

胃铋镁颗粒对阿司匹林所致大鼠胃黏膜损伤的预防作用机制

牟方宏 胡伏莲 魏红 张洋阳 杨桂彬 雷晓燕 杨友鹏 孙伟娜 崔梅花

【摘要】 目的 研究胃铋镁颗粒对阿司匹林所致大鼠胃黏膜损伤的预防保护作用及其机制。**方法** 采用阿司匹林腹腔注射造成 Wistar 大鼠急性胃黏膜损伤模型。实验动物分为正常对照组、阿司匹林损伤组、硫糖铝保护组、胃铋镁保护组和胃铋镁植物药组分保护组, 每组 12 只。保护组分别用硫糖铝、胃铋镁和胃铋镁植物药组分灌胃, 其后用阿司匹林行腹腔注射, 然后分别测定各组的胃黏膜损伤指数、胃黏膜血流、胃黏膜氨基己糖、前列腺素(PG)、一氧化氮(NO)、肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素(IL)-1、2、8 含量, 并观察大体及显微镜下及电子显微镜下组织学变化, 以评价胃黏膜损伤程度及药物的预防保护作用。**结果** 各保护组大鼠胃黏膜氨基己糖、NO、PG 含量明显高于阿司匹林损伤组(均 $P < 0.01$), 并且胃铋镁保护组 NO 含量高于硫糖铝保护组 [(11.29 ± 0.51) 比 (10.80 ± 0.36) nmol/ml, $P < 0.05$]; 各保护组黏膜损伤指数、TNF、IL-1、2、8 含量显著低于阿司匹林损伤组(均 $P < 0.01$), 并且胃铋镁保护组 IL-2、IL-8 含量显著低于硫糖铝保护组 [(328.17 ± 6.56) 比 (340.23 ± 8.05) pg/ml, $P < 0.01$; (170.82 ± 7.31) 比 (179.31 ± 7.80) pg/ml, $P < 0.05$]。镜下, 各保护组胃黏膜组织损伤、炎症反应均较阿司匹林损伤组明显减轻。**结论** 胃铋镁及其植物药组分对阿司匹林所致胃黏膜损伤有明显保护作用。

【关键词】 阿司匹林; 胃黏膜; 胃铋镁颗粒

基金项目: 中华医学会北京分会科研发展基金(2012001)

Protective effect of compound bismuth and magnesium granules on aspirin-induced gastric mucosal injury in rats Mu Fanghong*, Hu Fulian, Wei Hong, Zhang Yangyang, Yang Guibin, Lei Xiaoyan, Yang Youpeng, Sun Weina, Cui Meihua. *Department of Gastroenterology, Aerospace Center Hospital, Beijing 100049, China

Corresponding author: Hu Fulian, Department of Gastrointestinal, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China, Email: djyhu@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the protective effect of compound bismuth and magnesium granules on aspirin-induced gastric mucosal injury in rats and its possible mechanism. **Methods** Acute gastric mucosal injury model was developed with intraperitoneal injection of aspirin in Wistar rats. The rats were divided into normal control group, injury group, sucralfate protection group, compound bismuth and magnesium granules protection group and its herbal components protection group (each group 12 rats). In the protection groups, drugs as mentioned above were administered by gavage before treated with intraperitoneal injection of aspirin. To evaluate the extent of gastric mucosal injury and the protective effect of drugs, gastric mucosal lesion index, gastric mucosal blood flow, content of gastric mucosal hexosamine, prostaglandins (PG), nitric oxide (NO), tumor necrosis factor (TNF), and interleukin (IL) -1, 2, 8 were measured in each group, and histological changes were observed by gross as well as under microscope and electron microscope. **Results** Contents of hexosamine, NO, and PG in all the protection groups were significantly higher than those in the injury group (all $P < 0.01$), and content of NO in the compound bismuth and magnesium granules group was significantly higher than that in the sucralfate group ((11.29 ± 0.51) vs (10.80 ± 0.36) nmol/ml, $P < 0.05$). The gastric mucosal lesion index, contents of TNF, and IL-1, 2, 8 were significantly lower in all the protection groups than in the injury group (all $P < 0.01$), and contents of IL-2 and IL-8 in the compound bismuth and magnesium granules group were significantly lower than those in

DOI:10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2016.06.012

作者单位: 100049 航天中心医院 北京大学航天临床医学院消化科(牟方宏、魏红、杨桂彬、杨友鹏、崔梅花); 北京大学第一医院消化科(胡伏莲); 辽宁医学院校外培养基地航天中心医院消化科(张洋阳、雷晓燕); 北京门头沟区医院急诊科(孙伟娜)

通信作者: 胡伏莲, Email: djyhu@163.com

the sucralfate group ((328.17 ± 6.56) vs (340.23 ± 8.05) pg/ml, $P < 0.01$; (170.82 ± 7.31) vs (179.31 ± 7.80) pg/ml, $P < 0.05$). Tissue injury and inflammatory reaction in all the protection groups were obviously mitigated compared with the injury group. **Conclusion** Compound bismuth and magnesium granules and its herbal components may have significant protective effect on aspirin-induced gastric mucosal injury.

【Key words】 Aspirin; Gastric mucosa; Compound bismuth and magnesium granules

Fund program: Scientific Research Found of Beijing Medical Association (2012001)

随着阿司匹林在临床的广泛应用,其不良反应的发生率逐渐增高,是引起急性胃黏膜损伤最为常见的药物之一^[1]。胃铋镁颗粒是一种复方制剂,具有中和胃酸、保护胃黏膜、抗幽门螺杆菌及促进胃肠动力的作用,但有关胃铋镁颗粒对于胃黏膜保护作用的机制目前尚少见系统的研究报道。本研究通过建立阿司匹林所致 Wistar 大鼠急性胃黏膜损伤模型,研究胃铋镁和胃铋镁植物药组分对阿司匹林所致大鼠胃黏膜损伤的保护作用并探讨其机制。

材料与方 法

1. 实验动物与分组:健康雄性 Wistar 大鼠(北京实验动物中心提供)60 只,体重在 250 ~ 300 g,采用随机数字法分为 5 组,分别为正常对照组、阿司匹林损伤组、硫糖铝保护组、胃铋镁保护组、胃铋镁植物药组分保护组,每组 12 只。

2. 实验器材、药品及试剂的配置:激光多普勒血流仪(瑞典 Perimed 公司)、紫外分光光度计(UA2100,日本岛津公司)、酶标仪(瑞士帝肯公司)、组织匀浆仪(罗氏公司)、低温离心机、各种 ELISA 检测试剂盒(Bmassay 公司)、动物实验室相关设备;胃铋镁及胃铋镁植物药组分[弘美制药(中国)有限公司提供];硫糖铝(北京优华药业有限公司生产,批号 3110814);阿司匹林[阿斯特拉(无锡)制药有限公司生产,批号:1112048,配制成 30 mg/ml]。

3. 实验方法:除正常对照组外,所有动物实验前禁食 12 h,可自由饮水,然后分别予生理盐水、硫糖铝(600 mg/kg)或胃铋镁颗粒(0.95 mg/g)、胃铋镁植物药组分灌胃,继续禁食禁水 12 h,再予相同药物及剂量灌胃 1 次,0.5 h 后以阿司匹林(150 mg/kg)行腹腔注射。

4. 黏膜血流的测定:1 h 后用 1% 的戊巴比妥钠腹腔注射(30 mg/kg)麻醉大鼠,剑突下正中剪开腹壁,暴露鼠胃,钝性分离,保持胃部血流供应的完整性,于皮胃端剪开鼠胃,插入黏膜血流仪探头测黏膜血流值。

5. 黏膜损伤指数的测定:切下全胃,沿大弯侧剪开,用生理盐水冲洗干净,Guth 标准^[2]稍加改良,

评定损伤指数,病灶长度 ≤ 1 mm 为 1 分, > 1 ~ 2 mm 为 2 分, > 2 ~ 3 mm 为 3 分, > 3 ~ 4 mm 为 4 分。如果病灶长度 > 4 mm,将其分成若干段,每段按上法记分。当病灶宽度 > 2 mm 时,得分加倍。

6. 组织学检查:剪取一小块黏膜组织制成石蜡切片用于组织学观察,剪取 1 mm 见方黏膜做超微病理观察。

7. 前列腺素(PG)、氨基己糖、一氧化氮(NO)、肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素(IL)1、2、8 的测定:用玻片将胃黏膜轻轻刮下,放于 2 ml 生理盐水中,标本集中后研成匀浆,离心(3 000 r/min, 5 min, 离心半径 125 mm),残渣弃去,取上清液,用 ELISA 法检测 PG、氨基己糖、NO、TNF、IL-1、IL-2 及 IL-8 的含量。

8. 统计学方法:所有数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS 16.0 软件进行统计分析,多组计量资料的均数比较用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

1. 大体观察:正常对照组胃黏膜光滑,未见溃疡、糜烂及出血点;阿司匹林损伤组胃黏膜充血明显、有条状及点状出血,局部有小片糜烂;硫糖铝及胃铋镁保护组胃黏膜光滑,未见溃疡、糜烂及明显的出血点;胃铋镁植物药组分保护组部分标本可见少量糜烂(图 1)。

2. 组织学检查:正常对照组胃黏膜层、固有层、肌层结构完整连续,未见炎性细胞浸润;阿司匹林损伤组黏膜水肿糜烂,表层上皮细胞疏松脱落,炎性细胞浸润,固有层腺体破坏,毛细血管扩张,间质充血、出血明显,见炎性细胞浸润;各保护组病理切片中黏膜上层完整连续,未见明显炎性细胞浸润,未见坏死组织及出血。个别切片偶见黏膜失完整性(图 2)。

3. 超微结构观察:正常对照组见微绒毛整齐,细胞间排列紧密,各细胞器正常;阿司匹林损伤组见线粒体破坏严重,正常结构消失;硫糖铝及胃铋镁保护组线粒体、内质网结构基本完整;胃铋镁植物药组分保护组见到部分线粒体水肿,有破坏(图 3)。

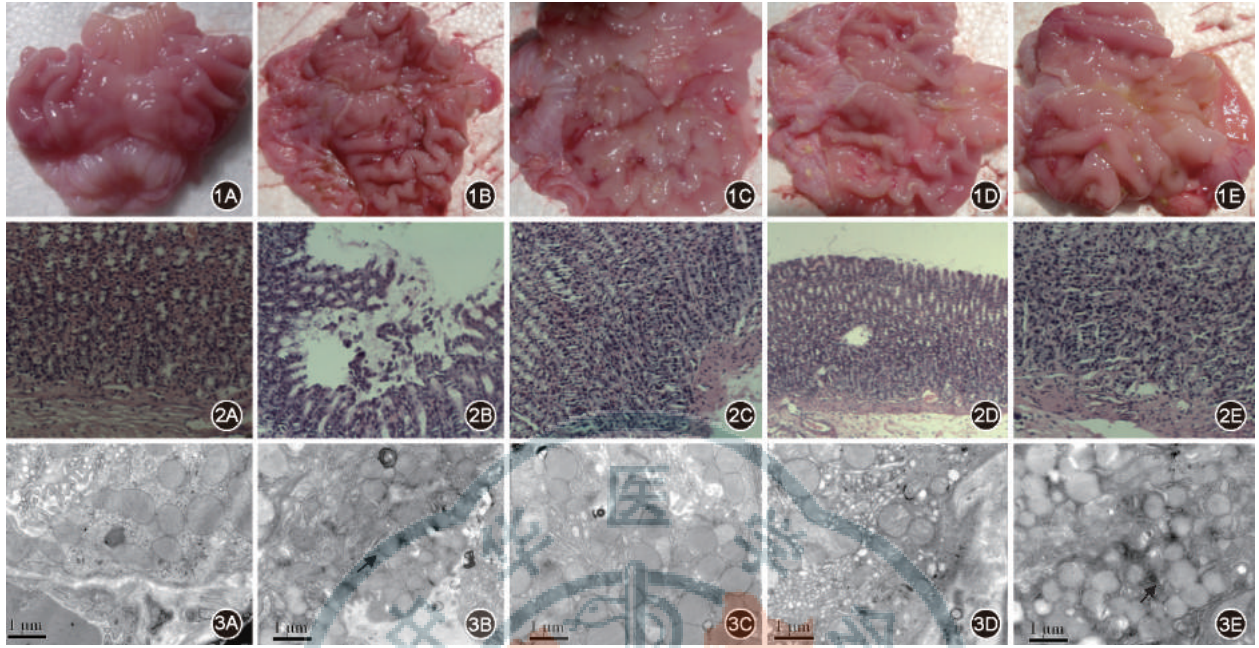


图 1 各组大鼠胃黏膜标本大体观察 1A. 正常对照组胃黏膜光滑;1B. 阿司匹林损伤组胃黏膜充血明显、有条状及点状出血;1C~E. 硫糖铝、胃铋镁、胃铋镁植物药组分保护组胃黏膜光滑 **图 2** 各组大鼠胃黏膜组织学观察 (HE × 100) 2A. 正常对照组各层结构完整、连续;2B. 阿司匹林损伤组黏膜水肿糜烂、炎细胞浸润;2C~E. 各保护组黏膜上皮层完整连续,未见明显炎性细胞浸润 **图 3** 各组大鼠胃黏膜超微结构观察 3A. 正常对照组细胞间排列紧密,各细胞器正常;3B. 阿司匹林损伤组线粒体破坏严重,正常结构消失(箭头所示);3C,3D. 硫糖铝及胃铋镁保护组线粒体、内质网结构基本完整;3E. 胃铋镁植物药组分保护组部分线粒体水肿,有破坏(箭头所示)

4. 各组黏膜损伤指数、黏膜血流、PG、氨基己糖、NO、TNF、IL 含量的比较:胃铋镁保护组胃黏膜的氨基己糖、NO、PG 含量明显高于阿司匹林损伤组 (均 $P < 0.01$),其中 NO 含量还明显高于硫糖铝保护组 ($P < 0.05$);胃铋镁植物药组分保护组氨基己糖、NO、PG 含量也明显高于阿司匹林损伤组 (均 $P < 0.01$),但低于硫糖铝保护组和胃铋镁保护组 (均 $P < 0.05$) (表 1)。胃铋镁保护组胃黏膜的黏膜损伤指数、TNF 和 IL-1、2、8 含量显著低于阿司匹林

损伤组 (均 $P < 0.01$),其中 IL-2、IL-8 含量还显著低于硫糖铝保护组 (均 $P < 0.01$);胃铋镁植物药组分保护组的黏膜损伤指数、TNF 和 IL-1、2、8 含量也显著低于阿司匹林损伤组 (均 $P < 0.01$) (表 1)。

讨 论

阿司匹林具有解热镇痛、抗炎、抗风湿及抗血小板聚集的作用,在临床上尤其是心脑血管疾病的预防和治疗中得到广泛应用。然而,同其他 NSAID 一

表 1 各组大鼠胃黏膜保护因素及黏膜损伤、炎症因子表达的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	黏膜血流	前列腺素 (pg/ml)	一氧化氮 (nmol/ml)	氨基己糖 (mg/ml)
正常对照组	251.75 ± 120.10	155.28 ± 4.09	13.80 ± 0.92	5.69 ± 0.34
阿司匹林损伤组	191.75 ± 70.59	43.61 ± 4.86	6.13 ± 0.53	1.59 ± 0.14
硫糖铝保护组	162.17 ± 63.47	95.61 ± 2.79 ^a	10.80 ± 0.36 ^a	3.61 ± 0.33 ^a
胃铋镁保护组	213.92 ± 80.15	91.95 ± 3.97 ^a	11.29 ± 0.51 ^{ab}	3.58 ± 0.36 ^a
胃铋镁植物药组分保护组	185.92 ± 75.42	67.55 ± 10.13 ^{abd}	8.65 ± 0.35 ^{abd}	2.60 ± 0.42 ^{abd}

组别	黏膜损伤指数 (分)	TNF (pg/ml)	IL-1 (pg/ml)	IL-2 (pg/ml)	IL-8 (pg/ml)
正常对照组	4.1 ± 2.9	97.41 ± 3.07	88.80 ± 2.54	248.18 ± 8.15	124.81 ± 4.79
阿司匹林损伤组	18.3 ± 8.9	235.25 ± 5.53	292.97 ± 6.50	679.30 ± 8.08	299.74 ± 7.57
硫糖铝保护组	5.3 ± 3.1 ^a	134.26 ± 7.12 ^a	165.52 ± 6.69 ^a	340.23 ± 8.05 ^a	179.31 ± 7.80 ^a
胃铋镁保护组	5.3 ± 3.4 ^a	137.11 ± 5.08 ^a	172.04 ± 6.71 ^a	328.17 ± 6.56 ^{ac}	170.82 ± 7.31 ^{ab}
胃铋镁植物药组分保护组	9.0 ± 3.9 ^a	165.80 ± 4.34 ^a	206.21 ± 5.61 ^a	402.36 ± 9.10 ^a	158.16 ± 35.61 ^a

注:TNF:肿瘤坏死因子;IL:白细胞介素;与阿司匹林损伤组比较,^a $P < 0.01$;与硫糖铝保护组比较,^b $P < 0.05$,^c $P < 0.01$;与胃铋镁保护组比较,^d $P < 0.05$

样,由于对胃黏膜有损害作用,阿司匹林的广泛应用也带来了一些潜在的危險性。研究显示,与未使用阿司匹林患者相比,使用阿司匹林患者消化道出血风险增加^[3],高剂量(>200 mg/d)相较于低剂量(<100 mg/d)更增加不良反应发生风险^[4],长期或大量服用阿司匹林,轻者导致消化不良症状,重者可发生消化性溃疡、溃疡出血、溃疡穿孔,甚至危及生命。即使剂型改变为肠溶剂型,长期口服阿司匹林肠溶片致上消化道出血的事实仍客观存在^[5],而且服药早期发生出血的危險性高,并随着服药时间延长而降低^[6]。因此,治疗和预防阿司匹林及其他 NSAID 所致的胃黏膜损害具有非常重要的意义。目前这方面的研究主要集中在外源性前列腺素制剂、抑酸剂、环氧合酶 2 (COX-2) 抑制剂的使用上,对于黏膜保护剂,特别是复方制剂在这方面应用的研究较少。

我们既往的研究显示:胃黏膜保护剂可起到保护黏膜作用^[7-8]。胃黏膜保护剂大致分为:单纯的黏膜保护剂(硫糖铝、替普瑞酮等);兼有中和胃酸作用的黏膜保护剂(氢氧化铝、铝碳酸镁等);兼有杀灭幽门螺杆菌作用的黏膜保护剂[枸橼酸铋钾(CBS)等]及植物药。胃铋镁颗粒成分包括:铝酸铋、重质碳酸镁、碳酸氢钠、甘草浸膏粉、弗郎鼠李皮、茴香粉、芦荟和石菖蒲,理论上,与单纯化药、植物药相比,具有多重保护作用。

PG、NO、表皮生长因子、生长抑素、胃泌素、促胰液素、三叶肽家族等通过不同机制发挥对胃黏膜屏障的保护作用^[9]。PG 由花生四烯酸在 COX 的作用下转化而来,可刺激黏液生成和分泌、促进 HCO₃⁻ 分泌、增加表面活性磷脂生成、增加黏膜血流、保护上皮细胞、抑制胃酸分泌、抑制肥大细胞脱颗粒和白细胞黏附,实现对胃黏膜的保护作用。一般认为阿司匹林的抗炎止痛作用系抑制 COX-2 所致,而药物的不良反应与抑制 COX-1 有关。然而研究发现特异性抑制 COX-2 可导致溃疡愈合延迟;人正常胃肠黏膜也有 COX-2 mRNA 表达,受刺激表达上调后合成 PG 增多,对黏膜也有保护作用。提示阿司匹林通过抑制 COX 抑制 PG 产生,从而减弱 PG 对胃肠黏膜的保护作用,影响黏膜防御和修复功能,引起黏膜损伤,甚至诱发或加重溃疡和出血。NO 是由血管内皮细胞产生的血管舒张因子,对胃黏膜有保护作用,该作用通过增加胃黏膜血流量介导,同时 NO 具有维持黏膜上皮完整性、清除氧自由基等作用,氨基己糖是大分子糖蛋白的主要组成部分,其

含量可反映胃内黏液分泌量。本研究显示,阿司匹林会导致大鼠胃黏膜损伤,降低氨基己糖、NO、PG 含量;胃铋镁保护组胃黏膜的黏膜血流、氨基己糖、NO、PG 含量明显高于阿司匹林损伤组($P < 0.01$),NO 还明显高于硫糖铝保护组;其植物药组分亦可提高氨基己糖、NO、PG 含量。

胃黏膜受破坏时,会产生炎症因子,包括 TNF、IL-1 等,继发加重损伤;黏膜保护剂可减少炎症因子的产生,减轻损伤^[9]。本研究显示,阿司匹林损伤组黏膜损伤指数、炎症因子含量明显升高,胃铋镁保护组胃黏膜的黏膜损伤指数、TNF 和 IL-1、2、8 含量显著低于阿司匹林损伤组,IL-2、8 还显著低于硫糖铝保护组,说明其植物药组分亦起一定作用。

综上所述,胃铋镁颗粒可提高胃黏膜防御因子黏膜血流、氨基己糖、NO、PG 水平,降低黏膜损伤指数,降低炎症因子 TNF 和 IL-1、2、8 含量,从分子水平证实胃铋镁具有黏膜保护作用。

参 考 文 献

- [1] 胡伏莲. 重视胃肠黏膜屏障的研究[J]. 中华医学杂志, 2005, 85 (39): 2737-2738. DOI: 10.3760/j.issn:0376-2491.2005.39.001.
- [2] Guth PH, Aures D, Paulsen G. Topical aspirin plus HCl gastric lesions in the rat. Cytoprotective effect of prostaglandin, cimetidine, and probanthine [J]. Gastroenterology, 1979, 76 (1):88-93.
- [3] Raju N, Sobieraj-Teague M, Hirsh J, et al. Effect of aspirin on mortality in the primary prevention of cardiovascular disease [J]. Am J Med, 2011, 124 (7): 621-629. DOI: 10.1016/j.amjmed.2011.01.018.
- [4] 抗血小板药物消化道损伤的预防和治疗中国专家共识组. 抗血小板药物消化道损伤的预防和治疗中国专家共识(2012 更新版) [J]. 中华内科杂志, 2013, 52 (3): 264-270. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2013.03.027.
- [5] Alli O, Smith C, Hoffman M, et al. Incidence, predictors, and outcomes of gastrointestinal bleeding in patients on dual antiplatelet therapy with aspirin and clopidogrel [J]. J Clin Gastroenterol, 2011, 45 (5): 410-414. DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181faec3e.
- [6] 陈楚雄, 马再鸿, 曾美仪. 阿司匹林致老年人上消化道出血的临床药物研究 [J]. 中国现代药物应用, 2009, 3 (19): 26-27. DOI:10.3969/j.issn.1673-9523.2009.19.015.
- [7] 崔梅花, 乙国兴, 胡伏莲, 等. 复方尿囊素片对乙醇所致大鼠胃黏膜损伤保护作用的实验研究 [J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2011, 20 (9): 797-800. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2011.09.005.
- [8] 杨桂彬, 胡伏莲, 牟方宏. 替普瑞酮预防幽门螺杆菌所致的小鼠胃黏膜损伤的研究 [J]. 中华医学杂志, 2006, 86 (14): 992-995. DOI:10.3760/j.issn:0376-2491.2006.14.014.
- [9] Laine L, Takeuchi K, Tarnawski A. Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside [J]. Gastroenterology, 2008, 135 (1):41-60. DOI:10.1053/j.gastro.2008.05.030.

(收稿日期:2015-12-07)

(本文编辑:赵景辉)