

· 实验研究 ·

丹参对幼年大鼠应激性溃疡预防作用的实验研究

赵洁, 童笑梅

(北京大学第三医院儿科 北京 100083)

[摘要] 目的 应激性溃疡作为重症患儿病情加重或恶化的标志之一,应引起临床高度重视。儿科药物剂量因其特点与成人不尽相同,不宜直接套用成人防治应激性溃疡的方案,且有关用药的利弊、与医源性肺炎的关系及夜间酸突破现象的治疗等都存在很多分歧,有待于进一步探讨和研究。该试验旨在观察复方丹参对幼年大鼠应激性溃疡(SU)的黏膜损伤有无预防作用。方法 将30只幼年大鼠随机分成5组,即对照组、实验组,实验组据应激前腹腔注射用药分为以下4组:生理盐水2 mL(I组)、丹参2次组(II组)、丹参4次组(III组)、丹参6次组(IV组),采用束缚-水浸法制作应激性溃疡动物模型,对照组与实验各组应激时间均为3 h,观察各组病理形态学变化及检测各组胃黏膜溃疡指数(UI)。结果 对照组、I组胃黏膜溃疡指数分别为 57.75 ± 5.71 , 55.63 ± 7.52 ,两者之间差异无显著性。II, III, IV组胃黏膜溃疡指数逐渐降低,IV组最低,为 12.12 ± 3.62 ,其中III和IV组与对照组相比,差异有非常显著性($P < 0.01$)。丹参可明显减轻损伤模型中的UI。结论 丹参对应激性溃疡具有预防作用,其机制尚需继续探讨。 [中国当代儿科杂志, 2005, 7(6):523-525]

[关键词] 丹参;应激;胃黏膜;溃疡;大鼠

[中图分类号] R-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2005)06-0523-03

Prophylactic effect of radix salvia miltiorrhiza on gastric stress ulcer in young rats

Jie ZHAO, Xiao-Mei TONG. Department of Pediatrics, Third Hospital of Peking University, Beijing 100083, China (Email: zhaojie40@yahoo.com.cn)

Abstract: Objective Salviae miltiorrhizae (RSM), a Chinese medicine known as Dan-shen with the effect of promoting blood flow, has been used as a treatment for cardiovascular and cerebrovascular diseases. This study aimed to investigate the prophylactic effect of RSM on acute gastric mucosal injury in young rats. **Methods** Gastric stress ulcer were induced by water immersion restraint stress in 30 Sprague-Dawley young rats. The 30 rats were randomly assigned into Control and Experimental groups. The Experimental group was further subdivided into Normal saline and RSM groups according to the different medicines injected before stress. The rats of the RSM group were randomly administered 2 times, 4 times or 6 times by intraperitoneal injection of RSM, 2 mL each time 8 hourly. The Control group received no treatment. The histological changes of gastric mucosa and gastric mucosal ulcer index (UI) were observed. **Results** There was no difference in the UI between the Normal saline and Control groups. RSM pretreatment alleviated the gastric mucosal injuries. The rats that received 4 or 6 times RSM injection had significantly lower UI than the Control group. **Conclusion** RSM has protective effects against gastric stress ulcer in young rats. [Chin J Contemp Pediatr, 2005, 7(6):523-525]

Key words: Radix salvia miltiorrhiza; Stress; Gastric mucosa; Ulcer; Rats

应激性溃疡(SU)常见于危重症和有强烈情绪变化的病人,极易出现重症出血、穿孔,直接导致病死率的升高,目前在SU的预防上存在分歧,有部分学者认为与医源性肺炎(NP)密切相关的因素主要是机械通气与胃酸的碱化,细菌易在碱性环境定植,胃pH的升高可增加NP的危险,因此常规的抑酸治疗可导致NP发生率增高^[1]。Messori等^[2]对相关文献进行检索并分析2 760例SU预防患者,认为雷

尼替丁不仅不能预防危重患者的胃肠出血,还可能增加肺炎的发病率,而硫糖铝对胃肠出血的预防效果及对NP的影响都得出明确结果。Yildizdas等^[3]对PICU接受硫糖铝、雷尼替丁、奥美拉唑和安慰剂预防SU的研究表明,在儿科群体肺炎的发生率无差异。虽然多数资料显示SU的预防治疗与NP的发生率无明显相关,但肺炎是重症患者最重要的并发症,与病死率的增加密切相关,故目前临床研

[收稿日期] 2005-07-11; [修回日期] 2005-09-03

[作者简介] 赵洁(1970-),女,在职研究生,主治医师。主攻方向:小儿消化系统疾病。

[通讯作者] 童笑梅,北京大学第三医院儿科,邮编:100083。

究结果不支持在重症和严重创伤患者中常规抑酸预防SU。而且儿科药物剂量因其特有的生理特点与成人不尽相同,不宜直接套用成人防治方案。

鉴于此种情况,应立足儿童的生理特点,积极开发适合的药物,提高SU的救治率。丹参是常用的活血化瘀中药,具有预防、治疗多种疾病的作用,如冠心病、脑血栓、肝炎、肝硬化等,已在儿科许多疾病中使用^[4~6]。临床证实无不良反应,且药源广、价格低,疗效确定。文献报道^[7],丹参对实验性胃黏膜损伤具有保护作用,对急、慢性溃疡均有一定治疗并防止复发的作用。杨卫文等^[8]将其用于治疗消化性溃疡(PU),治愈率为69.4%,合用H₂受体拮抗剂时疗效更为显著。

在本研究中,建立幼年大鼠束缚-水浸应激性溃疡模型,通过观察各组病理形态学变化及测定胃黏膜溃疡指数,以探讨应用丹参对SU有无预防或减轻发病程度的作用,为预防应激性胃黏膜损伤提供新的方法。

1 材料与方法

1.1 实验动物与材料

健康纯种雄性幼年SD大鼠30只,年龄2~4周,体重80~100g,由北京大学医学部动物部提供。

丹参注射液由北京双鹤药业提供;其他试剂均为分析纯。

1.2 动物分组及建立模型

30只健康幼鼠随机分成5组,即对照组、实验组,实验组据应激前腹腔注射用药分为以下4组:生理盐水2mL(I组)、丹参2次组(II组)、丹参4次组(III组)、丹参6次组(IV组),每组6只,实验前禁食24h,禁水1h,在轻度乙醚麻醉下,将四肢及头部束缚于鼠板上,待清醒后将鼠板垂直浸入(19±1)℃水浴中,水面平胸骨剑突,各组应激持续时间均为3h。

1.3 药物及用量

实验组:(I组)于应激前腹腔注射生理盐水2mL;应激前腹腔注射丹参2次组(II组);应激前腹腔注射丹参4次组(III组);应激前腹腔注射丹参6次组(IV组)分别应激前腹腔注射复方丹参注射液2次、4次、6次(2mL/次,8h1次)后进行应激试验,对照组不给予任何药物。

1.4 实验步骤

幼鼠乙醚麻醉后,剑突下正中切开腹壁,取胃处死大鼠。沿胃大弯切开使胃黏膜外翻,经冰生理盐

水漂洗后,观察胃黏膜改变,展平胃,将一块透明的方格板压在全胃上(格间距0.2mm),用显微镜观察损伤情况,按改良Guth法计算胃黏膜溃疡指数(UI):全胃各病灶长度之和为损伤指数,损伤长度<1mm(包括糜烂点)为1分;1~2mm记2分;2~3mm记3分;3~4mm记4分;>4mm分段测量。若损伤宽度>2mm者将其计数加倍。

1.5 胃黏膜组织学观察

在腺胃同一部位取0.5cm×1.0cm大小的组织块,10%甲醛溶液固定24~48h,常规石蜡包埋,切片、苏木精-伊红染色后光镜下观察组织学变化。

1.6 统计学处理

数据以均数±标准差表示,应用SPSS10.0统计软件包,采用单因素方差分析(*F*检验和*q*检验),*P*<0.05表示差异有显著性。

2 结果

2.1 大体标本观察

对照组和I组幼鼠胃内容物呈咖啡样,冲洗去除胃内积血后可见病变主要累及腺胃区,胃腺部黏膜弥漫性水肿,部分黏膜充血,广泛出血或形成血痂,血痂与胃黏膜结合牢固,难以分离。对照组和I组肉眼观察无差别,大体损伤相似;II组黏膜高度充血,附有较多血痂,腺胃部可见多量的点线状糜烂、出血;III组黏膜充血,表面附有少许血痂,腺胃部见少量的点线状糜烂、出血;IV组黏膜较光滑,偶有少许点状糜烂、出血。

2.2 丹参对胃黏膜组织损伤的影响

对照组、I组胃黏膜UI分别为57.75±5.71,55.63±7.52,两者之间差异无显著性。II、III、IV组胃黏膜溃疡指数逐渐降低,其中III和IV组与对照组相比,差异有非常显著性(*P*<0.01)。在束缚-水浸应激前给予不同剂量的复方丹参注射液(2次、4次和6次),应激3h后胃黏膜损伤受到不同程度的抑制,表明丹参注射液对胃黏膜损伤有明确的保护作用,见表1。

2.3 光镜观察胃黏膜组织学变化

对照组和I组均有明显出血、坏死、脱落、中断及溃疡形成,深达黏膜肌层,胃黏膜的完整性被破坏,上皮细胞坏死,坏死部位与周围黏膜界限较清楚,坏死部腺体结构破坏,相对应的黏膜和固有膜内的毛细血管可见明显血流淤滞状态,间质水肿伴大量炎性细胞浸润。II组黏膜充血、水肿明显,表层受损显著,可见大量的坏死、脱落,溃疡形成比较表浅。

Ⅲ组黏膜充血、水肿,表层上皮部分坏死、脱落,胃腺细胞排列紊乱。Ⅳ组病理变化轻,黏膜基本完整,腺体结构良好,黏膜上皮细胞有脱落,有少许浅表糜烂,坏死少见,散在炎细胞浸润,黏膜下层结构无明显改变,见图1。

表1 复方丹参注射液对应激性大鼠 UI 的影响

(x ± s)		
组别	例数	UI
对照组	6	57.75 ± 5.71
I 组	6	55.63 ± 7.52
II 组	6	53.70 ± 3.46
III 组	6	24.02 ± 4.27 ^a
IV 组	6	12.12 ± 3.62 ^a

a 与对照组比较, $P < 0.01$

3 讨论

应激性胃黏膜损伤的发生是机体在严重应激状态下,由于胃黏膜损伤因素相对增强、胃黏膜的防御保护作用削弱及机体的神经内分泌功能失调等综合作用的结果。主要病理变化有胃黏膜微循环障碍、黏膜屏障受损、胃黏膜内脂质过氧化物含量升高和氧自由基产生增加等多方面变化,最终胃黏膜对

H^+ 和胃蛋白酶失去抵抗力,从而导致急性胃黏膜病变^[9]。随着对丹参药理研究的不断深入,丹参的多种药理特性不断地被发现和应用用于非脑血管疾病,临床观察和动物实验都证明它具有广泛而复杂的药理作用。丹参对消化性溃疡的治疗作用近几年颇受关注,已有实验证实,丹参可减轻酒精引起的胃黏膜血管损伤^[10]。而王国中等^[11]在大鼠乙酸胃溃疡急性期用丹参治疗结果表明:丹参有促进溃疡愈合防止再发的作用。

在我们的实验也观察到,幼年大鼠束缚-水浸应激与既往文献成年大鼠应激性溃疡表现描述一致,肉眼观察、光镜观察及胃黏膜溃疡指数 UI 明显增高,均证实模型成功。在应激前先给予腹腔注射复方丹参注射液可降低胃黏膜 UI,且随应激前使用丹参的次数增多,UI 下降越明显,其中应用丹参4次、6次组与对照组相比,差异非常显著($P < 0.01$)。证实丹参对幼年大鼠水浸-束缚应激性溃疡具有预防作用,能够减轻胃黏膜损伤程度。其具体作用机制并不十分清楚。目前认为,丹参抗溃疡作用的机制是由多种因素构成的,其抗溃疡作用与抑酸剂不同,主要在于不是降低胃黏膜攻击因子而是增强胃黏膜的防御功能,丹参在胃的微循环方面有调节作用,胃黏膜微循环改善,血流量增加,有利于胃黏膜损伤的

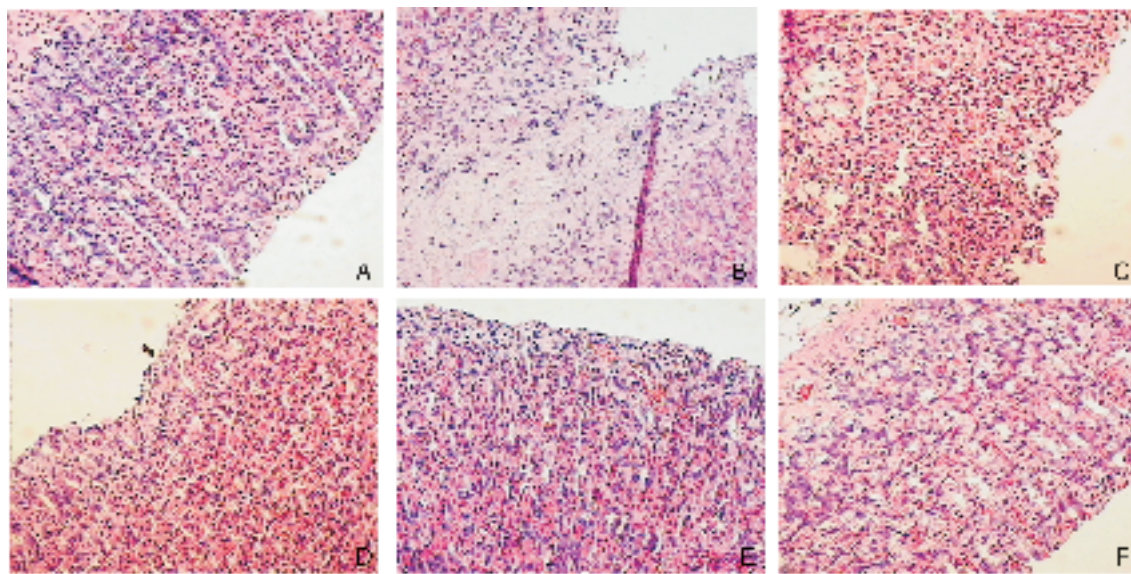


图1 胃黏膜组织学变化(胃黏膜组织学变化,苏木精-伊红染色×100)。A 正常组:黏膜结构完整,腺体排列整齐,层次清楚,主细胞、壁细胞清晰可见,未见炎症细胞;B 对照组:有明显出血、坏死、脱落、中断及溃疡形成,坏死部位与周围黏膜界限较清楚,坏死部腺体结构破坏,相对应的黏膜和固有膜内的毛细血管可见明显血流淤滞状态,毛细血管破裂、出血及渗出,间质水肿伴大量炎性细胞浸润;C 生理盐水对照组:胃黏膜的完整性被破坏,上皮细胞坏死,坏死组织表面覆盖红细胞,坏死部位与周围黏膜界限较清楚,坏死部腺体结构破坏,溃疡形成,溃疡呈火山口状,深达黏膜肌层,伴大量炎性细胞浸润;D 丹参2次组:黏膜充血、水肿明显,表层受损显著,可见大量的坏死、脱落,局部腺体排列紊乱,可见较浅表溃疡形成;E 丹参4次组:胃黏膜的完整性被破坏,上皮细胞坏死,腺体结构破坏,相对应的黏膜和固有膜内的毛细血管可见明显血流淤滞状态,毛细血管破裂、出血及渗出,间质水肿伴大量炎性细胞浸润;F 丹参6次组:病理变化轻,黏膜基本完整,黏膜上皮细胞有脱落,坏死少见,表面红细胞渗出较少,散在炎细胞浸润,黏膜下层结构无明显改变。

(下转第529页)

细胞间存在高度发达、光滑和连续的紧密连接,较少吞饮小泡,未见 Weible - Palade 小体。显示符合血脑屏障脑微血管内皮细胞的超微结构特点。

尽管形态学指标具有直接、客观等特点,但是形态学上的完整或相似不能等同于具有完整的屏障功能。理想的 BBB 模型应对各种大分子物质具有良好的限制通过作用。因此,功能评价是确定一个模型是否符合要求的不可缺少的关键步骤。¹²⁵I-BSA, 是大分子量蛋白质,用来评价 BBB 限制大分子物质通透的功能。研究结果显示,BBB 模型组在限制大分子量物质的能力上优于其他各组,与脑微血管内皮细胞单独培养组及空白对照组比较,差异有显著性意义($P < 0.01$)。

实验结果显示,我们建立的体外 BBB 细胞模型在细胞形态、超微结构、限制通透性等功能方面都保留了体内 BBB 的特性。利用同种属脑微血管内皮细胞与星型胶质细胞共培养,建立了一种简便可行、与在体 BBB 结构类似,并具有在体 BBB 限制物质通透的 SD 大鼠体外 BBB 模型。

[参 考 文 献]

- [1] Engelhardt B. Development of the blood-brain barrier[J]. Cell Tissue Res, 2003, 314(1):119-129.
- [2] Ichikawa N, Naora K, Hirano H, Hashimoto M, Masumura S, Iwamoto K. Isolation and primary culture of rat cerebral microvascular endothelial cells for studying drug transport in vitro[J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 1996,36(1):45-52.
- [3] 彭镜,尹飞,毛定安. 川芎嗪对培养大鼠星型胶质细胞在糖氧剥离损伤中的保护作用[J]. 中风与神经疾病杂志,2004,21(5):397-399.
- [4] Hurst RD, Fritz IB. Properties of an immortalised vascular endothelial/glioma cell co-culture model of the blood-brain barrier[J]. J Cell Physiol, 1996,167(1):81-88.
- [5] Fischer S, Wobben M, Kleinstuck J, Renz D, Schaper W. Effect of astroglial cells on hypoxia-induced permeability in PBMEC cells[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2000, 279(4):C935-944.
- [6] Gaillard PJ, Voorwinden LH, Nielwen JL, Ivanov A, Atsumi R, Engman H, et al. Establishment and functional characterization of an in vitro model of the blood-brain barrier, comprising a co-culture of brain capillary endothelial cells and astrocytes[J]. Eur J Pharm Sci, 2001,12(3):215-222.
- [7] Vorbrodt AW, Dobrogowska DH. Molecular anatomy of interendothelial junctions in human blood-brain barrier microvessels[J]. Folia Histochem Cytobiol, 2004, 421(2):67-75.

(本文编辑:吉耕中)

(上接第525页)

上皮细胞再生,损伤后的短时间内胃黏膜上皮细胞可快速重建,恢复完整,加快黏膜修复。丹参可通过促进内源性前列腺素(PG)的合成和释放,使 HCO_3^- 与黏液分泌增加,发挥其保护作用^[12]。同时有人证实它也是胃肠道运动的调节剂和自由基清除剂^[13]。下一步为提高临床防治儿童应激性溃疡水平,我们将针对丹参进行一系列有目的的研究。

[参 考 文 献]

- [1] 张一楚. 应激性溃疡[J]. 上海医学,1999,22(8):454-456.
- [2] Messori A, Trippoli S, Vaiani M, Gorini M, Corrado A. Bleeding and pneumonia in intensive care patients given ranitidine and sucralfate for prevention of stress ulcer: meta-analysis of randomized controlled trials[J]. BMJ,2000,11(4):1103-1106.
- [3] Yildizdas D, Yapicioglu H, Yilmaz HL. Occurrence of ventilator-associated pneumonia in mechanically ventilated pediatric intensive care patients during stress ulcer prophylaxis with sucralfate, ranitidine, and omeprazole[J]. J Crit Care,2002,17(4):240-245.
- [4] 郑艳平,王星娜. 佐以丹参为主治疗新生儿硬肿症的体会[J].

中国当代儿科杂志,1999,1(4):234-235.

- [5] 陈海平. 复方丹参注射液治疗新生儿硬肿症疗效观察[J]. 中国当代儿科杂志,1999,1(3):164.
- [6] 王亚利,张式暖,姜萍,刘景邦,吕爱敏. 复方丹参注射液对小鼠心肌保护作用的研究[J]. 中国当代儿科杂志,1999,1(4):211-213.
- [7] 张向荣,潘卫三,胡军. 丹参对消化性溃疡的研究概况[J]. 中草药,2000,8(31):附11-13.
- [8] 杨卫文,黎莉,杨景林,胡志恒. 丹参治疗消化性溃疡的疗效及机制探讨[J]. 中华消化杂志,2002,7(22):483-485.
- [9] 牛廷献,史志勇,罗晓红. 大鼠应激性溃疡发生机制及防治的研究[J]. 中国兽医科技,2003,33(10):75-76.
- [10] 黄梅芳,邓长生,易季云,林军,周燕. 丹参对实验性急性乙醇胃黏膜损伤的保护作用及其机理的研究[J]. 中华消化杂志,1996,16:82-84.
- [11] 王国中,夏艳杰,丁丽华,茹新,杨香琴. 丹参抗大鼠乙酸胃溃疡的实验研究[J]. 齐齐哈尔医学院学报,1997,18(3):166-168.
- [12] 杨永杰,王化河,王强. 丹参对大鼠急性胃黏膜损伤保护作用的研究[J]. 江苏中医药,2004,25(7):54-55.
- [13] 李林,陈志伟,石岩. 丹参素临床应用的研究进展[J]. 齐齐哈尔医学院学报,2004,2(25):181-182.

(本文编辑:吉耕中)