

# 活血化瘀利水方对大鼠急性软组织损伤模型血清IL-6、组胺影响的实验研究

李黎, 孙燕\*, 廖怀章, 刘绪银, 肖黎  
(正大邵阳骨伤科医院, 湖南邵阳 422900)

**[摘要]** **目的** 通过利用活血化瘀利水方对急性软组织损伤大鼠血清IL-6、组胺影响的实验研究,探讨活血化瘀利水方对急性软组织损伤修复的机制。**方法** 将60只大鼠随机分为6组,即正常组、模型组、伤科跌打片组、活血化瘀利水低、中、高剂量组,除正常组外,余5组通过打击法造成急性软组织损伤模型,连续给药7d后测定大鼠血清IL-6、组胺含量。**结果** 活血化瘀利水方组能够明显抑制急性软组织损伤大鼠血清IL-6、组胺的表达,与模型组比较有统计学意义( $P<0.05$ ),且其抑制作用与药物剂量相关,高剂量组抑制效果优于阳性药物组。**结论** 活血化瘀利水方对损伤局部炎症反应具有抑制作用,从而发挥对急性软组织损伤动物模型的治疗作用。

**[关键词]** 急性软组织损伤;活血化瘀利水方;IL-6;组胺;当归;白茅根;茯苓

**[中图分类号]**R285.5 **[文献标识码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2016.03.006

## Effects of Huoxue Huayu Lishui Prescription on Serum IL-6 and Histamine in the Treatment of Acute Soft Tissue Injury Rat Models

LI Li, SUN Yan\*, LIAO Huaizhang, LIU Xuyin, XIAO Li  
(Zhengda Shaoyang Orthopedics Hospital, Shaoyang, Hunan 422900, China)

**[Abstract]** **Objective** To observe the effect of Huoxue Huayu Lishui prescription on IL-6 and histamine level in blood of acute soft tissue injury rats. **Methods** 60 rats were randomly divided into 6 groups: the normal group, model group, Shangke Dieda tablet group, low, medium and high dose of Huoxue Huayu Lishui prescription groups. In addition to the normal group, the rats in other 5 groups were made as acute soft tissue injury models by the method of hitting. After continuous medication for 7 days, serum IL-6 and histamine levels in rats were determined. **Results** Huoxue Huayu Lishui prescription showed obvious inhibitory effect on the expression of serum IL-6 and histamine in acute soft tissue injury rats, which have significant differences comparing with the model group. Its inhibition exhibited positive correlation with the dose of prescription, while the effect of high dose group was better than that in positive drug group. **Conclusion** Huoxue Huayu Lishui prescription, which play a role in treatment of acute soft tissue injury animal models, shows inhibitory effect on local inflammatory response to injury.

**[Keywords]** acute soft tissue injury; Huoxue Huayu Lishui prescription; IL-6; histamine; *Angelica sinensis*; *Rhizoma Imperatae*; *Poria cocos*

活血化瘀利水方是全国老中医药专家、湖南省名中医孙广生主任医师四十余年临床经验名方,由廖怀章教授对其进行研究总结后提出的,具有活血化瘀止痛、利水消肿之功效,临床上对于治疗急性软组织损伤具有良好的疗效,在急性软组织损伤早期就能发挥明显的作用。为探讨活血化瘀利水方治疗急性软组织损伤的作用机制,课题组进行了其对急性软组织损伤大鼠血清IL-6、组胺影响的实验

研究。

## 1 材料与方法

1.1 动物 健康SD大鼠60只,雌雄各半,体质量(200±20)g(合格证号:43004700000032,湖南中医药大学动物实验中心购买)。

### 1.2 药物

观察药:活血化瘀利水方(药物组成:当归尾、

**[收稿日期]**2015-11-28

**[基金项目]**湖南省中医药科研计划项目(2014127)。

**[作者简介]**李黎,男,硕士研究生,研究方向:创伤及小儿骨伤科。

**[通讯作者]**\*孙燕,女,主任医师,E-mail:sunyan6555@163.com。

白茅根、川芎、赤芍、红花、牡丹皮、茯苓、三七、泽兰、木通、土鳖虫、甘草、水蛭、地龙、生地黄,购自湖南中医药大学第一附属医院;活血化瘀利水高、中、低剂量煎液分别浓缩成 4.14、2.07、1.035 g/mL。

对照药:伤科跌打片,购自湖南安邦制药有限公司,药品生产批号:121104。

### 1.3 仪器与试剂

自制软组织打击器 C3118+型酶标仪(上海沛欧),5418R 型离心机(德国 eppendorf),DNP-9162 型电热恒温培养箱(上海精宏实验设备有限公司),大鼠 IL-6 ELISA 试剂盒(上海巧伊生物科技有限公司),大鼠 组胺 ELISA 试剂盒(上海巧伊生物科技有限公司)。

### 1.4 动物分组与造模<sup>[4]</sup>

实验大鼠适应性喂养 1 周后,将 60 只大鼠按体质量编号,编号完成后按随机数字表法分为 6 组,分别为正常组,模型组,伤科跌打片组,活血化瘀利水方低、中、高剂量组,每组 10 只。在造模前 24 h 使用 8%硫化钠脱毛剂脱去右后大腿部鼠毛。除正常组外对其余大鼠进行造模,方法参考何朝勇法<sup>[1]</sup>稍加改造。将大鼠卧位固定于动物固定台,将 200 g 重的砝码通过与砝码直径相当的塑料管中自 45 cm 高处垂直自由落体冲击大鼠右大腿外侧肌肉丰厚处,连续打击 3 次,打击面积约 1.5 cm×2 cm,造成打击局部出现散在出血点,打击处肿胀,皮下瘀斑但无皮肤破损;用手触摸右下肢无骨折及脱位征;无其他异常情况发生者确定为造模成功。打击后如有骨折、皮肤破裂者予以剔除,此造模方法在预实验中经解剖及组织学验证成功率为 100%。

### 1.5 饲养及给药<sup>[4]</sup>

造模成功后将所有大鼠分笼喂养,造模成功后第 2 天开始按 15 mL/kg 灌胃相应药物,其中正常组、模型组给予灌胃蒸馏水;伤科跌打片组给予伤科跌打片溶液 0.24 g/kg(相当于临床等效剂量);活血化瘀利水方低、中、高剂量组分别给予活血化瘀利水方煎液 15.5、31.62 g/kg(分别相当于临床等效剂量的 1、2、4 倍),1 次/d,连续 7 d。药物剂量参照贺石林等<sup>[2]</sup>的换算法计算所得。

### 1.6 取材

连续给药 7 d 后,水合氯醛腹腔注射麻醉(0.1 mL/100 g),腹主动脉采血,血液室温静置 5 min,2 500 r/min 离心 5 min,收集上清,保存、备用。

### 1.7 指标检测与方法

按 ELISA 试剂盒操作说明测定血清 IL-6、组胺

含量。

### 1.8 统计学方法

采用 SPSS16.0 统计软件对实验数据进行统计学分析,数据采用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,组间比较用单因素方差分析法,方差齐性用 LSD 检验,方差不齐用 Tamhane's T2 检验,以  $P<0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 大鼠血清 IL-6 的含量

造模各组大鼠血清 IL-6 含量与空白组比较均具有统计学意义( $P<0.05$ );与模型组比较,各观察组均明显减少( $P<0.01$  或  $P<0.05$ );活血化瘀利水方低、中剂量组与伤科跌打片组比较无统计学差异;高剂量组 IL-6 含量明显低于伤科跌打片组( $P<0.01$ ),活血化瘀利水低、中、高剂量组作用依次增强。见表 1。

表 1 各组大鼠血清 IL-6 含量比较 ( $\bar{x}\pm s$ ,pg/mL)

组别	n	IL-6
正常组	10	2.277±0.374
模型组	10	39.289±5.498 *
伤科跌打片组	10	28.664±3.176 *
活血化瘀利水低剂量组	10	29.196±4.652 ** <sup>△</sup>
活血化瘀利水中剂量组	10	27.736±2.772 *
活血化瘀利水高剂量组	10	22.736±1.166 ** <sup>△▲●</sup>

注:与正常组比较 \* $P<0.05$ ;与模型组比较  $\Delta P<0.05$ ;与伤科跌打片组比较,# $P<0.01$ ;与低剂量组比较  $\blacktriangle P<0.05$ ;与中剂量组比较  $\bullet P<0.05$ 。

### 2.2 大鼠血清组胺的含量

造模各组大鼠血清组胺含量与空白组比较均具有统计学差异( $P<0.01$ );与模型组比较,各观察组均明显减少( $P<0.01$ );活血化瘀利水方低、中剂量组与伤科跌打片组比较无统计学差异;高剂量组组胺含量明显低于伤科跌打片组( $P<0.05$ ),活血化瘀利水低、中、高剂量组作用依次增强。见表 2。

表 2 各组大鼠血清组胺含量比较 ( $\bar{x}\pm s$ ,ng/mL)

组别	n	组胺
正常组	10	10.691±1.588
模型组	10	35.934±2.727** <sup>▲</sup>
伤科跌打片组	10	31.137±1.566**
活血化瘀利水低剂量组	10	31.599±2.268** <sup>△</sup>
活血化瘀利水中剂量组	10	30.140±1.954** <sup>△</sup>
活血化瘀利水高剂量组	10	27.996±1.780** <sup>△▲●</sup>

注:与正常组比较 \* $P<0.01$ ;与低剂量组比较  $\bullet P<0.01$ ;与模型组比较  $\Delta P<0.01$ ;与中剂量组比较 # $P<0.05$ ;与伤科跌打片组比较  $\blacktriangle P<0.05$ 。

### 3 讨论

急性软组织损伤是一种骨伤科临床中常见病、多发病<sup>[3]</sup>,现代医学认为急性软组织损伤主要是由于外来创伤导致的急性无菌性炎症,外力作用于机体引起局部毛细血管破裂出血和细胞内液渗透到组织间隙引起肿胀<sup>[4]</sup>,数小时后随着 IL-6 等炎性介质的释放,PGE2、PGD2 等代谢产物的堆积,随即出现炎症反应,从而刺激神经末梢,引起疼痛和功能受限<sup>[5]</sup>,在治疗上经常使用非甾体类抗炎镇痛药物<sup>[6]</sup>。

中医学认为急性软组织损伤属于“伤筋”的范畴,发病主要是由于外来暴力直接或间接作用于人体,筋肉血脉遭到损伤,以致津血溢出脉外而成为血肿,气血运行不畅,气机障碍,失于运化,水湿内停局部组织而成为水肿,故在损伤后机体局部很快出现肿痛;血瘀气滞,经络受阻,不通则痛;瘀血停留肌肉腠理之间则肿胀,停留皮下则见瘀斑青紫。疼痛和肿胀引发人体自身保护性反应,如肌肉痉挛等而导致功能障碍,故其主要症状为疼痛、肿胀、局部瘀斑、肢体功能障碍等。

《金匱要略·水气病脉证并治》曰:“血不利则为水。”《血证论》强调了“血病而不离乎水”,“水病而不离乎血”的病理关系,其中明确指出:“病血者,未不病水;病水者,未尝不病血也”,“失血家往往水肿,瘀血化水,亦发生水肿,是血病而兼水也”;“血积既久,亦能化为痰水”,说明瘀与水常同时存在,彼此是互相影响,互为因果,瘀能生水,水又可酿瘀,血瘀则水停,水停则血瘀<sup>[6-7]</sup>,瘀水不分家。廖怀章教授认为损伤早期由于脉络损伤,一则脉中血与津运行障碍而血瘀津停;二则血脉内之血与津外溢,血外溢留而不去则瘀血,津液留滞软组织则为水湿。故急性软组织损伤主要的病理特征为瘀水互结<sup>[8]</sup>。

《血证论·汗血》曰“凡调血,必先治水,治水即以治血,治血即以治水”,医圣张仲景“瘀水同源”的思想上明确指出瘀与水常需同治,即瘀水同治法<sup>[9]</sup>。许鸿照教授也指出创伤早期的肢体肿胀其病理主要是“血水同源,血水同病,互为因果”,当然也存在气行郁滞,但因血水有形气无形,有形之邪治当速去,故倡导“治血重治水”,驱有形而和无形,行动则气流<sup>[10]</sup>。郭氏也认为在活血逐瘀药中加入大量利尿类药物,可大大增加其活血逐瘀消肿功效<sup>[12]</sup>。故廖怀章教授在临床工作中常以活血化瘀利水法为主,自拟活血化瘀利水方治疗急性软组织损伤,疗效十分显著<sup>[9]</sup>。

组胺作为一种炎症介质,可通过 H1 受体起作

用,使细动脉扩张,细静脉通透性增加,从而加速炎症反应<sup>[12]</sup>。IL-6 由淋巴细胞或非淋巴细胞产生,是一种多功能细胞因子,能促进中性粒细胞的活化、聚集,多在细胞受到 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  刺激后产生,在机体免疫应答、急相反映中起重要作用<sup>[13]</sup>,此外血清中 IL-6 水平可反映组织损伤的程度<sup>[14]</sup>。故本实验选择 IL-6 和组胺作为实验检测指标。

本研究结果表明活血化瘀利水方能够明显降低急性软组织损伤大鼠血清 IL-6 和组胺的含量,与模型组比较有明显差异,且高剂量组的疗效优于阳性药物伤科跌打片组。活血化瘀利水方对损伤局部炎症反应具有显著的抑制作用,从而对急性软组织损伤动物模型起到治疗作用。本次动物实验证实了活血化瘀利水方对急性软组织损伤早期的显著作用疗效,其作用机制与减少血清中 IL-6 和组胺的生成有关。

### 参考文献:

- [1] 何朝勇,李楠,陈丽华.奇正消痛贴治疗急性软组织损伤实验研究[J].中医正骨,2008,20(11):9-12.
- [2] 贺石林,王键,王净净.中医科研设计与统计学[M].第2版.长沙:湖南科技出版社,2001:48-49.
- [3] 沈建成,艾国,黄正明,等.伤痛宁片对大鼠急性软组织损伤的治疗作用及其机制研究[J].现代药物与临床,2014,29(12):1346-1349.
- [4] 孙燕,廖怀章,李黎,等.活血化瘀利水方对急性软组织损伤模型大鼠 IL-1 $\beta$ 、PGE-2 影响的实验研究[J].中国中医骨伤科杂志,2015,23(12):6-8.
- [5] 杨璐璐,宁亚功,钱子刚,等.中医药治疗军事训练软组织损伤的现状[J].云南中医学院学报,2011,34(3):64.
- [6] 孙欣,尹宏,钱卫庆.中药外用治疗急性软组织损伤的作用机制实验研究进展[J].中医正骨,2014,26(11):66-69.
- [7] 王常民.水血同治案2则[J].江苏中医药,2004,25(7):36.
- [8] 刘绪银,毛以林,张学文.国医大师张学文瘀血症治思想[J].湖南中医药大学学报,2015,35(3):37-40.
- [9] 孙江波,刘绪银,廖怀章.廖怀章主任医师治疗骨伤经验(一)——活血利水法治疗急性软组织损伤早期[J].湖南中医杂志,2012,28(5):18-19.
- [10] 吴小明,朱美香.张仲景“瘀水同源”理论探析[J].新中医,2005,37(6):3-4.
- [11] 杨风云,胡立敏,王力,等.名老中医许鸿照教授伤科“治血重治水”学术思想及临床应用[J].中医正骨,2008,20(11):80-81.
- [12] 肖碧跃,郭艳幸,何清湖,等.平乐正骨气血理论学术源流浅述[J].湖南中医药大学学报,2015,35(11):30-33.
- [13] 叶盛英,杨本明,高骥,等.中药外用治疗软组织损伤的实验研究进展[J].华北国防医药,2009,21(2):29-31.
- [14] 任蕴芳.白细胞介素 6 研究进展[J].解放军医学情报,1992,6(4):195-197.
- [15] 牛淑亮,刘凤霞,王水泉,等.消肿喷剂对急性软组织损伤大鼠血清 PGE2、IL-6 影响的实验研究[J].陕西中医,2013,34(1):114-115.