

半四左方对胃溃疡大鼠血清胃泌素和一氧化氮的影响

陈建章*, 陈文, 喻菁, 徐步海, 王小平, 周玉平
(江西中医药高等专科学校, 江西 抚州 344000)

[摘要] **目的:**观察半四左方对大鼠实验性胃溃疡和血清胃泌素(GAS)和一氧化氮(NO)的影响,探讨半四左方抗胃溃疡损伤的作用机制。**方法:**采用束缚水浸应激法和醋酸法建立大鼠胃溃疡模型。经半四左方干预后(含生药 $6.3\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,水浸应激法造模前连续 ig 15 d,醋酸法造模后连续 ig 5 d,测定水浸应激胃溃疡大鼠溃疡指数、醋酸型胃溃疡大鼠溃疡面积、以及2个溃疡模型大鼠血清 GAS,NO 水平。**结果:**半四左方可显著降低束缚水浸应激胃溃疡大鼠溃疡指数($P < 0.01$)和醋酸型胃溃疡大鼠溃疡面积($P < 0.01$),并能降低胃溃疡大鼠异常升高的血清 GAS,NO($P < 0.01$),使之恢复至接近正常水平。**结论:**半四左方具有明显的抗胃溃疡作用,其作用机制可能与其影响大鼠血清 GAS 和 NO 水平有关。

[关键词] 半四左方;胃溃疡;胃泌素;一氧化氮

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)21-0240-04

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120827.1152.024.html>

[网络出版时间] 2012-08-27 11:52

Influence of Bansizuo Prescription on Nitric Oxide and Gastrin in Rats with Gastric Ulcer

CHEN Jian-zhang*, CHEN Wen, YU Qing, XU Bu-hai, WANG Xiao-ping, ZHOU Yu-ping
(Jiangxi College of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 344000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the influence of Bansizuo prescription on nitric oxide and gastrin of blood serum in experimental rats with gastric ulcer and to search out the possible mechanism of cure gastric ulcer **Method:** The experimental gastric ulcer model in rats was induced by acetic acid and water immersing excitability. After be intervened with Bansizuo prescription, the ulcer index was measured for the model rats induced by water immersing excitability, the ulcer area was determined for the rats of acetic acid model, and nitric oxide and gastrin in serum were evaluated for the rats of two models. **Result:** Bansizuo prescription could reduce obviously the ulcer area in rats of acetic acid model and the ulcer index in rats of aqueous extract excitability model ($P < 0.01$). It could bring down the nitric oxide and gastrin in serum of experimental rats to near normal level ($P < 0.01$). **Conclusion:** Bansizuo prescription can repaire stomach mucosa damage to withstand gastric ulcer, its mechanism maybe related with the influenced in the nitric oxide and gastrin in serum.

[Key words] Bansizuo prescription; gastric ulcer; gastrin; nitric oxide

半四左方系本课题组根据临床实践经验和合方组方理论,以半夏泻心汤、四逆散、左金丸方拟合组

成的方剂^[1],临床用于治疗消化性溃疡、慢性胃炎和功能性消化不良等证,疗效甚佳。我们已经在前期研究^[2-3]中观察了该方对小鼠胃肠运动和实验性胃溃疡、胃液分泌的影响。本研究旨在通过观察半四左方对大鼠醋酸型胃溃疡和束缚水浸应激胃溃疡的抗溃疡作用以及对大鼠血清胃泌素(GAS)和一氧化氮(NO)的影响,进一步研究其抗溃疡作用机制。

1 材料

1.1 药物 半四左方,方药组成:制半夏 9 g,黄芩

[收稿日期] 20120524(369)

[基金项目] 江西省教育厅 2011 年度科学技术研究项目 (GJJ11649)

[通讯作者] *陈建章,硕士,教授,硕士生导师,从事消化疾病的中医、中西医结合治疗, Tel: 13879487099, E-mail: cjz1818521@sina.com

6 g,干姜 6 g,党参 12 g,黄连 3 g,甘草 6 g,柴胡 6 g,枳壳 6 g,白芍 9 g,吴茱萸 2 g,大枣 5 g,水煎煮,浓缩至含生药 $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$,冰箱保存备用。阳性对照药奥美拉唑胶囊(湖南康普制药有限公司,批号 110304)。

1.2 动物 清洁级 SD 雄性大鼠 120 只,体重 $(200 \pm 20) \text{ g}$,购自江西中医学院动物实验中心。动物许可证号 SCXK(赣)2011-0001。

1.3 试剂及仪器 NO 试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号 20110905),GAS 放免试剂盒(北京华英生物技术研究所)。r-911 全自动放免计数仪(中国科技大学实业总公司),T6 型紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司)。

2 方法

2.1 模型制备

2.1.1 醋酸型胃溃疡模型 SD 雄性大鼠 60 只,造模前大鼠禁食 24 h,自由饮水。以 3% 戊巴比妥钠 $1.3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ ig}$ 麻醉大鼠,沿腹白线剪开腹壁组织,打开腹腔,暴露鼠胃。取冰醋酸 0.05 mL 从浆膜层注入,然后用消毒干棉签轻轻将胃壁残留的冰醋酸吸净,用蘸生理盐水的棉签轻抹 2 次后将胃还纳于腹腔内;逐层缝合腹壁,手术过程按无菌操作。

2.1.2 束缚水浸应激胃溃疡模型 SD 雄性大鼠 60 只,于末次给药后大鼠禁食不禁水 24 h,造模前 30 min 再给药 1 次,用乙醚麻醉,固定于木板上。然后将其浸入 23 ℃ 的恒温水槽中,水浸没于剑突部,持续 12 h。

2.2 分组和给药 大鼠随机分为如下 6 组:正常对照组、模型组、半四左方高、低剂量组、奥美拉唑组。每组 12 只,除正常对照组外,其余 5 组均造模。半四左方高、低剂量组每日按生药 $6.0, 3.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, ig。奥美拉唑组每日 $4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ig(生理盐水将其稀释为 30%)。正常对照组和模型组 ig 等容积生理盐水,醋酸胃溃疡模型从造模术后次日开始给药,连续 15 d;束缚水浸应激胃溃疡模型为造模前给药,连续 5 d。

2.3 指标检测

2.3.1 溃疡面积、溃疡指数 实验结束时(醋酸型胃溃疡实验为末次给药后 24 h,束缚水浸应激胃溃疡实验为水浸 12 h 后),麻醉大鼠,颈总动脉取血, $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min,分离血清,用于检测 GAS,NO 水平。打开腹腔,结扎贲门,摘取全胃,沿胃大弯剪开胃,洗去胃内容物,平展于玻璃板上,检测记录溃疡情况。

醋酸型胃溃疡的溃疡面积计算方法^[4]:用游标卡尺测量通过溃疡中心的最大横径(d_1)和最大纵径(d_2),计算溃疡面积。

$$S = \pi \cdot d_1 / 2 \cdot d_2 / 2$$

束缚水浸应激胃溃疡的溃疡指数计算方法:用游标卡尺测量各胃黏膜损伤的长度(mm),参照文献^[5]的评分标准计算溃疡指数。

$$\text{溃疡抑制率} = (\text{模型组溃疡指数} - \text{给药组溃疡指数}) / \text{模型组溃疡指数} \times 100\%$$

2.3.2 血清 GAS 的检测 采用放射免疫法测定,委托北京华英生物技术研究所完成检测。

2.3.3 血清 NO 的检测 检测过程严格按照南京建成生物工程研究所 NO 试剂盒(化学法)说明书操作。

2.4 统计学处理 采用 SPSS 13.0 软件,若数据满足方差齐性要求,则各组间的比较用单因素方差分析,两组间进一步比较采用 LSD 法;若方差不齐则采用秩和检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠水浸应激型溃疡的影响 与模型组比较,半四左方高、低剂量组大鼠溃疡指数均显著降低($P < 0.01$),说明半四左方能抑制应激型溃疡的发生。各给药组间溃疡指数均无显著差异。与正常组比较,模型组大鼠血清 GAS 显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较,半四左方高、低剂量组大鼠血清胃泌素均显著降低($P < 0.01$),与正常组比较无显著差异。表明半四左方可使水浸应激型胃溃疡大鼠异常升高的血清 GAS 恢复至接近正常水平。见表 1。

表 1 半四左方对水浸应激型胃溃疡大鼠溃疡指数和血清 GAS,NO 的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	溃疡指数/mm	溃疡抑制率/%	GAS/ $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$	NO/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
正常	-	-	-	$61.56 \pm 4.25^{(1)}$	31.52 ± 2.52
模型	-	4.53 ± 0.58	-	73.23 ± 3.58	33.61 ± 3.78
半四左方	6	$1.30 \pm 0.29^{(1)}$	71.30	$62.34 \pm 3.78^{(1)}$	30.85 ± 2.19
	3	$1.45 \pm 0.36^{(1)}$	67.99	$60.75 \pm 4.26^{(1)}$	32.27 ± 2.53
奥美拉唑	4×10^{-3}	$1.43 \pm 0.28^{(1)}$	68.43	$63.51 \pm 5.24^{(1)}$	31.19 ± 3.12

注 与模型组比较¹⁾ $P < 0.01$ 。

3.2 对大鼠醋酸型溃疡的影响 与模型组比较,半四左方高、低剂量组大鼠溃疡面积均显著缩小($P < 0.01$),说明半四左方能显著促进醋酸型溃疡的愈合。半四左方高剂量组溃疡面积明显小于奥美拉唑组($P < 0.05$)。与正常组比较,模型组大鼠血清 GAS,NO 水平均显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较,半四左方高、低剂量组大鼠血清 GAS,NO 水平均显著降低($P < 0.01$)。且与正常组比较无显著差异,表明半四左方可使醋酸型胃溃疡大鼠异常升高的血清 GAS,NO 恢复至接近正常水平。见表 2。

表 2 半四左方对醋酸型溃疡大鼠溃疡面积和血清 GAS 和 NO 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	溃疡面积 /mm ²	GAS /ng·L ⁻¹	NO /μmol·L ⁻¹
正常	-	-	60.73 ± 4.87 ¹⁾	32.73 ± 2.96 ¹⁾
模型	-	19.65 ± 5.76	70.25 ± 4.12	47.62 ± 4.15
半四左方	6	3.63 ± 2.14 ^{1,2)}	61.57 ± 5.13 ¹⁾	34.17 ± 3.62 ^{1,2)}
	3	4.57 ± 2.52 ¹⁾	62.39 ± 4.38 ¹⁾	36.53 ± 2.68 ¹⁾
奥美拉唑	4 × 10 ⁻³	5.95 ± 2.61 ¹⁾	64.52 ± 5.16 ¹⁾	39.12 ± 2.49 ¹⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.01$;半四左方与与奥美拉唑组比较²⁾ $P < 0.05$ 。

4 讨论

胃溃疡属于中医“胃脘痛”范畴,其发病原因十分复杂,机制尚未完全阐明。现代医学认为本病是因为胃液的致溃因素与胃黏膜屏障功能之间的平衡失调所致^[6]。

NO 是具有多种功能的递质分子。有研究表明:超过生理量的 NO 形成的一些产物具有脂质过氧化作用,可导致内皮细胞的损伤,引起急慢性炎症^[7-8]。醋酸型胃溃疡与人类的慢性胃溃疡极为相似^[9],在该模型胃溃疡实验中,模型组大鼠血清 NO 与正常组比较有显著升高,此结果表明异常升高的 NO 可能是醋酸型胃溃疡的一个形成原因。本实验中半四左方高、低剂量均能使醋酸型胃溃疡大鼠血清中异常升高的 NO 明显下降。而降低 NO 含量至正常水平可能是半四左方治疗该型胃溃疡的机制之一。在水浸应激型溃疡实验中,模型组大鼠血清 NO 水平与正常组比较未见明显差异,提示该型胃溃疡的发生可能与大鼠血清 NO 水平无明显相关性。

GAS 是胃肠肽类激素之一,由 G 细胞分泌,能促进胃酸和胃蛋白酶原分泌,故与胃溃疡的形成有密切联系。在醋酸型胃溃疡和水浸应激型溃疡实验中,模型组大鼠血清 GAS 与正常组比较均有显著升高,说明 GAS 的异常升高可能是胃溃疡的引发因素

之一,而半四左方高、低剂量均能显著降低胃溃疡大鼠血清 GAS 水平,提示半四左方可能是通过抑制胃窦 G 细胞分泌 GAS,进而减少胃酸和胃蛋白酶原分泌而起到抗溃疡作用的。

半四左方系以半夏泻心汤、四逆散、左金丸方拟合组成的方剂,四逆散、半夏泻心汤均为《伤寒论》名方,四逆散有舒肝解郁、调和肝脾之效,半夏泻心汤有和胃降逆、开结除痞之功。两方广泛用于胃肠道疾病的治疗。有实验研究表明,四逆散对多种方法所致的急、慢性胃溃疡有明显的治疗及预防作用^[10],对应激模型大鼠下丘脑单胺类神经递质具有平衡作用^[11]。半夏泻心汤对大鼠胃溃疡有明显抑制作用^[12],对胃肠运动紊乱的具有调节作用^[13]。左金丸出自《丹溪心法·火六》,为丹溪名方之一,功能清泻肝火、降逆止呕。善治肋肋疼痛、嘈杂吞酸之肝火犯胃证。有研究表明左金丸能明显抑制吲哚美辛及乙醇所致大鼠胃溃疡的发生^[14],对幽门螺杆菌(HP)有明显抑制作用^[15]。半四左方以上述 3 方有机整合组建而成,药力增强,治疗范围扩大,特别是对于一些病机复杂,如既有脾胃阴阳不和,升降失序,寒热错杂,又有肝郁气滞、肝胃不和、泛酸呕逆的胃病证尤为适宜。本实验初步显示半四左方的抗胃溃疡作用机制可能与其影响 GAS 和 NO 水平有关。

[参考文献]

- [1] 陈文,凤良元,鄢顺琴.论方剂配伍理论和方法创新[J].安徽中医学院学报,2008,27(5):9.
- [2] 陈建章,陈文,朱荣林,等.五个胃肠复方对小鼠胃肠运动影响的比较研究[J].辽宁中医杂志,2009,36(5):830.
- [3] 陈建章,陈文,朱荣林,等.5个胃肠复方对实验性胃溃疡和胃液分泌影响的比较研究[J].时珍国医国药,2010,21(11):2874.
- [4] 丁慧波,刘晓伟,陈欣,等.维胃方对实验性大鼠胃溃疡血清 NO 和 NOS 的影响[J].四川中医,2007,25(9):15.
- [5] 张守仁.呋喃唑酮和一些常用溃疡药对四种大鼠胃溃疡模型的影响[J].药学学报,1984,19(1):5.
- [6] 陆再英,钟南山.内科学[M].北京:人民卫生出版社,2008:387.
- [7] 陈敏,李强,陈彬.过氧亚硝基阴离子的研究进展[J].生命的化学,2003,23(6):465.
- [8] Muriel P, Sandoval G. Nitric oxide and peroxynitrite anion modulate liver plasma membrane fluidity and Na(+)/K(+)-ATPase activity[J]. Nitric oxide, 2000,4(4):333.

醒脑静合生脉注射液对大鼠脑出血后 脑组织内水通道蛋白表达的影响

张青, 谢晓丽, 王其新, 马承泰*, 蒋艳霞, 王守彪, 隋爱华
(青岛大学医学院附属医院, 山东 青岛 266003)

[摘要] 目的:探讨醒脑静合生脉注射液对大鼠脑出血后脑组织内水通道蛋白-4(AQP4)表达的影响。方法:将SD大鼠随机分为脑出血组(ICH)、生理盐水组(NS)、醒脑静合生脉注射液治疗组(XNJSM)、水蛭素治疗组(HIR),每组10只大鼠。采用自体不凝血注入法复制脑出血模型,造模后6h,XNJSM组ip醒脑静合生脉注射液 $2\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1} + 10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ (按1:5比例混合),1次/d,连续3d;HIR组给予脑内注入水蛭素 $10\text{ U}(5\ \mu\text{L})$ 1次。术后72h取脑组织,HE染色观察各组血肿周围神经细胞形态学改变,免疫组化及免疫印迹(Western blot)法检测各组血肿周围脑组织AQP4的表达。结果:脑出血后72h脑组织内AQP4阳性细胞及蛋白表达与NS组比较明显增加($P < 0.05$),XNJSM组、HIR组脑组织病理形态明显改善,脑组织AQP4表达减少,与ICH组比较差异均有显著性($P < 0.05$)。结论:醒脑静合生脉注射液能够有效抑制大鼠脑出血后AQP4蛋白的表达,减轻脑水肿,对脑出血后脑组织发挥保护作用。

[关键词] 脑出血;醒脑静合生脉注射液;水通道蛋白-4;脑水肿

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)21-0243-05

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120827.1043.001.html>

[网络出版时间] 2012-08-27 10:43

Effect of Xingnaojing and Shengmai Injection on AQP4 after Intracerebral Hemorrhage in Rats

ZHANG Qing, XIE Xiao-li, WANG Qi-xin, MA Cheng-tai*, JIANG Yan-xia, WANG Shou-biao, SUI Ai-hua
(Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, Qingdao 266003, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Xingnaojing and Shengmai injection on the expression of aquaporin-4 (AQP4) in rat brain tissue after intracerebral hemorrhage (ICH). **Method:** The ICH model was

[收稿日期] 20120507(333)

[基金项目] 山东省中医药管理局基金项目(2005-020)

[第一作者] 张青,急诊医学硕士研究生, Tel:15275220897, E-mail: zhangqingchangsha@163.com

[通讯作者] *马承泰,医学博士,副主任医师,从事中西医结合危重病急救工作, Tel:13589298863, E-mail: machengtai@163.com

- [9] 王凌娟,张雯. 胃溃疡及实验性胃溃疡模型[J]. 中国烧伤创疡杂志,2000(2):66.
- [10] 李冀,毕珺辉,孙宇峰. 四逆散抗实验性胃溃疡的药效学及作用机理研究[J]. 中华中医药学刊,2007,25(7):1317.
- [11] 谢忠礼,李杰,王兴华. 加味四逆散对慢性应激模型大鼠下丘脑单胺类神经递质的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(1):50.
- [12] 许景峰,王金萍,许茜. 半夏泻心汤对大鼠胃溃疡及小肠功能的影响[J]. 中国药业,2002,11(2):48.
- [13] 付东,陈国志. 半夏泻心汤对照射引起小肠运动紊乱的调节作用[J]. 中国实验方剂学杂志,1996,2(3):21.
- [14] 徐继红,雍定国,耿宝琴. 左金胶囊与左金丸对抗大鼠实验性胃溃疡及胃酸分泌的比较研究[J]. 中药药理与临床,1999,15(2):8.
- [15] 李平,楚更五,周华,等. 蜂胶左金丸含药血清抗幽门螺杆菌的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(3):59.

[责任编辑 何伟]