

电针的抗应激性腹泻作用及其与 5-HT 关系

王 鲁, 吴立夫

(贵州大学动物医学系, 贵阳 550025)

摘 要: 采用实验动物模型观察了外源性 5-HT 和实验性应激所致动物腹泻及电针的抗应激性腹泻作用, 并研究了应激致泻和电针抗腹泻时动物血清 5-HT 含量的变化。结果显示: 腹腔注射 5-HT 可致小鼠腹泻, 注射 5-HT 后立即电针显著地抑制了腹泻的发生 ($P < 0.05$); 约束性应激大鼠绝大多数发生腹泻, 血清 5-HT 含量较阴性对照组极显著升高 ($P < 0.01$), 电针显著降低了应激所致腹泻的发生率并显著减轻了腹泻的严重程度 ($P < 0.05$), 但对血清 5-HT 含量升高未显示出抑制作用。

关键词: 实验性应激; 腹泻; 电针; 抗腹泻作用; 5-HT

中图分类号: S854.5

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2003)03-0285-03

畜牧生产实践中, 寒冷、高温、噪音、拥挤、捕捉、混群、惊恐、长途运输、断奶等应激对动物的健康造成了各种损害, 肠功能紊乱是这类损害的一种表现形式。Yano 等人的研究已经揭示了应激和肠功能紊乱之间的联系, 而 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 则是应激导致肠功能紊乱的介质^[1]。应激时肠黏膜的嗜铬细胞和肠神经系统的 5-HT 能神经原释放 5-HT, 释放的 5-HT 激活广泛分布于胃肠道神经系统的 5-HT₃ 受体, 通过刺激肠神经丛的神经反射, 增强胃肠运动和液体分泌而致腹泻^[1-3]。

无论在人类医学还是动物医学上, 应激性腹泻都是常见的临床病症, 断奶仔猪腹泻即是动物应激性腹泻的一个典型实例。尽管对应激性腹泻的认识和研究已经历了一个多世纪, 但目前对其病因、发病机理仍不甚清楚, 对病因和发病机理认识的初浅又决定了治疗学的贫乏^[4,5]。近年来, 国外一些学者纷纷探索 5-HT₃ 受体拮抗剂用于治疗应激性腹泻的可能性^[1-3,5], 国内这方面的研究还很少见。针灸是祖国医学的宝贵遗产, 已有不少资料报道了水针疗法、激光穴位照射等对一些动物腹泻病具有良好的疗效^[6,7], 但针灸对应激性腹泻是否有效至今仍不甚清楚。本实验中采用实验动物模型观察了外源性 5-HT 和实验性应激所致动物腹泻及电针的拮抗作用, 并研究了应激性腹泻和电针抗腹泻时动物血清 5-HT 含量的变化, 以期寻求动物应激性腹

泻的有效治疗方法并初步阐明其治疗机理。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

1.1.1 试剂: (1) 567.5 nmol/L (100 μg/L) 5-HT 标准液: 称取 5-羟色胺硫酸肌酐 (瑞士进口分装) 57.25 mg (相当于 5-HT 25 mg), 用 0.01 mol/L HCl 配成 50 ml, 冰箱保存, 临用前稀释 5 000 倍; (2) 酸性正丁醇: 每升经 NaCl 饱和的正丁醇加入浓盐酸 0.85 ml; (3) 82.4 mmol/L L-半胱氨酸 (L-Cys) 溶液; (4) 正庚烷; (5) 447.3 μmol/L 邻苯二甲醛 (OPT) 溶液: 称取 OPT (瑞士 Fluka 公司) 30.0 mg, 用 10 mol/L HCl 配制成 50 ml, 冰箱保存, 临用前 10 倍稀释。

1.1.2 仪器: G6805-2 型治疗仪, 上海医疗器械高技术公司产品。RF-510LC 型荧光分光光度计, 日本 Shimadzu 公司产品。

1.1.3 实验动物: 昆明种雄性健康小鼠, 体重 30 g ± 2 g; Wistar 雄性健康大鼠, 体重 250~300 g。均为贵阳医学院实验动物中心提供。

1.2 实验方法

1.2.1 电针对外源性 5-HT 所致小鼠腹泻的抑制作用: 昆明种雄性小鼠 32 只, 随机分为阴性对照组、模型组、电针 I 组和电针 II 组, 每组各 8 只。模型组、电针 I 组和电针 II 组小鼠每只腹腔注射 0.03% 5-HT 生理盐水溶液 0.5 ml (5 mg/kg)^[2], 阴性对照组小鼠腹腔注射 0.5 ml 生理盐水。电针 I 组注射 5-HT 后立即电针刺激, 电针 II 组电针刺激后再注射 5-HT。电针组小鼠保定在自制鼠架上, 用两根不锈钢毫针分别刺入小鼠的后海穴和百会穴, 刺入深度

收稿日期: 2002-03-16

作者简介: 王 鲁 (1970-), 男, 山东茌平人, 讲师, 硕士, 从事中兽医学与实验病理学的教学与研究。

约 0.3 cm, 用 G6805-2 型治疗仪以连续波电针刺激 15 min, 刺激强度介于 30~40 mv, 波宽 0.5 ms, 频率为 3Hz(这样的刺激仅引起小鼠足趾和尾巴随着刺激脉冲发生抽动, 但不会使动物躁动不安)。阴性对照组和模型组小鼠也同样保定在鼠架上, 保定时间与电针组相同。注射 5-HT 或生理盐水后观察 3 h, 记录腹泻发生率, 并根据 Piercey 和 Ruwart 的方法^[2]对腹泻严重程度进行评分: 不腹泻(正常粪便)记 0 分, 轻度腹泻(含水量较多的软粪)记 1 分, 严重腹泻(水样粪)记 2 分。比较各组小鼠的腹泻发生率和腹泻严重程度, 观察外源性 5-HT 致小鼠腹泻和电针对这类腹泻的抑制作用。

1.2.2 电针对约束性应激所致大鼠腹泻的抑制作用: Wistar 雄性大鼠 30 只, 随机分成阴性对照组(8 只)、模型组(11 只)和电针组(11 只)。大鼠约束性应激模型系在 Ozaki 等方法^[2]的基础上适当修改而成。实验前大鼠禁食 24 h, 自由饮水。将模型组和电针组大鼠单独关进铁丝笼中使之不能活动。电针组大鼠关入铁丝笼后立即用两根毫针分别刺入后海穴和百会穴, 刺入深度约 0.5 cm, 用 G6805-2 型治疗仪以连续波电针刺激 20 min, 刺激强度介于 40~50 mv, 波宽 0.5 ms, 频率为 3 Hz。阴性对照组大鼠不作任何处理。观察 1 h, 记录各组大鼠腹泻发生率, 并根据前述方法对腹泻的严重程度进行评分。比较各组腹泻发生率和腹泻严重程度, 观察约束性应激致大鼠腹泻和电针对这类腹泻的抑制作用。

1.2.3 血清 5-HT 含量的测定: 约束性应激致大鼠腹泻和电针抗腹泻实验结束后, 各组大鼠立即颈动

脉采血, 分离血清, 参照文献^[8]方法测定血清 5-HT 含量。血清 1.0 ml, 加酸性正丁醇 9.0 ml, 置旋涡混合器上涡旋抽提 5 min 后 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 6.0 ml, 加正庚烷 6.0 ml 和 0.1 mol/L HCl 2.0 ml, 再涡旋抽提 5 min, 3 000 r/min 离心 5 min, 取下层水相 2.0 ml 加入测定管(T)。以蒸馏水代替血清, 按上述过程操作, 作为测定空白管(B₁)。再取 567.5 nmol/L 5-HT 标准液 2.0 ml 加入标准管(S), 取 0.1 mol/L HCl 2.0 ml 加入标准空白管(B₂)。向上述各管内再依次加入 82.4 mmol/L L-Cys 溶液 0.2 ml, 447.3 μmol/L OPT 溶液 3.0 ml, 充分混合后, 置 100℃水浴加热 10 min, 冰水冷却, 在 90 min 内用 RF-510LC 型荧光分光光度计以激发波长(Ex) 350 nm, 发射波长(Em) 477 nm 测定各管荧光强度(F), 并按下式计算出血清 5-HT 含量。

$$\frac{F(T) - F(B_1)}{F(S) - F(B_2)} \times \frac{10}{3} \times \frac{1.2}{1} \times 567.5 = \text{血清 5-HT (nmol/L)}$$

2 结果

2.1 电针对外源性 5-HT 所致小鼠腹泻的抑制作用 5-HT 腹腔注射可导致绝大多数小鼠(7/8)腹泻, 腹腔注射 5-HT 后立即电针能显著降低外源性 5-HT 所致腹泻的发生率并显著减轻腹泻的严重程度($P < 0.05$), 而腹腔注射 5-HT 前电针对小鼠腹泻未能发挥显著的抑制作用($P > 0.05$)(表 1)。

2.2 电针对约束性应激所致大鼠腹泻的抑制作用 约束性应激大鼠绝大多数(10/11)发生腹泻, 电针

表 1 电针对外源性 5-HT 所致小鼠腹泻的抑制作用
Table 1 Inhibitory effect of EA on exogenous 5-HT-induced diarrhea in mice

组别 Group	样本数 Sample	腹泻发生率 Incidence of diarrhea	腹泻程度评分($\bar{x} \pm SE$) Diarrhea score
阴性对照组 Negative control	8	0/8	0.00 ± 0.00
模型组 Model	8	7/8**	1.25 ± 0.25**
电针 I 组 EA I	8	3/8 [△]	0.50 ± 0.27 [△]
电针 II 组 EA II	8	5/8**	1.25 ± 0.37**

** 与阴性对照组比较, $P < 0.01$ [△]与模型组比较, $P < 0.05$

显著降低了应激大鼠的腹泻发生率并显著减轻了腹泻的严重程度($P < 0.05$)(表 2)。

2.3 大鼠应激致泻和电针抗腹泻时血清 5-HT 含量的变化 约束性应激致泻时, 大鼠血清 5-HT 含量极显著升高($P < 0.01$), 约束性应激并接受电针刺激的大鼠血清 5-HT 含量也显著升高($P < 0.05$), 两组大鼠血清 5-HT 含量无显著差异(表 2)。

3 讨论

3.1 实验结果表明, 约束性应激大鼠绝大多数发生腹泻, 且血清 5-HT 含量显著升高。此外, 腹腔注射 5-HT 也导致绝大多数小鼠腹泻。这与 Sharma 等^[1]和 Ozaki 等^[2]的报道基本一致。这些实验结果揭示了应激与肠功能紊乱之间的密切关系, 并为“5-HT 是

表 2 电针对约束性应激大鼠腹泻的抑制作用及各组大鼠血清 5-HT 含量
Table 2 Inhibitory effect of EA on restraint stress-induced diarrhea in rats and serum concentration of 5-HT in each group

组别 Group	样本数 Sample	腹泻发生率 Incidence of diarrhea	腹泻程度评分($\bar{x} \pm SE$) Diarrhea score	血清 5-HT 含量($\mu\text{mol/L}, \bar{x} \pm SE$) Serum concentration of 5-HT
阴性对照组 Negative control	8	0/8	0.00 \pm 0.00	3.07 \pm 0.29
模型组 Model	11	10/11 ^{**}	1.45 \pm 0.21 ^{**}	4.94 \pm 0.47 ^{**}
电针组 EA	11	4/11 [△]	0.73 \pm 0.30 ^{*△}	4.82 \pm 0.64 [*]

^{**} 与阴性对照组比较, $P < 0.05$, $P < 0.01$ [△]与模型组比较, $P < 0.05$

应激导致肠功能紊乱的介质”^[1]这一论断提供了进一步的依据,同时也为本项研究奠定了基础。

3.2 实验结果进一步表明,电针刺激显著降低了应激大鼠的腹泻发生率并显著减轻了腹泻的严重程度。这一结果提示,作为针灸疗法代表的电针对断奶仔猪下痢等动物应激性腹泻可能具有良好的临床治疗作用。

3.3 结果表明,电针刺激在显著抑制大鼠应激性腹泻的同时对其血清 5-HT 含量的升高并无显著影响,此外,电针对外源性 5-HT 所致小鼠腹泻也呈现出显著抑制作用。看来,电针对应激性腹泻的防治作用可能是通过对 5-HT 的拮抗实现的,至于电针对 5-HT 的拮抗作用是如何发挥的有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Miyata K, Kamato T, Nishida A, et al. Role of the serotonin₃ receptor in stress-induced defecation [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1992, 261: 297~ 303.
 [2] Ozaki A, Yoshidomi M, Sukamoto T. Effect of the 5-hy-

- droxytryptamine₃ (5-HT₃)-receptor antagonist KB-R6933 on experimental diarrhea models [J]. *Jpn J Pharmacol*, 1999, 80: 93~ 96.
 [3] Humphrey P P A, Bountra C, Clayton N, et al. The therapeutic potential of 5-HT₃ receptor antagonists in the treatment of irritable bowel syndrome [J]. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 1999, 13(SUPPL. 2): 31~ 38.
 [4] 周 吕,柯美云. 胃肠动力学[M]. 北京: 科学出版社, 1999, 736~ 749.
 [5] Audolfsson G, Bayguinov O, Yamamoto T, et al. Effects of the 5-HT₃ receptor antagonist alosetron on neuromuscular transmission in canine and human intestinal muscle [J]. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 1999, 13(SUPPL. 2): 39~ 47.
 [6] 黄宗洲. 后海穴在兽医临床上的应用及研究[J]. *中国兽医杂志*, 1992, 18(9): 39~ 40.
 [7] 于 船,张克家,陆 钢,等. 激光穴位照射对羔羊拉稀病的疗效观察[J]. *中国兽医杂志*, 1993, 9(8): 37~ 38.
 [8] 张秀明,顾仁骏,张中兴,等. 血清 5-羟色胺的快速荧光测定法[J]. *上海医学检验杂志*, 1994, 9(1): 21~ 22.

Antagonism of Electroacupuncture to Stress-induced Diarrhea and its Relation to 5-Hydroxytryptamine

WANG Lu, WU Li-fu

(Department of Veterinary Medicine, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: The experimental diarrhea induced by exogenously administered 5-hydroxytryptamine (5-HT) and restraint stress was observed, the antagonistic effect of electroacupuncture (EA) on the diarrhea was evaluated and the changes of serum concentration of 5-HT during diarrhea and EA were examined in rats. Giving mice a peritoneal injection of 5-HT led to diarrhea and EA significantly inhibited the diarrhea ($P < 0.05$). Restraint stress caused the diarrhea in the most of the rats and significantly increased serum concentration of 5-HT in the animals ($P < 0.01$). EA significantly reduced the incidence and score of the diarrhea induced by restraint stress ($P < 0.05$), but didn't show any effect on serum concentration of 5-HT in the rats subjected to restraint stress.

Key words: Experimental stress; Diarrhea; Electroacupuncture; Antidiarrheal effect; 5-HT