· 基础研究 ·

次声作用对大鼠胃黏膜生长抑素和 P 物质水平的影响

王进海　罗金燕　郭晓燕　陈景藻

【摘　要】 **目的**　观察不同频率和声压级水平(强度)的次声作用对大鼠胃黏膜生长抑素、P 物质含量的影响,探讨次声对胃肠系统的作用机制。**方法**　将 140 只大鼠随机分成 4 组,即对照组、8 Hz-90 dB 组、8 Hz-130 dB组及 16 Hz-130 dB 组,每组各 35 只。各实验组大鼠按分组时规定分别暴露于不同频率和强度的次声舱内(2 h/d),对照组大鼠则于相同时间内置于次声舱内(2 h/d),期间无次声干预。每组于次声作用 1,7,14,21 及 28 d 时各随机取出 7 只进行组织学准备,采用放射免疫法测定胃黏膜生长抑素(SS)、P 物质(SP)含量。**结果**　①8 Hz-90 dB 次声作用 14 d 和 21 d 后,胃黏膜 SS 含量较对照组显著升高($P<0.05$);作用1 d、7 d 及 28 d时与对照组比较,差异则无统计学意义($P>0.05$)。8 Hz-130 dB 次声作用 7 d、14 d、21 d 及28 d后胃黏膜 SS 含量均明显高于对照组($P<0.01$),其中以第 14 天时最为显著;作用 1 d 时与对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。16 Hz-130 dB 次声作用 1 d、7 d 及 14 d 后胃黏膜 SS 含量较对照组明显升高($P<0.05$ 或 0.01),其中以第 7 天时最为显著;作用 21 d 及 28 d 时与对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。8 Hz-130 dB次声作用 7 d、14 d及 21 d 后胃黏膜 SS 含量明显高于 8 Hz-90 dB 组($P<0.05$ 或 0.01),作用14 d、21 d 及 28 d 后显著高于16 Hz-130 dB 组($P<0.05$ 或 0.01)。②8 Hz,90 dB 和 16 Hz,130 dB 次声作用1 d、7 d、14 d、21 d 及 28 d 后胃黏膜 SP 含量与对照组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。8 Hz-130 dB 次声作用 14 d和 21 d 后胃黏膜 SP 含量明显高于对照组($P<0.05$);作用 1 d,7 d 及 28 d 后与对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。8 Hz,130 dB 次声作用 1 d、7 d、14 d、21 d 及 28 d 后胃黏膜 SP 含量与 8 Hz,90 dB 和 16 Hz,130 dB组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。**结论**　①次声作用可诱发实验大鼠胃黏膜 SS、SP 含量升高,其升高的幅度与次声作用的频率、强度及时间有关。②大鼠经次声作用多次后可产生一定的适应性。

【关键词】 次声;　胃黏膜;　生长抑素;　P 物质

Effects of infrasound on somatostatin and substance P levels in gastric mucosa in rats

WANG Jin-hai, LUO Jin-yan, GUO Xiao-yan, CHEN Jing-zao. *Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Medical College of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China*

【**Abstract**】 **Objective**　To observe the effects of infrasound of different frequency and intensity on somatostatin(SS) and substance P(SP) levels in gastric mucosa in rats, and to explore the underlying mechanisms of effects of infrasound on gastroenterology. **Methods**　A total of 140 Sprague-Dawley male rats were randomly divided into a control group, and a 8 Hz-90 dB, a 8 Hz-130 dB and a 16 Hz-130 dB groups. The experimental groups exposed to infrasound of 8 Hz-90 dB or 8 Hz-130 dB or 16 Hz-130 dB, for 2 hours a day, and the control group was put under sham infrasound exposure. After being exposed for 1, 7, 14, 21 and 28 days, 7 rats were randomly selected from each group and underwent SS and SP levels detection in gastric mucosa by microarrays radioimmunity method. **Results**　Compared with the control group, the SS levels of stomach significantly increased in 8 Hz-90 dB group after exposure for 14 and 21 days ($P<0.05$), whereas it did not change significantly after exposure for 1, 7 and 28 days ($P>0.05$). After exposure for 7, 14, 21 and 28 days, the SS levels of stomach in 8 Hz-130 dB group were higher than that in the control group ($P<0.01$), the peaks were at the 14th day, while there was no significant difference between two group after exposure for 1 days ($P>0.05$). The SS levels of stomach in 16 Hz-130 dB group significantly increased than that in control group after exposure for 7, 14 and 21 days ($P<0.05\sim0.01$), the peaks were at the 7th day, but a significant difference of the SS levels between two groups was not find after exposure for 1 and 28 days ($P>0.05$). The SS levels of stomach in 8 Hz-130 dB group were higher than that in 8 Hz-90 dB group after exposure for 7, 14 and 21 days ($P<0.05\sim0.01$), and than that in 16 Hz-130 dB group after exposure for 14, 21 and 28 days ($P<0.05\sim0.01$). The SP levels of stomach in 8 Hz-90 dB group and 16 Hz-130 dB group did not change significantly after the exposure to infrasound ($P>0.05$). Compared with the control group, the SP levels of stomach

作者单位:710004 西安,西安交通大学医学院第二附属医院消化内科(王进海、罗金燕、郭晓燕);第四军医大学西京医院康复理疗科(陈景藻)

significantly increased in 8 Hz-130 dB group after exposure for 14 and 21 days ($P<0.05$), whereas it did not change significantly after exposure for 1, 7 and 28 days ($P>0.05$). There was no significantly difference of the SP levels of stomach between 8 Hz-130 dB group and 8 Hz-90 dB group, and 16 Hz-130 dB ($P>0.05$). **Conclusion** Infrasound can increase SS and SP levels in gastric mucosa in rats, which were closely related to the frequency, intensity and action time of infrasound. The rats had adaptability to multi-exposure of infrasound.

【**Key words**】 Infrasound; Gastric mucosa; Somatostatin; Substance P

次声(infrasound)是一种低频机械振动波,其作用引起的生物振动不但可直接造成生物机体损伤,而且还可引发一系列机体应激反应[1]。适度的应激反应可使机体多个系统功能得到动员,以消除、减弱及适应刺激源。因此,适度的应激不仅无害,反而对机体有益。但是不适度的应激可诱发机体一个或多个系统产生病理反应,如神经精神系统(焦虑、抑郁)、心血管系统(应激性心脏病、应激性心律紊乱、高血压等)、消化系统(应激性急性胃黏膜病变、抑制胃排空、肠激动症等)及免疫系统(免疫功能低下)等。应激引发机体的变化广泛而复杂,中枢神经系统的变化是应激反应的关键,特别是神经递质的变化是应激反应的重要神经基础。现已证实,次声作为理化性应激源对脑内主要神经介质具有一定的影响作用[2,3],但关于次声对胃肠激素的影响则目前鲜见报道。本研究采用不同频率和声压级水平的次声作用于实验大鼠,观察经次声暴露不同时间后胃黏膜组织中生长抑素(somatostatin, SS)和 P 物质(substance P, SP)含量的变化,以探讨次声对胃肠生物学效应的作用机制。现将结果报道如下。

材料与方法

一、材料

1. 实验动物:共选取一级雄性 Sprague-Dawley 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。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 ~24℃,湿度控制在 50% 左右。实验期间大鼠自由摄食,给予正常日光周期照射。

2. 实验仪器及设备:本研究次声声源及检查系统采用由第四军医大学研制的次声压力舱系统和检查系统。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构成;检查系统主要包括次声传声器和次声信号数据采集分析系统。另外本研究用到的设备及试剂还包括: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生产)、三洋超低温保存箱(-70℃)(日本)、CaP-RIA16r 探头计数仪(中外合资西安利亚公司生产)、P 物质和生长抑素放免试剂盒(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)。

二、实验操作步骤

1. 次声暴露方法:将 140 只大鼠随机分成 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。各次声暴露组实验动物于每天上午 8:30 ~ 10:30 置于次声舱内,按分组时预先规定的次声频率及强度每天接受次声暴露 2 h。对照组实验动物每天于相同时间段置于次声舱内 2 h,期间无次声干预。每组分别于实验开始后第 1,7,14,21 及 28 天时各随机取出 7 只大鼠进行组织准备。

2. 组织准备:术前禁食 8 h,各组实验大鼠于最后 1 次次声作用结束后 1 h 内,选用速眠新复合制剂(0.5 ml/kg体重)进行肌肉注射麻醉,待麻醉剂生效后迅速剖腹取胃,在装有 Kerbs 液的烧瓶内清洗胃内容物,并于胃窦部取 100 mg 黏膜组织待检。

3. 组织上清液制作:将取得的 100 mg 胃黏膜组织置于 5 ml 塑料试管中,加入生理盐水 1 ml,煮沸3 min,然后取出置于玻璃研磨器中,加入 1 mol/L HAC(醋酸)0.5 ml,反复研磨至匀浆,倒入 3 ml 离心管内,于 4℃环境中静置 2 h,再加入 1 mol/L NaOH 0.5 ml,并用1 mol/L HAC 滴定,用 pH 试纸测试调节标本 pH 值至 7 左右。将滴定好的标本液体置入 4℃低温离心机中,设定离心力为1 500 g,离心 30 min 后取上清液至 EP 管中,于 -20℃冰箱内保存待检。

4. 生长抑素和 P 物质测定:严格按照试剂盒说明书要求的步骤进行,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-SP,混匀后于 4℃环境中静置 48 h。每管加入免疫分离剂 600 μl,混匀,室温下放置 15 min,于 4℃环境下离心 20 min(离心力为 1 500 g),随后弃上清液,将沉淀部分用 γ 计数仪计数,采用"四参数质量作用定律拟合"数据处理方式计算出 SS 和 SP 的浓度。

三、统计学分析

本实验所得数据以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 11.0 版软件进行数据分析,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、不同频率和强度的次声作用对胃黏膜 SS 含量的影响

由表 1 和图 1 可知,8 Hz-90 dB 次声作用 14 d 和 21 d 后胃黏膜 SS 含量较对照组明显升高($P<0.05$);作用 1 d、7 d 及 28 d 后与对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。8 Hz-130 dB 次声作用 7 d、14 d、21 d及 28 d 后胃黏膜 SS 含量均明显高于对照组($P<0.01$),其中以第 14 天时最为显著;作用 1 d 时与对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。16 Hz-130 dB 次声作用 1 d、7 d 及 14 d 后胃黏膜 SS 含量较对照组明显升高($P<0.01$ 或 0.05),其中以第 7 天时最为明显,作用 21 d 和 28 d 时与对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。8 Hz-130 dB 次声作用 7 d、14 d 及 21 d 后胃黏膜 SS 含量显著高于 8 Hz-90 dB 组($P<0.05$或 0.01), 8 Hz-130 dB 次声作用 14 d、21 d 及 28 d后胃黏膜 SS 量明显高于 16 Hz-130 dB 组($P<0.05$或 0.01)。

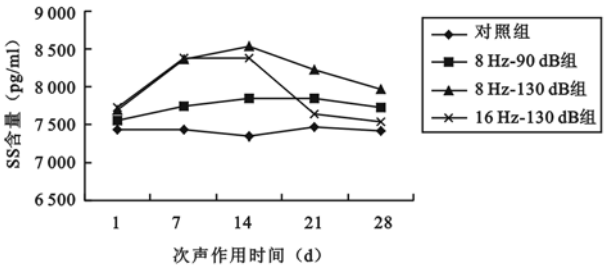

图 1　不同频率和强度的次声作用对胃黏膜 SS 含量的影响

二、不同频率和强度的次声作用对胃黏膜 SP 含量的影响

由表 2 和图 2 可知,8 Hz-90 dB 和 16 Hz-130 dB 次声作用 1 d、7 d、14 d、21 d 及 28 d 后胃黏膜 SP 含量与对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。8 Hz-130 dB 次声作用 14 d 和 21 d 后胃黏膜 SP 含量显著高于对照组($P<0.05$);作用 1 d、7 d 及 28 d 时与对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。8 Hz-130 dB次声作用 1 d、7 d、14 d、21 d 及 28 d 后胃黏膜 SP 含量与 8 Hz-90 dB 和 16 Hz-130 dB 组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。

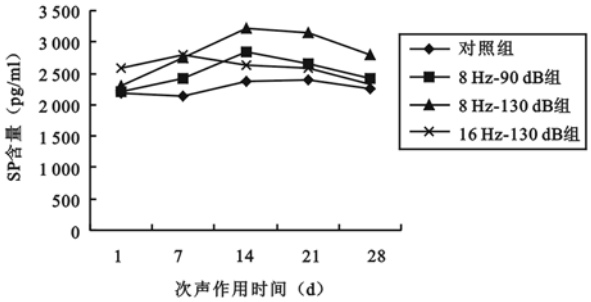

图 2　不同频率和强度的次声作用对胃黏膜 SP 含量的影响

讨　论

应激可引起机体神经内分泌系统发生变化,其中神经肽、特别是脑肠肽的变化可直接影响胃肠动力学及功能,并与某些胃肠疾病的发生及诊治密切相关。应激可抑制胃排空,刺激结肠运动功能,引起一系列临床消化系统功能障碍,包括上食管堵塞感或吞咽困难、嗳气、胃饱胀感、上腹不适或疼痛等。目前关于应激引发胃肠功能改变的病理生理机制的研究已取得显著进展,大量数据表明,促肾上腺皮质激素释放因子与应激抑制胃排空及刺激结肠运动功能的神经中枢机制有关[4,5]。

次声引起的生物共振效应不但能直接导致机体多器官结构发生改变,而且它作为公认的体外物理性刺激源还可影响交感-肾上腺髓质系统功能状态。李玲等[6]研究发现,8 Hz-130 dB 次声作用可引起大鼠颞叶皮质 5-羟色胺和 5-羟色胺受体表达减少;赵志刚等[7]研究发现,16 Hz-90 dB 次声可引起大鼠血浆肾上腺素和去甲肾上腺素升高。我们的前期系列研究也证实,

表 1　不同频率和强度的次声暴露对大鼠胃黏膜 SS 含量的影响(pg/ml, $\bar{x}\pm s$)

组　别	只数	次声暴露时间(d)				
		1	7	14	21	28
对照组	35	7 439.57 ± 226.18	7 427.43 ± 321.09	7 345.61 ± 331.56	7 458.44 ± 351.91	7 421.73 ± 350.40
8 Hz-90 dB 组	35	7 559.32 ± 341.53	7 742.81 ± 387.58[d]	7 838.46 ± 305.32[ad]	7 853.10 ± 379.68[ac]	7 727.48 ± 392.06
8 Hz-130 dB 组	35	7 692.73 ± 317.17	8 365.24 ± 392.66[b]	8 537.41 ± 356.16[b]	8 229.28 ± 375.14[b]	7 970.92 ± 313.46[b]
16 Hz-130 dB 组	35	7 728.74 ± 291.54[b]	8 384.72 ± 401.31[b]	7 663.61 ± 341.83[ad]	7 644.18 ± 275.46[d]	7 533.22 ± 236.94[c]

注:与对照组比较,[a]$P<0.05$,[b]$P<0.01$;与 8 Hz-130 dB 组比较,[c]$P<0.05$,[d]$P<0.01$.

表 2　不同频率和强度的次声暴露对大鼠胃黏膜 SP 含量的影响(pg/ml, $\bar{x}\pm s$)

组　别	只数	次声暴露时间(d)				
		1	7	14	21	28
对照组	35	2 185.36 ± 780.36	2 137.86 ± 852.41	2 364.88 ± 603.95	2 387.55 ± 561.37	2 265.34 ± 962.32
8 Hz-90 dB 组	35	2 207.82 ± 568.35	2 420.14 ± 611.17	2 844.43 ± 474.53	2 658.10 ± 722.14	2 408.15 ± 591.57
8 Hz-130 dB 组	35	2 312.33 ± 422.67	2 756.21 ± 512.70	3 227.32 ± 586.38[a]	3 145.81 ± 574.12[a]	2 796.36 ± 427.63
16 Hz-130 dB 组	35	2 587.83 ± 521.54	2 784.62 ± 633.15	2 625.69 ± 398.47	2 577.38 ± 624.05	2 332.48 ± 631.21

注:与对照组比较,[a]$P<0.05$

次声刺激可引起胃排空功能降低[8],但次声诱发胃排空功能障碍的具体机制目前尚未完全清楚,也鲜见次声对胃肠神经激素影响的报道。

本研究结果表明,8 Hz-90 dB、8 Hz-130 dB 及 16 Hz-130 dB 次声作用一定时间后均可引起胃黏膜 SS 含量升高。SS 是一种重要的脑肠肽,目前已发现它有 5 种 SS 受体亚型,SS 在中枢神经系统主要分布于下丘脑部位,在消化系统 SS 则主要分布于胃肠及胰腺内,其主要生理功能包括抑制生长激素分泌、调节胰岛功能等,是胰岛素及胰高血糖的释放抑制因子,对胃肠道功能具有普遍抑制作用,如:①抑制几乎所有的胃肠激素分泌;②抑制胃液、胃蛋白酶、内因子、胰液碳酸氢盐、胰蛋白酶、淀粉酶和胆汁的外分泌;③抑制胃肠运动,包括胃排空、小肠分节运动和胆囊收缩等[9];④减少营养物质的吸收;⑤减少肠系膜血流量,增加血流阻力。SS 分泌受胆碱能神经通路的调节,后者可抑制 SS 的分泌。次声作用引发胃黏膜 SS 含量升高的具体机制目前尚不清楚,可能与次声引起的肾上腺能神经功能亢进有关[3,7],因为肾上腺能神经功能亢进可抑制胆碱能神经功能,导致 SS 分泌增多。

本研究结果还发现,8 Hz-130 dB 次声作用 14 d 和 21 d 后胃黏膜 SP 含量明显升高。SP 是最早发现的一种 11 肽神经肽,它广泛分布于中枢神经系统、周围神经系统及其它大部分器官内。在消化道系统中,SP 神经纤维主要存在于肠壁肌和黏膜下神经丛内,其含量以十二指肠及结肠部位最为丰富。小肠黏膜部位的 SP 能引起体液和电解质分泌,同时也影响唾液腺及胰腺的分泌过程,能扩张或收缩胃肠动脉,参与消化液的过度分泌,并与感染和肠激惹疾病的血管及免疫学障碍机制有关。在神经系统中,SP 作为一种神经调质发挥着重要作用,它对平滑肌具有强烈的刺激作用,可增强胃肠蠕动、抑制胆汁分泌;高脂饮食、刺激迷走神经或胃肠神经丛均可引起血浆 SP 水平升高。次声作用引起胃窦部 SP 含量增高可能与次声诱发的生物共振刺激胃肠神经丛导致 SP 分泌量增加有关。SP 升高有助于机体消除、减弱和适应次声应激源刺激。另外,本研究结果还表明,次声对胃黏膜 SS 和 SP 含量的影响与次声刺激参数有关,如 8 Hz-130 dB 次声作用强于 8 Hz-90 dB 次声,提示在次声频率相同时,次声对胃黏膜 SS 和 SP 的影响与次声强度呈正相关;8 Hz-130 dB 次声作用强于 16 Hz-130 dB 次声,这是因为机体腹腔脏器的固有频率为 6 ~ 9 Hz[1],8 Hz 次声的频率位于腹腔脏器固有频率范围内,所以较 16 Hz 次声更容易引发生物共振作用,从而产生强烈的生物学效应。进一步研究还发现,次声作用时间与胃黏膜 SS 和 SP 的含量改变并非呈平行线性关系,实验大鼠经 8 Hz-90 dB 或 8 Hz-130 dB 次声作用 2 周、16 Hz-130 dB 次声作用 1 周后,其胃黏膜 SS 和 SP 含量均有不同程度恢复,表明实验大鼠对次声多次作用后具有一定的适应性,这与许多研究结果一致[10,11]。

综上所述,一定频率和强度的次声作用一段时间后可引起大鼠胃黏膜 SS 和 SP 含量升高,其影响程度与次声作用参数有关,实验大鼠经多次次声作用后能产生一定的适应性。SS 作为抑制性胃肠神经激素,其含量升高可抑制胃液分泌及运动功能,加重次声对胃形态及功能的损伤[8,12];SP 作为兴奋性胃肠神经激素,其含量升高可动员机体胃肠功能以消除、减弱及适应次声对胃肠组织的损伤作用。

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] Kuralesin NA. Hygienic and biomedical aspects of the effects of infrasound. Med Tr Prom Ekol,1997,10:8-14.

[3] 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.

[4] Tache Y, Monnikes K, Bonaz B, et al. Role of CRF in stress-related alteration of gastric and colonic motor function. Ann NY Acad Sci, 1993,29:233-243.

[5] Diaz-Maesa M, Molina R, Lozano MC, et al. Biological basis of posttraumatic stress disorder. Actas Esp Psiquiaart,2000,28:379-384.

[6] 李玲,谭永霞,陈景藻,等. 次声作用后大鼠颞叶皮层 5-HT、5-HTR、RyR 表达及恢复时间. 中华物理医学与康复杂志,2005,27:328-330.

[7] 赵志刚,陈景藻,张李燕. 90 分贝次声作用后大鼠血浆儿茶酚胺类物质含量的改变. 中华物理医学与康复杂志,2003,25:27-29.

[8] 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,2006,28:313-315.

[9] Krejs GJ. Physiological role of somatostatin in the digestive tract: gastric acid secretion, intestinal absorption and motility. Scand J Gastroenterol,1986,119:47-53.

[10] 谭永霞,李玲,陈景藻. 8 Hz 次声对大鼠海马和颞叶皮层 5-HTR 表达的影响. 中华物理医学与康复杂志,2004,26:595-598.

[11] 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.

[12] 王进海,罗金燕,郭晓燕,等. 次声对大鼠胃窦粘膜形态学的影响. 中华物理医学与康复杂志,2006,28:676-680.

(修回日期:2007-05-20)

(本文编辑:易　浩)