黄色核染色为阳性标准,计算各切片平均光密度值,TGF-β1和ANGII蛋白表达量以阳性积分光密度除以心脏横切面面积表示。

2.7 统计学处理

所有数据均采用SPASS 27.0统计学软件进行分析,所有数据均用($\bar{x} \pm s$)表示,多组均数比较采用单因素方差分析,两两比较用LSD法,若方差不齐用Tamhane法。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠关节炎指数比较

在造模后第7、28天,与对照组相比,模型组大鼠AI积分显著升高;与模型组相比,七叶皂苷钠组和联合组大鼠AI积分均显著降低,四组比较差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表1。

3.2 各组大鼠微循环指标的比较

与对照组相比,模型组大鼠微循环中管祥形态、管祥流态、祥周状态及总积分含量均显著升高;与模型组相比,七叶皂苷钠组和联合组微循环各含量均显著降低,四组比较差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表2。

表 1 各组大鼠不同时间 AI 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	第 7 天	第 28 天
对照组	6	0.07 ± 0.04	0.09 ± 0.05
模型组	6	2.05 ± 1.29 ^a	11.58 ± 0.98 ^a
七叶皂苷钠组	6	1.97 ± 0.74 ^{ab}	8.34 ± 0.32 ^{ab}
联合组	6	1.05 ± 0.07 ^{abc}	3.67 ± 0.11 ^{abc}
<i>F</i>		18.65	1142.65
<i>P</i>		< 0.001	< 0.001

注：与对照组相比，^a*P* < 0.05；与模型组相比，^a*P* < 0.05；与七叶皂苷钠组相比，^a*P* < 0.05。

表 2 各组大鼠微循环指标的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	管袢形态	管袢流态	袢周状态	总积分
对照组	6	0.05 ± 0.02	0.07 ± 0.03	0.06 ± 0.01	0.75 ± 0.06
模型组	6	3.75 ± 0.16 ^a	2.54 ± 0.16 ^a	2.35 ± 0.67 ^a	4.31 ± 1.13 ^a
七叶皂苷钠组	6	1.01 ± 0.02 ^{ab}	0.95 ± 1.32 ^{ab}	0.46 ± 0.99 ^{ab}	2.58 ± 0.97 ^{ab}
联合组	6	0.72 ± 0.04 ^{abc}	0.20 ± 0.54 ^{abc}	0.6 ± 0.30 ^{abc}	1.03 ± 0.03 ^{abc}
<i>F</i>		4547.59	30.01	37.04	58.06
<i>P</i>		< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

注：与对照组相比，^a*P* < 0.05；与模型组相比，^a*P* < 0.05；与七叶皂苷钠组相比，^a*P* < 0.05。

3.3 各组大鼠 TGF-β1 和 ANGII 蛋白表达量比较

与对照组相比，模型组大鼠 TGF-β1 和 ANGII 蛋白表达量均显著升高；与模型组相比，七叶皂苷钠组和联合组大鼠 TGF-β1 和 ANGII 蛋白表达量均显著降低，各组比较差异具有统计学意义 (*P* < 0.05)，见表 4。

表 4 各组大鼠 TGF-β1 和 ANGII 蛋白表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	ANGII 蛋白表达	TGF-β1 蛋白表达
对照组	6	32.22 ± 1.63	0.42 ± 0.06
模型组	6	53.04 ± 1.98 ^a	0.76 ± 0.04 ^a
七叶皂苷钠组	6	43.76 ± 1.61 ^{ab}	0.60 ± 0.06 ^{ab}
联合组	6	36.77 ± 1.36 ^{abc}	0.53 ± 0.04 ^{abc}
<i>F</i>		358.30	93.65
<i>P</i>		< 0.001	< 0.001

注：与对照组相比，^a*P* < 0.05；与模型组相比，^a*P* < 0.05；与七叶皂苷钠组相比，^a*P* < 0.05。

4 讨论

运动性关节损伤患者滑膜受损，血管扩张，关节液内会渗入大量红细胞、白细胞和血浆，产生大量滑液及炎症因子，进而引起关节肿胀、疼痛和活动受限，严重影响患者生活质量及运动能力。焦点逐渐转向了滑膜组织的异常变化，特别是滑膜内血管新生的关键作用^[4]。这一过程表现为微血管数量与密度的显著提升，不仅加速了炎症细胞及关键细胞因子的渗透与聚集，还逐步加剧了关节软骨及其下方骨质的覆盖与侵蚀效应，最终促成了典型的关节结构损伤与功能畸形^[5]。微循环作为维持机体组织和器官正常生理功能的关键环节，其重要性不言而喻。有研究表明，关节炎的发生与发展与微循环障碍存在密切联系，而血流灌注量的变化往往能够直观反映微循环的状态。七叶皂苷钠作为一种天然药物成分，广泛用于治疗循环障碍性疾病。点式直线偏振光作为一种物理治疗方法，近年来在疼痛管理和组织修复领域展现出

良好的应用前景。因此，本研究旨在研究七叶皂苷钠联合点式直线偏振光对大鼠后肢关节炎模型微循环的影响。

七叶皂苷钠改善微循环的效果在本研究中得到了充分验证。有研究表明，七叶皂苷钠具有抗炎、抗渗出、抗肿胀等药理作用。点式直线偏振光还可能直接作用于病变部位的神经末梢，减轻疼痛感受，从而改善患者的整体生活质量。本研究表明，与对照组相比，模型组大鼠微循环中管袢形态、管袢流态、袢周状态及总积分含量均显著升高；与模型组相比，七叶皂苷钠组和联合组微循环各含量均显著降低，四组比较差异具有统计学意义 (*P* < 0.05)。与对照组相比，模型组大鼠 TGF-β1 和 ANGII 蛋白表达量均显著升高；与模型组相比，七叶皂苷钠组和联合组大鼠 TGF-β1 和 ANGII 蛋白表达量均显著降低，各组比较差异具有统计学意义 (*P* < 0.05)，提示，七叶皂苷钠联合点式直线偏振光不仅具有促进局部血液循环的作用，还能有效抑制炎症反应，从而缓解关节炎症状。

综上所述，本研究表明七叶皂苷钠联合点式直线偏振光能够显著改善大鼠后肢关节损伤模型的微循环障碍，降低关节炎症状，并有效抑制炎症因子 TGF-β1 和 ANGII 的表达。

参考文献

- [1] 陈威,陈庚.大学生运动损伤现状及健康教育干预效果研究[J].基层医学论坛,2019,23(19):2671-2675.
- [2] 邓黎华.高校运动会常见运动损伤的现场护理体会[J].基层医学论坛,2019,23(24):3534-3536.
- [3] 赖新鑫,赵新永,张启.常见急性运动性损伤药物治疗研究[J].河南教育学院学报(自然科学版),2021,30(1):91-94.
- [4] 黎祥涛,苏天,温鹏,等.Toll样受体在骨退行性疾病发生发展中作用机制的研究进展[J].山东医药,2023,63(2):100-103.
- [5] 隋航烁,符皓,韩雪,等.早期肠内营养与低分子量肝素联合治疗重症急性胰腺炎对病情控制,微循环障碍及并发症的影响[J].中国临床药理学杂志,2023,32(3):190-195.