

· 基础研究 ·

次声对大鼠十二指肠黏膜生长抑素及胆囊收缩素水平的影响

郭晓燕 王进海 董蕾 陈景藻

【摘要】目的 研究不同强度和频率的次声作用对大鼠十二指肠黏膜生长抑素(SS)及胆囊收缩素(CCK)水平的影响。**方法** 将 140 只雄性 SD 大鼠随机分为对照组、8 Hz-90 dB 组、8 Hz-130 dB 组及 16 Hz-130 dB 组,每组 35 只。各次声作用组大鼠按设计要求分别暴露于相应频率和强度的次声环境中,每天 2 h;对照组大鼠于同一时间内亦置入次声舱中,每天 2 h,但未给予次声作用。各组分别于次声作用后第 1,7,14,21 及 28 天时各随机取出 7 只大鼠进行标本制备,应用放射免疫法测定十二指肠黏膜中 SS、CCK 的含量。**结果** 各次声作用组与对照组比较,次声作用第 1 天时各组 SS、CCK 水平均无明显变化($P > 0.05$),作用第 7,14,21 及 28 天时均明显升高($P < 0.05$),其中以第 14 天时尤为显著,与第 7,21 及 28 天时比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$);在第 21 及 28 天时,各组 SS、CCK 水平均有所下降,但仍显著高于对照组。除次声作用第 1 天外,8 Hz-130 dB 组十二指肠黏膜 SS、CCK 含量在第 7,14,21 及 28 天时均明显高于 8 Hz-90 dB 组,16 Hz-130 dB 组十二指肠黏膜 SS、CCK 含量在第 7,14,21 及 28 天时均明显高于 8 Hz-130 dB 组。**结论** 8 Hz-90 dB, 8 Hz-130 dB 或 16 Hz-130 dB 次声作用均可引起大鼠十二指肠黏膜 SS 及 CCK 水平升高,其影响程度与次声作用强度、频率及作用时间等密切相关,大鼠经次声多次作用后可产生一定适应性。

【关键词】 次声; 大鼠; 生长抑素; 胆囊收缩素

The effect of infrasound on the level of somatostatin and cholecystokinin in rat duodenal mucosa GUO Xiaoyan*, WANG Jin-hai, DONG Lei, CHENG Jing-zao. * Department of Gastroenterology, the Second Hospital, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China

【Abstract】Objective To study the effects of infrasound of different frequencies and intensities on the levels of somatostatin (SS) and cholecystokinin (CCK) in rat duodenal mucosa. **Methods** A total of 140 male Sprague-Dawley rats were randomly divided into a control group, an 8 Hz-90 dB group, a 8 Hz-130 dB group and a 16 Hz-130 dB group. The experimental groups were exposed to infrasound of 8 Hz-90 dB, 8 Hz-130 dB or 16 Hz-130 dB, respectively, for 2 hours a day, and the control group was put under sham infrasonic exposure. After being exposed for 1, 7, 14, 21 and 28 days, 7 rats were randomly selected from each group and underwent SS and CCK levels detection in duodenal mucosa by microarray radioimmunity method. **Results** Compared with the control group, the SS and CCK levels of duodenal mucosa did not change significantly after exposure for 1 day. The SS and CCK levels of duodenal mucosa significantly increased in 8 Hz-90 dB group, 8 Hz-130 dB group and 16 Hz-130 dB group after exposure for 7, 14, 21 and 28 days ($P < 0.05$) with a peak at the 14th day of exposure. At the 21th and 28th days, the SS and CCK content were decreased in all experimental groups. the SS and CCK levels of duodenal mucosa in 8 Hz-130 dB group were significantly higher than those in 8 Hz-90 dB group, and the SS and CCK levels of duodenal mucosa in the 16 Hz-130 dB group were significantly higher than those in 8 Hz-130 dB group after being exposed for 1, 7, 14, 21 and 28 days. **Conclusion** Infrasound can increase SS and CCK levels in duodenal mucosa of rats exposed to infrasound with 8 Hz-90 dB, 8 Hz-130 dB or 16 Hz-130 dB. The SS and CCK levels in duodenal mucosa of rats were related to the frequency, intensity and action time of infrasound. The rats had adaptability to multi-exposure of infrasound.

【Key words】 Infrasound; Rat; Somatostatin; Cholecystokinin

随着社会进步与科技发展,环境因素、心理因素与人类疾病间的关系越来越受到临床医学及预防医学的重视。次声(infrasound)是近年来被人们认识和重视的一种环境污染成分,它广泛存在于自然界、生产劳动

和交通运输环境中。次声是频率范围为 0.0001 ~ 20 Hz 的机械振动波,由于其频率低于可听声频率范围,所以人耳一般听不到次声波。次声波具有传播远、衰减少、穿透力强等物理学特性,目前国际上已公认次声是生产噪声和生活噪声的重要组成部分之一^[1,2]。我们的前期研究发现,8 Hz-90 dB 或 8 Hz-130 dB 或 16 Hz-130 dB 次声作用均可引发大鼠胃排空功能障

作者单位:710004 西安,西安交通大学第二医院消化科(郭晓燕、王进海、董蕾);第四军医大学西京医院康复理疗科(陈景藻)

碍^[3],同时还可引起大鼠胃黏膜形态学发生改变^[4]。本研究在上述基础上,通过观察不同强度、频率次声对大鼠十二指肠黏膜生长抑素(somatostatin,SS)及胆囊收缩素(cholecystokinin,CCK)水平的影响,从而进一步探讨次声对胃肠运动功能的作用。现报道如下。

材料与方法

一、实验材料

1. 实验动物:共选取一级雄性 SD 大鼠 140 只,由第四军医大学实验动物中心提供;鼠龄(6.4 ± 0.5)周;体重(189.0 ± 8.9)g。大鼠于实验前 1 周领回后分笼适应性饲养于安静环境中。动物室温度控制在 $20 \sim 24^\circ\text{C}$,湿度控制在 50% 左右,实验大鼠自由摄食、饮水,给予正常周期日光照射。

2. 实验仪器及试剂:本研究次声声源及检查系统采用第四军医大学研制的次声压力舱系统及检查系统。次声压力舱系统由低频信号发生器、功率放大器及电动扬声器等组成;检查系统主要包括次声传声器及次声信号数据采集分析系统。实验中用到的仪器还包括:TDL-46RC 台式大容量低速冷冻离心机(上海中科生物医学高科技开发有限公司产);日本三洋超低温保存箱(-70°C);CaP-RIA16r 型探头计数仪(中外合资西安利亚公司产)。实验试剂包括:生长抑素和胆囊收缩素放免试剂盒(北京海军总医院海科锐放免中心提供)、动物麻醉剂速眠新(长春农牧大学兽医研究所生产)等。

二、实验方法

1. 次声暴露方法:将 140 只实验大鼠随机分成 4 组,分别为对照组、8 Hz-90 dB 组、8 Hz-130 dB 组及 16 Hz-130 dB 组,每组 35 只。各实验组大鼠每天于固定时间段置于次声舱内,按分组时设定的次声频率和强度每天给予次声作用 2 h;对照组大鼠每天于相同时间段亦置入次声舱内 2 h,但期间不给予次声作用。每组大鼠分别于次声作用后第 1,7,14,21 及 28 天时各随机取出 7 只进行标本制备。

2. 标本制备:术前大鼠禁食 8 h,于最后 1 次次声作用结束后 1 h 内,采用速眠新按 0.5 ml/kg 体重进行肌肉注射麻醉,迅速剖腹取十二指肠组织,在装有 Krebs 液的烧瓶内清洗后,取 100 mg 十二指肠黏膜组织置于 5 ml 塑料试管中,向其中加入生理盐水 1 ml 并煮沸 3 min 后取出,然后置入含 0.5 ml HAC(1 mol/L)的玻璃研磨器中反复研磨至匀浆,取 3 ml 置入离心管内,于 4°C 环境下静置 2 h,再加入浓度为 1 mol/L NaOH 0.5 ml ,并用 1 mol/L HAC 滴定,用 pH 试纸测试并调节标本 pH 值至 7.0 左右。将滴定好的标本置入 4°C 低温离心机中,以 $3\,000 \text{ 转/min}$ 离心 30 min,取

上清液至 EP 管中,于 -20°C 冰箱中保存待测。

三、观察指标及检测方法

采用放射免疫法检测大鼠十二指肠黏膜组织上清液中 SS 及 CCK 水平,试剂盒购于解放军海军放免技术中心。实验步骤严格按照试剂盒说明书要求进行,分别向空白管、零标准管、标准管及待测样本管中加入 ^{125}I -SS 或 ^{125}I -CCK,混匀后于 4°C 环境下静置 48 h。每管加入免疫分离剂 $600 \mu\text{l}$,混匀后在室温下放置 15 min,于 4°C 环境下离心 20 min(离心力为 $1\,500 \text{ g}$),随后弃去上清液,将沉淀部分用 γ 计数仪进行计数,采用“四参数质量作用定律拟合”数据处理方式计算 SS 和 CCK 的浓度水平。

四、统计学分析

本实验所得数据以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 10.1 版统计学软件进行数据分析,各组间数据比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、不同强度和频率的次声作用对大鼠十二指肠黏膜 SS 水平的影响

如图 1、表 1 所示,次声作用第 1 天时,8 Hz-90 dB 组、8 Hz-130 dB 组及 16 Hz-130 dB 组大鼠十二指肠黏膜 SS 水平均无明显变化,与对照组比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);次声作用第 7,14,21 及 28 天时,各次声暴露组大鼠十二指肠黏膜 SS 水平均明显高于对照组($P < 0.05$),于第 14 天时达到峰值,明显高于第 7,21 及 28 天时大鼠十二指肠黏膜 SS 水平($P < 0.05$);在第 21 及 28 天时,各次声暴露组大鼠十二指肠黏膜 SS 水平有所降低,但仍显著高于对照组($P < 0.05$)。第 7,21 及 28 天时各次声暴露组大鼠十二指肠黏膜 SS 水平组内比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。8 Hz-130 dB 组与 8 Hz-90 dB 组比较,除第 1 天外,第 7,14,21 及 28 天时 8 Hz-130 dB 组大鼠十二指肠黏膜 SS 水平均明显高于 8 Hz-90 dB 组($P < 0.05$);16 Hz-130 dB 组与 8 Hz-130 dB 组比较,除第 1 天外,第 7,14,21 及 28 天时 16 Hz-130 dB 组大鼠十二指肠黏膜 SS 水平均明显高于 8 Hz-130 dB 组($P < 0.05$)。

二、不同强度和频率的次声作用对大鼠十二指肠黏膜 CCK 水平的影响

如图 2、表 2 所示,与对照组比较,次声作用第 1 天时,8 Hz-90 dB 组、8 Hz-130 dB 组及 16 Hz-130 dB 组大鼠十二指肠黏膜 CCK 水平均无明显变化,差异均无统计学意义($P > 0.05$);次声作用第 7,21 及 28 天时,各次声暴露组大鼠十二指肠黏膜 CCK 水平均明显高于对照组($P < 0.05$);于第 14 天时大鼠十二指肠黏

膜 CCK 水平达到峰值,明显高于第 7,21 及 28 天时大鼠十二指肠黏膜 CCK 水平($P < 0.05$);各次声暴露组大鼠十二指肠黏膜 CCK 水平在第 21,28 天时有所下降,但仍显著高于对照组($P < 0.05$);第 7,21 及 28 天时各次声暴露组大鼠十二指肠黏膜 CCK 水平组内比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);8 Hz-130 dB 组与 8 Hz-90 dB 组比较,除第 1 天外,8 Hz-130 dB 组大鼠十二指肠黏膜 CCK 水平在第 7,14,21 及 28 天时均明显高于 8 Hz-90 dB 组($P < 0.05$);16 Hz-130 dB 组与 8 Hz-130 dB 组比较,除第 1 天外,16 Hz-130 dB 组大鼠十二指肠黏膜 CCK 水平在第 7,14,21 及 28 天时均明显高于 8 Hz-130 dB 组($P < 0.05$)。

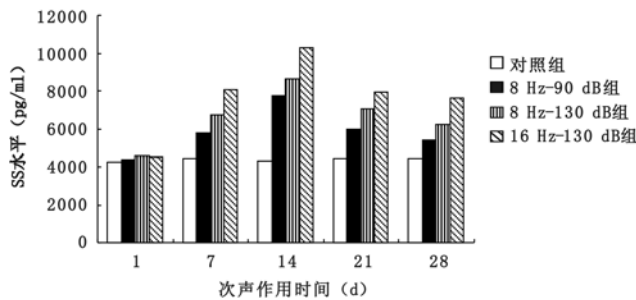


图 1 不同强度和频率的次声作用对大鼠十二指肠黏膜 SS 水平的影响

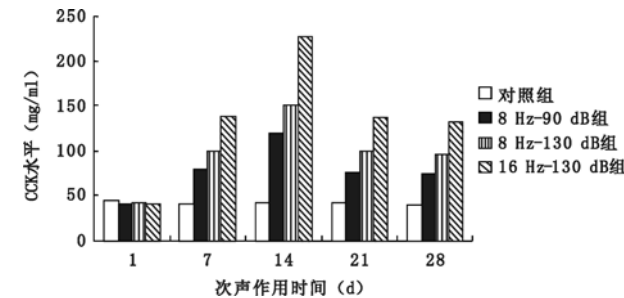


图 2 不同强度和频率的次声作用对大鼠十二指肠黏膜 CCK 水平的影响

讨 论

次声对机体的作用是通过生物共振启动和实现的^[2],它对机体的影响广泛而复杂,涉及器官、组织、细胞及分子水平等多个层面,主要通过下列两种途径对机体产生影响:①直接作用,即机械共振损伤;②间接作用,即机械性共振引起生物反射性反应。次声作用能引发内脏器官共振性颤动,能刺激躯体本体感受器和内脏感受器,并将震动信息传递到中枢神经系统;通过交感-肾上腺系统导致肾上腺能神经功能亢进、迷走神经功能受抑制,从而引发相应器官和系统功能应激反应^[2]。应激状态下机体神经内分泌系统发生改变,能诱发胃肠激素水平变化,从而直接影响胃肠系统运动及功能,出现吞咽困难、胃饱胀感、上腹不适甚至导致胃十二指肠溃疡及炎性肠疾病等^[5,6]。

目前研究已证实,一定强度和频率的次声作用对动物及人体中枢神经、应激、听觉、生殖、呼吸和心血管等系统的功能、结构均可产生明显影响^[6-10]。王进海等^[3]报道了采用同位素胃腔内灌注法观察到 8 Hz-90 dB,8 Hz-130 dB 及 16 Hz-130 dB 次声作用均可引发大鼠胃排空功能延迟;且随着次声声压级和频率增加,胃排空延迟现象愈发明显,以次声作用 14 d 时尤为显著,21 d 后有恢复趋势,同时王进海等^[4]还观察到不同强度和频率的次声作用可引起大鼠胃窦黏膜形态发生改变。目前国内关于次声对胃肠道作用的研究报道相对较少,次声对胃肠系统的具体影响机制也未完全明了。

SS 和 CCK 都是目前发现对胃肠运动功能具有重要作用的胃肠激素。SS 的主要生理功能为抑制生长激素分泌、调节胰岛功能,是胰岛素和胰高血糖素的释放抑制因子,对胃肠道功能具有普遍抑制作用,包括:①抑制胃肠激素分泌;②抑制胃液、胃蛋白酶、内因子、

表 1 不同强度、频率的次声作用对大鼠十二指肠黏膜 SS 水平的影响 (pg/ml, $\bar{x} \pm s$)

组 别	只数	次声暴露时间(d)					
		1 d	7 d	14 d	21 d	28 d	
8 Hz-90 dB 组	35	4359.32 ± 341.53	5769.32 ± 456.21 ^{abcd}	7764.28 ± 359.87 ^{abd}	5956.34 ± 231.25 ^{abcd}	5399.36 ± 334.55 ^{abcd}	
8 Hz-130 dB 组	35	4542.81 ± 387.58	6756.24 ± 365.41 ^{abc}	8634.56 ± 455.21 ^{ab}	7043.26 ± 365.22 ^{abc}	6218.77 ± 321.67 ^{abc}	
16 Hz-130 dB 组	35	4492.73 ± 317.17	8058.32 ± 412.31 ^{abcd}	10276.65 ± 565.31 ^{abd}	7944.21 ± 366.87 ^{abcd}	7647.39 ± 355.67 ^{abcd}	
对照组	35	4239.57 ± 226.18	4427.43 ± 321.09	4345.61 ± 331.56	4458.44 ± 351.91	4421.73 ± 350.40	

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与组内次声暴露 1 d 时比较,^b $P < 0.05$;与组内次声暴露 14 d 时比较,^c $P < 0.05$;与 8 Hz-130 dB 组比较,^d $P < 0.05$

表 2 不同强度和频率的次声作用对大鼠十二指肠黏膜 CCK 水平的影响 (pg/ml, $\bar{x} \pm s$)

组 别	只数	次声暴露时间(d)					
		1 d	7 d	14 d	21 d	28 d	
8 Hz-90 dB 组	35	40.69 ± 9.92	78.62 ± 7.63 ^{abcd}	78.62 ± 7.63 ^{abd}	75.27 ± 7.78 ^{abcd}	75.27 ± 7.78 ^{abcd}	
8 Hz-130 dB 组	35	42.17 ± 11.36	99.38 ± 5.43 ^{abc}	150.59 ± 6.54 ^{ab}	100.44 ± 8.55 ^{abc}	100.44 ± 8.55 ^{abc}	
16 Hz-130 dB 组	35	39.98 ± 9.43	138.56 ± 6.90 ^{abcd}	226.32 ± 5.35 ^{abd}	136.71 ± 6.29 ^{abcd}	131.44 ± 8.24 ^{abcd}	
对照组	35	43.53 ± 11.21	39.99 ± 10.26	42.78 ± 9.83	41.77 ± 12.37	38.96 ± 7.91	

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与组内次声暴露 1 d 时比较,^b $P < 0.05$;与组内次声暴露 14 d 时比较,^c $P < 0.05$;与 8 Hz-130 dB 组比较,^d $P < 0.05$

胰液碳酸氢盐、胰蛋白酶、淀粉酶、胆汁等外分泌;③抑制胃肠运动,包括胃排空、小肠分节运动和胆囊收缩;④抑制营养物质吸收;⑤减少肠系膜血流量,增加血流阻力^[5]。SS 分泌受胆碱能通路调节,后者可抑制 SS 分泌^[9]。CCK 是刺激胰液分泌的经典胃肠激素,分泌 CCK 的细胞主要存在于十二指肠和空肠黏膜部位,约 98% 存在于黏膜层内,以十二指肠内的分布密度最高。CCK 对消化系统的主要作用为收缩胆囊,促进胰液分泌,增强胰酶活性,促进十二指肠液分泌;抑制食管下括约肌、奥狄括约肌收缩,抑制近端十二指肠蠕动,抑制胃排空;促进远端十二指肠和空肠蠕动等^[9];作为脑肠肽的 CCK 也可通过中枢效应影响胃肠运动^[11]。CCK-A 受体阻断剂或预先用辣椒素(capsaicin)去除迷走神经的传入作用均能显著抑制十二指肠通过 CCK-A 受体兴奋迷走神经传入通路,从而使胃排空减缓^[12,13]。

本研究结果显示,8 Hz-90 dB,8 Hz-130 dB 及 16 Hz-130 dB 次声作用 7 d 后均可引发大鼠十二指肠黏膜 SS 和 CCK 水平升高,SS 及 CCK 水平在第 14 天时达到峰值,在第 21,28 天时有所下降,但仍显著高于对照组,提示大鼠对次声多次作用可产生一定适应性;另外本研究还同时发现,随着次声作用强度和频率增加,大鼠十二指肠黏膜 SS 和 CCK 水平也随之升高。由于 SS 和 CCK 水平升高可抑制胃排空,因此次声引起的胃排空障碍可能与其诱发的十二指肠黏膜 SS 和 CCK 水平升高密切相关。这与王进海等^[3]报道的 8 Hz-90 dB,8 Hz-130 dB 及 16 Hz-130 dB 次声均可引起大鼠胃内液体排空明显减慢(以第 14 天时最为明显,第 21,28 天时有所恢复)的结果基本一致。次声作为一种应激因子,可激活机体垂体-肾上腺系统,导致机体产生应激反应,使血液中促肾上腺皮质激素、皮质酮及儿茶酚胺含量升高,肾上腺能神经功能亢进,迷走神经功能则受到抑制^[6],从而促进 SS 及 CCK 分泌。因此本研究认为,次声作用引起十二指肠黏膜 SS 及 CCK 水平升

高可能与次声作用引起机体应激反应有关。

综上所述,本研究从激素水平探讨了次声对胃排空抑制作用的可能机制,为进一步研究次声对人体作用提供了理论依据,另外 SS 及 CCK 水平的升高也可引起体内其它胃肠激素水平及生理功能发生改变。目前关于次声诱发机体激素水平变化以及激素间相互作用对小肠运动功能的影响还不明确,尚待进一步深入研究。

参 考 文 献

- [1] 陈景藻. 次声的存在及其基本生物学效应和研究意义. 中华物理医学与康复杂志, 1999, 21: 131-133.
- [2] 赵乃坤. 次声对动物生物学效应的研究. 中华劳动卫生职业病杂志, 1993, 11: 338.
- [3] 王进海, 罗金燕, 陈景藻, 等. 不同频率、强度次声作用对大鼠胃排空功能的影响. 中华物理医学与康复杂志, 2006, 28: 312-315.
- [4] 王进海, 罗金燕, 郭晓燕, 等. 次声对大鼠胃窦黏膜形态学的影响. 中华物理医学与康复杂志, 2006, 28: 676-680.
- [5] 周吕, 柯美云. 神经胃肠病学与动力. 北京: 科学出版社, 2005: 196.
- [6] Diaz-Maesa M, Molina R, Lozano MC, et al. Biological basis of post-traumatic stress disorder. Actas Esp Psiquiat, 2000, 28: 379-384.
- [7] 袁华, 龙华, 李玲, 等. 次声作用后大鼠延髓星形胶质细胞和神经元反应的关系. 中国康复理论与实践, 2002, 8: 661-663.
- [8] 李唯, 贾克勇, 李焕章, 等. 8 Hz 和 16 Hz 次声对大鼠肺组织损伤及肺氧合功能的影响. 第四军医大学学报, 2001, 22: 1485-1489.
- [9] 费舟, 章翔关, 李树合. 次声对脑组织血栓素 A₂、前列环素代谢的影响. 中华物理医学与康复杂志, 2000, 22: 270-272.
- [10] 赵志刚, 陈景藻, 张李燕. 次声作用后大鼠血浆中血管紧张素 II 含量的改变. 中华物理医学与康复杂志, 2001, 23: 83-85.
- [11] 韩风华, 武毅军, 陈景藻, 等. 次声作用下大鼠肝细胞损伤作用的超微结构变化. 西南国防医药, 2003, 13: 465-467.
- [12] Rodriguez SA, Fernandez E, Manteca X, et al. CCK is involved in both peripheral and central mechanisms controlling food intake in chickens. Am J Physiol, 1997, 272: 334-340.
- [13] Wab SA. Cholecystokinin receptors. Am J Physiol, 1995, 269: 628-646.

(修回日期: 2007-09-27)

(本文编辑: 易 浩)

· 消息 ·

常见关节伤病康复评定和治疗技术培训班通知

应广大学员强烈要求, 北京大学第一医院康复科将再次举办“骨关节疾病康复评定和治疗技术培训班”, 并邀请英国物理治疗学会常务委员、Glasgow 物理治疗及运动损伤医院院长 Smith 教授前来授课。Smith 教授已连续四年来主讲了关节松动术在脊柱关节和四肢关节疾病康复治疗中的应用, 获得一致好评。

此次学习班将重点介绍肩、髋、膝和踝关节常见伤、病的临床检查和康复治疗技术。以理论授课、技术演示和实习指导相结合的方式, 紧密联系临床, 强调实用性。授课内容不仅有助于治疗师学习规范的治疗技术, 更有助于提高康复医师的临床检查技能和临床思维能力。

时间为 2008 年 3 月 23 日~3 月 28 日(23 日全天报到)。学费 950 元, 资料费 50 元。食宿统一安排, 费用自理。考试合格者授予国家级 1 类继续教育学分 10 学分。报名请于 3 月 10 日前寄到: 100034, 北京大学第一医院物理医学康复科 黄真收。也可电子邮件联系: huangzhen6313@yahoo.com.cn。联系电话: 010-66551122-2455。

北京大学第一医院物理医学康复科