

大蒜素对模型小鼠的抗炎性痛作用及机制研究[△]

任亮^{1*},任翔²,刘金宝¹,朱吾元¹,杜钢军³(1.漯河医学高等专科学校药理教研室,河南 漯河 462000;2.中国药科大学药学专业2015级,南京 211198;3.河南大学药学院,河南 开封 475004)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)18-2479-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.18.08

摘要 目的:研究大蒜素对模型小鼠的抗炎性痛作用及机制。方法:50只BALB/c小鼠随机分为模型组(等体积0.9%氯化钠溶液)、阿司匹林组(200 mg/kg)和大蒜素高、中、低剂量组(40、20、10 mg/kg),每组10只;均灌胃给药,每天1次,连续3 d。末次给药1 h后给予小鼠腹腔注射0.7%冰醋酸溶液(0.2 mL)建模,记录建模15 min内其扭体反应次数。分组与给药同上,末次给药1 h后给予小鼠左后足底皮下注射1.5%甲醛溶液(25 μL)建模,记录建模后0~10 min(第Ⅰ时相)和10~60 min(第Ⅱ时相)时小鼠累计舔足时间。分组与给药同上,末次给药1 h后给予小鼠右耳廓正反两面均匀涂抹二甲苯(30 μL)建模,建模2 h后测定小鼠耳廓肿胀度,以两耳质量差值为耳廓肿胀度,并计算耳廓肿胀抑制率。50只BALB/c小鼠随机分为对照组(等体积0.9%氯化钠溶液)、模型组(等体积0.9%氯化钠溶液)和大蒜素高、中、低剂量组(40、20、10 mg/kg),每组10只;均灌胃给药,每天1次,连续3 d。末次给药20 min后给予小鼠足趾皮下注射1%角叉菜胶0.9%氯化钠溶液(30 μL)建模,分别于建模前及建模1、3、5 h后测定小鼠足趾容积,以建模前后小鼠足趾容积差值为足趾肿胀度;测定超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性和丙二醛(MDA)含量以及总抗氧化能力(T-AOC)水平;采用Western blot法检测核转录因子κB(NF-κB)、肿瘤坏死因子α(TNF-α)、白细胞介素1β(IL-1β)蛋白表达。结果:与模型组比较,阿司匹林组和大蒜素高、中剂量组小鼠扭体反应次数均显著减少;第Ⅰ时相时大蒜素高、中剂量组和第Ⅱ时相时阿司匹林组及大蒜素高、中剂量组小鼠累计舔足时间均显著缩短;阿司匹林组和大蒜素高剂量组小鼠耳廓肿胀度均显著降低;建模1、3 h后大蒜素高、中剂量组和建模5 h后大蒜素高剂量组小鼠足趾肿胀度均显著降低,差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与空白对照组比较,模型组小鼠足趾肿胀组织中SOD、GSH-Px活性均显著减弱,MDA含量显著增加,T-AOC水平显著降低,NF-κB、TNF-α、IL-1β蛋白表达均显著增强,差异均有统计学意义($P<0.01$);与模型组比较,大蒜素高剂量组小鼠足趾肿胀组织中SOD、GSH-Px活性均显著增强,MDA含量显著减少,且大蒜素高、中剂量组小鼠T-AOC水平均显著升高,同时大蒜素高剂量组小鼠足趾肿胀组织中NF-κB、TNF-α、IL-1β蛋白表达均显著减弱,差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论:大蒜素对模型小鼠炎性痛有一定的缓解作用,其机制与抗氧化应激反应和抑制NF-κB信号通路有关。

关键词 大蒜素;炎性痛;氧化应激;核转录因子κB;肿瘤坏死因子α;白细胞介素1β

Study on the Mechanism of Anti-inflammatory Pain Effect of Allicin in Model Mice

REN Liang¹, REN Xiang², LIU Jinbao¹, ZHU Wuyuan¹, DU Gangjun³(1. Dept. of Pharmacology, Luohe Medical College, Henan Luohe 462000, China; 2. Grade 2015 of Pharmacy Major, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China; 3. College of Pharmacy, Henan University, Henan Kaifeng 475004, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the mechanism of anti-inflammatory pain effect of allicin in model mice. METHODS: Totally 50 BALB/c mice were randomly divided into model group (constant volume of 0.9% sodium chloride solution), aspirin group (200 mg/kg), allicin high-dose, medium-dose and low-dose groups (40, 20, 10 mg/kg), with 10 mice in each group. They were given relevant medicine intragastrically, once a day, for consecutive 3 d. One hour after last medication, they were given intraperitoneal injection of 0.7% glacial acetic acid solution (0.2 mL); the times of writhing response were recorded with in 15 min after modeling. Grouping and administration were same as above; 1 h after last medication, mice were given subcutaneous injection of 1.5% formaldehyde solution (25 μL) via left back toe; accumulative licking time of mice were recorded 0-10 min (time phase I) and 10-60 min (time phase II) after modeling. Grouping and administration were same as above; 1 h after last medication,

瓶中抗氧剂1010、抗氧剂1076、抗氧剂168、抗氧剂330的含量[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(3):416-433.

[17] 浦雨伟,崔萍,吴娟,等.药用丁基胶塞中抗氧剂264、1010、5057迁移研究[J].药物分析杂志, 2016, 36(12):

△基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81472745);河南省科技攻关计划项目(No.豫科[2013]25号-132102310455)

*副教授。研究方向:肿瘤药理学及中药药理学。E-mail: renliang3008@163.com

2231-2240.

[18] 张艳惠,李海燕,岳洪水,等.注射用益气复脉(冻干)与氯化丁基胶塞相容性研究中抗氧剂和硫化剂的含量测定[J].药物评价研究,2018,41(3):496-500.

[19] 周雅沁.用HPLC法测定硫化胶中游离硫磺的含量[J].世界橡胶工业,2010,37(1):38-42.

(收稿日期:2018-04-22 修回日期:2018-07-11)

(编辑:陈宏)

mice were given xylene (30 μ L) on both sides of right ear; the degree of auricular swelling of mice was determined 2 h after modeling. The mass difference of two ears was regarded as the degree of auricular swelling and then the inhibitory rate of swelling was calculated in mice. Totally 50 BALB/c mice were randomly divided into blank control group (constant volume of 0.9% sodium chloride solution), model group (constant volume of 0.9% sodium chloride solution) and allicin high-dose, medium-dose and low-dose groups (40, 20, 10 mg/kg), with 10 mice in each group. They were given relevant medicine intragastrically, once a day, for consecutive 3 d. Twenty minutes after last medication, mice were given subcutaneous injection of 1% carrageenan 0.9% sodium chloride solution (30 μ L) via toe. Toe volume of mice was determined before modeling and 1, 3, 5 h after modeling. The difference of toe volume in mice was regarded as the degree of toe swelling. The activities of SOD and GSH-Px, contents of MDA, and level of T-AOC were determined. The expression levels of NF- κ B, TNF- α and IL-1 β protein were detected by Western blotting.

RESULTS: Compared with model group, the times of writhing response were decreased significantly in aspirin group, allicin high-dose and medium-dose groups. The licking time of mice was shortened significantly in allicin high-dose and medium-dose group at time phase I, aspirin group, allicin high-dose and medium-dose at time phase II. The degree of auricular swelling was decreased significantly in aspirin group and allicin high-dose group. The degree of paw swelling was decreased significantly in allicin high-dose and medium-dose groups 1, 3 h after modeling, in allicin high-dose group 5 h after modeling, with statistical significance ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with blank control group, the SOD and GSH-Px activities, level of T-AOC in paw swelling tissue of mice were decreased significantly in model group, while MDA content, the protein expression of NF- κ B, TNF- α and IL-1 β were increased significantly, with statistical significance ($P<0.01$). Compared with model group, SOD and GSH-Px activities in paw swelling tissue of mice were increased, while MDA content were decreased of allicin high-dose group and the activity of T-AOC in allicin high-dose and medium-dose groups were increased significantly; the protein expression of NF- κ B, TNF- α and IL-1 β in paw swelling tissue of mice were decreased significantly in allicin high-dose, and medium-dose groups, with statistical significance ($P<0.05$ or $P<0.01$).

CONCLUSIONS: Allicin has certain anti-inflammatory pain effects, and its mechanism may be related to anti-oxidative stress and inhibition of NF- κ B signaling pathway.

KEYWORDS Allicin; Inflammatory pain; Oxidative stress; NF- κ B; TNF- α ; IL-1 β

炎性痛是临床常见的病理性疼痛，多数是由于机体受到创伤、感染等损伤导致外周组织出现炎症反应时诱发的疼痛，其中痛觉过敏、痛觉超敏和自发性疼痛是其主要临床特征^[1-2]。有研究报道，核转录因子 κ B(NF- κ B)信号通路是调控炎性痛的重要信号通路^[3]。当机体受损或出现氧化应激反应时，炎症因子(如肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素1 β (IL-1 β)等)大量释放，从而激活NF- κ B信号通路，而活化的NF- κ B会进入细胞核，参与和促进炎症因子的复制、转录和翻译等一系列过程，使炎症因子生成进一步增多，从而加重和放大疼痛感受^[4]。目前，炎性痛治疗药物主要有解热镇痛药等，但上述药物对炎性痛的缓解和治疗效果并不理想，且存在易成瘾、诱发消化道溃疡等诸多不良反应^[5]。

大蒜素是从百合科葱属植物大蒜、洋葱中提取的含硫有机化合物，具有抗菌、抗肿瘤、抗消化性溃疡、抗氧化应激等作用，并且可改善记忆、调节免疫、保护缺血心肌等^[6]。本研究通过冰醋酸致小鼠扭体模型、甲醛致小鼠足底疼痛模型、二甲苯致小鼠耳廓肿胀模型及角叉菜胶致小鼠足趾肿胀模型，观察大蒜素抗炎性痛的作用，并探讨其作用机制，以为其临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

AL104型电子分析天平(上海精密仪器仪表有限公司)；BW-PVM802型足趾容积测量仪(上海软隆科技发展有限公司)；759S型紫外-可见分光光度计(上海棱光

技术有限公司)；TGL-16型台式高速冷冻离心机(湖南湘仪离心机仪器有限公司)；SIM-FI40AY65型制冰机(日本 Sanyo 公司)；Mimi-PROTEAN® Tetra Cell 聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)仪、Mini TBL 转移电泳仪、ChemDOC™ XRS 凝胶成像仪(美国 Bio-Rad 公司)；XW-80型旋涡混合器(上海楚定分析仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

大蒜素注射液(上海禾丰制药有限公司，批准文号：国药准字 H31022371，批号：1409151，规格：2 mL : 30 mg)；阿司匹林片(哈药集团制药总厂，批准文号：国药准字 H23021186，批号：1510283，规格：0.5 g/片)；角叉菜胶(美国 Sigma 公司，批号：122K14456)；超氧化物歧化酶(SOD)检测试剂盒(批号：20151212)、丙二醛(MDA)检测试剂盒(批号：20151220)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)检测试剂盒(批号：20160115)、总抗氧化能力(T-AOC)检测试剂盒(批号：20151225A)、均购自南京建成生物工程研究所；兔抗鼠 NF- κ B、TNF- α 、IL-1 β 、 β -actin 抗体和辣根过氧化物酶(HRP)标记羊抗兔二抗、BCA 蛋白定量试剂盒、SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒(批号：152680)、彩色预染蛋白 Marker(批号：151225)、RIPA 组织裂解液、蛋白上样缓冲液(2×)、聚偏二氟乙烯(PVDF)膜(0.45 μ m，批号：13B02C22)、超敏 ECL 化学发光液(批号：151220)均购自武汉博士德生物工程有限公司；其余试剂均为分析纯，水为蒸馏水。

1.3 动物

SPF 级 BALB/c 小鼠, 4~6 周龄, 雌雄兼半, 体质量 18~22 g, 购自郑州大学实验动物中心[动物生产许可证号: SCXK(豫)2015-0001]。标准条件饲养 1 周, 自由进食、饮水, 环境温度(22±2)℃、相对湿度 65%~70%, 人工黑暗和光照交替。

2 方法

2.1 冰醋酸致小鼠扭体反应实验

50 只 BALB/c 小鼠随机分为模型组(等体积 0.9% 氯化钠溶液)、阿司匹林组(200 mg/kg)^[7]和大蒜素高、中、低剂量组(40、20、10 mg/kg)^[8], 每组 10 只(雌雄兼半); 灌胃给药, 每天 1 次, 连续 3 d。末次给药 1 h 后, 给予小鼠腹腔注射 0.7% 冰醋酸溶液(0.2 mL)建模, 记录建模 15 min 内小鼠出现的扭体次数(腹部内陷、躯干和后肢拉伸或臀部抬起等行为改变即为扭体反应)。同时计算小鼠扭体反应抑制率, 扭体反应抑制率(%)=(模型组扭体次数均值-用药组扭体次数均值)/模型组扭体次数均值×100%^[9]。

2.2 甲醛致小鼠足底痛实验

动物分组及给药同“2.1”项下操作。末次给药 1 h 后, 给予小鼠左后足底皮下注射 1.5% 甲醛溶液(25 μL)建模, 记录建模后 0~10 min(第 I 时相, 早发相)和>10~60 min(第 II 时相, 迟发相)两个时间段小鼠累计舔足时间^[9]。

2.3 二甲苯致小鼠耳廓肿胀实验

动物分组及给药同“2.1”项下操作。末次给药 1 h 后, 给予小鼠右耳廓正反两面均匀涂抹二甲苯(30 μL)建模, 建模 2 h 后将小鼠颈椎脱臼处死, 剪下双耳, 用 7 mm 打孔器取下左右耳廓同一部位的耳片并称定质量, 两耳片质量差值即代表耳廓肿胀度^[9]。同时计算小鼠耳廓肿胀抑制率, 耳廓肿胀抑制率(%)=(模型组耳廓肿胀度-用药组耳廓肿胀度)/模型组耳廓肿胀度×100%^[9]。

2.4 角叉菜胶致小鼠足趾肿胀实验

50 只 BALB/c 小鼠随机分为空白对照组(等体积 0.9% 氯化钠溶液)、模型组(等体积 0.9% 氯化钠溶液)和大蒜素高、中、低剂量组(40、20、10 mg/kg), 每组 10 只(雌雄兼半); 灌胃给药, 每天 1 次, 连续 3 d, 末次给药 20 min 后, 给予右后足足趾皮下注射 1% 角叉菜胶 0.9% 氯化钠溶液(30 μL)建模, 分别于建模前及建模 1、3、5 h 后测定小鼠足趾容积, 以建模前后小鼠足趾容积差值为足趾肿胀度^[9]。按试剂盒说明书操作, 测定 SOD、GSH-Px 活性和 MDA 含量以及 T-AOC 水平。采用 Western blot 法检测 NF-κB、TNF-α、IL-1β 蛋白表达: 颈椎脱臼处死小鼠后迅速取下足趾肿胀组织, 并放入盛有适量液氮的研钵中, 充分研磨均匀, 加入 1 mL RIPA 裂解液混匀并转移至 1.5 mL 离心管中继续裂解, 30 min 后于 4 ℃ 下 12 000 r/min 离心 20 min, 取上清液即为蛋白提取液; 加入等体积蛋白上样缓冲液(2×)于沸水浴中进行蛋白变性, 之后取

25 μL 进行 SDS-PAGE 凝胶电泳、转膜、封闭及抗体孵育等, 加超敏 ECL 化学发光液于凝胶成像仪下显影拍照, 以目标蛋白条带与 β-actin 条带灰度值之比进行半定量分析。

2.5 统计学方法

采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间数据比较用 LSD 检验。P<0.05 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 大蒜素对模型小鼠扭体反应的影响

与模型组比较, 阿司匹林组和大蒜素高、中剂量组小鼠扭体反应次数均显著减少, 差异均有统计学意义(P<0.01); 3 组小鼠扭体反应抑制率分别为 74.88%、51.66%、27.01%, 详见表 1。

表 1 大蒜素对建模小鼠扭体反应的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 1 Effects of allicin on writhing response in model mice($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量, mg/kg	扭体反应次数	扭体反应抑制率, %
模型组		42.22±6.22	
阿司匹林组	200	10.63±3.51**	74.88
大蒜素高剂量组	40	20.40±4.28*	51.66
大蒜素中剂量组	20	30.82±3.83**	27.01
大蒜素低剂量组	10	40.41±4.39	4.27

注: 与模型组比较, **P<0.01

Note: vs. model group, **P<0.01

3.2 大蒜素对模型小鼠疼痛反应的影响

与模型组比较, 第 I 时相时大蒜素高、中剂量组和第 II 时相时阿司匹林组及大蒜素高、中剂量组小鼠累计舔足时间均显著缩短, 差异均有统计学意义(P<0.05 或 P<0.01), 详见表 2。

表 2 大蒜素对模型小鼠疼痛反应的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 2 Effects of allicin on pain response in model mice($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量, mg/kg	累计舔足时间, s	
		第 I 时相	第 II 时相
模型组		101.21±12.32	209.60±22.19
阿司匹林组	200	94.83±14.64	153.82±16.28**
大蒜素高剂量组	40	57.02±7.65**	162.82±20.41**
大蒜素中剂量组	20	75.24±7.05**	178.81±10.45*
大蒜素低剂量组	10	91.80±10.47	196.82±9.12

注: 与模型组比较, *P<0.05, **P<0.01

Note: vs. model group, *P<0.05, **P<0.01

3.3 大蒜素对模型小鼠耳廓肿胀的影响

与模型组比较, 阿司匹林组和大蒜素高剂量组小鼠耳廓肿胀度均显著降低, 差异均有统计学意义(P<0.01); 2 组小鼠耳廓肿胀抑制率分别为 62.43%、44.65%, 详见表 3。

3.4 大蒜素对角叉菜胶致小鼠足趾肿胀的影响

空白对照组小鼠足趾无肿胀, 模型组小鼠足趾肿胀。与模型组比较, 建模 1、3 h 后大蒜素高、中剂量组和建模 5 h 后大蒜素高剂量组小鼠足趾肿胀度均显著降低, 差异均有统计学意义(P<0.05 或 P<0.01), 详见表 4。

表3 大蒜素对模型小鼠耳廓肿胀的影响($\bar{x} \pm s$, n=10)Tab 3 Effects of allicin on auricular swelling in model mice ($\bar{x} \pm s$, n=10)

组别	剂量, mg/kg	耳廓肿胀度, mg	耳廓肿胀抑制率, %
模型组		20.92±3.53	
阿司匹林组	200	7.86±1.17**	62.43
大蒜素高剂量组	40	11.58±1.60**	44.65
大蒜素中剂量组	20	18.78±2.70	10.23
大蒜素低剂量组	10	19.76±3.41	5.54

注:与模型组比较, **P<0.01

Note: vs. model group, **P<0.01

表4 大蒜素对角叉菜胶致小鼠足趾肿胀的影响($\bar{x} \pm s$, n=10)Tab 4 Effects of allicin on toes swelling in mice induced by carrageenan ($\bar{x} \pm s$, n=10)

组别	剂量, mg/kg	肿胀度, μL		
		建模1 h	建模3 h	建模5 h
模型组		61.08±8.46	68.48±8.49	76.52±7.04
大蒜素高剂量组	40	45.76±5.86*	47.02±5.50**	51.38±6.14**
大蒜素中剂量组	20	50.46±4.27*	55.30±7.38*	69.24±8.70
大蒜素低剂量组	10	57.52±5.32	58.88±7.05	71.26±8.59

注:与模型组比较, *P<0.05, **P<0.01

Note: vs. model group, *P<0.05, **P<0.01

3.5 大蒜素对模型小鼠足趾肿胀组织中氧化应激指标的影响

与空白对照组比较,模型组小鼠足趾肿胀组织中SOD、GSH-Px活性均显著减弱,MDA含量显著增加,T-AOC水平显著降低,差异均有统计学意义($P<0.01$)。与模型组比较,大蒜素高剂量组小鼠足趾肿胀组织中SOD、GSH-Px活性均显著增强,MDA含量显著减少,且大蒜素高、中剂量组小鼠T-AOC水平均显著升高,差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$),详见表5。

表5 大蒜素对模型小鼠足趾肿胀组织中氧化应激指标的影响($\bar{x} \pm s$, n=10)Tab 5 Effects of allicin on oxidative stress indexes of paw swelling tissue in model mice ($\bar{x} \pm s$, n=10)

组别	剂量, mg/kg	SOD, U/mg	MDA, nmol/mg	GSH-Px, U/mg	T-AOC, U/mg
空白对照组		40.87±6.75	2.71±0.66	249.77±14.75	1.15±0.16
模型组		22.08±5.14*	6.14±0.52*	185.62±17.04*	0.53±0.06*
大蒜素高剂量组	40	32.01±4.08*	3.85±0.63**	219.20±16.38*	0.82±0.12**
大蒜素中剂量组	20	25.57±6.70	5.53±0.89	200.59±15.84	0.69±0.10*
大蒜素低剂量组	10	23.57±5.66	6.00±0.73	193.22±14.39	0.60±0.15

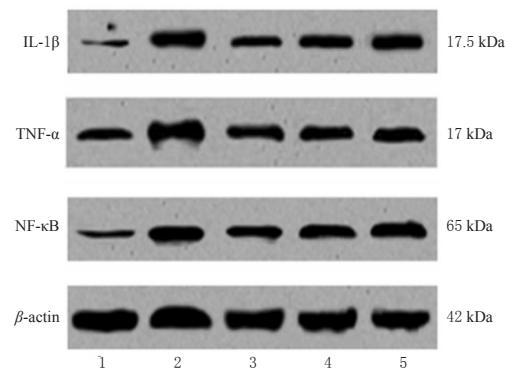
注:与空白对照组比较, *P<0.01;与模型组比较, *P<0.05, **P<0.01

Note: vs. blank control group, *P<0.01; vs. model group, *P<0.05, **P<0.01

3.6 大蒜素对模型小鼠足趾肿胀组织中NF-κB、TNF-α和IL-1β蛋白表达的影响

与空白对照组比较,模型组小鼠足趾肿胀组织NF-κB、TNF-α、IL-1β蛋白表达均显著增强,差异均有统计学意义($P<0.01$)。与模型组比较,大蒜素高剂量组小鼠足趾肿胀组织中NF-κB、TNF-α、IL-1β蛋白表达均显著减弱,差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$),

详见图1、表6。



注:1.空白对照组;2.模型组;3.大蒜素高剂量组;4.大蒜素中剂量组;5.大蒜素低剂量组

Note: 1. blank control group; 2. model group; 3. allicin high-dose group; 4. allicin medium-dose group; 5. allicin low-dose group

图1 小鼠足趾肿胀组织中NF-κB、TNF-α和IL-1β蛋白电泳图

Fig 1 Protein electrophorogram of NF-κB, TNF-α and IL-1β of paw swelling tissue in mice

表6 大蒜素对角叉菜胶致小鼠足趾肿胀组织NF-κB、TNF-α和IL-1β蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$, n=10)Tab 6 Effects of allicin on the protein expression of NF-κB, TNF-α and IL-1β paw swelling tissue of mice induced by carrageenan ($\bar{x} \pm s$, n=10)

组别	剂量, mg/kg	NF-κB/β-actin	TNF-α/β-actin	IL-1β/β-actin
空白对照组		0.22±0.04	0.41±0.05	0.26±0.05
模型组		0.85±0.06*	0.77±0.06*	0.81±0.06*
大蒜素高剂量组	40	0.43±0.03**	0.53±0.04**	0.39±0.04**
大蒜素中剂量组	20	0.69±0.05	0.65±0.09	0.55±0.05
大蒜素低剂量组	10	0.78±0.08	0.70±0.07	0.73±0.08

注:与空白对照组比较, *P<0.01;与模型组比较, *P<0.05, **P<0.01

Note: vs. blank control group, *P<0.01; vs. model group, *P<0.05, **P<0.01

4 讨论

炎性痛通常是由创伤、感染导致组织器官出现炎症性损伤,释放炎症因子而引起的疼痛^[10]。在研究炎性痛发病机制和相关治疗药物筛选工作中,往往需要用多种动物模型进行实验。本研究发现,40、20 mg/kg 大蒜素可显著减少冰醋酸致小鼠扭体反应次数和缩短甲醛致小鼠足底疼痛诱导的累计舔足时间,降低角叉菜胶致小鼠足趾肿胀的程度;40 mg/kg 大蒜素还能显著降低二甲苯致小鼠耳廓肿胀的程度。上述结果提示,大蒜素对炎性痛具有较好的缓解作用。

发生炎症反应时,损伤组织可产生大量自由基,从而诱发氧化应激反应,出现红、肿、热、痛等临床症状,因此,抑制机体的氧化应激反应可缓解炎性痛^[11-12]。本研究发现,40 mg/kg 大蒜素可显著增强模型小鼠足趾肿胀组织中 SOD、GSH-Px 活性,减少 MDA 含量,升高 T-AOC 水平,提示大蒜素可能通过抗氧化应激反应缓解

炎性痛。

炎症介质和细胞因子在炎性痛的发生发展中具有重要作用^[13-14]。如单核细胞、巨噬细胞和淋巴细胞等产生的TNF-α,其不仅具有很强的促炎活性及免疫调节作用,还可刺激损伤组织细胞释放IL-1、IL-2、IL-6、IL-8等炎症因子,引起一系列炎症反应并放大和加重这一过程^[15]。炎症早期重要的促炎因子IL-1β是由巨噬细胞、淋巴细胞分泌的细胞因子,能与TNF-α共同激活诸多免疫细胞和炎症细胞,促进炎症的发生发展和调控、诱导其他炎症因子的分泌与释放^[16]。NF-κB信号通路与上述炎症因子的关系如下:当细胞受到炎症介质刺激时,NF-κB信号通路被激活,转录因子NF-κB进入细胞核,启动靶基因(TNF-α、IL-6、IL-1β等)转录,诱导TNF-α、IL-1β等炎症因子持续或过度表达,使炎性痛持续发生或不断放大^[17-18]。本研究发现,40 mg/kg大蒜素可显著下调模型小鼠足趾肿胀组织中NF-κB、TNF-α和IL-1β蛋白表达,提示大蒜素抗炎性痛机制与抑制NF-κB信号通路有关。

由于目前尚无作用靶点及效应与大蒜素完全一致的药物作为阳性对照药物,本研究选择了抗炎性痛首选药物阿司匹林作为阳性对照药物,实验结果验证了大蒜素对炎性痛有较好的缓解作用,而这也表明本研究所用的动物模型是合理的。但在进行相关机制研究时,考虑到阿司匹林抗炎性痛的作用靶点为环氧酶,其机制与大蒜素不一致,所以笔者在参阅了相关文献^[9]后,未将阿司匹林作为阳性对照药物纳入比较,且在进行NF-κB信号通路检测时只采用了Western blot法进行初步的数量研究,希望以上不足能在今后的研究中逐步完善。

综上所述,大蒜素对模型小鼠炎性痛有一定的缓解作用,其机制与抗氧化应激反应和抑制NF-κB信号通路有关。

参考文献

- [1] MULEY MM, KRUSTEV E, MCDOUGALL JJ. Preclinical assessment of inflammatory pain[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2016, 22(2):88-101.
- [2] JESKE NA. Peripheral scaffolding and signaling pathways in inflammatory pain[J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2015. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2014.11.016.
- [3] LE BARS D, ADAM F. Nociceptors and mediators in acute inflammatory pain[J]. *Ann Fr Anesth*, 2002, 21(4): 315-335.
- [4] 张祎,陈文,孟宪丽.三黄泻心汤对全脑缺血再灌注大鼠氧化应激及炎性损伤的保护作用[J].中药药理与临床,2014,30(4):1-5.
- [5] 王海华,张根葆,闵志雪,等.皖南地区眼镜蛇毒镇痛组分对大鼠炎性痛作用机制探讨[J].中国临床药理学与治疗学,2013,18(10):1093-1099.
- [6] 王建平,宋焱峰,景玉宏,等.大蒜素对小鼠胃肠运动及血清中胃动素、生长激素释放肽的影响[J].中国药房,2015,26(7):950-952.
- [7] 周俊俊,蒋袁絮,金少举,等.甘珀酸钠苦参素复合物镇痛作用及部位研究[J].中国中药杂志,2008,33(7):822-824.
- [8] 陈小龙,王立峰,王璐,等.大蒜素对病毒性心肌炎小鼠的治疗作用[J].中国病理生理杂志,2016,32(6):1027-1030.
- [9] 魏伟.药理实验方法学[M].4版.北京:人民卫生出版社,2010:739-774.
- [10] 刘盈君,方芳,方剑乔,等.电针对慢性炎性痛大鼠镇痛作用及机制研究[J].中国中西医结合杂志,2016,36(6):690-695.
- [11] CALIXTO-CAMPOS C, CARVALHO TT, HOHMANN MS, et al. Vanillic acid inhibits inflammatory pain by inhibiting neutrophil recruitment, oxidative stress, cytokine production, and NF-kappaB activation in mice[J]. *J Nat Prod*, 2015, 78(8):1799-1808.
- [12] 刘莹,朱超,刘娟芳.活性氧与慢性神经病理性疼痛研究进展[J].中华神经外科疾病研究杂志,2014,13(4):382-384.
- [13] OLD EA, CLARK AK, MALCANGIO M. The role of glia in the spinal cord in neuropathic and inflammatory pain[J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2015, 227:145-170.
- [14] YANG Y, LI YX, WANG HL, et al. Oxysophocarpine ameliorates carrageenan-induced inflammatory pain via inhibiting expressions of prostaglandin E₂ and cytokines in mice[J]. *Planta Med*, 2015, 81(10):791-797.
- [15] 杨玉琳,陶文剑,唐宗湘,等.针刺通过降低TNF-α表达缓解脂多糖诱导的炎性痛[J].南京医科大学学报(自然科学版),2017,37(3):303-306.
- [16] NAWAZ R, ZAHID S, IDREES M, et al. HCV-induced regulatory alterations of IL-1beta, IL-6, TNF-alpha, and IFN-epsilon operative, leading liver en-route to non-alcoholic steatohepatitis[J]. *Inflamm Res*, 2017, 66 (6): 477-486.
- [17] AFONINA IS, ZHONG Z, KARIN M, et al. Limiting inflammation-the negative regulation of NF-kappaB and the NLRP3 inflammasome[J]. *Nat immunol*, 2017, 18(8):861-869.
- [18] 李海龙,罗庆波,何静江,等.苦豆碱对哮喘小鼠肺功能及NF-κB、TNF-α、IL-1β的影响[J].中药药理与临床,2016,32(3):69-72.

(收稿日期:2017-11-18 修回日期:2018-03-15)

(编辑:张 静)