

不同剂量金雀异黄酮对骨关节炎模型大鼠关节疼痛、炎症的抑制作用

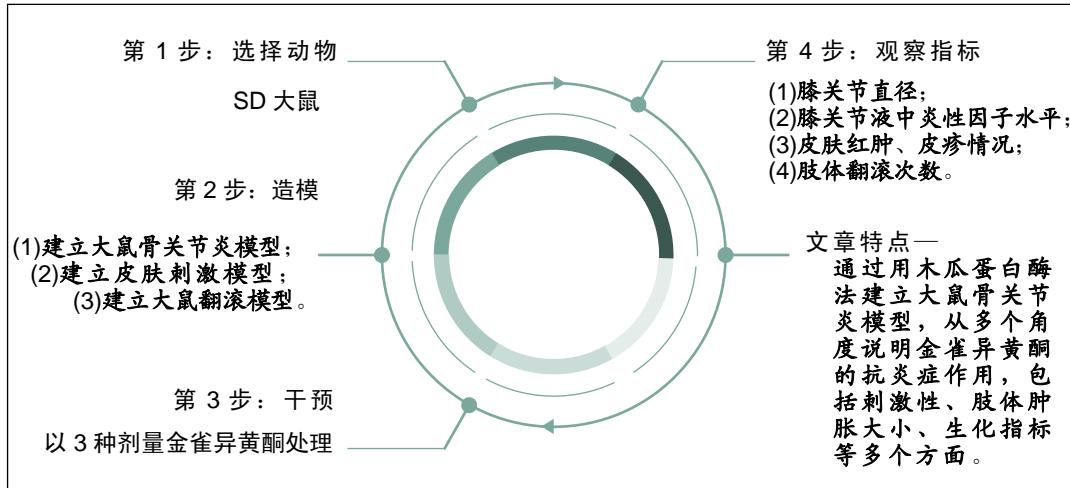
· 研究原著 ·

曾小云, 张丽容(深圳市龙华区人民医院全科, 广东省深圳市 518109)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.2920

ORCID: 0000-0002-8891-7977(曾小云)

文章快速阅读:



曾小云, 女, 1991 年生, 广东省梅州市人, 汉族, 主要从事临床医学、全科医学研究。

文献标识码:A

投稿日期: 2018-12-12

送审日期: 2018-12-12

采用日期: 2020-01-03

在线日期: 2020-06-20



文题释义:

金雀异黄酮: 又称染料木素, 是一种多酚类化合物, 来源于大豆和红三叶草等植物, 分子结构与 17 β -雌二醇类似, 因其对雌激素受体有高度亲和力而被认为是植物雌激素, 具有抗氧化能力, 可抑制酪氨酸蛋白酶活性, 具有诱发细胞凋亡、增加抗癌效果、抑制血管生成等作用。同时它也是类黄酮中的一种, 因此常被称为大豆异黄酮, 目前被认为是一种有潜力的癌症预防化合物, 在预防癌症方面有显著作用。

Wistar 大鼠: 是大鼠中的一种, 1907 年由美国维斯塔尔(Wistar)研究所养育成, 现已是世界各国实验室中常见的大鼠, 也是中国使用最广泛、用量最大的一种大鼠, 其主要的特点是: 头宽耳长, 尾长度小于身长; 繁殖力强, 产仔多, 生长发育快; 性情温顺; 抗传染病能力强; 自发性肿瘤发生率低。

摘要

背景: 金雀异黄酮是一种大豆制品衍生物, 具有预防骨质疏松和抑制癌症的作用, 其对骨关节炎的作用目前尚无相关报道。

目的: 分析不同剂量金雀异黄酮对骨关节炎的效果并探讨其机制。

方法: 采用木瓜蛋白酶法建立雄性 Wistar 大鼠右膝关节关节炎模型, 分 5 组干预: 低、中、高剂量组分别灌胃给予 4.5, 9, 18 mg/(kg·d) 的金雀异黄酮, 阳性对照组灌胃给予 15 mg/(kg·d) 的双氯芬酸钠, 对照组灌胃给予纯净水, 连续给药 35 d。给药后第 7, 14, 21 天检测右膝关节直径; 给药后第 1, 3, 5 周检测右膝关节液中炎症因子水平。分别于雄性 Wistar 大鼠皮肤表面涂纯净水、金雀异黄酮胶体和 0.8% 甲醛, 建立皮肤刺激模型, 观察皮肤出现红肿及皮疹情况。采用醋酸法建立雄性 Wistar 大鼠疼痛翻滚模型, 醋酸注射 3 min 后分组干预, 干预方式同骨关节炎模型, 记录前 20 min 与后 20 min 大鼠肢体翻滚次数, 判断止痛效果。实验方案经南方医科大学动物实验伦理委员会批准。

结果与结论: ①相同时间点内, 中、高剂量组与阳性对照组膝关节直径小于对照组($P < 0.05$), 前 3 组间比较差异无显著性意义($P > 0.05$); ②相同时间点内, 中、高剂量组与阳性对照组基质金属蛋白酶 3、白细胞介素 6、白细胞介素 1 β 水平均低于对照组($P < 0.05$), 前 3 组间比较差异无显著性意义($P > 0.05$); ③金雀异黄酮凝胶涂于大鼠皮肤表面后皮肤无皮疹及红肿; ④前 20 min 与后 20 min 内, 9, 18 mg/kg 的金雀异黄酮可缓解大鼠疼痛, 其止痛效果和双氯芬酸钠无明显差别; ⑤结果表明, 金雀异黄酮对皮肤无刺激性, 在一定剂量范围内具有止痛、抗炎、消肿和抗骨关节炎的功效。

关键词:

骨; 软骨; 鼠; 骨关节炎; 因子; 实验; 动物

中图分类号: R452; R313; R589.6

Inhibitory effects of different doses of genistein on joint pain and inflammation in osteoarthritis model rats

Zeng Xiaoyun, Zhang Lirong (General Department of People's Hospital of Longhua District, Shenzhen 518109, Guangdong Province, China)

Zeng Xiaoyun, General Department of People's Hospital of Longhua District, Shenzhen 518109, Guangdong Province, China

Abstract

BACKGROUND: Genistein is a soy product derivative that can prevent osteoporosis and inhibit cancer. There is no relevant report on its role in osteoarthritis.

OBJECTIVE: To study the effects of different doses of genistein on osteoarthritis and to explore its mechanism.

METHODS: A model of right knee osteoarthritis was established in male Wistar rats by using papain method. The experiment was divided into five groups: low, medium and high dose groups were administered with 4.5, 9, and 18 mg/(kg·d) genistein, respectively; a positive control group was given 15 mg/(kg·d) diclofenac sodium by gavage; and a control group was given pure water. Administration in each group was kept for 35 continuous days. The knee joint diameter of the right knee was measured on the 7th, 14th, and 21st day after administration. At the 1st, 3rd, and 5th week after administration, the levels of inflammatory factors in the right knee joint fluid were measured. Pure water, genistein colloid and 0.8% formaldehyde were separately applied to the skin surface of male Wistar rats to establish a skin irritation model. Redness and rash on the skin were then observed. The painful tumbling model of male Wistar rats was established by acetic acid method. The intervention method was the same as the knee osteoarthritis model. The number of limb tumbling in the rats within the first and the last 20 minutes was recorded to assess the analgesic effect. Ethic approval was obtained from the Animal Experiment Ethics Committee of Southern Medical University.

RESULTS AND CONCLUSION: At the same time point, the knee joint diameter of the middle and high dose groups and the positive control group was smaller than that of the control group ($P < 0.05$), and there was no significant difference between the first three groups ($P > 0.05$). At the same time point, the levels of matrix metalloproteinase-3, interleukin-6 and interleukin-1 β were lower in the middle and high dose groups and the positive control group than in the control group ($P < 0.05$), and there was no significant difference between the first three groups ($P > 0.05$). Genistein gel did not result in induce rash and redness on the surface of the rat skin. In the first and the last 20 minutes, 9 and 18 mg/kg genistein could alleviate pain in rats, and its analgesic effect was similar to that of diclofenac sodium. All these findings indicate that genistein is not irritating to the skin and within a certain dose range, genistein can relieve pain and have anti-inflammatory, anti-swelling and anti-osteoarthritis effects.

Key words: bone; cartilage; rat; osteoarthritis; factor; experiment; animal

0 引言 Introduction

骨关节炎是老年病中的常见病,中国高龄老年人骨关节炎的患病率高达80%^[1],其发病机制尚未被完全研究透彻,随着研究的深入,目前大部分学者认为骨关节炎是力学、物理和免疫等多种复合因素造成的,其中关节面软骨和关节面深部基质的损耗和合成平衡被打破是其发病的核心。多种因素会造成关节面软骨胶原的降解,如外伤、老年、负重、肥胖等,当合成速度跟不上降解速度时较易发生骨关节炎。研究表明白细胞介素1、白细胞介素6在骨关节炎中表达量明显增高,与骨关节炎的炎症程度呈正相关^[2-5]。

骨关节炎目前尚无确切有效的治疗方法,大多数研究认为部分传统中草药对骨关节炎有较好的治疗功效。有学者建立兔骨质疏松合并骨关节炎模型,用补肾活血汤干预并观察软骨细胞因子白细胞介素1、转化生长因子 β 、胰岛素样生长因子1等炎症因子的mRNA表达,发现补肾活血汤具有减轻膝关节炎、促进软骨细胞增殖的作用^[6]。有学者将艾灸作用于兔膝关节,发现其可减少关节炎、促进软骨细胞增殖,起到缓解病情的作用^[7]。有研究指出,杜灵注射液能通过减轻关节液中炎症因子的水平减轻关节滑膜炎和退变^[8]。

金雀异黄酮是一种多酚类化合物,来源于红三叶草等植物,具有抗癌、抑制血管生成等作用^[9-11]。有学者建立切除卵巢大鼠模型,通过骨密度、骨生物力学等证实金雀异黄酮有骨保护作用^[12]。李浩等^[13]通过体外细胞培养实验证实,不同浓度的金雀异黄酮可促进成骨细胞的增殖,抑制破骨细胞形成。研究已证实金雀异黄酮有抑制炎症的作用,李文学等^[14]通过内皮细胞炎症模型证实金雀异黄酮可明显抑制白细胞介素6等炎症因子的生成,而白细胞介素6和骨关节炎密切相关。金雀异黄酮是否有抑制关节炎的作用需

要进一步研究。实验观察金雀异黄酮对大鼠骨关节炎的作用,为金雀异黄酮临床应用于抗骨关节炎打下基础。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机分组对照动物实验。

1.2 时间及地点 实验于2018年6至10月在南方医科大学动物实验中心完成。

1.3 材料 金雀异黄酮(上海迈瑞尔化学技术有限公司,编号:G0272);双氯芬酸钠片(深圳致君制药有限公司);pH试纸、L-半胱氨酸、木瓜蛋白酶(上海妍琦生物科技有限公司);大鼠白细胞介素1 β 、白细胞介素6和基质金属蛋白酶3的Elisa试剂盒(上海通蔚实业有限公司)。

实验动物:成年雄性Wistar大鼠65只,体质量250-300 g,由南方医科大学实验动物中心提供。在18-26℃、统一的光线和湿度环境下饲养大鼠,统一饮水及饮食量,标准化4 d后用于各项实验。

1.4 实验方法

1.4.1 建立骨关节炎模型 取25只大鼠,采用木瓜蛋白酶法建立骨关节炎模型^[15-17]。先用1%戊巴比妥钠麻醉大鼠,观察大鼠不挣扎后剃除右侧关节表面毛,第1, 4, 7天在关节腔注入0.5 mL生理盐水及4%木瓜蛋白酶混合液,第10天后取1只大鼠解剖,发现关节软骨及滑膜呈骨关节炎的表现,Makin's评分为8分,表明建模成功并开始实验。分5组干预:低、中、高剂量组分别灌胃给予4.5, 9, 18 mg/(kg·d)的金雀异黄酮,阳性对照组灌胃给予15 mg/(kg·d)的双氯芬酸钠,对照组灌胃给予2.5 mL纯净水,每组5只,连续给药35 d。

检测指标:给药后第7, 14, 21天测量大鼠右膝关节直径,判断大鼠关节肿胀情况。

炎症因子检测:喂药后第1, 3, 5周分别用Elisa试剂

组织工程实验动物造模过程的相关问题

造模目的:	分析金雀异黄酮的抗骨关节炎作用
选择动物的条件:	成年, 雄性大鼠
模型与所研究疾病的关系:	能够较好地模拟骨关节炎损伤
动物来源及品系:	Wistar 大鼠, 由南方医科大学实验动物中心提供
造模技术描述:	木瓜蛋白酶法建立骨关节炎模型
造模主要诱导用药:	0.5 mL 的生理盐水及 4% 的木瓜蛋白酶混合液
动物数量及分组方法:	分 5 组干预: 低、中、高剂量组分别灌胃给予 4.5, 9, 18 mg/(kg·d) 的金雀异黄酮, 阳性对照组灌胃给予 15 mg/(kg·d) 的双氯芬酸钠, 对照组灌胃给予纯净水, 每组 5 只
造模成功评价指标:	解剖后看关节软骨和滑膜的情况, Makin's 评分为 8 分, 表明造模成功
造模后实验观察指标:	炎症因子, 右膝直径
如何补充造模过程中缺失的动物:	无动物死亡, 无缺失
造模后动物处理:	造模后继续饲养, 直至实验结束
伦理委员会批准:	实验方案经南方医科大学动物实验伦理委员会批准

盒检测关节液中白细胞介素1β、白细胞介素6和基质金属蛋白酶3水平。

1.4.2 建立大鼠皮肤刺激模型 取15只大鼠, 消毒后剪除大鼠背部毛, 除毛6 h后, 随机分为3组, 每组5只, 分别在不同组大鼠背部涂上纯净水(对照组)、金雀异黄酮胶体及 0.8% 的甲醛溶液, 2 d后观察皮肤表面颜色、皮疹和肿胀程度, 判断金雀异黄酮的刺激性。

1.4.3 建立大鼠疼痛刺激模型 取25只大鼠, 腹腔注射入 0.8% 醋酸(10 mL/kg)建立急性疼痛模型(总共40 min)^[18], 醋酸注射3 min后分5组干预, 低、中、高剂量组分别灌胃给予 4.5, 9, 18 mg/(kg·d) 的金雀异黄酮, 阳性对照组灌胃给予 15 mg/(kg·d) 的双氯芬酸钠, 对照组灌胃给予 2.5 mL 纯净水, 每组5只。记录前20 min和后20 min内大鼠肢体扭转和翻滚次数, 通过大鼠肢体动作判断是否有疼痛存在。

1.5 主要观察指标 金雀异黄酮的对骨关节炎大鼠膝关节直径与关节内炎症因子的影响, 以及其皮肤刺激性与镇痛作用。

1.6 统计学分析 使用SPSS 17.0统计学软件分析各项实验数据, 组间均数比较用方差分析, 方差分析前先检测方差齐性, 不同组间比较采用LSD法。数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示。取 $P < 0.05$ 认为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 造模大鼠一般情况 造模过程中, 无动物死亡, 其中有2只大鼠出现少量皮肤红疹, 2 d后自行消散, 造模后继续饲养, 直至实验结束。

2.2 金雀异黄酮抑制骨关节炎大鼠关节肿胀 各组大鼠右膝关节直径见表1, 图1。中、高剂量组与阳性对照组膝

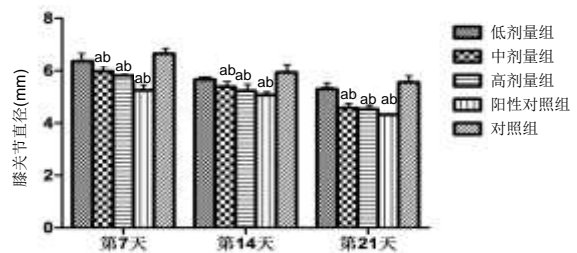
关节直径小于对照组($P < 0.05$), 小剂量组与对照组比较差异无显著性意义($P > 0.05$), 中、高剂量组、阳性对照组3组间比较差异无显著性意义($P > 0.05$)。

表 1 金雀异黄酮对骨关节炎大鼠右膝关节直径的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$, mm)

Table 1 Effect of genistein on the diameter of right knee joint in rats with osteoarthritis

时间	低剂量组	中剂量组	高剂量组	阳性对照组	对照组
给药第 7 天	6.37±0.24	5.98±0.12 ^{ab}	5.81±0.39 ^{ab}	5.26±0.19 ^{ab}	6.65±0.13
给药第 14 天	5.75±0.21	5.38±0.18 ^{ab}	5.23±0.17 ^{ab}	5.07±0.18 ^{ab}	5.94±0.09
给药第 21 天	5.33±0.23	4.57±0.22 ^{ab}	4.52±0.23 ^{ab}	4.33±0.19 ^{ab}	5.55±0.09

表注: 与对照组相比, ^a $P < 0.05$; 与低剂量组相比, ^b $P < 0.05$



图注: 与对照组相比, ^a $P < 0.05$; 与低剂量组相比, ^b $P < 0.05$

图 1 各组大鼠右膝关节直径的对比

Figure 1 Diameter of the right knee joint of rats in each group

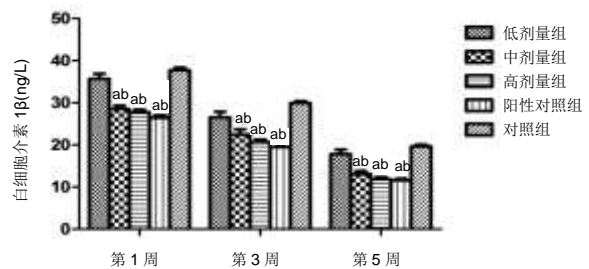
2.3 金雀异黄酮抑制骨关节炎白细胞介素1β水平 各组大鼠右膝关节液白细胞介素1β水平测定结果见表2, 图2。中、高剂量组与阳性对照组白细胞介素1β水平低于对照组($P < 0.05$), 小剂量组与对照组比较差异无显著性意义($P > 0.05$), 中、高剂量组、阳性对照组3组间比较差异无显著性意义($P > 0.05$)。

表 2 金雀异黄酮对骨关节炎大鼠关节液中白细胞介素 1β 水平的影 响 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$, ng/L)

Table 2 Effect of genistein on the level of interleukin-1β in the joint fluid of osteoarthritis rats

时间	低剂量组	中剂量组	高剂量组	阳性对照组	对照组
给药第 1 周	36.83±2.31	24.17±2.31 ^{ab}	27.50±1.87 ^{ab}	25.50±1.87 ^{ab}	37.33±1.63
给药第 3 周	27.67±2.16	21.67±2.16 ^{ab}	21.50±2.42 ^{ab}	19.33±2.16 ^{ab}	29.33±2.16
给药第 5 周	18.50±2.42	13.00±2.09 ^{ab}	11.33±1.75 ^{ab}	11.67±2.16 ^{ab}	20.33±1.63

表注: 与对照组相比, ^a $P < 0.05$; 与低剂量组相比, ^b $P < 0.05$



图注: 与对照组相比, ^a $P < 0.05$; 与低剂量组相比, ^b $P < 0.05$

图 2 各组大鼠关节液内白细胞介素 1β 水平的对比

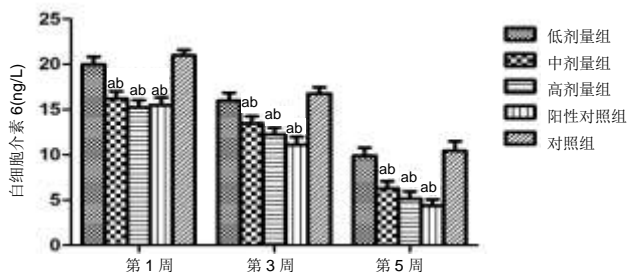
Figure 2 Interleukin-1β level in the joint fluid of rats in each group

2.4 金雀异黄酮抑制骨关节炎白细胞介素6水平 各组大鼠右膝关节液白细胞介素6水平测定结果见表3, 图3。中、高剂量组与阳性对照组白细胞介素6水平低于对照组($P < 0.05$), 小剂量组与对照组比较差异无显著性意义($P > 0.05$), 中、高剂量组、阳性对照组3组间比较差异无显著性意义($P > 0.05$)。

表3 金雀异黄酮对骨关节炎大鼠关节液中白细胞介素6水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=5, \text{ng/L}$)

时间	低剂量组	中剂量组	高剂量组	阳性对照组	对照组
给药第1周	20.35±1.94	16.15±1.88 ^{ab}	15.15±1.94 ^{ab}	15.65±1.85 ^{ab}	21.15±1.08
给药第3周	16.25±1.84	13.69±1.56 ^{ab}	12.31±2.41 ^{ab}	11.93±3.60 ^{ab}	16.85±1.42
给药第5周	10.14±1.42	6.57±2.01 ^{ab}	5.11±1.76 ^{ab}	4.85±2.01 ^{ab}	10.25±1.64

表注: 与对照组相比, ^a $P < 0.05$; 与低剂量组相比, ^b $P < 0.05$



图注: 与对照组相比, ^a $P < 0.05$; 与低剂量组相比, ^b $P < 0.05$

图3 各组大鼠关节液内白细胞介素6水平的对比

Figure 3 Interleukin-6 level in the joint fluid of rats in each group

2.5 金雀异黄酮抑制骨关节炎基质金属蛋白酶3水平 各组大鼠右膝关节液基质金属蛋白酶3水平检测结果见表4, 图4。中、高剂量组与阳性对照组基质金属蛋白酶3水平低于对照组($P < 0.05$), 小剂量组与对照组比较差异无显著性意义($P > 0.05$), 中、高剂量组、阳性对照组3组间比较差异无显著性意义($P > 0.05$)。

表4 金雀异黄酮对骨关节炎大鼠关节液中基质金属蛋白酶3水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=5, \text{ng/L}$)

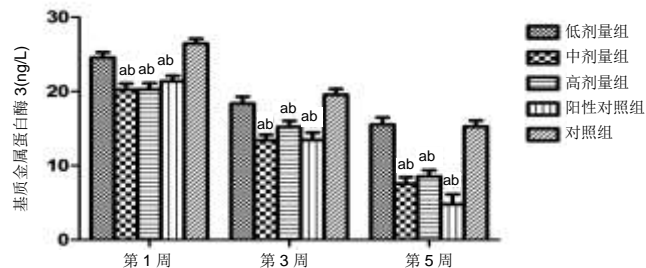
时间	低剂量组	中剂量组	高剂量组	阳性对照组	对照组
给药第1周	24.40±2.16	20.33±3.20 ^{ab}	20.65±2.25 ^{ab}	21.41±1.87 ^{ab}	26.51±1.67
给药第3周	18.57±2.16	13.50±2.16 ^{ab}	15.43±0.91 ^{ab}	13.91±1.87 ^{ab}	19.81±2.04
给药第5周	15.56±2.42	7.73±2.04 ^{ab}	8.89±1.83 ^{ab}	5.72±1.88 ^{ab}	15.48±1.95

表注: 与对照组相比, ^a $P < 0.05$; 与低剂量组相比, ^b $P < 0.05$

2.6 金雀异黄酮对大鼠皮肤的刺激性 对照组所有大鼠均未见皮疹和红肿; 金雀异黄酮组大鼠皮肤表面未见水肿及皮疹; 甲醛组5只大鼠皮肤见散在多个红疹, 皮肤颜色红, 局部部分皮肤肿胀。以上结果表明金雀异黄酮理化性质温和且无明显皮肤刺激性, 可用于研制外用药物。

2.7 金雀异黄酮抑制骨关节炎大鼠疼痛 各组大鼠疼痛

情况见表5, 图5。中、高剂量组与阳性对照组翻滚次数少于对照组($P < 0.05$), 小剂量组与对照组比较差异无显著性意义($P > 0.05$), 中、高剂量组、阳性对照组3组间比较差异无显著性意义($P > 0.05$)。



图注: 与对照组相比, ^a $P < 0.05$; 与低剂量组相比, ^b $P < 0.05$

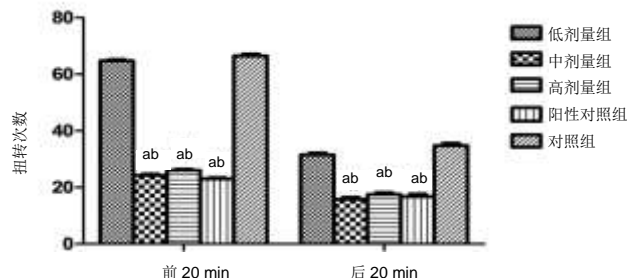
图4 各组大鼠关节液内基质金属蛋白酶3水平的对比

Figure 4 Level of matrix metalloproteinase-3 in the joint fluid of osteoarthritis rats in each group

表5 金雀异黄酮对大鼠疼痛翻滚的影响 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

时间	低剂量组	中剂量组	高剂量组	阳性对照组	对照组
前20 min	65.67±2.5	27.00±1.78 ^{ab}	26.17±1.47 ^{ab}	23.50±1.87 ^{ab}	66.17±1.47
后20 min	32.50±3.01	15.33±2.16 ^{ab}	17.50±1.87 ^{ab}	17.67±2.16 ^{ab}	34.67±1.63

表注: 与对照组相比, ^a $P < 0.05$; 与低剂量组相比, ^b $P < 0.05$



图注: 与对照组相比, ^a $P < 0.05$; 与低剂量组相比, ^b $P < 0.05$

图5 各组大鼠疼痛扭转次数的对比

Figure 5 Comparison of painful tumbling frequency in rats among groups

3 讨论 Discussion

金雀异黄酮又称为染料木素, 是大豆黄酮中的一种有效成分, 具有植物雌激素的活性, 具有降血脂、抗癌、雌激素和蛋白激酶等多种作用^[19-22]。任晓霞等^[9]通过体外肿瘤细胞培养实验证实, 金雀异黄酮可抑制宫颈癌细胞增殖并增强其自噬, 具有抗肿瘤作用。有研究发现金雀异黄酮可促进骨髓间充质干细胞的增殖, 并能促进细胞的成骨分化^[23]。冯英等^[24]通过大鼠骨质疏松模型发现金雀异黄酮可明显提高大鼠骨密度, 具有抗骨质疏松效果。有学者以金雀异黄酮干预新西兰兔软骨炎症模型, 通过检测一氧化氮合成酶、调节因子等指标证实金雀异黄酮有抗炎和抑制软骨细胞增殖的作用^[25]。

骨关节炎以关节软骨退变、软骨下骨坏死, 骨质不规

则增生为特征,目前尚无有效的根治方法,保守治疗主要采用药物和非药物两种方法。非药物包括:理疗、中医熏蒸、针灸、推拿、按摩和功能锻炼等;药物包括:控制症状类,如洛索洛芬、双氯芬酸、酮洛芬、吡喃羧酸类等非类固醇抗炎药;局部治疗药,如糖皮质激素等;改善病情及保护软骨药,如葡萄糖胺聚糖和硫酸氨基葡萄糖等。如果保守治疗无效,病情需要时可选择手术治疗。

骨关节炎的临床治疗中疗效最确切、改善症状最明显的是非类固醇抗炎药。实验选用双氯芬酸钠作为实验的阳性对照物,这是一种常见的治疗关节炎和类风湿性关节炎的药物,通过作用于前列腺素合成酶而产生止痛作用。实验通过与阳性对照物双氯芬酸钠的比较,证实金雀异黄酮抗炎止痛的效果和双氯芬酸钠相比无明显差别。

非类固醇类消炎药吸收快、起效快、效果确切,其主要产生作用的原理是抑制环氧化酶,进一步抑制前列腺素的合成,从而发挥镇痛和消炎作用。环氧化酶是发挥止痛效果的靶类酶,有2种异构体,包括环氧化酶1和环氧化酶2,其中环氧化酶2有催化前列腺素合成的作用,而后者有致炎性的作用。而目前使用的部分类别非类固醇类消炎药同时抑制以上2种酶,因此有引起胃肠道炎性溃疡的不良反应。为减少不良反应,目前已研发并投入临床使用的部分止痛药是特定的环氧化酶2抑制剂,如美洛昔康、二氟尼柳和塞来昔布等,这些药品均可减少消化系统不良反应。美洛昔康是典型的环氧化酶2抑制剂,可用于治疗骨关节炎的轻微疼痛,由于其只抑制环氧化酶2而不抑制环氧化酶1,因此可减少消化系统溃疡的发生率,但恶心、反酸、甚至肾功受损的不良反应仍然存在。塞来昔布可选择性地抑制环氧化酶2,并且对环氧化酶2的作用效果比环氧化酶1高18倍,可用于缓解骨关节炎和成人类风湿性关节炎的疼痛症状。但是目前的研究证实,环氧化酶1和环氧化酶2在功能上是相互重叠和互为补充的,并不是特定的环氧化酶2抑制剂效果更好,需要结合患者病情和身体对药物的耐受情况综合决定,但是为减少消化系统和泌尿系统不良反应,原则上不允许同时使用2种非类固醇类消炎药。与骨关节炎相关的循证医学认为,目前骨关节炎的治疗已经从药物及手术转向提前预防为主的干预措施上,主要包括控制体质量、适当运动、加强宣传教育等^[26]。有研究证实由于关节结构破坏、关节疼痛、关节稳定性差等因素^[27],骨关节炎患者主观上不愿意运动,造成关节周围负重肌肉萎缩,进一步引起关节不稳,因此可以加强对患者的宣传教育,促使患者主动活动关节,提高关节稳定性和力度,改善关节功能,提高患者生活质量。

关节软骨受炎性递质影响最终形成骨关节炎的过程非常复杂,物理、多种炎性因子及蛋白降解酶均参与其中。目前有研究证实白细胞介素1和骨关节炎密切相关,并且可能是始发因子^[28-31],白细胞介素1在关节液中含量很低,但是当关节发生炎症后其含量迅速增高。基质金属蛋白酶3

也参与骨关节炎的形成,当关节炎发生后白细胞介素1诱导基质金属蛋白酶3合成,基质金属蛋白酶3可裂解关节软骨和软骨基质中的蛋白多糖,从而破坏关节软骨。

实验从大豆提取物入手探讨金雀异黄酮治疗骨关节炎的效果,通过动物实验论证了低、中和高剂量金雀异黄酮对关节炎的功效。金雀异黄酮有抗肿瘤、抑制动脉炎症、抗粥样硬化、抗骨质疏松、抗血管生成、抗增殖、免疫调节、镇痛等作用^[32-33]。有研究通过胶原诱导关节炎动物模型发现,金雀异黄酮有阻断滑膜血管增生、减少炎症的作用,认为金雀异黄酮是治疗类风湿性关节炎的潜在药物^[34]。有学者通过体内和体外研究证实,金雀异黄酮有治疗类风湿性关节炎的作用^[33]。

有研究证实6 mg/kg的金雀异黄酮有抗大鼠骨质疏松的作用,说明一定剂量的金雀异黄酮可经过代谢后作用于大鼠并产生相应的作用^[24]。实验探讨了4.5, 9, 18 mg/kg 3种不同剂量金雀异黄酮对大鼠骨关节炎的影响。实验发现金雀异黄酮对皮肤无刺激作用,不会引起皮肤红肿,有利于以后进一步研究其机制并开发用于外用。通过疼痛翻滚模型发现,中、高剂量的金雀异黄酮经有缓解动物疼痛的作用,说明金雀异黄酮在一定剂量下有止痛作用。实验发现4.5 mg/kg的金雀异黄酮并不能明显改善关节炎模型中相关炎症因子的水平,其抗炎作用和剂量相关,低剂量金雀异黄酮并无止痛抗炎的作用;9 mg/kg以上的金雀异黄酮在动物骨关节模型中有较好的抗炎效果,调整剂量到18 mg/kg时其抗炎效果并不能和剂量成正比,因此精确的金雀异黄酮起效剂量尚需进一步实验证实。

作者贡献: 曾小云、张丽容进行实验设计,实验实施为曾小云,实验评估为张丽容,资料收集为曾小云、张丽容,曾小云成文,曾小云、张丽容审核。

经费支持: 该文章没有接受任何经费支持。

利益冲突: 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程不存在利益冲突。

机构伦理问题: 实验方案经南方医科大学动物实验伦理委员会批准。实验过程遵循了国际兽医学编辑协会《关于动物伦理与福利的作者指南共识》和本地及国家法规。实验动物在麻醉下进行所有的手术,并尽一切努力最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡。

写作指南: 该研究遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。

文章查重: 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审: 文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

生物统计学声明: 该文统计学方法已经南方医科大学生物统计学专家审核。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] 廖德发.我国骨性关节炎流行病学调查现状[J].微创医学, 2017, 12(4):521-524.
- [2] 刘文文,赵蕾,滕学仁,等.金天格胶囊对膝骨关节炎患者关节液中MMP-3、TIMP-1、IL-1 β 、TGF- β 1水平的影响[J].中国骨质疏松杂志,2015,21(4):442-446.
- [3] 白斌,李燕琴,李曙明,等.丹参对兔骨性关节炎关节软骨白介素-1 β 、白介素-6和胰岛素样生长因子- I 表达的影响[J].中国康复医学杂志,2015,30(10):990-994.
- [4] 管宏章.参麦注射液关节腔注射对膝骨性关节炎患者关节液中IL-1和TNF- α 水平的影响[J].医学信息, 2014(17):103-103.
- [5] 雷文淼,张鸿.独活寄生汤治疗膝骨性关节炎患者的疗效及对患者关节液MMP-3、MMP-9水平的影响[J].陕西中医, 2017, 38(10):1432-1433.
- [6] 陈海霞,张开伟,马文娟,等.补肾活血汤干预骨质疏松并骨关节炎模型兔软骨多种细胞因子mRNA的表达[J].中国组织工程研究, 2018,22(32):5123-5132.
- [7] 王梦月,卫莹芳,史炎,等.三种活麻水煎液药理作用探索[J].时珍国医国药,2001,12(8):673-674.
- [8] 王梦月,卫莹芳,李晓波.荨麻抗风湿活性部位的化学成分研究[J].中草药,2006,37(9):1300-1303.
- [9] 任晓霞,杨艳梅,王虹,等.自噬对金雀异黄酮抑制宫颈癌细胞增殖的影响[J].医学研究生学报,2017,30(6):579-583.
- [10] 庆敏,王进.miR-200 a与金雀异黄酮对胃癌细胞生长及侵袭能力的影响[J].郑州大学学报(医学版),2018,53(4):474-477.
- [11] 韦立群,李婉婷,李通,等.金雀异黄酮对三阴乳腺癌MDA-MB-231细胞凋亡及EGFR/PI3K/Akt通路的影响[J].中国药理学通报, 2017,33(10):1376-1381
- [12] 成魁,陈克明,葛宝丰,等.淫羊藿苷与金雀异黄酮骨保护作用的比较研究[J].中国药理学通报, 2014,30(9):1315-1319.
- [13] 李浩,宋培源,张新爱,等.金雀异黄酮调节小鼠成骨细胞和破骨细胞的介导受体研究[J].南昌大学学报(医学版), 2017,57(6):17-22.
- [14] 李文学,庄颖,董建丽.同型半胱氨酸诱导内皮细胞炎症损伤及金雀异黄酮的保护作用机制探讨[J].蚌埠医学院学报, 2009,34(3):188-191.
- [15] 李伟,居来提·买提肉孜,迪丽娜·马合木提,等.骨性关节炎模型兔股骨各骨质层体积与力学性能的关联性分析[J].吉林大学学报(医学版),2013,39(4):680-683,后插681.
- [16] 张康乐,郭珈宜,刘源,等.低浓度木瓜蛋白酶诱导兔早期膝骨关节炎滑膜炎的时间曲线[J].中国组织工程研究, 2017,21(36):5787-5792.
- [17] 朱兆荣,关璐,彭诗,等.电针对木瓜蛋白酶致骨关节炎大鼠血浆中腺苷的影响[J].中国兽医杂志,2018,54(1):31-33,36.
- [18] 黄颖花,冷冬阳,李日飞,等.“乌芷跌打膏”的药效学研究[J].动物医学进展,2016,37(6):80-83.
- [19] 蔡小华,姚祖凤,颜文斌,等.抗癌药物金雀异黄酮的合成进展[J].吉首大学学报(自然科学版),2001, 22(2):71-74.
- [20] 彭维杰,罗丹,康路妹,等.8-PN与异黄酮类植物雌激素对成骨细胞和破骨细胞作用比较研究[C].江西省中西医结合学会内分泌专业委员会第二次学术会议、内分泌与代谢性疾病中西医结合诊治新进展学习班资料汇编.中国江西南昌,2013.
- [21] 魏思忱,白文元.大豆异黄酮与肝病[J].临床肝胆病杂志,2006, 22(4):316-318.
- [22] 朱建华,徐杰.金雀异黄酮在中枢神经系统的抗衰老作用研究进展[J].四川解剖学杂志,2003,11(4):34-37.
- [23] 周建,高玉海,石文贵,等.金雀异黄酮促进体外培养大鼠骨髓间充质干细胞成骨性分化的机制研究[J].解放军医药杂志, 2016, 28(10):1-3,7.
- [24] 冯英,涂平生,湛海伦,等.金雀异黄酮对去势大鼠骨质疏松的影响[J].中国骨质疏松杂志, 2007,13(2):105-107.
- [25] 张城,宋勇,张艺,等.金雀异黄酮对脂多糖处理的软骨细胞增殖抑制的拮抗及抗炎作用[J].中国生物制品学杂志, 2011,24(2):184-186,194.
- [26] 薛静,伍骥,郑超.基于循证医学指导下的骨关节炎治疗建议[J].中华关节外科杂志(电子版),2013,7(23):2083-2086.
- [27] 任硕.膝骨关节炎治疗方案的优化选择[D].济南:山东中医药大学,2010.
- [28] 陈文锋,黄海,申文龙.膝骨性关节炎不同中医证型与血清和关节液MMP-3、MMP-7表达的关系[J].浙江中西医结合杂志, 2018, 28(8):660-663.
- [29] 李广贤,乔卫平.金骨莲胶囊治疗骨性关节炎疗效及对患者IL-1、IL-6、TNF- α 影响的研究[J].陕西中医,2018,39(12):1792-1794.
- [30] 秦丰伟,黄荷,焦锋,等.淫羊藿苷和骨髓间充质干细胞共育液对兔骨关节炎模型关节液中IL-1、TNF- α 、IL-10、MMP-3表达的影响[J].实用医学杂志,2018,34(17):2876-2879.
- [31] 祝俊山,冯秀珍,王金杰,等.黄精制剂对膝骨性关节炎患者血清中IL-1、MMP-13的影响[J].中国中西医结合外科杂志, 2018,24(5):568-572.
- [32] 郑高利.大豆异黄酮的药理作用 I [J].中国现代应用药学, 1998, 15(1):4-5.
- [33] LI J,GANG D,YU X,et al. Genistein: the potential for efficacy in rheumatoid arthritis. Clin Rheumatol.2013;32:535-540.
- [34] HU Y,LI J,QIN L,et al. Study in Treatment of Collagen-Induced Arthritis in DBA/1 Mice Model by Genistein.Curr Pharm Des. 2016;22:6975-6981.