

愈疡散对大鼠实验性胃溃疡愈合质量的影响

★ 周志刚 姜国平 (江西中医学院 南昌 330006)

★ 范慧珍 (江西省宜春市人民医院 宜春 350008)

摘要:目的:探讨中医古方愈疡散对大鼠实验性胃溃疡愈合质量的影响。方法:用冰醋酸法制备大鼠慢性胃溃疡模型,设空白对照组、假手术组、西药对照组、愈疡散大剂量组、愈疡散小剂量组、胃溃疡模型组,共六组。实验结束后,用苏木精-伊红染色,并对大鼠再生胃粘膜厚度进行观察,严格按照6-酮-前列腺素 $F_{1\alpha}$ 的试剂盒说明检测大鼠血浆中的6-酮-前列腺素 $F_{1\alpha}$ 的含量变化。结果:愈疡散大剂量组、小剂量组的再生胃粘膜厚度明显高于胃溃疡模型组($P<0.05$);愈疡散大剂量组、小剂量组血浆6-酮-前列腺素 $F_{1\alpha}$ 含量与空白对照组、假手术组的含量接近,无显著性差异($P>0.05$),明显高于胃溃疡模型组和西药对照组($P<0.05$)。结论:愈疡散能提高大鼠实验性胃溃疡的愈合质量。

关键词:愈疡散;胃溃疡;愈合质量;6-酮-前列腺素 $F_{1\alpha}$

中图分类号:R 285.5 **文献标识码:**A

PU 是人类的常见病,呈世界性分布,估计约有10%的人在一生中患过此病^[1]。其发病机制主要是在神经体液调节下出现的攻击因子和防御因子相互失调所致^[2]。虽然药物治疗的进展已使95%以上的病人免于外科手术,但溃疡病的复发仍是亟待解决的难题。近年来,随着内镜技术的发展,对溃疡的自然病程也有了较深的了解。许多研究提示:完全治愈的溃疡复发率很低。因此,溃疡愈合质量(quality of ulcer healing, QOUH)已得到了许多国内外学者的重视并采用它来评价药物。在前期工作中我们用愈疡散治疗大鼠胃溃疡取得了良好的效果,溃疡愈合率达100%。为了验证其对消化性溃疡愈合质量的影响,特制备大鼠乙酸胃溃疡模型,并对其观察,亦取得了良好的效果。现报告如下:

1 材料与方法

1.1 药物及试剂 愈疡散按《中药炮制学》制备,研成细末,过80目,备用。剂量折算按《实验动物和动物实验技术》折算。盐酸雷尼替丁为杭州赛诺菲民生制药有限公司生产,生产批号为221,6-酮-前列腺素 $F_{1\alpha}$ 试剂盒购自北京福瑞生物有限公司。

1.2 动物及造模方法 清洁级SD大鼠72只,体重在180~220g,中国科学院上海实验动物中心提供,合格证为:中科动管第003号,大鼠造模前禁食24小时,常规消毒,按0.23 ml/100g体重腹腔内注射2%戊巴比妥钠麻醉,自大鼠剑突下沿腹中线剪口约2cm,将胃移出腹腔,下垫一消毒干纱布,用直

径为5mm的圆形滤纸蘸100%的冰醋酸贴在前壁30秒,取下再重复1次。用生理盐水冲洗,并用消毒干纱布吸干,将胃送还腹腔,缝合腹膜、肌层、皮肤。假手术组则用浸有生理盐水的圆形滤纸接触胃窦前壁30秒,重复1次,然后将胃送还腹腔,缝合腹膜、肌层、皮肤。

1.3 分组及给药方法 随机分6组,每组12只。A组为空白对照组;B组为假手术组;C组为西药对照组;D组为愈疡散大剂量组;E组为愈疡散小剂量组;F组为胃溃疡模型组。造模7天后给药方法如下:A组:生理盐水10 ml/(kg·d),灌胃,2次/日,共4周;B组:生理盐水10 ml/(kg·d),灌胃,2次/日,共4周;C组:雷尼替丁0.03 g/(kg·d),灌胃,2次/日,共4周;D组(愈疡散大剂量组):愈疡散5 g/(kg·d)(每1 mL含愈疡散0.25 g)灌胃,2次/日,共4周;E组(愈疡散小剂量):愈疡散2.5 g/(kg·d)(每1 mL含愈疡散0.125 g)灌胃,2次/日,共4周;F组:生理盐水10 ml/(kg·d)。各组均正常供给饲料及水。

1.4 标本采集和处理 造模7天后,将A组、B组、C组、D组、E组、F组随机各取6只,禁食24小时。用2%戊巴比妥钠麻醉,沿腹中线剪口,取出胃沿胃大弯剪开,生理盐水冲洗,观察溃疡造模成功与否,并摄片,然后投入装有10%的甲醛溶液固定。于治疗后第28天将各组大鼠股动脉取血2 mL,不抗凝,按照6-keto-PGF $_{1\alpha}$ 试剂盒说明操作,然后沿腹

中线剪口,取出胃沿胃大弯剪开,生理盐水冲洗,观察溃疡面愈合情况并摄片,以溃疡瘢痕平行于胃长轴方向的最长径为中心取材,投入装有10%的甲醛溶液固定,石蜡包埋。以瘢痕的最长径为中心连续切片,间隔5 μm 。严格按照6-酮-前列腺素 $\text{F}_{1\alpha}$ 的试剂盒说明检测大鼠血浆中的6-酮-前列腺素 $\text{F}_{1\alpha}$ 的含量。

1.5 观察指标 (1)比较各组大鼠的血浆6-酮-前列腺素 $\text{F}_{1\alpha}$ 的含量。(2)经上述处理后的胃标本,在胃窦前壁造模处取1~3块,石蜡包埋,连续切片厚5 μm ,苏木素-伊红染色(HE)。(3)计算胃再生粘膜厚度,在苏木精伊红染色的连续切片上,用低倍镜找到溃疡愈合部位,在高倍镜下观察测量胃再生粘膜厚度。取5个视野测量,计算其平均值。

1.6 统计分析 以上数据均采用SPSS10. for windows 软件进行统计。

2 结果

2.1 愈疡散对6-keto-6-酮-PGF $_{1\alpha}$ 和胃粘膜的厚度的影响 各组6-keto-PGF $_{1\alpha}$ 的比较见表1。

表1 各组对大鼠6-酮-前列腺素 $\text{F}_{1\alpha}$ 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	6-酮-前列腺素 $\text{F}_{1\alpha}$ 含量/ $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$
A 空白对照组	6	2077.65 $\pm$ 785.786 0
B 假手术组	6	2 131.8 $\pm$ 233.931 4
C 西药对照组	6	1 591.275 0 $\pm$ 101.7832 *
D 愈疡散大剂量组	6	2 040 $\pm$ 318.522 9 * Δ
E 愈疡散小剂量组	6	2 024.5 $\pm$ 215.878 4 * Δ
F 胃溃疡模型组	6	1 024.225 0 $\pm$ 256.655 2

与胃溃疡模型组比较, * $P < 0.05$; 与西药对照组比较, $\Delta P < 0.05$ 。下表同。

各组再生胃粘膜厚度比较,结果见表2。

表2 各组对大鼠胃粘膜厚度($\bar{x} \pm s$)

组别	n	再生胃粘膜厚度/ μm
A 空白对照组	6	699.337 5 $\pm$ 115.059 2
B 假手术组	6	658.395 0 $\pm$ 86.696 4
C 西药对照组	6	577.575 0 $\pm$ 97.153 1 *
D 愈疡散大剂量组	6	587.7000 0 $\pm$ 90.409 0 *
E 愈疡散小剂量组	6	561.331 8 $\pm$ 130.474 3 *
F 胃溃疡模型组	6	408.000 0 $\pm$ 106.042 6

3 讨论

PU是穿透粘膜肌层或其以下的坏死性病变。溃疡愈合的过程十分复杂,它是一个由增殖或移行上皮细胞结缔组织成分去补充已损伤或坏死粘膜的主动过程,包括坏死物的清除,基底部长出肉芽,进而形成纤维组织和瘢痕组织,血管的生长,单层柱状上皮的长久等过程^[3~5]。在此过程中需要许多组织和细胞系统的参与才能完成,比如说多种组织、细胞的相互作用及细胞因子、生长因子的共同参

与^[6]。Tarnawski A ETAL 经对实验性愈合溃疡进行组织学和超微结构的分析之后,发现所谓愈合溃疡实际上包括明显的组织学和超微结构的异常,如厚度变薄,腺管明显扩张,腺上皮细胞分化不良和(或)变性改变,结缔组织增生,血管排列紊乱等;推测这些残留的异常,会干扰粘膜的防御功能,并可能是溃疡复发的基础;于是他们首先提出了溃疡愈合质量的概念,溃疡愈合质量的观点认为溃疡愈合不仅需要缺失组织的再上皮化修复,更需要上皮组织结构的修复重建。QOUH 的评价方法和标准分为三个方面:一为胃镜下评价;二为再生胃粘膜组织学成熟度的评价,包括再生胃粘膜的厚度、上皮细胞与腺腔数的比值等;三为再生胃粘膜功能成熟度的评价,包括前列腺素 PGs(在人体胃及十二指肠合成的主要是 PGE_2 , 大鼠则为 PGI_2)^[7]等的测定。

PGI_2 是胃粘膜组织中含有最高的一型 PG(前列腺素),且代谢旺盛,生物活性强, PGI_2 能影响胃粘膜血流量并具有胃肠粘膜保护作用,能保护胃粘膜的完整性,预防人类和狗胃溃疡的发生,并加速溃疡的愈合^[10,11]。 PGI_2 生物半衰期仅2~3分钟,很快变成稳定的6-酮-前列腺素 $\text{F}_{1\alpha}$,因此测6-酮-前列腺素 $\text{F}_{1\alpha}$ 的含量能反映出 PGI_2 的含量水平^[13]。在本实验中胃溃疡组血浆6-酮前列环素 $\text{F}_{1\alpha}$ 较空白对照组、假手术组明显下降($P < 0.05$),说明了生理水平 PGI_2 具有细胞保护作用,也证明了胃粘膜损伤后保护机制受到破坏,保护因子水平下降。愈疡散大剂量组、小剂量组均能使血浆6-酮-前列腺素 $\text{F}_{1\alpha}$ 的含量明显升高,接近于空白对照组、假手术组含量($P > 0.05$),明显高于胃溃疡模型组、西药对照组($P < 0.05$)。愈疡散大剂量及小剂量组能显著提高实验性胃溃疡大鼠血浆中6-酮-前列腺素 $\text{F}_{1\alpha}$ 的含量,提示愈疡散治愈大鼠实验性胃溃疡可能是通过促进胃粘膜合成6-酮-前列腺素 $\text{F}_{1\alpha}$ 的含量从而加速胃粘膜上皮细胞的修复。愈疡散提高血浆6-酮-前列腺素 $\text{F}_{1\alpha}$ 的含量并不存在量效应,与西药雷尼替丁相比较,有显著性差异($P < 0.05$)。

本实验采用大鼠冰醋酸造模,治疗28天后胃溃疡模型组病理切片上,仍可见溃疡面,溃疡面两边为残余胃粘膜,中间为渗出物、大量红细胞及炎细胞,而愈疡散大剂量组可见溃疡基本完全修复,上皮细胞排列整齐,腺体稍有囊状扩张,粘膜下层未见炎细胞浸润及渗出物;在溃疡边缘粘膜上皮的细胞学改变方面:我们发现胃溃疡镜下可见残余胃粘膜,腺体消失,粘膜下层炎细胞浸润;西药对照组囊状扩张腺体上面有少许上皮细胞覆盖;愈疡散小剂量有上皮

细胞再生,腺体囊状扩张:空白对照组和假手术组中可见上皮细胞、腺体排列整齐,未见炎细胞及渗出物,在西药对照组,愈疡散大剂量组、小剂量组中再生胃粘膜明显高于胃溃疡组,明显低于空白对照组和假手术组,说明了两种药物能促进溃疡愈合。但在镜下仍可见异常,如厚度变薄,腺管明显扩张,印证了 Tarnawski 等学者的结论。也证实了肉眼认为已“愈合的溃疡”在镜下并没有完全“愈合”;在愈疡散大剂量组,溃疡修复基本完成,腺体囊状扩张仍存在,其再生胃粘膜的厚度明显低于正常组及假手术组。在溃疡愈合的动力学方面,溃疡愈合晚期迟滞时相,溃疡完全由低分化上皮细胞再上皮化,愈合过程持续数月,肉芽组织转化为成熟疤痕组织,腺体结构缓慢地进行重构,移行到溃疡口的上皮细胞呈散状或低柱状^[14]。在病理片中我们可以看到愈疡散大剂量组大部分胃粘膜腺体经过 4 周的修复已成低柱状,微血管网明显增多。说明了本方能加速上皮组织再生和瘫痪修复,促进肉芽组织转化为成熟疤痕组织,加快腺体结构重构。愈疡散小剂量组在促进胃粘膜的再生方面无显著性差异($P>0.05$)。

综上所述,愈疡散能显著提高大鼠胃溃疡再生胃粘膜厚度和血浆 6-酮-前列腺素 $F_{1\alpha}$ 的含量,说明愈疡散可能通过诱导、促进血浆 6-酮-前列腺素 $F_{1\alpha}$ 的合成,增加胃粘膜血流量,促进肉芽组织转化为成熟疤痕组织,加快腺体结构重构,促进上皮组织再生和改善疤痕修复有关,从而维护胃粘膜的完整性,促进溃疡愈合,提高溃疡愈合质量。

参考文献

- [1]叶任高主编.内科学[M].第5版.北京:人民卫生出版社,2001.398
- [2]危北海,张万岱,陈治水,等.中西医结合消化病学研究进展和展望[J].中国中西医结合脾胃杂志,1999,7(3):129
- [3]Tarnawski A, Stachura J, Krause WJ, et al. quality of gastric ulcer healing a new emerging concept[J]. J Clin Gastroenterol, 1991, 13 (suppl 1):42
- [4]余善强,周福生,崔琦珍,等.溃疡愈合质量研究进展[J].华人消化杂志,1998,6(11):101
- [5]Tarnawski A, Hollander D, Stachura J, Krause WJ et al. Vascular and microvascular change-key factors in the development of acetic acid induced gastric ulcers in rats[J]. J Clin Gastroenterol, 1990, 12 (suppl 1):148
- [6]Tarnawski A, Douglass TG, Stachura J, Krause WJ, et al. Quality of gastric ulcer healing: a new, emerging concept[J]. J Clin Gastroenterol, 1991, 13 (suppl 1):42
- [7]Malagelada JR. Defects in prostaglandin synthesis and metabolism in ulcer diseases[J]. Dig Dis Sci, 1986, 31:20
- [8]Moncada, S, Gryglewski, R, Butin, A. etc. Thromboxanes: A new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides[J]. PRO. Nat. Acad. Sci. USA 1975, 72:2 294
- [9]彭英.缺血必脑卒中的某些神经生化改变研究进展[J].国外医学内科学分册,1991,18(6):258
- [10]Konturek, S, Jbrzozowski, T, Piastucki, I, etc Role of prostaglandin and thromboxane biosynthesis in gastric necrosis produced by taurocholate and ethanol[J]. Dig Dis Sci, 1983, 28:154
- [11]高文信,陈英新,聂俊秀,等.复发性口腔溃疡患者血浆 TXB₂、6-酮-前列腺素 $F_{1\alpha}$ 含量测定[J].中华口腔医学杂志,1993,28 (2):109
- [12]Morris GP. Prostaglandins and cellular restitution in the gastric mucosa[J]. Am J med, 1986, 81 (suppl):23
- [13]Symerstad and Holm L. Prostaglandin E₂ and aggressive factors Increase the gland luminal pressure in the rat gastric mucosa in vivo[J]. GASTROENTEROLOGY, 1998, 114/6:1 276
- [14]易超文,李晓冬,易粹琼.消化性溃疡愈合的动力学及影响因素[J].华人消化杂志,1998,6(11):1 007

(收稿日期:2003-08-14)

Effect of Yuyang Pulvis on QOUH in Treating the Gastric Ulcer Rats

ZHOU Zhi-gang, FAN Hui-zhen, JIANG Go-ping

(Jangxi University of TCM, Nanchang 330006)

Abstract: Objective: To study the effect of Yuyang powder on QOUH in treating gastric ulcer rats. Methods: The SD rats were made into gastric ulcer by glacial acetic. The 60 SD rats randomly divided into six groups namely normal group, model group, Ranitidine group, low-dosage Yuyang pulvis, high-dosage Yuyang pulvis and fese operation group. The model group and fese operation group were fed with NS. The gastric ulcer model group was fed with nothing only water and food. The Ranitidine group was fed with Ranitidine. the gastric mucosas of the rats were observed by HE. According to the indication of the reagent of 6-keto-PGF_{1α}, We test the serum 6-KETO-PGF_{1α} of the rats. Result: The high-dosage Yuyang pulvis, low-dosage Yuyang pulvis is significantly thicker than the model group in regeneration thickness of rat gastric mucosa. There were no significant differetiation in rat mucosal thickness of regeneration. As for the serum level of 6-keto-PGF_{1α}: there were no significantly differetiation amog low-dosage Yuyang pulvis, high-dosage Yuyang pulvis, normal group, fese operation group. the serum level of 6-keto-PGF_{1α} in high-dosage Yuying pluvis, low-dosage Yuying pulvis were significantly higher than those in model group, ranitidine group. Conclusion: the Chinese traditional group prescription "yuyang" can improve the QOUH.

Key words: Yuyang pulvis gastric ulcer; QOUH; 6-keto-PGF_{1α}