

如达溃疡散对实验性胃溃疡大鼠血清超氧化物歧化酶及丙二醛的影响

杜锦辉* 韩晓江

内蒙古医科大学第一附属医院中医科, 内蒙古自治区呼和浩特市通道北街 1 号, 010050

基金项目: 内蒙古自然科学基金资助项目 (20080404MS1203)

* 通讯作者: dujinhui2009@yahoo.com.cn, (0471)6636324

[摘要] 目的 探讨如达溃疡散对实验性胃溃疡大鼠炎症指数及炎性指标的影响及其作用机制。方法 将 60 只 SD 大鼠随机分为如达溃疡散高、中、低剂量组, 奥美拉唑组和模型对照组, 每组 12 只, 采用乙酸烧灼法复制实验性胃溃疡大鼠模型, 造模 3 天后如达溃疡散高、中、低剂量组分别给予如达溃疡散 2g/(kg·d)、1g/(kg·d)、0.5g/(kg·d); 奥美拉唑组给予奥美拉唑肠溶胶囊 0.0036g/(kg·d); 模型对照组给予等体积生理盐水, 均每日灌胃 1 次, 连续 15 天。计算各组大鼠溃疡指数、炎症指数, 并检测大鼠血清超氧化物歧化酶(SOD)及丙二醛(MDA)水平。结果 与模型对照组比较, 各治疗组均可明显降低胃溃疡大鼠溃疡指数、炎症指数及 MDA 水平($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 如达溃疡散低剂量组以上指标均低于如达溃疡散中、高剂量组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型对照组比较, 各治疗组均可增加血清 SOD 水平($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 如达溃疡散低剂量组血清 SOD 水平高于如达溃疡散中、高剂量组($P < 0.01$)。结论 如达溃疡散可有效改善实验性胃溃疡的炎症指数及炎性指标, 其机制可能与升高血清 SOD、降低 MDA 水平有关。

[关键词] 如达溃疡散; 乙酸烧灼法; 实验性胃溃疡; 超氧化物歧化酶; 丙二醛

Effect of Ruda Kuiyang Powder on Serum Superoxide Dismutase and Malondialdehyde in Experimental Gastric Ulcer Model Rats
DU Jinhui, HAN Xiaojiang

(The First Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Inner Mongolia Autonomous Region 010050)

ABSTRACT Objective To explore the effect and mechanism of Ruda Kuiyang Powder (powder for gastric ulcer) on the inflammatory indices and inflammatory markers in experimental gastric ulcer model rats. **Methods** Sixty SD rats were randomized into the Ruda Kuiyang Powder large-dose group, middle-dose group, small-dose group, omeprazole group and model control group, with 12 in each. The gastric ulcer rat models were made by acetic acid cauterization. Three days after modeling, the Ruda Kuiyang Powder large-dose group, middle-dose group and small-dose group were given 2g/(kg·d), 1g/(kg·d) and 0.5g/(kg·d) of Ruda Kuiyang Powder respectively. The omeprazole group was given 0.0036g/(kg·d) of omeprazole capsules. The model control group was given equal volume of normal saline. The intragastric administration was given in all groups once daily for 15 days. The ulcer index and inflammation index was calculated. The content of serum superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) was detected. **Results** Comparing with the model control group, all the treatment groups could reduce the ulcer index, inflammation index and the content of serum MDA ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The above indices in the Ruda Kuiyang Powder small-dose group were significantly lower than those in the middle-dose and large-dose groups ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Comparing with the model group, all the treatment groups could increase the content of serum SOD ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The content of serum SOD in the Ruda Kuiyang Powder small-dose group was significantly higher than those in the middle-dose and large-dose groups ($P < 0.01$). **Conclusion** Ruda Kuiyang Powder could effectively antagonize experimental gastric ulcer, and the effect might be related to increase of SOD and decrease of MDA.

Keywords Ruda Kuiyang Powder; acetic acid cauterization; experimental gastric ulcer; superoxide dismutase; malondialdehyde

消化性溃疡是临床常见病、多发病, 可在胃肠道与酸性胃液能接触到的任一部位发生, 但以胃、十二指肠最为多见, 约占 98%。如达溃疡散是根据内蒙古自治区名老中医临床经验, 在蒙药如达-6 的基础上加减而成的, 具有健脾和胃、止痛解痉、收敛生肌之功效, 用于治疗脾虚、寒热错杂型消化性溃疡疾病。前期实验证实, 如达溃疡散可降低溃疡指数、减

轻黏膜损伤程度、抑制溃疡的发生^[1]。本实验在此基础上, 通过乙酸烧灼法进行造模, 目的在于进一步探讨如达溃疡散对实验性胃溃疡大鼠血清超氧化物歧化酶(SOD)及丙二醛(MDA)的影响及其机制。

1 材料

1.1 动物

雌性、健康、清洁级 SD 大鼠 60 只, 体重(200±

20)g,购于北京市维通利华实验技术有限公司,动物合格证号:SCXK(京)2007-0001。大鼠在实验前均适应环境饲养 1 周,其饲养条件湿度、温度等均一致,期间均可自由饮食、摄水。

1.2 药物与试剂

如达溃疡散(由土木香、石榴、瞿麦各 50g,砂仁、荜茇各 30g,红花 80g 等药物组成);奥美拉唑肠溶胶囊(哈药集团三精制药诺捷有限公司生产,批号:090236)。乙酸(天津市化学试剂三厂,批号:060729),血清 SOD 试剂盒(由北京华英生物技术研究提供, HY-139)、MDA 试剂盒(由北京华英生物技术研究提供, HY-140)。

1.3 主要仪器

TD24-WS 低速台式自动平衡离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司生产);生物光学显微镜(Olympus, U-MDOB3)。

2 方法

2.1 动物分组

将 60 只 SD 大鼠按随机数字表法分为如达溃疡散高、中、低剂量组,奥美拉唑组和模型对照组,每组 12 只。

2.2 模型制备

模型制备按照文献[2-3]方法进行。各组大鼠常规饲养 1 周后,术前禁食不禁水 48h,将大鼠置入乙醚钟罩内麻醉 2~3min 后,用细棉划过其角膜边缘,角膜反射消失,但心跳、呼吸等尚属正常范围,随即备皮,仰卧固定于实验台上,在不影响大鼠正常呼吸的情况下,将浸泡过乙醚的几小块纱布置于小烧杯中,用于鼻旁追加麻醉,防止术中苏醒。常规消毒,自剑突沿腹中线切开腹壁,切口约 2~3cm,沿肝缘后方找到胃体,将腺胃部拉出腹腔,在腺胃部前壁窦体交界近幽门侧浆膜下缓慢注入 10% 的乙酸溶液 0.05ml,注射时针尖倾斜,注射后出现白色丘疹样隆起,隆起变平则出现圆形或椭圆形的乳白色不透明区,将大网膜缝线固定于注射区以防止穿孔(以乙酸无渗出、也未注入胃腔内为佳),逐层缝合,切口及周围再次消毒,将大鼠放回笼中,常规饲养。

2.3 给药方法

造模 3 天后开始给药,如达溃疡散高、中、低剂量组分别给予如达溃疡散 2g/(kg·d)、1g/(kg·d)、0.5g/(kg·d)^[4];奥美拉唑组给予奥美拉唑肠溶胶囊 0.0036g/(kg·d)^[5],各组均以 1ml/100g 体积灌胃给药;模型对照组给予等体积生理盐水,每日

1 次,连续 15 天。

2.4 标本采集及检测指标

2.4.1 血清 SOD、MDA 水平测定 连续灌胃 13 天,各组大鼠禁食不禁水 48h,于第 15 天灌胃 1h 后断头取血^[6],其中 2ml 血液置于促凝管(EP)中,用离心机 4℃ 3000r/min 离心 10min,分离血清, -20℃ 保存,均送北京华英生物技术研究,用放射免疫法测定 SOD、MDA。

2.4.2 溃疡指数的测定^[7-9] 取完胃液后,用小流量生理盐水冲洗胃内壁,去掉胃内容物,用滤纸吸干,将其平展在白色滤纸上,观察溃疡发生情况。参考文献[9]中的评分标准,以积分法计算溃疡指数:出血点计 1 分,线状出血坏死斑长度<1mm 者计 2 分,≥1mm 但≤2mm 者计 3 分,>2mm 但≤4mm 者计 4 分,>4mm 者计 5 分,全胃分数总和为其溃疡指数。

2.4.3 炎症指数的测定 将浸泡于 10% 的甲醛溶液中固定好的胃窦部组织取出后,按常规方法,石蜡包埋、切片、HE 染色,参考文献[10]在低倍镜下阅片并记录炎症指数:轻度:炎性细胞浸润仅局限在胃黏膜上 1/3,计 1 分;中度:炎性细胞浸润胃黏膜上 2/3,计 2 分;重度:炎性细胞浸润胃黏膜全层,计 3 分。每个标本取 5 个视野计算平均值后作为其炎症指数。

2.5 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析,计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多个样本均数比较采用方差分析,两两比较采用 LSD 法。

3 结果

3.1 一般情况

运用乙酸烧灼法造模的大鼠,在苏醒 30min 后,开始摄食、饮水,但较前有所减少,活动少而迟钝;造模后 1 或 2 天,一般情况较差,睡眠增多,而活动减少,反应迟钝较明显,皮毛暗淡无光泽且出现打绺现象,饮食、摄水量均较前明显减少,小便量减少,大便量少且臭秽。灌胃给药 5~7 天后,除模型对照组外,如达溃疡散低剂量组、奥美拉唑组大鼠精神逐渐好转,皮毛渐有光泽,饮食、摄水量增加,大小便排出量增加,活动量加大,其余组均有不同程度的改善;灌胃给药 10 天后,各治疗组大鼠精神状态、皮毛色泽、饮食、摄水量、大小便排出量、活动量均属正常范围。肉眼观察胃内壁溃疡周围黏膜呈白色,周围隆起,中心凹陷,为典型的溃疡外观,病变愈合较好者,仅呈白色小点。光镜下大鼠胃黏膜萎缩变薄,上皮细

胞崩解,黏膜固有层、肌层淤血,腺体数量减少,间质内可见多种炎性细胞,主要为淋巴细胞和浆细胞。

3.2 各组大鼠溃疡指数及炎症指数比较

表1示,与模型对照组比较,各治疗组均可明显抑制溃疡的发生,降低溃疡指数($P<0.05$ 或 $P<0.01$);如达溃疡散低剂量组溃疡指数低于如达溃疡散中、高剂量组($P<0.01$),如达溃疡散低剂量组与奥美拉唑组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。与模型对照组比较,各治疗组均可明显减轻黏膜损伤的程度,减少出血点及溃疡灶,降低炎症指数($P<0.01$)。如达溃疡散低剂量组炎症指数低于如达溃疡散中、高剂量组($P<0.05$),如达溃疡散低剂量组与奥美拉唑组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

表1 各组大鼠溃疡指数及炎症指数比较(分, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	溃疡指数	炎症指数
模型对照组	12	4.25±0.45	2.92±0.81
如达溃疡散低剂量组	12	1.50±0.67**	1.42±0.67**
如达溃疡散中剂量组	12	3.08±1.51**△△	2.00±0.74**△△
如达溃疡散高剂量组	12	3.17±1.34*△△	1.92±0.67**△△
奥美拉唑组	12	1.17±0.94**	1.33±0.49**

注:与模型对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与如达溃疡散低剂量组比较,△ $P<0.05$,△△ $P<0.01$

3.3 各组大鼠血清SOD及MDA水平比较

表2示,与模型对照组比较,各治疗组均可增加血清SOD水平($P<0.05$ 或 $P<0.01$);如达溃疡散低剂量组血清SOD水平高于如达溃疡散中、高剂量组($P<0.01$),如达溃疡散低剂量组与奥美拉唑组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。与模型对照组比较,各治疗组均可降低MDA水平($P<0.05$ 或 $P<0.01$);如达溃疡散低剂量组MDA水平低于如达溃疡散中、高剂量组($P<0.05$),如达溃疡散低剂量组与奥美拉唑组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

表2 各组大鼠血清SOD及MDA水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	SOD(U/ml)	MDA(mmol/ml)
模型对照组	12	70.88±5.74	8.26±1.16
如达溃疡散低剂量组	12	145.79±34.57**	6.58±0.88**
如达溃疡散中剂量组	12	110.42±44.61*△△	7.38±0.73*△
如达溃疡散高剂量组	12	109.77±45.02*△△	7.35±0.87*△
奥美拉唑组	12	168.47±55.17**	6.57±0.74**

注:与模型对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与如达溃疡散低剂量组比较,△ $P<0.05$,△△ $P<0.01$

4 讨论

胃溃疡属于中医“胃脘痛”范畴,其发生多因饮食不节、情志不畅及外感六淫,脏腑气机失调,经脉不通,与邪毒、瘀血有关,其病机以脾虚为主,胃热为标,虚实并见,寒热错杂为主要病理特征,治疗以理

气健脾治其本,清热活血化瘀治其标。

在动物身上复制胃溃疡模型的方法很多,乙酸烧灼法属慢性损伤性溃疡造模方法,其主要机制是破坏胃黏膜屏障,造成局部血液循环障碍,此模型在溃疡外形、愈合和复发过程等方面均与人类胃溃疡非常类似,且制作方便、重复性好,因而广泛用于抗溃疡药物的药效学和药理学研究。

炎症指数是显示胃黏膜溃疡愈合程度的指数,在光镜下可看到:与模型对照组比较,经如达溃疡散治疗后的大鼠仅见少许黏膜上皮细胞脱落,腺体结构基本完整,炎性细胞浸润较少,说明经过治疗后胃黏膜上皮细胞脱落减少,炎性细胞浸润有效改善,腺体结构逐渐恢复完整,而且如达溃疡散低剂量组可见有不同程度的溃疡愈合,镜下溃疡灶表面有不同程度的新生上皮覆盖,炎性细胞明显减少,溃疡底部有明显肉芽组织形成,胃黏膜血管轻度扩张、充血;但如达溃疡散中、高剂量组的部分区域黏膜表层上皮坏死、脱落,腺体破坏较重,间质轻度水肿及大量炎细胞浸润,损伤高于其他治疗组,且呈现明显的剂量相关性:如达溃疡散低剂量组效果优于中、高剂量组,并且与奥美拉唑组疗效相当。

SOD是生物体内抗氧化损伤的一类生物酶,对机体具有保护作用^[11]。研究证实动物胃黏膜损伤与超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)有关^[12],不同因素造成的胃酸增高或应激性胃黏膜缺血,不仅导致胃黏膜局部出现一系列炎症反应,且可产生大量的 $O_2^{\cdot-}$,使生物体内SOD的活性明显降低,并导致细胞毒性反应。本研究结果表明,经如达溃疡散治疗后,大鼠血清SOD水平明显升高,且低剂量组与奥美拉唑组比较差异无统计学意义($P>0.05$),提示本药可能通过增加防御因子,减少胃黏膜的内源性氧化反应,来增强溃疡的愈合;其低剂量组优于中、高剂量组,说明在增加防御因子方面,呈现明显的剂量相关性。

MDA是 $O_2^{\cdot-}$ 氧化生物膜多不饱和脂肪酸产生的降解产物^[13],其水平升高,反映了体内 $O_2^{\cdot-}$ 代谢产物的增多,同时 $O_2^{\cdot-}$ 在体内的堆积对细胞有明显的损害作用,可直接破坏细胞膜和遗传结构,使具有膜结构的内质网、溶酶体及线粒体等结构破坏^[14],故MDA的测定常与SOD相互配合,SOD活力的高低间接反映了机体清除 $O_2^{\cdot-}$ 的能力,而MDA活力的高低间接反映了机体细胞受 $O_2^{\cdot-}$ 攻击的严重程度^[15]。本研究结果表明,经如达溃疡散治疗后,大鼠血清MDA水平明显降低,且低剂量组与奥美拉唑组比较差异无统计学意义($P>0.05$),提示本药可能通过减少攻击因子,抑制胃黏膜上皮

细胞变性来防止溃疡的发生;其低剂量组优于中、高剂量组,说明在减少攻击因子方面,亦呈现明显的剂量相关性。

综上所述,我们认为如达溃疡散能促进溃疡愈合,预防溃疡发生;其抗溃疡的机制可能是通过提高血清 SOD,降低血清 MDA,增强胃黏膜保护因子和减少攻击因子来实现的。

参考文献

- [1]杜锦辉,张敏,色仁那木吉拉.蒙药如达溃疡散对大鼠乙酸性胃溃疡及其血清促胃液素的影响[J].内蒙古医学院学报,2008,30(1):39-41.
- [2]徐叔云,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M].3版.北京:人民卫生出版社,2003:1156-1158.
- [3]陈奇.中药药效研究思路与方法[M].北京:人民卫生出版社,2005:393-394.
- [4]施新猷.医用实验动物学[M].西安:陕西科学技术出版社,1989:418-421.
- [5]凌江红.健胃愈疡颗粒抗消化性溃疡复发的作用及其抗炎机制的研究[D].长沙:中南大学,2006.
- [6]李仪奎.中药药理实验方法学[M].上海:上海科学技术出版社,1991:451-452.
- [7]刘巨源,刘春霞,刘晓丽,等.溃疡散对实验性大鼠溃疡黏膜 PGE₂ 含量及血流量的影响[J].中国中医药科技,

2001,8(5):290-291.

- [8]毛晓健,陈凌云,耿润贤.红袍胃安胶囊对胃液分泌及胃黏膜血流量影响的实验观察[J].中华中医药学刊,2009,27(5):991-993.
- [9]李季芳,林青,代蓉,等.云木香丙酮提取物对大鼠实验性胃溃疡模型的影响[J].云南中医中药杂志,2007,28(6):34-36.
- [10]吴灵飞,冯家琳,苏剑东,等.胃舒散对大鼠慢性胃炎的治疗作用[J].中国中西医结合消化杂志,2007,15(2):86-88.
- [11]马璟,张春芬,凌秀珍,等.超氧化物歧化酶对急性胃黏膜损伤的保护作用[J].中国药理学通报,1996,12(6):545-547.
- [12]谢继青,李玉华,杨春梅,等.超氧化物歧化酶的药理作用[J].中国生化药物杂志,2009,30(1):72-74.
- [13]McCord JM. Radical explanations for old observations [J]. Gastroenterology, 1997,92(6):2026-2028.
- [14]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):20-23.
- [15]苏宇,陈照彦,崔凤,等.肾移植急排期间红细胞免疫功能与 SOD、MDA 关系的探讨[J].中国现代医学杂志,2004,14(13):37-40.

(收稿日期:2012-07-12;修回日期:2012-07-24)

[编辑:崔京艳]

浓缩包装 1+1 膏剂生产全自动

—真空浓缩收膏机 开启膏方制作自动化新革命

东华原医疗历经数年精心研制而成的全新产品。采用真空浓缩、低温提取技术,科技含量更高、功能更强大;产品兼具压力和无压力双重煎煮功能,每小时可实现3000—4000毫升收膏量,远超传统膏方制作工艺;根据需求,全自动化包装机可进行10—50毫升不同容量产品的包装,更实用更便捷!

东华原医疗
DONGHUAYUAN MEDICAL



多功能真空浓缩收膏机 膏体包装机