

# 精氨酸加压素参与电针对大鼠应激性胃黏膜损伤的保护作用

黄碧兰, 王秋桂, 余良主, 秦灵芝

## ■背景资料

精氨酸加压素 (AVP)是由下丘脑视上核和室旁核 (PVN)合成和分泌的神经内分泌激素。免疫细胞化学表明, 孤束核 (NTS)与PVN有双向的纤维联系, 他是PVN内AVP神经元直接投射的主要部位之一, 含有丰富的AVP受体。AVP参与了心血管、痛觉和应激反应的调节, 但NTS内AVP是否参与电针抗应激性胃黏膜损伤过程尚未见报道。

黄碧兰, 余良主, 咸宁学院医学院生理学教研室 湖北省咸宁市 437100  
王秋桂, 咸宁学院医学院组织胚胎学教研室 湖北省咸宁市 437100  
秦灵芝, 咸宁学院医学院生物化学教研室 湖北省咸宁市 437100  
院科研基金资助项目, No. KY0539  
通讯作者: 黄碧兰, 437100, 湖北省咸宁市, 咸宁学院医学院生理教研室. huangbilan@etang.com  
电话: 0715-8175615  
收稿日期: 2006-05-12 接受日期: 2006-05-29

## Arginine vasopressin involves in protective effect of electroacupuncture on stress-induced gastric mucosal lesion in rats

Bi-Lan Huang, Qiu-Gui Wang, Liang-Zhu Yu, Ling-Zhi Qin

Bi-Lan Huang, Liang-Zhu Yu, Department of Physiology, Xianning Medical College, Xianning 437100, Hubei Province, China  
Qiu-Gui Wang, Department of Histology and Embryology, Xianning Medical College Xianning 437100, Hubei Province, China  
Ling-Zhi Qin, Department of Biochemistry, Xianning Medical College, Xianning 437100, Hubei Province, China  
Supported by the Science and Technology Foundation of Xianning Medical College, No. KY0539  
Correspondence to: Bi-Lan Huang, Department of Physiology, Xianning Medical College, Xianning 437100, Hubei Province, China. huangbilan@etang.com  
Received: 2006-05-12 Accepted: 2006-05-29

## Abstract

**AIM:** To explore whether the arginine vasopressin (AVP) involves in the protective effect of electroacupuncture (EA) on the stress-induced gastric mucosal lesion in rats.

**METHODS:** Ninety-eight male Sprague Dawley rats were randomly divided into normal saline group, ulcer model group, EA group, and AVP groups (injected with 100, 200, 300 ng AVP, respectively, into nucleus tractus solitarius), and AVP- $V_1$  receptor antagonist group. The model of gastric ulcer was established using cold-restraint methods. The changes of gastric mucosal blood

flow (GMBF), ulcer index (UI) and acidity of gastric fluid were detected in all the rats.

**RESULTS:** In comparison with those in the model group, the UI and acidity of gastric cancer were significantly decreased in the EA group ( $t = 7.5201, P < 0.01; t = 4.2090, P < 0.01$ ), while the GMBF was markedly increased ( $t = 2.9606, P < 0.05$ ). As compared with those in the normal saline group, the UI and acidity of gastric fluid were significantly decreased in AVP groups (UI:  $t = 2.2718, t = 4.9082, t = 6.0413, P < 0.05-0.01$ ; acidity:  $t = 3.0526, t = 3.8565, t = 5.6251, P < 0.05-0.01$ ), while the GMBF was markedly increased ( $t = 2.6845, t = 3.8269, t = 4.8795, P < 0.05-0.01$ ), which had dose-dependent correlations ( $r = 0.9978, r = 0.9980, r = 0.9829, P < 0.05$ ). However, as compared with the normal saline group, AVP- $V_1$  receptor antagonist group showed dramatic increases in the UI and acidity of gastric fluid ( $t = 5.6815, P < 0.01; t = 2.2046, P < 0.05$ ), but a decrease in GMBF ( $t = 2.3750, P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** AVP in the nucleus tractus solitarius involves in the protective effects of EA on the stress-induced gastric mucosal lesion in rats.

**Key Words:** Arginine vasopressin; Nucleus tractus solitarius; Electroacupuncture; Stress-induced gastric ulcer

Huang BL, Wang QG, Yu LZ, Qin LZ. Arginine vasopressin involves in protective effect of electroacupuncture on stress-induced gastric mucosal lesion in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(20):2014-2017

## 摘要

**目的:** 探讨精氨酸加压素(AVP)参与电针(EA)对应激性大鼠胃黏膜损伤保护作用及机制。

**方法:** 健康SD大鼠98只, 随机分为模型组、电针组、生理盐水对照组、AVP 100 ng组、AVP 200 ng组、AVP 300 ng组和AVP- $V_1$ 受体阻断剂组。采用束缚冷应激胃黏膜损伤大鼠模型, 观察孤束核微量注射AVP, AVP- $V_1$ 受

体阻断剂, 大鼠胃黏膜血流量(GMBF)、溃疡指数(UI)、胃液酸度的变化。

**结果:** 与模型组比较, 电针组大鼠UI减少( $t = 7.5201, P < 0.01$ ), GMBF(mv)增加( $t = 2.9606, P < 0.05$ ), 胃液酸度降低( $t = 4.2090, P < 0.01$ )。AVP 100, 200, 300 ng组分别与生理盐水对照组比较, UI明显减少( $t = 2.2718, t = 4.9082, t = 6.0413; P < 0.05-0.01$ ), GMBF明显增加( $t = 2.6845, t = 3.8269, t = 4.8795; P < 0.05-P < 0.01$ ), 胃液酸度明显降低( $t = 3.0526, t = 3.8565, t = 5.6251; P < 0.05-P < 0.01$ ), 并且表现明显的剂量-效应依赖关系( $r = 0.9978, r = 0.9980, r = 0.9829; P < 0.05$ )。AVP- $V_1$ 受体阻断剂组与生理盐水对照组比较UI增大( $t = 5.6815, P < 0.01$ ), GMBF减少( $t = 2.3750, P < 0.05$ ), 胃液酸度增高( $t = 2.2046, P < 0.05$ )。

**结论:** 孤束核内AVP参与了电针对大鼠应激性胃黏膜损伤保护作用过程。

**关键词:** 精氨酸加压素; 孤束核; 应激性胃溃疡; 电针

黄碧兰, 王秋桂, 余良主, 奏灵芝. 精氨酸加压素参与电针对大鼠应激性胃黏膜损伤的保护作用. 世界华人消化杂志 2006;14(20):2014-2017

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/2014.asp>

## 0 引言

应激性溃疡(stress ulcer, SU)是临床危重疾病的常见的严重并发症。电针足三里穴对胃黏膜损伤不仅有治疗作用, 还有显著的预防作用<sup>[1-2]</sup>, 但确切机制不完全清楚。孤束核(nucleus tractus solitarius, NTS)是脑干内接受内脏初级感觉传入信息的重要核团, 与脑内很多核团和区域有密切的纤维联系, 并参与呼吸、血压、胃肠道等活动的调节<sup>[3]</sup>。精氨酸加压素(arginine vasopressin, AVP)是脑内的重要神经内分泌激素, 近年来他在中枢的作用受到人们的关注。有文献报道, NTS内注入AVP能减轻大鼠胃缺血一再灌注的损伤; 损毁双侧NTS或NTS内给予AVP受体阻断剂均能取消电刺激室旁核对胃缺血一再灌注的保护作用<sup>[4]</sup>。我们曾观察到, 电损毁NTS后, 电针足三里穴对大鼠应激性胃黏膜损伤的保护作用减弱, 证明了NTS参与了电针抗应激性胃黏膜损伤过程<sup>[5]</sup>。但这一作用是否与AVP有关? 为此我们通过NTS注射AVP和AVP- $V_1$ 受体阻断剂(1-deaminopenicillamine, 2-0-methyl-tyrosine-AVP), 以探讨AVP参与电针对大鼠应激性胃黏

膜损伤保护作用及机制。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康成年♂SD大鼠98只, 体质量230 ± 20 g, 由本院实验动物中心提供。动物随机分为模型组、电针组、生理盐水对照组、AVP 100 ng组、AVP 200 ng组、AVP 300 ng组和AVP- $V_1$ 受体阻断剂组。每组14只, 7只用于胃液酸度和UI的测定, 7只用于GMBF的测定。

**1.2 方法** 大鼠用戊巴比妥钠(30 mg/kg, ip)麻醉, 参照Paxinos *et al*<sup>[6]</sup>脑图谱, 经脑立体定位仪向双侧NTS(坐标: AP13 mm, R或L0.6-0.8 mm, H7.7-7.8 mm)埋置外径0.7 mm不锈钢套管, 然后用牙托粉固定于颅骨上, 以备给药用。套管插入术后7 d, 将外径0.3 mm的注射管插入套管以1 μL / 2 min的匀速缓慢注入药液或NS, 注射溶液体积为0.5 μL(AVP100, 200, 300 ng, AVP- $V_1$ 受体阻断剂200 ng)。注射完毕后30 min再电针。AVP和AVP- $V_1$ 受体阻断剂均为Sigma公司产品, 实验时均用生理盐水配制。LDF-3型激光多普勒血流计, 南开大学电子仪器厂研制。脑立体定位仪(DW-5型), 成都泰盟科技有限公司。实验后, 在注药部位注射20 g/L溴胺天蓝0.2 μL, 动物处死后取脑固定于40 g/L的甲醛溶液中, 然后作脑切片以确定注射点部位, 定位不准确的实验数据不列入统计范围。将大鼠固定于特制圆筒内, 双后肢充分暴露, 选取双侧足三里穴, 1寸毫针刺入, 用双频针麻治疗仪给予刺激。电针频率20 Hz, 强度以大鼠下肢轻微抖动为度, 连续电针30 min, 再应激造模。大鼠禁食24 h, 禁水2 h, 乙醚轻度麻醉后, 四肢束缚于木板上, 放入4℃冰箱应激3 h取出。将大鼠处死剖腹取胃, 收集胃液后, 将胃置于40 g/L甲醛溶液固定。参照Guth *et al*<sup>[7]</sup>计算溃疡指数: 溃疡面的长度小于1 mm记1分, 1-2 mm记2分, 2-3 mm记3分, 3-4 mm记4分, 大于4 mm的将其分割为若干段记分, 溃疡宽度大于1 mm则分值×2, 全胃累积得分, 即为该大鼠的胃黏膜溃疡指数。溃疡抑制率 = 对照组溃疡指数-给药组溃疡指数/对照组溃疡指数×100%。

**1.2.1 GMBF测量** 大鼠戊巴比妥钠麻醉后, 开腹暴露并固定胃部, 在无血管区作0.5 cm横切口, 插入LDF-3型激光多普勒血流仪探头, 轻轻垂直接触胃黏膜表面, 待指针稳定后读数(mv)。每只大鼠均测定胃的相同部位, 在胃窦、胃体大小弯取4点测定, 每只测1 min, 取其均值, 以多普勒信号

## ■研究前沿

应激性胃黏膜损伤是临床危重疾病常见的严重并发症, 针灸对其有较好的预防和治疗作用。对针灸防治胃黏膜损伤的作用机理探讨, 尤其是中枢神经递质、激素在电针中的作用, 一直是广大针灸临床和基础研究工作者关注的重点。

## ■创新盘点

本次研究采用了核团微量注射方法,探索了孤束核内AVP在电针抗应激性胃黏膜损伤中的作用,证实了AVP参与了孤束核对电针抗应激性胃黏膜损伤的调控作用

表 1 大鼠胃黏膜UI、GMBF、胃液酸度的变化 (mean ± SD)

分组	<i>n</i>	UI (分)	溃疡抑制率 (%)	<i>n</i>	GMBF (mv)	胃液酸度 (mmol/L)
模型组	7	40.1 ± 4.3		14	159.3 ± 36.7	58.3 ± 6.3
电针组	7	23.6 ± 3.9 <sup>b</sup>	41.1	14	216.5 ± 35.6 <sup>a</sup>	45.1 ± 5.4 <sup>b</sup>
生理盐水对照	7	23.1 ± 4.1	42.3	14	214.1 ± 40.1	46.2 ± 6.1
100 ngAVP	7	18.3 ± 3.8 <sup>c</sup>	54.3	14	271.2 ± 39.5 <sup>c</sup>	35.4 ± 7.1 <sup>c</sup>
200 ngAVP	7	13.1 ± 3.5 <sup>d</sup>	67.3	14	294.1 ± 38.1 <sup>d</sup>	33.1 ± 6.6 <sup>d</sup>
300 ngAVP	7	9.1 ± 3.0 <sup>d</sup>	77.3	14	312.5 ± 35.2 <sup>d</sup>	28.6 ± 5.6 <sup>d</sup>
AVP-V <sub>1</sub> 受体阻断剂	7	35.4 ± 4.0 <sup>d</sup>		14	168.5 ± 31.2 <sup>c</sup>	53.1 ± 5.2 <sup>c</sup>

<sup>a</sup>*P*<0.05, <sup>b</sup>*P*<0.01 vs 模型组; <sup>c</sup>*P*<0.05, <sup>d</sup>*P*<0.01 vs 生理盐水对照组。

电压值(mv)表示胃黏膜血流量。

1.2.2 胃液酸度的测定 将胃液收集于刻度离心管,以1500 r/min离心10 min,取上清胃液1 mL,加蒸馏水2 mL,以1 g/L酚肽作为指示剂,0.01 mol/L的NaOH溶液进行滴定。胃液的酸度计算:酸度(mmol) = 0.01 mol/L NaOH(mL) × 0.01 × 1000 × 胃液稀释倍数。

**统计学处理** 各组数据均以均数 ± 标准差 (mean ± SD)表示,两组间的显著性差异用*t*检验进行统计学处理。AVP剂量与效应之间的相关性用相关系数(*γ*)作为指标,并作相关系数的显著性检验。

## 2 结果

2.1 大鼠应激性胃黏膜损伤 模型组胃黏膜充血水肿,出现点状和条状出血点和溃疡,尤以胃窦部为主,GMBF减少,胃液酸度增加。电针组大鼠胃黏膜UI降低,GMBF增加、胃液酸度降低,与模型组比较有显著性差异(*P*<0.05-*P*<0.01)。AVP100, 200, 300 ng组分别与生理盐水对照组比较,胃黏膜UI,胃液酸度明显降低,GMBF明显增加(*P*<0.05-*P*<0.01),并且两者间表现明显的剂量-效应关系(*r* = 0.9978, *r* = 0.9980, *r* = 0.9829, *P*<0.05,表1)。

2.2 大鼠应激性胃黏膜损伤 AVP-V<sub>1</sub>受体阻断剂组大鼠胃黏膜UI、胃液酸度明显升高,GMBF明显减少,与生理盐水对照组比较有显著性差异(*P*<0.05-*P*<0.01,表1)。

## 3 讨论

SU是一种常见的临床并发症,GMBF减少和高酸是最重要的病理生理过程。近年来发现<sup>[8]</sup>,针刺对胃肠运动、分泌及消化吸收功能均有调控作用,电针足三里对损伤的胃黏膜具有保护作用。

血管加压素(vasopressin, VP)为一个含个氨

基酸的环状神经内分泌多肽,人VP的第8位氨基酸为精氨酸,故又称为精氨酸加压素(arginine-vasopressin, AVP)。AVP是由下丘脑视上核和室旁核(PVN)合成和分泌的神经内分泌激素,从下丘脑巨细胞神经元的轴突终端释放,储存于垂体后叶。他既是血管收缩素又是抗利尿激素。AVP与AVP受体(VPR)结合发挥作用。VPR属于G蛋白耦联受体,有7个疏水跨膜区。根据第二信使的不同,可将其分为V<sub>1</sub>aR, V<sub>1</sub>bR和V<sub>2</sub>R。V<sub>1</sub>aR, V<sub>1</sub>bR耦联于磷脂酰肌醇信号传递系统,以Ca<sup>2+</sup>为第二信使;V<sub>2</sub>R耦联于腺苷酸环化酶信号传递系统,以cAMP为第二信使。中枢神经系统中以V<sub>1</sub>R为主,尚未发现V<sub>2</sub>R<sup>[9-11]</sup>。近年来AVP与应激关系日益受到重视。已有研究表明<sup>[12]</sup>,疼痛、情绪反应、外科手术及某些药物(如吗啡、巴比妥等)都是AVP释放的强刺激条件。在这些因素刺激下,血中AVP浓度可达100-500 ng/L。

孤束核是脑干内接受内脏初级感觉传入信息的重要核团,并与中枢其他部位存在复杂的结构和功能联系,在这些联系中NTS内有多种肽类或神经递质参与信息传递<sup>[13]</sup>。免疫细胞化学表明,NTS与PVN有双向的纤维联系,他是PVN内AVP神经元直接投射的主要部位之一,并分布有特异性的AVP-V<sub>1</sub>受体<sup>[14-16]</sup>。有文献报道,损毁双侧NTS或一侧NTS内注入AVP-V<sub>1</sub>受体阻断剂,均能取消电刺激PVN对胃缺血-再灌注损伤的保护作用,NTS内注入AVP减轻胃缺血-再灌注引起的胃黏膜损伤<sup>[17]</sup>。在各种应激(如水浸束缚的复合应激、电击足底的单一应激)情况下,脑内PVN及NTS均有大量的c-Fos表达<sup>[18]</sup>。心理应激后,终纹状核的加压素和催产素神经元Fos蛋白的表达增加<sup>[19]</sup>。我们的前期工作也观察到,损毁大鼠双侧NTS,可削弱电针足三里穴对大鼠应激性胃黏膜损伤的保护作用,证明了孤



束核参与了电针对大鼠应激性胃黏膜损伤保护作用过程。但此作用是否与AVP有关? 为此我们观察了NTS注射AVP和AVP-V<sub>1</sub>受体阻断剂对电针抗应激性胃黏膜损伤的影响。实验结果显示, NTS内注入AVP可明显增强电针对胃黏膜损伤的保护作用, UI和胃液酸度明显降低, GMBF明显增加, 并且有明显剂量-效应关系; NTS内注射AVP-V<sub>1</sub>受体阻断剂, 可削弱电针对胃黏膜损伤的保护作用。结果提示, AVP参与了孤束核对电针抗应激性胃黏膜损伤的调控作用, 电针通过AVP介导, 增加胃黏膜血流量, 抑制胃酸分泌, 从而对胃黏膜损伤起到保护作用。

#### 4 参考文献

- 1 黎喜平, 严洁. 针灸对胃黏膜损伤保护作用机制的研究进展. 针刺研究 2005; 30: 60-63
- 2 刘涌, 许冠珩. 电针足三里对应激性胃黏膜损伤的保护作用. 安徽中医学院学报 2000; 19: 27-30
- 3 槐瑞托, 牛丽静, 管振龙. 孤束核的结构与功能. 河北师范大学学报自然科学版 2003; 27: 185-188
- 4 Zhang JF, Zhang YM, Yan CD, Zhou XP, Qi YJ. Protective effects of paraventricular nucleus stimulation and vasopressin on gastric ischemia-reperfusion injury in rats. *ShengLi XueBao* 2002; 54: 133-138
- 5 黄碧兰, 黄华, 余良主, 秦灵芝. 损毁孤束核对电针足三里穴抗大鼠应激性胃溃疡作用的影响. 世界华人消化杂志 2006; 14: 1210-1213
- 6 Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates and revised. Sydney: Acadmic Press, 1986: F23- F26, F70-F72
- 7 Guth PH, Aures D, Paulsen G. Topical aspirin plus HCl gastric lesions in the rat .Cytoprotective effect of prostaglandin, cimetidine, and probanthine. *Gastroenterology* 1979; 76: 88-93
- 8 裴海涛, 孙锦平. 冷应激溃疡大鼠下丘脑和肾上腺一氧化氮合成酶2与内皮素-1表达及针刺保护机制的研究. 中国康复理论与实践 2005; 11: 18-20
- 9 于永霞. 血管加压素的研究概况. 沈阳医学院学报 2003; 5: 49-51
- 10 周敬华, 孙圣刚. 血管加压素在脑水肿形成中的作用. 国外医学脑血管疾病分册 2005; 13: 222-224
- 11 刘伟, 朱贤立, 赵洪洋. 血管加压素的研究进展. 国外医学神经病学神经外科学分册 2002; 29: 38-41
- 12 刘绍基, 陈卫民, 何家乐. 血管加压素的研究进展. 小儿急救医学 2005; 12: 226-227
- 13 王华, 吴绪平, 陈译斌, 王亚文, 张红星, 王述菊. 损毁孤束核对电针内关穴抗家兔心肌缺血作用的影响. 中华现代中西医杂志 2005; 3: 209-212
- 14 Raggenbass M, Tribollet E, Dubois-Dauphin M, Dreifuss JJ. Vasopressin receptors of the Vasopressor(V1)type in the nucleus to the solitary tract of the rat mediate direct neuronal excitation. *J Neurosci* 1989; 9: 3929-3936
- 15 Hegarty AA, Felder RB. Vasopressin and V1-receptor antagonists modulate the activity of NTS neurons receiving baroreceptor input. *Am J physiol* 1997; 273: 143-152
- 16 Berlove DJ, Piekut DT. Co-localization of putative vasopressin receptors and vasopressinergic neurons in rat hypothalamus. *Histochemistry* 1990; 94: 653-657
- 17 张咏梅, 张建福, 阎长栋, 周秀平, 祁友键. 孤束核参与室旁核加压素能神经元对大鼠胃缺血-再灌注损伤的调控作用. 中国病理生理杂志 2002; 18: 923-926
- 18 张咏梅, 张建福, 陈幽婷, 阎长栋, 周秀平. 胃缺血/再灌注损伤引起大鼠脑室旁核及孤束核c-fos表达. 中国应用生理学杂志 2004; 20: 20-23
- 19 Zhu LL, Onaka T, Zhu SG. The relationship of oxytocin, vasopressin and stress. *ShengLi KeXue JinZhan* 2002; 33: 332-335

#### ■应用要点

电针防治应激性胃黏膜损伤, 是一种简便、有效的方法。研究电针抗应激性胃黏膜损伤的机制, 为电针在临床上的应用提供了可靠的实验依据。

电编 李琪 编辑 潘伯荣