

论著·实验研究

中药(心身 1 号)对应激性溃疡模型大鼠保护机制的实验研究*

卢广翔,武成,李慧吉

摘要: [目的] 研究中药心身 1 号对应激性溃疡病证结合大鼠的干预效应并探讨其作用机制。[方法] 采用 Wistar 大鼠造模,分为模型组、对照组、中药组 3 组。测量造模前后胃液 pH 值、胃黏膜溃疡指数、脑肠肽 P 物质。[结果] pH 值测定模型组升高,中药组与模型组比较差别不显著,溃疡指数中药组较模型组明显为低;血浆、脑组织、胃组织中 P 物质含量中药组较模型组明显为低。[结论] 心身 1 号的作用机制可能与调节血浆、脑组织及胃黏膜中 P 物质的过度升高因素有关。

关键词: 心身 1 号;应激性溃疡;P 物质

中图分类号 R285.5 文献标识码 A 文章编号 1673-9043(2007)02-0065-03

Experimental study on the protective mechanism of traditional Chinese medicine (Xinshen Prescription) against stress ulceration in rats
LU Guang-xiang, WU Cheng, LI Hui-ji
(Tianjin Research Institute of TCM, Tianjin 300193, China)

Abstract: [Objective] To explore the protective mechanism of Xinshen (spirit and body) Prescription against stress ulceration in rats. [Methods] All the rats were randomly divided into three groups: model group, normal group, Xinshen I group. The rats of Xinshen I Prescription group were administered with Xinshen Prescription and that of model and normal group with normal saline. The general state, the gastric acid and mucosa change and substance P change of cerebral enteropeptide and curative effect of Xinshen Prescription were observed. [Results] The pH value of model group was obviously higher than that of normal group ($P < 0.05$) and the pH value of model group was not obviously different compared with that of Xinshen Prescription group ($P > 0.05$). So Xinshen Prescription didn't enhance the pH value of gastric juice. The mucosa ulcer index of model group was obviously higher than that of normal group ($P < 0.01$) and the mucosa ulcer index of Xinshen Prescription group was obviously lower than that of model group ($P < 0.05$). Xinshen Prescription might obviously decrease the content of substance P in plasma, brain tissue and stomach mucosa ($P < 0.01$). [Conclusion] Xinshen Prescription may obviously protect the stomach mucous membrane, the integrity of cellular construction, and prevent the formation of ulcer. Its mechanism may be related to the excessive high content of substance P in the blood plasma, brain tissue and stomach mucosa.

Key words: stress ulceration; Xinshen Prescription; experimental study

本研究用动物实验的方法,观察了应激对大鼠一般情况、胃酸及胃黏膜的改变,研究了应激性溃

疡模型大鼠脑肠肽 P 物质的变化、中药心身 1 号对其变化的影响,以探讨中药对应激性溃疡模型大鼠保护作用的机制,揭示应激反应的实质。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组 健康 Wistar 大鼠 36 只,雌雄各半,体质量 200~230 g,常规适应性喂养 1 周。7 d 后,实验动物随机分为 3 组,每组各 12 只,即造模

* 基金项目:天津市科委资助项目(津 20060233)。

作者单位:300120 天津中医药研究院(卢广翔,武成)
300193 天津中医药大学(李慧吉)

作者简介:卢广翔(1964-),男,副研究员,主要从事中医内科临床及实验研究工作。

组、空白组及中药组。

1.2 中药制备及给药方法 中药“心身 1 号片”主要由陈皮、代赭石、旋覆花、丹参、清半夏、赤芍等组成，每片含生药 0.4 g，研细，蒸馏水配置成混悬液(0.1 kg/L)，冷藏备用。

于造模前 7 d，中药组上午 8 点灌药 2 mL/d，空白组和造模组给予生理盐水 2 mL 灌服。

1.3 动物模型制作 造模前动物禁食 24 h，自由饮水。模型大鼠乙醚轻度麻醉后，捆绑四肢，固定在鼠板上，将其浸入(20±1) 水槽内，水面至剑突部位，持续浸泡 4 h 后，将大鼠取出，立即断头处死。

1.4 观测指标及方法

1.4.1 胃液 pH 值测定 取全胃，将贲门和幽门结扎，抽取胃液，采用 LIDA 仪器测量 pH 值。

1.4.2 胃黏膜溃疡指数测量 向胃内注入 10% 甲醛溶液固定 0.5 h，将全胃展开，固定在石蜡板上，10 倍放大镜下采用 Guth 法计数溃疡指数，斑点糜烂计 1 分，糜烂长度<1 mm 计 2 分，1-2 mm 计 3 分，2-3 mm 计 4 分，>4 mm 计 5 分，宽度>1 mm 时分值×2，相加记录总分代表溃疡指数。

1.4.3 胃黏膜光镜下观察 取损伤明显胃黏膜，0.5 cm×1.0 cm 大小，10% 甲醛溶液固定，常规石蜡包埋、切片，苏木精-伊红(HE)染色后光镜下观察组织病理学变化。

1.4.4 胃黏膜电镜下观察 取胃前后壁中央处黏膜各一块，切成 1 mm×1 mm×1 mm 大小。组织经 4% 多聚甲醛 4 固定 4 h，0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 7.30)充分漂洗，1% 四氧化锇(OsO₄)后固定 2 h，然后进行乙醇丙酮梯度脱水和 Epon-812 浸泡包埋、超薄切片后，醋酸铀和醋酸铅染色，在透射电镜下观察壁细胞超微结构。

1.5 模型大鼠脑肠肽 P 物质的检测

1.5.1 分别检测大鼠血清、脑组织及胃黏膜的 P 物质 提取大鼠血清：大鼠处死后即刻取血 6 mL，各 3 mL 分别装入有 0.5 mmol/L 乙二胺四乙酸-二钠(EDTA-2Na)30 μL，抑肽酶 1 500 kU 的试管中，按照试剂盒使用说明作血样处理和绘制标注曲线，计算血浆含量。

脑组织及胃黏膜的取材及染色 操作步骤严格按免疫组化法(10% 甲醛溶液/石蜡包埋切片)的要求进行。

1.5.2 试剂 P 物质放免试剂盒，由海军放免技术中心提供。

1.5.3 免疫组化分析方法 光镜下显示棕色颗粒

的细胞为表达阳性细胞。在 10×20 倍光镜下应用计算机图像分析系统随机取 3-5 个高倍视野计数阳性细胞数，再取平均值作为计数结果，计数相同面积内阳性细胞平均光密度(OD)。采用 Image-pro-plus The Proven Solution version 4.5.0.27 View finder 3.0 图像分析软件。

2 实验结果

2.1 造模大鼠一般情况 造模初期可见其挣扎、嘶叫、反抗、呼吸急促、心跳加快，实验中逐渐由兴奋进入抑制，呼吸相对平稳，可见造模动物四肢出现瘀血和缺血表现，不易唤醒，对外界刺激感觉降低。

2.2 各组大鼠胃液的 pH 值 见表 1。

表 1 各组大鼠胃液的 pH 值

组别	n	Min	Max	pH 值
造模组	12	2.30	2.80	2.575 0±0.165 8*
空白组	12	1.60	2.90	2.375 0±0.283 2
中药组	12	3.10	4.50	2.466 7±0.339 3

注：*为与空白组比较 P<0.05，与中药组比较 P>0.05。

结果表明：采用方差分析 F=41.67 P<0.05，组间差异有统计学意义。造模组与空白组比较胃液 pH 值升高(P<0.05)，中药组与造模组比较差别不显著，(P>0.05)，表明中药没有升高胃液 pH 值的作用。

2.3 各组大鼠胃黏膜的溃疡指数(UI) 见表 2。

表 2 各组大鼠胃黏膜的溃疡指数(UI) 分

组别	n	Min	Max	UI
造模组	12	25	59	40.000 ±1.932
空白组	12	0	0	0.000 ±0.000
中药组	12	8	43	26.667 ±9.903*

注：*为造模组比较 P<0.05。

结果表明：采用方差分析 F=3.384 P<0.05，组间差异有统计学意义。造模组与空白组比较溃疡指数明显增高(P<0.01)，中药组与造模组比较，明显降低溃疡指数(P<0.05)。

2.4 胃黏膜大体标本观察 空白组大鼠胃黏膜色泽红润，未见损伤性改变。应激组大鼠胃腔内见有大量积血，黏膜表面附有大量血痂，拭去血迹后见腺胃部弥漫性点线状出血、糜烂及溃疡形成。中药组大鼠的胃黏膜损伤程度明显减轻，胃腔内无积血，腺胃区黏膜仅见少许散在的出血和轻度糜烂。

2.5 胃黏膜组织学观察 空白组：细胞结构清楚，腺体排列整齐，未见溃疡及炎细胞浸润。造模组：黏膜均有明显水肿、坏死、部分脱落及溃疡形成，溃疡呈火山口状，可深达黏膜肌层。中药组：镜下可见黏

膜损伤局限,表浅,仅限于上1/3,大量分泌物,黏膜下层血管壁稍增厚。黏膜上皮轻度水肿,少量脱落,腺体排列整齐。

2.6 胃黏膜超微结构观察 空白组:胃腺体结构正常,主细胞丰富发达,胞体呈不规则或柱形,胞浆丰富,细胞核长形或圆形,核周有大量内质网和高度发达的高尔基体,细胞顶部及胞浆中充满酶原颗粒。壁细胞呈圆形,体积较大,细胞核圆,核周有大量线粒体,胞浆中散在内分泌小管,细胞表面有大量微绒毛,其他细胞器少见。模型组:主细胞数目减少,胞体不规则,细胞中出现轻度水肿,细胞核圆,部分可见双核,有凋亡现象,大部分细胞内质网扩张,部分细胞膜破裂,高尔基复合体数目减少,胞浆中酶原颗粒与正常组相比少,壁细胞数目无明显变化,胞浆微管泡系统发达,细胞核圆,核周有大量线粒体,胞浆中散在分布的内分泌小管,表面有大量微绒毛。中药组:胃腺体结构大致正常,主细胞丰富发达,胞体无明显破坏,胞浆丰富,细胞核损伤不明显,胞浆中有大量内质网和高尔基复合体,在细胞边缘及顶部充满酶原颗粒。壁细胞结构正常,细胞核未见凋亡现象,线粒体结构正常,胞浆内分泌小管和囊泡丰富,细胞表面有大量微绒毛。

2.7 各组大鼠血清P物质含量 见表3。

表3 各组大鼠血清P物质含量 ng/L

组别	n	Min	Max	血清P物质
造模组	12	10.25	30.71	25.168 2 ± 5.849 8*
空白组	12	11.64	18.30	14.284 6 ± 2.63 5
中药组	12	11.46	25.13	16.524 6 ± 3.684 1

注: *为与空白组比较 P<0.05; 与与模型组比较 P<0.01。下同。

结果表明:采用方差分析 F=8.050 P<0.05,组间差异有统计学意义。造模组血浆P物质与空白组比较含量明显升高(P<0.01);中药组与造模组比较有明显降低血浆P物质含量的作用(P<0.01)。

2.8 各组大鼠脑组织中P物质的含量 见表4。

表4 各组大鼠脑组织中P物质的含量 ng/L

组别	n	Min	Max	脑组织中P物质
造模组	12	1.245 7	1.744 9	1.51 ± 0.20*
空白组	12	0.703 8	1.026 8	0.88 ± 0.14
中药组	12	0.501 7	0.647 2	0.57 ± 0.06

结果表明:采用方差分析 F=52.81 P<0.01,故3组脑组织中P物质含量差异显著。即造模组大鼠脑组织中P物质含量显著高于空白组(P<0.01);中药组可明显降低造模大鼠脑组织中P物质的含量

(P<0.01)。

2.9 各组大鼠胃组织中P物质的含量 见表5。

表5 各组大鼠胃组织中P物质的含量 ng/L

组别	n	Min	Max	胃组织中P物质
造模组	12	0.71	1.04	0.90 ± 0.13*
空白组	12	0.25	0.73	0.42 ± 0.17
中药组	12	0.38	0.65	0.56 ± 0.10

结果表明:采用方差分析 F=20.32 P<0.01,故3组胃组织中P物质的含量差异有显著性。即造模组大鼠胃组织中P物质的含量显著高于空白组(P<0.01),而中药组与造模组比较,有显著降低P物质含量作用(P<0.01)。

3 讨论

水浸束缚的造模方法可以造成中医气机失调证和现代医学“应激性溃疡”病同时并存。大鼠的情绪和行为变化,以及胃黏膜肉眼、光镜和电镜观察及胃黏膜溃疡指数测量,均证实胃黏膜的急性浅表性损伤^[1-3]。

水浸束缚造成大鼠所愿不遂,行为异常,同时,以因定证和心身1号的治疗反证均表明模型大鼠具备气机失调的证候特征。因此由应激参与诱导的应激性溃疡的大鼠模型具备病证结合的特征。

本实验证明,在应激性溃疡发生中,脑肠肽P物质有明显变化,提示其作为中枢神经递质和胃肠道激素参与了应激反应过程。

中药心身1号是在旋覆代赭汤和二陈汤基础上加减而成,诸药合用,共奏理气健脾、活血化瘀、降逆止痛之功,切合情志致病的基本病机,体现心身疾病基本治疗原则,达到心身同治、形神并调的作用。

本实验结果也证实,心身1号在保护胃黏膜、干预溃疡的形成、特别是保护细胞结构完整性方面作用显著,其机制可能与调节血浆中、脑组织中及胃黏膜中P物质的过度增高等因素有关。

参考文献:

- [1] 李兆申. 应激性胃溃疡发生机制及预防对策研究现状[J]. 解放军杂志, 1999, 24(6): 391-393.
- [2] 张一楚. 应激性胃溃疡[J]. 上海医学杂志, 1999, 22(8): 454-456.
- [3] 牛廷献, 史智勇, 罗晓红. 大鼠应激性胃溃疡发生机制及防治的研究[J]. 中国兽医科技, 2003, 33(10): 35-37.

(收稿日期 2007-04-10)