

健胃愈疡片保护大鼠胃黏膜促进胃溃疡愈合的作用

王成文, 董秀云, 林三仁

王成文, 董秀云, 林三仁, 北京大学第三医院消化科 北京市 100083
项目负责人: 王成文, 100083, 北京市海淀区花园北路49号, 北京大学第三医院消化科.

收稿日期: 2004-12-27 接受日期: 2005-01-13

摘要

目的: 研究中药方剂健胃愈疡片对大鼠胃黏膜的保护和促进胃溃疡愈合的作用, 同时研究作用的机制.

方法: 采用乙醇、阿斯匹林及幽门结扎诱发大鼠胃黏膜损伤, 药物剂量为 400 mg/kg/d, 给药 3 d, 2 次/d; 第 4 d 处死动物, 检查损伤指数, 测定氧自由基的代谢产物 MDA 和胃酸排除量. 用 500 mL/L 的醋酸涂抹胃部浆膜面产生胃溃疡, 药物剂量同上, 给药 11 d, 2 次/d, 12 d 麻醉下测定 GMBL, 然后结扎幽门, 3 h 后, 处死动物, 取胃液测定胃酸排除量, 检查溃疡面积, 测定胃黏膜一氧化氮含量及胃黏膜黏液糖蛋白代表产物氨基己糖的浓度.

结果: 健胃愈疡片和硫糖铝有抵抗乙醇、阿斯匹林和幽门结扎诱发的胃黏膜损伤作用, 和对照组比较均有明显的差异. 抵抗乙醇诱发的损伤: 损伤指数对照组为 56.7 ± 3.6 , 健胃愈疡片组为 38.8 ± 6.7 ($P < 0.05$), MDA 含量对照组为 7.1 ± 2.2 $\mu\text{mol/g}$, 健胃愈疡片组为 4.5 ± 3.2 $\mu\text{mol/g}$ ($P < 0.05$). 减少阿斯匹林诱发的损伤, 损伤指数对照组为 13.61 ± 1.2 , 健胃愈疡片组为 4.48 ± 1.5 ($P < 0.01$). 抵抗幽门结扎诱发的损伤, 损伤指数对照组为 9.7 ± 2.3 , 健胃愈疡片组为 4.4 ± 0.5 ($P < 0.05$), 胃液分泌减少, 对照组 4 h 为 6.3 ± 0.9 mL, 健胃愈疡片组为 4.5 ± 0.2 mL ($P < 0.05$), 4 h 总酸排除量减少, 对照组为 1.0 ± 1.2 mol, 健胃愈疡片组为 0.5 ± 0.1 mol ($P < 0.05$). 氨基己糖含量增加, 对照组为 12.6 ± 6.5 mg/g, 健胃愈疡片组为 21.7 ± 7.1 mg/g ($P < 0.05$). 健胃愈疡片促进胃溃疡愈合, 溃疡面积对照组为 6.8 ± 2.9 mm^2 , 健胃愈疡片组为 4.1 ± 2.5 mm^2 ($P < 0.05$), GMBL 增加, 对照组为 322.2 ± 54 mL/min/kg, 健胃愈疡片组为 411.2 ± 58 mL/min/kg ($P < 0.05$), 3 h 胃酸排除量, 对照组为 44.2 ± 13.0 mol, 健胃愈疡片组 31.2 ± 15.7 mol ($P < 0.05$). 氨基己糖含量明显增加, 对照组为 15.4 ± 7.2 mg/g, 健胃愈疡片组为 20.8 ± 9.7 mg/g ($P < 0.05$), NO 的含量增加, 对照组为 0.8 ± 0.02 $\mu\text{mol/L}$, 健胃愈疡片组为 0.7 ± 0.03 $\mu\text{mol/L}$ ($P < 0.05$).

结论: 健胃愈疡片有抵抗损伤促进溃疡愈合的作用, 其作用机制是减少氧自由基的产生, 抑制胃酸, 增加 GMBL、胃黏膜黏液糖蛋白和 NO 的含量.

0 引言

健胃愈疡片是中药方剂, 有促进胃溃疡愈合的作用^[1], 但对胃黏膜是否有保护作用尚未得到证明, 我们观察健胃愈疡片是否对胃黏膜有保护作用, 并观察研究健胃愈疡片促进胃溃疡愈合保护胃黏膜作用的机制.

1 材料和方法

1.1 材料 仪器、试剂和药物: 健胃愈疡片(处方: 柴胡, 党参, 白芍, 延胡索, 白及, 珍珠层粉, 青黛和甘草)为湖南九芝堂股份有限公司提供, 氨基己糖(Hexosamine Hex)标准品为日本和光纯药工业株式会社生产, 激光多普勒血流仪(Laser Doppler Flowmetry)为 SWEDEN 生产, 分光光度计为上海仪器厂生产. 动物: δ Wistar 大鼠, 体重 180-240 g 为北京维多利亚华公司提供.

1.2 方法

1.2.1 胃黏膜的保护 无水乙醇诱发的胃黏膜损伤的保护作用, 动物分为 3 组: (1) 对照组: 生理盐水 2 mL + 无水乙醇 1 mL; (2) 健胃愈疡片组(人用量的 5 倍即每天 400 mg/kg) + 无水乙醇 1 mL; (3) 硫糖铝(人用量的 5 倍即每天 335 mg/kg) + 无水乙醇 1 mL. 用蒸流水溶解药物, 经口给生理盐水或药物, 2 次/d, 2 mL/次, 给 3 d, 第 4 d, 实验前 1 h 再给药 1 次, 1 h 后经口给无水乙醇 1 mL, 给无水乙醇 1 h 后处死动物, 依 GUTH 的方法计算损伤指数^[2], 然后将胃黏膜置于液氮中速冻或 -70℃ 冰箱保存. 丙二醛(MDA)含量测定, 以四乙氧基丙烷为标准品, 测定胃黏膜匀浆液中脂质过氧化产物 MDA 的含量^[3]. 阿斯匹林诱发的胃黏膜损伤的保护作用, 动物分组和给药方法药物剂量同乙醇组, 实验当天上午给药 1 次, 1 h 后 ip 阿斯匹林(日本制) 80 mg/kg, 2 h 后处死动物, 用 GUTH 方法检查胃黏膜损伤指数. 幽门结扎诱发的胃黏膜损伤的保护作用动物分组药物剂量和给药方法同乙醇组. 实验当天上午给药 1 次, 1 h 后在乙醚麻醉下结扎幽门, 4 h 后, 处死动物, 取胃, 收集胃液, 测定酸度及总酸排除量, 并依 GUTH 方法计算胃黏膜损伤指数. 一部分胃组织放在低温下或液氮中保存, 从另一部分取胃黏膜, 用比色法测定胃黏膜的氨基己糖含量^[4].

1.2.2 促进溃疡愈合作用 慢性实验动物模型的制备: 用 50% 醋酸接触胃浆膜面, 停留 1 min 的办法制备溃疡模型^[5], 手术 2 d, 将动物随机分为 3 组, 健胃愈疡片的剂量为每天 400 mg/kg, 对照组给生理盐水, 给药 11 d, 2 次/d, 给药 11 d 后, 动物禁食过夜, 第 12 d, 在乙醚麻醉下测定 GMBF, 测定之后, 结扎幽门, 3 h 后脱颈处死, 取胃收集胃液, 测定胃酸排除量, 将胃展平, 测量溃疡面积

(长×宽),以 mm^2 表示.胃组织放在低温下或液氮中保存.待测溃疡周围组织的氨基己糖和NO.氨基己糖和NO用比色法测定^[4].

统计学处理 数据以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,组间差导的比较,采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异有显著意义.

2 结果

2.1 胃黏膜的保护作用 经口灌入乙醇1 h后,生理盐水对照组($n = 7$)大鼠胃黏膜严重损伤,损伤指数为 $56.7 \pm 3.8 \text{ mm}$,健胃愈疡片组($n = 7$)损伤指数为 $38.8 \pm 6.7 \text{ mm}$,和对照组比有明差异($P < 0.05$),硫糖铝组($n = 7$)为 $12.4 \pm 6.9 \text{ mm}$ ($P < 0.01$),健胃愈疡片和硫糖铝有保护胃黏膜抵抗乙醇损伤的作用.对脂质过氧化的作用,生理盐水+乙醇对照组MDA含量为 $7.1 \pm 2.2 \mu\text{mol/g}$ 蛋白,健胃愈疡片+乙醇组,MDA含量为 $4.5 \pm 3.2 \mu\text{mol/g}$ 蛋白,两组MDA含量有明显差异($P < 0.05$).硫糖铝+乙醇组,MDA含量 $3.1 \pm 2.3 \mu\text{mol/g}$ 蛋白,和对照组比也有明显差异($P < 0.01$).ip 阿斯匹林2 h后,对照组($n = 7$)溃疡损伤指数为 13.6 ± 1.2 ,健胃愈疡片组为 4.4 ± 1.5 ,和对照组比有明显差异($P < 0.01$),硫糖铝组($n = 7$)损伤指数为 3.3 ± 1.7 ,和对照组比有明显差异($P < 0.01$).幽门结扎4 h后,对照组胃黏膜损伤指数为 9.7 ± 2.3 .健胃愈疡片组为 4.4 ± 0.5 ,给药组溃疡指数明显小于对照组.健胃愈疡片抑制胃液胃酸的分泌,对照组4 h胃液量为 $6.3 \pm 0.9 \text{ mL}$,健胃愈疡片组 4.4 mL ,两组有明显差异($P < 0.05$),4 h时总酸排除量实验组和对照组比也有差异,对照组为 $0.97 \pm 1.2 \text{ mol}$,健胃愈疡片组 $0.45 \pm 0.1 \text{ mol}$ ($P < 0.05$).健胃愈疡片促进胃黏膜分泌黏液糖蛋白,氨基己糖含量,对照组为 $12.6 \pm 6.5 \text{ mg/g}$,健胃愈疡片组为 $21.7 \pm 7.1 \text{ mg/g}$ ($P < 0.01$).

2.2 健胃愈疡片促进溃疡愈合 对照组的溃疡面积明显大于用药组的溃疡面积,对照组($n = 8$) $6.8 \pm 2.9 \text{ mm}^2$,愈疡片组($n = 8$) $4.1 \pm 2.5 \text{ mm}^2$.健胃愈疡片增加GMBF,对照组平均是 $322 \pm 54 \text{ mL/min} \cdot \text{kg}$,健胃愈疡片组是 $411 \pm 58 \text{ mL/min} \cdot \text{kg}$,和对照组比较有明显差异($P < 0.05$).3 h胃酸排除量,对照组为 $44.2 \pm 13.0 \text{ mol}$,健胃愈疡片组为 $31.2 \pm 15.7 \text{ mol}$.健胃愈疡片组明显少于对照组($P < 0.01$).氨基己糖含量,对照组为 $15.4 \pm 7.2 \text{ mg/g}$,健胃愈疡片组为 $20.8 \pm 9.7 \text{ mg/g}$,明显高于对照组($P < 0.05$).健胃愈疡片增加胃黏膜NO的含量,对照组 $0.67 \pm 0.02 \mu\text{mol/L}$,愈疡片组 $0.70 \pm 0.03 \mu\text{mol/L}$.和对照组比较有明显差异($P < 0.05$).

3 讨论

消化性溃疡的发病是由于胃和十二指肠黏膜攻击因子和保

护因子平衡失调,损伤胃黏膜的因素有很多,如化学因素、物理因素、精神因素等;攻击因子中以胃酸胃蛋白酶为主,还有氧自由基、幽门螺杆菌.保护因子有黏膜屏障如细胞更新率,黏液屏障如黏液分泌量、胃黏膜血流量,内源性的前列腺素(PG),胃肠激素如表皮生长因子(EGF),P物质等^[6].NO是体内重要的调节物质^[7-8].中医理论认为消化性溃疡属胃痛、嘈杂范畴,脾气虚弱.

健胃愈疡片对胃溃疡和胃炎有很好的疗效,溃疡愈合率大约达到70%,改善胃溃疡和胃炎的临床症状大约达到90%^[1],其作用机制:从中医理论分析健胃愈疡片,有补气健脾、疏肝理气、抑肝平木、活血化瘀、缓急止痛和泄热制酸等功能.从西医理论研究已证明,健胃愈疡片增加P物质和内啡素,减少细胞凋亡.我们研究发现健胃愈疡片有保护胃黏膜促进胃溃疡愈合的作用.健胃愈疡片促进胃溃疡愈合,其机制是抑制胃酸分泌,增加胃黏膜血流量、增加黏液糖蛋白的分泌,增加NO含量.健胃愈疡片又有保护胃黏膜,抵抗乙醇、阿斯匹林、幽门结扎诱发的胃黏膜损伤,而且能减少乙醇引起的氧自由基的产生,使胃黏膜MDA含量减少.另外,他也能增加胃黏膜PG的合成,因为该药抵抗阿斯匹林引起的胃黏膜损伤,阿斯匹林抑制PG的形成^[2].健胃愈疡片还能抑制幽门结扎大鼠的胃酸和胃黏液糖蛋白的分泌.

我们研究过,中药利胃复胶囊(其组成三七,枯矾等)保护胃黏膜,对胃肠有解痉的作用.离体研究发现该药可抑制幽门螺杆菌的生长^[9].因此在治疗消化系统疾病中,中药有很大的发展空间.我们应发展祖国医学,利用现代的方法研究中药的作用并探讨作用机制.

4 参考文献

- 1 李家邦,金益强,陈国林,赵玉秋,潘其民.健胃愈疡片治疗消化性溃疡的临床研究.中西医结合杂志 1991;11:141-143
- 2 Guth PH, Aures D, Paulsen G. Topical aspirin plus HCl gastric lesion in the Rat-cytoprotective effect of prostaglandin, cimetidine, and probanthine. *Gastroenterology* 1979; 76:88-93
- 3 Ligumsky M, Sestieri M, Okon E, Ginsburg I. Antioxidants inhibit ethanol-induced gastric injury in the rat - role of manganese, glycine and carotene. *Scand J Gastroenterol* 1995; 30:854-860
- 4 董秀云,森治树,林三仁.洛赛克促进溃疡愈合机制的研究.中华消化杂志 1999;19:12-14
- 5 周衍淑,赵轶千,王雨若.生理学方法与技术.第2集.北京:北京科学出版社, 1984:307-311
- 6 郑芝田.消化性溃疡病.北京:人民卫生出版社, 1998:325-350
- 7 Anggard E. Nitric oxide: mediator, murderer and medicine. *Lancet* 1994;343:1199-1205
- 8 Mhlp S, Paula LH, Oliveira RB, Cunha FQ. Gastric damage and granulocyte infiltration induced by indomethacin in tumour necrosis factor receptor 1(TNF-R1) or inducible nitric oxide synthase(iNOS) deficient mice. *Gut* 2004;53:791-796
- 9 任俊杰,侯家玉,董秀云,李名沁,赵凤志,张燕平,董华,易凡,吴红梅.利胃复胶囊治疗溃疡病的临床及实验研究.中国中西医结合脾胃杂志 1997;5:151-156