维普资讯 http://www.cqvip.com

171-173
R573.102
20

十二指肠溃疡胃粘膜一氧化氮合成酶的观察

临床学院消化内科 刘纯伦* 王丕龙 刘新才

提 要 本文研究和比较活动期和愈合期十二指肠溃疡(DU)患者及其HP根除前后胃粘膜一氧化氮合成酶(NOS)活性。30例DU胃窦粘膜NOS活性及胃体粘膜NOS活性分别是对照组胃窦和胃体的1.75倍和1.84倍($P<0.05$)。27例HP阳性DU胃窦粘膜NOS活性是6例HP阳性对照胃窦粘膜NOS活性的1.6倍($P<0.05$)。28例愈合期DU胃窦与胃体粘膜NOS活性较治疗前明显降低($P<0.05$),并接近对照组水平($P>0.05$)。结果提示。DU患者胃粘膜活性明显增高。其增高与HP感染无直接关系,NO在DU发病过程中的作用尚不清楚。

关键词 十二指肠溃疡;一氧化氮合成酶;幽门螺杆菌
中图分类号 R573.1

一氧化氮合成酶(NOS)分结构酶(cNOS)和诱导酶(iNOS)两种。cNSO催化L-精氨酸(L-Arg)生成少量的一氧化氮(NO),在体内发挥传递介质和调节介质的作用。iNOS催化L-Arg生成大量的NO,参与体内非特异性免疫,杀伤肿瘤细胞和体内微生物,同时也可导致机体的组织损伤。NOS在十二指肠溃疡发病机制中的作用有待研究。本文目的在于测定和比较活动期和愈合期十二指肠溃疡以及HP根除前后胃粘膜NOS活性的变化。

1 对象与方法

1.1 对象

1.1.1 内镜证实的30例活动期十二指肠溃病患者,男21例,女9例。所龄26~65岁,平均年龄39.5岁。病程20天~40年,平均6.9年,所有病人至少在一月内未服用过非甾体类抗炎药或接受其它治疗。

1.1.2 对照组均系有消化不良症状,经检查未发现有器质性病变的非溃疡性消化不良患者。12例对照中,男4例,女8例,年龄27~38岁,平均年龄33岁。

1.2 方法

1.2.1 标本采集:所有对象均进行胃镜检查,检查前禁食12小时。在胃窦大弯距幽门2~3cm处取活组织4块(3块用于HP检测,1块用于NOS活性测定)及胃体大弯中部1块用于NOS活性测定。

1.2.2 HP检测

1.2.2.1 快速尿素酶试验,试剂盒由重庆医科大学微生物教研室提供。

1.2.2.2 活组织涂片:Gram's染色,直接镜检HP。

1.2.2.3 HP-PCR检测:参照龙北国等方法[1]

凡以上检测中1+2项或2+3项以上阳性者为HP阳性。

1.2.3 药物治疗:30例DU患者均接受小剂量三联疗法。三钾二枸橼酸铋5ml(含铋100mg,重庆医科大学临床学院药厂生产),四环素250mg(成都化学制药厂生产),甲硝唑200mg(苏州第六制药厂生产),一日三次共十四天。

1.2.4 复查:30例DU患者在三联治疗结束后4周进行胃镜复查,观察并测量溃疡变化,溃疡消失或有瘢痕形成者为溃疡愈合;溃疡缩小或增大者为未愈。每例在与治疗前相同部位钳取胃粘膜5块,供HP和NOS活性检测。治疗后HP检测三种方法均为阴性者,为HP已根除,三种方法之一阳性者为HP未根除。

1.2.5 胃粘膜NOS活性测定

参照knowles等方法[2]由NOS催化L-Arg生成的NO与HbO_2反应生成Met Hb(2秒内完成),吸光度发生变化。酶促反应体系:2.5μM HbO_2、20μM $CaCl_2$、1mM $MgCl_2$、100μM L-Arg、500mM L-缬氨酸(抑制Arginase)、100μM NADPH、40mM磷酸钾缓冲液(pH=7.2),加入20%(V/V)胞浆提取物。在37℃条件下,应用岛津uv-265双波长分光光度计在401nm和421nm波长下监测10min内吸光度的变化代表NOS含量,用酚试剂法测定组织蛋白质含量。酶的单位用nmol·min^{-1}·mg^{-1} protein表示。

1.3 统计分析

NOS活性用平均值(标准差)表示。配对资料间的差异用student's t检验。非配对资料样本间差异用Mann-whitney U检验。(双侧检验$\alpha=0.05$)

*男,1965-06出生,主治医师

维普资讯 http://www.cqvip.com

表1 活动期DU与对照组的HP状况和胃粘膜NOS活性

	活动期DU			对照组		
	例数	胃窦	胃体	例数	胃窦	胃体
总数	30	83.6(12.5)	78.6(16.5)	12	51.0(8.8)	42.8(8.2)
HP(+)	27	85.1(12.1)[a]	79.9(15.5)[b]	6	52.7(3.1)[a]	44.0(2.3)[b]
HP(-)	3	70.3(7.2)[c]	57.0(10.5)[d]	6	49.3(12.4)[c]	41.5(11.8)[d]

a、b、c、d($P>0.05$)

表2 愈合期DU与对照组的HP状况和胃粘膜NOS活性

	愈合期DU		对照组	
	HP(+)	HP(—)	HP(+)	HP(—)
例数	5	23	6	6
胃窦	53.8(10.7)[a]	56.1(10.3)[b]	52.7(3.1)[a]	49.3(12.4)[b]
胃体	54.8(9.8)[c]	51.5(11.9)[d]	44.0(2.3)[c]	41.5(11.8)[d]

a、b、c、d($P>0.05$)

2 结果

30例DU患者，治疗前HP阳性27例，阴性3例，阳性率90%，治疗后溃疡愈合28例，2例溃疡未愈合，愈合率93%；20例HP被根除，7例未根除，根除率74%。12例对照中，HP阳性61例，阳性率50%。

30例DU患者治疗前胃窦及胃体粘膜NOS活性分别是对照组的1.75倍和1.84倍($P<0.05$)。27例HP阳性DU患者胃窦粘膜NOS活性是HP阳性对照的1.6倍($P<0.05$)，3例HP阴性DU患者胃窦粘膜NOS活性为HP阳性对照的1.4倍($P<0.05$)(表1)。28例DU愈合者，治疗后胃粘膜NOS活性显著降低，与治疗前相比差异显著($P<0.05$)(表2)。

3 讨论

本文测定的NOS活性为胃粘膜cNOS和iNOS活性之总和。胃粘膜cNOS活性pmol水平，iNOS活性为nmol水平，故测定结果主要反映胃粘膜iNOS活性。本文30例活动期十二指肠溃疡胃窦与胃体粘膜NOS活性显著高于12例对照，经治疗后28例溃疡愈合者胃窦及胃体粘膜NOS活性与对照组无明显差异，结果与Rachmilewitz等[3]报导基本一致。

动物实验资料表明NO在消化性溃疡的作用有两面性。一些学者发现NO对胃粘膜有保护作用，可促进溃疡愈合。Brzozowski等发现，L－Arg能显著增加胃溃疡周围血流和溃疡基底肉芽组织中的微血管数量，促进粘膜细胞DNA合成，加速溃疡愈合。[4]。konturek等发现，NOS抑制剂L－NNA导致胃溃疡愈合延迟，L－NNA的作用可被NO供体三硝基甘油或L－Arg拮抗[5]。NO通过扩张血管，改善胃粘膜微循环而起保护作用[6]。NO可与壁细胞的鸟甘酸环化酶的Fe^{++}结合，使之活化而产生cGMP，导致cAMP/cGMP下降，影响K^+/H^+ATP酶的治性，抑制胃酸分泌。[7]。

另一此学者则发现NO参与了溃疡的形成并延迟溃疡的愈合。Yamamoto等发现NOS抑制剂L－NAME尽管降低了鼠胃溃疡周围粘膜血流，但能加速溃疡的愈合。NO是非肾上腺能非胆碱能神经的传递介质和调节介质，可抑制胃肠平滑肌收缩，延长了十二指肠粘膜暴露于胃酸的时间。Takechi等发现NOS抑制剂L－NAME能增加十二指肠HCO_3^-的产生。胃粘膜中的NO可与含巯基的蛋白质结合形成硝基硫醇化合物，到达十二指肠后释放出NO，也可抑制十二指肠粘膜HCO_3^-产生，降低十二指肠粘膜的防御机能。

十二指肠溃疡胃粘膜HP阳性率高。本文30例患者中27例HP阳性。活动期十二指肠溃疡中27例HP阳性者胃粘膜NOS活性与3例HP阳性者无显

维普资讯 http://www.cqvip.com

著差异。而Rachmilewitz等报导15例HP阴性十二指肠溃疡胃粘膜NOS活性显著高于2例HP阴性患者[3]。由于本文及Rachmilewitz文中HP阴性病例太少，尚难定论，有待于大系列研究予以证实。本文27例HP阳性十二指肠溃疡经治疗后，25例溃疡愈合，其中20例HP根除，HP根除者胃粘膜NOS活性与HP未根除者无显著差异，与HP阴性对照亦无显著性差异，提示胃粘膜HP状况与NOS活性无关。

本文结果显示：十二指肠溃疡胃粘膜NOS活性增高，胃粘膜NOS活性与胃粘膜HP状况无直接关系。NO在十二指肠溃疡的发病过程中具有一定作用，其确切机理有待于进一步探讨。

参考文献

1、龙北圆，古惠英，杨林，等.中华微生物学和免疫学杂志 1994;14:280
2、Konwles RG, Merrett M, Salter M, et al.Biochem J 1990;27:833
3、Rachmilewitz D, Karmeli F, Eliakim R, et al.Gut 1994;35:1394
4、Brozozowski T, Pytko-Poloczyk J, Konturek SJ. Gastroenterol 1994;106(4 part2):A58
5、Konturek SK, Brzozowski T, Majka J, et al.Eur J pharmacol 1993;239:215
6、Masuda E, Sunao K, Kouichi N, et al.Gastroenterol 1995;108:58
7、Brown JF, Hanson PT, and whittle BJK.Bicochem Biophy Res Commun 1993;195:1354
8、Yamamto H, Okabe S.Gastroenterol 1993;104(4 part 2):A227

(收稿日期 1997-09-08)

Ntric oxide synthase activty of gastric mucosa in duodenal ulcer

Liu Chunlun, et al
Depatrment of Digestive Disease, College of Cinical Medicine.

The aim of this study is to investigate the change of NOS of gastric mucosa in duodenl ucler (30 cases)and non-ulcer dyspepsia(12 cases)serving as control.In each subject, totally 5 specimens were obtained from the gastric antrum and body, for the examination of Helicobacter pylori(HP) and determination of NOS activity. All DU patients received the treatment consisting of 2-wk course of tripotassium dicitroto-bismuthate (TDB) 100mg tid tetracyclin 250mg tid, and metronidazole 200mg tid. The ulcer healing and HP eradication were confirmed by follow-up endoscopy with biopsies 4 wk after the completion of therapy.Results:Gastric mucosa NOS activity in 30 DU was 83.5±12.5U in antrum and 78.6±16.5U in body, higher than that of 12 controls in gastric antrum(51±8.8U)* and body(4.2±8.2U) respectively($P<0.05$).In 27 cases of HP positive DU, gastric antrum NOS activity was 85.1±12.1U , which was higher than that of gastric antrum in 6 HP positive controls (52.7±3.1U)($P<0.05$).In 28 cases of cured DU. NOS activity of gastric mucosa was markedly lower than that of its corresponding activity before treatment ($P<0.05$)and approximately to its activity of the controls.These findings suggest that in DU patients there are enhencement of gastric mucosa NOS activity , which may have a role in the pathoensis of the disease .Our preliminary results suggest that the gastric mucosa NOS activity is irrelevant to HP infection.

KEY WORDS Duodenal ulcer; Helicobacter pylori; Nitric oxide synthase;

* U=nmol.min^{-1} · mg^{-1}protein