

酸奶对胃溃疡模型大鼠胃黏膜损伤的抑制作用

王超, 袁卫新, 祝闽辉, 陈健康, 赵玉峰

■背景资料

有人认为酸奶含有益生菌群有利于肠道环境的改善, 促进溃疡愈合, 也有人认为导致溃疡的一个重要原因就是胃酸分泌过多, 而酸奶含大量乳酸, 会加重溃疡进程。胃溃疡患者喝酸奶到底有益还是有害, 一直众说纷纭。

王超, 袁卫新, 祝闽辉, 中国人民解放军第四军医大学口腔医学系六队 陕西省西安市 710032

陈健康, 赵玉峰, 中国人民解放军第四军医大学基础医学实验部 陕西省西安市 710032

作者贡献分布: 此课题由王超、袁卫新及祝闽辉设计; 研究过程由祝闽辉、袁卫新及王超操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由陈健康提供; 数据分析由王超与袁卫新完成; 本论文写作由王超与祝闽辉完成; 本论文撰写由赵玉峰指导。

通讯作者: 陈健康, 710032, 陕西省西安市, 中国人民解放军第四军医大学基础医学实验部. jkchen@fmmu.edu.cn

电话: 029-84773159

收稿日期: 2010-03-24 修回日期: 2010-05-18

接受日期: 2010-05-25 在线出版日期: 2010-07-08

Yoghourt accelerates the recovery of gastric ulcer in rats

Chao Wang, Wei-Xin Yuan, Min-Hui Zhu, Jian-Kang Chen, Yu-Feng Zhao

Chao Wang, Wei-Xin Yuan, Min-Hui Zhu, Department of Stomatology (Division VI), the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China

Jian-Kang Chen, Yu-Feng Zhao, Department of Experimental Basic Medicine, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China

Correspondence to: Jin-Kang Chen, Department of Experimental Basic Medicine, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China. jkchen@fmmu.edu.cn

Received: 2010-03-24 Revised: 2010-05-18

Accepted: 2010-05-25 Published online: 2010-07-08

Abstract

AIM: To investigate whether yoghurt accelerates the recovery of gastric ulcer in rats.

METHODS: Gastric ulcer was induced in rats by intraperitoneal injection of reserpine at a dose of 0.5 mL/kg. Rats with gastric ulcer were then divided into three groups: yoghurt group, milk group and sodium chloride group, which were intragastrically given yoghurt, milk and sodium chloride once (5 mL/kg) every other day, respectively. All animals were killed on day 7 after administration. The extent of mucosal lesions was evaluated based on Guth score. The levels of prostaglandin E2 (PGE2) and superoxide dismutase (SOD) in gastric mucosa were measured.

RESULTS: Punctiform erosion and hemorrhage

were observed by naked eyes in rats of each group. Guth score was significantly lower in the yoghurt group than in the milk group (1.33 ± 0.577 vs 5.00 ± 1.323 , $P < 0.05$) though there was no significant difference between the yoghurt group and sodium chloride group ($P > 0.05$). Epithelial cell necrosis and shedding and neutrophil infiltration of the propria lamina were observed by microscopy. The lesions in rats of the sodium chloride group were more severe than those in rats of the yoghurt group. The content of PGE2 in gastric mucosa was significantly higher in the yoghurt group than in the sodium chloride group (248.6 ± 43.73 vs 79.52 ± 31.74 , $P < 0.05$) though no significant difference was observed between the yoghurt group and the milk group. The content of SOD in gastric mucosa was significantly lower in the yoghurt group than in the milk group (148.1 ± 2.18 vs 156.6 ± 1.66 , $P < 0.01$), but showed no significant difference between the yoghurt group and the sodium chloride group.

CONCLUSION: Yoghurt exerts a positive effect on the recovery of gastric ulcer in rats possibly by increasing PGE2 content and decreasing SOD content.

Key Words: Gastric ulcer; Yoghourt; Superoxide dismutase; Prostaglandin E2

Wang C, Yuan WX, Zhu MH, Chen JK, Zhao YF. Yoghurt accelerates the recovery of gastric ulcer in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(19): 1964-1968

摘要

目的: 观察酸奶对大鼠胃黏膜损伤的促进或抑制修复作用。

方法: 利血平0.5 mL/kg腹腔注射, 制作大鼠胃溃疡模型, 然后各组大鼠分别用酸奶, 纯奶, 生理盐水5 mL/kg每天1次灌胃, 7 d后, 处死并解剖大鼠。观察胃黏膜损伤情况、测定胃黏膜中前列腺素E2(PGE2)的表达量、超氧化物歧化酶(SOD)表达量来评估酸奶对胃溃疡的损伤或修复作用。

结果: 3组大鼠胃黏膜均有点状出血, Guth积

■同行评议者

潘秀珍, 教授, 福建省立医院消化内科

分法得出酸奶组较纯奶组积分少,有统计学差异(1.33 ± 0.577 vs 5.00 ± 1.323 , $P < 0.05$),镜下病理切片观察发现,各组大鼠胃黏膜不同程度充血,生理盐水组上皮严重脱落且腺体萎缩,酸奶组损伤不明显,仅有少量中性粒细胞浸润和上皮脱落. 酸奶组PGE2表达明显比生理盐水组表达量高,有统计学差异(248.6 ± 43.73 vs 79.52 ± 31.74 , $P < 0.05$). 酸奶组SOD表达量比纯奶组低,差异有统计学意义(148.1 ± 2.18 vs 156.6 ± 1.66 , $P < 0.01$).

结论: 酸奶对大鼠胃溃疡的恢复有一定的促进作用,同时胃黏膜PGE2表达量升高, SOD表达量下降.

关键词: 胃溃疡; 酸奶; 超氧化物歧化酶; 前列腺素2

王超, 袁卫新, 祝国辉, 陈健康, 赵玉峰. 酸奶对胃溃疡模型大鼠胃黏膜损伤的抑制作用. 世界华人消化杂志 2010; 18(19): 1964-1968

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1964.asp>

0 引言

消化系溃疡是机体在胃或肠黏膜出现的糜烂和溃疡,是严重心理障碍和危重临床疾病的常见并发症,是现代生活常见病^[1,2]. 现代社会生活节奏加快,压力大,生活不规律,损伤因素多,胃溃疡的发病率因此有所提高,同时因该病不一定出现症状,潜在危害性较大. 有研究表明,消化性溃疡,可能与机体神经内分泌失调、胃黏膜屏障保护功能削弱及胃黏膜损伤因素作用相对增强等因素有关^[3-8]. 发酵性酸奶是指以牛奶为原材料,经过杀菌后接入乳酸菌经发酵后产生的乳产品. 具有调节消化系菌群平衡,提高免疫力,预防心血管疾病,以及防癌抗癌的作用等^[9-11]. 本实验选用注射利血平建立急性胃溃疡模型^[12],观察酸奶对大鼠急性胃黏膜损伤后愈合的促进作用. 以纯牛奶和生理盐水作为对照组. 测定包括胃黏膜损伤指数、胃黏膜光镜下改变、胃壁组织内前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)表达以及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性的四项指标^[12-17].

1 材料和方法

1.1 材料 健康成年SD大鼠27只,♂, 体重250-300 g,由第四军医大学动物实验中心提供. SOD试剂盒(南京建成生物制剂公司), 甲醇, 生理盐水, 0.5 mol/L KOH甲醇溶液, 利血平注射液(天津药业集团有限公司, 生产批号080705), 0.1

mol/L NaOH溶液, 甲醛固定液, 冰醋酸, 酸奶、纯奶(西安东方乳业多鲜牌). 手术器械、缝合线、离心机、注射器(1 mL×2、5 mL×2)、752型分光光度计、紫外分光光度计、37℃恒温水浴锅、组织匀浆机、灌胃针头、移液枪(250 μL)、直尺.

1.2 方法

1.2.1 分组及造模^[18]: 将所有大鼠于实验环境中适应性饲养7 d. 注射建立大鼠胃溃疡模型: 所有大鼠于第8日上午7:00开始禁食不禁水至第9日上午7:00. 第9日上午7:00各组动物均皮下注射利血平0.5 mL/kg. 造模结束后,按照实验分组情况将大鼠随机分为3组,分别为酸奶组、纯奶组、生理盐水组,每组9只. 分装入3个笼子里,记录好组别. 大鼠称体质量确定灌胃剂量,剂量均为5 mL/kg体质量,每天1次. 连续灌胃6 d. 于1 wk后处死全部大鼠.

1.2.2 胃壁观察及损伤程度测定: 剖腹取出大鼠胃,结扎幽门贲门部,用注射器由幽门部刺入胃幽门部吸取胃液备用. 将取下的胃沿大弯侧切开胃壁,生理盐水冲洗净,分离前后壁,观察前壁内侧面. 用双盲法依Guth标准评定损伤指数: <1 mm为1分, 1-2 mm为2分, 2-3 mm为3分, 3-4 mm为4分,并剪取一小块胃黏膜组织制成石蜡切片供组织学观察.

1.2.3 PGE2含量测定: 取离心胃液上清液0.05 mL,加入0.5 mol/L KOH甲醇溶液0.2 mL,在50℃下异构化20 min,用甲醇稀释至2 mL,空白对照组以蒸馏水代替胃液上清液,于278 nm处测定其光吸收值. 根据Lipidus等的克分子吸收系数计算: $\text{PGE2含量} = E_{278} \times m/\epsilon \times D = E_{278} \times 13.13 \times D$ (稀释倍数).

1.2.4 SOD活性测定: 用电子秤称取胃组织0.5 g置于匀浆器,加1 mL PDS溶液,轻碾磨成匀浆. 离心取上清液,放入-80℃保存. 然后按照试剂盒要求进行测定,测得A值,据标准曲线求得其含量,胃黏膜中SOD活性用ng/dL表示.

1.2.5 切片制作: 以溃疡部位为中心修剪胃壁组织,以溃疡瘢痕平行于胃长轴方向的最长径中心取材,切取含溃疡边缘约3 mm组织在内的溃疡组织块(正常组取胃前壁近幽门处的组织)约1.0 cm×1.2 cm大小,一部分迅速置于甲醛中固定24 h,石蜡包埋,5 μm厚度切片,备免疫组织化学使用及作HE染色(中性树脂封片,光镜观察).

统计学处理 采用GraphPad Prism 5分析软

■ 研发前沿

该研究领域的热点在于具体是酸奶中哪种有效成分能够促进胃溃疡愈合以及SOD、PGE2如何通过对其下游通路的调节作用,从分子水平改善胃黏膜细胞微环境,促进细胞修复,减少炎症发生.

■相关报道

有研究表明,消化性溃疡,可能与机体神经内分泌失调、胃黏膜屏障保护功能削弱及胃黏膜损伤因素作用相对增强等因素有关。

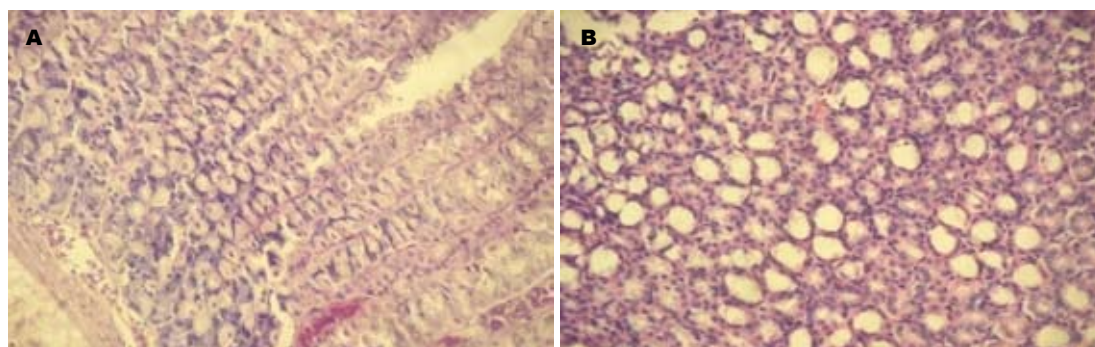


图1 酸奶组细胞组织病理变化. A: 胃腺结构正常, 黏膜下层有少量炎细胞浸润; B: 胃腺横切面结构, 仅有少量腺体萎缩.

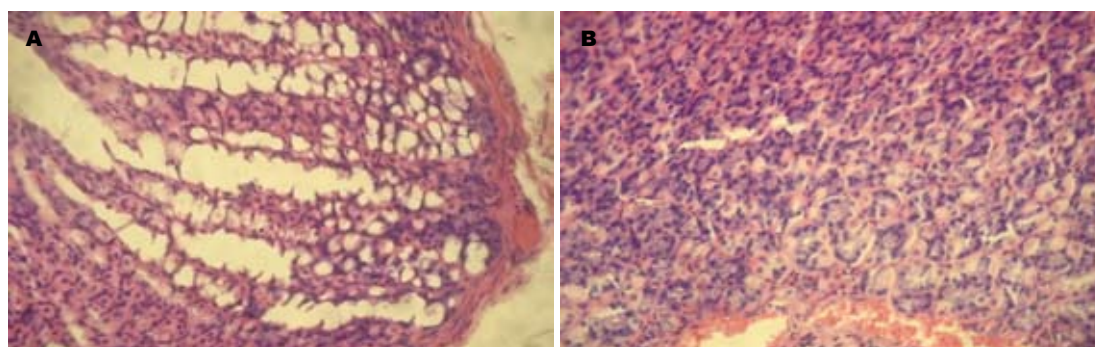


图2 纯奶组细胞组织病理变化. A: 小鼠胃黏膜, 上皮结构破坏明显, 腺细胞大量萎缩; B: 胃黏膜横切面, 黏膜层充血明显, 中性粒细胞浸润.

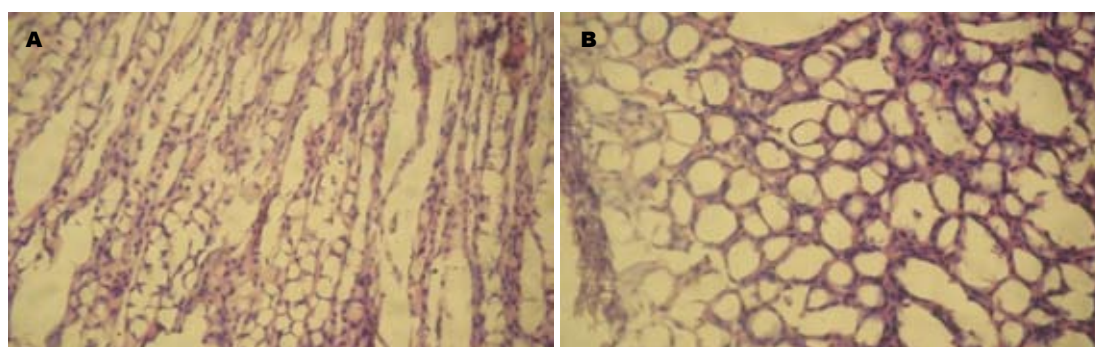


图3 生理盐水组细胞组织病理变化. A: 胃黏膜严重萎缩, 破坏明显, 胃腺萎缩成棘状; B: 胃黏膜横切面, 上皮细胞萎缩, 胃腺管腔增粗.

件包进行统计学分析, 所有数据用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 组间比较以独立样本秩和检验. $P < 0.05$ 有统计学意义.

2 结果

2.1 一般状况 皮下注射利血平后, 大鼠当天表现为精神萎靡, 食欲不振, 第2天恢复. 灌胃期各组大鼠一般状况良好, 尤其是酸奶组大鼠活泼.

2.2 组织病理学 酸奶组上皮细胞少许脱落, 腺体结构完整, 充血及中性粒细胞浸润不明显(图1). 纯奶组上皮细胞有脱落, 腺体萎缩明显, 可见大范围的充血区, 中性粒细胞和淋巴细胞的浸润

(图2). 生理盐水组上皮细胞脱落, 腺体严重萎缩, 黏膜下充血明显, 有中性粒细胞及淋巴细胞浸润(图3).

2.3 免疫组织化学各值的统计 解剖大鼠胃后, 用Guth积分法统计大鼠胃黏膜点状、线状糜烂及出血. Guth积分比较, 酸奶组与纯奶组有统计学差异($P < 0.05$); 酸奶组与生理盐水组无统计学差异($P > 0.05$). PEG2比较, 酸奶组与生理盐水组有统计学差异($P < 0.05$), 酸奶组与纯奶组无统计学差异($P > 0.05$). SOD含量比较, 酸奶组与纯奶组有统计学差异($P < 0.01$), 酸奶组与生理盐水组无统计学差异($P > 0.05$, 表1, 图4).

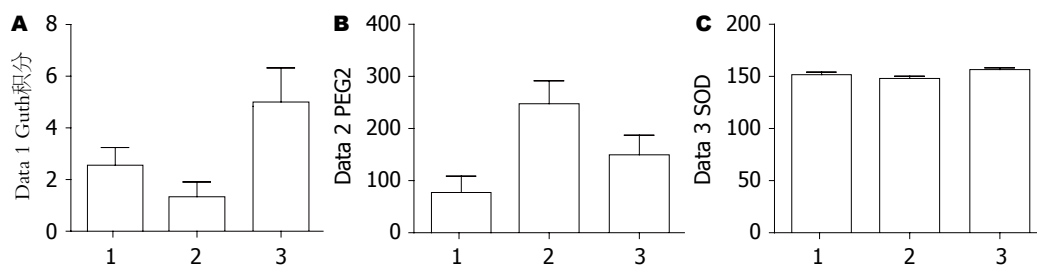


图 4 Guth积分法统计大鼠胃黏膜点状, 线状糜烂及出血。1: 生理盐水组; 2: 酸奶组; 3: 纯奶组; A: Guth积分; B: PEG2; C: SOD。

■创新盘点

本实验选用了比较系统的评定指标, 包括从肉眼观察, 组织病理学分析到免疫组织化学分析, 能够从微观到宏观的了解小鼠胃溃疡的变化情况。

表 1 免疫组织化学各值的统计 (mean \pm SD)

分组	Guth积分	PEG2	SOD含量
生理盐水组	2.86 \pm 0.766	79.52 \pm 31.74	153.20 \pm 2.60
酸奶组	1.33 \pm 0.577	248.60 \pm 43.73	148.10 \pm 2.18
纯奶组	5.00 \pm 1.323	173.80 \pm 35.97	156.60 \pm 1.66

3 讨论

现代医学表明, 胃酸和胃蛋白酶自身消化作用、幽门螺杆菌感染、服用非甾体抗炎药之外, 还可以由情绪波动、过度劳累、饮食失调、吸烟、酗酒等因素引起胃溃疡^[19,20]。

胃溃疡患者喝酸奶到底有益还是有害, 一直众说纷纭。有人认为酸奶含有益生菌群有利于肠道环境的改善^[21,22], 促进溃疡愈合^[10], 也有人认为导致溃疡的一个重要原因就是胃酸分泌过多^[3], 而酸奶含大量乳酸, 会加重溃疡进程。

本实验设置纯奶组、生理盐水组两对照组, 对比观察酸奶对胃溃疡大鼠模型愈合情况的影响。胃黏膜受损以后, 上皮细胞产生和分泌PEG2, PEG2有促进胃黏膜屏障修复的功能^[23], 扩张血管, 改善黏膜的血流供应, 故能维持黏膜细胞的氧气供给^[24], 同时能清除和缓冲进入黏膜的H⁺, 保护胃黏膜^[25,26], 因此本实验中选取PEG2评价酸奶对胃溃疡的修复作用。实验结果显示, 酸奶组PEG2含量明显高于生理盐水组, 说明酸奶有利于胃黏膜损伤后PEG2的产生和释放, 促进溃疡愈合。

SOD含量与胃组织内超氧化物的含量有关^[27], 氧自由基越多, SOD含量越多, 说明胃黏膜损伤因素越多^[28,29]。酸奶组的SOD含量明显低于纯奶组, 说明酸奶可能减少组织中的氧自由基, 对胃黏膜的修复有积极作用^[30]。

本实验双盲法测定的Guth积分表明酸奶组的胃溃疡Guth积分小于纯奶组, 表明酸奶组的溃疡面积较小。组织病理学观察发现酸奶组腺体结构完整, 胃黏膜损伤较轻, 而纯奶组胃黏膜

上皮细胞有脱落, 黏膜下大面积充血。可见, 酸奶对胃黏膜的保护作用明显, 能明显的促进溃疡面的愈合, 保护黏膜上皮结构, 减轻炎症反应和充血。

通过该实验可以解决酸奶对胃溃疡有益还是有害的争议, 初步证实了酸奶能通过促进上皮细胞产生和分泌PEG2以促进胃黏膜保护屏障的形成, 以及通过减少组织中的氧自由基, 促进胃溃疡的愈合。

4 参考文献

- 魏以召, 张燕, 杨拯, 孟玲, 张晓. 消化性溃疡相关基因研究进展. 世界华人消化杂志 2008; 16: 1548-1553
- 梅杰, 李芳, 陈建敏, 张晓, 杨拯. 胃黏膜屏障与胃溃疡的研究进展. 实用医学杂志 2009; 25: 841-843
- 陆再英, 钟南山. 内科学. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 387-395
- Izzotti A, Durando P, Ansaldi F, Gianiorio F, Pulliero A. Interaction between *Helicobacter pylori*, diet, and genetic polymorphisms as related to non-cancer diseases. *Mutat Res* 2009; 667: 142-157
- Atherton JC. The pathogenesis of *Helicobacter pylori*-induced gastro-duodenal diseases. *Annu Rev Pathol* 2006; 1: 63-96
- Zullo A, Hassan C, Campo SM, Morini S. Bleeding peptic ulcer in the elderly: risk factors and prevention strategies. *Drugs Aging* 2007; 24: 815-828
- 王恩华, 邱雪杉, 文继舫. 病理学. 第2版. 北京: 高等教育出版社, 2008: 204-215
- 魏房, 孙威, 王强, 刘丽, 任庆华. HIF-1 α 与iNOS、COX-2在胃癌中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3900-3903
- 翟伟宇, 刘伯阳, 王惠艳. 双歧杆菌多元蛋白酸奶的免疫调节和抑瘤作用的研究. 中国微生态学杂志 2003; 15: 15-16
- 刘伯阳, 姚淑娟, 刘吉成. 青春双歧杆菌双元蛋白酸奶对肠道的保护作用. 中国临床康复 2005; 9: 41-43
- 冉冉, 王世平, 刘慧. 藏灵菇源酸奶复合菌发酵剂对大鼠降胆固醇的研究. 营养学报 2009; 31: 59-62
- 卢文丽, 方肇勤, 侯俐, 潘志强, 刘小美. 常见胃溃疡模型小鼠胃组织病理变化及差异. 中华中医药学刊 2008; 26: 551-555
- 王晓洁, 杨立红, 梁建光. 小鼠实验性胃溃疡病理变化评定标准的量化. 世界华人消化杂志 2005; 13: 1709-1712
- 吴娟, 田德禄. 慢性浅表性胃炎脾胃湿热证胃黏膜G、D细胞变化及胃泌素、生长抑素的表达. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3840-3843
- Galiñanes M, Ferrari R, Qiu Y, Cargnoni A,

■同行评价

本文是前瞻性实验性研究, 立题重点明确, 研究内容集中, 实验材料与规范, 结果可信, 观点明确, 有一定的先进性, 对临床消化性溃疡的防治有参考意义。

- 16 Al-Howiriny T, Al-Sohaibani M, Al-Said M, Al-Yahya M, El-Tahir K, Rafatullah S. Effect of Commiphora opobalsamum (L.) Engl. (Balessan) on experimental gastric ulcers and secretion in rats. *J Ethnopharmacol* 2005; 98: 287-294
- 17 俞慧宏, 吴小翎, 张苜, 宁波. 测定胃癌患者肿瘤组织与外周血中前列腺素E2的临床意义. 第三军医大学学报 2008; 30: 445-446
- 18 廖书胜, 周勇杰, 戴幸平, 蒋荣鑫. 健胃愈疡颗粒剂对大鼠胃溃疡模型溃疡愈合及胃组织IL-1 β 蛋白表达的影响. 现代生物医学进展 2008; 8: 1415-1418
- 19 Delatore J, Boylan JJ. Bleeding gastric ulcer: a complication from gastrostomy tube replacement. *Gastrointest Endosc* 2000; 51: 482-484
- 20 杜秀芳, 杨拯, 孟玲, 张晓. 应激性胃溃疡的治疗研究进展. 现代预防医学 2008; 35: 3858-3862
- 21 杨俊, 张中伟, 秦环龙. 乳酸菌对肠上皮细胞侵袭性大肠杆菌损伤的保护作用. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3394-3399
- 22 沈通一, 秦环龙. 乳酸杆菌对肠上皮黏附机制研究进展. 世界华人消化杂志 2008; 16: 2631-2636
- 23 陈主初. 病理生理学. 第1版. 北京: 高等教育出版社, 2005: 318-319
- 24 蔺武, 刘心娟, 吴静, 林香春, 魏南, 姜国俊. 胃癌组织中前列腺素E2受体的表达及意义. 山东医药 2009; 49: 71-72
- 25 胡义亭, 甄承恩, 邢国章, 张曼利, 张建生, 王鼎鑫, 卢亚敏. 消化性溃疡患者转化生长因子 α 、表皮生长因子和前列腺素E2的关系. 世界华人消化杂志 2002; 10: 43-47
- 26 张彬, 周业江. 环氧化酶-2在胃癌中的研究进展. 实用医学杂志 2009; 25: 4077-4078
- 27 张炎, 刘刚, 王育红, 陈学东. 肿瘤坏死因子- α 、白介素-6、丙二醛、超氧化物歧化酶在大鼠腹腔海水浸泡伤中的表达. 实用医学杂志 2009; 25: 3764-3766
- 28 陈刚领, 郑建普, 李亚娟, 卞卡. H₂O₂氧化损伤血管内皮模型的构建及超氧化物歧化酶对损伤的逆转作用. 中国药理学通报 2009; 25: 884-887
- 29 孙丽慧, 冯化杰. 大鼠乙酸胃溃疡修复过程中SOD、GSH-P活性的研究. 齐齐哈尔医学院学报 1999; 20: 201-202
- 30 Reddi AR, Jensen LT, Naranuntarat A, Rosenfeld L, Leung E, Shah R, Culotta VC. The overlapping roles of manganese and Cu/Zn SOD in oxidative stress protection. *Free Radic Biol Med* 2009; 46: 154-162

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》数字用法标准

本刊讯 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 本刊论文中数字作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等。统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等。测量的数据不能超过其测量仪器的精密密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密密度。任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差。在一组数字中的mean \pm SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义。又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位。有效位数以后的数字是无效的, 应该舍。末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍。末尾时只可1次完成, 不得多次完成。例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24。年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写。如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30。百分数的有效位数根据分母来定: 分母 \leq 100, 百分数到个位; 101 \leq 分母 \leq 1 000, 百分数到小数点后1位; 余类推。小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65。完整的阿拉伯数字不移行!