

参考文献:

- [1] 乐长高, 林永成, 姜广策, 等. *Julella avicenniae* 两个代谢产物结构的测定 [J]. 华东地质学院学报, 1998, 21(12): 340-395.
- [2] Levy J V. *Method in Pharmacology* [M]. New York: Appleton-Century-Crofts Educational Division, 1971.
- [3] Shaffer J E. Inotropic and chronotropic activity of berberine on isolated guinea pig atria [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1985, 7: 307.
- [4] Katz A M. *Physiology of the Heart* [M]. New York: Raven Press, 1977.
- [5] Fleckenstein A. *Experimental Facts and Therapeutic Prospects* [M]. New York: Wiley-Interscience, 1983.
- [6] Pu H L, Wang Z L, Huang Q J, et al. Effects of biacetylolide on isolated guinea pig myocardium [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2000, 16(1): 60-63.

加味丹参饮对家兔应激性胃溃疡的影响

刘纳文, 李志军*

(天津市第一中心医院, 天津 300192)

摘要:目的 研究加味丹参饮对家兔应激性胃溃疡的影响并探讨其作用机制。方法 选用健康大耳白兔 24 只, 随机分为对照组、模型组及给药组, 每组 8 只。以浸水法复制家兔应激性胃溃疡动物模型, 分别于应激后 0、1、2、3 h 取血, 检测血浆中内皮素 (ET)、一氧化氮合酶 (NOS) 活性, 并对胃黏膜病变的情况进行观察。结果 浸水应激后家兔血浆 ET 及 NOS 活性均明显升高, 加味丹参饮可抑制应激导致的 ET 水平及 NOS 活性的升高, 并可抑制浸水应激家兔胃液的过量分泌而对胃液的 pH 值无显著影响; 加味丹参饮能抑制应激所致的胃溃疡的形成, 其溃疡抑制率达 49.94%。结论 加味丹参饮有抗家兔浸水应激性胃溃疡的作用, 其机制与抑制胃液的过量分泌及抑制 ET 及 NOS 的异常升高有关, 而对胃液的 pH 值无影响。

关键词:加味丹参饮; 应激; 胃溃疡; 内皮素; 一氧化氮合酶

中图分类号:R286.1 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2009)07-1112-04

随着社会的发展及各方面竞争压力的增加, 环境因素和心理因素作为两大常见应激因素对人体健康的影响越来越强烈。应激可以引起胃溃疡或出血性黏膜糜烂, 被称为应激性溃疡, 亦称“急性黏膜病变”, 是人和各种动物受创伤后所发生的最具特征的应激表现。应激性胃溃疡也是临床上的常见病症, 多伴见于严重烧伤、重度感染、缺氧、大手术等, 其临床表现为大便潜血阳性、甚者呕血、便血, 更为严重者可导致胃穿孔, 以致威胁患者生命, 死亡率很高。

丹参饮方出自《时方歌括》, 由丹参、檀香、砂仁 3 味药组成, 具有行气化瘀、止痛的功效, 在临床上被广泛用于心腹诸痛的治疗。应激性胃溃疡的中医病理机制为气血郁滞, 因此以丹参饮为基础, 加以具中和胃酸、保护溃疡面作用的乌贝散 (乌贼骨、浙贝母) 及具活血定痛作用的三七粉, 而合为加味丹参饮, 观察其对家兔应激性胃溃疡的影响并探讨其作用机制, 以期为寻找临床治疗应激性胃溃疡的有效方药提供参考。

1 材料

1.1 实验动物: 健康大耳白兔 24 只, 均为雄性, 体重 2.1~2.5 g, 4~5 月龄, 单笼饲养, 由天津中医药大学动物室提供。

1.2 实验用药: 加味丹参饮由丹参 30 g、檀香 5 g、砂仁 5 g、乌贼骨 30 g、浙贝母 12 g、三七粉 3 g, 常规水煎后, 浓缩为 1.5 g/mL 的药液 (含生药量为 85.05 g/L), 以上所用生药由天津市第一中心医院中药房提供。

1.3 仪器与试剂: 高精度数字显示酸度计、721 分光光度计、计数仪、离心机。一氧化氮合酶 (NOS) 试剂盒, 南京建成生物工程研究所产品; 内皮素 (ET) 放射免疫分析药盒, 北京北免东雅生物技术研究所产品, 以上药盒均购自天津市联星生物技术有限公司。

2 方法

2.1 动物分组及应激前处理: 将 24 只家兔随机分为 3 组, 即对照组、模型组及给药组, 每组各 8 只。给药组于每日 ig 给药 2 次, 每次 25 mL (根据丹参

* 收稿日期: 2008-12-03

作者简介: 刘纳文 (1970—), 天津市人, 副主任医师, 硕士, 博士在读。Tel: (020) 89938584 E-mail: nn1747@sina.com.cn

* 通讯作者 李志军 Tel: (022) 23626600

饮临床常用剂量换算所得),对照及模型组于相同时间 ig 相同剂量的生理盐水,连续 5 d,其间常规饲料喂养,自由饮水,活动不受限。

2.2 模型制备:造模前 1 d 开始禁食,不禁水。于末次给药后禁水,并于末次给药后 1 h 开始造模。用 3% 戊巴比妥钠 (30 mg/kg) 耳缘静脉 iv 麻醉,将家兔束缚于应激架上,取右侧颈外静脉行静脉插管,插管成功后以 0.1% 肝素钠 1 mL 封管,以备采血。待家兔清醒后,将其置于应激池内(水温 20~25),水面与剑突平齐(对照组同样束缚、插管,但不浸水应激)。

2.3 指标检测

2.3.1 血浆中 ET 水平测定:分别于应激后 0、1、2、3 h 各取血 4 mL,且每次取血后立即静脉推注等量的生理盐水,然后肝素钠封管。将血标本 2 mL 置于预冷的含 7.5% EDTA 二钠 30 μL 和抑肽酶 20 μL 的试管中,混均,4℃,3 000 r/min 离心 10 min,吸取上清液移入另一试管中,置 -20℃ 冰箱中冻存待测。按 ET 放免试剂盒说明书操作,用计数仪测定沉淀中 ¹²⁵I 的放射性活度,再根据标准曲线测出样品中 ET 水平。

2.3.2 血浆中 NOS 活性检测:采血方法同上。血标本 2 mL 置于普通试管中,4℃,3 000 r/min 离心 10 min,吸取上清液移入另一试管中,置 -20℃ 冰箱中冻存待测。分光光度法测定血浆 NOS 活性,按 NOS 试剂盒说明书操作,721 分光光度计在 530 nm 波长处,蒸馏水调零后,测各管的吸光度值,然后按公式计算出各管的 NOS 活性。

2.3.3 胃黏膜病变的观察指标:应激 3 h 后将家兔从应激池中取出,3% 戊巴比妥钠 (30 mg/kg) 耳缘静脉 iv 麻醉后,沿腹白线切开腹壁,游离胃体,结扎

幽门口,以止血钳扎住贲门口,然后将整个胃取下,在蒸馏水中漂洗干净后用定性滤纸吸干,沿胃大弯切开引出胃液,用定性滤纸滤过后收集入试管中,测定胃液的量,然后离心 10 min (3 000 r/min),取上清液 5 mL,用高精度数字显示酸度计检测胃液标本的 pH 值。

用生理盐水将胃内容物冲洗干净,将胃置于 10% 甲醛液中固定 10 min,取出,用棉签拭去胃壁血丝,然后将整个胃展开,平铺于玻璃片上,直视下观察胃黏膜皱襞的改变、胃壁的厚薄、胃黏膜表面的溃疡、糜烂、出血点等,并注意其发生的部位、大小及形状。胃黏膜损伤程度采用溃疡指数(损伤分数)表示,判定参考 Guth 的方法^[1],即以黏膜损伤长度(mm)计算:<1 mm 为 1 分; 1 mm 且 <2 mm 为 2 分; 2 mm 且 <3 mm 为 3 分,以此类推;损伤宽度超过 2 mm,分数加倍。

在胃黏膜损伤明显处切取 0.5 cm × 1.0 cm 组织块,置于 10% 甲醛液中固定 24 h,石蜡包埋,行 4 μm 切片,苏木精-伊红(HE)染色,观察黏膜组织学改变。

2.4 统计学方法:应用 SPSS 10.0 统计软件分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间显著性检验采用 *t* 检验。

3 结果

3.1 加味丹参饮对应激家兔血浆 ET 水平和 NOS 活性的影响:应激 1 h 后给药组及模型组的家兔血浆 ET 的量即明显升高,与对照组比较均有显著性差异,而给药组的 ET 水平明显低于模型组,差异显著,结果见表 1。应激处理后家兔血浆 NOS 活性显著升高,而给药组的 NOS 活性升高幅度明显低于模型组,组间比较差异有显著性。

表 1 加味丹参饮对应激家兔血浆 ET 水平和 NOS 活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=8)

Table 1 Effect of Jiawei Danshen Yin on ET level and NOS activity in plasma of stress rabbits ($\bar{x} \pm s$, n=8)

组别	ET/(pg · mL ⁻¹)				NOS/(U · mL ⁻¹)			
	0 h	1 h	2 h	3 h	0 h	1 h	2 h	3 h
对照	43.8 ± 3.7	42.9 ± 3.8	43.4 ± 3.5	45.1 ± 2.9	13.38 ± 5.37	12.69 ± 6.68	12.44 ± 7.56	14.01 ± 5.19
模型	43.6 ± 3.4	137.8 ± 8.5*	107.0 ± 9.2*	123.4 ± 7.6*	12.61 ± 3.94	39.08 ± 7.45*	57.04 ± 6.92*	83.24 ± 7.64*
给药	43.7 ± 3.2	77.3 ± 5.5*	78.6 ± 6.0*	91.9 ± 5.3*	13.67 ± 5.12	28.93 ± 4.59*	46.35 ± 5.81*	60.07 ± 4.47*

与对照组比较: *P<0.05; 与模型组比较: P<0.05

* P<0.05 vs control group; P<0.05 vs model group

3.2 加味丹参饮对应激家兔胃液分泌和胃液 pH 值的影响:与对照组相比,应激后模型组的胃液分泌量显著增高,给药组的胃液分泌量增加不明显。模型组及给药组胃液 pH 值无显著变化。结果见表 2。

3.3 加味丹参饮对应激家兔胃溃疡的影响:家兔浸

水应激 3 h 后均有溃疡形成,模型组溃疡指数为 (40.65 ± 3.62) 分,而加味丹参饮能明显抑制家兔应激性胃溃疡的形成,其溃疡指数为 (20.39 ± 2.63) 分,溃疡抑制率高达 49.94% (P<0.05)。

3.4 胃黏膜病理形态学观察

3. 4. 1 大体标本观察:模型组中 5 例可见胃黏膜表面有散在的出血点,部分呈暗红色、瘀血状;3 例可见整个胃黏膜颜色较苍白,黏膜表面呈弥漫性水肿,表 2 加味丹参饮对应激家兔胃液分泌量和胃液 pH 值的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 Effect of Jia wei Danshen Yin on secretion and pH value of gastric juice of stress rabbits ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	胃液分泌量/ mL	pH 值
对照	12.5 ± 0.7	1.45 ± 0.13
模型	20.3 ± 0.4 *	1.37 ± 0.17
给药	15.4 ± 0.5	1.41 ± 0.18

与对照组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group

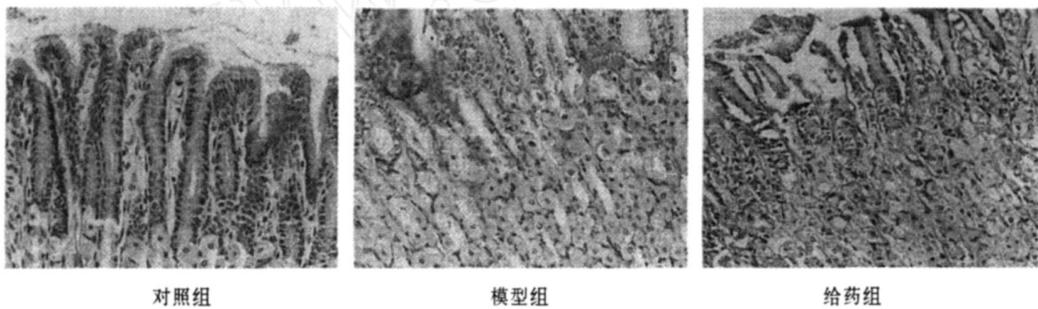


图 1 加味丹参饮对应激家兔胃黏膜病理形态的影响

Fig. 1 Effect of Jia wei Danshen Yin on pathological morphology of gastric mucosa of stress rabbits

4 讨论

应激是机体处于不利的内外环境下,为保持自身“稳态”而作出的一系列反应。由于在危急情况下,机体要保证脑、心、肾等重要脏器的供血,所以,胃肠道就成为应激状态下首先被累及的器官,因而,应激性胃溃疡则是各种危重疾病最常见的临床并发症之一。应激性胃溃疡的主要临床表现为胃脘疼痛、黑便,甚或呕血。应激性胃溃疡的产生是因为各种内外因素的强烈刺激,首先引起胃部气机的逆乱,进而影响血液的正常运行,最终导致络损血溢,离经之血留存体内,一方面导致气机的郁滞,另一方面则成为再次出血的原因所在,所以,气滞与血瘀并存是应激性胃溃疡的病机关键。以理气化瘀立法的中药复方对实验性胃溃疡大鼠具有明显保护作用^[2]。因此,本研究从行气活血、祛瘀止痛的角度出发,以化瘀行气的代表方剂丹参饮为主方,辅以三七粉及具有吸附胃蛋白酶、中和胃酸、保护溃疡面作用的乌贝散,组成加味丹参饮对应激性胃溃疡进行干预。方中丹参味苦性寒,直走血分,活血行瘀,通脉络而不伤血;檀香辛温,调气和胃通络;砂仁味辛性温,行气和胃畅中;三七粉素有“止血神药”之说,现代药理研究证明其具有促进凝血过程,缩短出凝血时间,抑制

胃窦部黏膜皱襞变浅、紊乱,可见到糜烂和点状溃疡形成,上述病变以胃体及幽门部分布最多。给药组 6 例胃黏膜表面皱襞完整、光滑,呈粉红色、有光泽,走向及排列规整,并有较多黏液覆盖,胃肌张力较强;2 例胃黏膜呈淡红色,黏膜皱襞较浅,可见少量点状出血点,胃窦部分呈暗红色。

3. 4. 2 光镜下观察:模型组标本部分可见胃黏膜表面上皮变性、坏死和剥脱,黏膜充血水肿,多数可见黏膜间灶性或点状出血(图 1);给药组标本见黏膜水肿充血,仅见极少部分上皮细胞剥脱,未见黏膜出血(图 1);对照组胃黏膜上皮细胞、腺体排列规整,大小形态一致,无病理变化(图 1)。

溃疡出血,促进溃疡愈合作用^[3]。可见,加味丹参饮是从改善气血运行以治本,抑酸止血以治标两个方面考虑来组方。

现代医学研究认为应激性胃溃疡形成的主要原因有胃酸分泌的增加和胃黏膜屏障的破坏^[4]。ET 和 NO 是近年发现的一对相互拮抗的血管活性物质,众多研究发现它们通过对胃黏膜微循环血流量(GMBF)的调节作用,在胃黏膜保护和损伤中起决定性作用^[5]。在生理情况下内皮细胞释放的 NO 可抵销 ET 的缩血管作用,ET 升高可使 NO 合成增多,后者增多又可抑制 ET 的合成,两者相互制约,维持着动态平衡,以保护包括胃肠道在内的各脏器功能的正常功能,而在应激状态下,这种制约关系被打破,两者的无节制增高,从而导致应激性胃溃疡的发生。因此,本研究选择胃液分泌、血浆 NOS 活性及 ET 水平变化与胃黏膜损伤指数、胃黏膜病理改变作为观察指标,探讨加味丹参饮对应激性胃溃疡的保护作用,从而为临床治疗应激性胃溃疡提供依据。本研究结果表明:在应激情况下,ET 持续增高,其增高的水平与胃黏膜损伤程度呈正相关,因此,推测 ET 的增高导致胃黏膜血流量急剧下降,血管及平滑肌收缩,诱发或加重了胃黏膜的损伤。由

于给药组的 ET 增高幅度明显低于模型组,其胃溃疡的发生率和严重程度也明显低于模型组,所以,推测加味丹参饮通过降低血浆 ET 水平,改善胃黏膜血流量,缓解平滑肌痉挛性收缩而起到保护胃黏膜的作用。通过检测血中 NOS 活性可以间接反应 NO 水平,本实验结果表明模型组 NOS 活性明显升高,且其升高水平亦与胃黏膜损伤程度呈正相关,而给药组 NOS 活性明显低于模型组。提示加味丹参饮通过降低血浆 ET 水平,进而降低了 iNOS 表达,而表现为总的 NOS 水平的下降。

胃酸是应激性胃溃疡形成中另一不容忽视的因素,胃酸即盐酸,它是局部最强的攻击因子,其强酸性对胃黏膜具有很强的腐蚀性^[6],本研究结果还显示应激对胃液 pH 值无影响,但可使胃液分泌量显著增加,服用加味丹参饮的家兔胃液 pH 值亦变化不大,而胃液分泌量显著增加,服用加味丹参饮的家

兔胃液 pH 值亦变化不大,而胃液分泌量则增加不明显,由此推测,抑制胃液的过量分泌也是加味丹参饮发挥抗应激性胃溃疡的机制之一。

总之,加味丹参饮通过减少胃液分泌,降低应激家兔血浆 ET 和 NOS 水平,从而改善胃黏膜血流量、保护胃黏膜,对应激性胃溃疡有显著的抑制作用。

参考文献:

- [1] Guth P H. Topical aspirin plus HCl gastric lesion in the rat cyto-protective effect of prostaglandin cimctidine and proban Thine [J]. *Gastroenterology*, 1987, 57(6): 85-87.
- [2] 陈虹,孙红,王维亚. 五磨饮子对大鼠胃溃疡的治疗作用 [J]. *中草药*, 2008, 39(3): 415-416.
- [3] 王本祥. 现代中药药理学 [M]. 天津:天津科学技术出版社, 1997.
- [4] 胡伏莲. 消化性溃疡发病机制的现代理念 [J]. *中华消化杂志*, 2005, 25(3): 189-190.
- [5] 张国锋,陈易人,张明焱,等. 一氧化氮、内皮素与胃粘膜损伤 [J]. *胃肠病学和肝病杂志*, 1999, 8(4): 293-296.
- [6] 曹霞,余良主,赵小玉. 复方丹参注射液对大鼠运动应激性溃疡的影响 [J]. *咸宁学院学报(医学版)*, 2003, 17(5): 318-321.

乌苏瑞宁对家兔血液流变学和血凝时间及小鼠出血和凝血时间的影响

邓伟峰^{1,2},赵伟杰³,吕莉²,王世盛³,潘平²,韩国柱^{2*}

(1. 怀化医学高等专科学校,湖南怀化 418000; 2. 大连医科大学临床药理教研室,辽宁大连 116044;

3. 大连理工大学,辽宁大连 116024)

摘要:目的 研究乌苏瑞宁(verussurinine, VSRN)对家兔血液流变学和血凝时间参数及小鼠出血、凝血时间的影响,以查明乌苏瑞宁是否为乌苏里藜芦总碱的抗栓活性成分。方法 应用血液流变仪测定低切和高切全血比黏度、血浆比黏度;应用血凝仪测定凝血酶时间(TT)和复钙时间(RT);应用鼠尾横切法和毛细玻璃管法分别测定出血、凝血时间。结果 家兔和小鼠iv4种不同剂量的乌苏瑞宁导致家兔全血比黏度及血浆比黏度呈剂量依赖性降低;TT和RT显著延长;小鼠出血、凝血时间明显延长。结论 乌苏瑞宁能够显著降低家兔血液黏度,延长家兔TT和RT以及小鼠出血、凝血时间。

关键词:乌苏瑞宁;血液流变学;血凝时间;出血时间;凝血时间

中图分类号:R286.1 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2009)07-1115-03

乌苏里藜芦 *Veratrum nigrum* L. var. *ussuriense* Nakai 系百合科藜芦属植物,为中药藜芦的一种,主要分布于我国东北地区。以往国内外对藜芦的研究均集中于其降压作用方面^[1,2]。本研究组近年发现乌苏里藜芦总生物碱(*Veratrum nigrum* L. var. *ussuriense* Nakai alkaloids, VnA)具有强大的抗血栓作用^[3],并应用生物效应法,研究了VnA在小鼠和大鼠体内的药动学特点,表明VnA毒效成

分在小鼠体内消除极快($t_{1/2ED}$ 为2.17 min),无明显蓄积毒性,其抗栓效应成分自大鼠体内消除颇快($t_{1/2ED}$ 为160 min),但较毒效半衰期长^[3,4]。为查明VnA的确切抗血栓活性成分,本研究组采用现代植化和分析技术,从VnA中分离出数种酯型异甾体类生物碱^[5,6],并对其抗栓药理活性及其机制分别进行研究。笔者曾对其中一种单体生物碱乌苏瑞宁(verussurinine, VSRN)的抗血栓作用、抗血小板

* 收稿日期:2008-12-02

基金项目:国家自然科学基金资助项目(NSFC20372014)

作者简介:邓伟峰(1962-),男,湖南省怀化市人,副教授,硕士,主要从事生药和民族药研究。

Tel: 13874439688 E-mail: shenyaojys@126.com

*通讯作者 韩国柱 Tel: (0411) 86110415 E-mail: hgzhx2236@sina.com.cn