

大蒜素对小鼠胃肠运动及血清中胃动素、生长激素释放肽的影响

王建平^{1,2*}, 宋焱峰^{1#}, 景玉宏¹, 张雅敏², 柳少光²(1.兰州大学基础医学院人体解剖学与组织胚胎学研究所, 兰州 730000; 2.甘肃省人民医院急诊科, 兰州 730000)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)07-0930-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.07.20

摘要 目的:研究大蒜素对小鼠胃肠运动及血清中胃动素、生长激素释放肽的影响。方法:取小鼠随机分为空白对照(生理盐水)组、甲氧氯普胺(8 mg/kg)组和大蒜素高、中、低剂量(50、20、5 mg/kg)组,每组18只,禁食水24 h后ip给予相应药物,30 min后ig给予0.4 ml 2%葡聚糖蓝2000,20 min后取血处死,游离胃和小肠。测定各组小鼠胃排空率和小肠推进率,检测血清中胃动素及生长激素释放肽的质量浓度。结果:与空白对照组比较,大蒜素高、中剂量组小鼠的胃排空率、小肠推进率、胃动素和生长激素释放肽质量浓度均明显升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$);甲氧氯普胺组小鼠的胃排空率明显升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。与甲氧氯普胺组比较,大蒜素高、中剂量组小鼠的小肠推进率、胃动素及生长激素释放肽质量浓度均明显升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$);其余各组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论:大蒜素能促进小鼠胃动素及生长激素释放肽的分泌,进而促进胃排空及小肠推进作用。

关键词 大蒜素;胃动素;生长激素释放肽;胃排空;小肠推进;小鼠

Effects of Allicin on Gastrointestinal Motility and Serum Motilin and Ghrelin in Mice

WANG Jian-ping^{1,2}, SONG Yan-feng¹, JING Yu-hong¹, ZHANG Ya-min², LIU Shao-guang²(1.Human Anatomy and Embryology Institute, School of Basic Medical Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 2.Dept. of Emergency, Gansu Provincial People's Hospital, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of allicin on gastrointestinal motility and serum motilin and ghrelin in mice. METHODS: Mice were randomly divided into blank control group (normal saline), metoclopramide group (8 mg/kg) and allicin high dose, medium dose and low dose groups (50, 20 and 5 mg/kg), 18 for each. Intraperitoneal injection drug was used after 24 h of fasting food and water while 0.4 ml 2% dextran blue 2000 was in tragastrical after 30 min. Twenty minutes later, mice were sacrificed after taking blood, dissociating stomach and small intestine, measuring the rate of gastric emptying and small intestinal propulsion, measuring the motilin and ghrelin concentration of mice serum. RESULTS: Compared with blank control group, rate of gastric emptying and small intestinal propulsion, the concentration of motilin and ghrelin in allicin high dose and medium dose groups were significantly increased, with a significant difference ($P < 0.05$); and the gastric emptying in metoclopramide group was also significantly increased, with a significant difference ($P < 0.05$). Compared with the metoclopramide group, small intestinal propulsion rate, the concentration of motilin and ghrelin in allicin high dose and medium dose groups were significantly increased, with a significant difference ($P < 0.05$), there were no significant differences among other groups ($P > 0.05$). CONCLUSIONS: Allicin can promot the concentration of motilin and ghrelin of mice and the gastric emptying and small intestinal propulsion. **KEYWORDS** Allicin; Motilin; Ghrelin; Gastric emptying; Small intestinal propulsion; Mice

大蒜素(Allicin),化学名为二烯丙基三硫化物(Diallyl trisulfide),是从大蒜球茎中分离出的一种化合物。大蒜自古以来就在世界各地的饮食及药用中扮演着重要角色^[1],尤其在在我国民间广为应用,日常饮食中以大蒜的鳞茎最多见,其次为蒜薹。大蒜通常可作为调味品,有健胃、助消化的功能,亦可用鲜大蒜生吃或炒菜。有报道称,大蒜作为中药组分可治疗肠梗阻,其大蒜素对胃肠功能有促进作用^[2-3],但其具体机制仍不清楚。胃动素(Motilin, MTL)被公认为是启动胃肠运动的脑肠肽,在消化间期通过作用于胃肠神经系统的MTL受体以及胃肠平滑肌细胞的MTL受体,可引发胃肠移行性综合肌电(MMC)^[4]。生长激素释放肽(Ghrelin)主要由胃底部黏膜分泌

腺细胞分泌,与其受体结合后通过中枢和外周途径加速胃排空运动,是当前公认的具有促进胃肠运动的脑肠肽^[5]。本文研究了大蒜素对小鼠胃肠功能的作用及对小鼠血清中MTL及生长激素释放肽的影响。

1 材料

1.1 仪器

DG5033A型酶标仪(南京华东电子集团医疗装备有限责任公司);HH-W600型恒温箱(江苏省金坛市恒丰仪器制造有限公司);TGL-16B型高速离心机(上海金鹏分析仪器有限公司,离心半径:6 cm);UV-1750型紫外分光光度计[岛津仪器(苏州)有限公司];T-SCALE计数AHC电子称(无锡市恒平工业设备有限公司)。

1.2 药品与试剂

大蒜素注射液(山东鲁抗辰欣药业有限公司,批号:20120930,规格:30 mg:10 ml);盐酸甲氧氯普胺注射液(上海

* 主治医师,硕士研究生。研究方向:人体解剖学与组织胚胎学。电话:0931-8281129。E-mail:wjphzym@126.com

通信作者:教授,硕士生导师。研究方向:人体解剖学与组织胚胎学。电话:0931-8281129。E-mail:songyanfeng@lzu.edu.cn

禾丰制药有限公司,批号:20120921,规格:10 mg:1 ml);小鼠 MTL 酶联免疫检测试剂盒(南京建成生物科技有限公司,批号:20120220);小鼠生长激素释放肽免疫检测试剂盒(美国 Pharmacia 公司,批号:8F2375);葡聚糖蓝 2000(兰州联创生物科技有限公司,批号:2011300125);水为超纯水。

1.3 动物

普通级昆明种小鼠 90 只,♀♂ 各半,3~5 周龄,体质量 18~20 g,由兰州大学实验动物中心提供,动物批号为兰大动检(06)第 009 号,实验动物生产许可证号为 SCXK(甘)2009-0004,实验动物使用许可证号为 SYXK(甘)2009-0005。该实验经甘肃省人民医院动物伦理委员会批准。

2 方法

2.1 分组、给药与样本采集

小鼠在光照周期为 12 h/12 h、温度约为 25 ℃、湿度约为 60% 的动物房适应性饲养 1 周,饲养期间自由进食、饮水,食物由兰州大学动物中心提供。随后应用随机数字表法随机分为空白对照(生理盐水)组、甲氧氯普胺(8 mg/kg)^[6]组和大蒜素高、中、低剂量(50、20、5 mg/kg)^[7]组,每组 18 只。实验前一天早晨小鼠开始禁食水,24 h 后各组小鼠 ip 给予相应药物,30 min 后(经过预实验确定)ig 给予 0.4 ml 2% 葡聚糖蓝 2000,ig 结束立即记录时间。20 min 后取血并处死各组小鼠,解剖暴露胃、十二指肠,找出贲门,结扎贲门和幽门,游离胃和小肠,测量并计算胃内色素残留率和小肠推进率。用酶联免疫法测定各组小鼠血清中 MTL 及生长激素释放肽。

2.2 胃排空率的测定

根据 Kimura Y 等^[8]报道的方法测量胃排空率。取游离胃置于 5 ml 离心管中,用结扎线提住防止掉至离心管底部,再用小剪刀沿胃大弯切开,然后用 5 ml 针管抽取 3 ml 超纯水冲洗胃黏膜和剪刀,最后弃去胃壁,收集溶于 3.0 ml 去离子水中的胃内容物并以 12 000 r/min(离心半径:6 cm)离心 10 min,取上清液测定其在 620 nm 波长处的吸光度(A)为胃内色素(葡聚糖蓝 2000)残留量;另用 0.4 ml 2% 的葡聚糖蓝 2000 给 1 只正常小鼠 ig 后立即处死,解剖小鼠使胃暴露,结扎幽门和贲门,游离胃并装入 5 ml 离心管,操作方法同上,测定吸光度(B)。按公式计算胃排空率,胃排空率(%)=(B-A)/B×100%。

2.3 小肠推进率的测定

根据黄伟锋等^[9]报道的方法测定各组小鼠的小肠推进率。小鼠处死前处理同“2.2”项,处死后分离从幽门到结肠的全部小肠,剪断肠系膜将小肠轻轻拉成直线。游离小肠的整个过程应轻柔操作,并保持肠壁湿润,尽可能保持小肠的自然长度。用直尺测量小肠的总长度以及肠内葡聚糖蓝 2000 标记物在小肠推进的距离。按公式计算小肠推进率,小肠推进率(%)=标记物推进距离/小肠总长度×100%。

2.4 小鼠血清中 MTL 及生长激素释放肽的质量浓度测定

采用酶联免疫吸附测定各组小鼠血清中 MTL 及生长激素释放肽酶的质量浓度。小鼠固定头部后摘去一侧眼球,用 2 ml 离心管收集自眼眶内流出的血液,不加抗凝剂,收集完后静止 30 min 则凝血反应被激活,血液迅速凝固,然后 3 000 r/min(离心半径:6 cm)离心 5 min,取上清液保存于-80 ℃冰箱中。按试剂盒操作要求测定各组小鼠血清中 MTL 及生长激素释放肽的质量浓度。

2.5 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析。所得数据为连

续变量,用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间均数比较采用单因素方差分析;组间差异显著性比较采用 *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义,检验标准 $\alpha = 0.05$ 。使用 Curve Expert 软件计算回归方程以及样品中 MTL、生长激素释放肽质量浓度。

3 结果

3.1 小鼠死亡情况

实验期间,大蒜素低剂量组小鼠有 1 只死亡,其余各组小鼠均无死亡。

3.2 大蒜素对小鼠胃排空的影响

与空白对照组比较,甲氧氯普胺组和大蒜素高、中剂量组小鼠的胃排空率明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),表明注射中剂量或高剂量大蒜素与注射甲氧氯普胺都能促进小鼠胃排空作用,结果见表 1。

表 1 各组大鼠的胃排空率比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Comparison of gastric emptying rate of mice in each group($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | <i>n</i> | 胃排空率, % |
|---------|----------|---------------|
| 空白对照组 | 18 | 74.17 ± 10.23 |
| 大蒜素高剂量组 | 18 | 83.86 ± 8.19* |
| 大蒜素中剂量组 | 18 | 86.99 ± 7.57* |
| 大蒜素低剂量组 | 17 | 76.93 ± 10.18 |
| 甲氧氯普胺组 | 18 | 81.74 ± 6.83* |

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$

Note: vs. blank control group,* $P < 0.05$

3.3 大蒜素对小鼠小肠推进率的影响

与空白对照组和甲氧氯普胺组比较,大蒜素高、中剂量组小鼠的小肠推进率明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),表明注射中剂量或高剂量大蒜素能促进小鼠小肠推进作用,结果见表 2。

表 2 各组小鼠的小肠推进率比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Comparison of small intestinal propulsion rate of mice in each group($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | <i>n</i> | 小肠推进距离, cm | 小肠推进率, % |
|---------|----------|---------------|----------------|
| 空白对照组 | 18 | 25.32 ± 5.31 | 37.52 ± 9.57 |
| 大蒜素高剂量组 | 18 | 35.13 ± 6.29 | 60.28 ± 7.12** |
| 大蒜素中剂量组 | 18 | 31.87 ± 8.11 | 53.49 ± 8.35** |
| 大蒜素低剂量组 | 17 | 28.06 ± 8.27 | 40.91 ± 10.16 |
| 甲氧氯普胺组 | 18 | 28.45 ± 11.32 | 43.37 ± 13.92 |

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$;与甲氧氯普胺组比较,** $P < 0.05$

Note: vs. blank control group,* $P < 0.05$; vs. metoclopramide group,** $P < 0.05$

3.4 大蒜素对小鼠血清中 MTL、生长激素释放肽的影响

与空白对照组和甲氧氯普胺组比较,大蒜素高、中剂量组小鼠的 MTL、生长激素释放肽质量浓度明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),表明注射中剂量或高剂量大蒜素能促进小鼠血清 MTL 及生长激素释放肽产生,且与胃排空、小肠推进作用呈正相关,结果见表 3。

4 讨论

胃肠运动的发起和执行单位主要由胃肠神经、胃肠起搏细胞、平滑肌网络构成。当神经冲动向下传递至胃肠起搏细胞时,引起并控制胃肠平滑肌细胞发生相应机械活动^[10]。MMC 是指在空腹状态下胃和小肠发生的一种规律性、周期性收缩运动,是胃肠机械活动的主要运动形式,能使胃和小肠的全部内容物及时排入大肠,起到清洁肠道的作用。MTL 作为

表3 各组小鼠MTL及生长激素释放肽的质量浓度比较($\bar{x} \pm s$)
Tab 3 Comparison of concentration of MTL and ghrelin of mice in each group($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | MTL, ng/L | 生长激素释放肽, ng/ml |
|---------|----|------------------|----------------|
| 空白对照组 | 18 | 154.99 ± 66.47 | 5.36 ± 3.06 |
| 大蒜素高剂量组 | 18 | 220.53 ± 58.32** | 12.38 ± 3.29** |
| 大蒜素中剂量组 | 18 | 275.26 ± 57.85** | 15.63 ± 5.38** |
| 大蒜素低剂量组 | 17 | 168.53 ± 78.35 | 8.36 ± 7.95 |
| 甲氧氯普胺组 | 18 | 165.82 ± 80.56 | 7.74 ± 5.92 |

注:与空白对照组比较, * $P < 0.05$; 与甲氧氯普胺组比较, # $P < 0.05$

Note: vs. blank control group, * $P < 0.05$; vs. metoclopramide group, # $P < 0.05$

调节消化间期MMC的关键激素,可能通过激发消化期间MMCⅢ而促进胃肠收缩运动^[11]。研究显示,发起和调控胃肠平滑肌运动的胃壁起搏细胞表面表达有高敏MTL受体^[12], MTL与其受体结合后能够调控胃肠道运动的发起和维持^[5]。生长激素释放肽是生长激素分泌物质受体的内源性配体。生长激素释放肽与MTL在结构上具有高度的相似性,也被称为MTL相关肽^[13]。研究表明,生长激素释放肽对胃肠MMC也有促进作用,而且生长激素释放肽通过胆碱能通路参与了MMCⅢ运动发起^[14]。也有研究证实,MTL受体不仅分布在胃底和胃窦的肌层,也存在于肠道肌间神经丛^[15];而生长激素释放肽受体主要分布在垂体、下丘脑、胃肠道平滑肌、胃肠神经丛以及神经节。由此可见,生长激素释放肽和MTL都能通过与胃肠道分布的相应受体结合影响MMC,进而发挥促胃肠动力作用。换言之,通过增加机体生长激素释放肽和MTL的质量浓度可能具有促进胃肠动力作用。

本实验结果显示,与空白对照组比较,高、中剂量的大蒜素能明显增强小鼠的胃排空和小肠推进作用,同时血清中MTL及生长激素释放肽的质量浓度也明显升高。而注射8 mg/kg的甲氧氯普胺可增加胃排空作用,但对小肠推进作用及血清中MTL及生长激素释放肽的质量浓度无明显影响。与甲氧氯普胺组比较,大蒜素高、中剂量组小鼠的小肠推进作用明显增加,同时血清中MTL及生长激素释放肽的质量浓度也明显升高,但对小鼠胃排空无明显影响。这说明在本实验中,注射甲氧氯普胺并不能引起小鼠血清中MTL及生长激素释放肽质量浓度的升高,也不能促进小肠推进作用,仅能使小鼠胃排空作用较空白对照组增强。有文献报道,甲氧氯普胺作用部位主要在食管到近端小肠,通过阻滞存在于食管到近端小肠的多巴胺受体,从而增加贲门括约肌张力、松弛幽门达到胃排空^[16]。可见,甲氧氯普胺具有促进胃排空作用,其机制是不经MTL及生长激素释放肽介导,直接作用于食管、胃、近端小肠的多巴胺受体发挥作用。大蒜素高、中剂量组小鼠血清中MTL及生长激素释放肽的质量浓度明显升高,而这两种激素具有促进MMC的作用,所以笔者推测,大蒜素的促胃肠动力作用是通过MTL及生长激素释放肽介导的。

胃排空和肠推进实验是研究胃肠机械运动最直观、可靠的经典实验方法,需要准确判断灌胃后标记物能够局限于小肠的处死时间点。在前期预实验中发现,ig后20 min处死小鼠则标记物不超过小肠总长度一半,30 min处死小鼠则标记物会超过小肠末端从而影响实验结果。所以,笔者选择20 min为小鼠处死时间点,有利于控制标记物局限在小肠,便于测定小肠推进率。由于进食活动、食物的组成能影响MTL及生长激素释放肽的分泌^[17],因此笔者选择注射大蒜素、生理盐水和

甲氧氯普胺,既保证了药物的吸收,又避免了ig时不同成分对胃肠道刺激而引起MTL及生长激素释放肽的分泌,将两组可能产生的偏差降至最低。

参考文献

- [1] 鲁焯.大蒜的食疗保健及在烹调中的运用研究[J].中国调味品,2013,38(7):6.
- [2] 马晓莉,曹松云,王森,等.大蒜硝磺膏穴位贴敷治疗肠梗阻的药理作用研究[J].中成药,2012,34(3):564.
- [3] 陈云,颜克实,马萌萌,等.大蒜素对小鼠胃肠推进运动的影响[J].徐州医学院学报,2013,33(9):572.
- [4] 赵平,董蕾,兰康,等.多种胃肠激素在消化间期移行性复合运动中作用的研究[J].中华消化杂志,2005,25(2):95.
- [5] 王燕,董蕾,赵平,等. Ghrelin对大鼠小肠转运及消化间期移行性复合肌电活动的作用及机制[J].南方医科大学学报,2008,28(3):328.
- [6] 邢建峰,封卫毅,侯家玉,等.小鼠胃排空及小肠推进实验方法的探讨[J].北京中医药大学学报,2003,26(4):50.
- [7] 张华.高浓度大蒜油注射液的制备及安全性初步评价[D].重庆:西南大学,2008.
- [8] Kimura Y, Sumiyoshi M. Effects of an atractylodes lancea rhizome extract and a volatile component β -eudesmol on gastrointestinal motility in mice[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2012, 141(1): 530.
- [9] 黄伟锋,欧阳守,林燕飞,等.槲皮素对胃肠运动的影响及其机制[J].世界华人消化杂志,2009,17(18):1 815.
- [10] 肖开春,童荣生. Cajal间质细胞与胃肠动力关系的研究进展[J].中国药房,2013,24(5):470.
- [11] 吴增佑,罗和生,梁成柏.大鼠胃动素与结肠动力紊乱的关系及其作用机制[J].中华医学杂志,2012,92(14):984.
- [12] 许文达,江逊,兰莉,等. Cajal间质细胞胃动素受体的表达[J].中华儿科杂志,2011,49(4):255.
- [13] Mondal A, Xie Z, Miyano Y. Coordination of motilin and ghrelin regulates the migrating motor complex of gastrointestinal motility in *Suncus murinus*[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2012, 302(10):G1 207.
- [14] Ariga H, Tsukamoto K, Chen C, et al. Endogenous acyl ghrelin is involved in mediating spontaneous phase III-like contractions of the rat stomach[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2007, 19(8):675.
- [15] Takeshita E, Matsuura B, Dong M, et al. Molecular characterization and distribution of motilin family receptors in the human gastrointestinal tract[J]. *J Gastroenterol*, 2006, 41(3):223.
- [16] 许慧,罗燕军,黄娟,等.龙牡壮骨冲剂对小鼠胃肠动力和血浆血管活性肠肽的影响[J].武汉大学学报:医学版,2007,28(5):580.
- [17] Maier C, Schaller G, Buranyi B, et al. The cholinergic system controls ghrelin release and ghrelin-induced growth hormone release in humans[J]. *Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89(9):4 729.

(收稿日期:2014-10-11 修回日期:2014-12-19)

(编辑:邹丽娟)