维普资讯 http://www.cqvip.com

内皮素在消化性溃疡发病机制中作用的初步探讨

临床学院消化内科 王 立* 卢林凡 廖玉贞 古 赛
中医科实验室 张晓恒 高渝军

提 要 目的 探讨内皮素在消化性溃疡发病中的作用。方法 本文采用放免法测定了56例胃十二指肠溃疡患者、10例健康人血浆及组织中的ET－1含量和其与溃疡面积的相关性。结果 在各溃疡组血浆ET－1的浓度与正常组比较均增高。溃疡活动期,血浆ET－1浓度与正常组比较明显增高$P>0.01$,疤痕期浓度降至正常。溃疡边缘粘膜组织ET－1的含量明显高于自体正常粘膜组织及对照组粘膜组织中的含量。且粘膜组织中ET－1的含量与溃疡面积呈显著性正相关($r=0.8575$,$P>0.05$)。结论 本组试验结果提示,内皮素在消化性溃疡发病机制中可能是一个重要的介质。且与病情的演变有着密切的关系。

关键词 内皮素;消化性溃疡;内窥镜
中图分类号 R573.1

消化性溃疡的发病机制复杂,至今仍未完全弄清楚,普遍认为是由于损伤因素与保护因素失衡,导致粘膜、粘膜下甚至肌层的损伤,或因胃粘膜局部血流的改变致粘膜损伤也是溃疡形成的重要原因之一[1]。

内皮素(Endothelin,ET)是血管内皮细胞产生的一种强有力的血管收缩肽。Whittle等[2]经小鼠静脉内注射内皮素引起了胃粘膜急性出血及坏死,认为这一现象可能与胃粘膜在内皮素的作用下,使其血流急速下降有关。在体外试验,胃粘膜下注射内皮素也可引起慢性损伤,降低了粘膜对胃酸的防御能力[3]。内皮素似乎在调节胃内血流量及消化性溃疡的发生发展均起重要的作用。然而,内源性内皮素在消化性溃疡发病机制中的作用仍然不很清楚。本文目的就是了解血浆及组织内内皮素含量与溃疡的面积、严重程度的关系,以了解内皮素在消化性溃疡发生中的作用。

1 材料及方法

1.1 **研究对象** 经我院胃镜室胃镜检查确诊的胃十二指肠溃疡56例,其中胃溃疡12例、十二指肠溃疡36例,复合性溃疡8例;男42例,女14例;年龄20～70,平均43.25岁。正常对照组为同期经胃镜检查无阳性发现者10例;男6例,女4例;年龄24～35岁,平均为36.7岁。实验组及对照组患者均无呼吸系统、心血管系统、肾脏或肝脏疾病,近期内亦无服用解热镇痛药或其它药,实验组中有26例经H_2受体结抗剂或质子泵抑制剂治疗。

消化性溃疡严重程度的判断采用Sakita's内镜分期标准法[4]将溃疡分为三个期。活动期具有厚的白苔敷盖在溃疡基底部,溃疡边缘粘膜充血、水肿明显;愈合期可见溃疡基底部有薄白苔,其内有新生的上皮;疤痕期基底无白苔,被红色新生的上皮所替代。

溃疡直径用活检钳来测量(Olympus FB25K,张开直径约0.5cm)。溃疡面积用πy^2计算。

1.2 **标本采集** 经胃镜诊断溃疡后,在溃疡边缘取粘膜组织2～3块,并在距溃疡边缘约5cm处取正常粘膜组织约2－3块,作为自体对照。将获取的粘膜组织称重,立即放入1ml 1N醋酸溶液内,略作碾磨,然后在100℃水浴中煮沸10min,超声匀浆,以3000r离心15min,收集上清液,用磷酸缓冲液稀释后直接测ET－1的含量。

采集静脉血3ml置入含有10%EDTA(60μl)的试管中,混匀,在4℃下以3000r/min离心10min,分离血浆并加1000 IU抑肽酶混匀后保存在－20℃待测。

1.3 **ET－1测定方法** 血浆及组织的ET－1测定均采用放免法测定,药盒从解放军总医院东亚免疫技术研究所购进。严格按照说明书进行操作。其灵敏度为15pg/ml,可测范围20～1200pg/ml。用美国CANBRA公司产的COBRA－1型自动r计数仪测定其沉淀物的cpm数。

在测定时以ET－1标准浓度为横坐标,Bi/Bo为纵坐标绘制标准曲线,并根据标准曲线计算出每升血浆或每克组织ET－1免疫反应物质的浓度,浓度以pmol/L或pm·

* 女,1960－02出生,主治医师

维普资讯 http://www.cqvip.com

ol/g表示。

1.4 统计学方法 实验数据以$\bar{x}\pm s$表示,统计方法采用方差分析,Newman－Keuls检查,近似法t'检验,t检验及直线相关分析。

2 结果

在各实验组血浆ET－1均增高,与正常对照组比较具有显著性差异($P>0.01$)(详见表1)。

表1 各试验组血浆ET－1的含量

	n	血浆ET－1浓度 (pmol/L)
胃溃疡组	12	26.21±6.97
十二指肠溃疡组	36	25.55±5.395
复合性溃疡组	8	24.98±4.998
正常对照组	10	17.41±7.35

注:各试验组与正常对照组比较$P>0.01$

溃疡活动期及愈合期血浆ET－1浓度亦有不同程度增高,但以活动期增高最明显(28.96±5.00 pmol/L),且与正常对照组(17.41±7.35pmol/L)比较尤为显著($P>0.01$)。与愈合期(21.40±7.23pmol/L)和疤痕期(16.45±3.74pmol/L)比较亦有显著差异($P>0.05$)(详见图1),疤痕期血浆ET－1无明显增高,可能在溃疡经治疗愈合后,血浆内皮素亦随之降至正常。溃疡面积与血浆ET－1的浓度具有一定的相关性($r=0.48, P>0.05$)。

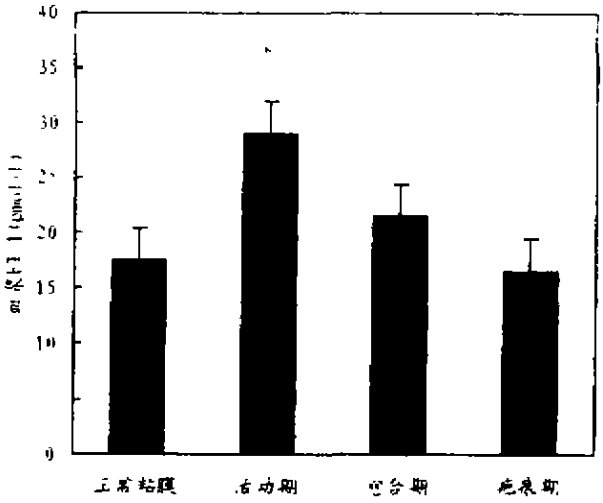


图1 血浆ET－1在溃疡各期中的浓度

注:*与正常粘膜各期比较$P<0.01$

溃疡边缘粘膜组织内ET－1含量明显增高,与自身正常粘膜组织相比有显著差异($P>0.05$),与正常对照组比较更有非常明显的差异($P>0.01$)(详见表2)。提示内皮素可能参与了溃疡的形成。病灶粘膜组织内ET－1的含量与溃疡的大小具有很明显的相关性($r=0.8575$, $P>0.01$)(见图2)。提示内皮素不仅与溃疡的发生可能有关,且与其病情的严重程度也有很明显的相关性。

表2 胃粘膜组织ET－1的含量

	n	溃疡边缘粘膜 ET－1(pmol/g)	自身正常粘膜 ET－1(pmol/g)
溃疡组	20	20.91±12.96 * Δ	10.55±6.02
对照组	10		8.56±3.31

注:*与对照组正常粘膜比较$P>0.05$,Δ与自身对照粘膜比较$P>0.01$

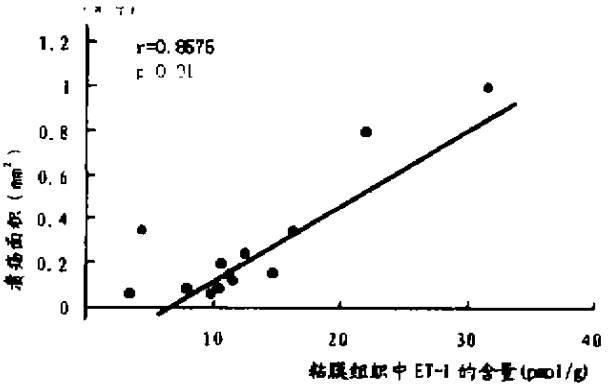


图2 胃粘膜组织中ET－1含量与溃疡面积的相关性

3 讨论

1988年由Yangagisawa等[5]首次从猪的血管内皮细胞中分离纯化出内皮素,其结构由21个氨基酸残基构成的活性多肽。人类的ET有三种基因表达类型,即ET－1,ET－2,ET－3。其中以ET－1的活性最强,是迄今所知体内最强的缩血管物质。它广泛分布于心血管、肝、肾及脑。近来研究证实,胃粘膜上皮细胞也存在ET－1[6]。胃粘膜的完整与修复因其具有丰富的毛细血管,血管张力的调节有关,这对保护胃粘膜完整性具有重要的作用。近来研究证实血管收缩物质,例如血栓素A2,血小板

维普资讯 http://www.cqvip.com

激活因子具有致溃疡的作用,而血管扩张因子如前列腺素,对胃粘膜具有保护作用[7]。ET－1可促进血小板激活因子的产生及释放[8]。后者被认为是缩血管物质,可使胃粘膜血管收缩,且ET－1也可直接收缩胃粘膜血管,从而减少其血流量。动物试验还发现ET－1可提高胃粘膜对胃酸的易感性[9]这些因素均可致胃粘膜易于损伤。故推测ET－1可能是致溃疡的重要因子。本组试验发现溃疡病患者血浆及粘膜组织中ET－1含量较对照组明显增高,与Tomoki M等[10]报道相似。且血浆ET－1与溃疡面积有一定的相关性($r=0.48, P>0.05$)。在溃疡各期中血浆ET－1亦有不同程度增高。活动期增高最明显,愈合期次之,疤痕期恢复正常,这与Masadusa E等[11]报道相似。这说明当局部病灶严重时,血浆ET－1增高,经治疗后局部病灶消失,血浆ET－1也随之降至正常。进入血浆内的ET－1可能是通过全身血管收缩和舒张因子的失衡,而影响胃粘膜的血供,因此,本文研究显示,溃疡与血浆ET－1浓度密切相关。血浆ET－1浓度的高低,可作为判断溃疡是否活动及其严重程度的参考指标。

本组研究还发现,溃疡边缘粘膜组织ET－1含量明显高于其自体相对正常的粘膜组织和正常对照组粘膜组织内的ET－1含量。且与溃疡的大小呈显著性正相关($r=0.8575, P>0.01$)。提示ET－1可能是作为一种局部因素直接参与溃疡的形成或通过刺激其它肠激素的分泌而致溃疡的。作为局部因素,内皮素可致血管收缩,血流阻塞,导致胃粘膜微循环障碍,最终至胃粘膜损伤,溃疡形成。简而言之,局部胃粘膜组织的内皮素可能是消化性溃疡发病机制中一个重要的介质,并与溃疡的发生发展均有很密切的关系。这将对消化性溃疡的防治提供了新的理论依据。

参 考 文 献

1. Svanes K,et al. Digestion 1977; 15:517
2. Whittle BJR,et al. Br.J.Pharmacol 1988; 95:1011
3. Lazaratos S, et al. Am.J.Physiol 1993; 265:G491
4. Miyake T, et al. Oishi M. Dig Dis Sci 1980; 25:8
5. Yanagisawa M, et al. Nature 1988; 332:411
6. Takahashi K, et al. Gasteroenterology 90; 99:1660
7. Wallace JL Am. J. Physiol 1990; 258: G1
8. Kurose I, et al. Gut 1992; 33:868
9. Wallace K, et al. J Cardiovascular Pharmacol 1989; 13(1):18
10. Tomoki M, et al. Am.J. Gasteroenterology 1997; 92:1177
11. Masuda E, et al. Dig Dis Sci 1997; 42(20):314

(收稿日期 1999－11－12)

Preliminary study of the effect of the endothelin－1 on the pathogenesis of peptic ulcer

Wang Li, et al
Department of digestive, college of clinical medicine

To study the effect of the endothelin－1 on the pathogenesis of peptic ulcer, endothelin－1 concentrations in gastric mucosa and peripheral plasma were assessed by radioimmunoassay in 56 patients with peptic ulcer and ten healthy adults. And the relationship between the endogenous plasma and the mucosa endothelin－1 concentrations in the area of ulcer was examined. The results showed that plasma endothelin－1 concentrations were increased ($P>0.01$ compared with normal) in ulcer groups. Plasma ET－1 concentrat in active stages of ulcer there sigmificantly greater than those in normal subjucts and in scarring stages of ulcer were normal. ET－1 level of ulcer edge mucosa was different from ET－1 level of its normal mucosa and mucosa of control groups

维普资讯 http://www.cqvip.com

(20.91±12.96 pmol/g; 10.55±6.02 pmol/g, $P>0.01$; and 8.56±3.31pmol/g, $P>0.05$).There was a significant positive correlation between the endothelin-1 concentrations in the mucosa edge of ulcer and the area of ulcer ($r=0.8575, P>0.01$). Our studies suggest that locally increased endothelin-1 may be an important mediator contributing to the pathogenesis of peptic ulcer and there may be a relationship between endothelin-1 concentration and development of the ulcer.

KEY WORDS Endothelin-1; Peptic ulcer; Endoscopy

硫酸软骨素的制备及含量测定

基础医学院药物化学及生物材料研究室 汤先觉* 马 育 耿娓琴 杨晓兰

提 要 本文介绍了由猪软骨制备硫酸软骨素(Chondroitin Sulfate,ChS)的方法。该方法工艺简便,成本较低,产品ChS含量在70%左右,收率为14%(以骨粉计)。探讨了配位滴定法的准确度,并用该法测定了ChS的含量。

关键词 硫酸软骨素; 含量测定; 配位滴定法
中图分类号 Q503

生化药物硫酸软骨素是从动物软骨中提取的硫酸软骨素A和C的混合物。目前,ChS是防治链霉素副作用的有效药物,且对治疗冠心病、风湿痛、关节炎、肾炎、腰病、神经痛及头痛有较好疗效,在药物制剂、化妆品配方中也有广泛的用途。国内制备肝损伤模型化合物D-氨基半乳糖也多以ChS为原料。鉴于目前市售ChS价格成倍上涨,我室进行了由猪软骨提取ChS,经水解制备D-氨基半乳糖的研究。所提取的ChS经配位滴定法测定,含量达70%,符合制备D-氨基半乳糖原料的质量要求。现报告如下。

1 实验部分

1.1 材料及药品仪器

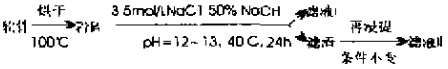
市售干净猪喉及鼻软骨,95%乙醇,精制食盐,NaOH

硫酸软骨素样品(重庆生化制药厂生产),铬黑T指示剂,碳酸镁(GR),EDTA.2Na(AR),$BaCl_2\cdot 2H_2O$(AR)

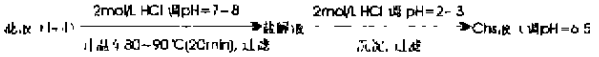
pHS-2型精密酸度计(上海雷磁仪器厂)

1.2 ChS的主要提取工艺

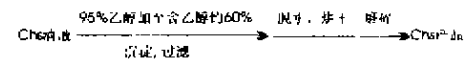
1.2.1 浸提:



1.2.2 盐解及除杂质:



1.2.3 产品析出:



1.3 含量分析 精确称取ChS产品0.2-0.3 g,加入10ml浓盐酸,10ml H_2O,回流2h水解,冷却,用30% NaOH调pH=7~8,加入少许活性炭脱色,取清液按[1]测定SO_4^{2-}百分含量。

2 结果与讨论

2.1 提取工艺路线的确定及提取结果

ChS的制备方法很多,可采用浓碱法、稀碱

* 男.1942-01出生,副教授