维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2004)02－0144－04

幽门螺杆菌感染对十二指肠溃疡患者血清胃泌素、一氧化氮合酶影响的研究

汪志群[1]，王新渝[1]，余剑平[2]

(1.重庆医科大学应用技术学院生理教研室，重庆 400050；2.四川省自贡市第三人民医院，自贡)

【摘 要】目的：探讨幽门螺杆菌(Helicobacter pylori，H. ylori)对十二指肠溃疡(DU)患者血清胃泌素、胃粘膜一氧化氮合酶(NOS)的影响及其意义，从而为治疗 H. pylori 相关性疾病寻求新的措施。方法：本文观察了 59 例 H. pylori 阳性活动期 DU 患者，采用三联疗法(奥美啦唑 20mg bid，克拉霉素 0.25tid，甲硝唑 0.2tid，疗程 2 周)根除 H. pylori，在抗 H. pylori 治疗前后对胃粘膜 NOS 和空腹血清胃泌素进行检测，并与年龄相比拟的 39 例非溃疡性消化不良患者进行比较。结果：H. pylori 阳性活动期 DU 患者胃粘膜 NOS 及空腹血清胃泌素浓度，在治疗前显著高于治疗后愈合期 DU 患者($P<0.001$ 和 $P<0.005$)，而愈合期 DU 患者的胃粘膜 NOS 和空腹胃泌素浓度与对照组相比，无显著性差异($P>0.05$)；空腹血清胃泌素浓度在 H. pylori 根除后明显下降。结论：H. pylori 感染可引起胃粘膜 NOS 生成增加、活性增强，由此调节着胃泌素的分泌，导致溃疡等胃肠疾病的发生；临床上可通过寻找特异性抑制 NOS 试剂，为临床治疗 DU 开辟新的领域。

【关键词】幽门螺杆菌；一氧化氮合酶；胃泌素；三联疗法

【中国图书分类法分类号】R573.1 【文献标识码】A 【收稿日期】2003－11－10

Changes of nitric oxide synthase and gastrin of Helicobacter pylori infection in duodenal ulcer

WANG Zhiqun, et al

(*Department of Physiology, the Applied Technical College, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the important relations between Helicobacter pylori (H. pylori) infection and serum gastrin level and nitric oxide synthase (NOS) activity in order to look for a method treating diseases associated with H. pylori. *Methods*: Before and after triple therapy against H. pylori with omeprazole 20mg twice a day, clarithromycin 0.25, and metronidazole 0.2 3 times a day for two weeks, fifty－nine with active DU and H. pylori positive, and 39 cases with non－ulcer dyspepsia as control were determined for NOS activity of gastric mucosa and fast serum gastrin level. *Results*: Patients with DU activity and H. pylori infection, before treatment, had an increased in NOS activity of gastric mucosa and fast serum gastrin level than those after treatment and the control, there were great importance($P<0.001$ and $P<0.005$ respectively); NOS activity and gastrin level between the patients with healed DU and the control were of no significant difference. The changes of NOS activity were not significant whether H. pylori eradicated or not, it maybe link with no－healed peptic ulcer and a few patients, but there was a significant decrease of gastrin level when H. pylori was eradicated. *Conclusion*: Our findings showed H. pylori infection could increase NOS to promote gastrin secretion, and lead to gastroenterological diseases such as peptic ulcer. It clearly implied to us: through taking some measures to inhibit NOS activity to treat diseases associated with H. pylori.

【Key words】Helicobacter pylori; Nitric oxide synthase; Gastrin; Triple therapy

NO 不但是一种新型的信使分子，而且也是一种自由基和细胞毒性物质，因具有病理、生理双重作用，从而引起人们广泛的关注而进行深入的研究。

在 NO 的生成过程中，一氧化氮合酶(NOS)是一种关键酶，根据其产生的部位不同可分为内皮型(eNOS)，神经元型(nNOS)以及诱生型(Inducitive No－synthase，iNOS)。内皮型和神经元型统称为原生型(Constutive No－synthase，cNOS)。主要分布于内皮细胞和神经元细胞，iNOS 则主要分布于巨噬

作者介绍：汪志群(1965－)，女，讲师，
主要研究方向：胃肠激素。

维普资讯 http://www.cqvip.com

细胞、中性粒细胞等。产生的内源性一氧化氮对胃粘膜血流、胃酸分泌的影响在基础研究中已有报道，但在消化道溃疡、幽门螺杆菌(H. pylori)感染、胃泌素等诸多因素相互关系的报道很少。为此，我们观察了 H. pylori 阳性的活动性十二指肠溃疡(DU)患者，经三联疗法对其前后血清中胃泌素、一氧化氮合酶(NOS)的变化进行了检测和分析，为进一步阐明溃疡病的发生机制以及治疗奠定基础。

1 材料与方法

1.1 病人

经胃镜确诊的活动期溃疡患者，于胃窦大弯侧距幽门 2～3cm 处钳取粘膜 4 块，分别用于快速尿素酶试验、涂片(Gram's 染色)镜检、PCR 检测 H. pylori 及胃粘膜 NOS 测定。凡是进行上述方法检测 H. pylori 均为阳性者，为入选病例。共 59 例，其中男 39 例，女 20 例，平均年龄 39.5 岁，平均病程 6.9 年。同时选择 H. pylori 阴性的 39 例非溃疡性消化不良患者作为对照，其中男性 25 例、女性 13 例，平均年龄 36 岁，检测指标同前。要求所有入选者在 4 周内未用抗生素、糖皮质激素、H_2 受体拮抗剂以及质子泵抑制剂。在入选的同时采集空腹静脉血 3ml 行胃泌素测定。

1.2 方法

1.2.1 药物治疗 DU 组接受三联疗法，包括奥美啦唑 20mg bid，克拉霉素 0.25tid，甲硝唑 0.2tid，疗程 2 周，疗程结束后停药 4 周进行全面复查。

1.2.2 疗效评定 溃疡愈合指胃镜复查肉眼见溃疡消失或瘢痕形成者；溃疡较治疗前缩小或增大均为未愈合，H. pylori 复查快速尿素酶试验、涂片镜检(Oram's 染色)、PCR 三项检测均为阴性者判为根除；凡是其中一项仍为阳性者，为 H. pylori 未根除。

1.2.3 胃粘膜 NOS 测定 将胃粘膜标本加入预冷胞浆缓冲液 2ml，在冰浴中研磨 3min，以 MSE 超声匀浆器间隙超声 20s，在 4℃ 及 10000g 离心 30min，取上清液用于 NOS 活性和蛋白质检测。氧合血红蛋白制备参照 know 等方法以及胞浆 NOS 活性测定参照 Feelisk 及 Nock 原理并加以改良。即 NOS 催化 L－精氨酸生成的一氧化氮与氧合血红蛋白反应生成 MetHb(2s 内完成)，其吸光度发生变化，在 37℃ 岛津 UV－265 双波长分光光度计 401nm 和 402nm 波长下检测 10min，吸光度变化代表 NOS 含量，组织蛋白含量用酚试剂法检测，酶单位 u＝nmol/min/mg 蛋白。

1.2.4 血清胃泌素检测 用放免法测定，药盒由北京原子能研究所提供，本院核医学科检测。

1.2.5 统计学方法 计量资料用平均值(标准差)表示，配对资料用 Student's 检验，非配对资料用 Mann－Whiten u 检验，$P<0.05$ 定为具有统计学意义。

2 结 果

2.1 十二指肠溃疡愈合和 H. pylori 根除率

59 例活动性 DU，经三联疗法治疗，57 例溃疡愈合，愈合率为 96.6%。其中 51 例患者根除了 H. pylori，其根除率为 86%，2 例溃疡未愈合者，H. pylori 也未根除。

2.2 胃粘膜 NOS 活性检测

DU 组胃粘膜 NOS 活性测定结果见表一，59 例 H. pylori 阳性活动性 DU 治疗前后胃粘膜 NOS 活性分别为 83.49(12.36)u，56.38(13.89)u，两者之间存在显著性差异($P<0.001$)；同时测定 39 例非溃疡性消化不良患者胃粘膜 NOS 活性为 52.32(8.83)u，与 DU 组治疗后相比较无显著性差异($P>0.05$)；DU 组治疗后 H. pylori 根除者与未根除者之间，虽然未根除者胃粘膜 NOS 活性为 58.56(20.89)pg/mL 高于根除者 52.68(09.75)pg/mL，但无显著性差异($P>0.05$)。

表 1 十二指肠溃疡治前后胃粘膜 NOS 活性检测

分组	治疗前	治疗后	P 值
十二指肠溃疡($n=59$)	83.49(12.36)	56.38(13.89)	<0.001
Hp 根除者($n=51$)	84.00(10.76)	52.68(09.75)*	<0.001
未根除者($n=8$)	82.71(17.40)	58.56(20.89)*	<0.001

u＝nmol/min/mg 蛋白 $P^{*}>0.05$

2.3 血清胃泌素浓度检测

DU 组血清胃泌素浓度测定结果见表二，59 例 H. pylori 阳性活动性 DU 治疗前后胃泌素浓度分别为 49.29(12.36)pg/mL，41.39(11.42)pg/mL，两者之间存在显著性差异($P<0.05$)；同时测定 39 例非溃疡性消化不良患者血清胃泌素为 41.03(14.12)pg/mL，与 DU 组治疗后相比较无显著性差异($P>0.05$)；DU 组治疗后 H. pylori 根除者血清胃泌素为 39.83(10.87)pg/mL 较治疗前 50.23(11.37)pg/mL 下降更为显著($P<0.001$)；未根除者血清胃泌素为 52.86(10.87)pg/mL 高于治疗前 48.86(10.87)pg/mL，但无统计学意义($P>0.05$)。

表 2 十二指肠溃疡治前后空腹血清胃泌素浓度检测结果(pg/mL)

分组	治疗前	治疗后	P 值
十二指肠溃疡($n=59$)	49.29(12.36)	41.39(11.42)	<0.005
Hp 根除者($n=51$)	50.23(11.37)	39.83(10.87)**	<0.001
未根除者($n=8$)	48.86(10.87)	52.86(10.87)**	>0.005

$P^{**}<0.05$

维普资讯 http://www.cqvip.com

3 讨 论

3.1 NO 的生物合成、释放与 L-瓜氨酸的再循环

L-精氨酸中的胍基被羟化,系受 NOS 的触酶反应而生成 NO 与瓜氨酸,后者又可以加入 NH_3 生成 L-精氨酸,完成再循环[1],据研究,cNOS 存在于各种脏器组织的内皮细胞、神经元和 NANC 神经中,当这些含 cNOS 细胞的受体被相应物质刺激时,经细胞内钙离子,钙调蛋白(CaM),使 cNOS 活化而促发短暂少量的 NO 形成,再通过细胞膜作用于相邻靶细胞,使靶细胞中的鸟苷酸环化酶(sGC)激活,从而将 GTP→cGMP,出现靶细胞的效应反应,平滑肌舒张,抑制血小板和白细胞在血管内皮上的粘附,从而对机体产生保护作用[2,3]。在正常情况下,如果抑制 cNOS 的合成,则加重病理变化[4,5]。已有实验表明,正常组织有 cNOS 的基因表达,随着损伤因子的存在,机体发生防御反应,cNOS mRNA 随之充分表达,有利于 NO 释放,改善胃粘膜的血液循环,为维持微循环的完整性,抑制血小板,白细胞在内皮细胞表面的粘附,积聚、防止血栓的形成具有重要的病理生理作用[6]。而 iNOS 存在于多种细胞中,在正常生理情况下不表达,和 cNOS 的主要区别在其发挥作用无须依赖 Ca^{2+}-CaM,并使有关细胞持续释放大量的 NO,单位时间内可比内皮细胞 cNOS 所生成的 NO 高出千倍以上。在细菌的内毒素、IFNr、TNF、IL-1,2 等作用于有关细胞内的核因子 κB(nuclease facter kappa B, NF-κB)的情况下,NF-κB 致活 iNOS,而 iNOS 诱生的 NO,又可使 NF-κB 致活,并伴有超氧阴离子形成,更加重组织的损伤[7]。有文献报道,用 NG-硝基左旋精氨酸甲酯(L-NAME)抑制 iNOS,则可控制急性胰腺炎进行性的发展以及恶化[8]。Szentpali 等报道[9],在胆汁的作用下,食道等粘膜的 cNOS 降低,而 iNOS 则大量生成,从而导致粘膜的损伤。

虽然本文所检测的 NOS 为两种酶之总和,由于 cNOS 含量极低,故测定结果主要反应胃粘膜 iNOS。当机体在 H. pylori 和溃疡炎症的刺激下,iNOS 大量诱导生成,导致机体组织进一步损伤,一旦损伤因子消除后,iNOS 又开始下降,这与本实验结果相一致。在 H. pylori 阳性活动性 DU 治疗前,胃粘膜 NOS 活性为 83.49(12.36)u,治疗后为 56.38(13.89)u,两者之间存在显著性差异($P<0.001$)。实验结果还表明,H. pylori 阳性活动性 DU 治疗前后胃泌素浓度分别为 49.29(12.36)pg/mL,41.39(11.42)pg/mL,两者之间也存在显著性差异($P<0.05$);同时测定 39 例非溃疡性消化不良患者血清胃泌素为 41.03(14.12)pg/mL,与 DU 组治疗后相比较无显著性差异($P>0.05$),表明随着溃疡的愈合和 H. pylori 的根除,胃泌素也开始下降,最后至正常水平,与胃粘膜 iNOS 的变化相一致。因此实验结果提示:胃粘膜 iNOS 活性增高,可能参与了溃疡的形成,对胃粘膜具有损伤作用。

3.2 H. pylori 与胃粘膜 iNOS、胃泌素的关系

据报道,当机体在损伤因子的作用下,iNOS 大量诱导生成,导致机体组织进一步损伤,炎症细胞聚集在损伤部位,导致炎症细胞释放细胞因子如 IFNr、TNF、IL-1,2 和/或生长抑素分泌减少等,从而引起胃泌素大量分泌,胃酸分泌的增多,胃蛋白酶原大量激活,最终导致溃疡等疾病的发生。而 H. pylori 感染可导致血清胃泌素增高已有报道,当根除 H. pylori 之后,血清胃泌素可降致正常,因此不难假设,正是 H. pylori 的感染,其细菌毒素如尿素酶、细胞毒相关蛋白、细胞空泡毒素、粒细胞激活蛋白等因素导致了胃粘膜的损伤,大量诱导 iNOS 生成。从本实验结果来看,随着 H. pylori 的根除和溃疡的愈合,胃粘膜 iNOS 开始下降,胃泌素也随着下降,最后至正常水平,两者之间的变化相一致,从而证明了上述的假设。因此实验结果表明:胃粘膜 iNOS,可具有调节胃泌素分泌等功能,从而参与了溃疡的形成,对胃粘膜具有损伤作用,与文献报道一致[10,11]。Tari 等[12]研究发现,H. pylori 感染增加了生成 NO 的底物,从而引起胃粘膜的损伤和癌变。而在本实验中,虽然 H. pylori 根除者与未根除者之间胃粘膜 iNOS 无统计学意义,这可能与未根除者包含溃疡未治愈以及数量太少有关,与实验结果并不相矛盾,有待扩大病例进行进一步观察。综上所述,我们在根除 H. pylori 的同时,可以选择抑制 iNOS 的药物,有助于消化性溃疡的愈合。

参 考 文 献

[1] Hecker M, Sessa WC, Harris HJ, et al. The metabolism of L-arginine for the synbiosis of EDRF: recycling of L-citrulline to L-arginine[J]. Proc Natl Acad Sci, 1990;89:8612.

维普资讯 http://www.cqvip.com

[2] Zaragoza C, Ocampo CJ, Saura M, et al. Inducible nitric oxide synthase protection against Coxsackievirus Pancreatitis [J]. J Immunol, 1999; 163(10): 5497 - 5504.

[3] Jaworek L, Jachimczak B, Bonior J, et al. Protective role of endogenous nitr - ic oxide in Lipopolysaccharide - induced pancreatic damage[J]. J Physiol pharm - acol, 2000; 51(1)85 - 102.

[4] Andrze Jewska A, Jurkowska G. Nitric oxide protects the ultrastructure of pancreatic acinar cells in the course of caerulein - induced acme pancreatitis[J]. Int J Exp Pathol, 1999; 80(6): 317 - 324.

[5] Nishino T, Watanabe S, Oyama H, et al. An endothelial nitric oxide synthase inhibitor aggravates CDL - induced acute pancreatitis in rats[J]. Pancreas, 1999; 19(4): 396, 400.

[6] Ohta Y, Nishida K. L - arginine protects against stress - induced gastric mucosal lesions by preserving gastric mucus[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2002; 29(1 - 2): 32 - 38.

[7] Brzozowska I, Konturek PC, Brzozowski T, et al. Role of prostaglandins, nitric oxide, sensory nerves and gastrin in acceleration of ulcer healing by melatonin and its precursor, L - tryptophan[J]. J Pineal Res, 2002; 32(3): 149 - 162.

[8] Lomis TL Siffring CW, Chalasanis, et al. Nitric oxide synthase inhibitors N - monomethy larginine and aminoguanidine prevent the progressive and severe hypotension associated with a rat model of pancreatitis[J]. Am surg, 1995; 61: 7.

[9] Szentpali IC Kaszaki J, Eros G, et al. Changes in microcirculation of esophageal mucosa during acute experimental reflux. Pathogenic role of the biliary component[J]. Magy Seb, 2003; 56(2): 61 - 67.

[10] Kaise M, Miwa J, Iihara K, et al. Helicobacter pylori stimulates inducible nitric oxide synthase in diverse topographical patterns in various gastroduodenal disorders[J]. Dig Dis Sci, 2003; 48(4): 636 - 643.

[11] 1, amarque D, Moran AP, Szepes Z, et al. Cytotoxicity associated with induction of nitric oxide synthase in rat duodenal epithelial cells in vivo by lipopolysaccharide of Helicobacter pylori: inhibition by superoxide dismutase[J]. Br J Pharmacol, 2000; 130(7): 1531 - 1538.

[12] Tari A, Kodama K, Kitadai Y, et al. Is apoptosis in antral mucosa correlated with serum nitrite concentration in Japanese Helicobacter pylori - infected patients[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2003; 18(5): 498 - 504.

(上接第 143 页)和功能损害，提示 AOC 期间 NF - κB 激活在 MOD 损害中起重要作用。本研究还发现，AOC 期间，各个器官中 NF - κB 的激活时间和程度不尽相同。6h 时，肝组织中 NF - κB 活性已显著增强；48h 时，除肝脏以外的其它器官如心、肺和肾组织才明显表达 NF - κB 活性。提示肝脏是 AOC 时损害最早的器官，同时肝脏中 Kupffer 细胞激活并释放出多种细胞因子在 MOD 中可能起关键作用。

(致谢：本实验在重庆医科大学第二临床学院，重庆市肝胆外科重点实验室完成，特此致谢)

参 考 文 献

[1] Gong JP, Liu CA, Wu CX, et al. Nuclear factor κB activity in patients with acute severe cholangitis[J]. World J Gastroenterol, 2002; 8: 346 - 349.

[2] Zuo GQ, Gong JP, Liu CH, et al. Expression of lipopolysaccharide binding protein and its receptor CD14 in experimental alcoholic liver disease[J]. World J Gastroenterol, 2001; 7: 836 - 840.

[3] Zhang WZ, Chen YS, Wang JW, et al. Early diagnosis and treatment of severe acute cholangitis[J]. World J Gastroenterol, 2002; 8: 150 - 152.

[4] Paterson RL, Galley HF, Dhillon JK, et al. Increased nuclear factor κB activation in critically ill patients who die[J]. Crit Care Med, 2000; 28: 1047 - 1051.

[5] Arnalich F, Garcia - Palomero E, Lopez J, et al. Predictive value of nuclear factor κB activity and plasma cytokine levels in patients with sepsis[J]. Infect Immun, 2000; 68: 1942 - 1945.

[6] Gong JP, Liu CA, Wu CX, et al. Liver sinusoidal endothelial cell injury by neutrophils in rats with acute obstructive cholangitis[J]. World J Gastroenterol, 2002; 8: 345 - 348.

[7] 徐明清，龚建平，薛 兰，等. Kupffer 细胞 NF - κB 激活对胆道梗阻合并肝部分切除鼠肝细胞再生的影响[J]. 第三军医大学学报，2001; 23: 1143 - 1145.

[8] 龚建平，徐明清，李 昆. 内毒素介导 Kupffer 细胞脂多糖受体 CD14 的表达[J]. 第三军医大学学报，2001; 23: 425 - 428.