

[文章编号] 1000-2200(2011)04-0332-03

· 基础医学 ·

姜黄素对椎板切除术后大鼠 硬膜外瘢痕组织中羟脯氨酸含量的影响

张 伟¹, 王立新²

[摘要]目的:观察姜黄素对椎板切除术后大鼠硬膜外瘢痕组织中羟脯氨酸含量的影响,探讨其作用机制。方法:36只SD大鼠手术切除L₁椎板后造成0.3 cm×0.5 cm硬脊膜裸露区,随机分为3组。空白对照组(A组)不作任何治疗;胶原蛋白海绵组(B组)、姜黄素胶原蛋白海绵组(C组)分别在椎板缺损处放置0.5 cm×0.7 cm胶原蛋白海绵和吸收姜黄素二甲基亚砜溶液(0.25 g/ml)的胶原蛋白海绵。术后4周进行瘢痕组织羟脯氨酸含量测定,并按Rydell法大体评定粘连程度。结果:B、C组硬膜外瘢痕组织中羟脯氨酸含量均低于A组($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$)。Rydell分级显示,C组与A组差异有统计学意义($P < 0.01$),而B组与A组差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论:姜黄素能减少椎板切除术后硬膜外瘢痕生成,抑制胶原纤维的形成。

[关键词] 椎板切除术;姜黄素;硬膜外瘢痕增生;羟脯氨酸

[中国图书资料分类法分类号] R 687.3 **[文献标识码]** A

Effect of curcumin on content of hydroxyproline in the epidural scar tissue of rats after laminectomy

ZHANG Wei¹, WANG Li-xin²

(1. Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030; 2. Department of Osteology,
Lianyungang Second People's Hospital, Lianyungang Jiangsu 222023, China)

[Abstract] **Objective:** To observe and evaluate the effect of curcumin on content of hydroxyproline in the epidural scar tissue of rats after laminectomy, and to explore its mechanism. **Methods:** Thirty-six SD rats with 0.3 cm×0.5 cm epidural exposed area after L₁ laminectomy surgery were randomly divided into 3 groups. The control group (group A) received no treatment; the collagen sponge group (group B) and the curcumin collagen sponge group (group C) were respectively placed 0.5 cm×0.7 cm collagen sponge and collagen sponge absorbing curcumin dimethyl sulfoxide solution (0.25 g/ml) in the laminectomy defect. Four weeks later, the level of hydroxyproline in the scar tissue was determined, and the degree of peridural adhesion was generally evaluated according to the Rydell standard. **Results:** The content of hydroxyproline in group B and group C was lower than that in group A ($P < 0.05$ and $P < 0.01$). **Conclusions:** Curcumin can reduce epidural scar production and inhibit the formation of collagen fibers.

[Key words] laminectomy; curcumin; epidural scar; hydroxyproline

腰椎间盘突出症和(或)腰椎管狭窄症患者临床上给予椎板部分切除治疗,但术后硬膜外纤维瘢痕粘连,造成硬膜囊和(或)神经根受压,引起腰椎失败综合征,致手术效果大打折扣,使持续性或复发性腰腿痛不能缓解,此观点已为国内外大多数学者所公认^[1]。因此,对于如何预防和阻止硬膜外纤维化及粘连、瘢痕形成的研究具有重要的理论及临床意义。姜黄素是植物姜黄的主要活性成分,具有抗感染、抗氧化、抗纤维化、抗癌等多种功效^[2]。因此,本实验旨在观察姜黄素预防椎板切除术后硬膜

外瘢痕的形成情况和其对瘢痕组织中羟脯氨酸(hydroxyproline, HOP)含量的影响,探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 药物与试剂 姜黄素(美国Sigma公司,批号:048k0704);胶原蛋白海绵(无锡贝迪生物工程有限公司,批号:20080702);HOP试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号:20090927)。

1.2 动物及模型 36只健康雄性SD大鼠由江苏大学实验动物中心提供,体重200~220 g,随机分为空白对照组(A组)、胶原蛋白海绵组(B组)和姜黄素胶原蛋白海绵组(C组)。实验动物术前12 h禁食,6 h禁水,手术均同时进行。大鼠用1.5%戊巴比妥钠(2.5 ml/kg)腹腔注射麻醉后,背部脱毛备皮,在无菌条件下取腰背部正中切口,向两侧分离骶

[收稿日期] 2010-09-17

[作者单位] 1. 蚌埠医学院,安徽蚌埠233030; 2. 江苏省连云港市第二人民医院 骨科,222023

[作者简介] 张 伟(1977-),男,硕士研究生,主治医师。

[通讯作者] 王立新,硕士研究生导师,副主任医师。E-mail: wlxdoc@sohu.com

棘肌,剪去 L_{1,2}棘突,去除 L₁椎板暴露硬脊膜,造成椎板缺损。A 组:彻底止血后,直接逐层缝合切口。B 组:暴露硬脊膜后,剪裁与创面大小相应的胶原蛋白海绵片,紧密覆盖在硬脊膜表面后,逐层缝合切口。C 组:将胶原蛋白海绵片剪成适宜大小,姜黄素易溶于二甲基亚砷溶液,配制成姜黄素二甲基亚砷溶液(0.25 g/ml),胶原蛋白海绵充分吸收姜黄素药液后,覆盖在硬脊膜表面,逐层缝合切口。

1.3 观察指标 术后所有动物在同一条件下分笼,

$$\text{HOP 含量}(\mu\text{g}/\text{mg}) = \frac{(\text{测定管 A 值} - \text{空白管 A 值})}{(\text{标准管 A 值} - \text{空白管 A 值})} \times \text{标准管含量}(5 \mu\text{g}/\text{ml}) \times \frac{\text{水解液总体积}(10 \text{ ml})}{\text{组织湿重}(\text{mg})}$$

1.4 硬膜外粘连判定标准 在取标本时肉眼观察硬膜外粘连情况。参考 Rydell 的评分标准,将硬膜外粘连程度分为 4 级。0 级:硬膜囊与瘢痕组织或移植物无明显粘连;I 级:硬膜外有稀疏而散在的膜性粘连,瘢痕组织或充填物易与硬膜囊钝性分离;II 级:硬膜囊与瘢痕组织粘连较广泛和致密,钝性分离阻力较大,分离后硬膜囊仍保持完整;III 级:粘连广泛、致密,硬膜囊与瘢痕无法钝性分离,锐性分离后的硬膜囊难以保持完整。

1.5 统计学方法 采用秩和检验和方差分析及 q 检验。

2 结果

2.1 大体观察 所有动物切口愈合良好,步态正常,无感染、死亡。C 组硬膜与瘢痕粘连轻,易分离,分离后硬膜完整。B 组硬膜与瘢痕粘连致密,需钝性或锐性分离,分离后部分硬膜不完整,部分硬膜虽完整,但表面不光滑,有瘢痕组织附着。A 组硬膜与瘢痕粘连紧密,硬膜与瘢痕无法钝性分离。Rydell 分级显示,C 组与 A 组差异有统计学意义($P < 0.01$),而 B 组与 A 组差异无统计学意义($P > 0.05$)(见表 1)。

表 1 肉眼观察 Rydell 分级比较(n)

分组	n	Rydell 分级				Hc	P
		0	I	II	III		
A	6	0	0	1	5		
B	6	0	0	2	4	12.27	<0.01
C	6	3	2	1	0 ^{*ΔΔ}		
合计	18	3	2	4	9		

两两比较秩和检验:与 A 组比较 * * $P < 0.01$;与 B 组比较 $\Delta \Delta P < 0.01$

2.2 硬膜外瘢痕组织中 HOP 含量测定 B 组和 C

恒温环境中全价饲料喂养。术后观察动物精神、饮食状态,肢体功能及切口愈合情况。如果发现动物死亡,及时补齐动物数目,与原实验完全相同的条件下完成补造模。术后 4 周每组取 6 只动物(其余 6 只用作形态学观察),切取手术段脊柱硬脊膜后部 0.12 cm × 0.11 cm × 0.15 cm 肌肉瘢痕组织,漂洗、组织称重、匀浆,离心取上清,消化,加入 HOP 显色剂,测定吸光度(A),推算出湿组织 HOP 的含量($\mu\text{g}/\text{mg}$)。

组 HOP 含量均低于 A 组($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$),B 组与 C 组差异有统计学意义($P < 0.01$)(见表 2)。

表 2 硬膜外瘢痕组织中 HOP 的含量比较($\bar{x} \pm s; \mu\text{g}/\text{mg}$ 湿组织)

分组	n	HOP 含量($\bar{x} \pm s$)	F	P	MS _{组内}
A	6	12.41 ± 1.96			
B	6	10.12 ± 1.47*	29.80	<0.01	2.741
C	6	5.19 ± 1.49 ^{*ΔΔ}			

q 检验:与 A 组比较 * $P < 0.05$, * * $P < 0.01$;与 B 组比较 $\Delta \Delta P < 0.01$

3 讨论

椎板部分切除术是脊柱外科常用的手术治疗方法,其局部组织缺损的修复主要是通过纤维结缔组织增生和瘢痕形成来完成,大约 4 周瘢痕组织形成趋向成熟。瘢痕组织在椎管内尤其是后方形成所谓的“椎板切除膜”是一种非特异性术后炎症反应过程的必然结果,术后因硬膜外瘢痕粘连牵拉压迫硬膜、神经根使神经营养与传导障碍,引起临床上腰腿疼痛症状复发,严重影响手术疗效。近年来国内外学者^[3-4]对自体脂肪、壳聚糖、骨及自体真皮、非甾体抗炎药、Adcon-L、放射线照射等预防硬膜外瘢痕粘连做了大量研究,取得一定效果,但并没有哪一种在效果上表现出绝对优势,并且发现了脂肪组织的坏死、感染,材料的异物残留,后期效果不理想等情况。

本研究所选姜黄素系植物姜黄中提取的活性成分,安全无毒副作用^[5],近几年大量文献^[6-9]报道其具有抗器官纤维化的作用,并且在体外培养的瘢痕组织成纤维细胞中姜黄素对其胶原的合成表现出明显抑制作用。主要机制有:(1)抑制炎症细胞渗出与趋化,减少促纤维化细胞因子产生和释放;(2)抑

制细胞增殖,诱导细胞凋亡;(3)减少 HOP、I 型胶原等细胞外基质成分的沉积;(4)通过抑制基质金属蛋白酶抑制剂表达,提高基质金属蛋白酶活性来降解细胞外基质成分;(5)抑制 TGF β 1 表达,阻断 Smads 信号转导途径,从而减少细胞外基质成分分泌。

HOP 是机体的一种非必需氨基酸,为胶原组织的主要成分,约占胶原氨基酸总量的 13.4%。而瘢痕组织是由胶原的异常积聚形成的。胶原以外的蛋白质,除弹性硬蛋白含有 1%~2% HOP 外,均不含 HOP。因此,组织中的 HOP 含量成为衡量机体胶原组织代谢的重要指标。本次实验结果表明,术后 4 周时,C 组硬膜外粘连较 A、B 组轻;硬膜外瘢痕组织中 HOP 含量显著少于 A、B 组,表明姜黄素明显抑制椎板切除术后硬膜外胶原组织增生及代谢,从而减少瘢痕组织的形成,达到减轻粘连的作用。

综上所述,局部应用姜黄素可以预防硬膜外早期纤维化的作用,能够减少细胞外基质成分,减缓纤维化病变的进展、形成和发展;又由于姜黄素价格低廉、资源丰富、无明显毒副作用。因此,姜黄素具有良好的临床应用潜力,但其具体的作用机制仍有待于进一步深入研究。

[参 考 文 献]

[1] Gasifski P, Radek M, Józwiak J, *et al.* Peridural fibrosis in lumbar

disc surgery-pathogenesis, clinical problems and prophylactic attempts[J]. *Neurol Neurochir Pol*, 2000, 34(5): 983-993.

- [2] 李斌,杨丽霞,李亚东,等.姜黄素抗纤维化作用研究进展[J]. *北京中医药大学学报*, 2008, 31(6): 408-411.
- [3] Gambardella G, Gervasio O, Zaccone C, *et al.* Prevention of recurrent radicular pain after lumbar disc surgery: a prospective study[J]. *Acta Neurochir Suppl*, 2005, 92: 151-154.
- [4] 刘双利,侯春林,魏长征,等.新型亮聚糖衍生物预防椎板切除术后硬膜外粘连的实验研究[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2009, 19(10): 769-773.
- [5] Dandekar P, Dhupal R, Jain R, *et al.* Toxicological evaluation of pH-sensitive nanoparticles of curcumin: acute, sub-acute and genotoxicity studies [J]. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48(8/9): 2073-2089.
- [6] Pari L, Murugan P. Influence of tetrahydrocurcumin on tail tendon collagen contents and its properties in rats with streptozotocin-nicotinamide-induced type 2 diabetes[J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2007, 21(6): 665-671.
- [7] Jiang Y, Li ZS, Jiang FS, *et al.* Effects of different ingredients of zedoary on gene expression of HSC-T6 cells [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(43): 6780-6786.
- [8] 周刚,牛建昭,王继峰,等.姜黄素抗肺纤维化大鼠自由基损伤作用的实验研究[J]. *中国中药杂志*, 2006, 31(8): 669-672.
- [9] 胡晓龙,胡大海,韩勇彬,等.姜黄素对瘢痕疙瘩成纤维细胞胶原合成的影响[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(46): 9024-9027.

(本文编辑 刘璐)

(上接第 331 页)全身炎症反应,则有待进一步的临床研究和观察。

[参 考 文 献]

- [1] Arita M, Ohira T, Sun YP, *et al.* Resolvin E1 selectively interacts with leukotriene B4 receptor BLT1 and ChemR23 to regulate inflammation[J]. *J Immunol*, 2007, 178(6): 3912-3917.
- [2] Hasturk H, Kantarci A, Goguet-Surmenian E, *et al.* Resolvin E1 regulates inflammation at the cellular and tissue level and restores tissue homeostasis *in vivo* [J]. *J Immunol*, 2007, 179(10): 7021-7029.
- [3] Ariel A, Fredman G, Sun YP, *et al.* Apoptotic neutrophils and T cells sequester chemokines during immune response resolution through modulation of CCR5 expression[J]. *Nat Immunol*, 2006, 7(11): 1209-1216.
- [4] Li WD, Dong YJ, Tu YY, *et al.* Dihydroarteannuin ameliorates lupus symptom of BXSB mice by inhibiting production of TNF- α and blocking the signaling pathway NF- κ B translocation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2006, 6(8): 1243-1250.
- [5] Rittirsch D, Huber-Lang MS, Flierl MA, *et al.* Immunodesign of experimental sepsis by cecalligation and puncture [J]. *Nat Protoc*, 2009, 4(1): 31-36.
- [6] Moon DO, Kim KC, Jin CY, *et al.* Inhibitory effects of eicosapentaenoic acid on lipopolysaccharide-induced activation in BV2 microglia [J]. *Int Immunopharmacol*, 2007, 7(2): 222-

229.

- [7] Weldon SM, Mullen AC, Loscher CE, *et al.* Docosahexaenoic acid induces an anti-inflammatory profile in lipopolysaccharide-stimulated human THP-1 macrophages more effectively than eicosapentaenoic acid[J]. *J Nutr Biochem*, 2007, 18(4): 250-258.
- [8] Tsou SS, Chiu WC, Yeh CL, *et al.* Effects of omega-3 fatty acids on inflammatory mediators and splenocyte cytokine mRNA expressions in rats with polymicrobial sepsis[J]. *Nutrition*, 2008, 24(5): 484-491.
- [9] Xiong J, Zhu S, Zhou Y, *et al.* Regulation of omega-3 fish oil emulsion on the SIRS during the initial stage of severe acute pancreatitis[J]. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci*, 2009, 29(1): 35-38.
- [10] Wang X, Li W, Li N, *et al.* Omega-3 fatty acids-supplemented parenteral nutrition decreases hyperinflammatory response and attenuates systemic disease sequelae in severe acute pancreatitis: a randomized and controlled study[J]. *J Parenter Enteral Nutr*, 2008, 32(3): 236-241.
- [11] Oz HS, Chen TS, Neuman M. Nutrition intervention: a strategy against systemic inflammatory syndrome [J]. *J Parenter Enteral Nutr*, 2009, 33(4): 380-389.

(本文编辑 章新生)