

• 实验研究 •

慢性激怒应激对大鼠胃动力和脑肠肽的影响
及柴胡舒肝散的干预作用周 吕¹ 刘 汶^{2*} 王礼建¹ 陈 諒² 袁 勃¹ 范 萌³ 宋 佳²

(1. 中国医学科学院基础医学研究所北京协和医学院基础学院生理学系, 北京市东单三条 5 号, 100005;

2. 首都医科大学附属北京中医医院肝病科、消化中心; 3. 北京市宣武中医医院)

基金项目: 北京市中医管理局课题(JJ-2006-23)

* 通讯作者: lwsxp@126.com, (010)52176608

[摘要] 目的 探讨慢性激怒应激对大鼠胃窦平滑肌动力及下丘脑和血浆促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)、促肾上腺皮质激素(ACTH)、瘦素、胃动素的影响, 以及柴胡舒肝散的干预作用。方法 将 40 只 Wistar 大鼠随机分为 4 组, 每组 10 只, 正常组不给任何刺激; 模型组、柴胡舒肝散组、生理盐水组均给予夹尾刺激, 每次 30min, 每天 2 次, 连续刺激 14 天。柴胡舒肝散组、生理盐水组每次应激后分别立即灌胃 2ml 柴胡散[27.5g/(kg·d)]及生理盐水, 每天 2 次。14 天后检测各组大鼠胃窦肌条收缩活动, 下丘脑及血浆 CRH、ACTH、瘦素和胃动素水平。结果 与正常组比较, 模型组大鼠离体胃窦肌条收缩频率和振幅明显减少($P<0.01$), 下丘脑 CRH、瘦素及血浆 CRH、ACTH、瘦素浓度均明显增高($P<0.01$), 而下丘脑与血浆胃动素浓度则显著下降($P<0.01$)。与模型组比较, 柴胡舒肝散组胃窦肌条收缩频率和振幅显著增加($P<0.01$), 下丘脑和血浆 CRH、ACTH 及瘦素浓度显著降低($P<0.01$), 而下丘脑和血浆胃动素浓度则明显上升($P<0.01$)。结论 柴胡舒肝散可增加慢性激怒应激大鼠胃窦平滑肌动力, 改善脑肠肽水平。

[关键词] 慢性激怒应激; 胃动力; 脑肠肽; 柴胡舒肝散

Influence of Chronic Enraged Stress on Gastric Motility and Brain-Gut Peptides in Rats and the Interfering Effect of Chaihu Shugan Powder

ZHOU Lv¹, LIU Wen², WANG Lijian¹, CHEN Jing², YUAN Bo¹, FAN Meng³, SONG Jia²

(1. China Academy of Medical Sciences, Beijing 100005; 2. Beijing TCM Hospital, Capital Medical University; 3. Beijing Xuanwu TCM Hospital)

ABSTRACT Objective To explore the influence of chronic enraged stress on the motility of antral smooth muscles, hypothalamic and plasma corticotropin releasing hormone (CRH), adrenocorticotrophic hormone (ACTH), leptin and motilin in rats and the interfering effect of Chaihu Shugan Powder [Power of Chaihu (*Radix Bupleuri*) for soothing the liver]. **Methods** Forty Wistar rats were randomized into 4 groups, with 10 in each. The normal group was not given any stimulation. The rats in the other groups were stimulated by nipping at the tails for 30min, twice daily. Chaihu Shugan Powder [27.5g/(kg·d)] or normal saline was added to the observation group and the control group respectively through gastric feeding. After 14 days, the motility of antral smooth muscles, hypothalamic and plasma CRH, leptin and motilin were observed. **Results** The frequency and amplitude of the antral muscle contraction in the model group was significantly lower than that in the normal group ($P<0.01$). The level of hypothalamic CRH and leptin, and plasma CRH, ACTH and leptin were significantly increased in the model group ($P<0.01$), while the level of hypothalamic and plasma motilin significantly decreased ($P<0.01$). Comparing with the model group, the frequency and amplitude of the antral muscle contraction and the level of hypothalamic and plasma motilin was significantly increased ($P<0.01$), but the level of hypothalamic and plasma CRH, ACTH and leptin decreased significantly ($P<0.01$). **Conclusion** Chaihu Shugan Powder could increase the gastric motility and improve the level of brain-gut peptides.

Keywords chronic enraged stress; gastric motility; brain-gut peptide; Chaihu Shugan Powder [Power of Chaihu (*Radix Bupleuri*) for soothing the liver]

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是一种与精神应激有关的躯体疾病^[1], FD 患者出现的症状如早饱、餐后饱胀不适、上腹痛以及恶心、呕吐等, 可能与患者长期遭遇到的各种各样的精神和

社会因素积累起来的慢性应激有关^[2]。慢性应激直接作用于脑肠轴和下丘脑—垂体—肾上腺轴(HPA)的下丘脑^[3],下丘脑释放的脑肠肽在应激引起的精神心理及胃动力的变化中起着重要作用。柴胡舒肝散是治疗肝气郁结的经典方剂,本文探讨柴胡舒肝散是否具有调节和改善慢性激怒应激引起大鼠胃窦平滑肌动力及下丘脑和血浆促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)、促肾上腺皮质激素(ACTH)、瘦素、胃动素的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康雄性 Wistar 大鼠 40 只,体重 220~250g,由中国医学科学院实验动物中心提供,实验动物许可证号:SCXK(京)2006-0003。

1.2 药物

柴胡舒肝散汤剂由首都医科大学附属北京中医医院制剂室提供,药物组成:柴胡 10g,陈皮 10g,川芎 10g,香附 10g,枳壳 10g,芍药 10g,甘草 5g,由我院煎煮机统一煎煮成 200ml 药液,封存于塑料袋内。

1.3 模型制备

采用夹尾激怒建立应激模型^[4],将 10 只大鼠装于同一鼠笼内,用长海绵钳,轻夹每只大鼠尾部外 1/3 处,夹尾刺激令其暴怒引发大鼠打斗,以激怒全笼大鼠。每次连续夹尾 30min,每天 2 次,每次应激后大鼠在笼内自由活动,连续激怒应激 14 天。

1.4 实验分组

40 只大鼠随机分为 4 组,每组 10 只:①正常组:大鼠在笼内自由活动 14 天,不给任何刺激;②模型组:用上述激怒应激方法,连续刺激 14 天;③柴胡舒肝散组:大鼠每次应激后,立即灌胃柴胡舒肝散汤剂 2ml,每天 2 次,连续 14 天,柴胡舒肝散用量按 27.5g/(kg·d)给药,相当于成人用量的 2 倍。④生理盐水组:大鼠每次应激后,立即灌胃生理盐水 2ml,每天 2 次,共 14 天。实验结束时各组均进行胃窦肌条动力测定,下丘脑 CRH、瘦素和胃动素水平测定及血浆 CRH、ACTH、瘦素及胃动素水平测定。

1.5 离体胃窦肌条动力测定

采用文献^[5]方法。将大鼠用乌拉坦(45mg/kg 腹腔注射)麻醉后,迅速切开腹腔取出胃,置于 Krebs 液中漂洗干净,持续供给 95%O₂ 和 5%CO₂ 混合气体,剪去黏膜取胃窦(距幽门约 0.5cm)的环行肌条,取 10mm 平滑肌条。肌条放入精密恒温灌流肌槽中,肌条与张力换能器相连,温育 1h,给张力

换能 1g 的负荷。张力换能器输入生理记录仪,记录胃窦肌条的机械收缩运动。

1.6 下丘脑 CRH、瘦素、及胃动素水平测定

大鼠用乌拉坦腹腔注射麻醉后,快速断头取出全脑,在脑的腹面中央区取出 0.5cm×0.5cm×0.4cm 大小的下丘脑称重,加 H₂O(pH6.6)2ml 煮沸 20min 后,弃去上清,加 0.5% CH₃COOH (0.4ml/100mg)匀浆,4℃离心,取清液-40℃保存待测。下丘脑 CRH、瘦素和胃动素水平用放射免疫测定,试剂盒由美国 LINCO 公司提供。

1.7 血浆 CRH、ACTH、瘦素及胃动素水平测定

大鼠用乌拉坦麻醉后,迅速打开腹腔从腹主动脉取血 8ml。血液注入含有 10%EDTA Na₂ 试管,4℃离心 3000r/min,20min。血浆 CRH 及 ACTH 用 SEP-PAK-C18 提取,提取物用磷酸缓冲液溶解后进行放射免疫测定,瘦素及胃动素按试剂盒(美国 LINCO 公司)说明书进行操作。

1.8 统计学方法

采用 SPSS 10.0 统计软件分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,比较采用方差分析。

2 结果

2.1 各组大鼠离体胃窦肌条收缩活动比较

表 1 示,与正常组比较,模型组大鼠胃肌条自发收缩频率和振幅明显下降($P < 0.01$)。柴胡舒肝散组与模型组比较,胃肌条收缩频率和振幅显著增加($P < 0.01$),接近正常组水平。生理盐水组与模型组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。图 1 示,大鼠在慢性激怒应激后胃窦平滑肌收缩频率及振幅显著下降,柴胡舒肝散干预后收缩频率及振幅明显增加。

表 1 各组大鼠离体胃窦肌条收缩活动比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	收缩频率 (次/min)	收缩振幅 (mg)
正常组	10	4.01±0.65	363.16±70.93
模型组	10	1.17±0.42*	90.73±27.58*
柴胡舒肝散组	10	3.53±0.64 [△]	311.50±73.23 [△]
生理盐水组	10	1.13±0.58	93.24±22.61

注:与正常组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.01$

2.2 各组大鼠下丘脑 CRH、瘦素和胃动素比较

表 2 示,模型组下丘脑 CRH 和瘦素含量均高于正常组($P < 0.01$),而胃动素含量则低于正常组($P < 0.01$)。柴胡舒肝散组与模型组比较,CRH 和瘦素显著下降($P < 0.01$),而胃动素升高($P < 0.01$)。生理盐水组与模型组各指标比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表 2 各组大鼠下丘脑和血浆 CRH、ACTH、瘦素、胃动素比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	下丘脑			血浆			
		CRH (pg/mg)	瘦素 (pg/mg)	胃动素 (pg/g)	CRH (pg/mg)	ACTH (pg/ml)	瘦素 (μg/L)	胃动素 (pg/g)
正常组	10	172.11±12.52	140.38±11.78	78.43±7.18	9.93±0.89	90.48±9.43	6.69±1.12	185.4±11.26
模型组	10	564.91±35.54*	385.74±29.52*	43.52±6.68*	39.46±3.47*	380.66±31.53*	13.76±2.15*	66.23±7.51*
柴胡舒肝散组	10	184.41±15.55 [△]	152.26±13.21 [△]	75.22±6.89 [△]	10.66±1.43 [△]	92.01±8.86 [△]	9.17±2.16 [△]	163.78±12.18 [△]
生理盐水组	10	575.24±40.16	368.85±25.47	41.73±6.04	41.05±4.03	391.12±35.26	14.59±3.02	68.11±6.47

注:与正常组比较,* $P<0.01$;与模型组比较, $\Delta P<0.01$

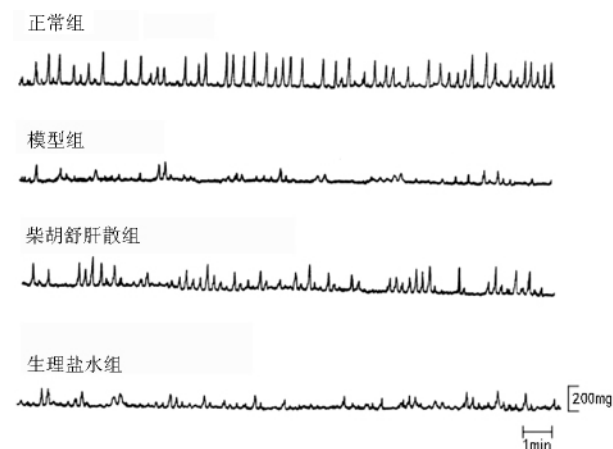


图 1 各组大鼠胃肌条收缩曲线

2.3 各组大鼠血浆 CRH、ACTH、瘦素和胃动素比较

表 2 示,模型组血浆 CRH、ACTH、和瘦素含量高于正常组($P<0.01$),而胃动素含量低于正常组($P<0.01$)。柴胡舒肝散组与模型组比较,CRH、ACTH、瘦素含量均下降($P<0.01$),而胃动素则上升($P<0.01$),均接近正常组水平。生理盐水组血浆 CRH、ACTH、瘦素和胃动素与模型组比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨论

应激在功能性胃肠病中起重要作用。急性应激可引起人和动物胃肠动力紊乱,抑制胃排空。在过去的研究多注意急性应激所产生的效应,而对于慢性应激,特别对长期遭受消极情绪如愤怒、恐惧、焦虑、抑郁等精神心理应激对胃动力的影响,少有报导。本研究采用慢性激怒应激方法,模拟情绪、精神心理应激对胃动力的作用。结果表明,慢性激怒应激大鼠具有食欲不振和饮食量减少等消化不良症状,并表现出高度的紧张和焦虑状态。与急性应激相比,慢性激怒应激更能反映 FD 发病特点。

本研究采用离体胃窦肌条收缩活动作为胃动力指标,目的是观察慢性激怒应激对胃平滑肌细胞的直接作用,以说明胃动力障碍仍是 FD 发病的病理生理基础。

CRH 是一种应激脑肽,许多情绪及精神心理应激均可使 CRH 释放从而抑制胃排空。本研究在连续应激 14 天后,大鼠下丘脑 CRH 持续升高,并伴随外周血中 CRH 水平升高。表明在慢性应激过程中,持续的应激信号使大鼠中枢神经系统下丘脑处于高度紧张状态,引起 CRH 神经元兴奋,通过迷走神经使外周血 CRH 浓度增高。

ACTH 由下丘脑刺激垂体分泌^[3],在慢性激怒应激情况下,外周血 ACTH 浓度明显升高,表明慢性应激兴奋 HPA 轴的分泌,从而引起焦虑、抑郁及胃动力下降等一系列应激反应。瘦素由下丘脑和胃黏膜主细胞分泌,其功能是抑制胃排空,控制摄食^[6]。本研究显示,慢性激怒应激引起大鼠下丘脑和血中瘦素浓度升高,使得胃平滑肌动力下降并出现进食量减少的症状。

胃动素是一种经典胃肠激素,直接启动消化间期移行性复合运动(MMC)Ⅲ期,增强胃的收缩活动,其作用由中枢和外周双重调节。本研究结果表明,慢性激怒应激大鼠下丘脑和血浆胃动素均明显下降,导致胃平滑肌动力障碍,这一作用通过中枢和外周双重作用实现。

中医认为,FD 归属为“胃痞”、“胃脘痛”范畴。引起 FD 病变的病因有情志失调、饮食不节及脏腑虚弱等。现代人工作压力大,生活节奏紧张,故情志失调导致功能性胃肠疾病的可能性越来越大。由于肝主调畅气机,调节情志,助脾胃的消化功能,脾胃为一身气机升降的枢纽^[7]。我们认为,FD 是由于肝失疏泄、肝失条达导致脾胃功能的异常所致。根据 FD 以“肝”为核心的理论,采用张景岳《景岳全书》治疗肝气郁结的经典方药—柴胡舒肝散,对慢性激怒应激大鼠进行干预。方中柴胡、香附、陈皮和枳壳疏肝解郁、理气行滞;川芎、芍药和甘草养血柔肝、缓急止痛,从而达到疏肝解郁、理气和胃的功效。本

(下转第 787 页)

数=(治疗前总积分-治疗后总积分)/治疗前总积分×100%。痊愈:积分下降指数≥90%;显效:积分下降指数为 60%~89%;有效:积分下降指数为 20%~59%;无效:积分下降指数<20%。

3.2 两组临床疗效比较

表 1 示,两组临床愈显率比较差异有统计学意义($P<0.05$),治疗组优于对照组。

表 1 两组临床疗效比较[例(%)]

组别	例数	痊愈	显效	有效	无效	总有效
治疗组	33	21(63.7)	10(30.3)	1(3.0)	1(3.0)	32(97.0)
对照组	31	15(48.4)	8(25.8)	5(16.1)	3(9.7)	28(90.3)

3.3 不良反应

治疗组共发现不良反应 2 例,均为用药 3 天后皮损周边正常皮肤组织潮红瘙痒,缩短治疗时间、降低治疗温度后,潮红明显缓解,未影响治疗效果。

4 讨论

本院自制剂消炎止痛膏含有全蝎、地龙、僵蚕、白芷、牡丹皮、桃仁、红花、细辛等中药成分。牡丹皮、桃仁、红花活血化瘀,全蝎、地龙、僵蚕通络,配以白芷、细辛温通,佐前两组药物活血、通络。诸药合用,具有活血化瘀、通络止痛的作用。现代药理研究发现,桃仁、红花有扩张血管、改善血流动力学、抗血栓形成的作用;白芷有舒张动脉血管、加快血液流动、改变血液性质的作用;全蝎、地龙、僵蚕有抗凝、抗血栓的作用。

TDP 治疗仪波长为 2~25μm,属远红外线范围。由于其波长长,照射人体后,可被浅层组织强烈吸收,局部皮肤温度明显升高,并且随作用时间的延长,皮肤升温更为显著。同时部分能量可通过血液循环的方式扩散到深层组织,并被皮肤吸收后转化

为热量,此种热效应与其他生物热效应基本类同。由于热的传导,使深层组织温度升高,血管扩张,改善局部血液循环,促进新陈代谢。另外,TDP 治疗仪的核心部件 TDP 治疗板是经特别选定的 30 多种元素作为涂层制成,对生物体具有广泛综合的生物效应,具有提高机体内各种酶的活性、促进机体对各种缺乏元素的吸收、修复和疏通微循环通道的作用。

我们所采用的中药热烘疗法,外涂消炎止痛膏后,再用 TDP 治疗仪照射使局部温度升高,大大增强了消炎止痛膏活血化瘀的性能,同时 TDP 治疗仪的独特作用亦能改善局部的血液循环,从而提高了疗效。对照组所用的复方醋酸地塞米松乳膏作为一种弱效糖皮质激素药物,能够抗炎、止痒、抗变态反应,对过敏性皮肤病疗效确切。但神经性皮炎常为慢性病程,长期使用激素类制剂容易造成毛细血管扩张、皮肤萎缩、色素沉着等,而且反复使用后也易出现激素制剂的疗效降低、复发率增高。中药热烘疗法作为非激素制剂的外治方法,不但疗效远优于激素制剂,而且也避免了皮肤萎缩、毛细血管扩张、药物依赖性等副作用。需要提醒的是,在治疗过程中,应注意照射局部皮损的温度与时间,对于皮肤比较娇嫩的部位或女性患者,应将治疗的时间适当缩短,以免发生局部刺激反应。

参考文献

[1] 国家中医药管理局. 中医病证诊断疗效标准[S]. 南京: 南京大学出版社,1994:147-148.
[2] 黄怀球,赖维,朱国兴,等. 丙酸氟体卡松乳膏治疗局限性湿疹和神经性皮炎的多中心临床研究[J]. 中国皮肤性病学杂志,2005,19(11):672-673,681.

(收稿日期:2011-12-30;修回日期:2012-02-06)

[编辑:黄健]

(上接第 777 页)

研究结果表明,采用柴胡舒肝散对慢性应激大鼠进行干预,使应激大鼠体质恢复正常,胃运动功能恢复,介导应激的中枢和外周脑肠肽水平均趋于正常。这一结果在临床也得到很好的验证^[8]。

参考文献

[1] Magni G, di-Mario F, Bemasconi G, et al. DSM-III Diagnoses associated with dyspepsia of unknown cause[J]. Am J Psychiatry, 1987, 144(8):1222-1223.
[2] Tack J, Lee KJ. Pathophysiology and treatment of functional dyspepsia[J]. J Clin Gastroenterol (J), 2005, 39(12):S211-S216.
[3] 周吕,柯美云. 神经胃肠病学与动力[M]. 北京:科学出版

社,2005:171-199.

[4] 郭海军,林洁,李国成,等. 功能性消化不良的动物模型研究[J]. 中国中西医结合消化杂志,2001,9(3):141-142.
[5] 周吕,柯美云. 胃肠动力学[M]. 北京:科学出版社,1999:293-303.
[6] 周吕,王礼建,袁勃,等. 下丘脑瘦素对大鼠胃运动的作用[J]. 诊断学理论与实践,2006,5(1):20-23.
[7] 危北海. 胃肠动力功能障碍疾病的中医辨证与治疗[J]. 中西医结合消化杂志,2003,11(5):259-261.
[8] 刘汶,范萌,陈詒,等. 柴胡疏肝散对功能性消化不良肝气郁结证患者胃动力及胃肠激素的影响[J]. 中医杂志,2010,51(1):30-33.

(收稿日期:2011-01-10;修回日期:2011-11-13)

[编辑:行之]