

川芎嗪微乳凝胶预防大鼠实验性腹腔粘连抗炎及抗氧化作用

张慧¹, 宋宇¹, 张婷², 曾莉^{3*}

(1. 新乡医学院药学院药理学教研室, 河南 新乡 453000;

2. 新乡医学院三全学院, 河南 新乡 453003; 3. 南京中医药大学, 南京 210023)

[摘要] **目的:**观察川芎嗪微乳凝胶对肠粘连的防治效果,通过检测大鼠腹腔液细胞因子及粘连组织抗氧化酶进一步探讨其对肠粘连防治作用的机理。**方法:**取 SD 大鼠 70 只,随机分为 7 组:正常组、模型组、川芎嗪对照组、空白微乳凝胶组,川芎嗪微乳凝胶高、中、低剂量组,每组 10 只。除正常对照组外,其余各组大鼠均制备肠粘连模型。正常对照组和模型组 ip 生理盐水,川芎嗪对照组 ip 川芎嗪注射液($15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$),连续给药 10 d。川芎嗪微乳凝胶低、中、高剂量组($7.5, 15, 30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)造模后,腹腔内以注射器均匀涂抹于创面,并按 10 d 量放大,一次性给药。各组大鼠于术后第 11 天处死,ELISA 法测定腹腔液白介素-6(IL-6)、白介素-18(IL-18)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)含量,并取粘连组织检测超氧化物歧化酶(SOD)、一氧化氮合酶(NOS)、还原型谷胱甘肽(GSH)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)活力及丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)含量,同时记录大鼠肠粘连级别。取粘连肠组织观察病理变化。**结果:**与正常组相比,模型组腹腔液 IL-6,IL-18 和 TNF- α 含量增高($P < 0.01$),粘连组织中 MDA,NO,NOS 活性增强($P < 0.01$),CAT,GPx,GSH,SOD 的活性下降($P < 0.01$)。与模型组相比,川芎嗪微乳凝胶低、中、高剂量组的肠粘连程度明显减轻($P < 0.05, P < 0.01$),病理显示肠粘连逐渐松解,腹腔液 IL-6,IL-18 和 TNF- α 含量明显降低($P < 0.05, P < 0.01$),粘连组织中 MDA,NO 含量及 NOS 活性明显下降($P < 0.05, P < 0.01$),CAT,GPx,GSH,SOD 的活性增强($P < 0.05, P < 0.01$)。**结论:**川芎嗪微乳凝胶可明显减轻肠粘连的程度,对肠粘连具有防治作用。其作用可能是通过下调 IL-18 的表达,进而使相关基因的表达下调,导致下游炎症因子 TNF- α ,IL-6 等表达减少,同时与抗肠组织过氧化损伤有关。

[关键词] 川芎嗪; 微乳凝胶; 肠粘连; 白介素-6; 白介素-18; 肿瘤坏死因子 α ; 氧化损伤

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)16-0159-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014160159

[收稿日期] 20131202(008)

[基金项目] 江苏省 2012 年度普通高校研究生科研创新计划项(CXZZ12_0620);南京中医药大学基础研究与重点培育项目(09XPY05)

[第一作者] 张慧,硕士,讲师,从事中药药效及作用机制研究,Tel:03733029101,E-mail:zhanghui12070300@163.com

[通讯作者] * 曾莉,博士,教授,从事腹腔粘连防治及慢性肠病中医药诊疗研究,Tel:025-85811788,E-mail:zengbingli@163.com

- [5] Steru L, Chermat R, Thierry B, et al. The tail suspension test: A new method for screening antidepressants in mice [J]. Psychopharmacology, 1985, 85(3):367.
- [6] 徐叔云,卞如谦,陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2001:808.
- [7] 张振德,金国章. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,1994:459.
- [8] 彭云丽,王雯英,蒋春雷,等. 应激诱发抑郁症的细胞因子机制研究进展[J]. 生理学报,2013,65(2):229.
- [9] 尹桂华. 抗抑郁药物的分类及作用机制研究进展[J]. 中国民康医学,2009,21(12):1429.
- [10] 康大力,瞿融,朱维莉,等. 柴胡加龙骨牡蛎汤有效部位抗抑郁作用研究[J]. 时珍国医国药,2009,20(1):72.
- [11] 赵立波,徐露,车珂科,等. 氟西汀对卒中后抑郁模型大鼠脑组织中 5-HT、NE 及 NGF 表达的影响[J]. 中国药房,2013,24(21):1939.

[责任编辑] 聂淑琴

Anti-inflammatory and Anti-peroxidation Action of Ligustrazine Microemulsion Gel in Ankylenteron Rats

ZHANG Hui¹, SONG Yu¹, ZHANG Ting², ZENG Li^{3*}

- (1. College of Pharmacy, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453000, China;
2. Sanquan Medical College, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, China;
3. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effect of ligustrazine microemulsion gel on the expression of cytokine in peritoneal fluid and antioxidant in the adhesion tissue in rats with peritoneal adhesion. **Method:** Seventy SD rats were randomly divided into 7 groups: normal control group, model group, blank microemulsion gel groups (5 mL · kg⁻¹), ligustrazine group (15 mg · kg⁻¹) and low-, medium- and high-dose ligustrazine microemulsion gel groups (in the dose of 7.5, 15, 30 mg · kg⁻¹ respectively). Except the normal control group, the rats in other groups were induced ankylenteron. Intraperitoneal injection of saline was administered to the rats in the normal control group and the model group, and ligustrazine groups were given ligustrazine injection to abdominal cavity. The treatment lasted 10 days. In the low-, medium- and high-dose ligustrazine microemulsion gel groups, the microemulsion gel were scribbled evenly on the wound by syringe in the abdominal cavity after modeling. On the 11th day after surgery, the peritoneal fluid and the adhesion tissue of each group were collected. The levels of interleukin-18 (IL-18), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor-α (TNF-α) in peritoneal fluid were determined by enzyme linked immunosorbent assay and the contents of superoxide dismutase (SOD), nitric oxide synthase (NOS), glutathione (GSH), Malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) in the adhesion tissue were measured by kits. Grades of intestinal adhesion were ranked by macroscopic observation. The intestine tissue were adopted to observe the change of pathomorphology. **Result:** Compared with the control group, ligustrazine microemulsion gel could significantly relieve the experimental intestinal adhesion and decreased the levels of IL-18, IL-6 and TNF-α in peritoneal fluid obviously ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The activity of MDA, NO, NOS in the adhesion tissue were reduced significantly ($P < 0.05$, $P < 0.01$), but the activity of CAT, GPx, GSH, SOD were increased markedly ($P < 0.05$, $P < 0.01$) in the low-, medium- and high-dose ligustrazine microemulsion gel groups. Pathomorphology investigation showed that small intestine injury was restored in low-, medium- and high-dose ligustrazine groups. **Conclusion:** Ligustrazine microemulsion gel can effectively prevent the formation of postoperative ankylenteron by inhibiting the expression of inflammatory cytokines and be correlated with anti-intestine tissue peroxidation.

[Key words] ligustrazine; microemulsion gel; postoperational intestinal adhesion; interleukin-6; interleukin-18; tumor necrosis factor-α; peroxidation

腹腔粘连是腹部外科手术后的常见并发症,发生率高达90%以上,在肠梗阻的病因中占20%~40%,常需再次手术乃至多次手术治疗。腹腔粘连的发生与组织缺血、过氧化损伤以及异物刺激引发的局部过度炎症反应有密切关系。研究表明活性氧参与术后粘连的形成,在术后自由基活性增强,如超氧阳离子,黄嘌呤氧化酶,丙二醛(MDA)水平增高^[1]。在手术区局部缺氧环境会导致缺血再灌注的发生,从而使自由基清除剂水平的下降^[2]。自

由基清除剂能促进损伤组织修复,预防粘连的发生。大鼠给予自由基清除剂后,能明显减轻完整的区域性肠缺血后粘连的程度^[3]。应用过氧化氢酶(catalase, CAT)后能显著降低腹腔粘连的发生率,减轻腹腔粘连的程度^[4]。川芎嗪是从伞形科植物川芎的根茎中提取之有效成分,具有抗氧化作用,对于脂多糖诱导的人脐静脉内皮细胞一氧化氮(NO)、活性氧水平,具有显著抑制作用^[5],川芎嗪还具有显著的羟自由基清除能力,可抑制H₂O₂诱

导的内皮细胞内活性氧的产生,减轻内皮细胞的氧化损伤^[6]。临床研究表明^[7],川芎嗪腹腔灌注对肠粘连具有防治作用。川芎嗪抗腹腔粘连作用与其抗氧化作用所产生的对腹膜间皮细胞的保护作用之间的关系尚未见报道。本实验通过实验性大鼠腹腔粘连模型,以具有药效缓释、机械屏障等特性的川芎嗪微乳凝胶作为干涉手段,观察其对肠粘连的抑制作用及对粘连形成过程大鼠腹腔液白介素-6(IL-6)、白介素-18(IL-18)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)及粘连组织中超氧化物歧化酶(SOD)、一氧化氮合酶(NOS)、还原型谷胱甘肽(GSH,MDA,NO,CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase,GPx)的影响,探讨其对肠粘连防治作用与炎症和脂质过氧化之间的关系,为基础研究和临床应用提供更可靠的理论依据。

1 材料

1.1 动物 SD 雄性大鼠,体重(250 \pm 20)g,4周龄,SPF级,购自山东鲁抗医药股份有限公司实验动物室,生产许可证号SCKX(鲁)20080003。

1.2 试剂与仪器 川芎嗪注射液(郑州卓峰制药有限公司生产,批号110423),川芎嗪原料药(质量分数 \geq 98.5%,江苏南京泽朗医药科技有限公司,批号ZL201105030A),聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯(吐温-80,天津市大茂化学试剂有限公司,批号100423),丙二醇(药用级,南京化学试剂有限公司,批号110321),油酸(天津市大茂化学试剂有限公司,批号110405),卡波姆-940(北京市海淀区会友精细化工厂,批号110624),IL-6、IL-18和TNF- α 酶联免疫吸附试剂盒(均购自武汉博士德生物工程有限公司,批号为20120512,20120423,20120602),SOD试剂盒(批号20120720)、NOS试剂盒(批号20120813)、GSH试剂盒(批号20120612)、MDA试剂盒(批号20111223)、NO含量试剂盒(批号20120223)、CAT试剂盒(批号20120521)、GPx试剂盒(批号20111126),均购自南京建成生物工程研究所。Multiskun Mk3酶标仪(美国Thermo公司),台式高速低温离心机(德国Heraeus公司),电子分析天平(德国Sartorius公司),U-2001型紫外分光光度计(Hitachi公司),SP-722/722E可见光分光光度计(上海光谱仪器有限公司)。

2 方法

2.1 川芎嗪微乳凝胶的制备^[8] 表面活性剂吐温-80和助表面活性剂丙二醇混匀置于具塞平底锥形瓶中,在25 $^{\circ}$ C恒温磁力搅拌器搅拌下加入油酸,取川芎嗪加入上述混合溶液中再超声5min,然后滴入水相,在磁力搅拌器下搅拌,即制得淡黄色澄清透明川芎嗪

微乳。然后再加入卡波姆-940至微乳中,放置溶胀24h后,即得川芎嗪微乳凝胶。⁶⁰Co辐照灭菌后备用。配置川芎嗪含量分别为1.5,3,6g \cdot L⁻¹的盐酸川芎嗪微乳凝胶备用。

2.2 动物模型制备及动物分组 ELLIS法^[9]制备大鼠肠粘连模型,大鼠禁食不禁水12h,以3%水合氯醛1mL \cdot 100g⁻¹,ip麻醉,于下腹部正中切口约2cm,提出盲肠,置于纱布上约5min,使浆膜干燥,以解剖刀片轻刮整个盲肠浆膜10遍,造成轻度渗血,再滴一滴无水乙醇于创面上,然后以无齿镊夹住盲肠系膜动脉约2min,造成暂时局部缺血。盲肠回纳入腹腔原位后以止血钳夹伤相应腹壁,分两层以3~0号医用缝线关腹。

动物随机分为7组:正常组、模型组、川芎嗪对照组、空白微乳凝胶组(MG)。川芎嗪微乳凝胶高(LMG-H)、中(LMG-M)、低(LMG-L)剂量组,每组10只。分别作如下处理:正常组打开腹腔后直接关腹,其余组均手术造模。正常组和模型组大鼠均ip生理盐水2mL \cdot kg⁻¹;川芎嗪组ip川芎嗪注射液15mg \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹,连续10d;空白微乳凝胶组和川芎嗪微乳凝胶组均在造模后,腹腔内以注射器均匀涂抹于创面,按10d量放大,一次性给药(川芎嗪微乳凝胶高、中、低剂量组给药量分别为相当于75,150,300mg \cdot kg⁻¹川芎嗪)。川芎嗪动物用量根据有关川芎嗪制剂临床上的应用及课题研究前期预实验结果确定。

2.3 粘连程度分级判断标准 造模后第11天,倒“U”形切口打开大鼠腹腔,肉眼观察粘连情况。由1名未参与造模者分别按Nair分级标准^[10],根据腹腔粘连情况,对腹腔粘连进行评价。0级,完全无粘连;I级,单个纤细粘连;II级,单个或2个轻度粘连,粘连带宽 $<$ 1cm;III级,2个以上粘连或1个粘连带宽 $>$ 1cm而内脏未直接粘连到腹壁;IV级,内脏直接粘连到腹壁,而不管粘连带多少。

2.4 粘连组织病理组织学检测 冰上取粘连组织,4%甲醛固定24h,水洗6h,从70%乙醇开始,经80%~90%~95%~100%I~100%II,乙醇脱水,每次12h,透明剂二甲苯作用30min,常规石蜡包埋,4 μ m厚切片,行HE染色。在光镜下观察其病理学改变。

2.5 腹腔液IL-6,IL-18和TNF- α 检测 取腹腔液,以4000r \cdot min⁻¹离心20min取上清,置于超低温冰箱中保存待测。采用酶联免疫吸附法测定腹腔液中IL-6,IL-18,TNF- α 水平,严格按说明书要求操作。

2.6 粘连组织中CAT,SOD,GPx,GSH,MDA,NO,NOS活性的检测 冰上取粘连肠壁组织0.5g,如无

粘连形成,则切取距回盲部 2 cm 回肠 0.5 g,在冰冷的生理盐水中漂洗去血污,滤纸拭干,将粘连组织加入生理盐水制备成 10% 匀浆液,所得匀浆先 4 ℃, 4 000 r·min⁻¹离心 10 min,取上清液再 4 ℃, 4 000 r·min⁻¹离心 20 min,取上清, -20 ℃ 保存分装备用。用试剂盒测定组织中 CAT, SOD, GPx, GSH, MDA, NO, NOS 活性。

2.7 统计学处理 采用 SPSS 19.0 统计软件进行统计处理。数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。动物的粘连程度分级评分进行秩和检验。

3 结果

3.1 粘连程度评分 与模型组比较,川芎嗪组及川芎嗪微乳凝胶 3 个剂量组的肠粘连程度均明显减轻,以 LMG-M, LMG-H 组效果最好 ($P < 0.01$),川芎嗪组及 LMG-L 剂量组情况相似 ($P < 0.05$)。见表 1。

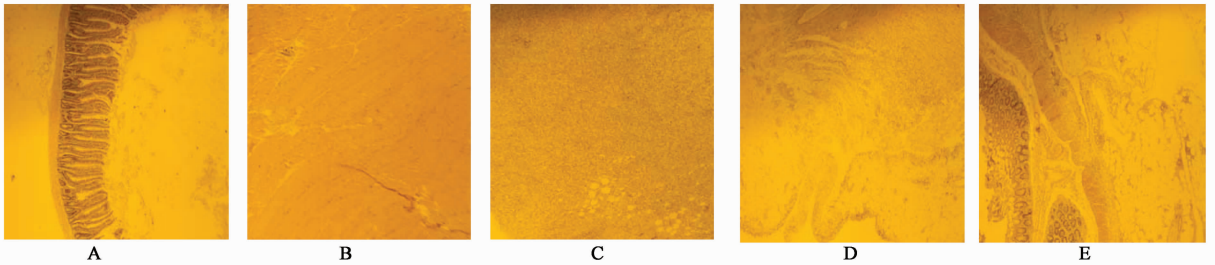
3.2 大鼠病理组织学改变 见图 1,正常组小肠绒毛排列整齐,界线清楚,被覆腺上皮完整,黏膜层、肌层及浆膜层均无水肿及炎细胞浸润。模型组大鼠肠壁肌层粘连紧密,粘连部位未松解,粘连带中大量纤维组织增生同时伴炎性细胞浸润。川芎嗪微乳凝

表 1 川芎嗪微乳凝胶对术后大鼠肠粘连程度的影响 ($n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	各粘连程度分级动物数/只					平均秩次
		0	1	2	3	4	
正常	-	9	1	0	0	0	11.30
模型	-	0	0	1	4	5	59.05 ³⁾
空白微乳凝胶	-	0	1	2	4	3	53
川芎嗪	15	2	4	2	1	1	33.55 ¹⁾
川芎嗪微乳凝胶	7.5	1	3	4	1	1	38.45 ¹⁾
	15	2	5	2	1	0	29.75 ²⁾
	30	4	4	2	0	0	23.40 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与正常组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~4 同)。

胶低剂量组粘连有少部分松解,肌间有微小间隙,但仍有大部分组织粘连。川芎嗪微乳凝胶中剂量组粘连组织较大部分已松解,肌间有明显的间隙,轻度纤维组织增生并伴有少量炎性细胞浸润伴少量炎性细胞浸润粘连组织中。川芎嗪微乳凝胶高剂量组粘连基本松解,少量纤维组织增生并伴有散在炎性细胞浸润,有大量的肠系膜组织充填于两肌层间,部分区域两肠壁逐渐分离,并形成腔隙。



A. 正常组; B. 模型组; C. 川芎嗪微乳凝胶 7.5 mg·kg⁻¹组; D. 川芎嗪微乳凝胶 15 mg·kg⁻¹组; E. 川芎嗪微乳凝胶 30 mg·kg⁻¹组

图 1 川芎嗪微乳凝胶治疗后大鼠肠组织病理改变 (HE, ×40)

3.3 腹腔液 IL-6, IL-18 和 TNF- α 含量的比较 与正常组比较,模型组 IL-6, IL-18 和 TNF- α 的表达均明显增加 ($P < 0.01$)。与模型组相比,川芎嗪组, LMG-M, LMG-H 组腹腔液 IL-6, IL-18 和

TNF- α 的水平明显降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), LMG-L 组 IL-6 变化无统计学差异, IL-18 和 TNF- α 下降明显 ($P < 0.05$), MG 组变化不明显。见表 2。

表 2 川芎嗪微乳凝胶对术后肠粘连大鼠腹腔液 IL-6, IL-18 和 TNF- α 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	IL-18	IL-6	TNF- α
正常	-	41.38 ± 6.72	32.52 ± 5.43	112.54 ± 22.75
模型	-	73.32 ± 8.65 ⁴⁾	52.32 ± 8.54 ⁴⁾	212.35 ± 25.68 ⁴⁾
空白微乳凝胶	-	65.86 ± 3.52	56.35 ± 2.56	201.14 ± 24.78
川芎嗪	15	57.72 ± 4.42 ¹⁾	41.43 ± 4.66 ¹⁾	162.32 ± 31.87 ¹⁾
川芎嗪微乳凝胶	7.5	54.43 ± 7.56 ¹⁾	52.35 ± 7.25	172.68 ± 36.68 ¹⁾
	15	55.41 ± 4.32 ¹⁾	44.45 ± 7.54 ¹⁾	147.34 ± 25.55 ²⁾
	30	44.38 ± 5.43 ²⁾	42.52 ± 6.82 ¹⁾	129.63 ± 20.89 ²⁾

3.4 粘连组织中 CAT, GPx, GSH, SOD, MDA, NO, NOS 的检测 与正常组比较,模型组 MDA, NO, NOS 的活性均明显增强 ($P < 0.01$), CAT, GPx, GSH, SOD 活性明显下降 ($P < 0.01$)。而川芎嗪组、LMG-L, LMG-M, LMG-H 组能明显降低粘连组织 MDA, NO,

NOS 的活性(与模型组相比, $P < 0.05$, $P < 0.01$), 增强 CAT, GPx, GSH, SOD 的活力(与模型组相比, $P < 0.05$, $P < 0.01$)。其中 LMG-H 组作用最强(与模型组相比, $P < 0.01$)。见表 3, 4。

表 3 川芎嗪微乳凝胶对术后肠粘连大鼠粘连组织 GPx, GSH, SOD, CAT 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	GPx/U·mg ⁻¹	GSH/mg·g ⁻¹	SOD/U·mg ⁻¹	CAT/U·mg ⁻¹
正常	-	5.38 ± 1.14	15.72 ± 2.17	16.07 ± 3.73	46.18 ± 9.75
模型	-	2.25 ± 0.87 ⁴⁾	9.85 ± 1.57 ⁴⁾	8.67 ± 1.08 ⁴⁾	31.27 ± 7.82 ⁴⁾
空白微乳凝胶	-	2.48 ± 0.54	10.72 ± 1.97	9.27 ± 2.73	36.28 ± 8.69 ¹⁾
川芎嗪	15	3.07 ± 1.08 ²⁾	14.67 ± 0.24 ²⁾	11.97 ± 2.27 ¹⁾	37.91 ± 8.84 ¹⁾
川芎嗪微乳凝胶	7.5	3.41 ± 0.96 ¹⁾	13.21 ± 0.18 ¹⁾	11.60 ± 2.16 ¹⁾	36.77 ± 8.82 ¹⁾
	15	3.52 ± 1.03 ¹⁾	13.31 ± 0.14 ¹⁾	13.28 ± 3.50 ²⁾	38.86 ± 9.94 ¹⁾
	30	4.24 ± 1.26 ²⁾	15.69 ± 2.27 ²⁾	14.54 ± 2.01 ²⁾	42.01 ± 9.73 ²⁾

表 4 川芎嗪微乳凝胶对术后肠粘连大鼠粘连组织 MDA, NO, NOS 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 mg·kg ⁻¹	MDA/nmol·mg ⁻¹	NO/μmol·g ⁻¹	NOS/U·mg ⁻¹
正常	-	1.82 ± 0.32	5.83 ± 0.42	0.68 ± 0.10
模型	-	3.81 ± 0.16 ⁴⁾	13.04 ± 2.18 ⁴⁾	1.23 ± 0.28 ⁴⁾
空白微乳凝胶	-	3.20 ± 0.14	12.27 ± 1.89	1.12 ± 0.18
川芎嗪	15	2.68 ± 0.16 ¹⁾	9.54 ± 0.94 ¹⁾	0.74 ± 0.13 ²⁾
川芎嗪微乳凝胶	7.5	2.78 ± 0.32 ¹⁾	9.92 ± 1.22 ¹⁾	0.86 ± 0.16 ¹⁾
	15	2.43 ± 0.15 ²⁾	8.61 ± 1.19 ¹⁾	0.78 ± 0.15 ²⁾
	30	1.94 ± 0.12 ²⁾	6.94 ± 1.35 ²⁾	0.72 ± 0.19 ²⁾

4 讨论

腹腔粘连是腹盆腔手术后常见的并发症,许多因素与术后肠粘连的形成有关,如手术损伤、异物残留、组织缺血等。这些因素引起肠管组织损伤、炎症反应,而浸润的炎症细胞释放细胞因子,氧化应激等被认为是导致肠管粘连形成的触发机制。

IL-18 又名 γ -IFN 诱导子,是一种重要的致炎性细胞因子,在炎症和免疫应答中起着重要作用。Siegmond B^[11] 用重组 IL-18 抗体治疗小鼠结肠炎,能抑制体重减轻、结肠短缩及局部炎症反应,并减少多种促炎细胞因子、趋化因子和基质金属蛋白酶 mRNA 的上调。Chikano S 等^[12] 每日给野生型小鼠腹腔内注射 IL-12 和 IL-18 诱发了明显的肠黏膜炎症及脂肪肝。

IL-18 通过与细胞膜上的 IL-18 受体 (IL-18 receptor, IL-18R) 结合而发挥作用。当 IL-18 与 IL-18R 结合后直接导致 IL-1 受体相关激酶 (IRAK) 磷酸化,进而通过 NF- κ B 上调相关基因的表达,导致下游炎性因子 TNF- α 、IL-6 等表达增加,这些因子又进行反馈调节,形成复杂的网络结构,最终导致组织

损伤^[13]。

NO 是由 NOS 催化精氨酸生成。NOS 活性升高,使过度释放的 NO 与超氧阴离子等活性氧直接反应形成有毒性的羟自由基,破坏细胞的氧化还原状态,导致细胞的损害^[14]。MDA 是超氧化物阴离子自由基作用于生物膜磷脂结构不饱和脂肪酸所形成的终产物之一,其产生的量与氧自由基的量相平衡,所以,MDA 的含量可以反映脂质过氧化物的生成量,据此可以推断机体内的脂质过氧化损伤情况。SOD 对维持机体的氧化与抗氧化平衡起着重要作用,催化超氧化物阴离子自由基歧化为 H₂O₂ 和 O₂,从而保护机体免受自由基伤害,SOD 活性的高低间接反映了动物机体清除自由基的能力。GSH 是组织中主要的非蛋白类含硫化合物,也是体内重要的抗氧化物质,具有抗脂质过氧化、清除自由基的作用。谷胱甘肽过氧化物酶 (GPx) 是抗氧化酶系的重要成员,它通过催化谷胱甘肽 (GSH) 还原氢过氧化物,能有效地清除生物体内的自由基,从而保护细胞免受氧化损伤。过氧化氢酶 (CAT) 是一种酶类清除剂,它可促使 H₂O₂ 分解为分子氧和水,清除体内的

过氧化氢,从而使细胞免于遭受 H_2O_2 的毒害,是生物防御体系的关键酶之一^[15]。因此,检测组织中 SOD, GSH, CAT, GPx, MDA, NO 及 NOS 的水平高低,就可以反映机体抗氧化能力的变化及组织的损伤情况。

本研究显示,与正常组相比,模型组发生肠粘连时腹腔液 IL-6, IL-18 和 TNF- α 含量明显增高,粘连组织 MDA, NO, NOS 的活性均明显增强($P < 0.01$), CAT, GPx, GSH, SOD 活性明显下降($P < 0.01$)。与模型组相比,川芎嗪微乳凝胶中、高剂量组腹腔液 IL-6, IL-18 和 TNF- α 的水平明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),粘连组织 MDA, NO, NOS 的活性明显下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), CAT, GPx, GSH, SOD 的明显活力增强($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),这样可有效清除超氧阴离子自由基,减少氧自由基的生成,保护细胞免受损伤,对机体损伤形成保护。川芎嗪微乳凝胶减轻肠粘连的程度,对肠粘连具有防治作用的机制可能是通过下调 IL-18 的表达,进而使相关基因的表达下调,导致下游炎性因子 TNF- α 、IL-6 等表达减少,同时对对抗肠组织过氧化损伤有关。

[参考文献]

[1] Alpay Z, Saed G M, Diamond M P. Female infertility and free radicals: Potential role in adhesions and endometriosis [J]. J Soc Gynecol Investig, 2006, 13 (6):390.

[2] Andraus W, Souza G F P, Oliveira M G, et al. S-Nitroso-n-acetylcysteine ameliorates ischemia-reperfusion injury in the steatotic liver [J]. Clinics, 2010, 65 (7):715.

[3] Yildiz H, Durmus A S, Simsek H. Surgery-induced changes in red blood cell and plasma lipid peroxidation, enzymatic and non-enzymatic antioxidants, and blood hematology of female rats: protective role of methylene blue and vitamin E [J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2011, 155 (1):89.

[4] Yuzbasioglu M F, Ezberci F, Imrek E, et al. The effect of intraperitoneal catalase on prevention of peritoneal

adhesion formation in rats [J]. J Invest Surg, 2008, 21 (2):65.

[5] 李文明,刘洪涛,李秀英,等.川芎嗪对脂多糖诱导的血管内皮细胞损伤的影响 [J]. 中国药理学通报, 2009, 25 (11):1516.

[6] 李文明,刘洪涛,李佳佳,等.川芎有效成分的体外抗氧化研究 [J]. 食品与生物技术学报, 2010, 29 (1):64.

[7] 张楚光,杨冠群.川芎嗪腹腔灌注治疗肠粘连 6 例 [J]. 实用医学杂志, 2000, 16 (4):319.

[8] 黄桂红,杨柳青.川芎嗪微乳凝胶的制备及体外释放度的研究 [J]. 中国医药指南, 2012, 10 (3):229.

[9] Ellis H. The causes and prevention of intestinal adhesions [J]. Br J Surg, 1982, 69 (5):241.

[10] Nair S K, Bhat I K, Aurora A L. Role of proteolytic enzyme in the prevention of postoperative intraperitoneal adhesions [J]. Arch Surg, 1974, 108 (6):849.

[11] Siegmund B, Fantuzzi G, Rieder F, et al. Neutralization of interleukin-18 reduces severity in murine colitis and intestinal IFN-gamma and TNF-alpha production [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2001, 281 (4):R1264.

[12] Chikano S, Sawada K, Shimoyama T, et al. IL-18 and IL-12 induce intestinal inflammation and fatty liver in mice in an IFN-gamma dependent manner [J]. Gut, 2000, 47 (6):779.

[13] Nold M, Goede A, Eberhardt W, et al. IL-18 initiates release of matrix metalloproteinase-9 from perinheral blood mononuclear cells without affecting tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-1: suppression by TNF alpha blockage and modulation by IL-10 [J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Phannacd, 2003, 367 (1):68.

[14] Beltrame J F, Cutri N, Kopetz V, et al. The role of nitric oxide in the coronary slow flow phenomenon [J]. Coron Artery Dis, 2014, 25 (3):187.

[15] 田亚平. 自由基生命科学进展 [M]. 北京:原子能出版社, 2004.

[责任编辑 聂淑琴]