

胃舒灵 II 对大鼠胃黏膜保护因子的影响

马凤余^{1,2*}, 鄢顺琴¹, 凤良元¹

(1. 安徽中医学院, 安徽 合肥 230038; 2. 安徽省中药研究与开发重点实验室, 安徽 合肥 230038)

[摘要] 目的: 考察胃舒灵 II 对大鼠胃黏膜保护因子的影响。方法: 研究胃舒灵 II 对实验大鼠幽门结扎应激溃疡胃液、胃酸、胃结合黏液、胃蛋白酶的影响以及氨水致大鼠慢性萎缩性胃炎黏膜保护因子前列腺素(PGE₂)、超氧化物歧化酶(SOD)、一氧化氮(NO)和丙二醛(MDA)的影响。结果: 胃舒灵 II 能明显减少幽门结扎溃疡大鼠胃液量和总酸度、明显提高胃结合黏液量($P < 0.05$), 降低胃蛋白酶活性; 胃舒灵 II 可使氨水致慢性萎缩性胃炎大鼠血清中 PGE₂、NO、SOD 的含量升高, MDA 含量明显减少($P < 0.01$)。结论: 胃舒灵 II 可通过提高黏膜保护因子 PGE₂、NO、SOD 的含量, 降低 MDA 的含量, 抑制胃酸分泌, 增加胃结合黏液和胃黏液血流量, 减少脂质过氧化, 发挥胃黏膜保护作用。

[关键词] 胃舒灵 II; 胃黏膜; 保护因子

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2009)01-0048-03

胃黏膜损伤是最常见的一类消化系统病变, 如胃溃疡和急、慢性胃炎。课题组已对胃舒灵 II 在调整胃肠运动功能、抗炎和镇痛作用机理等方面做了大量实验研究。本文主要研究胃舒灵 II 对胃液量、总酸度、胃蛋白酶、胃结合黏液以及胃黏膜保护因子前列腺素(PGE₂)、超氧化物歧化酶(SOD)、内源性一氧化氮(NO)、丙二醛(MDA)等各项指标的影响, 以探索胃舒灵 II 对胃黏膜的保护作用。

1 实验材料

1.1 动物 Wister 大鼠, 雌雄各半, 体重(120~180)g, 雄性, 由安徽医学研究所实验动物中心提供(皖科动物准字 003 号)。

1.2 药品与试剂 胃舒灵 II 制剂由黄芪、白术、香附、干姜按 12:9:6:6 比例组成。药材均购自合肥市义和堂饮片厂, 并经其鉴定。4 种药物按比例用 75% 的乙醇回流提 3 次, 每次 2 h, 过滤、浓缩, 制备成生药 6 g·g⁻¹ 制剂; 丽珠得乐, 丽珠集团丽珠制药厂, 批号: 20050119; SOD 与 MDA 试剂盒, 由南京建成生物工程研究所提供, 批号: SOD20070123, MDA20070124。

1.3 仪器与设备 Mett 玻璃毛细管(内径 1 mm, 长

10 cm), 由中国科技大学玻璃仪器厂提供; 751-G 型分光光度计, 上海分析仪器厂; UV-250 分光光度计, 日本岛津公司; HANDBPING FA2101 电子天平, 上海天平仪器厂; 离心沉淀器, 上海手术器械厂。

2 实验方法

2.1 对大鼠幽门结扎应激溃疡胃分泌的影响^[1]

取健康 Wister 大鼠, 体重(150~180)g, 60 只, 雌雄各半, 随机分为空白对照组(NS)、模型组、阳性对照组(丽珠得乐 1.80 g·kg⁻¹)、胃舒灵 II 大(1.84 g·kg⁻¹), 中(1.23 g·kg⁻¹), 小剂量组(0.61 g·kg⁻¹)。空白对照组、模型组给等量的 NS, 各给药组连续 ig 6 d, 末次给药后禁食 24 h, 不禁水, 第 7 d 再 ig 1 次, 5 h 后用戊巴比妥钠(50 mg·kg⁻¹)麻醉, 无菌条件下行幽门结扎手术。术后禁食禁水 2 h 处死大鼠, 开腹, 结扎贲门, 取出全胃, 在胃大弯侧切一小口, 倾出胃内容物于双层纱布滤过, 收集胃液于 5 mL 刻度离心管中, 1 500 r·min⁻¹ 离心 10 min, 精确记录胃液量。并测定下述指标。

2.1.1 胃液总酸度测定^[2] 取上清胃液 1 mL, 加酚红指示剂 1 滴, 用 0.01 mol·L⁻¹ NaOH 滴定, 直到胃液先呈黄色再转红色 2 s 内不消失为终点, 计算胃液总酸度。

2.1.2 胃壁结合黏液测定 采用阿利斯兰法^[3], 将测过胃液量的胃浸入 20 mL 阿利斯兰染色液中(阿利斯兰浓度为 0.2 mg·mL⁻¹, 用 0.12 mol·L⁻¹ Na₂HPO₄ 和 0.04 mol·L⁻¹ 柠檬酸 pH5.8 的缓冲液配

[收稿日期] 2008-06-11

[基金项目] 安徽省教育厅自然科学基金项目(97JL129)

[通讯作者] * 马凤余, Tel(0551) 5169044; E-mail: mfy492@sohu.com

制而成), 25 ℃ 孵育 2 h, 将胃取出, 取 7 mL 孵育液置离心管中, 3 000 r•min⁻¹ 离心 20 min, 取上清液在 751-G 型分光光度计 615 nm 处比色, 计算染料量来反映胃壁结合黏液量。

2.1.3 对胃蛋白酶的影响 采用 Mett 毛细玻璃管法^[4] 预先制备蛋白毛细玻璃管备用。取上清胃液 1 mL 放入 50 mL 三角烧瓶中, 加 0.5 mol•L⁻¹ 盐酸溶液 15 mL 摇匀, 放入已去两端石蜡固封部分的蛋白管 2 根, 在 37 ℃ 恒温箱中孵育 24 h, 后用标尺测量蛋白管两端透明部分的长度(mm), 以四端之值求其平均值。U(胃蛋白酶单位) = 平均值² × 16。

2.2 对氨水致大鼠萎缩性胃炎黏膜保护因子的影响 取健康 Wister 大鼠, 体重(120~140) g, 60 只, 雌雄各半, 随机分成 6 组, 分组及剂量同 2.1。空白对照组常规喂养, 其余各组均以自由饮水方式给 0.02% 氨水饮用, 每天更换氨水 1 次造模, 共 90 d。取血, 1 500 r•min⁻¹ 离心 5 min, 测定血清中 PGE₂、NO SOD MDA 的含量。然后各给药组和阳性对照组开始连续给药, 90 d 后, 取血, 按步骤测定血清中 PGE₂ NO SOD MDA 的含量, 比较分析结果。

2.2.1 PGE₂ 的含量测定^[1] 取稀释血清液 0.5 mL, 加入 0.5 mol•L⁻¹ KOH-甲醇液 2 mL, 在 50 ℃ 水浴中, 异构化 20 min, 然后加甲醇至 5 mL 进行稀释, 在

UV-250 分光光度计 278 nm 紫外光处测值(A)。

2.2.2 NO 含量的测定 测定采取催化光度法^[5]。室温下孔雀石绿与溴酸钾在磷酸介质中的退色反应受 NO₂⁻ 的催化而加速, 当反应稳定时, 孔雀石绿在指示反应中退色速度仅与 NO₂⁻ 成正比, 测定此反应体系中孔雀石绿退色反应速度, 测出溶液中 NO₂⁻ 的含量, 通过测定的 NO₂⁻ 含量, 反应渗出液中 NO 水平。

2.2.3 SOD MDA 含量的测定 SOD 用黄嘌呤氧化酶法测定^[6], MDA 用硫代巴比妥酸法测定^[7], 按试剂盒说明书操作。

2.3 统计学方法 各组实验数据均以均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$) 表示, 计量资料组间比较采用 *t* 检验, 两变量间相互关系采用直线相关分析和直线回归分析。

3 实验结果

3.1 对大鼠幽门结扎应激溃疡胃分泌的影响 与模型组比较, 阳性对照组胃蛋白酶活性有显著降低(*P* < 0.05), 说明阳性对照组可抑制胃蛋白酶活性。胃舒灵 II 3 个剂量组均能明显提高胃结合黏液量(*P* < 0.01), 大剂量组能显著降低胃液量(*P* < 0.05), 3 个剂量组胃蛋白酶活性有一定程度的减少, 但无统计学意义; 提示胃舒灵 II 可促进胃壁结合黏液分泌, 发挥胃黏膜保护作用。结果见表 1。

表 1 胃舒灵 II 对大鼠幽门结扎应激溃疡胃分泌的影响($\bar{x} \pm s$, *n* = 10)

组别	剂量 (g•kg ⁻¹)	胃液量 (mL•100 g ⁻¹)	总酸度 (pH)	胃蛋白酶 (U)	胃结合黏液 (mg•mL ⁻¹)
空白对照组	—	3.88 ± 0.92 ²⁾	2.18 ± 0.10 ¹⁾	118.7 ± 29.2 ¹⁾	1.98 ± 0.21 ²⁾
模型组	—	5.81 ± 0.60	1.86 ± 0.08	194.8 ± 43.1	1.05 ± 0.19
丽珠得乐组	1.80	5.35 ± 1.76	1.87 ± 0.24	120.4 ± 42.9 ¹⁾	1.92 ± 0.20 ²⁾
胃舒灵 II	1.84	4.02 ± 1.03 ¹⁾	1.99 ± 0.16	146.3 ± 38.2	1.89 ± 0.17 ²⁾
	1.23	4.66 ± 0.77	2.01 ± 0.22	150.6 ± 42.3	1.72 ± 0.18 ²⁾
	0.61	4.93 ± 0.73	1.98 ± 0.10	164.5 ± 36.9	1.65 ± 0.16 ²⁾

注: 与模型组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01, ³⁾ *P* < 0.001(下同)

3.2 对氨水致大鼠萎缩性胃炎黏膜血清中 PGE₂ 及 NO 含量的影响 在给药前各造模组血清中 PGE₂、NO 的含量有非常显著性降低(*P* < 0.01), 说明造模成功。连续给药 90 d 后, 阳性对照组、胃舒灵 II 3 个剂量组与模型组相比, 大鼠血清中 PGE₂ NO 的含量均有显著性升高(*P* < 0.01), 提示供试药可通过提高 PGE₂ 或/和 NO 的含量发挥保护胃黏膜的作用。结果见表 2。

3.3 对氨水致大鼠萎缩性胃炎黏膜血清中 SOD 及 MDA 含量的影响 与模型组比较, 阳性对照组、胃舒灵 II 3 个剂量组大鼠血清中 SOD 含量明显升高, MDA 含量明显减少, 且有非常显著性差异(*P* < 0.01), 提示供试药可通过增强 SOD 活性或/和降低 MDA 的含量, 减少脂质过氧化, 发挥保护胃黏膜的作用。结果见表 3。

表 2 胃舒灵 II 对氨水致大鼠萎缩性胃炎黏膜血清中 PGE₂ 及 NO 含量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组 别	剂量(g·kg ⁻¹)	PGE ₂ (A)		NO(mmol·L ⁻¹)	
		给药前	给药后	给药前	给药后
空白对照组	—	9.14 ± 0.60 ²⁾	9.02 ± 1.10 ²⁾	6.43 ± 0.64 ²⁾	6.41 ± 1.05 ²⁾
模型组	—	6.66 ± 0.66	4.18 ± 1.19	4.94 ± 0.57	3.73 ± 1.24
丽珠得乐组	1.80	6.24 ± 0.45	6.51 ± 0.57 ²⁾	4.67 ± 0.79	5.79 ± 1.02 ²⁾
胃舒灵 II	1.84	6.01 ± 1.75	6.32 ± 1.67 ²⁾	4.58 ± 0.66	5.66 ± 1.78 ²⁾
	1.23	6.28 ± 0.76	6.31 ± 1.01 ²⁾	4.56 ± 0.59	5.79 ± 1.32 ¹⁾
	0.61	6.01 ± 1.28	6.56 ± 0.73 ²⁾	4.90 ± 0.45	5.57 ± 1.24 ¹⁾

表 3 胃舒灵 II 对氨水致大鼠萎缩性胃炎黏膜血清中 SOD 及 MDA 含量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组 别	剂量(g·kg ⁻¹)	SOD(U)		MDA(mmol·mL ⁻¹)	
		给药前	给药后	给药前	给药后
空白对照组	—	27.46 ± 4.12 ²⁾	23.43 ± 5.98 ³⁾	6.74 ± 1.56 ²⁾	7.25 ± 3.51 ²⁾
模型组	—	22.59 ± 3.48	11.94 ± 3.51	12.99 ± 2.48	18.44 ± 4.82
丽珠得乐组	1.80	18.98 ± 4.88	21.52 ± 4.99 ²⁾	11.63 ± 1.61	11.39 ± 3.38 ²⁾
胃舒灵 II	1.84	19.95 ± 2.77	22.40 ± 4.60 ²⁾	12.10 ± 3.35	11.46 ± 1.73 ²⁾
	1.23	18.43 ± 5.91	20.48 ± 3.24 ²⁾	12.25 ± 3.01	10.96 ± 1.48 ²⁾
	0.61	16.84 ± 6.83	20.36 ± 3.21 ²⁾	13.11 ± 1.51	11.99 ± 3.45 ²⁾

4 讨论

幽门结扎应激溃疡的发生被认为是胃液在胃内蓄积,攻击因子增强(如胃液分泌增多、胃蛋白酶活性增强)与防御因子减弱(如胃黏膜抵抗力下降)失去平衡引起。大量研究证实大鼠幽门结扎后,胃液、胃蛋白酶分泌增加,胃黏膜 Na⁺-K⁺-ATP 酶活力降低,这种现象随幽门结扎时间的延长而越加明显^[8]。本文采用大鼠幽门结扎应激溃疡实验,结果发现胃舒灵 II 大剂量组(1.84 g·kg⁻¹)能明显减少胃液量,3 个剂量组(1.84, 1.23, 0.61 g·kg⁻¹)均可明显提高胃结合黏液量。提示胃舒灵 II 可抑制胃液的分泌,促进胃壁结合黏液分泌,发挥胃黏膜保护作用。

PGE 与胃黏膜损伤的所有因素有关,如胃酸分泌、黏液和碳酸氢盐分泌、胃黏液血流量、黏膜上皮细胞的修复和再生及溶酶体的稳定性等^[9]。SOD 能清除超氧阴离子自由基,抑制脂质过氧化,保护细胞免受损伤^[10]。NO 是具有舒张血管、调节免疫应答及作为神经递质等作用的多功能递质分子,可通过影响壁细胞、主细胞、黏液细胞及其他上皮细胞的功能而对胃酸、胃蛋白酶、黏液 HCO₃⁻ 等胃黏膜损害因子或保护因子的分泌起调节作用,也能增加胃黏膜血流量,从而维护黏膜完整性,发挥黏膜防御作用^[11]。MDA 含量可反映脂质过氧化水平,同时间接反映自由基损伤程度,是衡量胃黏膜损伤的重要因子。本文采用氨水致大鼠慢性萎缩性胃炎模型,考察胃舒灵 II 对大鼠胃黏膜保护因子 PGE₂、SOD、NO 及 MDA 含量的影响。结果发现在连续给药 90 d 后,胃舒灵 II 各组血清中 PGE₂、NO、SOD 的含量均有

升高,MDA 含量明显减少。提示:胃舒灵 II 可通过提高 PGE₂、NO、SOD 的含量,降低 MDA 的含量,抑制胃酸分泌,增加胃结合黏液和胃黏液血流量,减少脂质过氧化,发挥胃黏膜保护作用。

[参考文献]

- [1] 陈 奇. 中药药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993. 332-335, 370-371, 459-461.
- [2] 蒋孟良, 何默忠, 肖海莲, 等. 开胃理脾口服液对脾虚小鼠胃肠功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(2): 47-48.
- [3] 李继尧. 侧脑室注射蛙皮素对消炎痛造成的大鼠胃溃疡的影响[J]. 生理学进展, 1987, 39(5): 495-503.
- [4] 徐叔云, 卞如濂, 陈 修. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994. 848-849.
- [5] 旁战军. 自由基医学研究方法[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 239.
- [6] 葛春华. SOD 活性的肾上腺素自氧化测定法[J]. 生物化学与生物物理学进展, 1992, 19(3): 228-230.
- [7] 旁战军. 自由基医学研究方法[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 62-64.
- [8] 马述春. 表面活性磷脂的胃黏膜保护作用[J]. 国外医学·消化系统疾病分册, 1992, 12(1): 44-46.
- [9] 凤良元. 胃黏膜保护剂的研究与应用[M]. 合肥: 中国科技大学出版社, 1993. 1-5.
- [10] 梁 勇. 氧自由基脑损伤和脑水肿[J]. 国外医学·神经病学神经外科分册, 1995, (20): 81.
- [11] Qui B S, Mei Q B, Liu L, et al. Effects of nitric oxide on gastric ulceration induced by nicotine and cold-restraint stress[J]. World J gastroenterol, 2004, 10(4): 594.