

◇ 药学研究 ◇

非甾体抗炎药对肠黏膜通透性的影响及替普瑞酮的保护作用

高二鹏¹, 汪国生¹, 刘晓昌², 梅 俏², 许建明²

摘要 目的 探讨非甾体抗炎药(NSAIDs)对类风湿关节炎(RA)及骨关节炎(OA)患者小肠通透性的影响及替普瑞酮对NSAIDs所致小肠损伤的防治作用。方法 收集服用NSAIDs的RA患者30例、OA患者16例,其他结缔组织病患者5例,健康对照者10例。高效液相色谱法测定尿液中乳果糖和甘露醇(L/M)排泄率比值,比较未使用NSAIDs、使用NSAIDs后及加用替普瑞酮后L/M排泄率比值。结果 ①使用NSAIDs的17例患者L/M排泄率比值较10例健康对照者升高,但差异无统计学意义;使用NSAIDs的34例患者L/M排泄率比值较未使用NSAIDs患者显著升高($P < 0.01$);10例使用替普瑞酮的患者L/M排泄率比值较单纯使用NSAIDs患者显著降低($P < 0.01$);②服用不同NSAIDs患者L/M排泄率比值排序为奥沙普嗪<双氯芬酸<氯诺昔康,但3组间差异无统计学意义;③RA患者L/M排泄率比值显著高于OA患者和健康对照者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 NSAIDs增加OA患者小肠黏膜通透性;NSAIDs对小肠黏膜通透性改变与COX-2选择性无关;RA患者肠黏膜通透性显著增加;替普瑞酮能保护NSAIDs引起的肠黏膜通透性改变。

关键词 非甾体抗炎药; 小肠通透性; 替普瑞酮

中图分类号 R 979.9; R 574.4; R 975.6

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2014)12-1747-04

非甾体抗炎药(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)有众多的不良反应,其中上消化道不良反应最多,如胃炎、溃疡、出血和穿孔。针对上消化道不良反应的防治措施有质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)、胃黏膜保护剂、米索前列醇、高危患者使用选择性COX-2抑制剂、肠外给药等。但近10年由于胶囊内镜、双气囊小肠镜的应用,NSAIDs引起的下消化道不良反应日益受到重视,在胶囊内镜检查时发现最多有71%的慢性NSAIDs服用者发生了小肠损伤^[1]。在所有小肠黏膜损伤中,

最初的改变就是小肠黏膜的通透性增加^[2]。PPI可以保护NSAIDs损伤上消化道,但对下消化道无效;米索前列醇可保护阿司匹林所致下消化道损伤;动物实验^[3-4]证实替普瑞酮保护双氯芬酸钠所致下消化道损伤。该研究旨在探讨NSAIDs引起的小肠黏膜通透性的影响及替普瑞酮对NSAIDs所致小肠损伤的作用。

1 材料与方法

1.1 病例资料 收集类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)患者30例、骨关节炎(osteoarthritis, OA)患者16例、SLE患者3例、强直性脊柱炎患者1例、未分化结缔组织病患者1例,共51例,均符合各疾病分类标准。其中男8例,女43例,年龄20~66(49 ± 7)岁。34例口服NSAIDs,其中双氯芬酸钠17例(100 mg/d)、氯诺昔康8例(16 mg/d)、奥沙普嗪7例(400 mg/d)、塞来昔布1例(400 mg/d)、右旋酮洛芬1例(25 mg/d)。8例口服双氯芬酸和2例口服氯诺昔康患者,服药2周后加服替普瑞酮(150 mg/d),持续用药2周。患者均在服药前、口服NSAIDs 2周后和加服替普瑞酮2周后空腹口服乳果糖(lactulose, L)10 g和甘露醇(mannitol, M)5 g,留6 h尿液,测定L和M排泄率。健康对照者10例,男女比例为3:7,年龄20~27(24 ± 3)岁。参加研究患者和健康对照者既往均无胃肠道疾病史,参加研究前均知情并签署知情同意书。

1.2 仪器和试剂 带脉冲电化学检测器的高压液相色谱仪、层析系统(DX-500)由GP40梯度泵和ED 40电化学检测器组成,测量电极为金电极,Ag-AgCl为参比电极,分离柱为CarboPac-PA1阴离子柱(4 mm × 250 mm)(Dionex公司,美国);流动相为0.1 mol/L的NaOH,流速1.0 ml/min,进样量为25 μ l,检测电极电压0.1 V,氧化电极电压+0.75 V,还原电极电压-0.10 V;色谱纯的L和M标准品Sigma Chemical公司(美国);高纯氢氧化钠50 g/dl(Fluka公司,美国)。

1.3 给药及尿样收集 所有受试者测定前1 d晚22时起禁食,早6时排空膀胱后,口服15 ml L(杜

2014-08-11 接收

基金项目:安徽省高校自然科学重点项目(编号: KJ2010A188)

作者单位:¹安徽医科大学附属省立医院风湿免疫科,合肥 230001

²安徽医科大学第一附属医院消化内科,合肥 230022

作者简介:高二鹏,男,硕士研究生;

汪国生,男,副教授,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail: gswang0551@163.com

密克 667 mg/ml (荷兰苏威制药) 和 25 ml 20% M 溶液(含 10.0 g L 和 5.0 g M) 30 min 后可饮水 2 h 后可进食。口服 L 和 M 溶液后收集 6 h 内所有尿液,记录尿量,混匀并留取 20 ml, -80 °C 冻存待检。

1.4 标本预处理 将 0.5 g 阴离子树脂(Dowex 1 X8 GL⁻ form, 44340 Fluka) 和 0.5 g 阳离子树脂(Dowex 50 WX8 H⁺ - form, 44509 Fluka) 装入 5 ml 注射器内,制成阴阳离子交换柱。取待测尿样 5 ml 离心 10 min(4 000 r/min),取上清液,根据尿量将标本稀释 50~200 倍,加入离子交换树脂中除去离子。滤过液再经 0.22 μm 的滤膜过滤除去蛋白及颗粒后上机检测。

1.5 标准液制备 分析天平精确称取色谱纯 M 200 mg 和 L 40 mg,新鲜去离子水溶解于 100 ml 容量瓶中,浓度分别为 M 2 000 μg/ml, L 400 μg/ml; 将此溶液稀释 100 倍制成溶液 A,浓度为 M 20 μg/ml, L 4 μg/ml。将上述 A 溶液稀释一倍制成溶液 B; 将溶液 B 稀释一倍制成溶液 C; 将溶液 C 稀释一倍制成溶液 D; 将溶液 D 稀释一倍制成溶液 E。配置好的工作标准溶液的浓度分别为 A: M 20 μg/ml, L 4 μg/ml; B: M 10 μg/ml, L 2 μg/ml; C: M 5 μg/ml, L 1 μg/ml; D: M 2.5 μg/ml, L 0.5 μg/ml; E: M 1.25 μg/ml, L 0.25 μg/ml。

1.6 计算方法 用 Peak Net(Dionex) 配套软件对色谱图形进行积分处理,测得峰面积,并建立 M 和 L 的标准计算公式,根据标准曲线公式算出标本中 M 和 L 浓度。再根据尿中 L、M 的浓度和尿量算出排出量,以排出量除以口服量(即 L 10 g、M 5 g) 算出各自的排泄率,以其比值表示通透性。

1.7 统计学处理 采用 SPSS 11.5 统计软件进行分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。符合正态分布的数据,两组比较采用独立样本 *t* 检验;多组间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),组间两两比较采用 *q* 检验。不符合正态分布的数据比较采用 Mann-Whitney 检验。标准品浓度和峰下面积的相关性分析采用 Pearson 检验。

2 结果

2.1 M 和 L 标准曲线 色谱图基线稳定, M 和 L 在色谱图上的出峰保留时间分别为 2.23 min 和 5.08 min。口服 M 和 L 的保留时间与标准品图谱完全一致,并与其他成分能够很好分离。M 标准曲线的线性相关系数 $r^2 = 0.998$, L 线性相关系数 $r^2 = 0.999$,线性良好。见图 1~3。

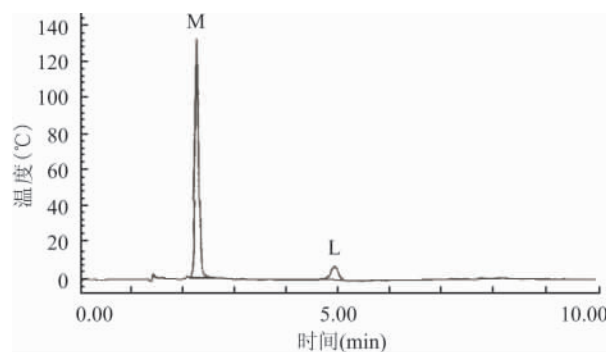


图1 标准溶液色谱图

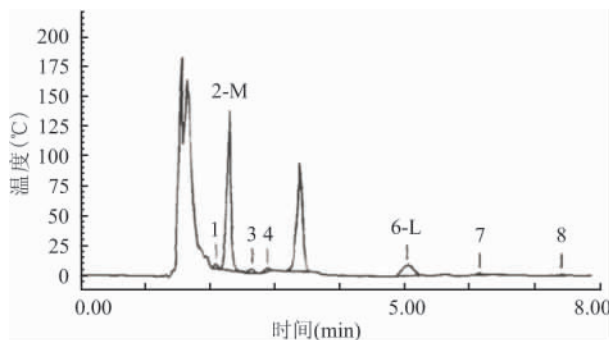


图2 样品色谱图

方法学准确性 在上述仪器条件下方法学的重复误差(CV)为 L 3.52%, M 1.61%; 回收率: L (98.4 ± 3.0)%, M (101.1 ± 3.0)%。质控品变异范围控制在 ±5% 以内。

2.2 NSAIDs 和替普瑞酮对 L/M 排泄率比值影响

健康对照、未服用 NSAIDs、服用 NSAIDs 和加用替普瑞酮 4 组 L/M 排泄率比较,差异有统计学意义($F = 3.46$, $P < 0.05$)。未使用 NSAIDs 的 17 例 L/M 排泄率比值较健康对照组升高,但差异无统计学意义;服用 NSAIDs 的 34 例 L/M 排泄率比值较未服用 NSAIDs 患者显著升高($P < 0.01$);10 例服用替普瑞酮的患者 L/M 排泄率比值较单纯服用 NSAIDs 患者显著降低($P < 0.01$),见表 1。

表1 NSAIDs 和替普瑞酮对 L/M 排泄率比值影响 ($\bar{x} \pm s$)

用药情况	n	L/M 排泄率比值
未服用 NSAIDs	17	0.050 8 ± 0.025 4
服用 NSAIDs	34	0.143 1 ± 0.169 1**
加用替普瑞酮后	10	0.044 2 ± 0.014 6##
健康对照	10	0.024 0 ± 0.006 4

与未服用 NSAIDs 比较: ** $P < 0.01$; 与服用 NSAIDs 比较: ## $P < 0.01$

2.3 不同 NSAIDs 对 L/M 排泄率比值影响 服用不同 NSAIDs 患者 L/M 排泄率比值排序为奥沙普嗪 < 双氯芬酸 < 氯诺昔康,但 3 组间差异无统计学意义,见表 2。

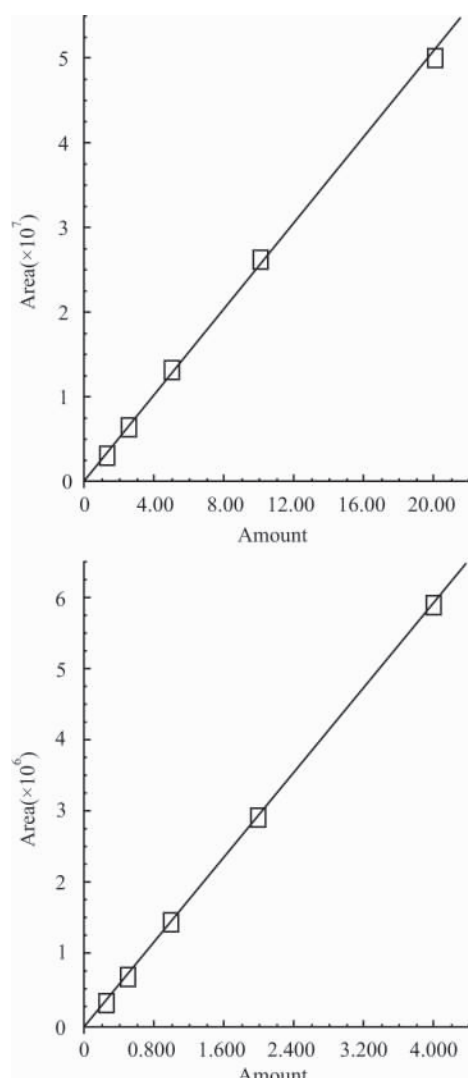


图3 标准溶液 M 和 L 的标准曲线

表2 不同 NSAIDs 对 L/M 排泄率比值影响 ($\bar{x} \pm s$)

NSAIDs 类型	n	L/M 排泄率比值
双氯芬酸	17	0.136 1 \pm 0.197 2
氯诺昔康	7	0.251 1 \pm 0.311 1
奥沙普嗪	7	0.081 2 \pm 0.058 4

2.4 不同疾病对 L/M 排泄率比值影响 RA、OA 患者和健康对照者之间比较,差异有统计学意义($F = 2.96$, $P < 0.05$)。RA 患者 L/M 排泄率比值显著高于 OA 患者和健康对照者,差异有统计学意义($P = 0.0147$),见表 3。

表3 不同疾病对 L/M 排泄率比值影响 ($\bar{x} \pm s$)

疾病种类	n	L/M 排泄率比值
RA	30	0.211 2 \pm 0.296 3
OA	16	0.063 4 \pm 0.047 2*
健康对照	10	0.024 0 \pm 0.006 4*

与 RA 比较: * $P < 0.05$

3 讨论

NSAIDs 引起的下消化道黏膜损伤日益受到重视,目前认为 NSAIDs 相关性肠病发生率超过胃黏膜损伤。一项双气囊小肠镜研究^[5]显示 50% 的 NSAIDs 服用者有小肠破损,对照者仅为 5%。NSAIDs 肠黏膜损伤也可能出现结肠炎,类似炎症性肠病,可加重原有的炎症性肠病,导致憩室病并发穿孔和出血,高龄和长期服用 NSAIDs 患者危险性最高^[6]。

所有小肠黏膜损伤的最早期改变是小肠黏膜的通透性增加^[2]。Bjarnason et al^[7]提出 NSAIDs 相关性肠病的发病机制包括了前列腺素水平降低、黏膜血流减少、黏膜细胞线粒体损伤和黏膜通透性增加。基础研究^[8]提示小肠黏膜通透性增加是 NSAIDs 相关性肠病的关键问题,黏膜通透性增加是 NSAIDs 相关性肠病的早期改变,可能导致肠腔内大分子、细菌、毒素和胆酸等迅速透过黏膜屏障,引起肠炎甚至溃疡。也有研究^[9]显示肠黏膜通透性的增加是炎症性肠病疾病复发的预测指标。

对 NSAIDs 相关性肠病的预防目前仍无有效药物,尽早发现肠黏膜通透性增加尤为重要。本研究检测了 NSAIDs 对小肠黏膜通透性的影响,采用双糖-L 和 M 作为示踪剂进行检测。这两种糖均不在机体内代谢而以原型从尿中排出,通过测定其尿中排出率的比值可以反映肠黏膜通透性的变化。在本组患者所用 NSAIDs 中氯诺昔康为选择性 COX-2 抑制剂,奥沙普嗪和双氯芬酸为非选择性 COX-2 抑制剂,本组数据显示 NSAIDs 导致的肠黏膜通透性改变与 COX-2 的选择性无关。

PPI 可以保护 NSAIDs 所致上消化道损伤,但对下消化道无保护。下消化道临床事件的发生主要与原有下消化道疾病和高龄有关^[10];有研究^[3]显示米索前列醇可保护阿司匹林所致下消化道损伤。

替普瑞酮为胃黏膜保护剂,对 NSAIDs 所致上消化道损伤有保护作用,能预防 NSAIDs 的胃黏膜损伤,增加 COX-1 水平和黏液层厚度^[11]。替普瑞酮对 NSAIDs 所致下消化道损伤也有保护作用。替普瑞酮治疗能预防洛索洛芬钠诱导 Wistar 大鼠的肠道损伤,细菌移位减少,其保护作用可能与抑制肠道细菌对肠黏膜侵袭,加强黏膜屏障作用有关。电视胶囊内镜研究^[4]显示,在双氯芬酸联合雷贝拉唑治疗方案中加入替普瑞酮治疗 1 周后,胃和小肠黏膜的损伤显著减少。本研究显示联合使用替普瑞酮

和 NSAIDs 能显著改善肠黏膜通透性。

此外,RA 患者肠黏膜通透性显著高于 OA 患者和健康对照者,其可能原因有:RA 发病机制中感染学说长期存在,除 EB 病毒感染外,肠道是感染重要来源,肠黏膜通透性增加可能增加感染机会。治疗 RA 的第一个改善病情药柳氮磺吡啶就是把抗感染药物磺胺吡啶和水杨酸结合,至今仍广泛用于治疗 RA、肠病性关节炎的治疗中。

总之,口服 NSAIDs 可引起小肠黏膜通透性增加,替普瑞酮对 NSAIDs 引起的小肠黏膜通透性增加具有保护作用。

参考文献

- [1] Lanas A, Sopena F. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and lower gastrointestinal complications [J]. *Gastroenterol Clin North Am* 2009, 38(2): 333-52.
- [2] Bjarnason I, Takeuchi K. Intestinal permeability in the pathogenesis of NSAID-induced enteropathy [J]. *J Gastroenterol*, 2009, 44 (Suppl 19): 23-9.
- [3] Watanabe T, Sugimori S, Kameda N, et al. Small bowel injury by low-dose enteric-coated aspirin and treatment with misoprostol: a pilot study [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2008, 6(11): 1279-82.
- [4] Niwa Y, Nakamura M, Miyahara R, et al. Geranylgeranylacetone protects against diclofenac-induced gastric and small intestinal mucosal injuries in healthy subjects: a prospective randomized placebo-controlled double-blind cross-over study [J]. *Digestion*, 2009, 80(4): 260-6.
- [5] Matsumoto T, Kudo T, Esaki M, et al. Prevalence of non-steroidal anti-inflammatory drug-induced enteropathy determined by double-balloon endoscopy: a Japanese multicenter study [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2008, 43(4): 490-6.
- [6] Knowles R G. Nitric oxide biochemistry [J]. *Biochem Soc Trans*, 1997, 25(3): 895-901.
- [7] Bjarnason I, MacPherson A, Hollander D. Intestinal permeability: an overview [J]. *Gastroenterology*, 1995, 108(5): 1566-81.
- [8] Teahon K, Smethurst P, MacPherson A J, et al. Intestinal permeability in Crohn's disease and its relation to disease activity and relapse following treatment with an elemental diet [J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 1993, 5(13): 79-84.
- [9] Arnott I D, Kingstone K, Ghosh S. Abnormal intestinal permeability predicts relapse in inactive Crohn disease [J]. *Scand J Gastroenterol* 2000, 35(11): 1163-9.
- [10] 马师洋, 熊理守, 董吁刚, 等. 非甾体类抗炎药相关性胃黏膜损伤情况及替普瑞酮保护作用的随机对照观察 [J]. *中华医学杂志* 2009, 89(16): 1122-5.
- [11] Yanaka A, Zhang S, Sato D, et al. Geranylgeranylacetone protects the human gastric mucosa from diclofenac-induced injury via induction of heat shock protein 70 [J]. *Digestion*, 2007, 75(2-3): 148-55.

Effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on intestinal permeability and the protective effect of teprenone

Gao Erpeng¹, Wang Guosheng¹, Liu Xiaochang², et al

(¹Dept of Rheumatology Medicine, The Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230001;

²Dept of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To investigate the effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on intestinal permeability and the protection of teprenone in patients with rheumatoid arthritis (RA) and osteoarthritis (OA).

Methods Thirty patients with RA, 16 patients with OA, 5 patients with other rheumatic diseases and 10 healthy controls were enrolled in the study. High performance liquid chromatography was used to determine urine lactulose and mannitol (L/M) excretion ratio. L/M excretion ratio was compared before and after NSAIDs use and combination of NSAIDs and teprenone. **Results** ① Compared with healthy controls, L/M excretion ratio increased in 17 patients without NSAIDs, but the difference was not statistically significant. L/M excretion ratio in 34 patients with NSAIDs was significantly higher than that in patients without NSAIDs ($P < 0.01$); L/M excretion ratio in patients with combination of NSAIDs and teprenone was significantly lower than that in patients with NSAIDs ($P < 0.01$); ② L/M excretion ratio in patients with different NSAIDs therapy was oxaprozin < diclofenac < lornoxicam, but the differences were not statistically significant; ③ The L/M ratio in patients with RA was significantly higher than that in patients with OA and healthy controls ($P < 0.05$). **Conclusion** NSAIDs increase the permeability of the intestinal mucosa in patients with arthritis. The change of intestinal mucosal permeability is unrelated to COX-2 selection. Intestinal permeability in patients with rheumatoid arthritis increases significantly. Teprenone can protect intestinal permeability against NSAIDs.

Key words non-steroidal anti-inflammatory drugs; intestinal permeability; teprenone