

MYK对乙酸型胃溃疡大鼠胃组织GAS、SS和血清NO、NOS、EGF的影响

王清莲, 萨楚拉, 红 鹰, 青格乐, 吴七十三*

内蒙古民族大学蒙医药学院, 内蒙古 通辽

收稿日期: 2021年12月17日; 录用日期: 2022年1月6日; 发布日期: 2022年1月20日

摘 要

目的: 将探讨MYK (蒙药验方溃疡散)——治疗胃溃疡民间使用验方药对乙酸型胃溃疡大鼠胃组织GAS (胃泌素)、SS (生长抑素)和血清NO (粘膜保护因子——一氧化氮)、NOS (一氧化氮合酶)、EGF (表皮生长因子)的影响。方法: 采用乙酸灼烧法复制大鼠胃溃疡模型, 实验分为5组, 即模型组、阳性对照组、MYK高剂量给药组、MYK中剂量给药组、MYK低剂量给药组等5组, 每组12只连续给药14天后, 常规处死, 解剖剪取胃部溃疡组织, 用ImageJ图像分析法测定胃黏膜溃疡面积并计算胃溃疡抑制率, 检测大鼠血清NO、NOS、EGF指标和胃组织GAS和SS的指标以及观察各组间的病理组织特征。结果: MYK对大鼠慢性(乙酸型)胃溃疡具有明显的抑制作用($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), MYK各组大鼠血清NO、NOS、EGF含量增加, 与模型组比较均有明显差异($P < 0.05$)。MYK降低了大鼠胃组织中的GAS, 增高了SS。结论: MYK对乙酸型大鼠胃溃疡具有显著的抑制作用, 其作用机制可能与胃组织GAS、SS和血清NO、NOS、EGF有关。

关键词

蒙药验方溃疡散, 乙酸型胃溃疡, 胃泌素, 生长抑素, 粘膜保护因子——一氧化氮, 一氧化氮合酶, 表皮生长因子

Effect of MYK on Expressions of Gastric Tissue GAS, SS and Serum NO, NOS, EGF in Rat with Gastric Ulcer

Qinglian Wang, Chula Sa, Ying Hong, Gele Qing, Qishisan Wu*

College of Traditional Mongolian Medicine, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao Inner Mongolia

Received: Dec. 17th, 2021; accepted: Jan. 6th, 2022; published: Jan. 20th, 2022

*通讯作者。

文章引用: 王清莲, 萨楚拉, 红鹰, 青格乐, 吴七十三. MYK对乙酸型胃溃疡大鼠胃组织GAS、SS和血清NO、NOS、EGF的影响[J]. 临床医学进展, 2022, 12(1): 264-270. DOI: 10.12677/acm.2022.121040

Abstract

Objective: To investigate the effects of MYK on GAS, SS and serum NO, NOS, EGF in gastric tissue of rats with gastric ulcer. **Methods:** Rat models of ulcer were established by using Acetic Acid Type of Gastric Ulcer, and rats were randomly divided into 5 groups, named model group, positive control group, MYK high-dose group, MYK medium-dose group, and MYK low-dose group. There were twelve rats in each group which were killed conventionally after 14 days of continuous administration. The gastric ulcer tissue was dissected, and the gastric mucosa ulcer area was determined by ImageJ image analysis method and the gastric ulcer inhibition rate was calculated. Serum NO, NOS and EGF, GAS and SS in gastric tissues were detected, and pathological characteristics of each group were observed. **Results:** MYK significantly inhibited the acetic acid-type gastric ulcer in rats ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The serum NO, NOS, EGF levels in the MYK high, medium and low dose groups were significantly increased compared with the model group, and there were significant differences ($P < 0.05$). MYK decreased the GAS in the stomach tissue of rats, and increased SS. **Conclusion:** MYK can significantly inhibit gastric ulcer in acetic acid rats, and its mechanism may be related to gastric tissue GAS, SS and serum NO, NOS, EGF.

Keywords

MYK, Acetic Acid Type of Gastric Ulcer, Gastrin (GAS), Somatostatin (SS), Mucosal Protective Factor—NO, NOS, Epidermal Growth Factor (EGF)

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

胃溃疡是临床常见病[1],是指胃黏膜在某种情况下被胃酸/胃蛋白酶自身消化而造成的溃疡,其深度达到或超过了黏膜肌层[2]。其发生与胃黏膜受损和防御因素之间失衡有关[3]。胃溃疡病具有显著的季节性,12月份左右气温突变和寒冷天气,发病在1到3月,夏季气候温度不随机,发病率最低。胃溃疡多见于中老年,男女比例为3.6:1,复发率为60%~80%,大约10%的人在她们自己平生中某个期间或某个时刻都曾得了这种病。

消化性溃疡的病因和发病机制是多因素的,损伤与防御修复不足是发病机制的两方面[4]。其发病率在我国高达15%~30% [5]。大多数资料报道,胃溃疡容易发生癌变成为胃癌,癌变率约1%~3% [6]。目前胃溃疡的治疗主要使用合成药物消除Hp、抑制胃酸分泌率和保护胃黏膜[7]。

胃溃疡属蒙医“胃宝如”病的范畴,是由宝如热邪滞留于胃,蕴积不消而产生的一种胃腑聚合性慢性疾病[8]。蒙药验方溃疡散(MYK)是治疗胃溃疡民间使用验方药,MYK在治疗胃溃疡方面具有很好的疗效[9],其组方为寒水石、诃子、海螵蛸、五灵脂、木香、香菜子、黄连、贝母、当归等9种。我们研究组近期实验研究发现,该药对幽门结扎导致的[10]、应急性的[11]和乙醇导致的大鼠胃溃疡[11]均有显著的抑制作用。本实验通过建立乙酸导致(慢性)的慢性胃溃疡模型[12],初步研究MYK对胃组织GAS(胃泌素)、SS(生长抑素)和血清NO(粘膜保护因子——一氧化氮)、NOS(一氧化氮合酶)、EGF(表皮生长因子)的影响,探讨MYK抗胃溃疡可能机制,为MYK的进一步研究奠定基础。

2. 实验材料与方法

2.1. 实验材料

实验动物: 清洁级 Wistar 大鼠, 体重约 200 ± 20 g, 雌、雄各半, 共 60 只, 购于长春市亿斯实验动物技术有限责任公司, 动物许可证号 GB14922-2001。

实验仪器: 5 ml~10 ml 注射器, 手术小剪子, 手术刀, 灌胃器等。紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限公司, 型号为 T6 新世纪)。高速台式离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司)。恒温水箱(江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司)。

实验试剂: MYK (当归、诃子、黄连等)制成每 1 ml 药液中含 0.02 g 生药材的混悬液。水合氯醛, 天津东丽区新中村科技园区, 批号 20150330, 0.5% CMC-NA。雷尼替丁, 山西仟源制药有限责任公司, 批号 100329, 甲醛, 天津市天力化学试剂有限公司。乙酸, 天津市天力化学试剂有限公司。GAS, SS, NO, NOS, EGF 试剂盒均购买于南京建成生物工程研究院。

2.2. MYK 的制备

仔细筛选检查药物后进行清洗、粉碎、炮制, 初步加工处理当归、黄连、诃子、五灵脂、贝母、寒水石、海螵蛸、香菜籽、木香等蒙药原材料, 按不同种属动物和人给药计量换算法计算之后按百分比配 MYK 大剂量组($2.26 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、MYK 中剂量组($1.13 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、MYK 小剂量组($0.56 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)组药。

2.3. 实验方法

选择 Wistar 大鼠 60 只(雌、雄各半), 用乙酸灼烧法造模成功后, 分为模型对照组, 阳性对照组(雷尼替丁), MYK 高、中、低剂量给药组等 5 组, 之后灌胃给药连续 14 天后, 禁食不禁水 1 小时, 将大鼠麻醉, 剖腹, 从主动脉采血之后立即用线结扎幽门和贲门, 4% 甲醛溶液自幽门注入 10 ml。取出胃, 浸入甲醛溶液固定 15 min 后, 切开胃, 用棉签小心擦除胃内容物, 在固定光源和位置拍照成图像, 用图像分析软件计算胃溃疡面积[7]和溃疡指数(溃疡抑制率 = (模型组溃疡指数 - 给药组溃疡指数)/模型组溃疡指数 $\times 100\%$)。取大鼠胃组织, 备用于检测胃组织的 GAS 和 SS 指标。胃组织 GAS, SS 和血清 NO、NOS、EGF 含量测定严格按照试剂盒说明检测。取胃壁组织, 用甲醛固定, 石蜡包埋切片, 切片厚约 4~5 μm , HE 染色(10×10)。光镜下观察胃黏膜的组织学变化, 组织学观察指标: 大鼠胃壁结构是否清晰, 胃黏膜表面是否光滑, 上皮是否完整, 腺体排列是否整齐等。

2.4. 统计学处理

采用 SAS 6.12 软件, 数据以 $\bar{X} \pm S$ 表示, 以 *t* 检验进行组间比较, $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3. 实验结果与分析

3.1. MYK 对大鼠乙酸导致胃溃疡的作用

各给药组大鼠胃溃疡面积均明显减小, 与模型组比较有显著差异($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结果见表 1。

3.2. 大鼠胃组织指标的检测结果

各给药组的 GAS 均明显减少, 与模型组比较有明显差异($P < 0.05$)。且与低剂量组比较, 雷尼替丁组和高剂量组有明显差异($P < 0.05$)。雷尼替丁组和高、中剂量组胃组织 SS 明显增高, 与模型组比较, 有显著差异($P < 0.05$)。且与低剂量比较, 雷尼替丁组和高剂量给药组有显著差异($P < 0.05$)。结果见表 2。

3.3. 大鼠血清指标的检测结果

各给药组 NO、NOS、EGF 含量均明显增多,与模型组相比有明显差异($P < 0.05$)。且与低剂量比较,阳性对照组(雷尼替丁)和高剂量组有显著性差异($P < 0.01$)。结果见表 3。

Table 1. Effect of MYK in the rat model of gastric ulcer induced by acetic acid ($\bar{X} \pm S$)

表 1. MYK 对大鼠乙酸型胃溃疡的作用($\bar{X} \pm S$)

组别	胃溃疡面积(mm ²)	抑制率(%)	剂量(g/kg)
模型组	0.0551 ± 0.0130	—	—
雷尼替丁组	0.0434 ± 0.077*	21	0.15
高剂量给药组	0.0245 ± 0.0017 [#]	55	2.26
中剂量给药组	0.0357 ± 0.0034*	35	1.13
低剂量给药组	0.0507 ± 0.006*	8	0.56

注:与模型组相比[#] $P < 0.01$, * $P < 0.05$ 。

Table 2. Contents of GAS and SS in gastric tissue ($\bar{X} \pm S$)

表 2. 胃组织的 GAS 和 SS 的含量($\bar{X} \pm S$)

组别	GAS (ng/l)	SS (ng/l)
模型组	1180.228 ± 23.71	450.156 ± 42.21
雷尼替丁组	783.714 ± 31.97 ^{#*}	637.92 ± 67.26 ^{#*}
高剂量给药组	841.815 ± 29.28 ^{#*}	508.73 ± 69.20 ^{#*}
中剂量给药组	883.009 ± 18.58	575.83 ± 91.04 ^{#*}
低剂量给药组	1003.259 ± 42.63 [#]	403.85 ± 46.63

注:与模型组比较[#] $P < 0.05$,与低剂量相比* $P < 0.05$ 。

Table 3. Contents of NO, NOS and EGF in serum ($\bar{X} \pm S$)

表 3. 大鼠血清 NO、NOS、EGF 的含量($\bar{X} \pm S$)

组别	NO (μmol/l)	NOS (mol/l)	EGF (ng/l)	动物数量
模型组	15.91 ± 3.47 [#]	22.75 ± 6.02*	90.86 ± 30.67	11
雷尼替丁组	39.42 ± 8.03	42.43 ± 4.20	210.64 ± 28.20 ^{#*}	11
高剂量给药组	46.98 ± 5.64	50.31 ± 2.03	209.31 ± 38.04 ^{#*}	10
中剂量给药组	33.56 ± 4.01	47.59 ± 4.37	202.73 ± 43.71 [#]	12
低剂量给药组	30.05 ± 5.75	39.48 ± 3.64	190.14 ± 28.81 [#]	10

注:与模型组比较[#] $P < 0.05$,与低剂量相比* $P < 0.01$ 。

3.4. 大鼠胃组织病理切片观察

正常对照组胃黏膜上皮完整,腺体结构整齐均一,未见坏死脱落(图 1(a))。模型组胃黏膜局部上皮及腺体变性、坏死及脱落,形成较大的缺损,即溃疡形成,溃疡底深达黏膜层三分之二区域(图 1(b))。MYK 低剂量组与模型组比较,溃疡明显缩小、变浅,溃疡底达黏膜层的二分之一区域(图 1(c))。MYK 中剂量组胃黏膜仅见范围小的表浅缺失(图 1(d))。MYK 高剂量组胃黏膜上皮基本完整,腺体排列整齐(图 1(e))。雷尼替丁组胃黏膜上皮基本完整,局部轻度变性,腺体排列基本整齐,未见坏死脱落(图 1(f))。结果见图 1。

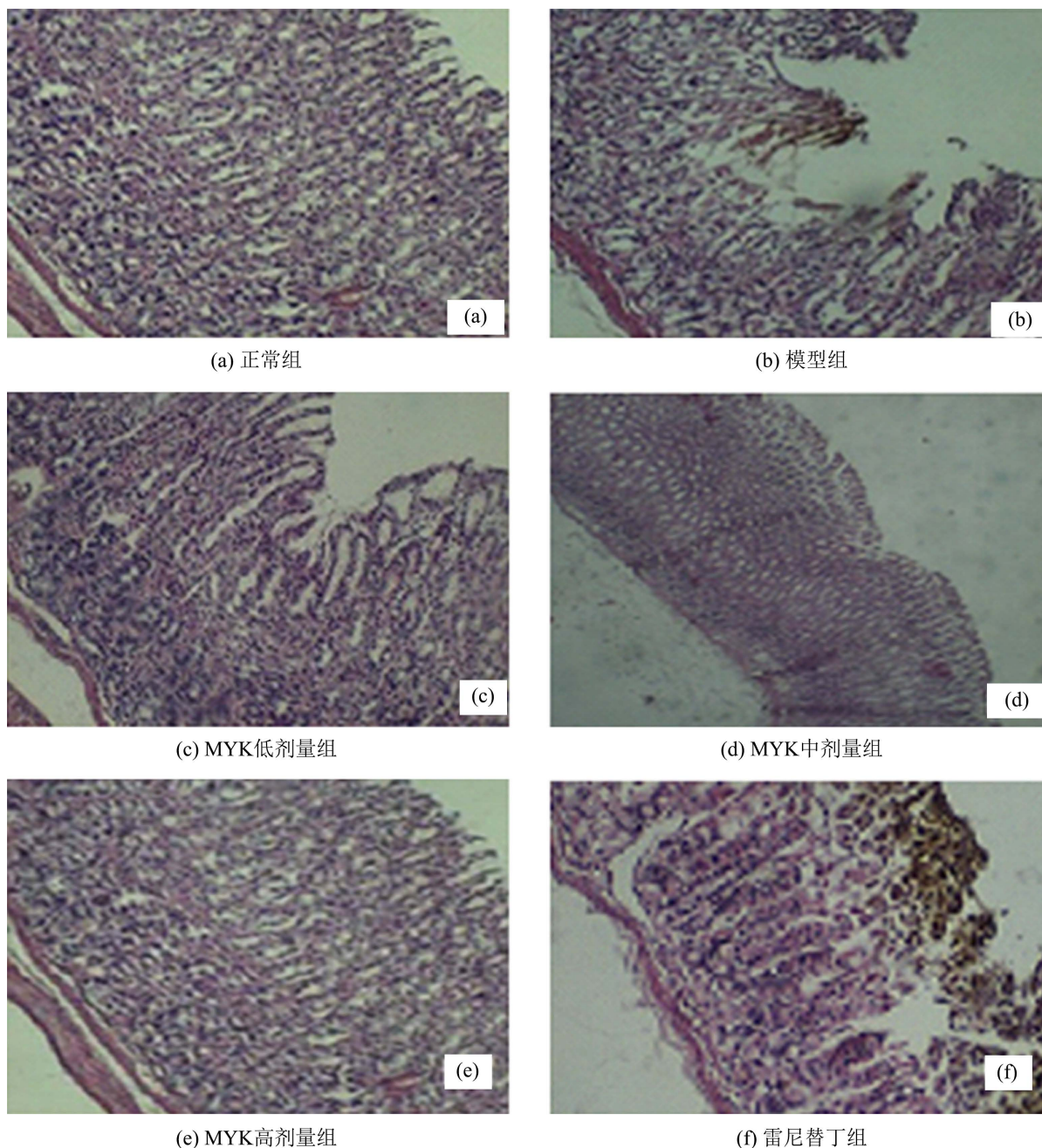


Figure 1. Effect of MYK on gastric mucosa of GU rats (HE, $\times 10$)

图 1. 蒙药验方溃疡散对 GU 大鼠胃黏膜组织的影响(HE, $\times 10$)

4. 讨论

胃溃疡(Gastric Ulcer, GU)是临床常见疾病之一, 临床表现多为持续性上腹部灼痛, 钝痛、胀痛、剧痛或饥饿不适感等, 常伴有腹胀、恶心、泛酸, 可出现黑便与呕血, 针对 GU 的治疗, 现代医学多以抑酸、抗菌和保护胃黏膜为主, 虽赢得必定疗效, 但停药后易复发, 且有必然的不良反应, 部分患者难以耐受。部分学者运用蒙中医药方法治疗 GU 取得较好疗效, 蒙医治疗该病重在辨证施治, 通过蒙药的多靶点、作用持久、温和等综合作用机制, 往往能够根除胃溃疡, 降低溃疡复发率。因此, 蒙中医药理论诊治 GU 的研究成为热点。

MYK 是民间使用的蒙药验方, 由蒙药材寒水石, 海螵蛸、五灵脂、香菜籽、黄连、诃子、木香、当归和贝母组成, 性凉, 味苦, 具有清热、解毒、助消化等功能, 其主要组分当归性温, 有清心热、活血、解毒、调经、止痛、平肝依之功效。黄连主治热病、疫热、排脓、愈创。五灵脂有清热、调节体素、止痛、利尿、化淤之功效。木香具有行气止痛、健脾消食功能。诃子有祛三邪引起的诸疾、调节即三根、解毒功效。海螵蛸具有敛疮、止血功效。寒水石有祛巴达干热、止痛、止泻、解毒、破痞、消肿、杀菌、消毒、收敛等功效。香菜籽有发汗透疹、消食下气功效。所以该方具备了清热解毒、收敛等保护胃黏膜的功效。

胃肠激素在消化系统由消化腺分泌, 对胃黏膜有保护作用或攻击影响, 探讨治疗胃溃疡药物机制的主要因素: EGF、SS、NO、NOS 对胃黏膜具有保护作用; GAS 对胃黏膜有攻击损伤影响。NO 是人体一种重要的生物介质, 由精氨酸经 NOS (一氧化氮合酶)合成, 在胃溃疡的愈合中发挥重要作用。低浓度的 NO 对胃溃疡有治疗作用, 其机制是通过扩张局部血管, 使胃溃疡处血流供应增加, 或作为一种信号分子, 诱导促进血管发生的细胞因子如血管内皮生长因子表达[13]。

实验结果显示, 与模型组比较, MYK 高、中、低组和雷尼替丁组的溃疡面积均有所减少, 并有显著性差异, 用 MYK 治疗后的大鼠血清 EGF 含量、胃组织的 GAS 和 SS 的含量都高于模型组。以上结果提示, MYK 对大鼠慢性(乙酸型)胃溃疡的作用机制是可能通过降低胃肠道攻击因子 GAS 的含量的同时增加防御因子 EGF 和 SS 的含量而完成。MYK 对乙酸型大鼠胃溃疡模型详细机制有待于进一步深入研究。

基金项目

内蒙古自然科学基金项目(编号: 2019MS08169), 蒙药标准化研究国际合作科技创新项目(编号: MDKBZH2018030)。

参考文献

- [1] 肖韦, 许昂, 季晖. 胃溃疡药理模型的研究进展[J]. 药学与临床研究, 2016, 24(2): 145-150.
- [2] 杨庆, 陈颖, 王娅杰, 等. 复方梭子蟹胶囊对大鼠胃溃疡模型的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(15): 160-165.
- [3] 孙玉鹤, 张春风, 等. 胃溃疡研究进展[J]. 亚太传统医药, 2014, 10(11): 46.
- [4] 葛均波, 徐永健, 王辰. 内科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 358.
- [5] 张旭. 雷贝拉唑治疗消化性溃疡的效果及对机体相关指标水平的影响[J]. 中国医药, 2019, 8(14): 1196-1199.
- [6] 霞晓燕. COX-2 在胃溃疡和胃癌的表达及与 HP 关系的研究[D]: [硕士学位论文]. 泸州: 泸州医学院, 2012.
- [7] 花梦, 董文秀, 孙丽, 等. 清热解毒消痛生肌方药抗胃溃疡机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(8): 210-214.
- [8] 水兰, 阿拉坦松布尔, 李曙光. 蒙西医结合治疗消化性溃疡的临床研究[J]. 中国民族医药杂志, 2020, 26(5): 18.
- [9] 吴七十三, 斯钦, 乌达. 蒙药验方溃疡散对实验性大鼠胃溃疡的作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(06): 257-259.

- [10] 吴七十三, 梅红, 通拉嘎, 其木格. 蒙药验方溃疡散对水浸应激所致大鼠胃溃疡的作用机制研究[J]. 中国蒙医药, 2017(2): 89-95.
- [11] 吴七十三, 梅红, 通拉嘎. 蒙药验方溃疡散对无水乙醇导致的大鼠胃溃疡作用研究[J]. 内蒙古民族大学学报: 蒙医药学版, 2017(1): 26-34.
- [12] 通拉嘎, 梅红, 其木格, 吴七十三. 大鼠乙酸型胃溃疡模型的建立与评价[J]. 中国民族民间医药, 2017, 26(11): 49-51+55.
- [13] 徐斐翔, 龚振宇, 薛明明. 半夏泻心汤对大鼠乙酸型胃溃疡的保护作用[J]. 中国临床医学, 2020, 27(6): 978-982.