

失血再灌注胃体部粘膜损伤及丹参提取物 F 与甲氰咪胍防治作用的比较*

姚常柏¹ 张丽红² 李和泉³

内容提要 目的:观察失血再灌注胃体部粘膜损伤及丹参提取物 F 与甲氰咪胍抗胃粘膜损伤的作用。方法:复制大鼠失血性休克再灌注损伤模型。实验分生理盐水(NS)组、丹参提取物 F(DSEF)组及甲氰咪胍(CI)组。结果:(1)DSEF 组及 CI 组的胃体部粘膜损伤指数及重度损伤均明显低于 NS 组($P < 0.01$),但 DSEF 组与 CI 组间无显著性差异($P > 0.05$)。(2)DSEF 组的前列腺素 E_2 (PGE_2)、6-酮-前列腺素 $F_{1\alpha}$ (6-keto- $PGF_{1\alpha}$)及 6-keto- $PGF_{1\alpha}$ /血栓素 B_2 (TXB_2)比值明显高于 NS 及 CI 组($P < 0.01$, $P < 0.05$);而 TXB_2 含量明显低于 NS 组及 CI 组($P < 0.05$)。但 CI 组与 NS 组间无显著性差异($P > 0.05$)。(3)DSEF 组及 CI 组的细胞内钙含量明显低于 NS 组($P < 0.01$),而 DSEF 组与 CI 组间无显著性差异($P > 0.05$)。结论:在失血性休克再灌注诱导的大鼠胃体部粘膜损伤中,DSEF 与 CI 均具有防治作用,但机制不同。DSEF 既具有增强胃粘膜保护因子的作用又具有削弱攻击因子的作用,甲氰咪胍只有抵抗攻击因子的作用。

关键词 再灌注损伤 胃体 丹参 甲氰咪胍

Mucosal Injury of Gastric Corpus by Hemorrhage Reperfusion and Comparison between Preventing and Therapeutic Effect of Salvia Extract F and Cimetidine YAO Changbai, ZHANG Lihong, LI Hequan *Department of Surgery, Liaoning Provincial People's Hospital, Shenyang (110015)*

Objective: To observe the mucosal injury of gastric corpus caused by hemorrhage reperfusion and to compare the anti-mucous injure effect between Salvia extract (SE) and cimetidine (CI) on it. **Methods:** Model of hemorrhagic shock reperfusion injury was produced by Itoh method. Wistar rats used in this experiment were randomly divided into three groups, the normal saline (NS) group, the SE group and the CI group. **Results:** (1)As compared with those in the NS control group, the index and depth of gastric mucosal lesion in the SE group and the CI group decreased significantly ($P < 0.01$), but the difference between the latter two was insignificant ($P > 0.05$). (2)Compared with those in the NS group and the CI group, the levels of PGE_2 , 6-keto- $PGF_{1\alpha}$ and 6-keto- $PGF_{1\alpha}/TXB_2$ raised and TXB_2 lowered obviously in the SE group, while no significant difference was shown between those in the NS group and the CI group. (3)The intracellular calcium content in the SE group and the CI group was markedly higher than that in the NS group ($P < 0.01$), but there was insignificant difference between the SE and the CI group ($P > 0.05$). **Conclusions:** Both SE and CI could inhibit the gastric mucosal reperfusion injury, but with different mechanisms. SE could not only enhance the protective factors of gastric mucosa, but also abate the injury factors of it, while CI has the latter only.

Key words reperfusion injury, gastric corpus, Radix Salvia Miltiorrhizae, cimetidine

失血性休克后的再灌注在一定条件下可造成全身多器官损伤,即发生再灌注损伤,胃粘膜主要表现为应激性溃疡、出血、坏死、穿孔。本研究通过大鼠失血性休克再灌注损伤模型,观察丹参水溶性提取物 F(Dan Shen Extract F, DSEF)及 H_2 受体拮抗剂甲氰咪胍

(cimetidine, CI)抗胃体部粘膜再灌注损伤的作用,并探讨其作用机制,为寻找有效的抗胃粘膜再灌注损伤药物提供理论依据。

材料与方法

1 药物 DSEF 是用柱层析法从丹参水溶液中提取的一种成分,由中国医科大学化学检测中心提供;甲氰咪胍由广东小榄制药厂生产,批号 900603。上述药物均为针剂。

* 国家自然科学基金资助项目

1. 辽宁省人民医院普外科(沈阳 110015);2. 中国医科大学第二临床学院麻醉科;3. 中国医科大学病理生理教研室

2 动物模型及复制 失血性休克-再灌注损伤模型以改良 Itoh 法^[1]复制。选用 Wistar 雄性大鼠, 体重 260~300g, 实验前禁食 24h, 20% 乌拉坦行腹腔注射麻醉(5mg/100g), 气管插管保持气道通畅, 颈动脉插管监测平均动脉压, 股动脉插管用于放血及血液回输, 尾静脉穿刺用于输液或给药, 开腹洗胃至 pH6.0, 结扎幽门, 以 0.03ml/min 经尾静脉滴注生理盐水(NS), DSEF 或 CI, 25min 后胃内灌注 0.1mol/L HCl [1ml/(min·100g)], 5min 后放血维持血压在 2.67~4.00kPa, 经 20min 休克状态回输全部血液, 维持 20min 后处死。

3 分组 本实验分以下 3 组: 生理盐水(NS)组, 丹参提取物 F(DSEF)组及甲氰咪胍(CI)组, 分别于尾静脉滴注 NS、DSEF(1g/100g)及 CI(6.5mg/100g)。

4 观测指标及测定方法

4.1 损伤指数 胃体部粘膜出血性损伤面积占胃体部总面积的百分比^[2]。

4.2 损伤深度 胃体前壁取粘膜, 光镜观察分级^[3]: 0 级: 正常胃粘膜; 1 级: 粘膜表层细胞受损; 2 级: 胃小凹细胞受损; 3 级: 胃腺细胞受损。电镜观察分级^[4]: 0 级: 正常胃粘膜; 1 级: 表层细胞不规则, 个别破溃; 2 级: 表层细胞大部分缺失, 基底膜暴露; 3 级: 基底膜已损伤。依各级损伤长度占整个切片长度百分比计算, 光、电镜间分级具有紧密相关性($r=0.846$, $P<0.01$)。

4.3 胃体部粘膜前列腺素的测定 前列腺素 E_2 (PGE_2), 6-酮-前列腺素 $F_{1\alpha}$ (6-keto- $PGF_{1\alpha}$ 为前列环素 PGI_2 的代谢产物), 血栓素 B_2 [TXB_2 , 为血栓素 A_2 (TXA_2) 的代谢产物] 药盒由解放军总医院生化室提供, 采用放射免疫法测定。

4.4 胃体部粘膜细胞内钙含量测定 采用原子吸收法测定。

5 统计学方法 采用 t 检验。

结 果

1 各组大鼠损伤指数比较 DSEF 及 CI 组损伤指数(%)分别为 4.42 ± 1.39 、 3.74 ± 1.56 , 明显低于 NS 组 23.18 ± 6.82 ($P<0.01$), DSEF 与 CI 组比较无

显著性差异($P>0.05$)。

2 各组大鼠损伤深度比较 见表 1。DSEF 及 CI 组正常的胃粘膜(0 级)及轻度损伤(1 级)明显高于 NS 组($P<0.01$); 而重度损伤(3 级)明显低于 NS 组($P<0.01$); DSEF 与 CI 组比较无显著性差异($P>0.05$)。

表 1 各组胃粘膜损伤深度的比较 ($\%, \bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	0 级	1 级	2 级	3 级
NS	7	3.01 ± 1.01	8.35 ± 1.95	31.32 ± 4.49	58.44 ± 9.07
DSEF	6	$22.05 \pm 5.96^*$	$34.12 \pm 8.12^*$	25.96 ± 10.04	$20.32 \pm 6.95^*$
CI	6	$18.54 \pm 4.82^*$	$30.15 \pm 7.12^*$	26.59 ± 8.32	$23.12 \pm 5.09^*$

注: 与 NS 组比较, * $P<0.01$

3 各组大鼠胃粘膜前列腺素含量比较 见表 2。DSEF 组的 PGE_2 、6-keto- $PGF_{1\alpha}$ 含量及 6-keto- $PGF_{1\alpha}$ /TXB₂ 比值明显高于 NS 及 CI 组($P<0.01$, $P<0.05$); 而 TXB₂ 含量明显低于 NS 组及 CI 组($P<0.05$)。CI 组 PGE_2 、6-keto- $PGF_{1\alpha}$ /TXB₂ 高于 NS 组, TXB₂ 含量低于 NS 组, 但二者比较无显著性差异($P>0.05$)。

4 各组大鼠胃粘膜细胞内 Ca 含量比较 DSEF 与 CI 组的 Ca 含量($\mu g/mg$)分别为 0.1044 ± 0.0147 、 0.1020 ± 0.0103 , 明显低于 NS 组的 0.1308 ± 0.0194 ($P<0.01$); DSEF 与 CI 组比较无显著性差异($P>0.05$)。

讨 论

胃粘膜再灌注损伤日益受到重视, 国内外学者虽进行了大量研究, 但仍未找到一种满意的方法和药物。本实验结果表明, DSEF 与甲氰咪胍均能明显减少失血性休克再灌注后胃粘膜出血性损伤面积及损伤深度, 增加正常胃粘膜及轻度损伤的比例, 尽管二者对胃粘膜损伤发生的抑制率相似, 但 DSEF 在防治重度损伤上更具优势, 这使受损的胃粘膜更易恢复; 且临床观察发现丹参水煎液(用于制备 DSEF)无停药后反跳, 副作用小, 少数患者略有面红, 可自行缓解, 随着该药的进一步提纯, 疗效将更好, 副作用将更少。

胃粘膜再灌注损伤是一种急性胃粘膜病变, 一般认为胃粘膜既受损害因素的作用如胃酸、胃蛋白酶, 也受保护因素的作用如前列腺素、胃粘液, 正常情况下胃

表 2 各组胃粘膜 PGE_2 、6-keto- $PGF_{1\alpha}$ 及 TXB₂ 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	PGE_2	6-keto- $PGF_{1\alpha}$ (pg/mg)	TXB ₂	6-keto- $PGF_{1\alpha}$ / TXB ₂
NS	6	540.48 ± 182.78	714.38 ± 123.74	58.28 ± 6.74	17.38 ± 5.93
DSEF	6	$759.77 \pm 192.00^*$	$1248.37 \pm 158.54^{**}$	$45.37 \pm 7.54^*$	$33.42 \pm 9.24^{**}$
CI	6	$580.86 \pm 167.53^\Delta$	$734.33 \pm 101.89^{\Delta\Delta}$	$54.32 \pm 6.89^\Delta$	$19.04 \pm 8.03^{\Delta\Delta}$

注: 与 NS 组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与 DSEF 组比较, $^\Delta P<0.05$, $^{\Delta\Delta} P<0.01$

粘膜的保护因素超过损害因素,使人体既能保证消化功能的完成,又能保护胃及十二指肠粘膜不受到损害。根据 Sun 和 Shen 的平衡学说,胃粘膜损伤是由于损害因素增加和(或)保护因素削弱所致。本实验结果表明,DSEF 即可增加胃粘膜前列腺素的含量,又可以减少细胞内 Ca 含量,而甲氧咪胍除具有 H_2 受体拮抗作用外也具有减少细胞内 Ca 含量的作用。可见二者的作用机制不同,DSEF 在增强胃粘膜防御因子的同时又可削弱攻击因子,甲氧咪胍只是单纯地削弱攻击因子。

一般认为在应激状态下,肾上腺糖皮质激素的大量释放可使胃酸分泌增加,粘液减少,同时肥大细胞释放的组胺也增加,组胺与壁细胞膜上的 H_2 受体相结合可使壁细胞分泌胃酸;甲氧咪胍为 H_2 受体拮抗剂,能与组胺竞争 H_2 受体,从而消除组胺导致分泌胃酸的作用。DSEF 具有增加胃粘膜 PGE_2 、6-keto-PGF $_{1\alpha}$ 含量及减少 TXB $_2$ 含量的作用。现已知 PGE_2 能明显抑制狗和人的基础胃酸分泌及组胺、五肽胃泌素、食物等刺激的胃酸分泌⁽⁵⁾,同时还发现前列腺素具有细胞保护作用, PGE_2 能明显增加胃粘液含量,使胃粘膜凝胶层增厚, PGE_2 、PGI $_2$ 等具有扩张血管,增加胃粘膜血流量及碳酸氢盐分泌的作用,增强粘膜组织对损伤的抵抗能力。此外,前列腺素还能延长上皮细胞的生存期,使粘膜层增厚^(6,7)。上述构成了 DSEF 抗胃粘膜缺血再灌注损伤机制的一部分。本研究发现 DSEF 与甲氧咪胍均具有抑制细胞内 Ca 超载的作用,细胞内 Ca 含量的增加可激活能促使黄嘌呤脱氢酶转变成氧化酶的蛋白酶,使体内产生大量黄嘌呤氧化酶,这样在再灌注后胃粘膜重新获得氧供便可爆发地产生超氧阴

离子等氧自由基,造成胃粘膜损伤。此外,抑制细胞内 Ca 超载还可以增强能量代谢,减少膜磷脂分解。由此可见,两种药物抗胃粘膜缺血再灌注损伤的机制既有共同点,也有不同之处,两种药物合用是否具有取长补短,增强疗效的作用尚需进一步研究。

参 考 文 献

1. Itoh M, Guth PH. Role of oxygen derived free radicals in hemorrhagic shock-induced gastric lesions in the rat. *Gastroenterology* 1985;88:1162—1163.
2. Itoh M, Paulsen G, Guth PH. Hemorrhagic shock and acid gastric injury in the rat. *Gastroenterology* 1986;90:1103—1105.
3. Lacy ER, Ito S. Microscopic analysis of ethanol damage to rat gastrin CI mucosa after treatment with a prostaglandin. *Gastroenterology* 1982;83:619—620.
4. Ritter CV, Hinder RA, Oosthuizen MMJ, et al. Gastric mucosal lesions induced by hemorrhagic shock in baboons. *Digestive Disease Sciences* 1988;33(7):857—859.
5. Wilson DE. Therapeutic aspects of prostaglandins in the treatment of peptic ulcer disease. *Digestive Disease Sciences* 1986;31(2):42s—46s.
6. Leung FW, Robert A, Guth PH. Gastric mucosal blood flow in rats after administration of 16, 16-dimethyl prostaglandinE $_2$ at a cyto-protective dose. *Gastroenterology* 1985;88:1948—1955.
7. Uribe A, Johansson C, Rubio C. Cell proliferation of the rat gastrointestinal mucosa after treatment with E $_2$ prostaglandins and indomethacin. *Digestion* 1987;36(4):238—329.
8. Nayler WG. The role of calcium in the ischemic myocardium. *Am J Pathol* 1981;102:262—264.

(收稿:1999-02-12 修回:2000-01-13)

· 消 息 ·

首个中药复方专利在澳诞生

澳洲联邦专利局 1999 年 10 月 28 日批准了首个中药复方专利,实现了中医药专利在西方世界零的突破,意义十分重大。该中药复方名为 CH-100,是目前世界上治疗丙型肝炎较有效的药物之一,是由澳洲纽卡索约翰亨特医院消化科主任罗伯特·贝迪教授与澳洲国泰中药公司合作,由杨伊凡中医师设计处方,在纽卡索约翰亨特医院先做临床试验,并初步获得成功,而后又陆续开展 2、3 期临床试验和动物实验。通过数年来的医疗实践证实,CH-100 治疗丙型肝炎确有很好的疗效。1996 年 7 月向澳洲政府递交了 CH-100 的专利申请,澳洲国家专利局通过反复调查、审核,确认该中药复方对治疗丙型肝炎有效,且在世界范围内尚无同类专利发明,所以批准了这项专利。

(摘自 2000 年 2 月 3 日《澳洲星岛日报》)