

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.01328

海螵蛸多糖对小鼠胃黏膜保护作用的研究

郭一峰,周文丽,张建鹏,刘军华,冯伟华*,焦炳华*

第二军医大学基础部生物化学与分子生物学教研室,上海 200433

[摘要] **目的:**用海螵蛸中提取的多糖盐洗组分(CBP-s)预处理小鼠后,用无水乙醇灌胃处理,观察小鼠胃黏膜的损伤程度,探究其保护胃黏膜的机制。**方法:**用 CBP-s 分别预处理小鼠 3 d 和 5 d,再用无水乙醇诱导其胃黏膜损伤,测定溃疡指数、胃内容物 pH 值,以及胃黏膜的一氧化氮(NO)、谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)和过氧化物歧化酶(SOD)等指标。**结果:**100、200 和 400 mg/kg CBP-s 预处理 3 d 和 5 d 的小鼠溃疡指数下降;100、200 和 400 mg/kg CBP-s 预处理 3 d 和 5 d,胃内容物 pH 值分别是 3.09 ± 0.20 、 3.43 ± 0.23 、 3.32 ± 0.15 、 3.34 ± 0.25 、 3.38 ± 0.15 、 3.68 ± 0.24 ;400 mg/kg CBP-s 预处理 3 d 和 5 d,胃黏膜的 MDA 含量较造模组都有显著下降[(125.41±28.79) vs (145.80±26.13);(153.88±21.19) vs (127.14±5.68) nmol/g, $P < 0.05$];除了 100 mg/kg 预处理 3 d 组,各剂量组均能显著提高 GSH 和 NO 的含量[GSH:(282.93±32.33), (293.57±20.76), (260.79±39.23), (253.71±21.11), (359.38±10.89) mg/g, $P < 0.05$];NO:(23.40±4.41), (25.83±4.89), (21.60±3.05), (22.75±2.44) $\mu\text{mol/g}$, $P < 0.05$];各组的 SOD 活性均有显著上升[(30.61±6.37), (45.35±1.90), (47.12±4.68), (36.48±5.64), (41.38±8.23), (39.42±8.76) U/mg, $P < 0.05$]。**结论:**CBP-s 对乙醇诱导的小鼠胃黏膜具有细胞保护作用。

[关键词] 胃溃疡;胃黏膜;海螵蛸;多糖;溃疡指数;细胞保护

[中图分类号] R 573.11 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2008)11-1328-05

Protective effect of Cuttlebone polysaccharides on gastric mucosa in mice

GUO Yi-feng, ZHOU Wen-li, ZHANG Jian-peng, LIU Jun-hua, FENG Wei-hua*, JIAO Bing-hua*

Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[ABSTRACT] **Objective:** To observe the protective effect of cuttlebone polysaccharides (CBP-s) on gastric mucosa lesions induced by absolute ethanol in mice, and to study the related mechanism. **Methods:** Mice were pretreated by CBP-s for 3 or 5 days and then were administered with absolute ethanol orally to induce gastric mucosa lesions. Then the ulcer index, pH value of gastric contents, the levels of nitric oxide (NO), malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH), and the activity of SOD in the gastric mucosa were studied. **Results:** Mice gastric ulcer indices decreased after pretreated with 100 mg/kg, 200 mg/kg, and 400 mg/kg CBP-s for 3 or 5 days. The pH values of gastric contents after 3 day-pretreatment were 3.09 ± 0.20 , 3.32 ± 0.15 , 3.38 ± 0.15 , and after 5 day-pretreatment were 3.43 ± 0.23 , 3.34 ± 0.25 , 3.68 ± 0.24 , respectively. MDA contents of gastric mucosa after 3 day-pretreatment with 400 mg/kg CBP-s and after 5 day-pretreatment with all 3 concentrations were (125.41±28.79), (145.80±26.13), (153.88±21.19), and (127.14±5.68) nmol/g, respectively, all significantly lower than that of the model group ($P < 0.05$). GSH and NO contents were significantly increased in all but 100 mg/kg for 3 days group (GSH: [282.93±32.33], [293.57±20.76], [260.79±39.23], [253.71±21.11], [359.38±10.89] mg/g, $P < 0.05$), (NO: [23.40±4.41], [25.83±4.89], [21.60±3.05], and [22.75±2.44] $\mu\text{mol/g}$, $P < 0.05$). The activities of SOD were significantly increased in all groups ([30.61±6.37], [45.35±1.90], [47.12±4.68], [36.48±5.64], [41.38±8.23], and [39.42±8.76] U/mg, $P < 0.05$). **Conclusion:** Our results indicate that CBP-s can protect ethanol-induced gastric mucosa from injury in mice.

[KEY WORDS] stomach ulcer; gastric mucosa; os sepiae; polysaccharide; ulcer index; cytoprotection

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(11):1328-1332]

消化性溃疡是消化系统的常见病,胃黏膜屏障可有效地保护胃黏膜。乙醇可直接损伤胃黏膜屏

障,减少胃黏膜局部血液流动,从而对胃黏膜造成损害,诱发胃黏膜病变。中医常用海螵蛸来治疗消化

[收稿日期] 2008-04-20 **[接受日期]** 2008-07-10

[作者简介] 郭一峰,硕士生. E-mail: nacky567@163.com

* 通讯作者 (Corresponding authors). Tel: 021-25074233, E-mail: fwh40@163.com; Tel: 021-25070303-8001, E-mail: jiaobh@uninet.cn

性溃疡,但是其机制还不明确,普遍认为收敛作用源于海螵蛸中的碳酸钙可以中和胃酸。但是,有报道发现海螵蛸较其他中成药^[1]和碳酸钙更能有效地治疗溃疡病和胃酸过多,提示海螵蛸中含有除碳酸钙以外的对治疗消化性疾病起作用的物质。

本研究探究了从海螵蛸中提取的多糖(cuttlebone polysaccharides,CBP-s)保护小鼠胃黏膜抵抗乙醇引起的损伤,从而揭示海螵蛸多糖在治疗消化性溃疡的作用机制,为进一步研究提供相关的依据。

1 材料和方法

1.1 动物 KM 小鼠,体质量(19±2) g,60 只,雄性,购自第二军医大学实验动物中心。动物饲养于(22±3)℃,相对湿度 50%,12 h 光照,12 h 黑暗。

1.2 药品与试剂 CBP-s:用热水提取海螵蛸粗多糖,经过乙醇沉淀,Savag 法除去蛋白,过 DEAE Sepharose Fast Flow 阴离子交换柱,0.5 mol/L NaCl 洗脱,流水透析后冷冻干燥。海螵蛸干品由浙江海洋学院赵盛龙教授鉴定并提供。法莫替丁注射液,上海信宜朱药业有限公司,批号 050901;无水乙醇(分析纯),上海振兴化工一厂,批号:200508356;甲醛溶液,上海太平洋化工(集团)公司;过氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)、谷胱甘肽(GSH)、丙氨酸转氨酶(ALT)和天冬氨酸转氨酶(AST)试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.3 实验分组及模型建立^[2] KM 小鼠分为正常组、造模组、法莫替丁组(5 mg/ml 法莫替丁)、CBP-s 组(分别给予 CBP-s 100、200、400 mg/kg),每组 10 只,每只每天分别按 0.1 ml/10 g 给药,正常组和造模组分别用相同剂量生理盐水灌胃。在第 3 天和第 5 天,各组在预处理完后 2 h,造模组、法莫替丁组和 CBP-s 组再以无水乙醇灌胃,0.1 ml/10 g,正常组以相同剂量的生理盐水灌胃,禁食、禁水 2 h 之后处死。

1.4 急性毒性 急性毒性按照 Lima 等^[3]方法,各 CBP-s 剂量组动物在灌胃(10 ml/kg)之后 30、60、120、240 和 360 min 时,仔细观察其活动。在实验期间,观察其不良症状或死亡。5 d 后,分别收集正常组和 CBP-s 各剂量组的动物血液,测定上清中的 ALT 和 AST。

1.5 胃黏膜观察 各组小鼠脱臼处死,胃内注入 0.5 ml 10% 甲醛溶液,再将胃置于 10% 甲醛溶液中,5 min 后沿胃大弯剪开,展开,10× 显微镜观察。图像积分法计算:充血或出血,记 1 分;坏死或伤及

黏膜肌层,记 1.5 分。用 Photoshop 7.0 网格计数的方法,大于半格计为一格。由 3 名操作者分别计数。按以下公式得到溃疡指数(UI)^[4]:UI=溃疡面积积分/胃黏膜区总面积×100%。

1.6 胃黏膜组织切片 小鼠脱臼处死,将胃浸泡于 10% 甲醛溶液中,10 min 后取出,取相同部位 1 cm×0.5 cm×0.5 cm 的组织,石蜡包埋后进行 H-E 染色,切片于 10 倍镜下观察。

1.7 胃内容物 pH 值测定 在胃贲门处剪一个小口,小心挤出胃内容物,置于离心管中,14 000×g,10 min,取上清,加入 9 倍体积的双蒸水,用 0.1 mol/L NaOH 滴定,测定其 pH 值。

1.8 胃黏膜 NO、GSH、SOD 和 MDA 测定 将取完内容物的胃用 pH 7.4 PBS 冲洗 3 次,用小刀刮取胃黏膜,用 PBS 制成组织匀浆。分别用 NO、GSH、SOD 和 MDA 的检测试剂盒测定。

1.9 统计学处理 用 SPSS 10.0 软件行 *t* 检验。

2 结果

2.1 急性毒性 各剂量 CBP-s 组的小鼠在实验 7 d 内,未见任何不良生理状态。血清中的 ALT 和 AST 的含量较正常组没有显著改变($P>0.05$)。正常组 AST 为(9.96±0.47) U/mg,ALT 为(6.23±0.24) U/mg,而 100、200 和 400 mg/kg 预处理 5 d 组的值 AST 依次为(9.43±0.16)、(9.51±0.85)、(9.67±0.42) U/mg,ALT 为(6.09±0.55)、(6.00±0.52)、(5.70±0.48) U/mg。

2.2 胃黏膜损伤 无水乙醇诱导后,造模组胃黏膜出现充血和出血,部分区域伤及黏膜下层(图 1A)。低剂量 CBP-s (100 mg/kg) 给药 3 d 组虽然表面仍有不同程度的损伤,但是黏膜损伤的区域明显减少,见图 1B。用 200 mg/kg CBP-s 预处理 3 d,虽然黏膜损伤区域较造模组没有差异,但是损伤仅是黏膜表面的充血和出血,没有出现明显的细胞损伤,见图 1C。用 400 mg/kg CBP-s 预处理 3 d,黏膜损伤进一步减轻,不仅没有细胞损伤,而且充血和出血的区域也较造模组显著减轻,见图 1D。图 1E 为用法莫替丁预处理 3 d,未见明显的出血和损伤。用 100 mg/kg CBP-s 预处理 5 d 后,胃黏膜损伤程度较同样剂量处理 3 d 的损伤程度更轻,虽然还有少量的黏膜细胞损伤,但是损伤区域显著减少,见图 1F。同样的结果同样发生在 200 mg/kg 和 400 mg/kg CBP-s 预处理 5 d 组中,见图 1G 和图 1H,而且 400 mg/kg CBP-s 预处理 5 d 组几乎没有观察到出血或损伤,见图 1H。

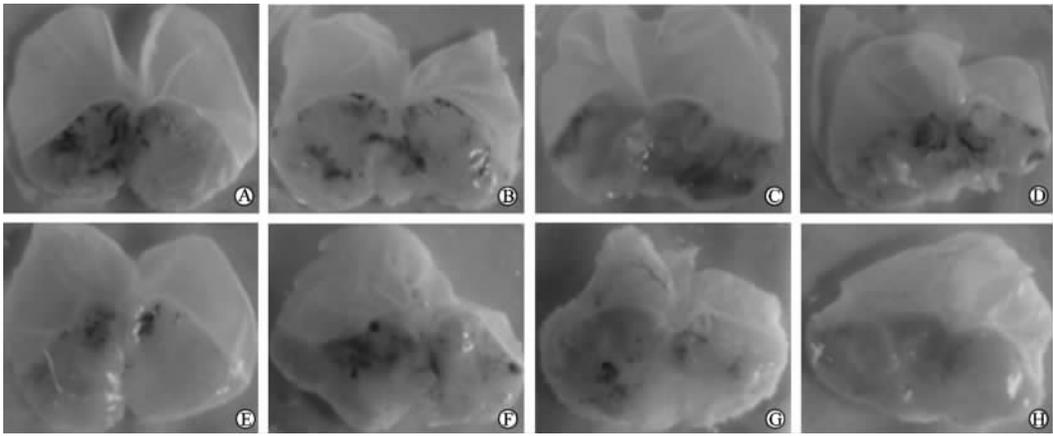


图 1 胃损伤的光镜观察

Fig 1 Light microscopy of gastric lesions

Stomachs of eight mice receiving 0.2 ml of 100% ethanol by gavage. A: Vehicle group; B-D: Pretreatment with 100, 200, 400 mg/kg CBP-s for 3 days, respectively; E: 50 mg/kg famotidine group; F-H: Pretreatment with 100, 200, 400 mg/ml for 5 days, respectively

100、200 和 400 mg/kg CBP-s 预处理 3 d 和 5 d 的 UI 依次减少 ($P < 0.05$), 预处理 5 d 的 UI 分别比预处理 3 d 更低。预处理 3 d 的 400 mg/kg CBP-s 组的 UI 接近阳性药物法莫替丁。结果见图 2。

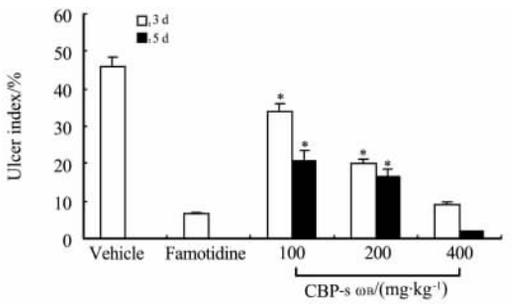


图 2 小鼠胃黏膜的溃疡指数

Fig 2 Ulcer index of gastric lesions in mice

* $P < 0.05$ vs 400 mg/kg CBP-s group, $n = 10, \bar{x} \pm s$

2.3 组织学观察 造模组的黏膜上皮及腺体变性, 局部黏膜出血坏死, 黏膜细胞脱落, 间质少数淋巴、中性粒细胞浸润, 肌层细胞发生破裂(图 3A)。用 100 mg/kg CBP-s 预处理 3 d 的胃黏膜局部黏膜上皮及腺体有变性坏死及部分脱落, 但是较造模组, 黏膜细胞脱落数量显著减少, 间质及黏膜下血管轻度充血, 淋巴、中性粒细胞及嗜酸粒细胞浸润程度减轻(图 3B)。100 mg/kg 和 200 mg/kg CBP-s 预处理 5 d 组的黏膜上皮及腺体无明显异常, 部分胃黏膜上皮及腺体层次增多, 间质及黏膜下少数淋巴及个别中性粒细胞嗜酸粒细胞浸润。100 mg/kg CBP-s 预处理 5 d, 淋巴细胞和中性粒细胞浸润程度较同一剂量预处理 3 d 的有所减轻(图 3C)。200 mg/kg 组的各种炎症细胞数量明显减少, 而且黏膜细胞基本完整, 能更显著地保护细胞的形态(图 3D)。

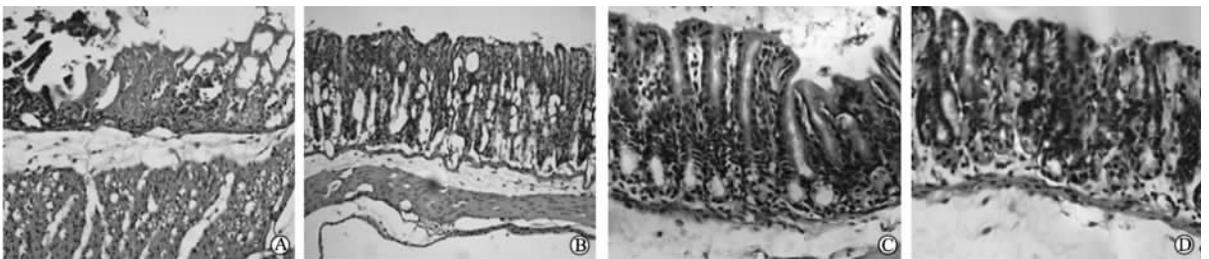


图 3 胃黏膜组织学分析

Fig 3 Histological analysis of gastric mucosa

Mucosa of stomach of 6 mice receiving 0.2 ml of 100% ethanol by gavage. A: Vehicle group; B: Pretreatment with 100 mg/kg CBP-s for 3 days; C, D: Pretreatment with 100, 200 mg/kg for 5 days, respectively

2.4 胃内容物的 pH 测定 无水乙醇灌胃后, 造模组小鼠胃酸的 pH 值分别下降至 2.72 ± 0.26 和

2.80 ± 0.08 , 而用 CBP-s 预处理的小鼠经过无水乙醇灌胃后其 pH 值显著提高 ($P < 0.05$)。但随着给

药时间的增加, 同样剂量的 CBP-s 在提高小鼠胃酸的 pH 作用上无显著差异, 除了 400 mg/kg CBP-s 预处理 5 d 的小鼠胃酸的 pH 值上升较明显(图 4)。

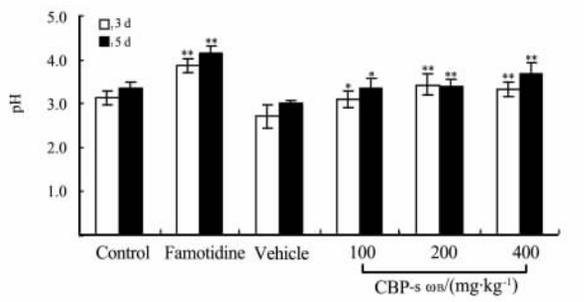


图 4 CBP-s 对乙醇诱导的小鼠的胃液 pH 的影响

Fig 4 Effects of CBP-s on pH of gastric juice in mice induced by ethanol

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs vehicle group. $n = 8, \bar{x} \pm s$

2.5 胃黏膜 MDA、SOD、NO 和 GSH 测定

2.5.1 MDA 测定 造模组小鼠胃黏膜的 MDA 含量显著上升, 用 100 mg/kg 和 200 mg/kg CBP-s 预处理 3 d, 没有显著降低黏膜组织中的 MDA 含量。而用 400 mg/kg CBP-s 预处理 3 d 的小鼠胃黏膜的 MDA 含量较造模组显著下降 ($P < 0.05$)。用各剂量的 CBP-s 预处理 5 d 后, 小鼠胃黏膜中的 MDA 均显著下降, 而各剂量组之间 MDA 含量没有差异。100 mg/kg 组和 200 mg/kg 组预处理 3 d 或 5 d, 两组 MDA 的含量无显著差异, 见图 5A。

2.5.2 SOD 测定 不同剂量 CBP-s 预处理后, 小鼠胃黏膜的 SOD 活性均有显著地上升 ($P < 0.01$)。在预处理 3 d 的时候, 100 mg/kg CBP-s 组的 SOD 活性较造模组显著提高, 活性接近正常组。200 mg/kg CBP-s 组和 400 mg/kg CBP-s 组的 SOD 活性更是超过正常组, 且该两组之间没有差异。在预处理 5 d 后, 这 3 个剂量组的 SOD 活性没有差异, 且均超过正常组。结果见图 5B。

2.5.3 NO 测定 造模组小鼠胃黏膜中的 NO 含量显著降低, 虽然预处理 3 d 和 5 d 的 100 mg/kg CBP-s 组小鼠胃黏膜中 NO 的含量较造模组没有显著差异, 但是 200 mg/kg 和 400 mg/kg CBP-s 组均能有效地提高黏膜 NO 的含量 ($P < 0.05$), 而且这两个剂量组的黏膜 NO 含量相近, 结果见图 5C。

2.5.4 GSH 测定 在造模组中, GSH 的含量较空白组显著降低, 而 200 mg/kg CBP-s 和 400 mg/kg CBP-s 预处理 3 d 组均能显著提高 GSH 的含量 ($P < 0.01$)。预处理 5 d 后, 各剂量组的 CBP-s 均能显著提高黏膜 GSH 的含量 ($P < 0.01$)。而 100 mg/kg

和 200 mg/kg CBP-s 组的组织 GSH 的含量相近, 且接近正常组。用 400 mg/kg CBP-s 预处理 5 d 后, 其组织 GSH 的含量则高于正常组 ($P < 0.05$), 结果见图 5D。

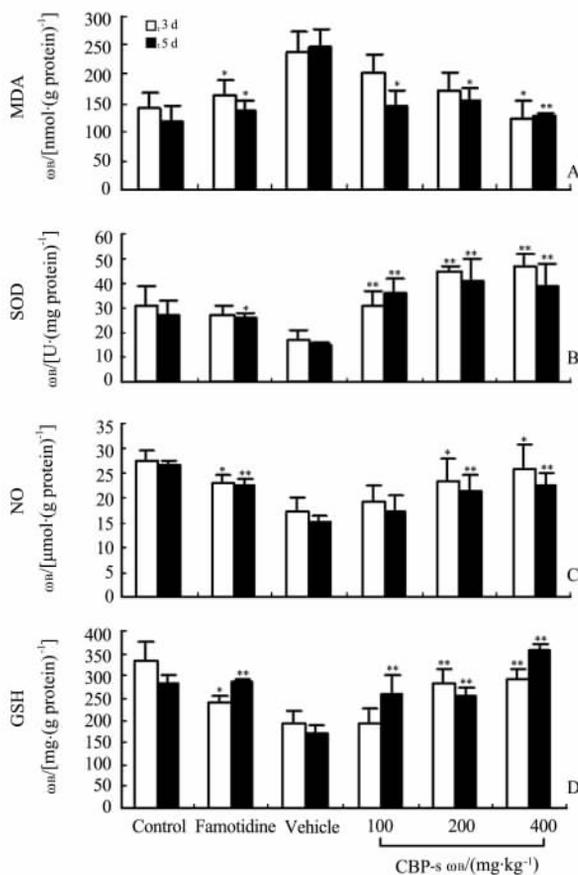


图 5 乙醇诱导的小鼠胃黏膜中的

MDA(A), NO(C), GSH(D) 水平和 SOD(B) 活性

Fig 5 Levels of MDA(A), NO(C), and GSH(D) and activity of SOD(B) in gastric mucosa induced by ethanol in mice

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs vehicle group. $n = 8, \bar{x} \pm s$

3 讨论

过高的酸度对胃黏膜有侵蚀作用, H^+ 侵入胃黏膜从而破坏黏膜细胞; 刺激胃蛋白酶的分泌, 并引起组胺的释放。最后导致黏膜肿胀, 出血甚至溃疡。海螵蛸治疗消化性疾病的机制主要认为是其中的钙可以中和胃酸, 而本研究发现, CBP-s 预处理 3 d 和 5 d, 各组均能显著升高 pH 值, 且基本接近正常组, 但各组之间没有差异, 提示海螵蛸多糖具有提高胃酸的 pH 值的作用。

组织学和形态学观察的结果提示 CBP-s 能保护细胞免受乙醇诱导的胃黏膜损伤, 可能的机制是通过保护黏膜细胞的完整性和减少炎症细胞的浸润来实现的。在用 100 mg/kg 预处理 3 d 后, CBP-s 已经较好地保护了胃黏膜的完整性, 虽然小鼠胃黏膜仍然存

在不同程度的黏膜充血或出血,组织学上还发现部分黏膜上皮间质有淋巴细胞和中性粒细胞浸润,伴有少量黏膜细胞脱落,但是黏膜损伤情况较造模组有显著好转,尤其是在黏膜细胞完整性方面。同时,实验还发现,除了 100 mg/kg 预处理 3 d 组外,其余各 CBP-s 处理组均未发现肌层细胞的损伤,提示 CBP-s 不仅保护了黏膜细胞的完整性,还保护了胃肌层细胞的完整性。胃黏膜的损伤随 CBP-s 剂量的升高而有所减缓,呈剂量依赖的关系。预处理 5 d 后,100 mg/kg 组也能有效地抑制溃疡的发生,而其他剂量组保护胃黏膜细胞的完整性的作用更加明显,呈时间依赖的关系。UI 也证明了这样的关系。

胃黏膜需要充足的血流以维持其组织的完整性和适应不断变化的生理活动。近年来的研究表明 NO 是调节胃十二指肠黏膜血流以及维持黏膜完整性和抵抗力的内源性舒血管物质,并能调节胃脉管系统的基础张力。本实验发现,胃黏膜损伤较严重的小鼠,其 NO 含量也较少,提示胃黏膜损伤的原因之一可能就是由于胃局部血液循环发生障碍。Kwiecien 等^[5]研究发现 NO 可通过提高 SOD 活性、降低 MDA 的含量来清除胃黏膜急性损伤过程中产生的氧自由基。此外,NO 还可促进胃黏液分泌、降低胃黏膜髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)活性起到胃黏膜保护作用^[6]。在本实验中,造模组胃黏膜中的 NO 含量大幅降低,而 CBP-s 各剂量组均可显著提高组织中 NO 含量,即可能通过增加胃黏膜血流量促进肉芽组织中的新生血管的形成,并带走脂质过氧化物,从而促进黏膜损伤的修复。实验结果中的 SOD 活性和 MDA 含量变化也基本与 NO 的变化相一致,但是因果关系还不明确。

另外,乙醇诱导的氧自由基也可能对胃黏膜损伤有作用,一种机制是其脂质过氧化物和氧化反应物引起胃组织氧化损伤,包括通过增加 MDA 的含量以及降低胃 GSH 的含量^[7]。MDA 是脂质过氧化产生的有害物,在乙醇诱导的胃黏膜损伤时含量上升,本次实验发现,用 100 mg/kg 和 200 mg/kg CBP-s 预处理 5 d 和用 400 mg/kg CBP-s 预处理 3 d 以上均能显著降低胃黏膜组织 MDA 的含量。而 SOD 的活性在各剂量的 CBP-s 预处理 3 d 及以上,均显著提高,趋势与 MDA 正好相反,预处理 5 d 后,各剂量 CBP-s 组之间 MDA 的含量和 SOD 的活性均没有差异。在胃保护中,SOD 催化超氧化物歧化为毒性较小的过氧化氢,再被谷胱甘肽过氧化物酶催化成为水^[8]。乙醇还能减少胃组织中 GSH 的水平,GSH 的恢复似乎在胃保护中有重要作用,它们

提供羟基作用和其他自由基的底物来补充 GSH 的储量。在本次研究中,乙醇诱导的胃黏膜损伤,引起了组织 GSH 的含量下降,而一定剂量的 CBP-s 可以增加组织中的 GSH 的含量,而 GSH 的含量随着 CBP-s 剂量和给药时间的增加而增加的,揭示 CBP-s 保护胃黏膜细胞的机制还可能是通过抗氧化机制来防止乙醇对胃黏膜的损伤。

CBP-s 预处理可以被理解为通过增加胃局部血液循环,减少黏膜细胞的氧化损伤,从而增强胃黏膜组织抵抗外源性刺激物的防御机制,可以被称为对胃黏膜的“细胞保护作用”。如今对胃黏膜细胞保护作用的研究中,前列腺素 E2(PGE2)已经得到广泛关注^[9],进一步的工作将探究 CBP-s 对 PGE2 含量的影响,以及 PGE2 与细胞完整性之间的关系。海藻糖多糖是来源于天然海洋生物活性多糖,低毒,低不良反应,用 100 mg/kg 到 400 mg/kg 的量灌饲小鼠的 7 d 时间内,未发现任何急性毒性的症状,具有广泛的应用前景。

[参考文献]

- [1] 王瑞媛,赵秀玲,王俊林. 快胃片质量标准在实际应用中的问题探讨[J]. 中国药事,2003,17:638-639.
- [2] Calvo T R, Lima Z P, Silva J S, Ballesteros K V, Pellizzon C H, Hiruma-Liam C A, et al. Constituents and antiulcer effect of *Alchornea glandulosa*: activation of cell proliferation in gastric mucosa during the healing process[J]. *Biol Pharm Bull*, 2007, 30:451-459.
- [3] Lima Z P, Severi J A, Pellizzon C H, Brito A R, Solis P N, Cáceres A, et al. Can the aqueous decoction of mango flowers be used as an antiulcer agent[J]? *J Ethnopharmacol*, 2006, 106:29-37.
- [4] Disi A M, Tamimi S O, Abuereish G M. Effects of *Anchusa strigosa* root aqueous extract on gastric ethanol-induced ulcer in laboratory animals[J]. *J Ethnopharmacol*, 1998, 60:189-198.
- [5] Kwiecien S, Brzozowski T, Konturek P C H, Konturek S J. The role of reactive oxygen species in action of nitric oxide-donors On stress-induced gastric mucosal lesions[J]. *J Physiol Pharmacol*, 2002, 54(4 Pt 2):761-773.
- [6] Qui B S, Mei Q B, Liu L, Tchou-Wong K M. Effects of nitric oxide on gastric ulceration induced by nicotine and cold-restraint stress[J]. *World J Gastroenterol*, 2004, 10:594-597.
- [7] El-Missiry M A, El-Sayed I H, Othman A I. Protection by metal complexes with SOD-mimetic activity against oxidative gastric injury induced by indomethacin and ethanol in rats[J]. *Ann Clin Biochem*, 2001, 38(Pt 6):694-700.
- [8] Kwiecien S, Brzozowski T, Konturek P C, Paawlik M V, Pawlik W W, Kwiecien N, et al. Gastroprotection by pentoxifylline against stress-induced gastric damage. Role of lipid peroxidation, antioxidizing enzymes and proinflammatory cytokines [J]. *J Physiol Pharmacol*, 2004, 55:337-355.
- [9] Hatazawa R, Tanaka A, Tanigami M, Amagase K, Kato S, Ashida Y, et al. Cyclooxygenase-2/prostaglandin E2 accelerates the healing of gastric ulcers via EP4 receptors[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2007, 293:G788-G797.