

## 血管紧张素 II 拮抗剂在大鼠应激性溃疡中的作用

窦勇鹰, 谢立群, 李俊美, 华建平, 海鸥

### ■背景资料

患者在遭受各类重伤(包括大手术)、重病和其他应激情况下,特别是在并发休克、出血、感染或肾、肺等脏器功能严重受损时,均易患应激性溃疡,出血率及病死率较高。质子泵抑制剂可降低出血率,但并不降低病死率,因此,研究者致力于寻求一种可降低应激性溃疡出血率和病死率的药物。

窦勇鹰, 谢立群, 海鸥, 中国人民武装警察部队医学院附属医院消化内科 天津市 300162

李俊美, 华建平, 天津市第一中心医院消化内科 天津市 300192

通讯作者: 谢立群, 300162, 天津市河东区, 中国人民武装警察部队医学院附属医院消化内科. xieliquan66@hotmail.com  
电话: 022-60578765

收稿日期: 2006-07-13 接受日期: 2006-08-10

### Role of angiotensin II antagonist in the formation of stress ulcer in rats

Yong-Ying Dou, Li-Qun Xie, Jun-Mei Li, Jian-Ping Hua, Ou Hai

Yong-Ying Dou, Li-Qun Xie, Ou Hai, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Medical College of Chinese People's Armed Police Forces, Tianjin 300162, China

Jun-Mei Li, Jian-Ping Hua, Department of Gastroenterology, the First Central Hospital of Tianjin Municipality, Tianjin 300192, China

Correspondence to: Li-Qun Xie, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Medical College of Chinese People's Armed Police Forces, He Dong district, Tianjin 300162, China. xieliquan66@hotmail.com

Received: 2006-07-13 Accepted: 2006-08-10

### Abstract

**AIM:** To investigate the role of angiotensins II antagonist in the occurrence and development of stress ulcer in rats.

**METHODS:** The ulcer index (UI) was observed after water immersion-restraint stress (WRS), and the levels of thromboxane B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>) and 6-keto-prostaglandin F<sub>1</sub> alpha (6-K) were measured by radioimmunoassay. The gastric mucosal pH value was detected and histopathological changes were observed.

**RESULTS:** In comparison with those in the negative controls, the gastric mucosal pH value and 6-K level were significantly increased in the antagonist group ( $4.82 \pm 0.31$  vs  $4.53 \pm 0.11$ ,  $P = 0.026$ ;  $974.95 \pm 109.11$  ng/L vs  $654.50 \pm 221.31$  ng/L,  $P < 0.01$ ), but the TXB<sub>2</sub> level and UI were significant decreased ( $48.53 \pm 8.26$  ng/L vs  $98.18 \pm 39.24$  ng/L,  $P < 0.01$ ;  $36.13 \pm 6.49$  vs

$69.00 \pm 33.27$ ,  $P < 0.01$ ). Meanwhile, thrombosis was also decreased in the antagonist group. The level of 6-K was significantly different between the antagonist and positive control group ( $974.95 \pm 109.11$  ng/L vs  $737.61 \pm 96.10$  ng/L,  $P < 0.05$ ), but the pH value, UI and TXB<sub>2</sub> level had no marked difference between the two groups.

**CONCLUSION:** Pretreatment of angiotensins II antagonists can protect gastric mucosa by dilatation of blood vessel and increase of blood flow, and the mechanism may be associated with the inhibition of corticosterone production and prostaglandin E<sub>2</sub> secretion.

**Key Words:** Angiotensins II antagonist; Stress ulcer; Gastric mucosa; Thromboxane B<sub>2</sub>; 6-ketoprostaglandin F<sub>1</sub> alpha; Blood vessel

Dou YY, Xie LQ, Li JM, Hua JP, Hai O. Role of angiotensin II antagonist in the formation of stress ulcer in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(33):3224-3227

### 摘要

**目的:** 探讨血管紧张素 II 拮抗剂在大鼠应激性溃疡(SU)中的作用。

**方法:** 水浸束缚应激后, 肉眼计算胃黏膜溃疡指数(UI); 取动脉血和胃液做血气分析计算胃黏膜内pH值; 采用放射免疫方法检测血栓素B<sub>2</sub>(TXB<sub>2</sub>)和6-酮前列腺素F<sub>1</sub>α(6-K); 观察胃组织病理形态学变化。

**结果:** 管紧张素 II 拮抗剂组与阴性对照组比较, pH值、6-K水平显著升高( $4.82 \pm 0.31$  vs  $4.53 \pm 0.11$ ,  $P = 0.026$ ;  $974.95 \pm 109.11$  ng/L vs  $654.50 \pm 221.31$  ng/L,  $P < 0.01$ ), 而TXB<sub>2</sub>, UI显著降低( $48.53 \pm 8.26$  ng/L vs  $98.18 \pm 39.24$  ng/L,  $P < 0.01$ ;  $36.13 \pm 6.49$  vs  $69.00 \pm 33.27$ ,  $P < 0.01$ )。病理形态学观察, 血栓形成减少。血管紧张素 II 拮抗剂组与奥美拉唑组比较, 除6-K( $974.95 \pm 109.11$  ng/L vs  $737.61 \pm 96.10$  ng/L,  $P < 0.05$ )外, 其他数据无统计学差异。

**结论:** 血管紧张素 II 拮抗剂通过舒张血管, 增加胃黏膜血流量起到保护胃黏膜的作用, 其机

制可能是减轻肾上腺髓质对应激的反应, 抑制由应激引起的儿茶酚胺的合成和释放, 促进前列腺素的分泌。

**关键词:** 血管紧张素; 胃黏膜; 血管; 血栓素 $B_2$ ; 6-酮前列腺素 $F_{1\alpha}$ ; 应激性溃疡

奚勇鹰, 谢立群, 李俊美, 华建平, 海鸥. 血管紧张素 II 拮抗剂在大鼠应激性溃疡中的作用. 世界华人消化杂志 2006;14(33):3224-3227

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3224.asp>

## 0 引言

应激性溃疡(SU)的发病机制非常复杂, 目前尚未完全明了. 目前认为SU的发生涉及机体神经内分泌失调、胃黏膜保护功能削弱及胃黏膜损伤因素作用增强等诸多方面, 主要因素为胃黏膜血流量减少. 阻断大脑内血管紧张素 II  $AT_2$ 受体不仅可造成血压下降, 还可对大脑内血管紧张素 II  $AT_1$ 受体产生拮抗作用, 减少交感神经-肾上腺髓质系统和激素对应激的反应, 并阻止应激诱导的胃黏膜损伤, 血管紧张素 II  $AT_1$ 受体拮抗剂是新近发现的治疗应激相关性疾病的药物<sup>[1]</sup>. 本实验研究用血管紧张素 II 拮抗剂和奥美拉唑预防大鼠SU检测其效果是否有区别. 为SU发生的神经内分泌学说提供新的理论依据, 为胃黏膜损伤的治疗提供重要治疗靶点。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 采用健康成年Wistar  $\delta$  大鼠, 购自中国人民解放军医学科学院实验动物中心, 清洁级, 180-200 g左右, 普通饲料喂养, 自由饮水. 坎地沙坦为天津武田药品有限公司产品, 6-酮前列腺素 $F_{1\alpha}$ (6-K)和血栓素 $B_2$ (TXB $_2$ )试剂盒购自南京建成生物工程研究所. 血气分析仪: Rapidpoint 400, Bayer;  $\gamma$ 放射免疫计数仪: 中国科学技术大学科技实业总公司; 高速冷冻离心机: TGL-16G型, 上海安亭科学仪器厂。

**1.2 方法** 大鼠禁食24 h, 禁水2 h, 将大鼠四肢束缚于自制鼠板上, 限制其活动, 将其直立置于 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 水桶中, 使水平面与大鼠的胸骨剑突水平平齐. 水浸束缚应激后, 给予大鼠3 mL生理盐水灌胃, 20 min后, 给予大鼠40 g/L戊巴比妥钠9 mL/kg腹腔麻醉, 约10 min后, 仰卧固定, 常规剪毛、消毒、铺敷, 打开腹腔, 暴露胃, 双结扎法完整取胃, 用注射器取胃液, 于血气分析仪上测量胃液内 $P_{\text{CO}_2}$ . 沿胃大弯剪开, 然后用生理盐

水冲洗胃腔内及黏膜面上的血迹, 将胃平铺于冰袋上, 观察溃疡、糜烂出血点发生的部位、大小、形状并计算黏膜损伤指数, 按Guth标准评估胃黏膜损伤溃疡指数(ulcer index, UI)并累计积分, 斑点、糜烂为1分, 糜烂长度 $<1$  mm为2分, 1-2 mm为3分, 2-3 mm为4分,  $>4$  mm为5分. 在溃疡或糜烂中心取黏膜组织2块( $0.5\text{ cm} \times 0.5\text{ cm}$ ), 置入100 g/L福尔马林液中, 固定48 h、常规脱水包埋, 4  $\mu\text{m}$ 厚切片, HE染色, 组织病理学观察. 开腹, 直视下以肝素润管的5 mL注射器于腹主动脉取血3 mL, 立即做血气分析, 将剩余动脉血 $37^\circ\text{C}$ 温育30 min, 后以3500 r/min离心10 min, 半径3 cm, 取上清, EP管分装. 标记后置 $-80^\circ\text{C}$ 保存, 严格按照试剂盒进行操作. 应用放射免疫方法测定TXB $_2$ 和6-K.

**统计学处理** 实验结果以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 统计学分析用SPSS 11.5软件进行分析, 均数之间的比较用LSD检验。

## 2 结果

不应激组大鼠胃黏膜色泽红润, 未见损伤性改变. 阴性对照组大鼠胃腔内可见少量血性积液, 黏膜面附有较多血痂, 生理盐水冲洗后, 见黏膜充血、水肿明显, 腺胃部弥漫点线状出血灶, 损伤主要位于黏膜皱襞处. 奥美拉唑组和血管紧张素 II 拮抗剂组胃腔内无血性积液, 黏膜面附有少量血痂, 生理盐水冲洗后, 黏膜充血、水肿不明显, 糜烂、出血点较上述两组减少, UI下降. 各组胃黏膜溃疡指数UI及相互关系见表1.

**2.1 胃黏膜组织病理学变化** 光镜下可见阴性对照组大鼠黏膜表层上皮细胞受损、脱落, 可见黏膜中断现象, 腺体结构紊乱, 间隙扩大, 其间可见炎性细胞浸润, 黏膜层、黏膜下层明显充血、水肿. 可见出血、溃疡以及黏膜糜烂, 血管内有血栓形成. 血管紧张素 II 拮抗剂组和奥美拉唑组黏膜充血、水肿程度较阴性对照组轻, 血管内聚集红细胞(图1).

**2.2 血管紧张素 II 拮抗剂组与阴性对照组比较**  $p\text{Hi}$ : 血管紧张素 II 拮抗剂组( $4.81 \pm 0.31$ )比阴性对照组( $4.53 \pm 0.11$ )明显升高( $P < 0.05$ ). TXB $_2$ : 血管紧张素 II 拮抗剂组( $352.48 \pm 14.30\text{ ng/L}$ )比阴性对照组( $378.89 \pm 15.10\text{ ng/L}$ )升高( $P < 0.05$ ). 6-K: 血管紧张素 II 拮抗剂组( $974.95 \pm 109.11\text{ ng/L}$ )比阴性对照组( $654.50 \pm 221.31\text{ ng/L}$ )明显降低( $P < 0.05$ ). UI: 血管紧张素 II 拮抗剂组( $36.13 \pm 6.49$ )比阴性对照组( $69.00 \pm 33.27$ )明

## ■ 研究前沿

血管紧张素 II 受体拮抗剂是近年来国际上研究的热点之一, 其在血压调节过程中起到重要作用. 最新的研究也发现, 血管紧张素 II  $AT_1$ 受体拮抗剂可能是通过减轻肾上腺髓质对应激的反应, 抑制由应激引起的儿茶酚胺的合成和释放和促进前列腺素的分泌, 舒张血管, 增加胃黏膜血流量来预防应激性溃疡。

### ■应用要点

本实验研究用血管紧张素Ⅱ拮抗剂和奥美拉唑预防大鼠SU检测其效果是否有区别. 为SU发生的神经内分泌学说提供新的理论依据, 为胃黏膜损伤的治疗提供重要治疗靶点.

表 1 各组大鼠UI, pHi, TXB<sub>2</sub>, 6-K数值比较 ( $n = 8$ , mean  $\pm$  SD)

分组	UI	pHi	TXB <sub>2</sub> (ng/L)	6-K (ng/L)
阴性对照组	69.00 $\pm$ 33.27	4.53 $\pm$ 0.11	378.89 $\pm$ 15.10	654.50 $\pm$ 221.31
血管紧张素Ⅱ拮抗剂组	36.13 $\pm$ 6.49 <sup>a</sup>	4.81 $\pm$ 0.31 <sup>a</sup>	352.48 $\pm$ 14.30 <sup>a</sup>	974.95 $\pm$ 109.11 <sup>a</sup>
奥美拉唑组	26.88 $\pm$ 14.13 <sup>a</sup>	4.87 $\pm$ 0.32 <sup>a</sup>	359.41 $\pm$ 16.49 <sup>a</sup>	737.61 $\pm$ 96.10 <sup>c</sup>
不应激组		4.94 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	278.86 $\pm$ 12.38 <sup>ac</sup>	969.38 $\pm$ 82.97 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 阴性对照组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 血管紧张素Ⅱ拮抗剂组.

显降低( $P < 0.05$ ). 病理形态学观察, 血栓形成减少.

### 3 讨论

血管紧张素Ⅱ受体存在于外周器官和大脑, 血管紧张素Ⅱ可调节大脑功能, 如: 自主神经系统、激素、大脑发育、感觉过程和大脑内血流量的分布. 血管紧张素Ⅱ受体有AT<sub>1</sub>和AT<sub>2</sub>受体. AT<sub>1</sub>受体可调节自主神经系统和内分泌系统和情绪、感觉和运动功能. AT<sub>2</sub>受体广泛地分布于大脑区域内, 并和感觉、运动功能有关. 应激可增加血管紧张肽原酶和血管紧张素Ⅱ在循环和大脑中的分泌<sup>[2]</sup>, 血管紧张素Ⅱ可通过血液循环到达在肾上腺和垂体的受体以及血脑屏障, 并通过增加室旁核促皮质激素释放激素(corticotropin-releasing hormone, CRH)的合成激活室旁核内AT<sub>1</sub>受体, CRH释放入下丘脑后, 可增加垂体内促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH)含量. 应激时, 由垂体合成和释放的血管紧张素Ⅱ可增强ACTH分泌, 并上调室旁核内AT<sub>1</sub>受体, 从而促进CRH生成、ACTH释放、肾上腺皮质激素分泌. 血管紧张素Ⅱ对肾上腺可产生直接的作用, 在急性应激期间, 可刺激醛固酮分泌儿茶酚胺的释放, 应激也可影响AT<sub>1</sub>和AT<sub>2</sub>受体在肾上腺小球带和髓质的表达. 阻断大脑内血管紧张素ⅡAT<sub>2</sub>受体不仅可造成血压下降, 还可对大脑内AT<sub>1</sub>受体产生拮抗作用, 减弱交感神经-肾上腺髓质系统和激素对应激的反应, 并阻止应激诱导的胃黏膜损伤. 在形成应激性胃溃疡机制中, 胃黏膜血流量的减少和自由基的形成是主要因素<sup>[3]</sup>, 维持胃黏膜血流量对预防应激性胃溃疡起到重要作用. 血管紧张素Ⅱ通过激活其AT<sub>1</sub>受体不仅调节动脉<sup>[4]</sup>和脑血管<sup>[5]</sup>阻力, 也可压缩胃脉管系统. 动物实验表明, 给予血管紧张素ⅡAT<sub>1</sub>受体拮抗剂-坎地沙坦后可显著减少有冷束缚刺激引起的SU<sup>[6]</sup>. 目前, 国内外对预处理血管紧张

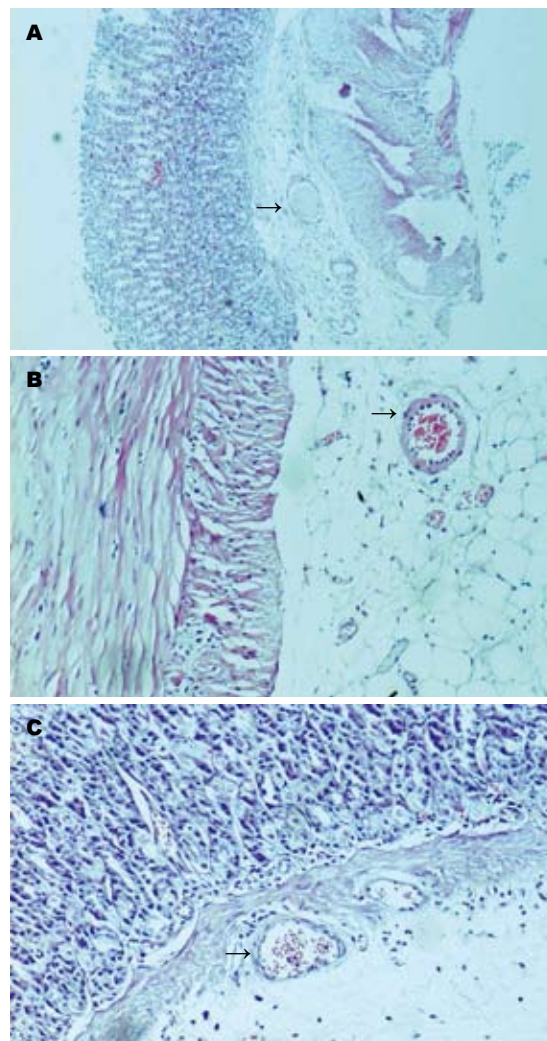


图 1 各组大鼠组织病理学特点. A: 阴性对照组大鼠血管内血栓形成( $\times 40$ ); B: 血管紧张素Ⅱ拮抗剂组大鼠血管内红细胞聚集( $\times 100$ ); C: 奥美拉唑组大鼠血管内红细胞聚集( $\times 100$ ).

素ⅡAT<sub>1</sub>受体拮抗剂后, 与预处理奥美拉唑有区别, 以及预处理血管紧张素ⅡAT<sub>1</sub>受体拮抗剂后, 体内舒张和收缩血管因子、保护胃黏膜屏障指标有无变化研究甚少. 本实验通过预处理血管紧张素ⅡAT<sub>1</sub>受体拮抗剂后, 观察其舒张、收缩血管因子, 血栓形成因素和黏膜屏障等指

标, 和奥美拉唑组、阴性对照组进行比较. 观察血管紧张素 II AT<sub>1</sub>受体拮抗剂是否仍具有预防SU的作用.

前列环素(prostacycline, PGI<sub>2</sub>)是由血管壁内皮细胞合成和释放的一种抗血小板聚集和舒张血管的生物活性物质. 生物半衰期约3 min, 迅速代谢生成6-Keto-PGF<sub>1</sub>α, 在正常生理状态下血浆或组织中血栓素A<sub>2</sub>(thromboxaneA<sub>2</sub>, TXA<sub>2</sub>)和PGI<sub>2</sub>平衡, 失调是造成血小板凝集, 血管痉挛收缩或血栓形成的原因之一. 由于TXA<sub>2</sub>和PGI<sub>2</sub>的不稳定性, 目前难以直接测定, 故国内外均以测定TXB<sub>2</sub>和6-Keto-PGF<sub>1</sub>α作为判断其浓度的指标. 本实验证实, 给予血管紧张素 II AT<sub>1</sub>受体拮抗剂后, 6-K明显升高, TXB<sub>2</sub>明显降低, 表明血管紧张素 II AT<sub>1</sub>受体拮抗剂有明显的舒张血管作用. 血管紧张素 II 可能通过激活磷脂酶A<sub>2</sub>增加前列腺素合成和释放, 从而起到舒张血管, 增加胃黏膜血流量的作用. 其减少血栓素的分泌可能和抑制促炎性反应有关.

pHi值作为研究胃肠功能变化的主要检测指标<sup>[7]</sup>, 能够敏感反映胃肠黏膜缺氧情况, 较其他指标能更早提示病情的变化. 机体在维持其内环境和行使功能时所需要的能量直接来源于ATP的分解即ATP→ADP+Pi+H<sup>+</sup>. 当机体遭受创伤、失血感染等因素后, 组织细胞氧供缺乏, 可导致ATP的合成小于其分解而产生多余的H<sup>+</sup>, 大量的H<sup>+</sup>存在于胃黏膜内, 从而引起pHi下降. 组织细胞缺氧越严重, pHi值下降越显著. 因此, pHi值提供了部分器官组织氧合与否的判定依据. 我们的实验结果显示, 阴性对照组pHi值明显下降, 可能是由于在SU过程中, 大鼠胃黏膜动脉收缩, 造成缺血缺氧, 导致ATP的合成小于其分解而产生多余的H<sup>+</sup>, 血管紧张素 II AT<sub>1</sub>受体拮抗剂组pHi较阴性对照组明显升高, 和奥美拉唑组比较无统计学差异, 表明, 血管紧张素 II AT<sub>1</sub>受体拮抗剂同奥美拉唑都具有改善机体氧供缺乏的作用. 胃组织病理学观察: 血管紧张素 II AT<sub>1</sub>

受体拮抗剂组大鼠血管管径增长, 管壁内有红细胞聚集, 但没有血栓形成, 也说明血管紧张素 II AT<sub>1</sub>受体拮抗剂有扩张血管的作用. 奥美拉唑是经典的质子泵抑制剂, 通过抑制胃酸的生成保护胃黏膜屏障. 在实验中发现, 奥美拉唑也可以减少黏液的耗损, 可能是因为黏液层厚度和H<sup>+</sup>浓度有关. 胃组织病理学观察, 奥美拉唑组大鼠血管内有红细胞聚集, 但没有血栓形成, 而阴性对照组血管内则有血栓形成. 通过肉眼观察Guth评分, 也可以证实血管紧张素 II AT<sub>1</sub>受体拮抗剂具有和奥美拉唑一样的预防SU的作用.

血管紧张素 II AT<sub>1</sub>受体拮抗剂可能是通过减轻肾上腺髓质对应激的反应, 抑制由应激引起的儿茶酚胺的合成和释放和促进前列腺素的分泌, 舒张血管, 增加胃黏膜血流量来预防SU. 血管紧张素 II 可能成为胃黏膜损伤的治疗一个治疗靶点.

## 4 参考文献

- 1 Armando I, Seltzer A, Bregonzio C, Saavedra JM. Stress and angiotensin II: novel therapeutic opportunities. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 2003; 2: 413-419
- 2 Peng JF, Phillips MI. Opposite regulation of brain angiotensin type 1 and type 2 receptors in cold-induced hypertension. *Regul Pept* 2001; 97: 91-102
- 3 Tuncel N, Tuncel M, Aboul-Enein HY. Effects of the vasoactive intestinal peptide on stress-induced mucosal ulcers and modulation of methylation of histamine in gastric tissue of the rats. *Farmacology* 2003; 58: 449-454
- 4 Levy BI. Can angiotensin II type 2 receptors have deleterious effects in cardiovascular disease? Implications for therapeutic blockade of the renin-angiotensin system. *Circulation* 2004; 109: 8-13
- 5 Saavedra JM. Brain angiotensin II: new developments, unanswered questions and therapeutic opportunities. *Cell Mol Neurobiol* 2005; 25: 485-512
- 6 Bregonzio C, Armando I, Ando H, Jezova M, Baiardi G, Saavedra JM. Angiotensin II AT<sub>1</sub> receptor blockade prevents gastric ulcers during cold-restraint stress. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1018: 351-355
- 7 李建忠, 余飞飞, 岳茂兴. 胃肠功能障碍患者胃黏膜内pHi值的监测方法和意义. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 983-984

## ■同行评价

关于血管紧张素 II 拮抗剂在大鼠应激性溃疡中的作用已经有报道, 对预处理血管紧张素 II AT<sub>1</sub>受体拮抗剂后, 与预处理奥美拉唑有无区别, 以及预处理血管紧张素 II AT<sub>1</sub>受体拮抗剂后, 体内舒张和收缩血管因子、保护胃黏膜屏障指标有无变化的研究还不多, 因此具有一定学术意义.

电编 张敏 编辑 张焕兰