

GABA 对小鼠回肠平滑肌自主收缩活动的影响

田琴, 胡还忠, 马立群, 汪长东, 王晓敏, 梁华敏

田琴, 胡还忠, 马立群, 汪长东, 王晓敏, 梁华敏, 华中科技大学同济医学院生理系 湖北省武汉市 430030
田琴, 女, 1980-10-19 生, 湖北省恩施人, 土家族, 华中科技大学同济医学院生理学硕士, 主要从事消化生理方面的研究。
通讯作者: 胡还忠, 430030, 湖北省武汉市, 华中科技大学同济医学院生理系, huhuanzh@163.com
电话: 027-83630850
收稿日期: 2005-06-06 接受日期: 2005-06-13

Effect of γ -aminobutyric acid on spontaneous contraction of ileum smooth muscle in mice

Qin Tian, Huan-Zhong Hu, Li-Qun Ma, Chang-Dong Wang, Xiao-Min Wang, Hua-Min Liang

Qin Tian, Huan-Zhong Hu, Li-Qun Ma, Chang-Dong Wang, Xiao-Min Wang, Hua-Min Liang, Department of Physiology, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Correspondence to: Huan-Zhong Hu, Department of Physiology, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China. huhuanzh@163.com
Received: 2005-06-06 Accepted: 2005-06-13

Abstract

AIM: To investigate the effects of γ -aminobutyric acid (GABA) on the spontaneous contraction of mouse ileac smooth muscle and the interactions between GABA and β -receptor and nitric oxide (NO).

METHODS: The contraction changes of the isolated smooth muscle strips were recorded by tension transducer, and the change of the tension was used as the marker to evaluate the effects of GABA. The effects of ODQ, L-NNA, propranolol on the action of GABA were also analyzed.

RESULTS: GABA inhibited the spontaneous contraction of mouse ileum at the concentrations ranging from 1×10^{-6} to 1×10^{-3} mol/L. The contraction amplitudes were decreased by $(34.71 \pm 7.35)\%$ and $(22.23 \pm 4.69)\%$, respectively, when 1×10^{-6} and 1×10^{-3} mol/L GABA were used. PicROTOXIN showed no significant effect on the inhibitory actions caused by GABA. The effects of GABA on the spontaneous contraction were decreased in the presence of L-NNA or ODQ. L-Arg (5×10^{-7} mol/L) decreased the effect of GABA at the concentration of 1×10^{-6} mol/L, but not at the concentration of 1×10^{-3} mol/L. Propranolol (3×10^{-6} mol/L) reduced the effect of GABA on the con-

traction of mouse ileac smooth muscle.

CONCLUSION: GABA inhibits the spontaneous contraction of mouse ileac smooth muscle. This effect, which is influenced by the excitation of β -receptor may need the participation of cGMP and NO.

Key Words: γ -aminobutyric acid; Nitric oxide; β receptor; Smooth muscle; Ileum

Tian Q, Hu HZ, Ma LQ, Wang CD, Wang XM, Liang HM. Effect of γ -aminobutyric acid on spontaneous contraction of ileum smooth muscle in mice. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2005;13(16):1981-1984

摘要

目的: 观察 GABA 对小鼠回肠平滑肌运动功能的影响, 探讨 GABA 的作用与 β 受体、NO 之间的关系。

方法: 以离体回肠收缩张力的变化为指标, 观察 GABA 的作用, GABA_A 受体抑制剂木防己苦毒素 picROTOXIN, β 受体的阻断剂 propranolol, NOS 抑制剂 L-NNA, cGMP 合成酶的抑制剂 ODQ 对 GABA 作用的影响。

结果: GABA 抑制小鼠回肠平滑肌自主收缩活动。 1×10^{-6} 和 1×10^{-3} mol/L GABA 抑制率分别为 $34.71 \pm 7.35\%$ 和 $22.23 \pm 4.69\%$ 。picROTOXIN 没有改变 GABA 的抑制作用。L-NNA 减弱 GABA 的抑制作用, ODQ 也减弱 GABA 的抑制作用。NO 供体 L-Arg (5×10^{-7} mol/L) 使 GABA (1×10^{-6} mol/L) 的抑制效应减弱, 但不影响 GABA (1×10^{-3} mol/L) 的抑制作用。propranolol (3×10^{-6} mol/L) 减弱 GABA 的抑制效应。

结论: GABA 对小鼠回肠自主收缩有抑制作用, 这种作用可能需要 cGMP 和 NO 的参与; β 受体兴奋时对 GABA 抑制效应也有一定的影响。

关键词: GABA; NO; β 受体; 平滑肌; 回肠

田琴, 胡还忠, 马立群, 汪长东, 王晓敏, 梁华敏. GABA 对小鼠回肠平滑肌自主收缩活动的影响. 世界华人消化杂志 2005;13(16):1981-1984
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1981.asp>

0 引言

GABA 是抑制性神经递质, 对胃肠运动可能起到调节作用。对消化道平滑肌自主收缩活动的影响因动物的种类不同, 胃肠的部位不同, 其效应也不同^[1-3], 可

能因GABA作用的受体种类和相互作用的物质不同所致.但有关GABA对小鼠胃肠运动的影响报道很少^[4-5].有研究证明GABA与VIP, NO, PACAP是同存于许多动物胃肠道的中间神经元^[6-8],其中NO对大鼠、小鼠消化道平滑肌的自主收缩有明显抑制作用^[9-12].在小鼠消化道平滑肌中GABA的作用与NO之间的关系报道甚少.我们观察GABA对小鼠回肠平滑肌自主收缩活动的抑制效应;研究GABA的作用与NO, cGMP和 β 受体之间关系如下.

1 材料和方法

1.1 材料 健康成年昆明雄性小白鼠35-40 g,由同济医学院动物中心提供.适应性喂养1 wk.实验前禁食24 h,自由饮水.颈椎脱臼处死,迅速开腹,从回盲部取4-5 cm的回肠,置于950 mL/L O₂+50 mL/L CO₂饱和的Kreb's液中.

GABA, picrotoxin, L-NNA(L^ω-nitro-L-arginine), ODQ[(4, 3- α)quinoxaline-1-one]等试剂购于Sigma公司.L-Arg(L-arginine)购于中国科学院武汉分院(日本分装).Propranolol购于上海三维制药有限公司.NaCl, KCl, CaCl₂, MgSO₄, NaHCO₃, KH₂PO₄,葡萄糖均为国产分析纯试剂.ODQ用二甲亚砜配置,其他试剂用Kreb's液配置到所需的浓度.

1.2 方法 在盛有Kreb's液的平养皿中,用眼科剪清除标本上的肠系膜制成1 cm长的标本.将标本置于37 \pm 0.5 $^{\circ}$ C的恒温浴槽中,恒温浴槽内装有950 mL/L O₂+50 mL/L CO₂混合气体饱和的10 mL Kreb's液.标本一端固定于恒温浴槽底部的通气钩上,另一端连于20Gjz100型肌肉张力换能器(高碑市新航机电设备有限公司的)应变梁上,换能器与MedLab-U/4CS生物信号采集处理系统(南京美易)连接,记录和处理标本运动张力的变化.实验前给予标本0.5 g的前负荷,平衡1 h左右,15 min换液1次,使运动基本稳定(张力的基线和幅度基本不变).实验试剂用微量加样器直接加入恒温浴槽中,每次加药的容积为100 μ L,加液总量不超过浴液的5%.药物使标本出现反应后,用950 mL/L O₂+50 mL/L CO₂混合气体饱和的37 \pm 0.5 $^{\circ}$ C Kreb's液冲洗2-3次,要求基础张力基本恢复到加药前的水平后再进行下一项实验.显著不能恢复的标本弃之更换.如需加拮抗剂时,加入拮抗剂孵育15 min后再加入激动剂.

以张力变化幅度抑制百分率为统计指标.幅度抑制百分率 = (加药前收缩幅度 - 加药后的收缩幅度) \div 加药前收缩幅度 \times 100%.其中加药前的收缩幅度:加药前1 min内的平均收缩幅度(有拮抗剂时为加激动剂前1 min内的平均收缩幅度);加药后的收缩幅度:5 min

内收缩活动稳定后1 min内的平均幅度.

Kreb's液(mol/L):Na⁺137.4;K⁺5.9;Ca²⁺2.5;Mg²⁺1.2;Cl⁻134;HCO₃⁻15.5;H₂PO₄⁻1.2;Glucose 11.5.950 mL/L O₂+50 mL/L CO₂饱和;pH值7.4;T37 \pm 0.5 $^{\circ}$ C.

统计学处理 数据用mean \pm SD,用统计软件SPSS11.5进行数据处理,多组间用方差检验,组内用LSD检验.加药前后用配对 *t* 检验. *P* < 0.05 有统计学意义.

2 结果

2.1 GABA对小鼠回肠自主收缩的影响 1 \times 10⁻⁶ mol/L至1 \times 10⁻³ mol/L的GABA,加药后1 min内出现收缩幅度下降,冲洗后收缩幅度能基本恢复到加药前的水平.各浓度的GABA对小鼠回肠的自主收缩都有抑制作用(表1).在10个标本中,加入1 \times 10⁻³ mol/L GABA后有2个标本出现了收缩增强反应.

2.2 picrotoxin, L-NNA, ODQ的影响 标本经picrotoxin(3 \times 10⁻⁵ mol/L)孵育15 min后,各浓度GABA的抑制作用几乎没有改变.1 \times 10⁻⁶ mol/L GABA幅度抑制百分率(34.7 \pm 7.4)%变为(33.1 \pm 4.5)%,其差异无显著性(*P* > 0.05, *n* = 7).picrotoxin孵育标本后1 \times 10⁻³ mol/L GABA幅度抑制百分率(17.0 \pm 6.0)%,与单独同浓度的GABA幅度抑制百分率(22.2 \pm 4.7)%相比,其差异没有统计学意义.预先用NOS的抑制剂L-NNA(1 \times 10⁻⁵ mol/L)孵育标本15 min后,再加入1 \times 10⁻⁶ mol/L GABA其幅度抑制百分率比单独同浓度的GABA幅度抑制百分率下降,差别有统计学意义(*P* < 0.05, *n* = 6).用sGC抑制剂ODQ孵育标本15 min后,1 \times 10⁻⁶ mol/L GABA收缩幅度(0.34 \pm 0.05)g与未加药前自主收缩(0.35 \pm 0.05)g幅度相比,没有明显差别(*P* > 0.05, *n* = 5).与单独加入1 \times 10⁻⁶ mol/L GABA相比,其抑制百分率由(34.7 \pm 7.4)%下降到(4.8 \pm 1.3)%,二者相比差异有显著统计学意义(*P* < 0.01, *n* = 5, 图1).

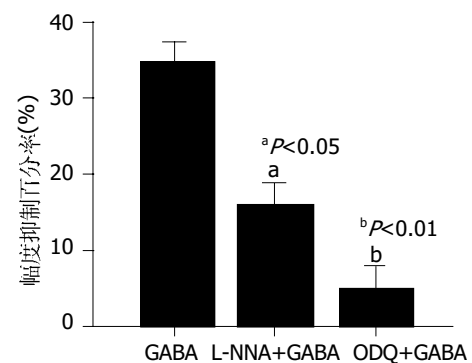


图1 L-NNA和ODQ对GABA抑制小鼠回肠自主收缩的影响.

2.3 L-Arg, propranolol的影响 用L-Arg(5 \times 10⁻⁷ mol/L)孵育标本15 min,1 \times 10⁻⁶ mol/L GABA幅度

表1 各浓度 GABA 对回肠自主收缩的影响

GABA 浓度(mol/L)	n	正常收缩幅度(a)	加药后收缩幅度(a)	幅度抑制百分率(%)
1×10^{-3}	8	0.43 ± 0.05	0.37 ± 0.05^a	15.2 ± 2.7
1×10^{-4}	10	0.41 ± 0.05	0.28 ± 0.03^a	28.5 ± 4.4
1×10^{-5}	10	0.44 ± 0.08	0.32 ± 0.07^a	26.2 ± 4.6
1×10^{-6}	10	0.43 ± 0.07	$0.28 \pm 0.06^{a,b}$	34.7 ± 7.4

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ 加药前 vs 加药后.

抑制百分率仅为 $(7.1 \pm 1.8)\%$, 与单独同浓度的 GABA 幅度抑制百分率 $(34.7 \pm 7.4)\%$ 相比, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$, $n = 6$). 1×10^{-3} mol/L GABA 在加入 L-Arg 后幅度抑制百分率与单独同浓度的 GABA 幅度抑制百分率相比, 差异没有统计学意义 ($P > 0.05$, $n = 6$, 图 2). 用 propranolol (3×10^{-6} mol/L) 孵育标本 15 min, 再加入 1×10^{-6} mol/L GABA, 其幅度抑制百分率为 $(14.6 \pm 2.6)\%$, 与单独同浓度的 GABA 幅度抑制百分率 $(34.7 \pm 7.4)\%$ 相比, 幅度抑制百分率降低, 其差别具有统计学意义 ($P \leq 0.01$, $n = 6$). 加入 propranolol 后使 1×10^{-3} mol/L GABA 的幅度抑制百分率比单独同浓度的 GABA 的幅度抑制百分率降低, 其差异也有统计学意义 ($P < 0.05$, $n = 6$, 图 3).

3 讨论

GABA 对小鼠回肠自主收缩的作用主要表现为抑制效应. 1×10^{-6} mol/L GABA 抑制率达到 $(34.7 \pm 7.4)\%$, 1×10^{-3} mol/L 的 GABA 抑制率为 $(15.2 \pm 7.2)\%$, 二者有显著差别. 1×10^{-3} mol/L 的 GABA 对部分标本有增强收缩的作用. 低浓度的 GABA 对小鼠回肠主要表现为抑制作用, 但高浓度的 GABA 抑制作用减弱, 部分标本出现增强收缩效应, 与 Bayer *et al*^[1] 报道 GABA 对大鼠结肠自主收缩运动作用结果一致, GABA 在低浓度表现为抑制大鼠结肠自主收缩运动的作用, 高浓度时对大鼠结肠平滑肌出现了双相作用, 即抑制收缩后出现增强收缩活动的效应. GABA_A 受体通过胆碱能纤维释放乙酰胆碱来增强小肠的自主收缩^[1]. GABA_B 受

体在突触前通过抑制 Ca²⁺ 通道使 ACh 的释放减少产生抑制作用; GABA_B 受体也可通过调节非肾上腺能非胆碱能神经改变消化道平滑肌的运动功能^[1, 13]. 不同浓度的 GABA 对小鼠回肠运动的双向影响可能与上述受体有关. 但用 GABA_A 受体抑制剂木防己苦毒素孵育标本后, GABA 的抑制作用有所下降, 差异没有统计学意义, 说明 GABA 抑制小鼠回肠平滑肌的效应不是通过 GABA_A 受体 Cl⁻ 通道介导的, 或者 GABA_A 受体不起主要作用, 可能是通过 GABA_B 受体而产生抑制效应. 用 NOS 的抑制剂 L-NNA (1×10^{-5} mol/L) 孵育标本后, GABA 幅度抑制百分率比单独的 GABA 下降, 差异有统计学意义, 表明 NO 参与了 GABA 对小鼠回肠运动抑制作用. 近年的研究提示, GABA 可调节中间神经元释放 NO 起作用^[4, 6-7]. 外源性 GABA 在小鼠回肠可通过增加中间神经元释放 NO, 产生抑制效应. 可溶性鸟苷酸环化酶 sGC 的抑制剂 ODQ 孵育标本后 GABA 的作用比单独同浓度的 GABA 作用下降, 差异有统计学差异. ODQ 通过抑制可溶性鸟苷酸环化酶, 可使 cGMP 减少, 也使 GABA 的作用减弱, 说明 GABA 发挥作用与 cGMP 途径有关. L-Arg (5×10^{-7} mol/L) 和 GABA (1×10^{-6} mol/L) 单独作用时均可使小鼠回肠自主收缩活动减弱, 预先用 L-Arg (5×10^{-7} mol/L) 孵育标本后, 1×10^{-6} mol/L GABA 的作用与单独的 GABA 相比, 幅度抑制百分率下降, 差异有统计学意义. L-Arg 在小鼠消化道通过产生 NO 抑制了消化道平滑肌的收缩活动^[9-12]; GABA 也可能通过 NO 起作用. L-Arg (5×10^{-7} mol/L) 孵育标本后, 降低 GABA 对小鼠回肠自主收缩抑制的作用, 可能是 L-Arg

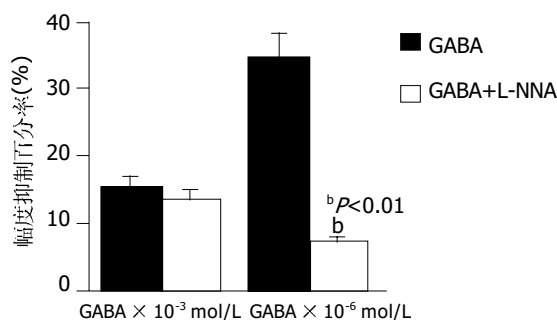


图2 L-Arg(5×10^{-7} mol/L)+GABA 与单独 GABA 对小鼠回肠自主收缩的影响.

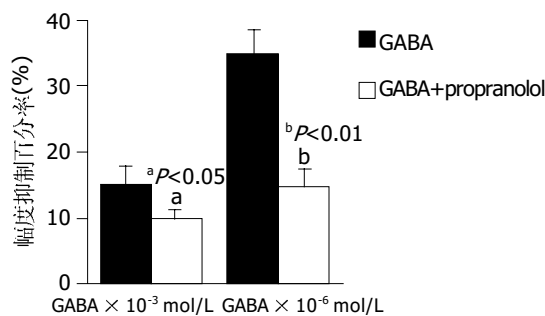


图3 propranolol(3×10^{-6})+GABA 与单独 GABA 对小鼠回肠自主收缩的影响.

和GABA对小鼠回肠平滑肌的抑制作用存在某些共同环节,如促进NO的产生、影响cGMP的浓度等,而表现出竞争性抑制现象。L-Arg(5×10^{-7} mol/L)孵育标本后, 1×10^{-3} mol/L GABA与单独同浓度的GABA相比抑制百分率下降,但无统计学意义。L-Arg对 1×10^{-3} mol/L GABA和 1×10^{-6} mol/L GABA作用不一致,提示不同浓度GABA对小鼠回肠平滑肌运动的作用存在不同的途径。预先给予 β 受体的阻断剂propranolol(3×10^{-6} mol/L)后,各个浓度GABA抑制作用减弱。其中 1×10^{-6} mol/L GABA幅度抑制百分率为(14.6 \pm 2.6)%与单独GABA有显著差别。推测在大鼠结肠中GABA受体可能存在于肾上腺素能纤维末梢^[1],提示GABA可能通过作用肾上腺素能纤维,促进去甲肾上腺素释放,或者是增加了 β 受体的反应效率而对消化道平滑肌的运动产生抑制作用。

总之,GABA对小鼠回肠平滑肌运动有抑制作用,发挥其抑制作用时主要不是通过GABA_A受体所介导的Cl⁻通道,很可能是通过GABA_B受体,或者通过改变NO浓度和cGMP浓度,甚至影响去甲肾上腺素的释放等多途径和多环节而起作用。

4 参考文献

- 1 Bayer S, Jellali A, Crenner F, Aunis D, Angel F. Functional evidence for a role of GABA receptors in modulating nerve activities of circular smooth muscle from rat colon *in vitro*. *Life Sciences* 2003;72:1481-1493
- 2 Pencheva N, Radomirpov R. Biphasic GABA-A receptor-mediated effect on the spontaneous activity of the circular layer in cat terminal ileum. *Gen Pharmac* 1993;24:955-960
- 3 Minocha A, Galligan JJ. Excitatory and inhibitory responses mediated by GABA_A and GABA_B receptors in guinea pig distal colon. *Eur J Pharmacol* 1993;230:187-193
- 4 Carai MAM, Agabiob R, Lobina C, Reali R, Vacca G, Colombo G, Gessa GL. GABA_B-receptor mediation of the inhibitory effect of γ -hydroxybutyric acid on intestinal motility in mice. *Life Sci* 2002;70:3059-3067
- 5 Williamson S, Faulkner-Jones BE, Cram DS, Furness JB, Harrison LC. Transcription and translation of two glutamate decarboxylase genes in the ileum of rat, mouse and guinea pig. *J Auton Nerv System* 1995;55:18-28
- 6 Olsson C. Distribution and effects of PACAP, VIP, nitric oxide and GABA in the gut of the African clawed frog *Xenopus laevis*. *J Experimental Biol* 2005;205:1123-1134
- 7 Krantis A, Nichols K, Staines W. Neurochemical characterization and distribution of enteric GABAergic neurons and nerve fibers in the human colon. *J Auton Nerv System* 1998;68:33-42
- 8 Krantis A, Mattar K, Glasgow I. Rat gastroduodenal motility in vivo: interaction of GABA and VIP in control of spontaneous relaxations. *Am J Physiol* 1998;275:G897-G903
- 9 王晓敏, 胡还忠, 余承高, 马立群, 王长东, 田琴. 去甲肾上腺素对一氧化氮在小鼠十二指肠肌条收缩中作用的影响机制. *世界华人消化杂志* 2005;13:358-362
- 10 汪长东, 胡还忠, 刘子龙, 马立群, 田琴, 余承高, 王晓敏. 一氧化氮抑制大鼠空肠平滑肌收缩. *胃肠病学和消化病学杂志* 2004;13:588-591
- 11 马立群, 胡还忠, 汪长东, 王晓敏, 田琴. β -肾上腺素能受体在一氧化氮抑制小鼠回肠自主收缩中的作用. *中国应用生理学杂志* 2005(待发表)
- 12 李敏, 李祖贵, 朱晓博, 冯秀玲, 胡还忠. 20月龄大鼠空肠平滑肌对Iso反应下降及机制的初步探讨. *世界华人消化杂志* 2005(待发表)
- 13 Bayer S, Crenner F, Aunis D, Angel F. Effects of GABA on circular smooth muscle spontaneous activities of rat distal colon. *Life Science* 2002;71:911-925

编辑 潘伯荣 审读 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

2005年即将召开的国际会议

United European Gastroenterology Week
October 15-20, 2005
uegw@discongress.com
www.webasistent.cz/guarant/uegw2005/

7th International Workshop on Therapeutic Endoscopy
September 10-12, 2005
alfa@alfamedical.com
www.alfamedical.com

ISGCON2005
November 11-15, 2005
isgcon2005@yahoo.co.in
isgcon2005.com

II Latvian Gastroenterology Congress
November 29, 2005
gec@stradini.lv
www.gastroenterologs.lv

APDW 2005 - Asia Pacific Digestive Week 2005
September 25-28, 2005
asiapdw@kornet.net
www.apdw2005.org

Advanced Capsule Endoscopy Users Course
August 12-13, 2005
www.asge.org/education

GI Practice Management Symposium: Solutions for a Successful Practice
August 18, 2005
www.asge.org/education

70th ACG Annual Scientific Meeting and Postgraduate Course
October 28-November 2, 2005

Advanced Capsule Endoscopy Users Course
November 18-19, 2005
www.asge.org/education

2005 CCFA National Research and Clinical Conference - 4th Annual Advances in the Inflammatory Bowel Diseases
December 1-3, 2005
c.chase@imedex.com
www.imedex.com/calendars/therapeutic.htm

2005 World Congress of Gastroenterology
September 12-14, 2005
wcog2005@congreg.nl

15th World Congress of the International Association of Surgeons and Gastroenterologists
September 7-10, 2005
iasg2005@guarant.cz
www.iasg2005.cz