

辣椒辣素敏感神经元介导干地黄胃粘膜保护效应

李 林¹, 王竹立², 叶美红², 赖晓嵘²

(中山医科大学 1. 附属第三医院中医科, 广东 广州 510630; 2. 生理学教研室, 广东 广州 510089)

摘 要:【目的】研究干地黄胃粘膜快速保护作用及机制。【方法】在给无水乙醇之前或之后立即给予干地黄煎剂或提取物A, 观察其保护胃粘膜免受损伤的作用, 并用不同浓度辣椒辣素预处理以分析其保护机制。【结果】①胃饲 $6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 干地黄煎剂或提取物A均能显著保护胃粘膜免受随后给予无水乙醇2 mL所致的损伤; ②先给予无水乙醇, 后胃饲干地黄煎剂或提取物A则无保护作用; ③先给予 $\varphi=70\%$ 乙醇2 mL, 后给予干地黄煎剂 $6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 保护效应又再出现; ④先胃饲无水乙醇, 后经十二指肠注射 $12\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 提取物A亦能显著减轻胃粘膜损伤; ⑤分别用 $100\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $400\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $800\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的辣椒煎剂预处理大鼠, 提取物A的胃粘膜保护作用随着辣椒辣素给药剂量的增大明显减弱直至消失。【结论】干地黄对胃粘膜有快速保护作用, 其机制可能与胃粘膜内辣椒辣素敏感神经元传入冲动增多有关。

关键词: 胃粘膜/药物作用; 地黄/治疗作用; 辣椒辣素; 醇, 乙

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2000)02-0133-04

Capsaicin-sensitive Neuron-mediated Protective Effects of the Dry *Radix Rehmanniae* on Gastric Mucosa

LI Lin¹, WANG Zhu-li², YE Mei-hong², LAI Xiao-rong²

(1. Department of Traditional Chinese Medicine, Third Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510630; 2. Department of Physiology, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510089 China)

Abstract: 【Objective】To study the immediate protective effects and its mechanism of the dry *Radix Rehmanniae* (DRR) on gastric mucosa. 【Methods】The decoction or extract A of DRR was given orally into rats before or after absolute ethanol to observe the protective effects on gastric mucosal damage. The rats were pretreated with the different concentrations of capsaicin to analyze the protection mechanism. 【Results】① The $6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ decoction or extract A of DRR, which was administered orally, protected markedly the gastric mucosa from damage induced by 2 mL absolute ethanol given soon afterwards. ② The absolute ethanol was administered orally, then the $6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ decoction or extract A of DRR was followed instantly, the protective effect did not occur. ③ When the $6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ decoction of DRR was administered orally following closely 2 mL $\varphi=70\%$ ethanol, the protective effect did occur again. ④ The $12\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ extract A injected into duodenum after absolute ethanol given orally, reduced markedly gastric mucosa damage too. ⑤ Pretreatment with the $100\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, $400\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ and $800\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ decoction of chilli (dried fruit of capsicum) to rats respectively, the protective effects of extract A on gastric mucosa were reduced gradually to nil in a dose-dependent manner. 【Conclusions】The DRR possesses an immediate protection on gastric mucosa, the mechanism of it may be mediated by increasing afferent impulses of capsaicin-sensitive neurons in gastric mucosa.

Key words: gastric mucosa/drug effects; *rehmannia glutinosa* /therapeutic use; capsaicin; alcohol, ethyl

收稿日期: 1999-10-01

基金项目: 广东省中医药管理局科研基金资助项目(98380)

作者简介: 李 林(1963-), 女, 湖南长沙人, 学士, 讲师

中药的胃肠道细胞保护作用已有不少研究^[1],但大都是从量效关系角度进行的研究,对于中药保护作用的时效关系研究尚未见报道。本实验室曾经发现提前 15 min 胃饲干地黄(dry *Radix Rehmanniae*)即可明显减轻无水乙醇所致的胃粘膜损伤,其作用持续 2 h 以上^[2]。但地黄起作用的时间还能否再提前?地黄对胃粘膜的快速保护机制是什么?目前仍不清楚。本工作旨在观察无水乙醇造模前后立即给予干地黄煎剂对无水乙醇性胃粘膜损伤的影响,并对其可能机制进行探讨。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 动物 采用 Spague-Dawley 纯种 2 级大白鼠,体质量(160±20)g,雌雄不拘。由本校实验动物中心提供。

1.1.2 药物及试剂 干地黄煎剂的制备:同本实验室赖晓嵘文方法^[2]。

1.2 动物造模、手术、分组及给药

1.2.1 胃粘膜损伤模型 实验前大鼠禁食 24 h,不禁水。给大鼠胃饲(或经十二指肠下段注射)2 mL(或 1 mL)无水乙醇(或 $\varphi = 70\%$ 乙醇),1 h 后脱臼处死大鼠,剖腹,结扎幽门、贲门,取出胃用 $\varphi = 10\%$ 甲醛固定 10 min。沿胃大弯剪开胃壁,收集胃内容物,测定胃液量,将胃漂洗干净后展平测量损伤指数。

1.2.2 十二指肠上段—结肠吻合术 大鼠经 15 g/L 戊巴比妥钠溶液 50 mg·kg⁻¹腹腔麻醉后切开腹壁,在距幽门约 1 cm 处剪断十二指肠,缝合下段残端开口;将与胃相连的十二指肠上段通过一粗细适宜的塑料管与结肠相通,用线结扎固定。实验时药物经十二指肠下段注入,使之不与胃内的无水乙醇混合。

1.2.3 动物分组与给药 采用随机分组原则,将 130 只大鼠,分成 7 个大组,用 I、II、III……表示;每个大组内又分为 2~3 个小组,共分成 17 个组。例如 I 大组内有 3 个小组,分别用 I-1、I-2、I-3 表示,以此类推。具体分组及处理如下:(1)I~III 大组(共 8 个小组)实验均在未作特殊处理的大鼠上进行。I-1 组:9 只鼠,先胃饲干地黄煎剂 6 g·kg⁻¹,再立即胃饲无水乙醇 2 mL;I-2 组:7 只鼠,先胃饲提取物 A 6 g·kg⁻¹,再立即胃饲无水乙醇 2

mL;I-3 组:9 只鼠,先胃饲去离子水 6 mL·kg⁻¹,再立即胃饲无水乙醇 2 mL;II-1 组:10 只鼠,先胃饲无水乙醇 2 mL,再立即胃饲干地黄煎剂 6 g·kg⁻¹;II-2 组:7 只鼠,先胃饲无水乙醇 2 mL,再立即胃饲提取物 A 6 g·kg⁻¹;II-3 组:12 只鼠,先胃饲无水乙醇 2 mL,再立即胃饲去离子水 6 mL·kg⁻¹;III1 组:8 只鼠,先胃饲 $\varphi = 70\%$ 乙醇 2 mL,再立即胃饲干地黄煎剂 6 g·kg⁻¹;III2 组:8 只鼠,先胃饲 $\varphi = 70\%$ 乙醇 2 mL,再立即胃饲去离子水 6 mL·kg⁻¹;(2)IV 大组(含 3 个小组)实验在十二指肠上段—结肠吻合术后的大鼠上进行。IV-1 组:8 只鼠,先胃饲无水乙醇 1 mL,再十二指肠下段注射提取物 A 6 g·kg⁻¹;IV-2 组:6 只鼠,先胃饲无水乙醇 1 mL,再十二指肠下段注射提取物 A 12 g·kg⁻¹;IV-3 组:7 只鼠,先胃饲无水乙醇 1 mL,再十二指肠下段注射去离子水 12 mL·kg⁻¹;(3)V 大组(含 2 个小组)实验在给大鼠胃饲 100 g·L⁻¹辣椒煎剂 1 mL 24 h 后进行。V-1 组:6 只鼠,先胃饲提取物 A 6 g·kg⁻¹,再立即胃饲无水乙醇 2 mL;V-2 组:6 只鼠,先胃饲去离子水 6 mL·kg⁻¹,再立即胃饲无水乙醇 2 mL;(4)VI 大组(含 2 个小组)实验在给大鼠胃饲 400 g·L⁻¹辣椒煎剂 1 mL 24 h 后进行。VI1 组:7 只鼠,先胃饲提取物 A 6 g·kg⁻¹,再立即胃饲无水乙醇 2 mL;VI2 组:7 只鼠,胃饲去离子水 6 mL·kg⁻¹,再立即胃饲无水乙醇 2 mL;(5)VII 大组(含 2 个小组)实验在给大鼠胃饲 800 g·L⁻¹辣椒煎剂 1 mL 24 h 后进行。VII1 组:6 只鼠,先胃饲提取物 A 6 g·kg⁻¹,再立即胃饲无水乙醇 2 mL;VII2 组:7 只鼠,先胃饲去离子水 6 mL·kg⁻¹,再立即胃饲无水乙醇 2 mL。对照组与给药组同时进行实验,以保证实验条件的齐同性。

1.3 观察指标

1.3.1 损伤指数测量 同赖晓嵘文方法^[2]。损伤指数用观测到的粘膜损伤的总长度来表示,量/单位为 l_1/mm 。

1.3.2 损伤抑制率计算 见下式:

$$\text{损伤抑制率} = \frac{\text{对照组平均损伤指数} - \text{给药组平均损伤指数}}{\text{对照组平均损伤指数}} \times 100\%$$

1.4 统计学方法 各组损伤指数均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。均值之间的差异用双相成组 t 检验。

2 结 果

2.1 预先给予干地黄煎剂或提取物 A 对无水乙

醇性胃粘膜损伤的影响

在给予无水乙醇之前先胃饲 $6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的干地黄煎剂或提取物 A 均能显著抑制胃粘膜损伤(表 1 中的 I -1、I -2、I -3 组)。煎剂与提取物 A 的效价接近。

表 1 在给予乙醇前或后立即胃饲干地黄煎剂或提取物 A 对胃粘膜的保护

Table 1 Protection of decoction or extract A of dry *Radix Rehmanniae* given orally before or after ethanol(E) on gastric mucosa

Group	w (dose) / ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	n	Index of damage $l_i^{3)}$ / mm	$r_i^{2)}$ / (%)
Before 100%E				
I -1(decoction)	6	9	$30.3 \pm 29.6^{1)}$	76.6
I -2(extract A)	6	7	$32.7 \pm 25.5^{1)}$	74.7
I -3(water)	6	9	129.4 ± 51.4	—
After 100%E				
II-1(decoction)	6	10	270.0 ± 90.1	— 30.1
II-2(extract A)	6	7	260.7 ± 83.2	— 25.6
II-3(water)	6	12	207.6 ± 87.6	—
After 70%E				
III1(decoction)	6	8	$35.9 \pm 23.1^{1)}$	70.2
III2(water)	6	8	120.5 ± 51.3	—

1) Compare with control; $P < 0.001$; 2) r_i : inhibitory rate; 3) l_i : total length of gastric mucosal damages

2.2 随后给予干地黄煎剂和提取物 A 对无水乙醇性胃粘膜损伤的影响

先给予 2 mL 无水乙醇, 随后立即胃饲 $6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的干地黄煎剂或提取物 A, 胃粘膜损伤指数较对照组反有所增大, 但差异尚无统计学意义($P > 0.05$)(表 1 中 II-1、II-2、II-3 组)。煎剂与提取物 A 的作用一致。说明后给予干地黄不能减轻无水乙醇所致的胃粘膜损伤。

2.3 随后给予干地黄煎剂对 $\varphi = 70\%$ 乙醇所致损伤的影响

先给予 $\varphi = 70\%$ 乙醇 2 mL, 随后立即给予 $6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的干地黄煎剂, 亦能明显抑制胃粘膜损伤(表 1 中的 III1、III2 组)。

2.4 十二指肠注射提取物 A 对无水乙醇性胃粘膜损伤的影响

在施行了十二指肠上段—结肠吻合术的大鼠, 预先胃饲无水乙醇, 随后立即经十二指肠下段分别注射 $6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (IV-1 组)和 $12 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (IV-2 组)提取物 A, 损伤指数均较对照组减少(表 2)。说明十二指肠给予干地黄对无水乙醇性胃粘膜损伤有明显抑制作用。

2.5 辣椒煎剂预处理对提取物 A 胃粘膜保护作用的影响

分别用 $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $400 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $800 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的辣椒煎剂预处理大鼠, 预先给予提取物 A 对无水乙醇性胃粘膜损伤的抑制作用随着辣椒给药剂量增大明显减弱甚至基本消失(表 3)。

表 2 十二指肠内给予提取物 A 对胃粘膜的保护

Table 2 Protection of extract A of dry *Radix Rehmanniae* given intraduodenally on gastric mucosa

Group	Drug	w (dose) / ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	n	Index of damage $l_i^{3)}$ / mm	$r_i^{2)}$ / (%)
IV-1	extract A	6	8	93.8 ± 33.1	10.9
IV-2	extract A	12	6	$19.3 \pm 13.3^{1)}$	81.7
IV-3	water	12	7	105.3 ± 28.9	—

1) Compare with control; $P < 0.001$; 2) r_i : inhibitory rate; 3) l_i : total length of gastric mucosal damages

表 3 不同浓度辣椒煎剂预处理对提取物 A 胃粘膜保护作用的影响

Table 3 Effects of pretreatment with the different concentrations of chilli decoction on gastric mucosa protection induced by extract A

Group	n	pretreatment φ (chilli) / ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	Drug	Index of damage $l_i^{3)}$ / mm	$r_i^{2)}$ / (%)
V-1	6	100	extract A	$10.0 \pm 5.2^{1)}$	88.2
V-2	6	100	water	85.0 ± 59.6	—
VI-1	7	400	extract A	102.0 ± 38.5	38.2
VI-2	7	400	water	165.0 ± 79.3	—
VII-1	6	800	extract A	233.3 ± 113.9	0.7
VII-2	7	800	water	235.0 ± 84.2	—

1) Compare with control; $P < 0.01$; 2) r_i : inhibitory rate; 3) l_i : total length of gastric mucosal damages

3 讨 论

中药一般被认为起作用慢,而作用较持久。本实验则发现胃饲干地黄煎剂或提取物 A 后,可立即发挥胃粘膜保护作用。说明中药也可以起效很快。我们前面的工作已经证明:干地黄的胃粘膜保护并不是由于药物与无水乙醇在胃腔内发生理化反应所致^[2],本实验用 $\varphi = 80\%$ 乙醇去除干地黄煎剂中的难溶于醇的蛋白质、淀粉、无机盐和大部分杂质,所得的提取物 A 仍有与原煎剂同样的保护作用,且效价几乎完全不变,进一步说明干地黄的作用并非由其中的粘性部分(如多糖等)所致。有趣的是,若先给予无水乙醇,随后立即给予干地黄,则不仅没有任何保护作用,甚至还似乎在一定程度上加重了胃粘膜损伤。对此我们的解释是,先给无水乙醇,可能使与其接触的胃粘膜表面的细胞层和感受器迅速坏死,结果导致随后的干地黄不能发挥其作用,干地黄本身的某些理化性质可能还会轻微加重无水乙醇所致的损伤;而先给干地黄或其提取物 A,则使随后给予的无水乙醇被稀释成 $\varphi = 70\%$ 左右[因为所用干地黄煎剂的平均量为 0.9 mL/鼠,2 mL 无水乙醇被稀释成 $\varphi = 2.0 / (2.0 + 0.9) = 69\%$],因而胃粘膜表层损伤较轻,加上乙醇透过附着的地黄与胃粘膜接触需要一定时间,故使地黄有充分时间与胃粘膜表面的细胞层和感受器接触,触发某种机制发挥保护作用。为了验证这一假设,本文中特别设计了一组先给 $\varphi = 70\%$ 乙醇再给干地黄的实验,又观察到干地黄保护胃粘膜现象,从而初步证实了上述推测。另外,先胃饲无水乙醇,再立即将提取物 A 注入未与乙醇接触的十二指肠上段,也发现有保护作用,只是所需药量比胃内给药约需增大一倍。

由于干地黄作用如此之快,我们有理由假设这是一种神经介导的反射过程。资料表明,胃粘膜内存在大量的辣椒辣素敏感神经元,这些初级传入神经元将胃粘膜感受到的信息传入中枢,介导胃粘

膜血流增加等效应,从而发挥胃粘膜保护作用。高剂量($\geq 50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)的辣椒辣素可引起神经递质的过量释放,导致辣椒辣素敏感神经元受到长期和不可逆的损害,失去其信息传入功能,这种作用被称为化学“去神经”作用^[3]。有实验提示,250 g/L 的辣椒煎剂已能引起化学“去神经”作用,使胃粘膜血流减少^[4]。本实验采用 100、400 和 800 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的辣椒煎剂对大鼠进行预处理,结果发现,随着辣椒煎剂浓度的升高,干地黄提取物 A 对无水乙醇性胃粘膜损伤的抑制率明显下降,直至基本消失。提示 A 液的胃粘膜保护机制很可能是通过辣椒辣素敏感神经元的传入活动而发挥作用的。这也可以解释为何干地黄保护作用起效快、短时间即达高峰的原因。

在实验中我们还曾用 2 倍于实验组剂量的提取物 A 胃饲大鼠,并于 1 h 后处死之,未见胃粘膜有任何损伤,因此可排除干地黄作为弱的屏障破坏剂刺激胃粘膜,引起“适应性细胞保护”作用的可能性。另外还用 800 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 辣椒煎剂胃饲大鼠,1 h 后也未见胃粘膜有明显损伤,说明本实验所用辣椒煎剂本身并不会直接导致胃粘膜损害。但辣椒煎剂的“去神经”作用导致无水乙醇所致的损害加重,却可从对照组损伤指数较预处理前升高中明显看出。

参考文献:

- [1] 王竹立,李林,赖晓嵘. 中药与胃肠道细胞保护[J]. 中国中西医结合杂志, 1996, 16(8): 508.
- [2] 赖晓嵘,王竹立,李林,等. 干地黄煎剂防止无水乙醇性胃粘膜损伤作用及其机制[J]. 中国中西医结合杂志, 1998, 18 基础理论研究特集: 145.
- [3] 王志均,朱文玉. 细胞保护[M]. 北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1995. 557.
- [4] 董秀云,森治树. 辣椒煎剂对胃粘膜血流量的影响和细胞保护作用[J]. 中华消化杂志, 1989, 9(6): 335.

(编辑 张敏瑞)