

红霉素对糖尿病结肠运动障碍和四种胃肠激素的影响

林琳, 计敏, 张红杰, 林征, 赵志泉

林琳, 计敏, 张红杰, 林征, 赵志泉, 南京医科大学第一附属医院消化科
江苏省南京市 210029
林琳, 女, 1957-03-27 生, 江苏省南京市人, 汉族. 1982 年南京医科大学学士, 消化科主任医师, 副教授, 硕士生导师. 主要从事胃肠病学和胃肠动力性
疾病的基础和临床研究.
江苏省自然科学基金(社会发展)基金项目, No. BS99037
江苏省教育厅自然科学基金项目, No. 98KJD320007
项目负责人: 林琳, 210029, 江苏省南京市广州路 300 号, 南京医科大学第
一附属医院消化科. lin9100@yahoo.com.cn
电话: 025-3718836-6920 传真: 025-3673363
收稿日期: 2003-08-23 接受日期: 2003-10-18

Effects of erythromycin on colon dysmotility and neuroendocrine peptides in diabetic mellitus

Lin Lin, Min Ji, Hong-Jie Zhang, Zheng Lin, Zhi-Quan Zhao

Lin Lin, Min Ji, Hong-Jie Zhang, Zheng Lin, Zhi-Quan Zhao, Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Supported by the Natural Science Foundation of Jiangsu Province, No. BS99037; the Natural Science Foundation of the Education Department of Jiangsu Province, No. 98KJD320007.
Correspondence to: Dr. Lin Lin, Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Lu, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China.
lin9100@yahoo.com.cn
Received: 2003-08-23 Accepted: 2003-10-18

Abstract

AIM: To investigate the effects of erythromycin on contractive activity of isolated proximal colon smooth muscle and the change of somatostatin, vasoactive intestinal peptide, motilin and substance P in diabetic mellitus rats.

METHODS: Thirty male Sprague-Dawley rats were divided into three groups: the control ($n=10$), the diabetic ($n=10$) and erythromycin ($n=10$). The resting tension, the mean contractile amplitude and frequency of spontaneous changes of isolated longitudinal, circular proximal colon smooth muscle strips were measured by transducer, and somatostatin, vasoactive intestinal peptide, motilin, substance P levels in plasma and proximal colon tissue extracts were measured by radioimmunoassay.

RESULTS: In isolated proximal colon smooth muscle strips, the motility parameters were significantly lower in diabetic rats than those in control ($P<0.01$). After taking erythromycin, the colon motility parameters were significantly strengthened compared with those in diabetic rats ($P<0.01$). In diabetic rats, the plasma levels of somatostatin, vasoactive intestinal peptide and motilin were higher than those in control ($P<0.05$), while substance P level was decreased ($P<0.05$). In the proximal colon, the levels of somatostatin and vasoactive intestinal peptide were significantly lower than that in control ($P<0.01$, $P<0.05$), the

level of substance P was higher than that in the control ($P<0.05$), and the level of motilin did not differ from that in the control ($P>0.05$). After taking erythromycin, the plasma level of somatostatin was higher than that in diabetic rats ($P<0.05$). The serum glucose was decreased in diabetic rats after erythromycin treatment ($P<0.01$).

CONCLUSION: Erythromycin has direct effect on colon smooth muscle, and has little effect on neuroendocrine peptides. Colonic motility disorders in diabetes rats are related with the changes of neuroendocrine peptides' levels in plasma and colon tissue.

Lin L, Ji M, Zhang HJ, Lin Z, Zhao ZQ. Effects of erythromycin on colon dysmotility and neuroendocrine peptides in diabetic mellitus. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2004;12(3):650-653

摘要

目的: 应用红霉素对糖尿病大鼠离体结肠平滑肌自发性收缩进行干预, 探讨其在糖尿病结肠动力障碍中与平滑肌运动、血浆和结肠组织中生长抑素, 血管活性肠肽, 胃动素, P 物质等的相关性。

方法: 建立糖尿病大鼠模型, 制备糖尿病组、糖尿病红霉素治疗组和对照组大鼠离体近端结肠环行肌及纵行肌肌条, 应用张力换能器测定其静息张力、平均振幅、收缩频率等运动指标; 用放免法同批测定三组大鼠血浆和结肠组织中生长抑素, 血管活性肠肽, 胃动素及 P 物质含量。

结果: 糖尿病组结肠肌条自发性收缩多项指标均较对照组明显降低($P<0.01$); 红霉素治疗组结肠肌条收缩振幅和频率较糖尿病组明显增高($P<0.01$)。与对照组相比, 糖尿病组血浆生长抑素、血管活性肠肽、胃动素增加($P<0.05$), P 物质降低($P<0.05$), 而结肠组织中生长抑素和血管活性肠肽降低($P<0.01$, $P<0.05$), P 物质增加($P<0.05$), 胃动素无显著差异; 与糖尿病组相比, 红霉素治疗组除血浆生长抑素升高($P<0.05$)外, 余三种激素(血浆和结肠组织中)均无显著差异。红霉素治疗组较糖尿病组血糖明显下降($P<0.01$)。

结论: 红霉素通过对结肠平滑肌直接作用而改善糖尿病结肠运动障碍; 他对胃肠激素影响不大; 糖尿病结肠运动障碍与血浆和结肠组织中胃肠激素变化有关。

林琳, 计敏, 张红杰, 林征, 赵志泉. 红霉素对糖尿病结肠运动障碍和四种胃肠激素的影响. 世界华人消化杂志 2004;12(3):650-653

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/650.asp>

0 引言

糖尿病性胃肠病是糖尿病常见慢性并发症, 发生率为

30-76%^[1-2], 糖尿病患者约有 60% 便秘和 22% 腹泻, 许多无消化道症状的糖尿病患者也存在胃肠排空异常^[3]. 我们通过红霉素对糖尿病大鼠结肠平滑肌运动的干预, 分析糖尿病红霉素治疗组、糖尿病组和正常对照组大鼠结肠平滑肌运动指标, 以及血浆和结肠组织中生长抑素(somatostatin, SS), 血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP), 胃动素, P 物质含量的变化, 旨在探讨红霉素对糖尿病结肠运动障碍有何影响及其意义.

1 材料和方法

1.1 材料 ♂ Sprague-Dawley 大鼠(南京医科大学实验动物中心提供), 质量 180-220 g, 随机分为正常对照组(n=10), 糖尿病组(n=10)和糖尿病红霉素治疗组(红霉素组)(n=10). 糖尿病大鼠模型建立, 按 100 mg/kg (溶解在 0.1 mol/L 枸橼酸缓冲液中, pH4.5)给造模大鼠单剂量腹腔注射链脲佐菌素; 对照组注射等量枸橼酸缓冲液; 48-72 h 后尾静脉采血, 测全血血糖, 血糖大于或等于 16.7 mmol/L, 尿糖在 3+~4+, 且能维持 1 wk 以上者确定为糖尿病模型建立.

1.2 方法 糖尿病造模后, 红霉素组按每天 50 mg/kg 灌胃, 每周给药 6 d, 连续 4 wk; 糖尿病组给生理盐水作对照. 每周测定 1 次各组大鼠血糖、尿糖. 造模后 4 wk 将大鼠麻醉, 腹主动脉抽血 3 mL, 立即注入预冷的 0.3 mol/L EDTA.2Na 60 mL 和抑肽酶 1 500 U 中, 混匀后离心, 取上清液 -70 °C 保存备测. 抽血后剪取近端结肠(距结-盲肠连接处 0.5 cm 以下), 洗净后加生理盐水煮沸 5-10 min, 称重后加入 1 mol/L HAC 1 mL 匀浆, 再加入等体积 1 mol/L NaOH 混匀, 离心后取上清液 -70 °C 保存备测. 按常规方法取结肠纵行肌和环形肌肌条(各长 7 mm, 宽 1 mm)^[4]; 肌条固定于浴槽中, 与张力换能器相连, 持续灌流含 950 mL/L O₂+50 mL/L CO₂ 的 37 °C 恒温台氏液, 以 Doctor-95 Super Lab 微机生理实验系统记录平滑肌条自发性等长收缩活动, 测定近端结肠纵、环形肌条静息张力、平均振幅、收缩频率等指标. 放免法同批检测血浆和结肠组织中 SS, VIP, 胃动素, P 物质含量; 药盒由第二军医大学神经生物学教研室提供.

统计学处理 采用 SPSS 10.0 统计软件处理全部数据, 计量资料用 $\text{mean} \pm \text{SD}$; 组间比较用 t 检验; 显著性差异为 $P < 0.05$.

2 结果

造模前 3 组大鼠血糖无明显差异($P > 0.05$); 造模后 2 组糖尿病大鼠血糖均高于对照组($P < 0.01$), 其后红霉素组大鼠血糖逐渐下降, 4 wk 后明显低于糖尿病组($P < 0.01$), 但仍高于对照组($P < 0.01$).

2.1 结肠平滑肌肌条动力 糖尿病大鼠近端结肠环行肌(proximal-colon circular-muscle, PC)静息张力, 平均振

幅和收缩频率均比对照组明显降低($P < 0.01$); 红霉素组静息张力同糖尿病组, 收缩振幅和频率比糖尿病组明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$), 与对照组无差异($P > 0.05$). 结肠纵行肌(proximal-colon longitudinal-muscle, PL)三组静息张力无差异($P > 0.05$), 糖尿病组收缩振幅和频率明显低于对照组($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$), 红霉素组较糖尿病组明显改善($P < 0.01$), 与对照组无差异($P > 0.05$). 图 1-3.

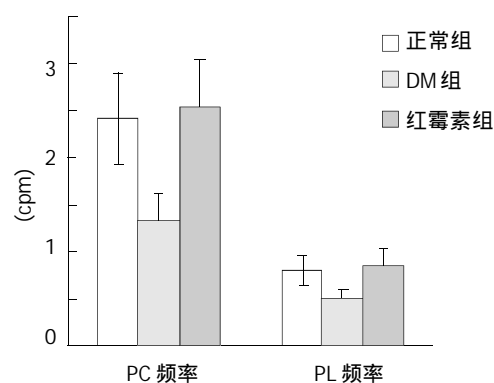


图 1 糖尿病大鼠结肠平滑肌收缩频率.

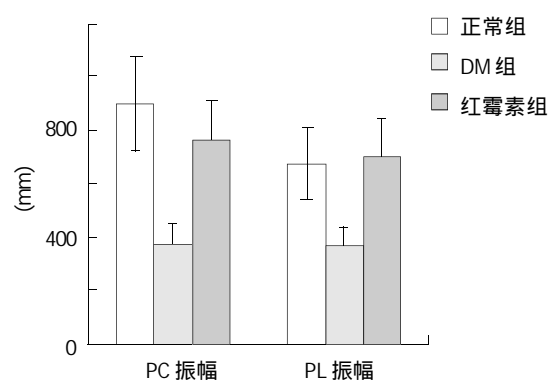


图 2 糖尿病大鼠结肠平滑肌收缩振幅.

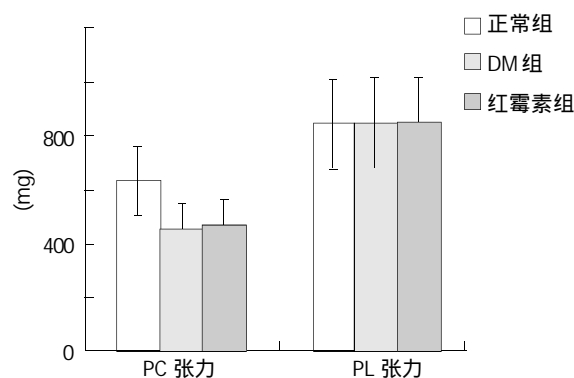


图 3 糖尿病大鼠结肠平滑肌静息张力.

2.2 血浆和结肠组织中胃肠激素 与对照组比较: 糖尿病组血浆 SS 和 VIP 明显升高($P < 0.01$, $P < 0.05$), 而结肠组织中则明显降低 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), 红霉素组血浆 SS 较糖尿病组升高($P < 0.05$), 余和糖尿病组无差异; 糖尿病组和红霉素组血浆胃动素明显升高($P < 0.05$), 肠组织中无变化($P > 0.05$); 糖尿病组和红霉素组血浆 P 物质

降低($P < 0.05$), 而肠组织中明显升高($P < 0.05$). 图 4-7.

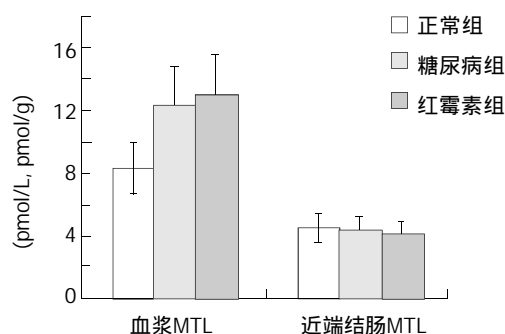


图 4 糖尿病大鼠血浆和组织中 MTL 比较.

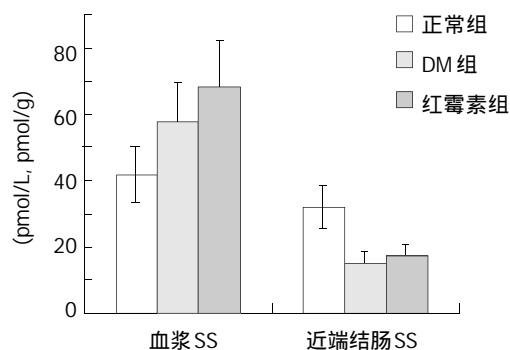


图 5 糖尿病大鼠血浆和组织中 SS 比较.

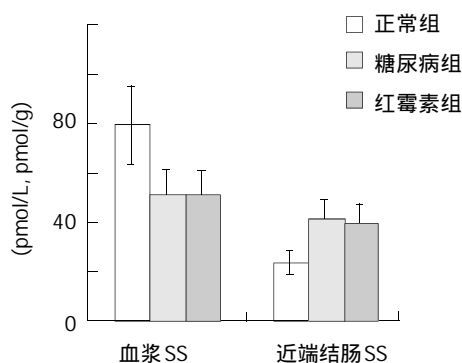


图 6 糖尿病大鼠血浆和组织中 SP 比较.

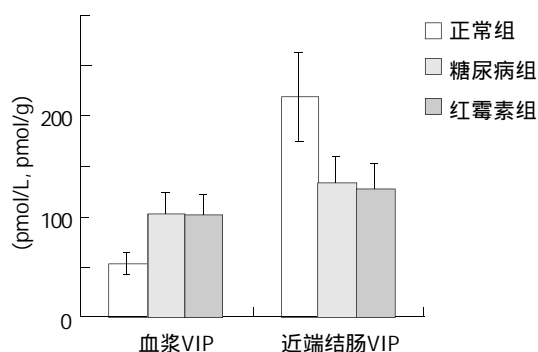


图 7 糖尿病大鼠血浆和组织中 VIP 比较.

3 讨论

近年研究显示糖尿病胃肠病发病率高达 30-76% 左右, 不仅影响患者生活质量, 而且妨碍降糖药物吸收, 干扰治疗^[1-2]. 糖尿病胃肠病的机制尚不完全清楚, 可能与

慢性神经病变、高血糖及胃肠激素分泌异常等有关^[5]. 糖尿病结肠动力障碍也是糖尿病常见并发症, 其中便秘最为常见, 约占 60%, 表现为结肠张力和收缩力下降, 运动缓慢, 排空延迟, 胃结肠反射消失, 进餐后糖尿病患者结肠电和结肠动力反应迟钝^[4]. 红霉素是大环内酯类抗生素, 研究表明红霉素及其衍生物是胃动素受体激动剂, 红霉素分子电荷及空间结构与胃动素完全相同, 他直接与平滑肌细胞膜胃动素受体结合后, 阻断细胞外钙离子内流, 同时细胞内钙离子外流增加, 因而钙离子可能介导了红霉素结合胃动素受体后所产生的促动力效应^[6]; 胆碱能神经通路机制也介导了红霉素的促动力作用. 胃动素主要作用于胃及十二指肠, 而红霉素则表现为全胃肠道促动力作用^[7-8]. 他的这一作用呈量效关系, 小剂量诱发消化间期移行性复合运动, 大剂量使胃肠平滑肌强烈收缩, 引起恶心、呕吐、腹痛等^[9]. 我们发现糖尿病组 PC 静息张力、收缩振幅和频率, 以及 PL 收缩振幅和频率均较对照组明显降低, 表明糖尿病大鼠存在结肠运动障碍. 红霉素组收缩振幅和频率均比糖尿病组明显增加, 提示红霉素对糖尿病结肠运动障碍具有改善作用, 临床也证实红霉素对结肠粪便传输有推进作用^[10-11]. 文献报道红霉素治疗糖尿病患者后, 可促进血糖恢复^[12], 本实验结果红霉素组大鼠血糖明显低于糖尿病组.

SS 除在神经系统分布(25%)外, 在胃肠道分布占 60-70%^[13], 是广泛抑制胃肠运动的脑肠肽, 他与平滑肌 SS 受体结合, 抑制乙酰胆碱释放, 或作为肠神经系统神经递质参与胃肠下行抑制性运动反射, 抑制平滑肌收缩^[14]. 本实验结果糖尿病鼠血浆 SS 明显升高, 与文献^[15]报道糖尿病患者结果一致, 史雪川 et al^[16]研究小儿腹泻患者血 SS 与胃肠动力关系发现, 胃排空与血浆 SS 水平呈负相关, 也说明 SS 对胃肠运动有抑制作用. 本研究显示糖尿病结肠组织 SS 含量降低; 红霉素组血浆 SS 较糖尿病组升高, 而肠组织 SS 与糖尿病组无差异, 可能提示 SS 通过内分泌影响结肠平滑肌运动, 或通过 VIP 释放途径介导 SS 对结肠下行性运动的抑制^[17], 因 SS 释放受多因素的影响, 机制尚待进一步研究. VIP 主要由肠神经元释放, 在中枢神经系统也大量存在, 是重要的脑肠肽; VIP 是抑制胃肠运动的主要神经递质之一, 松弛胃肠平滑肌; 此外, VIP 具有促进分泌和吸收功能, 可促进肠道水和电解质分泌^[18-19]. 本实验中糖尿病鼠血浆 VIP 升高, 与文献^[20]报道一致, 推测其主要以内分泌方式调节结肠运动; 肠组织 VIP 明显降低, 可能局部 VIP 浓度降低使结肠过度节段性蠕动, 而有效的推进性运动减弱, 或如同慢传输型便秘患者, 可能存在不同肠段 VIP 的分布差异^[21-23]; 红霉素组血浆及结肠 VIP 都与糖尿病组无差异, 是否提示红霉素影响结肠运动的作用与 VIP 无相关性. P 物质作为一种重要的胃肠肽广泛分布于肠神经系统和整个胃肠道, 既可以激素的形式亦可作为神经递质参与胃肠运动的

调控^[24];对胃肠道主要起兴奋性神经递质作用,表现为胃肠纵行肌和环行肌的双重收缩效应,包括直接的短时间作用和紧随的由胆碱能?直接作用于全结肠肠肌,并激活 NO 依赖的抑制性神经通路,而非直接作用于抑制性神经通路^[25].本实验中糖尿病鼠血浆 P 物质降低,国内学者对糖尿病胃肠病变患者血浆 P 物质的研究也提示其含量减低,说明该病患者体内 P 物质缺乏,而抑制了胃肠道免疫调节,出现一系列胃肠道症状^[26];本实验糖尿病结肠 P 物质增高,与血浆反应不一致,肠组织 P 物质与糖尿病结肠运动障碍的关系尚不肯定;红霉素组血浆和肠组织 P 物质与糖尿病鼠无差异,推测红霉素治疗作用与 P 物质无明显相关性.胃动素是一个含 22 个氨基酸残基的脑肠肽,其细胞主要分布于十二指肠和近端空肠黏膜内,小量存在于胃底、胃窦、垂体等;他对胃底、胃窦及奥迪括约肌有兴奋作用,促进胃肠排空,协调胃十二指肠运动^[27].本实验中糖尿病鼠血浆胃动素异常升高,与文献^[28]报道一致,国内学者对糖尿病胃肠病变患者血浆胃动素的研究发现其水平高于单纯糖尿病组,并显著高于正常人,认为胃动素升高与糖尿病胃肠动力异常有关;本实验糖尿病结肠胃动素无明显改变,可能与胃动素通过内分泌方式影响胃肠运动有关.胃动素作用机制尚不清楚,可能与糖尿病高血糖减少了胃肠激素分泌抑制,使胃动素升高,或糖尿病血管病变致迷走神经张力升高,刺激胃动素分泌^[26],他对糖尿病结肠运动影响有待进一步研究;红霉素组血浆及结肠胃动素变化与糖尿病组无差异,文献^[9]报道静脉注射红霉素不引起血浆胃动素增加,提示红霉素引起的胃肠收缩可能与胃动素释放无关.但也有报道用红霉素后血浆胃动素明显增高^[29].

文献报道糖尿病大鼠 70% 可出现胃肠病变,主要表现为胃轻瘫、便秘或腹泻,并与糖尿病患者的胃肠病变基本一致^[30].我们发现糖尿病大鼠血浆和结肠组织中 4 种胃肠激素有明显变化,且与结肠运动异常有关;红霉素对糖尿病结肠平滑肌运动有直接促动力作用,并能使血糖下降,但与 4 种胃肠激素的相关性尚不明确.

4 参考文献

- 1 刘剑峰,韩翠华,梁延杰,胡家露,张忠兵.糖尿病性胃肠病患者血浆胃动素的水平及临床意义.北京医学 2000;22:55
- 2 刘云,缪珩.糖尿病患者 26 例胃肠激素测定及其临床意义.南京医科大学学报 2000;20:495-496
- 3 周吕,柯美云.胃肠动力学 - 基础与临床.第 1 版.北京:科学出版社,1999:293-295
- 4 鲁素彩,田自力,言红健,李瑞芬,魏双灵,郭雅卿,崔克勤,程增新.糖尿病患者胃肠通过时间及其影响因素.世界华人消化杂志 2000;8:580-582
- 5 陈波,王雁.糖尿病性胃肠动力障碍.中国实验临床免疫学杂志 1999;11:61-63
- 6 Lu G, Sarr MG, Szurszewski JH. Effect of motilin and Erythromycin on calcium-activated potassium channels in rabbit

- colonic myocytes. *Gastroenterology* 1998;114:748-754
- 7 Parkman HP, Pagano AP, Vozzelli MA, Ryan JP. Gastrokinetic effects of erythromycin: myogenic and neurogenic mechanisms of action in rabbit stomach. *Am J Physiol* 1995;269:G418-426
- 8 Shiba Y, Mizumoto A, Inatomi N, Haga N, Yamamoto O, Itoh Z. Stimulatory mechanism of EM523-induced contractions in postprandial stomach of conscious dogs. *Gastroenterology* 1995;109:1513-1521
- 9 杨春敏,张秀荣,毛高平,张映辉,曹传平,步晓华.红霉素对狗消化间期和餐后胃肠运动的影响及机制探讨.中国药理学通报 2001;17:186-190
- 10 朱金照.促胃肠动力药物的研究现状.世界华人消化杂志 2001;9:1440-1444
- 11 Moussa F, Alaswad B, Garcia J. Erythromycin eye ointment: effect on gastrointestinal motility. *Am J Gastroenterol* 2000;95:826
- 12 Ueno N, Inui A, Asakawa A, Tani S, Komatsu Y, Itoh Z, Kasuga M. Erythromycin improves glycaemic control in patients with Type II diabetes mellitus. *Diabetologia* 2000;43: 411-415
- 13 张芳林,张闾珍.生长抑素与糖尿病.国外医学内分泌学分册 2001;21:1-3
- 14 周吕,柯美云.胃肠动力学 - 基础与临床.第一版.北京:科学出版社,1999:144-146
- 15 时宏珍,王自正,杜同信,刘家琴,魏敬,齐绍康.生长抑素与糖尿病关系初步探讨.中华核医学杂志 1996;16:113-115
- 16 史雪川,朱文平,敬宗玉,黄华,郑庆雄.小儿腹泻病血胃泌素、胃动素和生长抑素含量变化与胃肠运动功能的关系.中国儿童保健杂志 2002;10:104-106
- 17 Grider JR, Arimura A, Makhlof GM. Role of somatostatin neurons in intestinal peristalsis: Facilitatory interneurons in descending pathways. *Am J Physiol* 1987;253(4 Pt1):G434-438
- 18 周吕,柯美云.胃肠动力学 - 基础与临床.第一版.北京:科学出版社,1999:137-139
- 19 Evangelista S. Involvement of tachykinin in intestinal inflammation. *Curr Pharm Des* 2001;7:19-30
- 20 李志芳,孙大裕,陆玮.糖尿病患者胃肠运动功能障碍的胃肠动力学与胃肠激素研究.中华消化杂志 1997;17:248
- 21 Sjolund K, Fasth S, Ekman R, Hulten L, Jibrn H, Nordgren S, Sundler F. Neuropeptides in idiopathic constipation (slow transit constipation). *Neurogastroenterol Motil* 1997;9:143-150
- 22 Milner P, Crowe R, Kamm MA, Lennard-Jones JE, Burnstock G. Vasoactive intestinal polypeptide levels in sigmoid colon in idiopathic constipation and diverticular disease. *Gastroenterology* 1990;99:666-675
- 23 Gao F, Zhang SB, Zhang LY, Chen L. An immunohistochemical study of colonic vasoactive intestinal peptide, substance P and S-100 protein in slow transit constipation. *Xin Xiaohuabingxue Zazhi* 1997;5:141-143
- 24 Tao K, Chen B, Li ZY, Hu DH, Wang BT. Correlation of Sub P positive nerves and vascular permeability in jejuna of rats in early stage deep partial-thickness skin burns. *Disi Junyi Daxue Xuebao* 1999;20:412-415
- 25 Kunt T, Forst T, Schmidt S, Pfutzner A, Schneider S, Harzer O, Lobig M, Engelbach M, Goitom K, Pohlmann T, Beyer J. Serum levels of substance P are decreased in patients with type I diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2000;108: 164-167
- 26 吴波,郑长青,林连捷,周卓.糖尿病性胃肠病变患者血浆 P 物质和胃动素的水平及意义.世界华人消化杂志 2003;11:367-368
- 27 任平,黄熙,张莉,王丽丽,李月彩,陈建宗.脾虚大鼠 IMC - 胃肠运动 Mot 间的关系.世界华人消化杂志 2000;8:516-519
- 28 张彤彦,袁申元,王雁,李红兵,丁燕,陈波,万小平.西沙比利对糖尿病胃轻瘫患者胃动素与消化间期移行性复合运动的影响.北京医学 2000;22:247
- 29 黄瑛,邵肖梅,曾纪骅,赵瑞芳,李志英,袁红.新生儿喂养困难与红霉素促胃肠动力的研究.中华儿科杂志 2000;38:696-698
- 30 Ordog T, Takayama T, Cheung WK, Ward SM, Sanders KM. Remodeling of networks of interstitial cells of Cajal in a murine model of diabetic gastroparesis. *Diabetes* 2000;49:1731-1739