

溃疡平对乙酸性胃溃疡大鼠胃黏膜血流量 及血清 ET-1, NO 含量的影响

赵红晔¹, 曹军^{2*}, 王月飞¹, 赫灵菊³, 周丽¹, 卢长柱¹, 王滨^{1*}

(1. 齐齐哈尔医学院生理教研室, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 3. 齐齐哈尔市富拉尔基区中医医院, 黑龙江 齐齐哈尔 161041)

[摘要] 目的: 观察溃疡平对乙酸性胃溃疡大鼠胃黏膜血流量(GMBF)及血清内皮素-1(ET-1)和一氧化氮(NO)含量的影响。方法: 采用改良 Okabe 法制备大鼠慢性乙酸胃溃疡模型, 随机分为: 正常组、模型组、溃疡平低、中、高剂量组(1.40, 2.80, 5.60 g·kg⁻¹, ig)和盐酸雷尼替丁组(2.83 × 10⁻² g·kg⁻¹, ig)6 组。给药 14 d 后, 运用 MP150 多道生理记录系统中的 LDF100C 激光多普勒血流测定模块测定溃疡周边部的 GMBF; ELISA 法检测血清 ET-1 的含量; 硝酸盐还原酶法检测血清 NO 含量。结果: 与模型组相比, 溃疡平高剂量组 GMBF 明显增多($P < 0.05$), 血清 ET-1 含量明显降低($P < 0.01$), 血清 NO 含量明显升高($P < 0.05$); 与盐酸雷尼替丁组相比, 溃疡平高剂量组 GMBF 明显增多($P < 0.05$), 血清 ET-1 含量明显降低($P < 0.01$), 血清 NO 含量明显升高($P < 0.05$)。结论: 溃疡平刺激 NO 的合成和释放, 反馈性抑制 ET-1 的释放, 从而增加 GMBF, 这可能是其加速胃溃疡愈合和改善溃疡愈合质量(QOUH)的作用机制之一。

[关键词] 溃疡平; 胃黏膜血流; 内皮素-1; 一氧化氮

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)17-0213-03

[DOI] CNKI:11-3495/R.20110705.1022.001 **[网络出版时间]** 2011-07-05 10:22

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20110705.1022.001.html>

Effects of Chinese Medicine Kuizhangping on Gastric Mucosal Blood Flow and the Serum Concentration of ET-1 and NO in Rats with Acetic Acid-induced Gastric Ulcer

ZHAO Hong-ye¹, CAO Jun^{2*}, WANG Yue-fei¹, HE Ling-ju³, ZHOU Li¹, LU Chang-zhu¹, WANG Bin^{1*}

(1. Department of Physiology, Qiqihar Medical University, Qiqihar 161006, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

3. Fulaerji Traditional Chinese Medicine Hospital, Qiqihar 161041, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of traditional chinese medicine Kuizhangping on gastric mucosal blood flow(GMBF) and the serum concentration of endothelin-1(ET-1) and nitric oxide(NO) rats with in acetic acid-induced gastric ulcer(GU). **Method:** The ulcer model in rats was prepared with Okabe's method with some modifications. The rats were randomly divided into 6 groups: normal control group, model group, low, middle and high-dose of Kuizhangping groups(1.4, 2.8, 5.6 g·kg⁻¹, ig) and ranitidine hydrochloride group(2.83 × 10⁻² g·kg⁻¹, ig). After the 14 days treatment, GMBF of the mucosa around the GU were measured by the LDF100C of MP150 BIOPAC System. We also determined the serum concentration of ET-1 by ELISA, and determined the serum

[收稿日期] 2011-04-25

[基金项目] 黑龙江省中医管理局项目(ZHY10-Z107)

[通讯作者] * 曹军, 研究员, Tel: 010-84041015, E-mail: jcao7835 @ sina.com

* 王滨, 教授, Tel: 0452-2663183, E-mail: wangbinqhrmc @ yahoo.com.cn

concentration of NO by nitrate reductase one step method. **Result:** Compared with model group, GMBF was higher ($P < 0.05$), the serum concentration of ET-1 was lower ($P < 0.01$) and NO was higher ($P < 0.05$) significantly in high-dose of Kuizhangping group. Compared with ranitidine hydrochloride group, GMBF was higher ($P < 0.05$), the serum concentration of ET-1 was lower ($P < 0.01$) and NO was higher ($P < 0.05$) significantly in high-dose of Kuizhangping group. **Conclusion:** Kuizhangping could promote the synthesis and release of NO, however, NO could inhibit the release of ET-1. So Kuizhangping could increase the GMBF. Which may be one of the mechanisms of Kuizhangping to promote the healing of gastric ulceration and improve quality of ulcer healing.

[**Key words**] Kuizhangping; GMBF; ET-1; NO

胃溃疡 (gastric ulcer, GU) 是消化系统常见病、多发病。前期研究结果显示, 溃疡平对胃溃疡具有促进愈合的作用, 并可抑制胃溃疡的发展^[1], 但其具体作用机制尚不清楚。胃黏膜血流量 (gastric mucosal blood flow, GMBF) 在胃黏膜的防御机制中具有重要意义, 它不仅为维持胃黏膜细胞的功能正常提供营养物质和清除代谢废物, 而且将过多的 H^+ 及时从组织中清除从而发挥其保护作用^[2]。本研究运用 MP150 多道生理记录系统中的 LDF100C 激光多普勒血流测定模块测定大鼠乙酸性胃溃疡周边部的 GMBF, 并测定与微循环调节密切相关的血清内皮素-1 (ET-1) 和一氧化氮 (NO) 水平, 以期探索溃疡平促进加速胃溃疡愈合和改善溃疡愈合质量 (quality of ulcer healing, QOUH) 的作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物 健康 Wistar 雄性大鼠 48 只, 体重 (200 ± 20) g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 动物合格证号 SCXK (京) 2007-0001。普通全价饲料喂养, 自然光照, 自由饮水。

1.2 药品与试剂 临床验方溃疡平由海螵蛸、鸡内金、延胡索、浙贝母、乳香、没药、甘草组成, 水煎, 浓缩成含生药 $0.14, 0.28, 0.56 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的药液, 4°C 储存备用; 盐酸雷尼替丁胶囊 (中诺药业有限公司, 批号 07085002) 用时加蒸馏水配成 $2.83 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的混悬液。Rat ET-1 ELISA 试剂盒 (尚柏生物医学技术有限公司, 批号 20080611); NO 试剂盒 (南京建成生物工程研究所, 批号 20070821)。

1.3 模型建立、分组及给药 按完全随机设计法将大鼠均分成 6 组: 正常组、模型组、溃疡平低 ($1.40 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、中 ($2.80 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、高 ($5.60 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 剂量组和盐酸雷尼替丁组 ($2.83 \times 10^{-2} \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)。除正常对照组以外, 其他各组大鼠禁食 (不禁水) 24 h, 采用 Okabe S 等报道的方法^[3]制备胃溃疡模型。成模后,

开始治疗。各组均按 2 mL/只 ig (正常组和模型组用生理盐水), 1 次/d, 连续治疗 14 d。

1.4 取材及处理 大鼠末次给药后, 禁食 (不禁水) 24 h, 乙醚麻醉大鼠, 测定溃疡周边部的 GMBF。摘眼球取血 3 mL, 置于玻管中, 静置待血液凝固血块回缩, 析出的血清置 EP 管中, -20°C 冰箱保存待测。

1.5 GMBF 的测定 MP150 多道生理记录系统中的 LDF100C 激光多普勒血流测定模块的 TSD143 表面型探头分别置于溃疡边缘胃浆膜面的 3 个不同部位, 测定大鼠溃疡边缘的 GMBF, 取其均值, 结果以血流灌注单位 (blood perfusion units BPU) 表示。

1.6 血清 ET-1 含量测定 采用双抗体夹心 ABC-ELISA 法测定, 具体操作过程参见试剂盒说明书。

1.7 血清 NO 含量的测定 采用硝酸盐还原酶法测定, 具体操作过程参见试剂盒说明书。

1.8 统计学处理 计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 13.0 统计分析软件进行方差分析, 最小显著差法 (Least significant difference, LSD) 进行两两比较, 双侧检验以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 对胃黏膜血流的影响 与模型组比, 溃疡平低、中剂量组及盐酸雷尼替丁组 GMBF 虽有所降低, 但无统计学意义; 溃疡平高剂量组 GMBF 明显增多 ($P < 0.05$)。与盐酸雷尼替丁组比, 溃疡平高剂量组 GMBF 明显增多 ($P < 0.05$)。溃疡平高剂量组优于溃疡平低、中剂量组 (均 $P < 0.05$), 见表 1。

2.2 对血清 ET-1 含量的影响 与模型组相比, 溃疡平高剂量组血清 ET-1 含量均明显降低 ($P < 0.01$); 与盐酸雷尼替丁组相比, 溃疡平高剂量组的血清 ET-1 含量明显降低 ($P < 0.01$)。溃疡平低、中、高剂量组的血清 ET-1 含量之间无明显差异, 见表 1。

表 1 溃疡平对胃溃疡大鼠 GMBF,血清 ET-1,NO 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

分组	剂量/g·kg ⁻¹	GMBF/BPU	ET-1/pg·mL ⁻¹	NO/μmol·L ⁻¹
正常	—	2 865.41 ± 423.41 ²⁾	21.24 ± 2.36 ²⁾	46.65 ± 12.15 ²⁾
模型	—	1 493.86 ± 267.21	32.52 ± 4.37	32.38 ± 8.10
溃疡平	1.40	1 445.46 ± 372.21	28.11 ± 5.12 ⁴⁾	31.95 ± 7.59
	2.80	1 547.16 ± 341.23	28.80 ± 5.09 ⁴⁾	36.97 ± 11.74
	5.60	1 968.88 ± 276.35 ^{1,3,5)}	24.23 ± 4.85 ^{2,4)}	44.29 ± 9.99 ^{1,3,5)}
盐酸雷尼替丁	2.83 × 10 ⁻²	1 507.21 ± 588.13	31.13 ± 5.57	33.79 ± 7.37

注:与模型组比¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与盐酸雷尼替丁组比³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$;与溃疡平低剂量组比⁵⁾ $P < 0.05$ 。

2.3 对血清 NO 的影响 与模型组比,溃疡平高剂量组血清 NO 含量明显升高($P < 0.05$)。与盐酸雷尼替丁组比,溃疡平高剂量组血清 NO 含量明显升高($P < 0.05$)。溃疡平高剂量组优于溃疡平低剂量组($P < 0.05$),见表 1。

3 讨论

GMBF,ET-1,NO 与溃疡愈合的关系 GMBF 可为黏膜上皮细胞新陈代谢提供氧和营养物质,以维持黏膜上皮细胞结构和功能的完整性;同时,还带走组织细胞在代谢过程中产生的 H⁺、代谢废物和有毒物质,在维持胃黏膜酸碱平衡和黏膜更新方面起重要作用^[4]。ET-1 是已知的、最强的血管收缩活性物质。在应激状态下,胃黏膜中 ET-1 分泌及其活性受体(ETAR)的表达速度均显著增加,导致胃黏膜血管和非血管平滑肌强烈收缩,胃黏膜血流量减少,引起局部缺氧和酸中毒;局部缺氧和酸中毒又导致氧自由基增加,促进 ET-1 释放,如此形成恶性循环,从而造成广泛的胃黏膜组织缺血性损伤,形成胃溃疡^[5-6]。而 NO 是一种内源性的血管舒张因子^[1],适量的 NO 通过抑制 ET-1 的生成而促进胃黏膜血管扩张,抑制胃黏膜微循环血小板凝集,改变血管通透性,并调节胃肠黏膜血流量和胃酸分泌,维持胃黏膜血管、微血管屏障以及上皮完整性,从而保护胃黏膜^[7]。作为内皮依赖的血管收缩因子和舒张因子的主要成分,ET 和 NO 存在负反馈调节,它们之间的动态平衡对调节血管张力和结构重组具有重要意义。

溃疡平对 GMBF,ET-1,NO 的干预作用 实验结果显示,模型组大鼠 GMBF 较正常组明显下降,血清 ET-1 较正常对照组明显增高,提示乙酸可刺激血浆 ET-1 释放,降低 GMBF,导致溃疡的发生。而溃疡平高剂量组与模型对照组、盐酸雷尼替丁组比较,可以明显改善 GU 大鼠溃疡旁 GMBF;明显提高血清中 NO 含量;明显降低血清 ET-1 含量。高、低剂量组之间未见明显的量效关系。

综上所述,溃疡平可以明显改善乙酸性 GU 大鼠溃疡周围 GMBF;明显降低血清 ET-1 含量,提高血清中 NO 含量。提示该方增加 GMBF 的作用可能是通过刺激 NO 的合成和释放,反馈性抑制 ET-1 的释放实现的。溃疡平通过增加 GMBF,带走逆弥散到黏膜的 H⁺;保证细胞的快速新陈代谢以提供丰富的氧和其他营养物质,以维持上皮细胞的正常功能,保证黏膜上皮及溃疡底部和边缘腺体迅速再生及保持黏膜微环境的酸碱平衡等。这可能是其加速胃溃疡愈合和改善溃疡 QOUH 的作用机制之一,为临床运用该药治疗胃溃疡提供了实验依据。

[参考文献]

[1] 王滨,赵红晔,李雪岩,等. 溃疡平抗大鼠乙酸胃溃疡作用及其机理研究[J]. 中医药学报,2008,36(5):20.

[2] Holzer P, Livingston E H, Guth P H. Sensory neurons signal for an increase in rat gastric mucosal blood flow in the face of pending acid injury [J]. Gastroenterology, 1991,101(2):416.

[3] Okabe S, Roth J L, Pfeiffer C J. A method for experimental, penetrating gastric and duodenal ulcers in rats. Observations on normal healing[J]. Am J Dig Dis, 1971,16:277.

[4] 赵红晔,王滨. 中药胃黏膜保护作用的研究现状与进展[J]. 齐齐哈尔医学院学报,2008,29(7):843.

[5] Duan Y M, Li Z S, Zhan X B, et al. Changes in endothelin-1 gene expression in the gastric mucosa of rats under cold-restraint-stress[J]. Chin J Dig Dis, 2004,5(1):28.

[6] Iaquinto G, Giardullo N, Taccone W, et al. Role of endogenous endothelin-1 in ethanol-induced gastric mucosal damage in humans [J]. Dig Dis Sci, 2003, 48(4):663.

[7] 林洁,王清丽. 一氧化氮在消化性溃疡中的研究进展[J]. 华中医学杂志,2002,26(6):324.

[责任编辑 何伟]