

纳达合剂对大鼠胃肠动力的影响

钱春美¹ 沈艳婷² 阙任辉² 林柳兵² 陶智会³ 李 勇²

(1 上海中医药大学附属市中医院实验中心,上海,200071; 2 上海中医药大学附属市中医院脾胃病科,上海,200071; 3 上海市嘉定区中医医院肿瘤科,上海,201800)

摘要 目的:本实验旨在观察纳达合剂对胆汁反流性大鼠胃肠动力的调节作用。方法:利用大鼠胆汁反流性胃炎模型,将 60 只大鼠随机分为对照组、模型组、纳达低剂量组、纳达中剂量组、纳达高剂量组和吗丁啉组,每组 10 只。通过 ELISA 检测胆汁反流性胃炎大鼠血清胃动素(MTL)、血管活性肠肽(VIP)及胃黏膜 P 物质(SP)含量变化。通过比色法检测胆汁反流性胃炎大鼠胃黏膜一氧化氮(NO)含量变化。结果:纳达合剂能够显著提高胆汁反流性大鼠胃黏膜 SP 及血清 MTL 含量($P < 0.05$),能显著降低胆汁反流性大鼠血清 VIP 及 NO 含量($P < 0.05$)。结论:纳达合剂具有调节胃肠激素(SP、MTL、VIP、NO)的作用。

关键词 纳达合剂;胆汁反流性胃炎;胃肠动力

Effects of Nada Mixture on Rat's Gastrointestinal Motility

Qian Chunmei¹, Shen Yanting², Que Renyue², Lin Liubing², Tao Zhihui², Li Yong²

(1 Department of Central Laboratory, Shanghai Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071, China; 2 Department of Gastroenterology, Shanghai Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071, China; 3 Department of Oncology, Jiading Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201800, China)

Abstract Objective: To observe the regulative effect of Nada Mixture on gastrointestinal motility of bile reflux gastritis (BRG) rats. **Methods:** SD rats were randomly divided into control group, model group, low-dose Nada Mixture group, middle-dose Nada Mixture group, high-dose Nada Mixture group and Domperidone group. Each group has 10 rats. ELISA was used to detect SP content in gastric mucosa tissue and MTL, VIP in serum. Colorimetry was used to detect NO's content in gastric mucosa tissue. **Results:** Nada Mixture significantly increased the content of SP in gastric mucosa tissue and MTL in serum of BRG rats. And it significantly decreased the content of NO in gastric mucosa tissue and VIP in serum of BRG rats. **Conclusion:** Nada Mixture has the effect of regulating gastrointestinal hormones (SP, MTL, VIP, NO).

Key Words Nada Mixture; Bile reflux gastritis; Gastrointestinal motility

中图分类号:R285.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.01.031

胆汁反流性胃炎(Bile Reflux Gastritis, BRG),是由于多种原因导致十二指肠胃反流(Duodenogastric Reflux, DGR)现象异常增多,引起胃黏膜损伤的一种疾病^[1-2]。临床上根据发病原因是否与胃肠术相关而分为继发性和原发性胆汁反流性胃炎^[3]。

十二指肠胃反流作为一种存在于机体内的常见生理现象,其发生及反流量与胃十二指肠动力异常以及幽门括约肌功能失常密切相关^[4]。胃十二指肠动力异常主要表现在胃窦清除能力下降以及十二指肠逆蠕动的增加,当幽门括约肌存在自身缺陷或遭受内外源性刺激因素导致幽门括约肌功能异常,出现关闭不全情况时,十二指肠胃反流增加,其内容物

与胃黏膜长时间接触,最终导致胃黏膜损伤的发生,随着病情的持续和进展,引起胃黏膜的慢性炎症、糜烂,更有甚者可以进展为胃溃疡^[5-6]。

纳达合剂方是我院余莉芳老中医拟定经验方,本方主要以北沙参、玉竹、麦冬、天花粉组方,功效为养阴清胃、降逆理气,是治疗慢性胃炎的常用方,广泛应用于慢性胃炎患者,包括慢性浅表性胃炎、胆汁反流性胃炎、非溃疡性消化不良等疾病。大量的临床实践证明具有良好的作用,能够明显缓解慢性胃炎患者胃胀、胃痛、反酸、嗝气、烧心、嘈杂等症状。因此,为了进一步验证纳达合剂的疗效并深入探讨其作用机制,本研究通过正常小鼠、阿托品诱导的胃

基金项目:上海市卫生局资助项目(编号:2011ZJ006);第二批上海市卫生系统优秀学科带头人和优秀青年人才培养计划基金资助项目(编号:沪卫计委科教[2013]9号-50)

作者简介:钱春美(1988—),女,硕士,中药师,研究方向:中药新药开发, E-mail: qcm_work@126.com

通信作者:李勇(1968—),男,博士,主任医师,研究方向:消化疾病的临床与基础研究, E-mail: liyong8256@126.com

肠动力障碍模型小鼠以及胆汁反流性胃炎模型大鼠,观察纳达合剂对胃肠动力的调节作用。

1 材料与方法

1.1 试剂 纳达合剂由上海市中医医院制剂科提供(沪药制字 Z05190757,批号:14061901),吗丁啉(西安杨森制药有限公司),牛胆酸钠(上海源叶生物科技有限公司),胰酶(国药集团化学试剂有限公司),卵磷脂(国药集团化学试剂有限公司),大鼠胃动素 ELISA 测定试剂盒、大鼠血管活性肠肽 ELISA 测定试剂盒、大鼠 P 物质 ELISA 测定试剂盒(上海西唐生物科技有限公司)、一氧化氮试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

1.2 仪器 Neofuge 15R 型台式高速冷冻离心机(Heal force 公司),Var10skan Flash 荧光酶标仪(Thermo scientific 公司),Wellwash 4mk2 型洗板机(Labsystems dragon 公司),JX-FSTPRP-48 型电动匀浆机(上海净信公司)。

1.3 动物 SD 大鼠,清洁级,雄性,体重 180~220 g,购自上海实验动物中心。清洁级动物房饲养,恒温(25±2)℃恒湿,人工光照 12 h,黑暗 12 h,自由进食饮水。

2 方法

2.1 试剂及中药合剂配制 吗丁啉的配制:将 10 mg 吗丁啉碾磨成粉状后,溶于 10 mL 生理盐水中,配制成 1 mg/mL 的吗丁啉混悬液用于灌胃,现用现配。反流液的配制:以牛胆酸钠 5 g,胰酶 3 g,卵磷脂 0.5 g 溶于生理盐水 200 mL 中,充分搅拌并混匀,用于大鼠灌胃,现用现配。纳达合剂配制:纳达合剂以临床成人用量的 5 倍、10 倍、15 倍浓缩成低、中、高剂量用于灌胃,现用现配。

2.2 BRG 大鼠血清胃动素、血管活性肠肽,胃黏膜 P 物质、一氧化氮的测定 胆汁反流性胃炎模型制备:根据大鼠体重将其随机分为 6 组,10 只每组,共 60 只,按下述方法给予灌胃:对照组:生理盐水 15 mL/kg(1~8 周)+生理盐水 15 mL/kg(5~8 周);模型组:反流液 15 mL/kg(1~8 周)+生理盐水 15 mL/kg(5~8 周);纳达低剂量组:反流液 15 mL/kg(1~8 周)+纳达低剂量 15 mL/kg(5~8 周);纳达中剂量组:反流液 15 mL/kg(1~8 周)+纳达中剂量 15 mL/kg(5~8 周);纳达高剂量组:反流液 15 mL/kg(1~8 周)+纳达高剂量 15 mL/kg(5~8 周);吗丁啉组:反流液 15 mL/kg(1~8 周)+吗丁啉 10 mg/kg(5~8 周)。

大鼠给药完毕后,禁食不禁水 24 h,乌拉坦腹腔

麻醉后开腹,于腹主动脉采血并摘取全胃,用生理盐水漂洗后滤纸吸干剩余血液,并沿胃大弯侧将胃剪开,去除胃内容物后,做常规标本取材,按照试剂盒说明(大鼠胃动素、血管活性肠肽、一氧化氮、P 物质检测试剂盒),用 ELISA 法测定大鼠血清中胃动素、血管活性肠肽,胃黏膜 P 物质;用比色法测定一氧化氮的含量。

2.3 统计学方法 应用 SPSS 18.0 统计软件进行统计分析,计量资料采用均数+标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组组间比较采用单因素方差分析及 SNK 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 纳达合剂对 BRG 大鼠胃肠激素的影响 胃肠激素是机体调节胃肠动力的另一种方式,因此,我们通过检测胆汁反流性胃炎大鼠血清与胃黏膜中胃动素与 P 物质的含量,观察纳达合剂对胃肠激素的调节作用。结果显示,模型组较之于对照组,大鼠胃动素与 P 物质显著降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。纳达合剂具有提高大鼠胃动素与 P 物质的作用,且呈剂量依赖性($P < 0.01$)。结果表明,纳达合剂的促胃肠动力效应可能与调节体内胃动素与 P 物质水平密切相关。(表 1)

表 1 纳达合剂对胆汁反流性胃炎大鼠血清胃动素、胃黏膜 P 物质的影响

组别	剂量 (g/kg)	动物数 (n)	胃动素 (pg/mL)	P 物质 (pg/mg prot)
正常对照组	-	10	273.77 ± 20.99	163.61 ± 13.76
模型组	-	10	215.80 ± 12.80**	64.65 ± 9.35**
纳达低剂量组	12.75	10	238.67 ± 14.57##	84.47 ± 10.05##
纳达中剂量组	25.5	10	253.36 ± 13.67##	122.88 ± 7.88##
纳达高剂量组	38.25	10	266.82 ± 11.74##	138.69 ± 11.17##
吗丁啉组	0.33	10	263.51 ± 12.50##	131.76 ± 11.93##

注:**与对照组比较具有显著差异($P < 0.01$);##与模型组比较具有显著差异($P < 0.01$)。

表 2 纳达合剂对胆汁反流性胃炎大鼠血清血管活性肠肽、一氧化氮的影响

组别	剂量 (g/kg)	动物数 (n)	血管活性肠肽 (pg/mL)	NO (umol/g prot)
正常对照组	-	10	65.28 ± 10.74	2.53 ± 0.47
模型组	-	10	112.93 ± 15.83**	4.68 ± 1.66**
纳达低剂量组	12.75	10	99.76 ± 11.57##	3.97 ± 0.95##
纳达中剂量组	25.5	10	87.41 ± 13.41##	3.26 ± 0.79##
纳达高剂量组	38.25	10	74.55 ± 12.32##	2.82 ± 1.03##
吗丁啉组	0.33	10	80.27 ± 9.65##	3.04 ± 1.28##

注:**与对照组比较具有显著差异($P < 0.01$);##与模型组比较具有显著差异($P < 0.01$)。

3.2 纳达合剂对 BRG 大鼠胃肠激素(VIP、NO)的影响 血管活性肠肽是一种重要的抑制性胃肠激素,而 NO 的产生可增强 VIP 的释放。因此,我们通过检测胆汁反流性胃炎大鼠血清与胃黏膜中 VIP 与

NO 的含量,观察纳达合剂对胃肠激素的调节作用。结果显示,模型组较之于对照组,大鼠 VIP 与 NO 显著升高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。纳达合剂具有降低大鼠 VIP 与 NO 的作用,且呈剂量依赖性($P < 0.01$)。结果表明,纳达合剂的促胃肠动力效应可能与降低大鼠 VIP 与 NO 水平密切相关。(表 2)

4 讨论

胆汁反流性胃炎是由于十二指肠内容物反流至胃,且未得到立即清除,造成胃黏膜损伤、炎性反应发生的一种疾病。因此,十二指肠逆行蠕动的增加、幽门功能下降,胃窦清除能力降低都提高了胆汁反流的可能性^[7-8]。另外,胃排空延迟增加了胆汁与胃黏膜的接触时间,从而引起 BRG 的发生。

胃肠激素是机体调节胃肠动力的另一种方式。而 MTL、P 物质、VIP 作为重要的胃肠道激素,其作用于胃肠组织,其通过相互影响及协同作用,从而完成胃肠道分泌及运动功能^[9]。

胃动素的产生与小肠黏膜隐窝以及绒毛中的 Mo 细胞周期性分泌作用有关^[10],其具有推动消化道运动的作用^[11]。MTL 通过结合胃动素受体,使胃肠平滑肌收缩加强,从而加速胃内容物的排空,而且可以缩短食物在小肠内的停留时间。MTL 促使胃肠发生 MMC III 相活动,加速胃的排空,使消化道内残留物、病菌以及组织碎片等被排除,此作用即所谓的“清道夫”效应。

P 物质是一种神经肽,其广泛分布于神经纤维内,属于速激肽家族,主要具有收缩胃肠道平滑肌,促进胃肠运动的作用。外周 P 物质存在于整个消化道中,主要由黏膜下神经丛以及肌间神经丛释放,通过两种不同的机制促进消化道平滑肌收缩。其一,P 物质和消化道平滑肌质膜上的 P 物质受体相结合后升高胞质中第二信使 cAMP 的水平,使胃肠道收缩。其二,P 物质通过拟胆碱样作用,促使平滑肌收缩。

血管活性肠肽是神经递质的一种,主要存在于中枢神经和肠神经系统中,其具有抑制胃蠕动和胃酸分泌、促进胰岛素分泌等作用。在胃肠道中,VIP 主要以神经递质的方式发挥局部作用,它通过促进靶细胞合成 NO 而使胃肠平滑肌和胃肠括约肌舒张,从而维持正常的胃肠下行蠕动;并且其能促进分泌和吸收功能,可促进肠道水及电解质的分泌^[12],刺激胰液以及小肠液的产生。

一氧化氮在胃肠平滑肌中是 ATP、VIP 等公认 NANC 神经递质引起松弛的最终递质^[13]。NO 的产生可增加 VIP 的释放,而 NO 的释放又是通过 VIP

的作用实现的,两者协同促使胃肠平滑肌和胃肠括约肌的舒张^[14]。

当前,西医学治疗 BRG 的常用药物^[15-16]有质子泵抑制剂、H₂ 受体拮抗剂、促动力药、胃黏膜保护剂等。临床上,应用以上这几类药物,可以在一定程度上缓解症状,但疗效单一,往往需要配合使用,增加了出现药物毒副作用的可能性。而中医药在治疗 BRG 上具有其特有的优势及疗效。

胆汁反流性胃炎本病归属于中医学之“胃脘痛”“嘈杂”“呕吐”“胆瘕”等范畴。本病病因主要与外感邪气、饮食失调、七情失和、久病体虚等因素有关,气机不利、胃失和降是发病的基本病机。纳达合剂其主要成分为:北沙参,麦冬,黄连,天花粉,黄芩,元胡,甘草,制半夏,广木香,玉竹,海螵蛸,枳壳,蒲公英,芙蓉叶,代赭石等。本方功效为养阴清胃、降逆理气,是治疗慢性胃炎的常用方,广泛应用于慢性胃炎患者,包括慢性浅表性胃炎、胆汁反流性胃炎、非溃疡性消化不良等疾病。本科室自 1993 年起对该方进行临床研究发现纳达合剂治疗非溃疡性消化不良 62 例总有效率达到 95.2%,并且发现加味纳达合剂对胆汁反流性胃炎合并黄疸亦具有良好的临床疗效^[17-18]。因此,本实验通过检测 BRG 大鼠血清胃动素、血管活性肠肽,胃黏膜 P 物质及一氧化氮含量变化。进一步探讨纳达合剂的促胃肠动力机制。实验结果研究发现,纳达合剂能够显著提高 BRG 大鼠血清胃动素及胃黏膜 P 物质含量,且能够显著降低胆汁反流性大鼠血清 VIP 及 NO 含量。

综上所述,纳达合剂具有调节胃肠激素分泌,促进胃肠动力的作用。这为临床上纳达合剂治疗 BRG 提供了现代药效学基础,为我们进一步扩大纳达合剂临床适应症、加速纳达合剂的临床推广提供了实验依据,为现代中药复方的发展提供了技术方法学的支撑。

参考文献

- [1] Nakamura M, Haruma K, Kamada T, et al. Duodenogastric reflux is associated with antral metaplastic gastritis [J]. *Gastrointest Endosc*, 2001, 53(1): 53-59.
- [2] Chan DC, Fan YM, Lin CK, et al. Roux-en-Y reconstruction after distal-gastrectomy to reduce enterogastric reflux and Helicobacter pylori infection [J]. *J Gastrointest Surg*, 2007, 11(12): 1732-1740.
- [3] Girelli CM, Cuvello P, Limido E, et al. Duodenogastric reflux: an update [J]. *Am J Gastroenterol*, 1996, 91(4): 648-653.
- [4] Dai F, Gong J, Zhang R, et al. Assessment of duodenogastric reflux by combined continuous intragastric pH and bilirubin monitoring [J]. *World J Gastroenterol*, 2002, 8(2): 382-384.

(下接第 122 页)

本实验通过研究消瘦散结胶囊对 S180 肉瘤小鼠模型和小鼠耳肿胀模型的影响,证实消瘦散结胶囊在不同剂量下均有一定的抑瘤作用,以高剂量组作用最明显,量效关系呈现正性相关,高剂量组平均抑瘤率优于阳性对照药逍遥丸组,并且消瘦散结胶囊对小鼠炎性反应有显著的抗炎作用,可以显著降低小鼠耳廓肿胀,以上作用是其发挥临床作用的药理学基础。

参考文献

- [1] 王北婴,李仪奎. 中药新药研制开发技术与方法[M]. 上海:上海科学技术出版社,2001:738-739.
- [2] 徐淑云,卞如瀛,陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2002:911.
- [3] 史青,聂淑琴,黄璐琦,等. 柴胡属植物化学成分及药理研究新进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2002,8(5):53-56.
- [4] 杨辉,杨亮,蒋玲. 柴胡、竹叶柴胡对小鼠的抗炎镇痛作用研究[J]. 中国药房,2012,23(47):4442-4444.
- [5] 王丽娜,汪巍,徐驰,等. 柴胡醋制前后抗炎作用比较研究[J]. 中成药,2013,35(5):1079-1081.
- [6] 丁平,田友清,陈国胜,等. 香附油滴丸抗炎镇痛作用及其物质基础研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(20):172-176.
- [7] 邓远辉,刘瑜彬,罗淑文,等. α -香附酮的分离及其解热镇痛作用研究[J]. 中药新药与临床药理,2012,23(6):620-623.
- [8] 蒙雯雯,黄雪梅,卢德成,等. 夏枯草联合山慈姑对甲状腺癌细胞的抗增殖作用[J]. 中国现代医学杂志,2012,22(28):46-50.
- [9] 孟祥虎,刘博,尹春萍,等. mfn2 基因在猫爪草皂苷、红三叶异黄酮治疗乳腺癌中的作用机制研究[J]. 中国药师,2011,14(9):1243-1245.
- [10] 刘帅,梁铁军,王爱武,等. 猫爪草皂苷对高转移肝癌细胞株 HC-CLM3 及 MHCC97-H 增殖的影响[J]. 山东医药,2015,55(6):8-10.
- [11] 刘艳,施文荣,涂春香,等. 市售壁虎不同剂型对 S180 荷瘤小鼠作用的实验研究[J]. 中华中医药杂志,2010,25(9):1387-1389.
- [12] 陈玉,冯大刚,胡荣,等. 半枝莲和白花蛇舌草总多糖对 S180 荷瘤小鼠的抗肿瘤作用研究[J]. 新中医,2013,45(5):171-174.
- [13] 杨姗姗,木艳,张秀娟. 半枝莲多糖的纯化及对 S180 小鼠体内抗肿瘤的作用[J]. 江苏农业科学,2012,40(5):249-251.
- [14] 邹明畅,盛玉青,崔飞伦. 昆布多糖硫酸酯对荷瘤小鼠前列腺癌的抑瘤作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(17):223-225.
- [15] 付彦君,张效禹. 昆布提取物对小鼠免疫功能及抗疲劳能力的影响[J]. 天津中医药大学学报,2013,32(4):214-216.
- [16] 徐士勋,周燊,绪扩,等. 鳖甲水提物和醇提物对单胺氧化酶活性影响的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(1):139-142.
- [17] 孔菲菲,李水清,李捷,等. 鳖甲水提液对小鼠急性酒精性肝损伤的保护作用[J]. 湖北中医药大学学报,2014,6(5):38-40.
- [18] 高越颖,冯磊,邱丽颖. 王不留行提取物对 H22 荷瘤小鼠的抗肿瘤作用研究[J]. 中药材,2015,38(1):152-154.
- [19] 马丽萍,邱丽颖,冯磊,等. 王不留行提取物抑制人微血管内皮细胞活性的研究[J]. 中成药,2013,35(11):2315-2319.

(2015-05-04 收稿 责任编辑:张文婷)

(上接第 119 页)

- [5] Maev IV, Samsonov AA, Vorobev LP, et al. Motorand secretion function of stomach and duodenum, duodenogastricrefluxin patients with duodenal ulcer[J]. Klin Med(Mosk), 2000,78(6):39-42.
- [6] Mason RJ, DeMeester TR. Importance of duodenogastric reflux in the surgical outpa-tientpractice [J]. Hepatogastroenterology, 1999, 46(25):48-53.
- [7] 杜立峰,展淑琴,郭新奎. P 物质、血管活性肠肽与异常胃肠通过的关系[J]. 西安交通大学学报:医学版,2003,24(4):363-364.
- [8] 杨名友,陈幼祥,谢勇,等. 胃肠动力学与胃肠激素关系的研究进展[J]. 实用临床医学,2005,6(4):140-142.
- [9] Camilleri M. Review article: tegaserod [J]. Alimentary Pharmacology&Therapeutics,2001,15(3):277-289.
- [10] Polak JM, Pearse AG, Heath CM. Complete identification of endocrine cells in the gastrointestinal tract using semithin-thin sections to identify motilin cells in human and animal intestine[J]. Gut 1975, 16(3):225-229.
- [11] 谭康联,陈志强. 胃动素用于胃肠功能评价的研究进展[J]. 世界华人消化杂志,2011(2):156-160.
- [12] Evangelisla S. Involvement of tachykinins in intestinal inflammation [J]. Cure Phanll Des,2001,7(1):19-30.
- [13] 张经济,连至诚,许冠荪,等. 消化道生理及病理生理学——基础与临床[M]. 广州:广东科技出版社,1997:50-56.
- [14] 马淑颖,朱生梁,程艳梅,等. 疏肝和胃方对混合反流性食管炎大鼠一氧化氮合酶和血管活性肠肽的影响[J]. 山西中医,2006,22(1):48-50.
- [15] 张万岱,曾锦章. 胆汁反流性胃炎的病因病机和诊治进展[J]. 现代消化及介入诊疗,2004,9(1):31-34.
- [16] 童桂法. 胆汁反流性胃炎的诊断与治疗探讨[J]. 浙江临床医学,2002,4(1):27-27.
- [17] 余莉芳. 纳达合剂治疗非溃疡性消化不良 62 例临床观察[J]. 中国中西医结合消化杂志,1995,3(2):92-93.
- [18] 刘晏,吴坚炯,李琼,等. 加味纳达合剂治疗胆汁反流性胃炎合并黄疸的临床观察[J]. 中成药,2012,34(12):2462-2464.

(2015-10-09 收稿 责任编辑:张文婷)