

川芎嗪纳米喷雾剂对抗实验性腹腔粘连模型大鼠的最佳有效剂量

朱燕, 李文林, 曾莉, 毛春芹, 王晓雯(南京中医药大学, 江苏省南京市 210046)

文章亮点:

1 课题组将中药有效成分与纳米技术结合, 制备成川芎嗪纳米制剂, 改善了传统剂型的不足, 构建了缓释性、稳定性、安全性、载药效率高的给药系统, 并采用喷雾剂的形式于术后腹腔内一次性靶向给药, 对腹腔粘连起到多重防治效果。

2 同时对川芎嗪纳米喷雾剂抗大鼠实验性腹腔粘连的最佳有效剂量进行探讨, 综合考虑药物的浓度较低, 给药方式为腹腔喷雾给药, 给药总量的限制, 认为选择 5 mg/kg 为最佳有效的剂量。

关键词:

实验动物; 组织构建; 川芎嗪; 纳米制剂; 腹腔粘连; 剂量选择

主题词:

模型, 动物; 中草药; 纳米技术; 组织粘连

基金资助:

2013年江苏省中医药局科技项目(LZ13006); 2013年南京中医药大学青年自然科学基金项目(13XZR09)

摘要

背景: 临床应用川芎嗪防治外科治疗后腹腔粘连和粘连性肠梗阻时取得明显疗效。

目的: 为了达到缓释性并且提高临床疗效, 将川芎嗪同纳米技术结合制备成川芎嗪纳米喷雾剂, 探讨其抗大鼠实验性腹腔粘连的最佳有效剂量。

方法: 将 80 只大鼠随机分为 5 组: 模型组、透明质酸钠组、川芎嗪纳米喷雾剂低、中、高剂量组, 每组 16 只。以钝刀法建立腹腔粘连大鼠模型, 模型组直接关腹, 其余各组大鼠分别于造模后腹腔涂抹透明质酸钠凝胶、喷涂川芎嗪纳米喷雾剂 2.5, 5, 10 mg/kg。分别于造模后 1, 2 周处死, 观察粘连情况, 记录粘连得分, 粘连组织切片进行苏木精-伊红染色, 观察粘连组织病理改变, Elisa 法测定大鼠腹腔液转化生长因子 $\beta 1$ 的水平。

结果与结论: 川芎嗪纳米喷雾剂具有缓释作用, 延长了药物的作用时间, 从而达到了更好的抗术后粘连的作用。其中以川芎嗪纳米喷雾剂中、高剂量抗粘连效果最好; 川芎嗪纳米喷雾剂中、高剂量组可以对粘连模型大鼠腹腔液转化生长因子 $\beta 1$ 水平的升高有较好的改善作用。综合考虑药物的浓度较低, 给药方式为腹腔喷雾给药, 因给药总量的限制, 选择 5 mg/kg 为最佳有效的剂量。

朱燕, 李文林, 曾莉, 毛春芹, 王晓雯. 川芎嗪纳米喷雾剂对抗实验性腹腔粘连模型大鼠的最佳有效剂量[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(36):5799-5804.

朱燕, 女, 1979 年生, 江苏省仪征市人, 汉族, 在读博士, 实验师, 主要从事中医外科创伤修复研究。

通讯作者: 李文林, 博士, 教授, 南京中医药大学, 江苏省南京市 210046

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2014.36.011
[http://www.crter.org]

中图分类号:R318

文献标识码:B

文章编号:2095-4344

(2014)36-05799-06

稿件接受: 2014-06-09

Optimal dose of Ligustrazine nanoparticles in a rat model of experimental peritoneal adhesion

Zhu Yan, Li Wen-lin, Zeng Li, Mao Chun-qin, Wang Xiao-wen (Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, Jiangsu Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Ligustrazine can effectively prevent and treat peritoneal adhesion and adhesive ileus after surgical treatment.

OBJECTIVE: To prepare Ligustrazine nanoparticle spray which is prepared to achieve sustained release and improve clinical efficacy and to explore its optimal dose for preventing experimental peritoneal adhesions in rats.

METHODS: Eighty rats were randomly divided into five groups: model group, sodium hyaluronate group, high-, medium- and low-dose Ligustrazine nanoparticle groups, with 16 rats in each group. After peritoneal adhesion model was established with rasp method, model group was immediately subject to abdomen-closing, while sodium hyaluronate group and Ligustrazine nanoparticle groups received sodium hyaluronate smearing and Ligustrazine nanoparticle spray (2.5, 5, 10 mg/kg), respectively. All rats were killed at 1 and 2 weeks after modeling, to observe adhesions. The adhesion score was recorded. The adhesive tissue sections were stained with hematoxylin-eosin for pathological changes. The level of transformation growth factor- $\beta 1$ in peritoneal fluid of rats was detected with ELISA assay.

RESULTS AND CONCLUSION: Ligustrazine Nanoparticle spray had a sustained release effect, and prolonged the duration of action of drugs, thus achieving a better anti-adhesion effect post-surgery. The medium- and high-dose Ligustrazine nanoparticle sprays exhibited better anti-adhesion effects, and improved the rise of transformation growth factor- $\beta 1$ level in the peritoneal fluid. As the drug concentration is low, the intraperitoneal

Zhu Yan, Studying for doctorate, Experimentalist, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, Jiangsu Province, China

Corresponding author: Li Wen-lin, M.D., Professor, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, Jiangsu Province, China

Accepted: 2014-06-09

administration in a spray manner is preferred. Because the total dose is limited, we define the optimal effective dose as 5 mg/kg.

Subject headings: models, animal; drugs, Chinese herbal; nanotechnology; tissue adhesions

Funding: Science and Technology Program of Jiangsu Provincial Traditional Chinese Medicine Bureau in 2013, No. LZ13006; Youth Natural Science Foundation of Nanjing University of Chinese Medicine in 2013, No. 13XZR09

Zhu Y, Li WL, Zeng L, Mao CQ, Wang XW. Optimal dose of Ligustrazine nanoparticles in a rat model of experimental peritoneal adhesion. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2014;18(36):5799-5804.

0 引言 Introduction

腹腔粘连是在腹腔脏器之间或腹腔脏器与腹壁之间形成的范围不定的粘连或纤维索带, 它能导致慢性腹痛、腹胀、女性不孕症等诸多后果, 严重者会出现肠梗阻和肠坏死^[1]。临床实践证实手术技巧的提高、腹腔镜等设备的应用仅能减轻腹膜的损伤, 仍不能有效预防术后粘连形成^[2], 其发病率在上腹部外科治疗后为93%~100%, 在下腹部外科治疗后为67%~93%^[3], 且粘连二次手术后再发率高达90%~100%^[4]。

Meta分析显示: 外科治疗后腹腔粘连难以避免^[5], 预防粘连药物的优化仍是外科临床面临的重要问题。本研究团队一直将腹部手术后粘连的控制作为研究工作的重点, 应用中医药防治术后腹腔粘连十余年。前期工作中, 以活血化瘀防治术后腹腔粘连和粘连性肠梗阻取得明显疗效^[6]。进一步实验研究, 证实活血化瘀中药能够调控腹腔粘连各个阶段的多种生长因子和细胞因子, 通过上调腹膜间皮细胞的增殖和纤溶酶源激活剂(tPA)、抑制纤溶酶源激活物抑制剂(PAI)分泌, 调节纤溶机制从而抑制术后腹腔粘连的发生^[7]。

常用活血化瘀代表性药物有丹参、当归、川芎等。其中, 唯有川芎为“血中之气药”, 既能活血祛瘀通络又能行气开郁止痛, 具通达气血之独特功效。据此研究团队就其抗腹腔粘连作用进行了比较研究, 发现川芎的主要成分川芎嗪明显优于丹参主成分丹参酮等^[8]。川芎嗪是从川芎的根中提取的生物碱, 是川芎的有效成分之一, 具有广泛的药理作用和临床应用^[9]。外科临床应用时发现川芎嗪对防治术后腹腔粘连有明显效果, 亦有研究证实川芎嗪能有增加微血管的开放数目, 加快微循环的血流速度、抗血小板凝集、抑制平滑肌收缩及抗炎等作用^[10], 以及抗腹膜间皮细胞损伤和防治腹膜纤维化的作用^[11-12], 显示出川芎嗪在防治腹腔粘连方面的优势和广阔的研究及应用前景。

近年来纳米技术发展迅速, 且在许多领域都得以应用, 它的主要特点是可以使药物颗粒溶解度增加、增加吸收提高生物利用度、通过血脑屏障定向作用、靶向性、控缓释等作用^[13-14]。作者将川芎嗪制成纳米喷雾剂, 对其防治腹腔粘连的机制进行实验研究, 作为一新型剂型, 应对其最佳有效剂量进行摸索, 为进一步的药效及机制研究提供基础依据。

1 材料和方法 Materials and methods

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 2012年10月至2013年5月在南京中医药大学药学院实验中心完成。

材料:

实验动物: 成年SD大鼠80只, 体质量(200±20) g, 雌雄各半, 由浙江省实验动物中心提供, 自由采食饮水。

川芎嗪纳米喷雾剂抗大鼠实验性腹腔粘连实验所用试剂与仪器:

试剂与仪器	来源
川芎嗪原料	南京泽郎医药科技有限公司
透明质酸钠凝胶	山东博士伦福瑞达制药有限公司
10%水合氯醛麻醉剂	国药集团化学试剂有限公司
川芎嗪纳米喷雾剂	自制
转化生长因子β1试剂盒	南京丁贝公司
定量喷雾瓶	万通(苏州)定量阀系统有限公司
显微镜	OLYMPUS
酶标仪	美国 Bio-Tek 公司
精密移液器	法国杰尔森公司

实验方法:

川芎嗪纳米喷雾剂的制备: 以投料比1:4的比例取川芎嗪和聚乳酸溶于丙酮溶液, 并且使得丙酮溶液中聚乳酸的浓度为20 g/L, 此溶液作为油相; 取体积为油相体积4倍量的0.25%泊洛沙姆溶液作为水相, 将油相在高速磁力搅拌的条件下注入水相之中, 在恒温30℃的条件下继续高速搅拌70 min, 挥尽丙酮, 得1 g/L平均粒径约为200 nm的川芎嗪纳米粒溶液。将溶液灌装, 密封, 经辐射灭菌之后即可得到川芎嗪纳米粒喷雾剂。所制备的川芎嗪聚乳酸纳米粒包封率稳定, 透射电镜下观察所得纳米粒为类球形实体, 表面光滑不粘连, 粒径分布的范围较窄, 平均粒径在210 nm左右, 平均粒径分散度在0.09左右^[15]。

动物分组及造模: 将80只大鼠随机分为5组: 模型组、透明质酸钠组、川芎嗪纳米喷雾剂低剂量组、川芎嗪纳米喷雾剂中剂量组、川芎嗪纳米喷雾剂高剂量组, 每组16只, 各组又随机分为1周组、2周组。

以锉刀法建立腹腔粘连大鼠模型^[16], 实验大鼠术前禁食12 h, 用体积分数10%水合氯醛腹腔注射(3 mL/kg)麻

表1 SD大鼠造模后7, 14 d腹膜粘连情况

Table 1 Abdominal adhesion in each group at 7 and 14 days after modeling

(n=8)

组别	7 d						14 d								
	剂量(mg/kg)	0	I	II	III	粘连发生率(%)	平均评分($\bar{x}\pm s$)	剂量(mg/kg)	0	I	II	III	IV	粘连发生率(%)	平均评分($\bar{x}\pm s$)
模型组	-	1	1	4	2	87.5	1.88±0.99	-	2	1	1	2	2	75.0	2.12±1.64
透明质酸钠组	5	5	3			37.5	0.38±0.52 ^b	5	6	2				25.0	0.50±0.93 ^a
川芎嗪纳米喷雾剂低剂量组	2.5	3	2	2	1	62.5	1.12±1.13	2.5	4	2	1	1		50.0	0.88±0.88
川芎嗪纳米喷雾剂中剂量组	5	3	4	1		62.5	0.75±0.71 ^a	5	4	2	2			50.0	0.62±0.74 ^a
川芎嗪纳米喷雾剂高剂量组	10	5	2	1		37.5	0.50±0.76 ^b	10	6	1	1			25.0	0.62±1.18 ^a

表注: 川芎嗪纳米喷雾剂中、高剂量组抗粘连效果最佳。与模型组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ 。

表2 川芎嗪纳米喷雾剂对大鼠转化生长因子 $\beta 1$ 的影响Table 2 Effect of Ligustrazine nanoparticle spray on transformation growth factor- $\beta 1$ ($\bar{x}\pm s$, ng/L)

组别	剂量(mg/kg)	1周	2周
模型组	-	73.11±6.95	74.07±16.51
透明质酸钠组	5	50.99±8.48 ^b	52.60±12.21 ^a
川芎嗪纳米喷雾剂低剂量组	2.5	59.78±12.60	54.58±13.20
川芎嗪纳米喷雾剂中剂量组	5	60.16±9.64 ^a	51.70±11.27 ^a
川芎嗪纳米喷雾剂高剂量组	10	53.75±9.84 ^b	51.63±10.97 ^a

表注: 川芎嗪纳米喷雾剂中、高剂量组可以对粘连模型大鼠腹腔液转化生长因子 $\beta 1$ 水平的升高有较好的改善作用。与模型组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ 。

醉; 动物麻醉后仰卧位固定, 剪毛、毒后, 取前正中切口1.5 cm进腹; 回盲部右侧消面用什锦锉刀反复磨擦浆膜层至表面针尖状出血点, 形成约2 cm×1.5 cm的受损创面后, 空气暴露5 min后纳入腹腔。模型组直接关腹, 其余各组大鼠分别于造模后腹腔涂抹透明质酸钠凝胶、喷涂川芎嗪纳米喷雾剂2.5, 5, 10 mg/kg, 给药后逐层关腹, 皮肤消毒。分笼饲养。

粘连评分及发生率评价方法:

一般情况观察: 造模后大鼠是否存活至实验完成, 切口愈合及饮食情况。

Phillips分级评分: 分别于造模后1周、2周禁食采用颈椎脱臼法处死动物, 剑突下“ \sim ”型切口进腹, 由1名未参与手术者根据Phillips五分级标准对2 cm×1.5 cm的受损创面进行观察粘连情况, 分别记录粘连得分。

Phillips分级标准: 0级: 无粘连, 计0分; I级: 粘连面积<20%, 计1分; II: 粘连面积20%~40%, 计2分; III: 粘连面积41%~60%, 计3分; IV: 粘连面积>60%, 计4分。

粘连部位病理学观察: 标本处理: 每只大鼠取粘连处肠壁组织1块, 用体积分数4%甲醛固定, 梯度乙醇脱水、二甲苯透明, 石蜡包埋, 切片(4 μ m厚)。切片进行苏木精-伊红染色, 结果于OLYMPUS显微镜(放大倍数×100、×200)下观察、拍照, 观察粘连组织肠壁浆膜层修复情况,

盲肠壁浆膜侧纤维结缔组织增生及胶原化的程度等。

Elisa法测定大鼠腹腔液转化生长因子 $\beta 1$ 水平: 分别于造模后1周、2周处死大鼠, 收集大鼠腹腔液保存, 按试剂盒操作, 测定各组大鼠腹腔液转化生长因子 $\beta 1$ 水平。

主要观察指标: ①Phillips分级评分及粘连发生率。②腹腔粘连部位病理学情况。③川芎嗪纳米喷雾剂对大鼠腹腔液转化生长因子 $\beta 1$ 的影响。

统计学分析: 所得数据均用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 显著性检验采用SPSS 16.0统计分析软件, 进行 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有显著性意义, $P < 0.01$ 为差异有非常显著性意义。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 实验选用大鼠80只, 分为5组, 实验过程无脱失, 全部进入结果分析。

2.2 大鼠一般情况 在整个实验过程中, 大鼠切口愈合均良好, 无感染。造模后1 d, 各组动物状态不佳, 活动减少, 进少量水和食物。造模后3 d大部分大鼠开始状态回升, 活动较之前增加, 饮水和进食已基本接近正常。

2.3 Phillips分级评分及粘连发生率 SD大鼠造模后7, 14 d腹膜粘连评分统计结果见表1。

从表1可以看出, 各组平均评分与粘连模型组比较, 川芎嗪纳米喷雾剂中剂量组存在显著性差异; 透明质酸钠组、川芎嗪纳米喷雾剂高剂量组差异存在非常显著性意义($P < 0.01$)。各组平均评分与模型组比较, 透明质酸钠组、川芎嗪纳米喷雾剂中、高剂量组存在显著性差异($P < 0.05$)。由结果可知, 川芎嗪纳米喷雾剂中、高剂量组抗粘连效果最佳。

2.4 腹腔粘连部位病理学情况 在1周组与2周组中, 模型组部分区域肌层结构不连续, 浆膜层亦明显增厚且不连续, 浆膜面可见大量纤维结缔组织增生。

透明质酸钠组肌层结构完好, 浆膜层轻度增厚, 浆膜面纤维结缔组织增生不明显。

川芎嗪纳米喷雾剂各给药组均比模型组有所改善。说明川芎嗪纳米喷雾剂有一定的预防粘连的作用。2周组较1周组, 各给药组均有所改善。但以川芎嗪纳米喷雾剂组对结缔组织增生等的改善效果较为显著, 且以川芎嗪纳米喷雾剂中、高剂量组改善最为显著(图1, 2)。

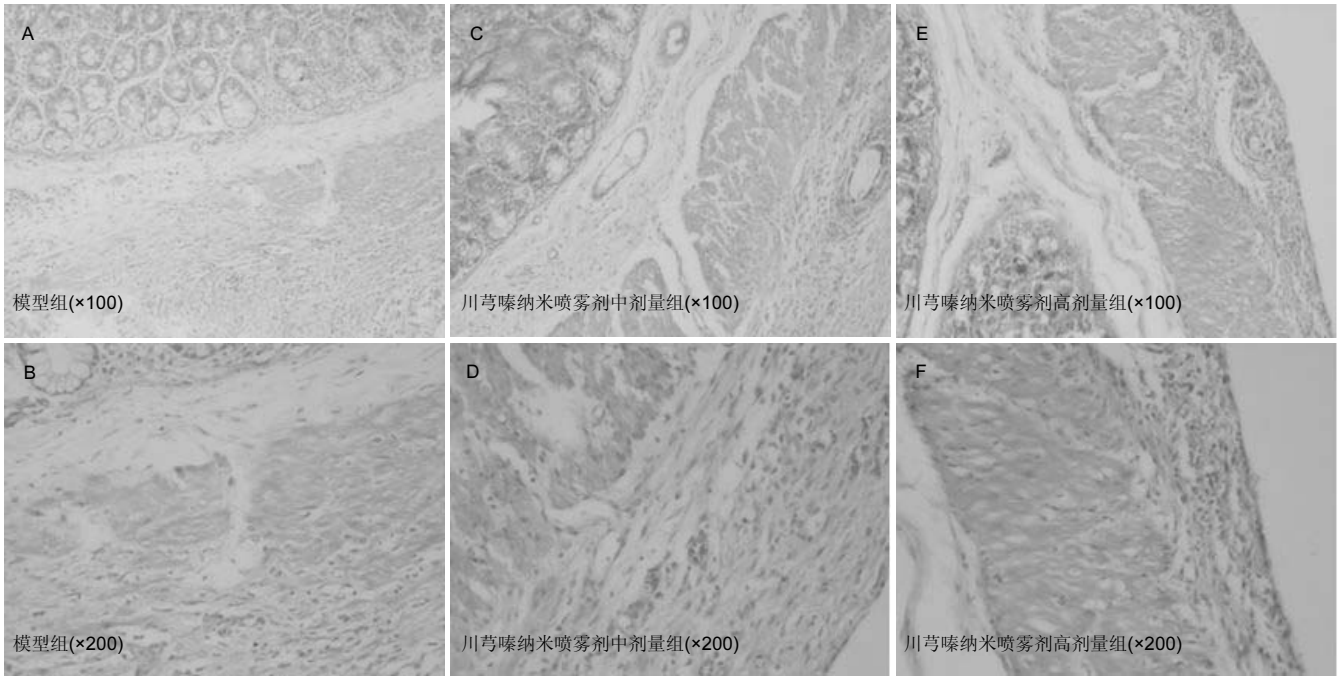


图 1 大鼠造模后 1 周腹腔粘连部位病理学结果(苏木精-伊红染色)

Figure 1 Pathological change of abdominal adhesion site in each group at 1 week after modeling (hematoxylin-eosin staining)

图注: 以川芎嗪纳米喷雾剂中、高剂量组改善结缔组织增生效果最为显著。

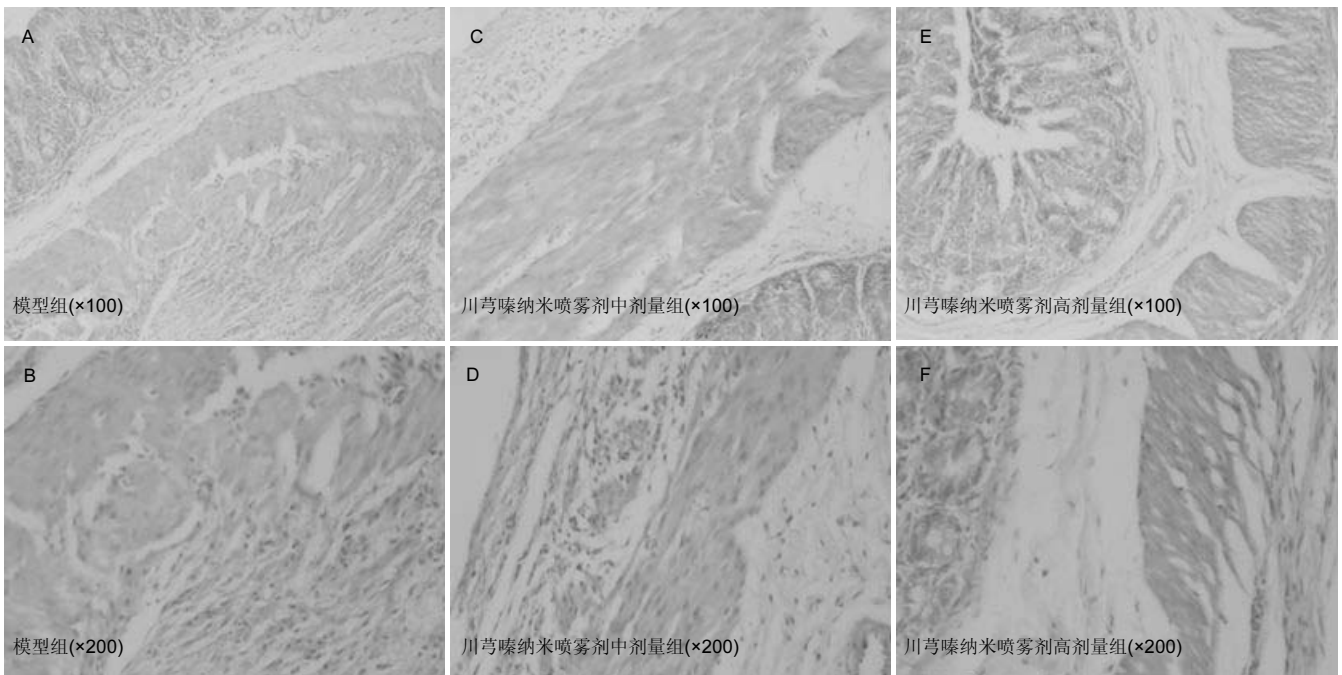


图 2 大鼠造模后 2 周腹腔粘连部位病理学结果(苏木精-伊红染色)

Figure 2 Pathological change of abdominal adhesion site in each group at 2 weeks after modeling (hematoxylin-eosin staining)

图注: 以川芎嗪纳米喷雾剂中、高剂量组改善结缔组织增生效果最为显著。

2.5 川芎嗪纳米喷雾剂对大鼠腹腔液转化生长因子 $\beta 1$ 的影响 按试剂盒操作, Elisa法测定各组大鼠腹腔液转化生长因子 $\beta 1$ 的含量(表2)。

实验结果显示: 1周时与模型组比较, 川芎嗪纳米喷雾剂中剂量组差异存在显著性意义, 透明质酸钠组、川芎嗪

纳米喷雾剂高剂量组差异存在非常显著性意义($P < 0.01$), 可见川芎嗪纳米喷雾剂中、高剂量组较粘连模型组的转化生长因子 $\beta 1$ 水平升高有明显的改善作用。

2周时与模型组比较, 透明质酸钠组、川芎嗪纳米喷雾剂中剂量组、川芎嗪纳米喷雾剂高剂量组差异存在显著性

意义。

由结果可知, 川芎嗪纳米喷雾剂中、高剂量组可以对粘连模型大鼠腹腔液转化生长因子 $\beta 1$ 水平的升高有较好的改善作用, 在抗术后粘连中发挥重要的作用。

3 讨论 Discussion

腹腔粘连是外科的疑难病种之一, 是腹部手术的常见并发症。腹腔粘连的形成与多种因素有关, 其主要病理学特点是腹膜间皮细胞的脱落, 胶原纤维排列混乱, 细胞外基质沉积及基底膜增厚^[17]。腹膜间皮细胞的完整性及功能正常与否是腹腔粘连形成的关键因素^[18], 多种生长因子和细胞因子参与调控纤维蛋白沉积和降解之间的平衡。其中转化生长因子 β 与粘连形成关系密切, 转化生长因子 $\beta 1$ 作为组织纤维化病变中最重要的促发因子, 在损伤、炎症及纤维化之间起桥梁作用^[19]。转化生长因子 β 被认为是促进血管外膜成纤维细胞表型转化的重要细胞因子, 通过正反馈调节, 延长损伤后血管外膜的炎症反应及纤维化作用^[20]。

国内外关于腹腔粘连的防治, 除提高手术技巧、改进手术方式^[21], 主要有屏障隔离、药物防治。护理干预等。防治腹腔粘连的最关键时间为治疗后7 d内^[22]。由于腹膜表面损伤是粘连形成的关键原因, 因此屏障隔离显示出较好的应用前景。常用有的透明质酸^[23-24]、羧甲基纤维素^[25]、几丁糖等^[26-27]。药物防治主要是抑制炎症反应, 防止纤维蛋白的沉积, 促进纤维蛋白的分解与吸收级促进胃肠动力等几方面协同作用, 从而起到防治腹腔粘连的作用。减轻或抑制炎症反应的药物常用的有抗生素、非类固醇类抗炎药物^[28]、氧自由基清除剂及钙通道阻滞剂等^[29]。防止纤维沉积的药物常用的有枸橼酸钠、肝素、奥曲肽等^[30]。促进纤维蛋白溶解吸收药物主要包括重组链激酶(r-sk)、抑肽酶和重组组织纤溶酶原激活剂(rt-PA)等^[31]。促进胃肠动力药物主要有西沙必利、新斯的明等^[32]。另外还有转化生长因子 β 多抗可抑制转化生长因子 β 的表达^[33], 预防腹腔粘连的发生。总体来看, 腹腔粘连的防治仍问题种种: ①无广泛应用的好方法。②现有药物存在药效短、疗效不稳定、持续给药不方便及单纯机械隔离等缺点^[34]。

中药能够多靶点多环节发挥作用, 在防治腹腔粘连方面具有独特的优势, 有着较大潜力。依据中医理论和现代医学研究, 根据腹腔粘连的症状和粘连的程度, 认为粘连属于祖国医学“腹痛”、“积聚”、“关格”、“肠结”等范畴, 多由于肠道气血痞结、通降失调而成。由于肠道闭塞, 通降失和, 痛、吐、胀、闭诸证丛生。“气滞”、“不通”、“血瘀”是腹腔粘连的病理基础。“闭”是病变的本质所在, 病机关键在于气滞血瘀, 热毒积滞, 结于阳明, 腑气不通, 壅而为实。根据祖国医学“六腑以通为用”、“腑病以通为补”的原则, 治疗上必须突出一个

“通”字。其防治关键在于以活血化瘀, 理气通络治之。而川芎为“血中之气药”, 既能活血祛瘀通络又能行气开郁止痛, 具通达气血之独特功效。据此研究团队就其抗腹腔粘连作用进行了比较研究, 发现川芎的主要成分川芎嗪明显优于丹参主成分丹参酮等, 并对间皮细胞具有保护作用。

近年来, 具有可生物降解和生物相容性的聚乳酸作为载体材料的纳米控释系统的研究受到广泛关注^[35], 为了达到缓释性并且提高临床疗效, 作者将川芎嗪同纳米技术结合制备成川芎嗪纳米喷雾剂, 并用高效液相色谱法对川芎嗪纳米粒的包封率进行测定^[36], 所制备的川芎嗪聚乳酸纳米粒包封率稳定, 透射电镜下观察所得纳米粒为类球形实体, 表面光滑不粘连, 平均粒径在210 nm左右, 平均粒径分散度在0.09左右。川芎嗪纳米喷雾剂的优势在于: 主要成分川芎嗪可以有效的发挥抗粘连的药理作用, 同时高分子载体材料聚乳酸亦具有覆盖隔离作用, 改善了传统剂型的不足, 具缓释性、稳定性、安全性、载药效率高等优势, 并采用喷雾剂的形式术后腹腔内一次性靶向给药, 最大限度减轻或者消灭术后可能存在的点状、成角、索带样病理粘连。

作为一种新剂型, 应该对其剂量进行摸索, 为进一步的研究提供基础依据。故课题组通过观察不同剂量组粘连发生率、病理改变及对腹腔液中转化生长因子 $\beta 1$ 的含量进行对比, 从而确定川芎嗪纳米喷雾剂抗腹腔粘连的最佳有效剂量。实验结果与粘连模型组和阳性对照组进行比较, 通过比较发现川芎嗪纳米喷雾剂有较好的抗术后粘连的作用, 且在2周组中的改善作用普遍较1周组的效果明显, 可能考虑的原因是: ①实验动物的自愈作用。②通过将川芎嗪制成纳米制剂, 并以喷雾剂型给药, 使药物具有缓释的作用, 延长了药物的作用时间, 从而达到了更好的抗术后粘连的作用。其中以川芎嗪纳米喷雾剂中、高剂量抗粘连效果最好, 考虑到药物剂型的限制、药物的浓度较低, 给药方式为腹腔喷雾给药, 因给药总量的限制, 综合考虑选择5 mg/kg为最佳有效剂量。从而为进一步研究防治腹腔粘连的机制提供了基础依据。

作者贡献: 实验由第一作者及通讯作者构思, 第一作者文字组织, 其他作者参与实验研究。

利益冲突: 文章及内容不涉及相关利益冲突。

伦理要求: 实验过程中对动物的处理符合2009年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

学术术语: 川芎嗪-是从中药川芎中分离的一种生物碱, 即四甲基吡嗪。无色针状结晶, 具有特殊异臭, 有吸湿性, 易升华。存在于伞形科植物川芎。

作者声明: 文章为原创作品, 无抄袭剽窃, 无泄密及署名和专利争议, 内容及数据真实, 文责自负。

4 参考文献 References

- [1] Rajab TK, Wallwiener M, Talukdar S, et al. Adhesion-related complications are common, but rarely discussed in preoperative consent: a multicenter study. *World J Surg.* 2009 Apr;33(4):748-750.
- [2] Ten Broek RP, Kok-Krant N, Bakkum EA, et al. Different surgical techniques to reduce post-operative adhesion formation: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2013 Jan-Feb;19(1):12-25
- [3] Ouaïssi M, Gaujoux S, Veyrie N, et al. Post-operative adhesions after digestive surgery: their incidence and prevention: review of the literature. *J Visc Surg.* 2012; 149(2):e104-14.
- [4] Brochhausen C, Schmitt VH, Planck CN, et al. Current Strategies and Future Perspectives for Intraperitoneal Adhesion Prevention. *J Gastrointest Surg.* 2012;16(6): 1256-1274.
- [5] Hamming JF, Bonsing BA. Adhesiolysis during abdominal surgery: substantial risks. *Ned Tijdschr Geneesk.* 2013; 157(7): A5928.
- [6] 曾莉, 钱海华, 赵群男, 等. 活血通腑方治疗术后粘连性肠梗阻56例临床观察[J]. *南京中医药大学学报*, 2010, 26(3): 346-348.
- [7] 曾莉, 凌立君, 夏国守, 等. 活血通腑方对大鼠术后腹腔粘连的实验研究[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2005, (2): 135-137.
- [8] 凌立君, 曾莉, 陆茵, 等. 活血化瘀中药抗小鼠术后病理性腹腔粘连的实验研究[J]. *江苏中医药*, 2005, 26(4): 47-50.
- [9] 杨雪梅. 川芎嗪药理作用研究进展[J]. *中国生化药物杂志*, 2010, 31(3): 215-217.
- [10] 马清钧, 王淑玲. 常用中药现代研究与临床[M]. 天津科技翻译出版公司, 1995: 383-385
- [11] 董秀清, 阳晓, 叶任高, 等. 川芎嗪抗腹膜间皮细胞损伤的实验研究[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2001, 2(8): 441-443.
- [12] 郝丽荣, 王春梅, 李春玲. 川芎嗪防治腹膜纤维化作用的实验研究[J]. *中国血液净化*, 2006, 5(8): 437-439.
- [13] 李战. 纳米技术和纳米中药的研究进展[J]. *上海中医药杂志*, 2003, 37(1): 61-63.
- [14] 顾一男, 祝文学, 韩凤奎. 纳米技术在中医药中的应用及发展[J]. *药业纵横*, 2008, 17(2): 22.
- [15] 毛春芹, 陆兔林, 钱丽, 等. 正交试验法筛选川芎嗪纳米粒制备的最佳工艺[J]. *中成药*, 2013, 35(8): 1792-1794.
- [16] 曾莉, 凌立君, 夏国守, 等. 术后病理性腹腔粘连大鼠模型制作的实验研究[J]. *医学研究生学报*, 2006, 19(3): 229-231.
- [17] Bruggmann D, Tcharthian G, Wallwiener M, et al. Intra-abdominal adhesions: definition, origin, significance in surgical practice, and treatment options. *Dtsch Arzte bl Int.* 2010;107:769-775.
- [18] Cheong YC, Laird SM, Li TC, et al. Peritoneal healing and adhesion formation/reformation. *Hum Reprod Update.* 2001; 7(6):556-566.
- [19] Xiao L, Du Y, Shen Y, et al. TGF-beta1 induced fibroblasts proliferation is mediated by the FGF-2/ERK pathway. *Front Biosci.* 2012;17:2667-2674.
- [20] Zhang YG, Hu YC, MAOYY, et al. Transforming growth factor-beta involved in urotensin 2-induced phenotypic differentiation of adventitial fibroblasts from rat aorta. *Chin Med J(Engl).* 2010; 123(24):3634-3639.
- [21] 曾莉. 腹腔粘连研究进展[J]. *南京中医药大学学报*, 2004, 22(2): 126-128.
- [22] Gonzalez-Quintero VH, Cruz-Pachano FE. Preventing adhesions in obstetric and gynecologic surgical procedures. *Rev Obstet Gynecol.* 2009, 2(1):38-45.
- [23] 吴志民, 伦志军, 刘迎春, 等. 透明质酸钠预防大鼠术后腹膜粘连的效果[J]. *中国老年学杂志*, 2011, 7(31): 2497-2498.
- [24] 孙士营, 马成立. 透明质酸钠预防腹腔手术后粘连效果观察[J]. *山东医药*, 2006, 46(17): 99.
- [25] 刘洪斌, 李东华, 郭世铎. 腹腔粘连形成机制及治疗研究进展[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2005, 11(1): 84-86.
- [26] 范玉香, 杜进巧, 王志芹, 等. 医用几丁糖预防剖宫产后腹腔粘连临床观察[J]. *河北医药*, 2011, 33(16): 2448-2449.
- [27] 左锋. 几丁糖当归在肌腱粘连防治中的应用研究[J]. *亚太传统医药*, 2012, 8(5): 157-158.
- [28] LeGrand EK, Rodgers KE, Girgis W, et al. Comparative efficacy of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and anti-thromboxane agents in a rabbit adhesion-prevention model. *J Invest Surg.* 1995;8(3):187
- [29] Galili Y, Ben-Abraham R, Rabau M, et al. Reduction of surgery-induced peritoneal adhesions by methylene blue. *Am J Surg.* 1998;38(6):555.
- [30] Polat A, Nayci A, Polat G, et al. Dexamethasone down regulates endothelial expression of intercellular adhesion molecule and impairs the healing of bowel anastomoses. *Eur J Surg.* 2002;168(89):500-506.
- [31] 刘宾. 腹腔粘连的研究进展[J]. *中国现代医学*, 2013, 51(5): 24-25.
- [32] 徐庆, 曾莉. 腹腔粘连的治疗进展[J]. *南京中医药大学学报*, 2007, 23(5): 335-337.
- [33] 翁永强. 转化生长因子-B多克隆抗体预防腹腔粘连的实验研究[J]. *中国普通外科杂志*, 2002, 11(12): 741.
- [34] 裴海平, 晏仲舒, 伍韶斌. 善得定对预防大鼠腹部手术后肠粘连的研究[J]. *中国普通外科杂志*, 2001, 10(3): 231-233.
- [35] 张志清, 康英, 王育红. 聚乳酸纳米粒给药系统研究进展[J]. *中国医院药学杂志*, 2002, 22(9): 555-557.
- [36] 李争艳, 毛春芹, 曾莉, 等. 川芎嗪聚乳酸纳米粒的包封率测定[J]. *南京中医药大学学报*, 2011, 27(1): 77-79.