

地高辛诱发小鼠消化性溃疡的实验研究^{*}

范楠, 夏恒, 李月, 殷华, 段为钢[△]

(云南中医学院中医药学分子生物学重点实验室, 云南 昆明 650500)

摘要: **目的** 证实地高辛是否具有诱发消化性溃疡的作用。**方法** 用 25%乙醇生理盐水溶解地高辛,取 80 只昆明种雌鼠随机分为对照组(溶剂对照)和地高辛低(10 mg/kg)、中(20 mg/kg)、高(40 mg/kg)剂量组,每只于背部皮下注射相应剂量的药物。另取 60 只昆明种雌鼠,随机分为对照组(生理盐水)和地高辛口服溶液低(10 mg/kg)、高(20 mg/kg)剂量组,自由饮用给药。连续给药 5 天,每天记录鼠重变化,5 天后处死动物,收集胃液和十二指肠液并测 pH,观察胃窦和十二指肠形态变化,用 4%甲醛溶液固定组织后进行常规石蜡切片和 HE 染色检测。**结果** 小鼠注射地高辛后,体重增长缓慢,中、高剂量组胃液 pH 明显下降,胃、十二指肠充血明显;口服给药后,小鼠体重明显减轻,低剂量组小鼠胃液 pH 明显下降,胃、十二指肠明显充血,且十二指肠出血明显。**结论** 地高辛能诱发消化性溃疡且口服给药比注射严重。

关键词: 地高辛; 消化性溃疡; 小鼠; 十二指肠出血

中图分类号: R96; R573.1

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2018)05-0006-05

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2018.05.002

Digoxin Induces Peptic Ulcer in Mice

FAN Nan, XIA Heng, LI Yue, YIN Hua, DUAN Weigang

(Key Laboratory of Molecular Biology for Sinomedicine, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

ABSTRACT: **Objective** The main aim of the study was to verify that digoxin was able to cause peptic ulcer. **Methods** Digoxin injection was prepared by dissolving digoxin powder in normal saline for injection containing 25% alcohol. Kunming mice were subcutaneously injected with normal saline for injection containing 25% alcohol, or with digoxin of 10, 20 and 40 mg/kg, respectively. In an oral administration experiment, mice were administrated with normal saline, or with oral digoxin solution of 10 and 20 mg/kg via free drink, respectively. Mice were treated for 5 days, and their body weight was recorded. In the end of the experiment, animals were killed, and acidity of the stomach and duodenum juice was detected. The general morphology of gastric antrum and duodenum was observed, and then, the tissues were fixed in 4% methanal, embedded in paraffin, and stained with hematoxylin-eosin. **Results** Mice injected with digoxin grew more slowly than those in control group, pH of stomach juice in mice treated with digoxin of 10 and 20 mg/kg significantly decreased, and mucosa of gastric antrum and duodenum congested. In the oral experiment, when mice administrated with digoxin solution, their body weight decreased, pH of stomach juice in the mice treated with digoxin of 10 mg/kg significantly decreased, mucosa of gastric antrum and duodenum also congested, and especially, mucosa of duodenum bled obviously. **Conclusion** Digoxin was able to induce peptic ulcer, and the effect of the drug administrated through oral was more powerful than that through injection.

KEY WORDS: digoxin; peptic ulcer; mice; duodenal bleeding

强心苷是临床常用的抗心力衰竭药,在治疗慢性心力衰竭时需长时间服药。消化道不良反应也是

强心苷类药物最常见的不良反应,常涉及到恶心、呕吐^[1-2]。但是否会导致或诱发消化性溃疡,罕见临床

收稿日期: 2018-08-26

^{*} 基金项目: 云南省中青年学术技术带头人后备人(2010CI043),云南省大学生创新创业计划(2018003)

第一作者简介: 范楠(1997-),女,在读本科生,研究方向:药理学。

[△]通信作者: 段为钢, E-mail: deardwg@126.com

报道。考虑到慢性心力衰竭和消化性溃疡均属于临床常见慢性病^[3-4],本文从实验角度以地高辛为代表阐释强心甘是否有诱发消化性溃疡风险。

1 材料方法

1.1 材料 健康未孕昆明种雌性小鼠(许可证号:SCXK(京)2014-0004)由北京华阜康生物科技股份有限公司提供,体质量 18~22 g。地高辛口服溶液(国药准字 H10970389,批号 296017),30 mL:1.5 mg,由北京华润高科天然药物有限公司生产。地高辛粉末(纯度>98%,批号 20171020),由西安昊轩生物科技有限公司生产。迷你 pH 计由美国 Thermo Orion 生产。

1.2 注射给药实验 地高辛粉末用 25%乙醇生理盐水溶液,依次配制 4 mg/mL(高)、2 mg/mL(中)和 1 mg/mL(低)溶液。将 80 只小鼠适应性饲养 3d 后,随机分成对照组(SN)和地高辛低(SC1)、中(SC2)、高(SC3)剂量组,每组 20 只,分别给予于背部皮下 3 个点注射 25%乙醇生理盐水溶液或相应剂量的地高辛溶液 0.1 mL/10g。每天注射 1 次。每天记录小鼠重量。第 5 天给药 1 h 后,颈部脱臼处死动物,剪开腹腔,分离胃和十二指肠,观察粘膜表面变化,收集胃液和十二指肠液,然后将胃窦和十二指肠浸入 4%甲醛溶液中用于常规石蜡切片和 HE 染色。胃液和十二指肠液的 pH 用迷你 pH 计测定。

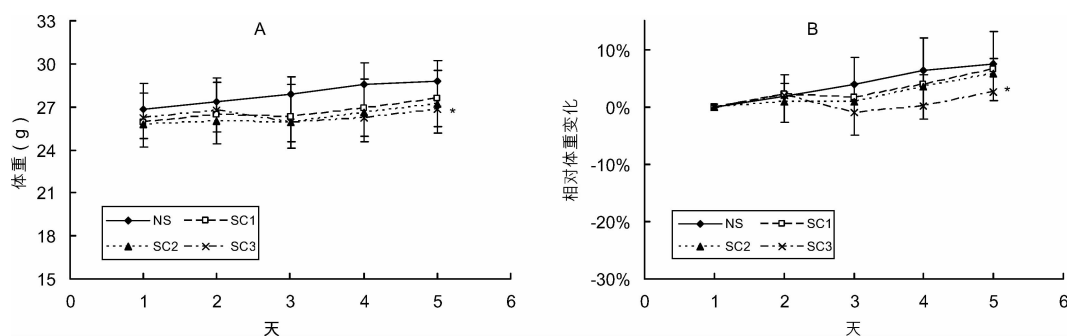
1.3 口服给药实验 将 60 只小鼠适应性饲养 3d 后随机分成对照组(SN)和口服低(PO1)、高(PO2)剂量组,每组 20 只。每晚 7 点让动物分别饮水生理盐水(对照组,每只 8mL)、2 倍稀释的地高辛口服溶液

(PO1 组,每只 8 mL,0.2 mg/只·d,相当于 10 mg/kg)和地高辛口服溶液(PO1 组,每只 8 mL,0.4 mg/只·d,相当于 20 mg/kg)。小鼠 24 h 内喝完药物溶液后再饮用自来水。如此连续给药 5 d,第 6 天下午 1 时许,颈部脱臼处死动物,剪开腹腔,分离胃和十二指肠,观察粘膜表面变化,收集胃液和十二指肠液,然后将胃窦和十二指肠浸入 4%甲醛溶液中用于常规石蜡切片和 HE 染色。胃液和十二指肠液的 pH 用迷你 pH 计测定。

1.4 统计学处理 数据采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。动物的体重相对变化=(第 n 天体重-第 1 天体重)/第 1 天体重。各组动物的体重变化差别用双因素方差分析,十二指肠液和胃液 pH 值变化采用单因素方差分析,如果方差不齐则采用校正的方差分析。以 $P < 0.05$ 认为具有统计学差异。

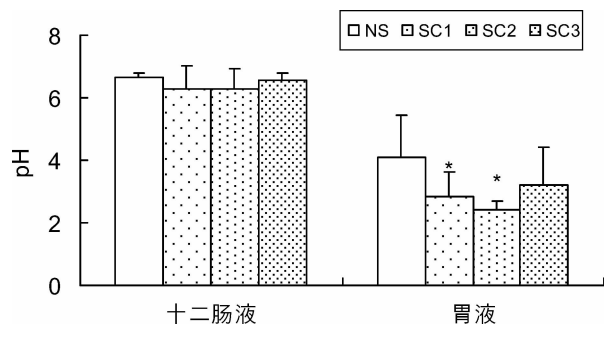
2 结果

2.1 注射地高辛溶液对小鼠胃和十二指肠的影响 相比对照组,用药后,小鼠的体重增长缓慢,呈现出一定的剂量相关趋势,其中高剂量组(SC3,40 mg/kg)具有统计学差异(图 1)。第 5 天收集胃液和十二指肠液检测 pH,发现十二指肠液 pH 无明显变化,但中低剂量组有一定的下降趋势;但对于胃液来说,低剂量组(SC1,10 mg/kg)和中剂量组(SC2,20 mg/kg)出现剂量相关趋势的 pH 降低,而高剂量组(SC3,40 mg/kg)的 pH 下降程度反而较小,但 SD 增加(图 2)。解剖发现,用药后小鼠的胃和十二指肠均出现明显充血(图 3),但显微病理检查未见明显损伤。



注:A 给药 5d 的体重变化;B 给药 5d 的相对体重变化。NS,皮下注射含 25%乙醇的生理盐水溶液;SC1,SC2 和 SC3 分别皮下注射地高辛 10 mg/kg、20 mg/kg 和 40 mg/kg。* $P < 0.05$, vs NS 组,重复测量设计的方差分析

图 1 地高辛注射对小鼠的体重影响($\bar{x} \pm s$, $n=20$)

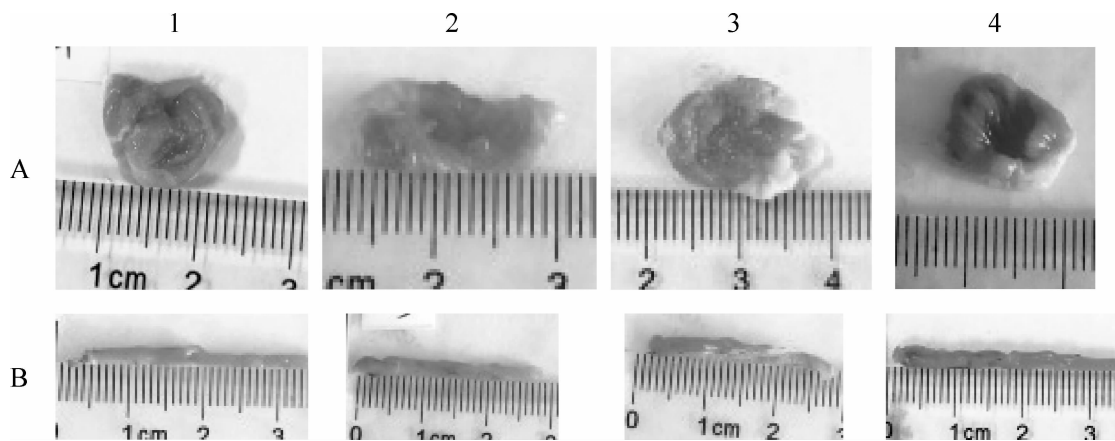


注: NS, 皮下注射含 25% 乙醇的生理盐水溶液; SC1, SC2 和 SC3 分别皮下注射地高辛 10 mg/kg、20 mg/kg 和 40 mg/kg。* $P<0.05$, vs NS 组, 单因素方差分析

图 2 地高辛注射 5 d 后对小鼠胃液和十二指肠液 pH 的影响($\bar{x} \pm s, n=20$)

2.2 口服地高辛溶液对小鼠胃和十二指肠的影响

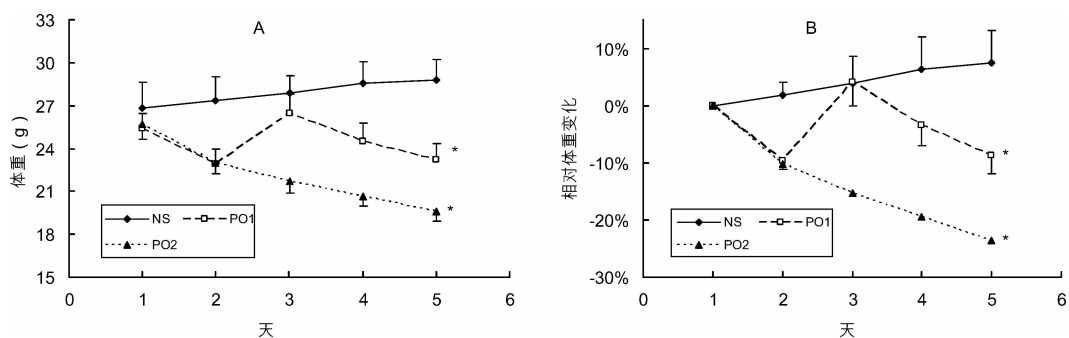
相比对照组, 用药后, 小鼠的体重增长缓慢甚至还导致体重下降, 呈现出明显的剂量相关趋势, 两组均有统计学差异(图 4)。第 5 天收集胃液和十二指肠液检测 pH, 发现十二指肠液 pH 变化无明显变化, 但低剂量组有一定的下降趋势; 但对于胃液来说, 低剂量组(PO1, 10 mg/kg)出现 pH 降低, 而高剂量组(PO2, 20 mg/kg)的 pH 不降反升且 SD 增加(图 5)。进一步检测发现, 用药后, 小鼠的胃出现明显的充血现象(图 6A), 但十二指肠则出现明显出血(图 6B)。显微病理检查未见胃组织明显损伤, 但可见十二指肠损伤明显(图 7)。



注: 皮下注射地高辛溶液 5 d 后, 胃窦和十二指肠可见明显充血。

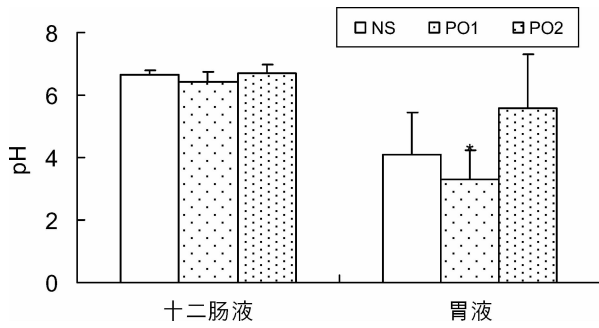
1, 皮下注射含 25% 乙醇的生理盐水溶液组; 2、3、4 组分别皮下注射地高辛 10 mg/kg、20 mg/kg 和 40 mg/kg。

图 3 胃窦(A)和十二指肠(B)大体观



注: A, 给药 5 d 的体重变化; B, 给药 5 d 的相对体重变化。NS, 口服生理盐水溶液; PO1, PO2 分别口服地高辛溶液 10 mg/kg、20 mg/kg。* $P<0.05$, vs NS 组, 重复测量设计的方差分析

图 4 地高辛溶液口服对小鼠的体重影响($\bar{x} \pm s, n=20$)



注: NS, 口服生理盐水溶液; PO1, PO2 分别口服地高辛溶液 10 mg/kg、20 mg/kg。* $P < 0.05$, vs NS 组, 单因素方差分析

图5 地高辛溶液口服 5 d 后对小鼠胃液和十二指肠液 pH 的影响($\bar{x} \pm s$, $n=20$)

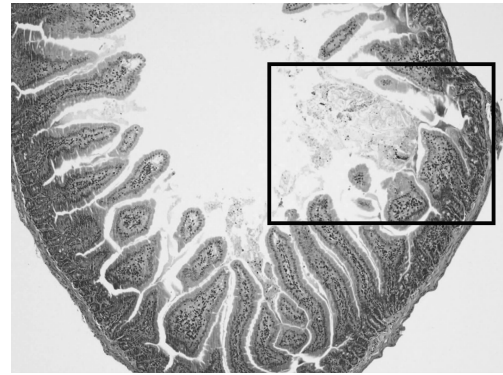
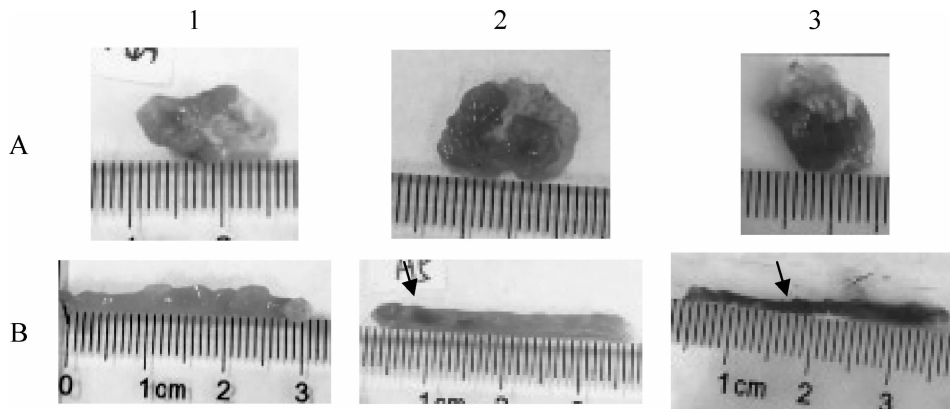


图7 小鼠口服地高辛溶液(20 mg/kg)5 d 后, 十二指肠出血点出现明显的黏膜损伤(肠绒毛损伤脱落, 黑框内所示)。(长×高=1370×1020 μm , 常规石蜡切片 HE 染色)



注: 口服地高辛溶液 5 d 后, 胃窦可见明显的充血, 无出血点, 但十二指肠可见明显的出血点。

1, 口服生理盐水溶液组; 2、3 分别口服地高辛溶液 10 mg/kg 和 20 mg/kg

图6 胃窦(A)和十二指肠(B)大体观

3 讨论

正常情况下, 胃主动泌酸, 十二指肠会主动泌碱, 前者的动力来自 H^+/K^+ ATP 酶, 后者来自 Na^+/K^+ ATP 酶^[5]。因此, 胃和十二指肠之间存在酸碱平衡, 如果平衡打破, 就有可能导致消化性溃疡。目前认为消化性溃疡的主要发病机制是: 1) 胃酸分泌过多; 2) 黏膜保护减弱; 3) 幽门螺旋菌感染^[6-7]。在以上机制中, 一般认为幽门螺旋菌感染是导致消化性溃疡的核心因素^[6,8]。然而, 依旧有相当数量的临床病例表现为幽门螺旋菌阴性^[9-11], 这提示消化性溃疡还有其他被忽略的机制。

本研究发现, 使用地高辛后, 胃和十二指肠液的 pH 呈现下降趋势, 但剂量较大时 pH 下降程度反而减轻。这可能是较大剂量的地高辛导致胃、十二指肠明显损伤后(充血渗出、甚至出血)反而中和了胃酸有

关。因为从胃、十二指肠损伤的程度看, 具有明显的剂量依赖性。需要指出的是, 口服给药对胃、十二指肠的损伤更为明显(出血、体重下降)。

地高辛是 Na^+/K^+ ATP 酶选择性抑制剂, 对消化道的 H^+/K^+ ATP 酶无抑制作用^[12], 因此不会抑制胃酸分泌。正常情况下, 与碳酸氢盐分泌偶联的 Na^+/K^+ ATP 酶(ATP1 复合物)在胃、十二指肠是高表达的^[13], 因此, 推测胃、十二指肠的 pH 下降是地高辛抑制 Na^+/K^+ ATP 酶所致^[14]。

临床报道消化性溃疡具有一定的遗传性^[15], 而为胃、十二指肠碳酸氢盐分泌提供动力来源的 Na^+/K^+ ATP 酶(ATP1 复合物)存在单核苷酸(SNP)多态性^[16], 而 SNP 可能会影响 ATP1 复合物的表达和功能。因此本文除了证实强心苷能诱发消化性溃疡外, 还提示泌碱动力不足可能是消化性溃疡(特别是幽门

螺旋菌阴性溃疡)的重要因素。

参考文献:

- [1] Cummings E D, Swoboda H D. Digoxin Toxicity[M]. StatPearls Publishing, 2018.
- [2] MLADENKA P, APPLOVA L, PATOCKA J, et al. Comprehensive review of cardiovascular toxicity of drugs and related agents[J]. *Med Res Rev*, 2018, 38(4):1332–1403.
- [3] 闫巍, 李瑞, 王杰萍, 等. 北京市某三级医院综合科老年共病住院患者临床特点分析 [J]. *中国全科医学*, 2018, 21(14):1648–1656.
- [4] AKUSHEVICH I, KRAVCHENKO J, YASHKIN A. P, et al. Time trends in the prevalence of cancer and non-cancer diseases among older U. S. adults: Medicare-based analysis [J]. *Exp Gerontol*, 2018(110):267–276.
- [5] IP Y K., HIONG K C, LIM L J Y., et al. Molecular characterization, light-dependent expression, and cellular localization of a host vacuolar-type H(+)-ATPase(VHA) subunit A in the giant clam, *Tridacna squamosa*, indicate the involvement of the host VHA in the uptake of inorganic carbon and its supply to the symbiotic zooxanthellae [J]. *Gene*, 2018(659):137–148.
- [6] 胡伏莲. 消化性溃疡发病机理和治疗新理念 [J]. *医学与哲学(临床决策论坛版)*, 2010, 31(5):13–15.
- [7] 吕小波, 黄春球, 武正才, 等. 白及多糖对胃溃疡大鼠防治作用的实验研究[J]. *云南中医学院学报*, 2012, 35(1):30–32.
- [8] 张茜, 葛惠男. 中医药治疗幽门螺杆菌相关性消化性溃疡研究进展[J]. *湖南中医杂志*, 2017, 33(12):147–149.
- [9] 李娟, 柏启洲, 王小春, 等. 幽门螺杆菌阴性消化性溃疡与出血关系的临床研究[J]. *卫生职业教育*, 2018, 34(12):88–90.
- [10] 魏丹. 幽门螺旋杆菌阴性消化性溃疡与出血的相关性分析[J]. *中国初级卫生保健*, 2014, 28(7):149–150.
- [11] HU L, CHEN W, CHENG M, et al. MUC1 and MUC5AC Acting on *Helicobacter pylori*-Related Deficiency and Solid Syndrome of Spleen and Stomach [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2018, 2018:9761919.
- [12] MODYANOV N, PESTOV N, ADAMS G, et al. Nongastric H, K-ATPase: structure and functional properties[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2003(986):183–187.
- [13] Yun Y, Yin H, Gao Z, et al. Intestinal tract is an important organ for lowering serum uric acid in rats[J]. *PLoS One*, 2017, 12(12):e0190194.
- [14] FURUKAWA O, TAKEUCHI K, NISHIWAKI H, et al. Pathogenesis of digitoxin-induced duodenal ulcers in pregnant rats. Roles of gastric acid and duodenal alkaline secretion[J]. *Dig Dis Sci*, 1988, 33(7):889–896.
- [15] FAIONI E M, RAZZARI C, ZULUETA A, et al. Bleeding diathesis and gastro-duodenal ulcers in inherited cytosolic phospholipase-A2 alpha deficiency [J]. *Thromb Haemost*, 2014, 112(6):1182–1189.
- [16] FIELDS P D, MCCAULEY D E, MCASSEY E V, et al. Patterns of cyto-nuclear linkage disequilibrium in *Silene latifolia*: genomic heterogeneity and temporal stability[J]. *Heredity (Edinb)*, 2014, 112(2):99–104.