得必泰与雷贝拉唑联用对实验性大鼠胃溃疡愈合质量的影响

刘宇旻[1] 严展鹏[2] 武冬玲[1] 王 辉[1] 徐婷婷[2] 朱方石[1,2]
（1.南京中医药大学第三临床医学院，江苏南京 210028；2.江苏省中医药研究院，江苏南京 210028）

摘 要 目的：探讨中西医结合复方制剂得必泰与雷贝拉唑联用对实验性大鼠胃溃疡愈合质量的影响。方法：SD大鼠采用乙酸贴敷法制备胃溃疡（GU）模型，将造模成功的大鼠随机分为模型组、雷贝拉唑组、得必泰与雷贝拉唑联合治疗组（简称联合治疗组），每组5只，另取5只健康大鼠作为正常对照组。各组每日分别给予生理盐水或相应药物灌胃，14d后观察大鼠胃黏膜大体和病理形态，计算溃疡指数和溃疡抑制率，检测血清前列腺素E_2（PGE_2）、降钙素基因相关钛（CGRP）、胃泌素（GAS）、表皮生长因子（EGF）含量。结果：雷贝拉唑组和联合治疗组大鼠溃疡指数均明显低于模型组（$P<0.01$），其中联合治疗组溃疡指数更低（$P<0.01$）；联合治疗组溃疡抑制率明显高于雷贝拉唑组（$P<0.01$）；光镜下显示联合治疗组大鼠胃黏膜上皮修复，炎症细胞浸润少；雷贝拉唑组、联合治疗组大鼠血清PGE_2、CGRP、GAS、EGF水平均较模型组有所改善，但仅有联合治疗组血清GAS含量较模型组明显降低（$P<0.05$），其余指标组间差异无统计学意义。结论：得必泰与雷贝拉唑联合应用可提高GU模型大鼠胃溃疡的愈合质量。

关键词 得必泰 胃溃疡 溃疡愈合质量 雷贝拉唑 病理学 血清指标 SD大鼠 实验研究
中图分类号 R573.105 文献标志码 A 文章编号 1672-397X(2016)12-0078-04

自20世纪80年代质子泵抑制剂（proton pump inhibitors，PPIs）问世以来，胃溃疡（gastric ulcer，GU）的治疗取得了突破性进展，但其复发率高仍是当今临床上面临的难题。不少研究表明GU复发率的高低与治疗时溃疡愈合质量（quality of ulcer healing，QOUH）相关[1]。中西药联合治疗能提高溃疡愈合质量，降低胃溃疡的复发率，得到广泛认可[2]。得必泰是一种中西医结合复方制剂，临床用于GU、十二指肠球部溃疡、胃炎、十二指肠球炎等消化系统疾病的治疗。为进一步明确得必泰在溃疡愈合中的客观作用，本实验复制乙酸性GU大鼠模型，观察得必泰与雷贝拉唑联用对大鼠胃溃疡愈合质量的影响，并与单用雷贝拉唑对照，现将结果报道如下。

1 实验材料

1.1 实验动物 清洁级SD大鼠，雄性，体重（200±20）g，由南通大学动物中心提供，实验动物生产许可证号：scxk（苏）2014-0001，饲养于江苏省中医药研究院SPF级动物实验中心。

1.2 实验药品 雷贝拉唑肠溶胶囊，规格20mg/粒，江苏济川制药有限公司，批号H20040916；得必泰（复方铝酸铋颗粒），规格1.3g/袋，辽宁奥达制药有限公司，批号H10950319。

1.3 主要试剂与仪器 大鼠胃泌素（GAS）Elisa试剂盒、大鼠前列腺素E_2（PGE_2）Elisa试剂盒、大鼠降钙素基因相关钛（CGRP）试剂盒、大鼠表皮生长因子（EGF）Elisa试剂盒，南京建成生物科技有限公司；水合氯醛，上海沪化学试剂有限公司；1%甲醛溶液，南京化学有限公司；冰乙酸，江苏强盛功能化学有限公司；注射用青霉素钠，规格160万单位×30支，华北制药有限公司，批号H13020429。石蜡切片机，德国LEICA公司；酶标仪，美国Thermo公司；生物显微镜，日本Olympus公司；离心机，湖南湘仪集团；促凝管，美国BD公司；-86℃超低温冰箱，美国Thermo Scientific公司。

2 实验方法

2.1 造模方法 SD大鼠适应饲养1周，禁食1d后用乙酸贴敷法造模[3]：10%水合氯醛0.3mL/100g麻醉后，暴露胃部，在窦体交界前壁浆膜面上，剑突下0.5cm纵向切开腹壁约2cm，自肝后找出胃，轻轻移出腹腔，贴敷边长5mm的乙酸滤纸30s，取下后间隔15s，再重复操作1次，将胃送回腹腔，分层缝合

基金项目：江苏省科技创新与成果转化专项（BM2009903）；中国中医科学院江苏分院横向课题（H1401）

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

腹壁肌层及皮肤，将动物放回笼内。

2.2 分组与给药 将造模成功的大鼠随机分为模型组、雷贝拉唑组、得必泰与雷贝拉唑联合治疗组（简称联合治疗组）每组5只，另取5只SD健康大鼠为正常对照组。给药剂量根据人与动物间按体表面积折算的等效剂量换算法换算。正常对照组：正常饲养，自由饮食；模型组：每日予生理盐水2mL灌胃；雷贝拉唑组：每日予1.8mg/kg雷贝拉唑混悬液2mL灌胃；联合治疗组：每日予1.8mg/kg雷贝拉唑+0.23g/kg得必泰混悬液共2mL灌胃。各组均连续灌胃14d。

2.3 标本采集 经14d药物干预后，各组大鼠禁食不禁水24h，10%水合氯醛腹腔麻醉，开腹，腹主动脉采血，分离出胃组织。

2.4 观察指标及检测方法

2.4.1 胃标本大体观察 将胃组织用生理盐水冲洗干净后滤纸擦干，观察胃大体形态，包括胃黏膜的色泽、皱襞形态、溃疡形成等。

2.4.2 溃疡指数及溃疡抑制率 用游标卡尺（精确到0.01mm）测量溃疡大小。参照文献[4]的方法计算溃疡指数（ulcer index，UI），UI=溃疡最大长径×最大宽径；按公式[（1-实验各组溃疡指数均值/模型组溃疡指数均值）×100%]，计算溃疡抑制率。

2.4.3 病理学观察 取部分溃疡及溃边标本，10%甲醛浸泡24h，切取体积2mm×5mm×5mm的组织，放入包埋盒，酒精脱水，二甲苯透明，浸蜡包埋，修块，切片（厚度为5μm），展片，烤片，脱蜡，洗蜡，漂洗，HE染色，脱水，二甲苯透明，中性树胶封片。用倒置显微镜，400倍镜头观察胃黏膜组织学病理变化。

2.4.4 血清指标检测 大鼠腹主动脉采血3~5mL，放置真空管中，离心机以3000r/min离心10min，取上清，置-20℃冰箱存储。采用酶联免疫法（ELISA法），按试剂盒说明，检测血清PGE_2、CGRP、GAS、EGF水平。

2.5 统计学方法 使用统计软件SPSS 17.0进行分析。数据用（$\bar{x}\pm s$）表示，组间差异性用两样本均数比较的t检验，$P<0.05$表示差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 各组大鼠胃黏膜大体形态观察 正常对照组大鼠胃黏膜色泽红润，皱襞规整、光滑，未见溃疡及肿物；模型组大鼠胃部可见一深凹溃疡灶，覆黄苔，溃边黏膜充血、水肿、糜烂；雷贝拉唑组大鼠胃部可见一浅溃疡灶，覆薄白苔，溃边充血、水肿减轻；联合治疗组大鼠胃部可见一浅表小溃疡灶，白苔消失，溃边黏膜稍充血、水肿，黏膜皱襞轻度集中。见图1。

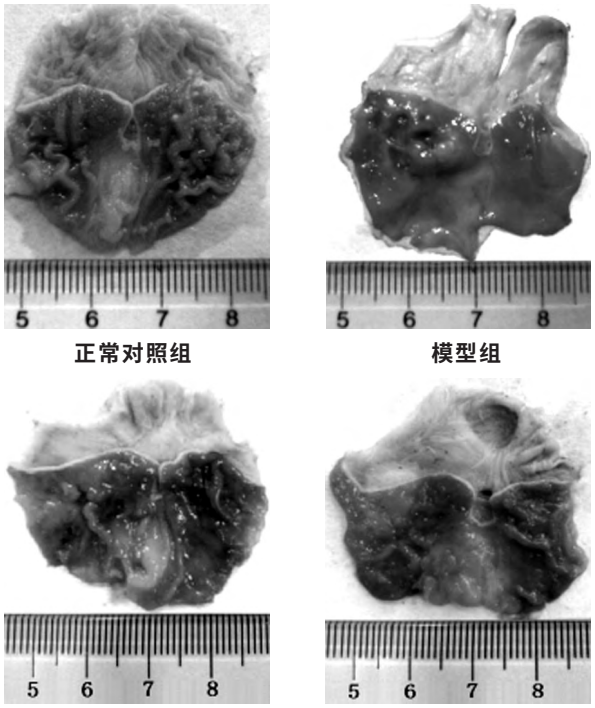


图1 各组大鼠胃黏膜大体形态

3.2 各组大鼠胃黏膜病理学形态观察 正常对照组大鼠胃黏膜层次清楚，上皮组织结构尚完整，腺体排列基本整齐；模型组大鼠胃黏膜上皮组织缺损明显，黏膜下层可见大量炎性细胞浸润及肉芽组织增生，囊状扩张的腺体较多；雷贝拉唑组大鼠胃黏膜上皮未完整修复，黏膜肌层缺损，炎症细胞浸润明显，可见少量囊状扩张的腺体；联合治疗组大鼠胃黏膜上皮修复相对完全，黏膜肌层缺损少，炎症细胞浸润少，再生黏膜厚度有所增加，囊状扩张的腺体的数目较少。见图2。

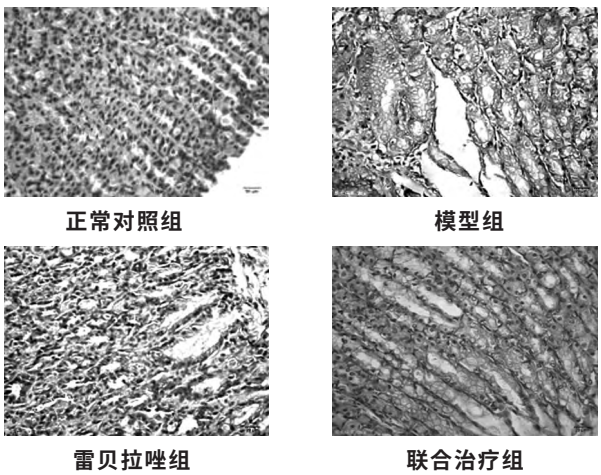


图2 各组大鼠胃黏膜病理（400×）

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3.3 各组大鼠溃疡指数和溃疡抑制率比较 见表1。

表1 各组大鼠溃疡指数及溃疡抑制率比较

组别	动物数(只)	溃疡指数(s)	溃疡抑制率(%)
正常对照组	5		
模型组	5	32.04±2.64	
雷贝拉唑组	5	23.75±2.57##	25.88
联合治疗组	5	15.88±2.71##**	50.42**

注:与模型组比较,##P<0.01;与雷贝拉唑组比较,**P<0.01。

3.4 各组大鼠血清 PGE_2、CGRP、GAS 和 EGF 含量比较 见表2。

表2 各组大鼠血清 PGE_2、CGRP、GAS 和 EGF 含量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数(只)	PGE_2(ng/L)	CGRP(pg/mL)	GAS(ng/L)	EGF(ng/L)
正常对照组	5	1126.3±72.40	225.13±6.06	740.50±95.36	859.57±68.22
模型组	5	839.64±310.51	203.07±3.33	871.54±48.69	700.29±42.76△
雷钡拉唑组	5	1003.49±102.28	203.24±14.01	748.06±55.16	768.71±37.59
联合治疗组	5	1107.63±53.16	223.61±9.42	741.16±62.52#	741.98±27.95

注:与正常对照组比较,△P<0.01;与模型组比较,*P<0.05。

4 讨论

消化性溃疡(peptic ulcer,PU)的愈合是一个黏膜上皮细胞及结缔组织移行、增殖、修复坏死黏膜的过程,需要多种组织及细胞系统的共同参与[5]。溃疡愈合质量(QOUH)的概念是指溃疡愈合不仅需要黏膜上层组织的修复,还需要黏膜下组织的重建。一般认为,QOUH 是从内镜下再生黏膜成熟度、组织学再生黏膜成熟度、再生黏膜功能成熟度等角度进行评价的[6]。本研究结果表明,单用雷贝拉唑,黏膜上皮未完整修复,黏膜肌层缺损,炎症细胞浸润明显,仍可见少量囊状扩张的腺体,但联合运用得必泰后,胃黏膜上皮修复相对完全,黏膜肌层缺损少,炎症细胞浸润少,再生黏膜厚度有所增加,显示出联合应用得必泰后促进了胃黏膜的再生和成熟。此外,雷贝拉唑组和联合治疗组大鼠溃疡指数明显低于模型组,联合治疗组溃疡指数明显低于雷贝拉唑组,溃疡抑制率明显高于雷贝拉唑组,可见联合得必泰后,QOUH 有所提高。

众多研究表明,调节血清中 PGE_2、CGRP、GAS、EGF 含量与改善再生黏膜功能成熟度相关,并影响着 QOUH 的高低。PGE_2 是公认的胃黏膜保护因子,具有抑制胃酸、胃蛋白酶原分泌,刺激黏液和碳酸氢盐分泌的作用[7],亦能增加局部胃组织黏膜循环血流量,刺激基底细胞向表面移行,促进黏膜上皮细胞修复,增强黏膜防御功能[8]。CGRP 是一个具有多种生理作用的神经肽,能够舒张血管,增加胃黏膜层的血流,减少胃酸分泌,并能够抑制组胺及 GAS 的分泌,促进胃黏膜修复[9]。GAS 是由胃窦部 G 细胞分泌的多肽类激素,能够刺激胃酸和胃蛋白分泌,参与介导壁细胞分泌盐酸[10],与溃疡形成有关。EGF 是一种生长因子,能够与细胞膜上的 EGF 受体结合促进 DNA、RNA 和蛋白质的合成,促使上皮细胞有丝分裂和增殖,且能增加胃黏膜局部血循环,抑制胃酸分泌,促进胃黏膜的修复和溃疡愈合[11-12]。本研究结果显示,雷贝拉唑调节模型大鼠血清中 PGE_2、GAS、EGF、CGRP 含量的效果不明显,但联合应用得必泰后呈现出优势倾向,以降低 GAS 更为明显。似乎说明,雷贝拉唑联合得必泰后,一定程度上能加强雷贝拉唑调节相关胃黏膜保护因子的作用,从而改善胃黏膜再生黏膜功能成熟度,有助于提高溃疡愈合质量。

得必泰为中西药复方制剂,由铝酸铋、重质碳酸镁、碳酸氢钠、甘草浸膏粉、弗朗鼠李皮、茴香粉组成。铝酸铋可在胃及十二指肠黏膜上形成一道保护膜;重质碳酸镁和碳酸氢钠有中和胃酸的作用;甘草浸膏能促进胃溃疡表面黏膜愈合;小茴香能抗炎镇痛,促进胃肠蠕动[13];弗朗鼠李皮可促进胃肠的蠕动,缓解胃痛[14]。已有临床报道,PPI 配合使用得必泰能够提高 GU 愈合质量和幽门螺旋杆菌(Hp)清除率[15-16],本研究进一步证实了 PPI 联合得必泰能协同提高实验性大鼠胃溃疡的愈合质量,为临床应用得必泰提供实验基础,其作用机制有待进一步研究。

参考文献

[1] ARAKAWA T.Quality of ulcer healing in gastrointestinal tract:Its pathophysiology and clinical relevance[J].World Journal of Gastroenterology,2012,18(35):4811.

[2] 郭金秀.中西医结合治疗消化性溃疡研究进展[J].中国中医急症,2010,19(3):495.

[3] 李仪奎.中药药理实验方法学[M].上海:上海科学技术出版社,2006:496.

[4] BERENGUER B,ALARCÓN DE LA LASTRA C,MORENO F J,et al.Chronic gastric ulcer healing in rats subjected to selective and non-selective cyclooxygenase-2 inhibitors[J].European Journal of Pharmacology,2002,442(1):125.

[5] SAKURAI T,KASHIDA H,HAGIWARA S,et al.Heat Shock Protein A4 Controls Cell Migration and Gastric Ulcer Healing[J]. Digestive Diseases and Sciences,2015,60(4):850.

[6] KANGWAN N,PARK J M,KIM E H,et al.Quality of healing of gastric ulcers:Natural products beyond acid suppression[J].World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology,2014,5(1):40.

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net