DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.07.018
第24卷第7期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 7
2002年7月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jul. 2002

文章编号:1000-5404(2002)07-0793-03

论著

地塞米松对TNBS诱导的大鼠实验性结肠炎的治疗作用

刘 莉[1],梅其炳[1],周四元[1],龙 锢[2],刘家云[3],孟静茹[1],李 晨[1] (第四军医大学:[1]基础医学部药理学教研室;西京医院:[2]中医科;[3]检验科;西安 710032)

提 要:目的 观察地塞米松对大鼠实验性结肠炎的治疗作用及副作用。方法 用TNBS/乙醇复制大鼠结肠炎模型,6 h后给予地塞米松(Dexamethasone, DX)0.1 mg/kg进行治疗,于处死动物前一天采血行白细胞计数并分类,5、7、10、14 d处死动物,分离结肠,计算溃疡面积;取结肠粘膜测定SOD、MPO活性。结果 地塞米松能明显缩小溃疡面积,抑制炎症反应,减轻结肠重量,降低结肠粘膜MPO水平;并能升高结肠粘膜SOD的活性,促进溃疡愈合。在地塞米松发挥治疗作用的同时,可见明显的免疫抑制作用,表现为胸腺萎缩,白细胞数减少。结论 DX对TNBS/乙醇诱导的实验性结肠炎具有显著的治疗作用,但长期使用副作用明显,是治疗结肠炎急性期用药。

关键词:地塞米松;溃疡性结肠炎
中图法分类号:R574.62;R977.11 文献标识码:A

Therapeutic effects of dexmethasone on TNBS-induced colitis in rats

LIU Li, MEI Qi-bing, ZHOU Si-yuan, LONG Yin, LIU Jia-yun, MENG Jing-ru, LI Chen (Department of Pharmacology, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

Abstract: **Objective** To investigate the therapeutic effects of dexmethasone(DX) on TNBS induced colitis in rats. **Methods** TNBS/ethanol-induced colitis model was used in the experiment. Ninety rats were treated with saline or DX for 5, 7, 10 and 14d. White blood cell was counted on the day before the animals were sacrificed. Ulcerative index, SOD and MPO activity in colonic mucosa were measured. **Results** The remarkable effects of DX on TNBS— induced colitis were observed, with ulcerative area diminution and weight of colon descent. White blood cell population was reduced, SOD activity of colonic tissue was increased while that of MPO was decreased. In the meantime the side effects of DX, such as thymus atropy and WBC decrease, were observed during experimental period. **Conclusion** DX has significant effects on TNBS-induced colitis in rats but also causes obvious side effects.

Key words: dexmethasone; colitis; rats

溃疡性结肠炎是一种消化道常见病,近年来,结肠炎在我国呈上升的趋势。本病的发生机制尚不清楚,可能与机体的免疫亢进有关,目前没有特异性的治疗药物。过去治疗溃疡性结肠炎使用的免疫抑制剂,由于严重的毒副作用,临床逐渐被地塞米松(Dexamethasone, DX)等糖皮质激素所替代。但是长期使用糖皮质激素会带来严重的免疫抑制作用,限制了其临床应用。因此,建立与人类溃疡性结肠炎相似的动物模型,发掘有效的治疗药物,具有重要意义。研究表明,2,4,6-三硝基苯磺酸钠(Tripitrobenzene sulfonic acid, TNBS)TNBS/乙醇诱导的大鼠溃疡性结肠炎模型在一定程度上与人类溃疡性结肠炎较为相似[1,2]。这种模型造模方法简便,重复性好。是否地塞米松对TNBS诱导的实验性大鼠结肠炎也有疗效,尚未见文献报道。我们观察DX对TNBS/乙醇诱导的大鼠结肠炎的影响,探讨地塞米松对试验性结肠炎的治疗作用、副作用及其机制,为建立药物筛选动物模型提供实验依据。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30100239)
作者简介:刘 莉(1967—),女,重庆市人,博士研究生。电话:(029)3374555, E-mail:liuliph@263.net
收稿日期:2001-09-17;修回日期:2002-03-20

1 材料和方法

1.1 材料

二级Sprague-Dawley雄性大鼠,质量220~250 g,由本校实验动物中心提供;TNBS购于Sigma;十六烷基三甲基溴化胺,邻联二茴香胺购于Fluka;地塞米松(DX)购于天津药业公司;SOD试剂盒购于南京建成公司;721分光光度计。

1.2 方法

90只大鼠禁食24 h,随机分为9组,每组10只。乙醚麻醉,用直径2 mm的硅胶管从肛门插入肠道约8 cm,缓慢注入TNBS/乙醇溶液(TNBS 50 g/L, 400 ml/L乙醇)即TNBS 125 mg/kg[1,2],注药后6 h给予生理盐水(Saline),地塞米松(DX)0.1 mg/kg,每天1次。于处死动物前1 d尾部采血行白细胞计数并分类;分别于5、7、10、14 d分离结肠,计算溃疡面积;在冰浴条件下取结肠粘膜,液氮速冻后转入—80 ℃保存,以备检测SOD、MPO活性;称取胸腺和脾脏重量。50 mg结肠粘膜在PBS中匀浆,13 000× g离心10 min,取组织匀浆上清液50 μl,用SOD试剂盒测定SOD活性。MPO活性的测定采用Krowisz法[3,4],取结肠粘膜50 mg在HTAB缓冲液中匀浆,11 000× g离心15 min,取组织匀浆上清液100 μl,进行测定。

1.3 统计学处理

数据以$\bar{x}\pm s$表示,行t检验。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2 结果

2.1 地塞米松对TNBS诱导大鼠结肠炎结肠重量和溃疡面积的影响

用TNBS/乙醇复制的大鼠结肠炎模型，其病理表现为结肠水肿、充血，肠壁增厚，粘膜溃疡，并可导致部分大鼠死亡。用DX治疗能明显缩小溃疡面积，抑制炎症反应，降低结肠重量，见表1。

表 1 地塞米松对 TNBS 诱导的大鼠结肠炎结肠重量和溃疡面积的影响($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Effects of dexamethasone(DX) on the weight of colon and ulcerative area in TNBS- induced colitis in rats($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

Time(t/d)	Colon mass/body(mg/kg)			Ulcerative area(%)		
	Normal	Model	DX	Normal	Model	DX
5	2.8±0.4	7.0±2.4[d]	5.5±0.6[a]	0.0±0.0	35.7±12.9	26.2±4.1[a]
7		6.9±1.7[d]	5.6±0.4[a]		44.5±12.0	35.7±2.4[a]
10		7.3±1.5[d]	5.2±0.6[b]		27.5±13.7	22.1±4.9
14		5.4±0.9[d]	4.1±0.3[b]		21.8±9.7	13.5±2.7[a]

a: $P<0.05$, b: $P<0.01$ *vs* model; d: $P<0.01$ *vs* normal

2.2 地塞米松对TNBS诱导的大鼠结肠炎胸腺和脾脏的影响

在TNBS/乙醇诱导的大鼠实验性结肠炎模型，可见炎症期大鼠胸腺缩小，脾脏增大。DX可使大鼠的胸腺进一步萎缩，脾脏重量明显下降，见表2。

表 2 地塞米松对 TNBS/乙醇诱导的结肠炎大鼠胸腺和脾脏重量的影响($n=10$, mg/g, $\bar{x}\pm s$)

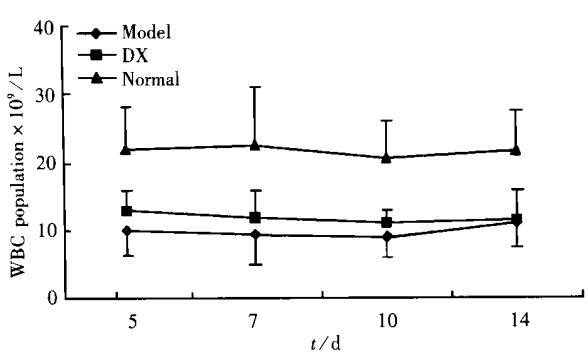
Tab 2 Effects of dexamethasone (DX) on the weights of the thymus and spleen in colitis rats induced by TNBS($n=10$, mg/g $\bar{x}\pm s$)

Time(t/d)	Thymus			Spleen		
	Normal	Model	DX	Normal	Model	DX
5	1.2±0.1	0.9±0.3[c]	0.7±0.2[a]	2.3±0.4	3.2±0.4[d]	3.0±0.6
7		1.1±0.5	0.6±0.3[bd]		3.9±1.0[d]	2.3±0.2[a]
10		1.0±0.4	0.4±0.7[bd]		2.6±0.2	2.4±0.2
14		1.2±0.3	0.02±0.01[bd]		2.7±0.7	1.8±0.3[b]

a: $P<0.05$, b: $P<0.01$ *vs* model; c: $P<0.05$, d: $P<0.01$ *vs* normal

2.3 地塞米松对TNBS诱导的大鼠结肠炎白细胞的影响

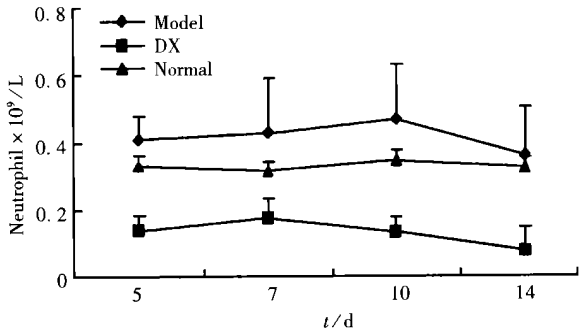
在TNBS/乙醇诱导的实验性大鼠结肠炎模型白细胞计数显著增高。用DX治疗大鼠结肠炎，可使白细胞计数减少到正常值以下，中性粒细胞升高，淋巴细胞明显减少，见图1、2。



a: $P<0.05$, b: $P<0.01$ *vs* model; d: $P<0.01$ *vs* normal

图 1 DX 对 TNBS 诱导的结肠炎大鼠白细胞计数的影响

Fig 1 Effects of dexamethasone (DX) on white blood cells (WBC) counts in colitis rats induced by TNBS



b: $P<0.01$ *vs* model; c: $P<0.05$, d: $P<0.01$ *vs* normal

图 2 地塞米松 对 TNBS 诱导的结肠炎大鼠外周血中性粒细胞的影响

Fig 2 Effects of dexamethasone (DX) on the percent of neutrophil population in colitis rats induced by TNBS

2.4 DX 对TNBS 诱导的大鼠结肠炎生化指标的影响

TNBS/乙醇诱导的大鼠溃疡性结肠炎，结肠粘膜SOD、MPO活性较正常对照组有所升高，而DX能使SOD活性进一步升高，使MPO活性较模型组明显下降，表现出明显的抗炎作用，见表3。

表 3 DX 对 TNBS/乙醇诱导的结肠炎大鼠生化指标的影响($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

Tab 3 Effects of dexamethasone (DX) on SOD activity and MPO level in the colonic mucosa in colitis rats induced by TNBS($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

Time(t/d)	SOD(NU/ml)			MPO(U/g)		
	Normal	Model	DX	Normal	Model	DX
5	40.9±7.7	48.7±8.4[a]	72.5±13.5[d]	0.093±0.020	9.72±3.23[b]	4.82±1.02[d]
7		43.7±7.9	72.5±11.4[d]		7.69±1.49[b]	6.08±1.13[c]
10		36.2±8.1	58.5±7.7[d]		6.04±1.92[b]	4.33±1.14[c]
14		36.5±7.5	51.8±11.1[d]		4.07±1.20[b]	2.92±0.76[c]

a: $P<0.05$ *vs* normal; c: $P<0.05$, d: $P<0.01$ *vs* model

3 讨论

炎症性肠病(Inflammatory bowel disease，IBD)是一组病因未明的累及胃肠道的慢性炎症性疾病，一般指慢性非特异性溃疡性结肠炎(Ulcerative colitis，UC)和Crohn病(Crohn's disease，CD)。溃疡性结肠炎的临床表现主要有腹泻、粘液血便、腹痛等。病变首先累及直肠，向近端结肠发展，反复发作，呈慢性经过。炎症性肠病患者常表现出免疫异常，如肠粘膜免疫细胞数量增多，肠局部体液或细胞免疫活性增强；可并发或伴发其他与免疫有关的病变与疾病，而且糖皮质激素及免疫抑制剂治疗有效等。因此，肠粘膜免疫功能的异常可用来解释炎症性肠病的临床和病理表现。胃肠道粘膜免疫系统在抵御和清除外来抗原以及维持自身稳态中发挥重要的作用。肠道免疫系统具有两个方面的功能，既要保护肠粘膜，抵御致病因子入侵；又要吸取营养物质，耐受正常的肠道菌群。因此肠免疫系统处于一种不断地反应状态，当肠上皮细胞粘膜屏障破坏就为大量摄取肠抗原创造了条件，无节制的免疫反应以

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

及免疫调节失衡是炎症性肠病的免疫学特性。例如, 用 TNBS 和一定浓度的乙醇形成的结肠炎模型, 就是利用乙醇破坏肠粘膜, TNBS 作为半抗原引起免疫反应, 形成与人类溃疡性结肠炎有一定相似之处的动物模型[1]。其病理表现为结肠水肿、充血, 肠壁增厚, 粘膜糜烂, 溃疡形成, 并可引起部分大鼠死亡, 是目前筛选新药常用的模型。

本实验结果表明, 糖皮质激素地塞米松对 TNBS/乙醇诱导的实验性大鼠结肠炎具有明显的治疗效果。灌胃给予 0.1 mg/kg 地塞米松能明显抑制炎症反应, 缩小溃疡面积, 减轻结肠重量, 降低结肠粘膜 MPO 水平; 同时, 能升高结肠粘膜 SOD 的活性, 促进溃疡愈合。在地塞米松治疗期间, 可见明显的免疫抑制作用, 表现为白细胞计数减少, 胸腺萎缩, 长期使用可使脾脏重量降低。因此, 可将地塞米松作为 TNBS 诱导结肠炎的阳性对照药。

髓过氧化物酶(MPO)主要存在于中性粒细胞中, 一般认为炎症组织中 MPO 水平可反映中性粒细胞的浸润数目和活性, 因此, 被作为评价肠道炎症严重程度的指标[5~9]。地塞米松具有非特异性抗炎作用和免疫抑制作用, 本实验观察到地塞米松能减轻炎症反应, 降低结肠粘膜 MPO 水平, 可能与其抑制白细胞浸润有关。超氧化物歧化酶(SOD)作为体内重要的自由基-超氧自由基的天然清除剂, 其活性的升高有助于机体的抗炎反应。本实验结果表明, TNBS 诱导的实验性大鼠结肠炎模型, SOD 活性较正常对照组明显升高, 给予 DX 治疗后, 其活性升高更加明显, 提示 SOD 活性的提高可以达到清除氧自由基的目的, 从而产生治疗效应。

众所周知, 本实验用 DX 治疗 TNBS/乙醇诱导的大鼠实验性结肠炎同样可见到严重的胸腺抑制和白细胞减少, 其中以淋巴细胞减少为最明显。由此可见, 虽然 DX 治疗溃疡性结肠炎具有明显的疗效, 其机制可能与其免疫抑制或免疫调节有关, 然而, DX 严重的免疫抑制作用又是糖皮质激素治疗结肠炎的障碍。因此, 如何减少此类药的不良反应, 或者使其治疗作用与免疫抑制作用分离, 将成为糖皮质激素治疗溃疡性结肠炎的发展方向。

参考文献:

[1] Zhu F, Qian J M, Pan G Z. The establishment of TNBS-induced experimental colitis[J]. Acta Acad Med Sin, 1998, 20(4): 271—277.

[2] Morris G P, Beck P L, Herridge M S, Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon[J]. Gastroenterology, 1998, 96(3): 795—811.

[3] Krawisz J E, Sharon P, Stenson W F. Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myloperoxidase activity[J]. Gastroenterology, 1984, 87(6): 1 344—1 350.

[4] Zheng L, Wang S X, Cui D Y, *et al*. A simple method to evaluate the inflammatory bowel disease[J]. Chin Pharmacol Bull, 1996, 12(6): 468—469.

[5] Zhou S Y, Mei Q B, Liu L, *et al*. Delivery of glucocortocoid conjugate in rat gastrointestinal tract and its treatment for ulcerative colitis[J]. Acta Pharmacol Sin, 2001, 22(8): 761—764.

[6] Tepperman B L, Besco J M, Kieman J A, *et al*. Relationship between myeloperoxidase activity and the ontogeneic response of rat gastric mucosa to ethanol[J]. Can J Physiol Pharmcol, 1991, 69(12): 1 882—1 888.

[7] Cho C H, Mei Q B, Shang P, *et al*. Study of the gastrointestinal protective effects of polysaccharides from Angelica sinesis in rats[J]. Planta Med, 2000, 66(4): 348—351.

[8] Li Y, Mei Q B, Cho C H. Healing effects of heparin on acetic acid-induced gastric ulcers in rats[J]. Chin Med J, 1998, 111(1): 12—16.

[9] Zhou S Y, Mei Q B, Liu L, *et al*. Prednisolone-dextran conjugate hydrosis in rat gastrointestinal tract contents[J]. Fourth Mil Med Univ, 2000, 21(1): 119—121.

(编辑　张大春)

(上接 792 页)

华人民共和国中医药行业中的中医内科病症疗效标准执行。近期治愈: 经治疗后受累关节肿痛消失, 关节功能恢复或明显改善, 血常规、类风湿因子、血沉、ASO、抗 DNA 抗体恢复正常。显效: 受累关节肿痛消失或明显好转, 上述实验室指标好转或正常。有效: 自觉症状好转 50%以上, 关节疼痛及肿胀减轻, 实验室上述指标好转。无效: 治疗两个疗程症状无好转, 实验室上述指标无明显改善。

治疗结果: 治疗组 72 例, 近期治愈 28 例, 显效 24 例, 有效 14, 无效 6 例, 有效率 91.7%, 无效中有 2 例因局部皮肤过敏, 不到一个疗程后便停止治疗。对照组 52 例, 近期治愈 16 例, 显效 20 例, 有效 10 例, 无效 6 例, 总有效率 88.5%。实验室主要指标 RF、ESR, 两组治疗前均明显高于正常, 治疗后均有一定程度的降低, 但治疗组降低较为明显, 与对照组相比有显著性差异($P<0.05$), 提示治疗组优于对照组。

4　讨论

类风湿关节炎属祖国医学"痹证"范畴的"痹"、"骨痹"病, 是因风、寒、湿、热等外邪侵袭人体, 闭阻经络, 气血运行不畅及致炎因子排除受阻所致, 而出现关节疼痛、肿胀、晨僵、活动不利等症状。根据中医"通则不痛"的理论, 我科自拟本方, 诸药合用, 共奏活血化淤、祛风通络、散寒除湿、消肿止痛之功效, 以达到病愈的目的。FD—IIIA 型风湿治疗仪属脉冲电疗仪, 具有消炎镇痛、缓解肌肉和血管平滑肌痉挛的作用, 两者配合, 使药物离子通过仪器的中低频相结合的脉冲电流直接导入病变部位, 以改善局部血液循环, 促进水肿和渗出物的吸收及代谢产物和致炎因子的排除[1], 并且本方无内服药物的副作用及其他影响, 是一种较好的治疗类风湿关节炎的方法。

关键词: 类风湿关节炎; 中药离子导入治疗; 护理
中图法分类号: R593.22　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 孙　娟, 陈日华. 中药离子导入治疗慢性骨关节病[J]. 中国骨伤杂志, 1999, 12(5): 5.

(编辑　张大春)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net