

另有研究发现^[16], 脑出血患者发病 24 h 内的血清 MMP 可显著升高, 且其升高程度与颅脑出血造成的血肿及其周围水肿大小有关。而运用 MMP-9 抑制剂后, 脑组织水肿明显减轻。本研究结果显示, 急性脑出血患者血清 MMP-9、MMP-2 水平在脑出血后开始上升, 至 120 h 达最高值, 后又逐渐下降, 至 14 d 仍高于对照组 ($P < 0.05$)。因此, 认为 MMPs 可能参与了颅脑出血后脑水肿的形成^[17]。

氧化应激反应和 MMPs 均是脑出血后脑损伤的重要环节, 进一步分析二者的关系, 结果显示, MMP-9、MMP-2 均与血清 SOD、T-AOC 呈负相关, 与 MDA、年龄、血压分级、神经功能缺损程度呈正相关 ($P < 0.05$)。提示氧化应激反应和 MMPs 可能相互作用, 形成恶性循环, 加重脑组织损伤。

综上, 炎性因子 MMPs 与脑出血后的氧化应激反应相互影响, 互为促进。通过动态监测脑出血后 MMPs 与氧化应激产物的变化可评估脑出血神经损伤程度及预后, 而通过积极干预提高 SOD 水平, 降低炎性因子、MDA 水平, 有可能为脑出血的治疗提供新的途径。

参考文献

- [1] 曾伟英, 王本国, 林棉, 等. 血脂代谢与脑出血转化的相关性研究[J]. 中华神经医学杂志, 2014, 13(3): 269-272.
- [2] 霍春青, 李芳芳, 李爱英, 等. 脑出血的治疗现状及进展[J]. 中国老年学杂志, 2014, (23): 6839-6841.
- [3] 朱向阳, 董政协, 周永, 等. 高压氧对脑出血患者血清基质金属蛋白酶-9, 细胞间黏附分子-1 及脑水肿的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2009, 31(4): 264-267.
- [4] 于辉天, 叶华卫, 麦荣康, 等. 脑损伤后脑脊液中基质金属蛋白酶-9 的临床意义研究[J]. 中华神经医学杂志, 2013, 12(6): 636-638.
- [5] 马征, 孙雅菲, 康玲伶, 等. 急性脑出血患者血清炎症因子

• 经验交流 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.32.031

和氧化应激产物的动态监测及其临床意义[J]. 脑与神经疾病杂志, 2014, 22(5): 375-378.

- [6] 蒋小群, 郝子龙, 王秋筱, 等. 脑出血患者出血部位与病因构成的相关性研究[J]. 中国脑血管病杂志, 2013, 10(5): 259-263.
- [7] 刘鸣, 蒋小群, 游潮, 等. 应当重视脑出血的病因研究与规范化病因诊断[J]. 中华神经科杂志, 2013, 46(6): 361-364.
- [8] 韩艳菊. 青年脑出血病因、危险因素临床分析[J]. 中国卫生产业, 2013, 6(32): 61-62.
- [9] 高峰, 高翔. 褪黑素对脑出血继发性脑损伤患者血清 MDA、NF- κ B、TNF- α 及 β_2 -MG 水平的影响[J]. 中国生化药物杂志, 2015(6): 71-73.
- [10] 荆俊杰, 陈锦华, 魏梁锋, 等. 大鼠二次脑损伤后脑组织 SOD 及 MDA 的变化研究[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(5): 812-814.
- [11] 代全德, 司金春, 徐忠海, 等. 急性脑出血患者血清炎症因子和氧化应激产物的动态监测及其临床意义[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版), 2014(3): 398-402.
- [12] 孙颖, 姜林娣. 基质金属蛋白酶(MMPs)在大动脉炎病情评估中的价值[J]. 复旦学报(医学版), 2012, 39(5): 541-544.
- [13] 朱绪国, 姜笃银, 李川, 等. 细胞外基质降解产物生物学活性研究进展[J]. 中华烧伤杂志, 2013, 29(3): 308-311.
- [14] 江承平, 刘福, 李毅, 等. 参附注射液对大鼠脑缺血再灌注损伤后 MMP-9 和 TIMP-1 表达的影响[J]. 中华神经医学杂志, 2012, 11(1): 20-23.

(收稿日期: 2016-06-24 修回日期: 2016-08-12)

柚皮苷抗大鼠乙酸型胃溃疡的作用及其对胃黏膜 TFF2 表达的调控*

秦建设, 郑波 Δ

(重庆三峡医药高等专科学校 404120)

[摘要] 目的 通过测定乙酸型胃溃疡大鼠血清及胃黏膜组织中三叶因子 2(TFF2) 的表达, 探讨柚皮苷对胃溃疡的治疗作用。方法 60 只 SPF 级 SD 大鼠分成 6 组, 即对照组、模型组, 柚皮苷低(50 mg/kg)、中(100 mg/kg)、高(200 mg/kg) 剂量组和兰索拉唑组(3 mg/kg)。制作乙酸型胃溃疡模型。连续给药 1 周后处死大鼠, 采集标本。结果 与模型组相比, 柚皮苷中、高剂量组血清及胃黏膜中 TFF2 表达明显增强 ($P < 0.05$); 兰索拉唑对血清及胃黏膜中 TFF2 表达的增效不明显 ($P > 0.05$)。结论 柚皮苷具有抗胃溃疡作用, 其作用机制可能与提高胃组织中 TFF2 的水平有关。

[关键词] 柚皮苷; 胃溃疡; 三叶因子 2

[中图分类号] R256.3

[文献标识码] B

[文章编号] 1671-8348(2016)32-4561-03

柚皮苷全称为柚皮素-7-O-新橙皮糖苷, 又称柚苷、柚皮素, 是一种双氢黄酮类化合物, 是陈皮、枳实、青皮等中药的主要有效成分之一。现代研究表明, 柚皮苷具有抗氧化、抗肿瘤、解痉镇痛、降血脂、调节血糖等生物活性和药理作用^[1-3]。2013 年, 柚皮苷被国家批准作为一类新药进入临床试验。大量药物

成分分析研究显示, 对胃溃疡有治疗作用的很多中成药, 如健脾舒胃凝胶、胃苏颗粒、胃炎灵颗粒等均检测出含有大量的柚皮苷成份^[4-6]。但是, 有关柚皮苷对胃溃疡的治疗作用研究文献比较少见。本文旨在研究柚皮苷对胃溃疡大鼠胃黏膜损伤的保护作用, 特别是对胃黏膜保护因子 TFF2 的影响, 进一

步阐明柚皮苷的药理作用,为治疗胃溃疡提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 材料 清洁级(SPF)4 个月龄 SD 大鼠 60 只,雌雄各半,体质量 180~200 g,由第三军医大学大坪医院医学实验动物中心提供,许可证号:SCXK(渝)2012-0005。将大鼠分为对照组,模型组,柚皮苷低剂量组、中剂量组、高剂量组,兰索拉唑组,每组分别 10 只。

1.2 药物试剂与主要仪器 柚皮苷(编号:101291319, Sigma 公司),TFF2 试剂盒(编号:AK0014FEB26008,武汉伊莱瑞特生物科技有限公司),兰索拉唑片(规格:15 mg,批号:120623,重庆科瑞制药有限公司),柚皮苷用羧甲基纤维素钠(CMC)制成 100% 柚皮苷悬浊液。Bio-Tek ELX800 多功能酶标仪(美国),H-1850R 湘仪高速离心机。

1.3 方 法

1.3.1 模型制备 用改良 Okabe 法制作乙酸型胃溃疡模型^[7-8]。大鼠适应性饲养 1 周后禁食不禁水 24 h。以 10% 的水合氯醛腹腔注射进行麻醉,在剑突下沿正中中线作 2~3 cm 的正中切口,打开腹腔,将胃轻轻拉出,用 1 mL 注射器在胃前壁胃小弯角切迹下方刺入浆膜下注入 0.1 mL 100% 的乙酸,以出现白点为度,然后用细棉签将溢出乙酸吸净,用含生理盐水清洗,将胃小心地纳入腹腔,逐层缝合创口。术后当日给大鼠自由饮水,次日开始自由饮食。

1.3.2 给药方法 造模次日开始给药:模型组给予生理盐水 1 mL/100 g 灌胃;柚皮苷低剂量组给予 50 mg/kg 灌胃;柚皮苷中剂量组给予 100 mg/kg 灌胃;柚皮苷高剂量组给予 200 mg/kg 灌胃;兰索拉唑组给予 3 mg/kg。每天 1 次,连续给药 1 周。对照组正常饮食。

1.3.3 标本采集与处理 给药 1 周后,所有组别大鼠禁食 24 h 后,进行腹腔麻醉,开腹采用腹主动脉取血方法收集血液标本,取血后室温静置 1 h 后 3 500 r/min 离心 10 min,吸出上层血清存放在 -85 °C 冰箱保存。沿胃大弯剪开,以生理盐水冲洗后,观察胃溃疡状况,测量胃溃疡面积。胃黏膜用组织匀浆器匀浆后离心,吸出上层澄清液存放在 -85 °C 冰箱保存。

1.3.4 观测指标与方法

1.3.4.1 溃疡面积 用游标卡尺测出溃疡的最长径和最宽径,两者相乘计算出溃疡面积。

1.3.4.2 TFF2 测定 采用酶联免疫吸附(ELISA)法,用多功能酶标仪(Bio-Tek ELX800,美国),按试剂盒说明书检测血清与胃黏膜组织液中 TFF2 水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,检验水准 $\alpha = 0.05$,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 大鼠胃黏膜溃疡指数变化 肉眼下,模型组、柚皮苷低剂量组均可见明显的溃疡面,中剂量组、高剂量组与兰索拉唑组溃疡面积明显减少。经计算模型组溃疡面积指数最高,与模型组相比,柚皮苷中、高剂量组和兰索拉唑组溃疡指数均明显降低($P < 0.01$),且柚皮苷高剂量组和兰索拉唑组疗效明显优于柚皮苷低、中剂量组($P < 0.01$),但柚皮苷高剂量组与兰索拉唑组之间无明显差异($P > 0.05$),见表 1。

2.2 胃溃疡大鼠血清及胃黏膜组织 TFF2 的变化 与模型组相比,柚皮苷低、中、高剂量给药组大鼠血清及胃黏膜组织中 TFF2 水平均有增加,但柚皮苷中剂量、高剂量组效果明显($P < 0.05$)。相比柚皮苷低剂量组,柚皮苷高剂量组效果更明显($P < 0.05$)。兰索拉唑组对血清和胃黏膜中 TFF2 的调控作

用效果不明显,见表 2。

表 1 各组胃溃疡大鼠溃疡指数变化($\bar{x} \pm s$)

组别	n	溃疡指数(mm ²)
对照组	10	—
模型组	10	12.36±2.62
柚皮苷低剂量组	10	10.65±2.26
柚皮苷中剂量组	10	7.31±2.32 ^{ab}
柚皮苷高剂量组	10	2.41±1.13 ^{abc}
兰索拉唑组	10	2.30±0.87 ^{abc}

^a: $P < 0.01$,与模型组相比;^b: $P < 0.01$,与柚皮苷低剂量组比较;^c: $P < 0.01$,与柚皮苷中剂量组比较;—:无数据。

表 2 各组大鼠血清及胃黏膜组织液中 TFF2 的变化($\bar{x} \pm s$,pg/mL)

组别	n	血清 TFF2	胃黏膜组织 TFF2
对照组	10	188.13±13.70	203.03±12.79
模型组	10	158.45±16.49 ^a	172.69±16.26 ^a
柚皮苷低剂量组	10	162.49±10.89 ^a	180.77±11.88 ^a
柚皮苷中剂量组	10	176.88±13.63 ^{bd}	186.60±10.47 ^b
柚皮苷高剂量组	10	183.53±18.47 ^{bed}	197.27±11.57 ^{bed}
兰索拉唑组	10	169.62±15.23 ^a	182.11±9.88 ^a

^a: $P < 0.01$,与对照组比较;^b: $P < 0.05$,与模型组比较;^c: $P < 0.05$,与兰索拉唑组比较;^d: $P < 0.05$,与柚皮苷低剂量组比较。

3 讨 论

胃溃疡是一种临床消化系统的常见病、多发病,其致病因素复杂,病理机制迄今未完全清楚。胃溃疡后的修复与愈合,也是一个十分复杂的过程,黏膜愈合的质量直接影响到疾病的转归。大量研究表明,胃黏膜的修复过程是多种细胞、生长因子及细胞外基质相互作用的复杂过程。而胃黏膜防御屏障功能下降,防御保护因子减少是形成胃溃疡的重要病理基础。TFF2 作为胃黏膜细胞分泌的重要保护因子,在胃溃疡的产生与修复过程中具有重要的作用。TFF2 是一种具有三叶草型结构域的小分子蛋白质,其与 TFF1、TFF3 都是 TFF 家族中最重要的成员。大量研究表明,TFF 的主要表达位点在胃肠道,是由胃肠道黏膜细胞分泌产生,TFF1、TFF2 主要分布在胃窦部,TFF3 主要分布在小肠和大肠^[9-10]。近年国内外研究显示,TFF2 表达的部位和水平与胃溃疡的关系非常密切,其主要作用机制为:TFF2 能促进胃黏膜液糖蛋白的分泌,并能与黏液糖蛋白结合生成具有保护作用的复合物,进而能避免胃黏膜上皮细胞遭受酸和酶的侵袭,同时能与表皮生长因子、转化生长因子等相关胃黏膜保护因子相互协同,共同促进黏膜上皮细胞向溃疡部位移行和修复^[11-12]。

本实验结果表明,柚皮苷能明显提升胃溃疡大鼠血清及胃黏膜中 TFF2 的水平,随着用药剂量的增加,其作用效果愈明显,且柚皮苷高剂量组大鼠血清和胃黏膜组织中 TFF2 水平与对照组大鼠血清和胃黏膜组织中 TFF2 水平无显著差异。胃溃疡指数也提示,柚皮苷对胃溃疡的修复与愈合具有明显促进作用,这表明柚皮苷对胃溃疡的保护作用与提升胃黏膜组织中 TFF2 的水平具有高度的相关性,且药理治疗作用与用药浓度可能存在一定程度的正相关性。

本实验显示,兰索拉唑组 TFF2 的表达偏低,这可能与兰索拉唑的药理作用机制有关。兰索拉唑属第二代质子泵抑制剂,具有明显的抑制胃酸分泌作用。其主要作用于胃壁细胞的

H⁺-K⁺-ATP 酶,能使 H⁺ 质子泵的巯基氧化而失去活性,阻断壁细胞的 H⁺ 分泌入胃中,致使胃液中胃酸减少,从而达到治疗胃溃疡的作用。本实验采用乙酸造模的方法与刺激胃酸分泌机制相似,所以兰索拉唑的治疗效果比较明显。但 TFF2 的主要作用在于促进胃黏液糖蛋白分泌与合成,促进胃黏膜的修复与愈合,并不能直接抑制胃酸分泌^[13]。本实验结果说明,兰索拉唑促进胃黏膜 TFF2 表达的作用不明显。

胃溃疡属中医胃痛、胃脘痛范畴,多因外感寒邪、饮食所伤、情志不畅和脾胃素虚等引发,从而导致气滞、寒凝、热郁、湿阻、血瘀等病理变化,影响胃失和降,不通则痛。治疗上以理气和胃止痛为主。作为柚皮苷的主要来源,陈皮、枳实、青皮等中药均具有较强的理气和胃止痛作用,是中医药治疗胃痛的常用处方组成药物。这也可能是柚皮苷具有抗胃溃疡作用的内在联系。

综上所述,柚皮苷具有明显的促进胃溃疡愈合作用,且治疗效果与兰索拉唑无明显差异。柚皮苷的作用机制可能是通过刺激胃黏膜细胞,促进黏膜保护因子 TFF2 分泌,提高 TFF2 水平,加快胃黏膜的增殖与修复,从而达到保护胃黏膜,预防和治疗胃溃疡的作用。

参考文献

- [1] 于广仁,蒋超,肖安风,等.柚皮苷及其酶解产物的生物活性研究[J].食品科技,2014,39(3):155-159.
- [2] 谢仁峰,文双娥,李洋,等.柚皮苷抗炎镇痛作用的实验研究[J].湖南师范大学学报(医学版),2011,8(4):5-8,12.
- [3] 杨宏亮,田珩,李沛波,等.柚皮苷及柚皮素的生物活性研究[J].中药材,2007,30(6):752-754.
- [4] 牛晓静,鲁静,段晓颖,等.HPLC 同时测定健脾舒胃凝胶中甘草苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、甘草酸铵 5 种成分

• 经验交流 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.32.032

含量[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(2):77-79.

- [5] 杨佳静,薛佳,周华方,等.HPLC 法同时测定胃苏颗粒中柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷的含量[J].中国药房,2014,25(4):372-374.
- [6] 张咏梅,陈晓峰,姚莉萍.HPLC 法测定无糖型胃炎灵颗粒中柚皮苷的含量[J].安徽医药,2014,18(6):1045-1047.
- [7] Okabe S, Amagase K. An overview of acetic acid ulcer models—the history and state of the art of peptic ulcer research[J]. Biol Pharm Bull, 2005, 28(8):1321-1341.
- [8] 才丽平,蒋宁,曲怡,等.“毒热证”胃溃疡大鼠模型的制备与评价[J].中华中医药杂志,2011,26(3):501-504.
- [9] 张静,吴靖芳,任君旭,等.大鼠胃溃疡自愈期间三叶因子 2 的变化[J].第三军医大学学报,2011,33(13):1358-1361.
- [10] May FE, Semple JI, Newton JL, et al. The human two domain trefoil protein, TFF2, is glycosylated in vivo in the stomach[J]. Gut, 2000, 46(4):454-459.
- [11] Yu Y, Jia TZ, Cai Q, et al. Comparison of the anti-ulcer activity between the crude and bran-processed *Atractylodes lancea* in the rat model of gastric ulcer induced by acetic acid[J]. J Ethnopharmacol, 2015, 160(3):211-218.
- [12] 周学文,周天羽,才丽萍,等.三叶因子 2 在胃黏膜病变中的表达[J].中国中西医结合消化杂志,2010,18(2):95-98.
- [13] 张绍荣,宋于刚,陈学清,等.三叶因子 2 基因治疗对实验性大鼠胃溃疡愈合影响的研究[J].中国实用内科杂志,2006,26(18):1418-1420.

(收稿日期:2016-06-25 修回日期:2016-08-13)

清热化痰活血降气法治疗老年热证慢性阻塞性肺疾病患者的疗效观察*

张 念,袁文胜,殷人易,孙洁民,叶树鸣,邓 武

(武汉市第一医院呼吸内科 430022)

[摘要] 目的 探讨清热化痰活血降气法治疗老年热证慢性阻塞性肺疾病急性加重期(AECOPD)患者的临床疗效。方法 将 80 例老年热证 AECOPD 患者随机分为治疗组和对照组,两组均给按西药方法治疗,此外治疗组加用以清热化痰活血降气为治法的中药治疗,评价两组治疗前后的证候疗效、临床症状评分、CAT 评分、肺功能及血清纤维蛋白原(FIB)、C 反应蛋白(CRP)水平。结果 治疗组的显效率为 76.8%,对照组的显效率为 45.7%,两组之间差异有统计学意义($P < 0.01$),治疗后治疗组临床症状评分、COPD 评估测试(CAT)评分较治疗前明显改善($P < 0.05$),且与对照组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$);治疗后治疗组肺功能[包括 1 s 用力呼气容积(FEV1)、FEV1%、FEV1/用力肺活量(FVC)]明显提高($P < 0.05$),与对照组相比差异有统计学意义($P < 0.05$);治疗组治疗后血清 FIB 及 CRP 水平明显下降($P < 0.05$),与对照组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 清热化痰活血降气法治疗老年热证 AECOPD 患者临床疗效确切,能提高患者肺功能水平,并能改善患者炎症水平及血液流变学指标。

[关键词] 清热化痰活血降气法;慢性阻塞性肺疾病;纤维蛋白原;C-反应蛋白

[中图分类号] R256.1

[文献标识码] B

[文章编号] 1671-8348(2016)32-4563-03

慢性阻塞性肺疾病(COPD)是一种以持续气流受限为特征、可预防和治疗的疾病。随着社会人口老龄化,COPD 的

发生率逐渐增高,已成为目前全球死亡第 4 位原因^[1]。部分老年 COPD 患者虽然长期规律、规范用药治疗,临床疗效并不十分