

褪黑素对噪声应激大鼠胃肠传输功能的影响及其机制

张磊, 刘芳娥, 胡文治, 王冠, 崔洪勇, 帅世炜

■背景资料

褪黑素是由松果体分泌的一种神经内分泌激素, 能够有效清除人体化学反应产生的氧自由基、对抗应激作用。本文对其防治噪声引起的大鼠胃肠传输功能的影响进行了探讨。

张磊, 崔洪勇, 王冠, 帅世炜, 中国人民解放军第四军医大学口腔医学系 陕西省西安市 710033

刘芳娥, 中国人民解放军第四军医大学基础部教学实验中心 陕西省西安市 710033

胡文治, 中国人民解放军第四军医大学航空航天医学系 陕西省西安市 710033

作者贡献分布: 张磊与刘芳娥对此文所作贡献均等, 此课题由张磊、刘芳娥设计, 研究过程由张磊、刘芳娥、胡文治、王冠、崔洪勇、帅世炜操作完成, 研究所用新试剂及分析工具由刘芳娥提供; 数据分析由张磊完成, 本论文写作由张磊、刘芳娥完成。

通讯作者: 刘芳娥, 710033, 陕西省西安市, 中国人民解放军第四军医大学基础部教学实验中心. liufange@126.com

电话: 029-84774518

收稿日期: 2007-09-08 修回日期: 2007-11-05

Effect of melatonin on gastrointestinal transit in rats induced by noise stress and its mechanism

Lei Zhang, Fang-E Liu, Wen-Zhi Hu, Guan Wang, Hong-Yong Cui, Shi-Wei Shuai

Lei Zhang, Hong-Yong Cui, Guan Wang, Shi-Wei Shuai, School of Stomatology, the Fourth Military Medical University of Chinese PLA, Xi'an 710033, Shaanxi Province, China
Fang-E Liu, Center of Basic Medicine Teaching Experiment, School of Basic Medicine, the Fourth Military Medical University of Chinese PLA, Xi'an 710033, Shaanxi Province, China
Wen-Zhi Hu, School of Aerospace Medicine, the Fourth Military Medical University of Chinese PLA, Xi'an 710033, Shaanxi Province, China

Correspondence to: Fang-E Liu, Center of Basic Medicine Teaching Experiment, School of Basic Medicine, Fourth Military Medical University of Chinese PLA, Xi'an 710033, Shanxi Province, China. liufange@126.com

Received: 2007-09-08 Revised: 2007-11-05

Abstract

AIM: To study the effects of melatonin on gastrointestinal transit function in rats, and its possible mechanism.

METHODS: Forty Sprague-Dawley rats were randomly divided into a blank group, control groups 1 and 2, and experimental groups 1 and 2. Experimental and control groups were treated with 15 mg/kg melatonin by intraperitoneal injection, or the same volume of physiological saline, at 30 min before noise stress. Both groups were stimulated separately by 120 dB(A) impulse noise of type 56 submachine guns to set

up noise stress models. Rats in control group 1 and experimental group 1 were subjected to 1 d stress; rats in control group 2 and experimental group 2 were subjected to 3 d stress. We observed the effects of melatonin on stomach residual rate, small intestine transit time and the plasma levels of cortisol, motilin and calcitonin-gene related peptide (CGRP).

RESULTS: Stomach residual rate and small intestine transit time were significantly increased in control groups 1 and 2 compared with those in the blank group ($54.52\% \pm 4.53\%$, $63.56\% \pm 5.51\%$ vs $41.41\% \pm 7.74\%$, $58.42\% \pm 8.77\%$, $67.98\% \pm 6.63\%$ vs $41.26\% \pm 6.08\%$, $P < 0.05$). Stomach residual rate and small intestine transit time in experimental group 1 ($44.53\% \pm 8.93\%$, $44.18\% \pm 4.36\%$) and experimental group 2 ($47.52\% \pm 4.98\%$, $46.4\% \pm 4.96\%$) were significantly delayed compared with those in the control group ($P < 0.01$). However, there was no difference between the experimental group and the blank group. Levels of cortisol and motilin in blood plasma of control 1 and 2 groups were significantly enhanced compared to the blank group (1.99 ± 0.08 , 2.59 ± 0.09 vs 0.95 ± 0.10 , 158.09 ± 10.44 , 180.09 ± 14.85 vs 124.95 ± 7.83 , $P < 0.01$); the experimental groups (group 1: 1.27 ± 0.14 , 128.67 ± 10.25 ; group 2: 1.63 ± 0.09 , 134.29 ± 18.33) were degraded significantly compared to the control group ($P < 0.01$), but did not change much in comparison with the blank group ($P > 0.05$). Level of calcitonin-gene related peptide in blood plasma of control groups 1 and 2 was lower than that of the blank group (125.24 ± 8.5 , 134.29 ± 18.33 vs 195.03 ± 7.70 , $P < 0.01$), and was higher in the experimental group (191.67 ± 10.13 , 190.04 ± 11.43) than in the control group ($P < 0.01$), but did not significantly differ from blank group ($P > 0.05$).

CONCLUSION: Melatonin is effective in preventing gastrointestinal transit in rats induced by noise stress. Cortisol, CGRP and motilin play an important role in the pathogenesis.

Key Words: Melatonin; Noise; Gastrointestinal transit; Cortisol; Calcitonin gene-related peptide; Motilin

■同行评议者

迟宝荣, 教授, 吉林大学第一医院消化内科; 姚登福, 教授, 南通大学附属医院分子医学中心

Zhang L, Liu FE, Hu WZ, Wang G, Cui HY, Shuai SW. Effect of melatonin on gastrointestinal transit in rats induced by noise stress and its mechanism. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(2): 208-211

摘要

目的: 探讨褪黑素(MT)对噪声应激大鼠胃肠传输功能的影响及可能机制。

方法: 将♂SD大鼠40只随机分为空白对照组、对照1, 2组和实验1, 2组, 实验组和对照组分别在应激前30 min ip MT(15 mg/kg)和等体积生理盐水。对照和实验1组和以56式冲锋枪射击时产生的120 DB(A)的脉冲噪声, 对照和实验1组应激1 d, 对照和实验2组应激3 d, 建立噪声应激模型。噪声应激后, 观察MT在各组大鼠胃内残留率, 小肠推进比, 血浆中皮质醇、降钙素基因相关肽(CGRP)和胃动素(MTL)的影响。

结果: 对照1, 2组大鼠的胃残留率($54.52\% \pm 4.53\%$, $63.56\% \pm 5.51\%$ vs $41.41\% \pm 7.74\%$)、小肠推进比($58.42\% \pm 8.77\%$, $67.98\% \pm 6.63\%$ vs $41.26\% \pm 6.08\%$)、血浆皮质醇(1.99 ± 0.08 , 2.59 ± 0.09 vs 0.95 ± 0.10)、MTL浓度(158.09 ± 10.44 , 180.09 ± 14.85 vs 124.95 ± 7.83)与空白对照组相比明显升高($P < 0.01$), 其血浆CGRP浓度(125.24 ± 8.5 , 122.02 ± 10.36)与空白对照组(195.03 ± 7.70)相比显著降低; 实验1, 2组大鼠的胃残留率($44.53\% \pm 8.93\%$, $47.52\% \pm 4.98\%$)、小肠推进比($44.18\% \pm 4.36\%$, $46.4\% \pm 4.96\%$)、血浆皮质醇(1.27 ± 0.14 , 1.63 ± 0.09)、MTL浓度(128.67 ± 10.25 , 134.29 ± 18.33)与对照组相比显著降低, 其血浆CGRP浓度(191.67 ± 10.13 , 190.04 ± 11.43)与对照组相比显著升高。

结论: MT对噪声引起的大鼠胃肠传输功能紊乱具有保护作用, 皮质醇、CGRP和MTL在其发病机制中均起到重要作用。

关键词: 褪黑素; 噪声; 胃肠通过实验; 皮质醇; 降钙素基因相关肽; 胃动素

张磊, 刘芳娥, 胡文治, 王冠, 崔洪勇, 帅世伟. 褪黑素对噪声应激大鼠胃肠传输功能的影响及其机制. *世界华人消化杂志* 2008; 16(2): 208-211
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/208.asp>

0 引言

噪声作为现代社会不得不面对的问题越来越受到人们的广泛关注。研究表明, 噪声不仅能够引

起记忆力减退^[1], 还可以导致胃肠对食物的传输功能紊乱^[2]。目前, 对噪声所致胃肠功能紊乱的防治国内外尚未有报道。我们观察了褪黑素(MT)对噪声应激大鼠胃肠传输功能的影响, 并通过测定大鼠血浆激素浓度的变化探讨其可能发生的机制, 为胃肠功能紊乱的防治提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 健康♂SD大鼠40只, 周龄12 wk, 体质量 280 ± 30 g(由第四军医大学动物实验中心提供)。灌胃液是以50 g/L的炭末与100 g/L的阿拉伯树胶混合蒸馏水制成。褪黑素为Sigma公司产品, 降钙素基因相关肽(CGRP)、胃动素(MTL)试剂盒由解放军总医院放免研究所提供, XH2060型全自动 γ -免疫分析仪由中国核工业部西安二六二厂生产。

1.2 方法

1.2.1 给药: 大鼠在环境适应期(7 d)后随机分为5组: 空白对照组、两个对照组、两个实验组, 每组8只。除空白对照组外, 其余各组给予每天120 dB(A)噪声连续应激8 h, 对照1组和实验1组应激1 d, 对照2组及实验2组应激3 d, 每次噪声应激前30 min两个实验组分别ip MT(15 mg/kg), 两对照组ip等量生理盐水。为消除MT分泌的生物节律对实验结果的影响, 于上午8时开始实验。

1.2.2 枪击噪声应激模型的建立: 大鼠禁食12 h后置于隔音室内, 用56式冲锋枪射击时产生的噪音制成录音, 通过扬声器由电脑控制随机播放, 扬声器距离大鼠20-30 cm。采用国营红声器材厂生产的ND2型精密声级计及频谱分析仪分析检测, 控制噪音强度为120 DB(A), 频率为0.25-4.0 kHz。

1.2.3 大鼠液体食物胃肠传输功能的测量^[3]: 应激结束后, 各组大鼠分别ig 2.5 mL灌胃液, ig 15 min后采用戊巴比妥钠ip麻醉剖腹, 结扎胃贲门和幽门, 从贲门处至回肠末端分离胃肠。取贲门至回肠末端肠管, 将其自然拉直铺平, 分别测量从幽门括约肌至半固体糊前端及至回盲部的小肠长度, 计算小肠推进比, 即幽门括约肌至半固体糊前端的距离占幽门括约肌至回盲部距离百分比。取胃, 用滤纸拭干后称质量, 沿胃大弯剪开胃体, 洗去胃内容物后拭干, 称质量, 计算胃内残留率, 即胃内残留物占所灌半固体糊的质量百分比。

1.2.4 皮质醇、CGRP、MTL浓度的检测: 上述

■研究前沿

胃肠传输功能紊乱在临床较为多见, 目前的研究主要集中在药物对其的改善作用上, 具体机制还不明确, 尤其是应激对小肠传输功能的影响尚存在争议, 有待于进一步研究。

■相关报道

以往研究表明:褪黑素可以从三个水平对下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA轴)产生调节作用,从而起到抗应激作用,对应激所引起的溃疡、学习记忆损伤、能量代谢紊乱都具有改善作用。

表 1 大鼠胃内残留率、小肠推进比,血浆皮质醇、CGRP、MTL浓度($n=8$, mean \pm SD)

分组	胃内残留率(%)	小肠推进比(%)	皮质醇($\mu\text{g/dl}$)	CGRP(ng/L)	MTL(ng/L)
空白对照组	41.41 \pm 7.74	41.26 \pm 6.08	0.95 \pm 0.10	195.03 \pm 7.70	124.95 \pm 7.83
对照1组	54.52 \pm 4.53 ^b	58.42 \pm 8.77 ^b	1.99 \pm 0.08 ^b	125.24 \pm 8.55 ^b	158.09 \pm 10.44 ^b
对照2组	63.56 \pm 5.51 ^{bd}	67.98 \pm 6.63 ^{bd}	2.59 \pm 0.09 ^{bd}	122.02 \pm 10.36 ^b	180.09 \pm 14.85 ^b
实验1组	44.53 \pm 8.93 ^d	44.18 \pm 4.36 ^d	1.27 \pm 0.14 ^d	191.67 \pm 10.13 ^d	128.67 \pm 10.25 ^d
实验2组	47.52 \pm 4.98 ^f	46.4 \pm 4.96 ^f	1.63 \pm 0.09 ^f	190.04 \pm 11.43 ^f	134.29 \pm 18.33 ^f

^b $P<0.01$ vs 空白对照组; ^d $P<0.01$ vs 对照1组; ^f $P<0.01$ vs 对照2组。

操作后,开胸取血4 mL加入含100 g/L乙二醇四乙酸钠30 μL 和抑肽酶40 μL 的离心管中,混匀,于4℃ 3000 r/min离心10 min,离心半径12 cm,分离出血浆,-20℃下保存待测定。采用放射免疫法测定血浆中皮质醇、MTL和CGRP含量。操作程序严格按照试剂盒及仪器说明书由一人完成检测。

统计学处理 所有数据均以mean \pm SD表示,结果采用SPSS10.0统计软件进行单因素方差分析,均数间的多重比较用LSD- t 进行显著性检验。

2 结果

两个对照组与空白对照组相比胃内残留率、小肠推进比显著升高($P<0.01$);对照2组较对照1组胃内残留率进一步升高($P<0.01$),小肠推进比进一步升高($P<0.01$);实验1组比对照1组胃内残留率、小肠推进比降低($P<0.01$),实验2组比对照2组胃内残留率、小肠推进比降低($P<0.01$);实验1组、实验2组与空白对照组间均无显著差异($P>0.01$)(表1)。两个对照组大鼠血浆皮质醇均较空白对照组显著升高($P<0.01$),对照2组较对照1组升高更加明显($P<0.01$),实验1组较对照1组显著降低($P<0.01$),实验2组较对照2组显著降低($P<0.01$),实验1组、实验2组与空白对照组间有显著差异($P<0.05$)(表1)。各组大鼠血浆CGRP水平变化为:对照1组及对照2组显著低于空白对照组($P<0.01$),实验1组较对照1组显著升高($P<0.01$),实验2组较对照2组显著升高($P<0.01$),实验1组、实验2组与空白对照组间均无显著差异($P>0.05$)(表1)。各组大鼠血浆MLT水平变化为:两个对照组显著高于空白对照组($P<0.01$),对照2组显著高于对照1组($P<0.01$),实验1组较对照1组显著降低($P<0.01$),实验2组较对照2组显著降低($P<0.01$),实验1组、实验2组与空白对照组间均无显著差异($P>0.01$,表1)。

3 讨论

应激是机体对各种刺激产生的一些非特异性反应,而下丘脑-垂体-肾上腺轴(hypothalamo-pituitary-adrenal axis, HPA轴)是应激系统的重要组成部分^[4],机体主要是通过HPA轴来调节机体,完成对应激的适应。HPA轴兴奋时,CRH合成增加,刺激垂体前叶释放ACTH,使肾上腺皮质释放皮质激素,血浆皮质激素水平是其最终表现形式。研究发现,心理应激可导致大鼠血浆内的皮质激素显著上升^[5]。本实验也表明,急性的噪声应激会导致大鼠血浆内的皮质醇水平较正常大鼠显著升高,并且随应激的加重升高更加明显,这进一步证明急性噪声刺激可使大鼠处于应激状态。

MT是人体松果体分泌的一种重要激素,对人体的作用极其广泛,尤其对应激反应有着重要影响。MT的分泌存在明显的昼夜节律变化,并且与HPA轴所涉及的激素分泌节律恰恰相反,这提示我们两者可能有着一定的关系。研究表明,连续5 d注射MT,使长期应用地塞米松引起的HPA轴失调征象(如室旁核CRH的转录增加)得到明显改善^[6];ip 0.2 mg/kg剂量的MT,即可对皮质醇诱导的HPA轴受抑制大鼠其下降的血浆ACTH及皮质酮水平均有上升^[7],提示外源性MT可在下丘脑、垂体和肾上腺轴三个水平对HPA轴进行调节。为避免内源性MT对实验结果的影响,我们在早8时进行实验。实验显示,两实验组的血浆皮质醇水平均显著低于相应对照组,但仍高于空白对照组。这说明外源性的MT不仅可以对抗外源性激素所诱导的HPA轴紊乱,还可以抑制由应激所引起的HPA轴的兴奋作用。但MT不能使大鼠血浆内的皮质激素水平完全等同于正常水平,说明其作用尚有局限性。

CGRP是由37个氨基酸组成的神经肽,具有调节胃窦内分泌细胞的功能。他对胃肠具有调节血流、调节运动功能的作用,能维持胞内 Ca^{2+}

■创新盘点

本文首次观察了褪黑素对噪声应激所引起的胃肠传输功能紊乱具有调节作用,并且对其机制进行了探讨,为临床的防治提供了理论依据。

稳定,降低细胞膜对 Ca^{2+} 的通透性^[8],从而影响细胞内外 Ca^{2+} 的浓度水平,而 Ca^{2+} 对胃肠平滑肌细胞的舒缩活动起到了关键作用. MLT是由22个氨基酸组成的多肽,能够促进胃肠道的运动,主要由位于十二指肠和空肠上段黏膜内的M细胞分泌,作用于平滑肌上的胃动素受体,促进胞内钙库释放 Ca^{2+} ,导致平滑肌收缩,加速胃排空和小肠传输时间、增加下食管括约肌压力、收缩胆囊. 胃动素在血浆中的水平存在波动,其分泌高峰与总是伴随着消化间期运动复合波(migrating motor complex, MMC)MMCIII相. 我们发现,噪声应激使两对照组大鼠较空白对照组胃内残留率、小肠推进比升高,血浆内CGRP水平降低、MLT水平升高. 说明噪声应激抑制了胃的排空,加速了食物在小肠内的行进,其机制可能是通过调节血浆内的胃肠激素来完成的. 刘婧 *et al*^[9]报道,烧、烫伤应激也可以抑制人及大鼠胃的排空,这与本实验的结果一致. 正常大鼠禁食状态下,胃窦收缩呈规律的收缩相和相对静止相,类似于人胃、十二指肠运动的移行性MMC. 而应激后大鼠胃窦运动的规则收缩消失,节律明显紊乱,胃窦运动呈增强趋势,这是机体对急性创伤所产生的应激反应. 动物及临床实验均发现烧、烫伤应激致胃的无规则运动加强,使胃的各部不能协调收缩,会导致胃对食物的排空延迟. 而应激对小肠运动的影响目前尚存在争议. 穆振斌 *et al*^[2]研究发现,枪击噪声应激可以促进大鼠小肠传输液体食物,但也有研究显示,束缚应激可以抑制大鼠小肠动力,并证实束缚应激导致的小肠动力抑制的发生机制不同于去甲肾上腺素的作用机制;同时也有研究采用束缚应激模型,发现束缚应激对犬小肠运动起促进作用^[10]. 出现分歧的原因可能是研究本身的复杂性,以及造模标准不统一,或检测和描述方法的不一致造成的. 我们还发现,对照2组较对照1组的胃内残留率、小肠推进比进一步升高,说明应激的加强对胃肠的传输功能的影响更加明显. 值得注意的是两对照组间CGRP的水平并没有显著差异,而MLT水平差异显著,说明MLT可

调性更强,对胃肠传输功能的影响更为重要. 在MT的作用下,两个实验组和相应对照组相比胃内残留率、小肠推进比、血浆内CGRP及MLT水平均有显著差异,与空白对照组无显著差异,这表明MT拮抗了噪声应激所导致的胃肠传输功能及胃肠激素分泌的紊乱.

本实验提示,噪声可使大鼠处于明显的应激状态,兴奋HPA轴,提高血浆内皮质醇水平,并且随应激时间的延长皮质醇水平升高更加明显. 在HPA轴的影响下,大鼠胃肠激素CGRP、MLT分泌紊乱,影响了胃肠的传输功能. 而外源性的褪黑素抑制了应激所导致的HPA轴的兴奋,使胃肠激素分泌处于正常水平,拮抗了应激所致的胃肠传输功能紊乱. 由于MT在人体内尚未发现毒性作用,在多种动物体内也未建立其半数致死剂量(LD50),故其临床应用具有较高的安全性. 进一步开展MT的临床研究,可望使其成为应激性胃肠传输功能紊乱治疗措施的一种新选择.

4 参考文献

- 1 刘挺松,孙喜庆,曹新生,吴兴裕. 高+Gz和噪声复合应激对大鼠学习记忆的影响. 航天医学与医学工程 2004; 17: 20-23
- 2 穆振斌,黄裕新,赵保民,刘震雄,张兵华,王庆莉. 枪击噪声对大鼠胃肠传输液体食物的影响及其机制探讨. 解放军医学杂志 2004; 29: 991-992
- 3 张庆芳,李岩,王启仪. 和胃冲剂促进胃肠动力机制的实验研究. 世界华人消化杂志 2005; 13: 401-403
- 4 Seematter G, Binnert C, Martin JL, Tappy L. Relationship between stress, inflammation and metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2004; 7: 169-173
- 5 尹剑春,童昭岗,颜军. 中小负荷运动对反复心理应激大鼠血清皮质酮、IL-2和血浆T淋巴细胞亚群的影响. 中国运动医学杂志 2005; 24: 419-423
- 6 钟历勇,沈自尹. 松果体腺、褪黑素与抗应激作用. 国外医学·生理、病理科学与临床分册 2003; 23: 522-525
- 7 钟历勇,沈自尹,冉瑞琼,杨志红,王惠,宋萍. 褪黑素对大鼠下丘脑-垂体-肾上腺轴及免疫功能受抑状态的影响. 中国免疫学杂志 2003; 19: 761-764
- 8 Cullen JJ, Ephgrave KS, Caropreso DK. Gastrointestinal myoelectric activity during endotoxemia. *Am J Surg* 1996; 171: 596-599
- 9 刘婧,李兆申. 烧伤应激对胃动力的影响. 世界华人消化杂志 2007; 15: 134-139
- 10 孙燕,侯晓华. 心理应激与胃肠道动力紊乱的研究. 中国实用内科杂志 2006; 26: 725-726

■应用要点

本研究证实褪黑素可通过降低应激水平、调节体内激素分泌从而改善胃肠传输功能的紊乱. 由于褪黑素尚未在人体内发现LD50,因此具有良好的临床应用前景.

■同行评价

本文选题新颖,分析系统,论据充足,结论可靠,具有较强的科学性和可读性.

编辑 李军亮 电编 何基才