

doi:10.3969/j.issn.1671-038X.2016.02.04

康复新液对氩等离子凝固术所致大鼠胃黏膜损伤的实验研究

阴 俊¹, 王进海¹, 高小利², 邵 晖¹, 张新娟²

(¹西安交通大学第二附属医院 消化内科, 陕西 西安 710004;

²西安交通大学医学院, 陕西 西安 710061)

摘要: [目的] 本实验旨在观察热损伤所致胃人工溃疡的特点及康复新液对氩等离子凝固术诱导的大鼠胃人工溃疡的疗效。[方法] 选取 SD 大鼠 50 只, 雌雄各半, 体重约 200 g, 其中 42 只采用氩等离子(电凝指数 A50, 氩气流量 2.0 L/min, 输出功率 60 W)灼烧大鼠胃黏膜造成胃人工溃疡, 建立胃人工溃疡大鼠模型, 8 只仅做手术不灼烧胃黏膜。1 周后共存活 40 只(其中仅做手术不灼烧胃黏膜的存活 6 只, 灼烧胃黏膜的存活 34 只)。随机选取 5 只灼烧胃黏膜的大鼠解剖, 取出胃组织肉眼观察溃疡形态及病理组织学检测。将剩余 35 只大鼠分为 6 组: 正常对照组(6 只); 模型组(6 只); 阳性对照组(6 只); 康复新组大剂量组(6 只); 康复新中剂量组(6 只); 康复新小剂量组(5 只)。治疗组给予康复新液灌胃, 阳性对照组给予铝碳酸镁片灌胃。治疗 1 个月后, 取各组动物血液及溃疡部位组织, 检测血常规、组织病理学检查以及血清 EGF、胃组织 bFGF 表达。[结果] 胃溃疡模型中大鼠的胃组织可见灼烧部位胃壁有明显的凹陷、不平整、存在充血和出血的现象, 但无穿孔。经康复新液治疗后明显好转, 溃疡面缩小, 无一例出血和红肿, 溃疡面几乎平整。此外, 康复新液治疗组较未治疗组, 白细胞、红细胞、血小板均具有明显的升高趋势($P < 0.05$), 而苏木精-伊红染色法检测发现, 大剂量的康复新液处理胃溃疡的大鼠后, 胃组织中炎症细胞浸润减少, 炎症反应得到了明显的缓解。正常对照组大鼠 EGF、bFGF 的表达为弱阳性, 溃疡模型组为强阳性表达。康复新液治疗组和西药治疗组均能较正常对照组明显增加大鼠血清中 EGF 和胃组织 bFGF 水平, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。[结论] 康复新液对大鼠胃人工溃疡有显著疗效, 且呈一定剂量相关性。康复新液、大剂量组对氩等离子诱导的大鼠胃人工溃疡疗效优于铝碳酸镁。康复新液能够通过升高胃组织内 bFGF 含量来促进氩等离子凝固术诱导的胃人工溃疡的愈合。

关键词: 康复新液; 胃黏膜损伤; 生长因子; 治疗

中图分类号: R573

文献标志码: A

文章编号: 1671-038X(2016)02-0095-04

Effects of Kangfuxin Liquid on gastric mucosal injury in rats induced by argon plasma coagulation

YIN Jun¹, WANG Jin-hai¹, GAO Xiao-li², SHAO Hui¹, ZHANG Xin-juan²

(¹Department of Gastroenterology, the Second Hospital Affiliated to Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China; ²Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China)

Corresponding author: WANG Jin-hai, E-mail: jinhaiwang@hotmail.com

Abstract: [Objective] To observe the characteristics of the artificial stomach ulcers caused by thermal damage and Kangfuxin Liquid of argon plasma coagulation induced rat gastric ulcer the curative effect of artificial. [Methods] Fifty SD rats were randomly selected, of which 42 with argon plasma (electric coagulation index A50, argon gas flow rate of 2.0 L/min, the output power of 60 w) burn rat gastric mucosa caused by artificial stomach ulcer, establish artificial stomach ulcer model in rats, 8 surgery not only burn gastric mucosa. Coexistence 40 only after 1 week (only for surgery don't burn the survival of the gastric mucosa 6, burning the survival of the gastric mucosa 34 only). Randomly selected five burning anatomy of the gastric mucosa of rats, remove the stomach tissue formation and histopathological examination confirmed that macroscopic observation ulcer ulcer, building success. The experimental group and use: the re-

收稿日期: 2015-07-27

通讯作者: 王进海, E-mail: jinhaiwang@hotmail.com

maintaining 35 only rats were divided into 6 groups: normal control group (6); the model groups (6 saline lavage); positive control group (6 hydrotalcite lavage); Kangfuxin Liquid group high-dose group (6); Kangfuxin Liquid dose group (6); Kangfuxin Liquid low-dose group (5). Positive control group were treated with Hydrotalcite Tablets, and treatment groups were given Kangfuxin Liquid. One month later, blood samples were taken for blood routine test, detection of EGF expression, and ulcer tissues of each group were taken for detection of bFGF expression, histopathologic morphology and HE staining. [Results] The burning parts of the stomach in model group were sagged and uneven, with congestion and bleeding, but no perforation. The phenomena were significantly improved after treatment of Kangfuxin Liquid, with no bleeding or swelling, and ulcers almost flat. In addition, compared with the untreated group, Kangfuxin Liquid significantly increased the white blood cells, red blood cells and platelets ($P < 0.05$). HE staining showed that lymphocyte infiltration in stomach tissue reduced after treatment with high-dose Kangfuxin Liquid, and inflammatory response was significantly alleviated. The expression of EGF and bFGF were weak positive in the normal control group and strong positive in model group. Compared with the control group, the level of EGF in serum and bFGF in gastric tissue were significantly increased in the KangFuxin Liquid and western medicine treatment group ($P < 0.05$). [Conclusion] Kangfuxin Liquid of argon plasma coagulation technique of the artificial stomach ulcer of rats induced by significant curative effect, and a certain dose of relevance. Kangfuxin Liquid large dose group of the artificial stomach ulcer of rats induced by argon plasma curative effect is better than that of aluminum and magnesium carbonate. Kangfuxin Liquid through increased gastric tissues bFGF content to promote the argon plasma coagulation technique induced gastric ulcer healing.

Key words: Kangfuxin Liquid; gastric mucosal injury; growth factor; treatment

近年来,随着内镜下微创治疗技术的进展,其在治疗胃隆起性病变(如胃息肉)及早期胃癌的方面得到了广泛的应用^[1-3]。氩气刀的最早应用要追溯到上世纪80年代,人们发现它可以用于开放性外科手术止血。随着科技的发展,特殊导管的出现,1991年,Wahab等^[4]首次在内镜治疗中应用氩气刀探头,随着技术的不断完善和成熟,氩气刀逐渐成为临床中一项常见技术。但治疗的同时伴有的热损伤,即其所诱发医源性溃疡未引起足够的重视。20世纪80年代,李树楠用有机溶剂提取蟑螂体内的活性物质“表皮生长因子”精制而成一种新型药物,又称作康复新液^[5-7]。康复新液是来源于蜚蠊科美洲大蠊的提取物,干燥虫体的乙醇提取液中分离、精制而成的一种生物制剂,能够补气养阴、理气散结、解毒生肌,属于天然药^[8-10]。康复新液的主要成分包括多种活性物质,如粘多糖、多元醇类、表皮生长因子、氨基酸、肽类等^[11],具有消肿、抗炎、促进细胞增殖以及新生肉芽组织增长的功能。现代药理研究发现,康复新液具有改善局部微循环,加速损伤组织修复,降低胃液酸度,消除炎性水肿以及抗炎,修复胃肠道黏膜的作用,且还可以缩短溃疡修复时间以及促进黏膜再生及纤维化,以提高消化性溃疡愈合质量。本研究采用氩等离子体灼烧大鼠胃黏膜造成胃黏膜损害,并且建立胃溃疡大鼠模型;然后在胃溃疡大鼠模

型的基础上,研究康复新液在治疗对氩等离子凝固术诱导的大鼠实验性人工溃疡组织结构的影响及胃黏膜组织中的纤维细胞生长因子(basicity fibroblast growth factor, bFGF)及其表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)表达的影响。现报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料选择

健康SD大鼠50只,体重(200±20)g,雌雄各半,由西安交通大学医学院实验动物中心提供。药物:康复新液;铝碳酸镁片。试剂和仪器:大鼠EGF酶联免疫分析试剂、大鼠碱性成bFGF酶联免疫分析试剂。

1.2 方法

术前禁食不禁水12h,用20%乌拉坦麻醉,仰卧固定在手术台上,剪毛备皮,在剑突下剖开腹腔约2cm,轻轻钳出胃,在胃大弯处切开约1cm的小口,清洁胃内容物,轻轻从创口将胃翻开暴露胃黏膜,用氩气刀灼烧胃底部,轻踏脚踏开关3次,持续时间约3~5s,灼烧面积约0.5cm²,烧至胃黏膜发白、发黑为度,并能嗅到烧焦糊的味道,然后用可吸收肠线缝合胃壁,再用丝线缝合肌肉及皮肤,用碘伏消毒皮肤后腹腔注射青霉素抗感染。造模1周后开始治疗,将手术后成活的动物随机分为5组(正常对照组除外),正常对照组灌胃给予等容量生理盐水(0.4

ml/100 g);阳性组按 0.4 g/kg 给予铝碳酸镁片混悬液 0.4 ml/100 g;模型组给予等容量生理盐水;康复新治疗大剂量组灌胃给予 4 ml/kg,中剂量组灌胃给予 2 ml/kg,小剂量组灌胃给予 1 ml/kg,。治疗 4 周后处理动物,处理前禁食 12 h。

各组大鼠模型用康复新液/西药治疗后的 28 d (相当于进行大鼠造模后的 35 d),然后将所有实验动物用 20%乌拉坦麻醉后,手术打开腹腔。①进行腹主动脉抽血,收集 1 ml 血液进行血常规检测。以分析康复新液对氩气刀所致胃溃疡大鼠的血常规的影响。②取溃疡部位胃组织一小块做病理学检查。③收集 5 ml 血液并保存于保存在含有肝素的抗凝管中,在 4℃ 条件下 1 000 g 离心 15 min,分离出血清即可进行相应检测(如果不能立即进行检测,可以将分离出的血清分装保存在-20℃,长期保存冻存在-80℃冰箱),使用 ELISA 法检测血清中 EGF 蛋白的浓度,具体操作方法和步骤实验步骤严格按照试剂盒里面附带的说明书进行。④取出胃组织,浸泡在生理盐水数分钟,待胃器官的血液洗干净后,放入研磨将胃组织研碎以收集胃组织匀浆液,在 4℃

条件下 1 000 g 离心 15 min,分离出匀浆液即可进行相应检测(如果不能立即进行检测,可以将分离出的匀浆液分装保存在-20℃,长期保存冻存在-80℃冰箱),使用 ELISA 法检测胃组织匀浆液中 bFGF 蛋白的浓度,具体操作方法和步骤实验步骤严格按照试剂盒里面附带的说明书进行。结果分析方法用 Excel 软件画标准曲线,以浓度为横坐标,以 OD 值为纵坐标,做 X,Y 散点图。根据标准曲线公式,把样品测量出来的 OD 值作为 Y 值,计算浓度即可。

1.3 统计学处理

所有的统计学分析均采用统计学软件 SPSS 13.0 进行分析,实验各组设置数个独立重复,各组数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两两比较用单因素方差分析和 *t* 检验分析相应数据。采用检验水准 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血常规检测

模型组和康复新液中剂量组与对照组比较白细胞升高明显,淋巴细胞、红细胞、血小板无明显变化。见表 1。

表 1 康复新液对各组大鼠的血常规影响

10⁻⁹/L

组别	例数	白细胞	红细胞	血小板	淋巴细胞
正常对照组	6	2.848±0.522	8.194±0.649	849.0±125.2	2.472±0.782
模型组	6	4.278±0.518	9.008±0.589	987.3±78.2	3.153±0.686
阳性组	6	3.733±0.538	8.787±0.24	968.0±77.3	2.620±0.573
小剂量组	5	3.450±0.575	8.745±0.458	928.8±161.3	2.538±0.328
中剂量组	6	4.623±0.831	9.013±0.784	998.3±111.1	2.380±0.627
大剂量组	6	3.42±0.420	7.783±0.591	875.3±93.8	2.430±0.895

2.2 病理组织形态学检测

康复新液治疗 4 周后观察溃疡面较其他各组明显缩小,无一例出血和红肿,溃疡面几乎平整,且随剂量的增加效果更明显;与其他各组比较康复新液治疗组胃组织中炎症细胞浸润减少,炎症反应得到了明显的缓解,并随着剂量增加效果更明显。

2.3 康复新液对实验各组 EGF、bFGF 的蛋白水平含量的影响

正常对照组大鼠 EGF 的表达为弱阳性,溃疡模型组为强阳性表达,说明该试验造模成功。治疗组和阳性治疗组血清阳性表达的细胞逐渐增多。康复新治疗组大剂量和阳性治疗组表达强于正常对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$),康复新治疗组与阳性组比较差异无统计学意义。此外,bFGF 在正常胃组织中为弱阳性,在模型组大鼠胃组织中含

量明显高于正常对照组($P<0.01$),在各治疗组中也均高于正常组,中剂量和大剂量组含量最高($P<0.01$)。见表 2。

表 2 康复新液对各组大鼠胃黏膜损伤的影响(BFGF、EGF)

ng/L

组别	例数	胃组织匀浆液 bFGF 含量	血清中 EGF 含量
正常对照组	6	0.1105±0.1235	0.1310±0.1267
模型组	6	0.1542±0.0937	0.2312±0.0763
阳性组	6	0.1394±0.126	0.1903±0.0877
小剂量组	5	0.0994±0.0672	0.1248±0.1442
中剂量组	6	0.1754±0.142	0.1092±0.09573
大剂量组	6	0.1866±0.1106	0.1689±0.06

3 讨论

近年来,随着内镜下治疗(如氩等离子凝固术、EMR、ESD等)愈来愈多,热损伤所致的医源性溃疡也愈来愈多见。虽然临床实践已证实,康复新液对常见胃溃疡创伤的修复具有独到的促进作用,但是对热灼伤所致溃疡的疗效如何,研究甚少。康复新液在功能上具有消肿、抗炎、促进细胞增殖以及新生肉芽组织增长的作用,不仅可以加快坏死组织脱落、加速病损组织修复,而且还能迅速修复各类溃疡及创伤创面,提高机体免疫功能等。现代药理研究发现,康复新液具有改善局部微循环,加速损伤组织修复,抗炎及消除炎性水肿,修复胃肠道黏膜等的作用,不仅可以缩短溃疡修复时间,而且还能促进黏膜纤维化及再生,提高消化性溃疡愈合质量,是一种全新的提高人体免疫力、改善创面微循环、消除非特异性炎症的创面修复药。因此,通过深入研究康复新液对氩等离子凝固术后所致溃疡创伤愈合过程中关键酶、生长因子和细胞因子表达的影响,将会进一步揭示其促进热灼伤溃疡愈合的作用机制,为热灼伤所致溃疡的康复治疗奠定扎实的理论基础。

EGF是一种具有促进上皮增殖、组织修复抑制、细胞保护和胃酸分泌作用的内源性物质,在维持胃肠黏膜完整性以及保护胃黏膜抵抗损伤因子破坏方面起着举足轻重的作用,是近年来发现的在细胞分化和增殖中发挥作用的关键分子。bFGF是一种由146个氨基酸组成的阳离子多肽生长因子,是一种单链多聚肽,存在于正常胃黏膜。它具有促分裂、促分化作用,能促进血管生成和胚胎发育;另外,bFGF作为一种重要的促有丝分裂原,可以直接作用于组织修复细胞(如成纤维细胞)周期,使细胞周期缩短,促进细胞的增殖和分裂。研究显示,局部应用外源性bFGF能通过促进胃溃疡组织微血管形成而加速溃疡愈合,而bFGF特异性中和抗体则可显著减少溃疡底部微血管数量和溃疡边缘血流量,从而延缓胃溃疡愈合过程。目前有关内源性bFGF的研究也取得了一定成就。有学者研究了内源性bFGF在胃溃疡愈合过程中的表达情况,发现其在正常胃黏膜中呈弱阳性,急性期呈强阳性,而在愈合阶段其表达逐渐减弱。研究显示,EGF和bFGF对胃溃疡的愈合以及愈合质量起着极其重要的作用^[12],而同时又能影响肿瘤坏死因子的表达,加速已损害的组织凋亡脱落^[13],促进创面更新修复^[14]。

本试验用氩气刀烧伤大鼠胃黏膜,造成溃疡模型,采用康复新液进行治疗,观察其治疗效果,检测EGF、bFGF两个因子,研究其在溃疡修复期的表达,探讨康复新液治疗胃溃疡的作用机制。结果发

现康复新液对大鼠胃溃疡有较好的治疗作用,EGF、bFGF在正常大鼠血清及胃黏膜中为弱阳性表达,在溃疡修复期呈阳性表达。

参考文献

- [1] BAUD D, WINDRIM R, KACHURA J R, et al. Minimally invasive fetal therapy for hydropic lung masses: three different approaches and review of the literature [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2013, 42:440-448.
- [2] BRAUN A, RICHTER-SCHRAG H J, FISCHER A, et al. Minimally invasive therapy of perforations at the esophagogastric junction by over-the-scope clipping [J]. *Endoscopy*, 2013, 45:E133-134.
- [3] SACKS D, BLACK C M, COGNARD C, et al. Multisociety consensus quality improvement guidelines for intraarterial catheter-directed treatment of acute ischemic stroke, from the American Society of Neuroradiology, Canadian Interventional Radiology Association, Cardiovascular and Interventional Radiological Society of Europe, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society of Interventional Radiology, Society of NeuroInterventional Surgery, European Society of Minimally Invasive Neurological Therapy, and Society of Vascular and Interventional Neurology [J]. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2013, 34:E0.
- [4] WAHAB P J, MULDER C J, den HARTOG G, et al. Argon plasma coagulation in flexible gastrointestinal endoscopy: pilot experiences [J]. *Endoscopy*, 1997, 29: 176-181.
- [5] 李树楠, 张华明. 美洲大蠊稳定性的实验研究 [J]. 大理医学院学报, 1994, 3(4):9-11.
- [6] 李树楠, 李 辉, 张华明, 等. 美洲大蠊中促进肉芽生长成份的研究 [J]. 云南医药, 1987, 30(3):174-177.
- [7] 李树楠. 蟑螂之妙用 [J]. 云南中医杂志, 1981, 2(5): 25-25.
- [8] 王 良, 黄秀深, 陈 瑾, 等. 康复新液促进慢性胃溃疡愈合作用的研究 [J]. 四川中医, 2011, 30(7):33-35.
- [9] 陈 新, 王 洪, 张艳萍. 康复新液的最新临床应用 [J]. 中国医药指南, 2008, 6(17):89-96.
- [10] 张 俊, 孟令贺, 单士军, 等. 康复新液对实验性大鼠皮肤切割伤愈合的影响 [J]. 天津医科大学学报, 2014, 20(3):192-195.
- [11] 李 勇, 吴洪文, 董向军. 康复新液治疗胃溃疡的作用机制 [J]. 中国药物与临床, 2008, 8(6):495-496.
- [12] 李廷荃, 马贵同, 赵晋明. 丹参对大鼠胃溃疡愈合过程中碱性成纤维细胞生长因子及其受体表达的影响 [J]. 上海中医药杂志, 2005, 51(12):51-53.
- [13] 王 玮, 孙 梅. 胃肠黏膜抗损伤和修复新进展 [J]. 世界华人消化杂志, 2005, 13(19):2355-2359.
- [14] 刘 玮, 潮欣宜, 胡焕明, 等. 金葵胃药对大鼠胃黏膜保护作用的实验研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(1):39-40.