

吲哚美辛对大鼠胃功能的影响及作用机制研究

刘静¹, 胡金芳^{1,2}, 刘兆凤², 申秀萍^{1*} (1.天津药物研究院, 天津 300193; 2.天津中医药大学, 天津 300193)

摘要: 目的 研究吲哚美辛对大鼠胃酸分泌及胃蛋白酶活力的影响及其作用机制。方法 大鼠分为对照组和吲哚美辛低、中、高剂量组。测定各组大鼠胃酸分泌量及胃蛋白酶活力, 测定血清胃泌素含量。结果 吲哚美辛可显著增加胃酸分泌量、增加胃酸分泌速度及增加胃蛋白酶活力, 促进胃泌素分泌。结论 吲哚美辛可显著促进胃酸分泌, 增加胃蛋白酶活力, 这与其促进胃泌素分泌有关。

关键词: 吲哚美辛; 胃溃疡; 胃蛋白酶; 胃泌素; 胃酸分泌

中图分类号: R965.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2011)12-1074-03

Effects of Indomethacin on Function of Stomach in Rats and its Mechanism

LIU Jing¹, HU Jingfang^{1,2}, LIU Zhao Feng², SHEN Xiuping^{1*} (1.Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China; 2.Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the effects of indomethacin on function of stomach in rats and its mechanism. **METHODS** Rats were randomly divided into control group, low-, middle- and high-dose of indomethacin groups. The gastric acid secretion, protease activity and serum gastrin levels were determined. **RESULTS** Compared with control group, indomethacin significantly increased gastric acid secretion, increased the rate of gastric acid secretion and increased pepsin activity, and promoted the secretion of gastrin. **CONCLUSION** Indomethacin could promote gastric acid secretion, increase pepsin activity, which facilitate their secret factors of gastric secretion.

KEY WORDS: indomethacin; gastric ulcer; pepsin; gastrin; gastric acid secretion

吲哚美辛等非甾体抗炎药(NSAIDs)是一类具有抗炎、镇痛作用的药物, 其临床应用广泛。但长期大量服用容易引起对胃肠道的损害^[1], 可引起消化不良、胃肠道黏膜糜烂、消化性溃疡和出血^[2], 甚至危及生命。文献[3-5]表明吲哚美辛等 NSAIDs 引起胃溃疡的机制主要与其抑制环氧合酶, 减少前列腺素(PG)生成及对胃肠粘膜的直接损伤作用有关。为了进一步研究吲哚美辛对胃肠系统的不良反应, 本试验观察了吲哚美辛对大鼠胃功能的影响, 并对其作用机制进行了研究。

1 材料

1.1 药品

吲哚美辛(白色粉末, 批号: 081201, 含量: 99.0%, 由厦门中药厂有限公司提供)。

1.2 试剂

胃泌素 ELISA 测定试剂盒(Adlitteram Diagnostic Laboratories 生产)。

1.3 动物

SD 大鼠, ♂, SPF 级, 体质量 180~200 g,

由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 实验动物许可证号: SCXK(京)2007-0001。动物饲养在天津药物研究院实验动物屏障系统(津实动设施准第 012 号), 实验动物使用许可证号: SYXK(津)2006-0002。设施环境温度维持在 20~25℃, 相对湿度维持在 40%~70%, 通风次数为每小时 10~15 次全新风, 光照为 12 h 明、12 h 暗。食用天津市华荣实验动物科技有限公司生产的大鼠全价营养块料, 饮去离子水。动物的日常饲养管理由动物保障部负责。每日为动物提供足够的块料和新鲜的饮用水。饮水瓶每周灭菌处理 1 次。

1.4 仪器

BIO-RAD 酶标仪(美国 BIO-RAD 公司); DK 型电热恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司); QZX-C 空气浴振荡器(哈尔滨市东明医疗仪器厂)。

2 方法

2.1 对胃液分泌及胃蛋白酶活性的影响

2.1.1 剂量选择依据 吲哚美辛片或吲哚美辛肠

基金项目: 国家科技重大专项(2012ZX09505001-001)

作者简介: 刘静, 女, 硕士, 助理研究员 Tel: (022)23006905

E-mail: liuj@tjipr.com

*通信作者: 申秀萍, 女, 研究员

Tel: (022)84845266

E-mail: shenxp@tjipr.com

溶片临床用于抗风湿、镇痛及退热，而抗风湿需要长期用药，临床成人常用量为一次 25~50 mg，每日 2~3 次，一日最大量不超过 150 mg，以体质量 70 kg 的人用剂量 50 mg·d⁻¹ 计，大鼠体表等效剂量为 4 mg·kg⁻¹，相当于 1/3 的 LD₅₀(12 mg·kg⁻¹)。前期预试验结果显示大鼠灌胃给予吲哚美辛 4 mg·kg⁻¹·d⁻¹，3 d 后动物状态较差，消瘦，个别动物死亡，本实验选用 0.95, 1.9, 3.8 mg·kg⁻¹·d⁻¹ 3 个剂量进行试验，以保证实验当天高剂量组大鼠状态较好。

2.1.2 分组及给药 选用成年健康 SPF 级 SD 大鼠，♂，32 只，随机分为 4 组，分别为对照组和吲哚美辛 0.95, 1.9, 3.8 mg·kg⁻¹·d⁻¹ 3 个剂量组，每组 8 只。大鼠每日灌胃给药 1 次，连续给予 3 d。于末次给药后 40 min(试验前 1 d 禁食 24 h)，戊巴比妥钠麻醉，仰位固定，腹部剃毛，腹部酒精棉球及碘酒消毒后，于剑突下沿正中中线剪一约 1 cm 切口，打开腹腔，用手术线结扎胃幽门及十二指肠连接处，缝合腹腔。术后禁食禁水，4 h 后 20% 乌拉坦麻醉大鼠，剖开切口，结扎胃贲门，取出胃，沿胃大弯剖开，收集胃液，3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min，吸取上清液，进行测定。

2.1.3 测定指标 将上清液全部置于量筒中，读取数值，作为胃液分泌量。取上清液 0.5 mL 置入小锥形瓶中，加入酚酞指示剂一滴，以 0.01 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液滴定至出现红色(颜色不再加深)为终点，按下面公式计算胃酸总酸度及胃酸分泌速度。

表 1 吲哚美辛对胃液分泌的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab 1 The effect of indomethacin on secretion of gastric juice($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	分泌胃液量/mL	胃液总酸度/mmol·L ⁻¹	胃酸分泌速度/ μ mol·h ⁻¹	胃蛋白酶活性单位
对照组	—	4.3±1.6	44±25	46±27	104±14
吲哚美辛	0.95	4.9±2.4	53±24 ³⁾	75±65	333±86 ²⁾
吲哚美辛	1.9	7.0±2.6 ¹⁾	84±23 ³⁾	151±80 ²⁾	359±136 ²⁾
吲哚美辛	3.8	7.1±2.7 ¹⁾	80±34 ³⁾	149±102 ¹⁾	481±134 ³⁾

注：与对照组比较，¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01, ³⁾P<0.001

Note: Compared with control group, ¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01, ³⁾P<0.001

3.2 对血清胃泌素的影响

吲哚美辛 3 个剂量均可显著促进胃泌素分泌，并有明显的量效关系。胃泌素分泌增加，使胃蛋白酶活力增加，胃酸分泌增多，对胃粘膜损伤增加。结果见表 2。

4 讨论

环氧合酶 COX-1 表达于多种正常组织中，在维持正常胃肠道黏膜完整性方面起关键作用的 PG

$$\text{酸度}(\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}) = \frac{\text{NaOH 浓度} \times \text{NaOH 毫升数}}{\text{滴定所取胃液量}} \times 1000$$

$$\text{胃酸分泌速度}(\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1}) = \frac{\text{酸度} \times \text{胃液总量}}{\text{收集胃液时间}}$$

取胃液 2 mL 加入 10 mL 的带塞玻璃瓶中，放入 2.0 cm 长的麦氏蛋白管两根，封好瓶口，在 37 ℃ 恒温箱中孵育 20 h。取出蛋白管，用游标卡尺测量蛋白管两端透明部分的长度，以四端之值求其平均值，按下面公式计算胃蛋白酶活性单位。

$$\text{胃蛋白酶活性单位} = \text{平均值}^2 \times 16$$

2.2 对血清胃泌素的影响

选用成年健康 SPF 级 SD 大鼠，♂，40 只，随机分为 4 组，分别为对照组和吲哚美辛 0.95, 1.9, 3.8 mg·kg⁻¹·d⁻¹ 3 个剂量组，每组 10 只。大鼠每日给药 1 次，连续给予 3 d。于末次给药后 40 min(试验前 1 天禁食 16 h)，戊巴比妥钠麻醉，仰位固定，腹主动脉取血，3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min，吸取上清，ELISA 法测定试剂盒测定胃泌素。

2.3 数据处理

所有实验数据结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用统计软件 SPSS11.5 进行 t 检验。

3 结果

3.1 对胃液分泌及胃蛋白酶活力的影响

胃功能测定结果显示，吲哚美辛能显著增加胃蛋白酶活力，增加胃液分泌量、胃酸总酸度、胃酸分泌速度。胃蛋白酶活力的增加及胃酸分泌增加可导致胃粘膜的损伤。结果见表 1。

表 2 吲哚美辛对血清胃泌素的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Tab 2 The effects of indomethacin on serum gastrin($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	胃泌素/ng·mL ⁻¹
对照组	—	0.744±0.201
吲哚美辛	0.95	1.070±0.239 ¹⁾
吲哚美辛	1.90	1.318±0.512 ¹⁾
吲哚美辛	3.80	1.620±0.450 ²⁾

注：与对照组比较，¹⁾P<0.01, ²⁾P<0.001

Note: Compared with control group, ¹⁾P<0.01, ²⁾P<0.001

主要是 COX-1 衍生物。吡罗昔酮同时抑制 COX-1 和 COX-2, 使内源性 PG 合成受阻, 胃肠道黏膜中 PG 含量减少, 保护作用削弱, 导致胃肠道黏膜对外来攻击因子的防御能力降低。但是吡罗昔酮对胃功能本身的影响则未见报道, 本研究就吡罗昔酮对大鼠胃功能的影响进行了探讨, 以便进一步研究其胃肠毒性机制。

研究表明, 吡罗昔酮能显著增加胃液分泌量、增加胃液总酸度及胃酸分泌速度, 显著促进胃酸分泌, 增加胃蛋白酶活力。而胃酸分泌的增加及胃蛋白酶活力增强, 会进一步造成胃粘膜损伤。而吡罗昔酮对大鼠胃功能的影响可能主要与其促进胃泌素分泌有关。提示临床应用吡罗昔酮等非甾体抗炎药时配合使用抑酸药并于餐后服用可能减少非甾体抗炎药的不良反应。

REFERENCES

- [1] ZHAO Y J, YAO Y, DING Y F, et al. Determination of IMC-submicron emulsion gel content by HPLC and evaluation of the drug transdermal permeation *in vitro* [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2009, 26(11): 921-924.
- [2] ZHANG X B, SHI J H. Determination of pharmaceutical component in the traditional Chinese antirheumatic by RP-HPLC-DAD [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2010, 27(2): 160-163.
- [3] WU W F, LV B. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and its related gastrointestinal diseases [J]. Chin J Gastroenterol (胃肠病学), 2007, 12(10): 634-636.
- [4] ZHANG P, WANG M C. Gastrointestinal mucosa damage caused by non-steroidal anti-inflammatory drugs [J]. Pract Pharm Clin Remed(实用药物与临床), 2008, 11(6): 378-380.
- [5] LIU P. Protective effect of resveratrol on experimental gastric mucosal lesion in mice [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2009, 26(1): 11-14.

收稿日期: 2011-04-22