

[文章编号] 1000-4718(2007)03-0574-05

## 胃电刺激对大鼠 VMH 胃扩张敏感神经元电活动及脑内催产素表达的影响\*

孙向荣, 徐璐<sup>△</sup>, 钟凤  
(青岛大学医学院病理生理教研室, 山东 青岛 266021)

**[摘要]** 目的: 给予胃窦部以 2 组不同参数的电刺激, 观察大鼠下丘脑腹内侧核 (VMH) 胃扩张 (GD) 敏感性神经元放电频率的变化及脑内有促进摄食作用的神经肽-催产素 (OT) 表达的变化, 为胃电刺激 (GES) 治疗肥胖的中枢作用机制及临床上治疗肥胖参数的选择提供理论依据。方法: ① 电生理实验: 采用细胞外记录神经元单位放电方法, 记录下丘脑腹内侧核神经元自发放电活动, 根据神经元对胃扩张刺激反应的不同, 分为胃扩张兴奋性神经元 (GD-E) 和胃扩张抑制性神经元 (GD-I), 并观察不同参数电刺激胃窦部, VMH 内 GD-E 和 GD-I 放电频率的变化。② 免疫组化实验: 采用免疫荧光组织化学染色方法观察胃电刺激 2 h 对大鼠脑内 OT 阳性神经元表达的影响。结果: ① 电生理结果: GES1 和 GES2 分别使 60.4% 和 75.0% 的 GD 敏感性神经元兴奋 ( $P > 0.05$ )。GES2 和 GES1 分别可使 GD-E 神经元的放电频率平均增加  $343.59\% \pm 89.19\%$  和  $97.44 \pm 33.67\%$  ( $P < 0.05$ ), GD-I 神经元的放电频率平均增加  $366.30\% \pm 87.20\%$  和  $112.00\% \pm 14.67\%$  ( $P < 0.05$ )。② 免疫组化结果: GES1 刺激胃窦部 2 h, 室旁核 (PVN) 和视上核 (SON) OT 免疫阳性神经元明显增加 ( $P < 0.05$ )。结论: GES 可通过兴奋“饱中枢”-VMH 内胃扩张敏感性神经元和增加脑内 OT 的表达来抑制摄食, 且 GES 的作用效应与其强度有关。

**[关键词]** 胃电刺激; 下丘脑腹内侧核; 催产素; 大鼠

**[中图分类号]** R73

**[文献标识码]** A

## Effects of gastric electrical stimulation on the activity of gastric distension sensitive neuron in VMH and the expression of oxytocin in rat brain

SUN Xiang-rong, XU Luo, ZHONG Feng

(Department of Pathophysiology, Qingdao University Medical College, Qingdao 266021, China. E-mail: luoxukai@yahoo.com)

**[ABSTRACT]** **AIM:** To study the central mechanism of gastric electrical stimulation (GES) in treating obesity in rats by observing the effects of GES on gastric distension (GD) sensitive neurons in ventromedia hypothalamus (VMH) and the expression of oxytocin (OT) in brain. **METHODS:** The effects of GES on GD sensitive neurons in VMH were observed by recording extracellular potentials of single neurons. GD sensitive neurons were classified as GD-E neurons and GD-I neurons according to the response to GD. GES with two sets (GES1 and GES2) of parameters was applied for one minute. On the other hand, the expression of oxytocin in PVN and SON was observed by fluo-immunohistochemistry staining using GES1. **RESULTS:** (1) 60.4% and 75.0% GD sensitive neurons were excited by GES1 and GES2, respectively ( $P > 0.05$ ). The firing varied rate of GD-E neurons to GES2 was significantly greater than that to GES1 ( $343.59\% \pm 89.19\%$  vs  $97.44\% \pm 33.67\%$ ,  $P < 0.05$ ), the same results in GD-I neurons ( $366.30\% \pm 87.20\%$  vs  $112.00\% \pm 14.67\%$ ,  $P < 0.05$ ) was also observed. (2) The expressions of OT immunoreactive (OT-IR) positive neurons were significantly increased in PVN ( $P < 0.01$ ) and SON ( $P < 0.05$ ) using GES1 for 2 h. **CONCLUSION:** These results indicate that GES may inhibit feeding by exciting the activity of GD sensitive neurons in VMH and increase the expression of OT in brain. The excitatory effect of GES is related to the strength of stimulation.

**[KEY WORDS]** Gastric electrical stimulation; Ventromedial hypothalamic, nucleus; Oxytocin; Rats

随着生活水平的提高, 人们饮食结构发生很大的变化, 高科技、智能化又大幅度降低人类体力的付

[收稿日期] 2005-07-15

[修回日期] 2005-10-19

\* [基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (No. 30470642)

△ 通讯作者 Tel: 0532-82658011; E-mail: luoxukai@yahoo.com

出,致使肥胖人数猛增。肥胖给身体带来诸多并发症,如高血压、高血脂、糖尿病、冠心病等,严重威胁人类健康。目前治疗肥胖的主要措施有:加强运动、控制饮食、手术吸脂和药物等疗法。但这些方法因其难以坚持,容易反弹,且影响身体健康而不能为广大肥胖患者所完全接受。最近,有些学者提出一种新型肥胖治疗方法—胃电刺激疗法。大量动物实验发现,胃电刺激可减少胃窦的运动频率、抑制胃排空、减弱胃的慢波节律,从而减少食物摄入量<sup>[1,2]</sup>。但胃电刺激中枢作用机制至今仍不清。本实验通过观察胃电刺激对大鼠下丘脑 VMH 的胃扩张敏感性神经元的作用以及中枢内 OT 表达的改变,探讨胃电刺激的中枢作用机制。

## 材 料 和 方 法

### 1 动物准备

实验采用健康成年 Wistar 大鼠(由青岛市药检所提供),雌雄兼备,体重 250–350 g,置于室温(25±2)℃,12/12 h 昼夜循环光照条件下生活,自由摄食、饮水。

### 2 主要仪器

MEZ8201 型微电极放大器;VC-II 型双道记忆示波器;QC-111J 型直方图分析仪;SSEW-3301 电子刺激器,均由日本光电公司生产。

### 3 电生理实验

**3.1 动物手术** 大鼠用 20% 乌拉坦(1 g/kg ip)麻醉,颈部正中纵行切口,行气管插管术。胃部手术:腹部正中作纵行切口,经胃底部切口将胃内容物掏出,以温生理盐水清洗。置入 1 个薄软胶气囊,经聚乙烯软管连至 5 mL 注射器,实验中注入生理盐水(3–5 mL, 0.5 mL/s, 37℃)扩张胃,用以鉴别胃扩张敏感神经元<sup>[3]</sup>。胃窦部近胃小弯侧缝合一个铂金刺激电极,电极尖端相距约 0.2 cm,关闭腹腔。头部手术:头部正中切口,牙科钻颅骨钻孔,切开脑膜暴露脑表面,VMH 定位参照 Paxinos–Watson 大鼠脑图谱。坐标定位:AP–2.3––2.8 mm; L 0.5–1.0 mm; H 9.0–10.4 mm。

**3.2 细胞外电记录** 记录电极内充灌 2.0% 滂胺天蓝溶液。用液压推进器将电极送至预定深度后进行细胞外记录,观察细胞电信号与噪声比在 3:1 以上。信号经 MEZ-8201 型微电极放大器输入 VC-11 双道示波器,电信号经由示波器同步 Y 轴输出,经 SUMP-PC 生物信号处理系统进行放电频率分析,并绘出序列密度直方图。以神经元放电频率的变化率超过 20% 作为神经元兴奋或抑制指标,神经元表

现兴奋或抑制反应可确定为 GD 敏感神经元。给予 2 组不同参数的胃电刺激(GES1:6 mA, 0.3 ms, 40 Hz, 2s-on, 3s-off; GES2:6 mA, 3 ms, 40 Hz, 2s-on, 3s-off),观察 GD 神经元放电频率变化。

## 4 免疫组织化学实验

**4.1 组织固定及冰冻切片** 以 GES1 参数电刺激胃 2 h 后立即用生理盐水、4% 多聚甲醛/PBS 经心脏灌注固定。断头取脑,后固定 2 h,梯度蔗糖浸泡过夜,待组织块沉底后行脑冠状连续冰冻切片,片厚 20 μm。

**4.2 免疫荧光组织化学染色** 各组脑片均在同一水平每隔 3 取 1,各组均取 6 张。脑片经 4% 正常羊血清/0.5% Triton X-100/PBS 孵育 2–3 h 后,与 OT 单克隆抗体(1:500, Chemicon international, CA, USA)孵育液(4% NGS 和 0.5% Triton X-100 的 PBS 孵育液)孵育 40 h(4℃)。II 抗选用羊抗小鼠 Cy3-IgG(1:500, Jackson Immunoresearch, USA)孵育 2 h(避光),0.01 mol/L PBS 冲洗后,甘油/PBS 封片剂(Citifluor, UK)封片,激光共聚焦显微镜(Biorad, MRC1024 型,日本)下观察免疫阳性细胞。

## 5 统计学处理

各组神经元放电活动均采用  $\bar{x} \pm s$  表示,以均数配对 *t* 检验进行统计学处理,各组刺激参数间的作用差别采用  $\chi^2$  检验。免疫组化结果采用免疫组化分析软件(捷达科技公司,南京)统计单位面积细胞个数,采用 *t* 检验进行组间比较。

## 结 果

### 1 电生理实验

**1.1 VMH 内神经元对胃扩张刺激的反应** 52 只大鼠的 VMH 共记录到 96 个神经元单位放电,其中 82 个神经元(82/96, 85.41%)为 GD 敏感神经元;在 GD 敏感神经元中,51 个神经元(51/82, 62.19%)为 GD-I 神经元,31 个(31/82, 37.80%)为 GD-E 神经元。胃扩张刺激后,GD-E 神经元的放电频率由(1.51±0.33)Hz 增加至(2.84±0.62)Hz ( $P < 0.01$ );而 GD-I 神经元的放电频率却显著下降[(1.20±0.20)Hz vs (0.61±0.10)Hz] ( $P < 0.01$ ) (图 1、2)。

**1.2 GES 对 GD-E 和 GD-I 神经元的作用** 84%、96% 的 GD 神经元对 GES1 和 GES2 有反应。GES1 和 GES2 使 GD-E 神经元兴奋率分别为 55.00% 和 77.78%,两组间作用无显著差别( $P > 0.05$ );但 GES2 可使 GD-E 神经元的平均放电频率显著增加(343.59%±89.19% vs 97.44%±33.67%,

$P < 0.05$ ) (图 1)。63.64% 和 73.33% 的 GD-I 神经元分别被 GES1 或 GES2 所兴奋, 但两组作用间无显著差异 ( $P > 0.05$ , 图 2)。GES2 可使 GD-I 神经元的平均放电频率显著增加 ( $366.30\% \pm 87.20\%$  vs

$112.00\% \pm 14.67\%$ ,  $P < 0.05$ )。在 GD-E 和 GD-I 神经元, GES2 的作用持续时间与 GES1 间无显著差别 ( $P > 0.05$ ), 但 GES2 作用的潜伏期明显比 GES1 短 ( $P < 0.05$ ) (表 1)。

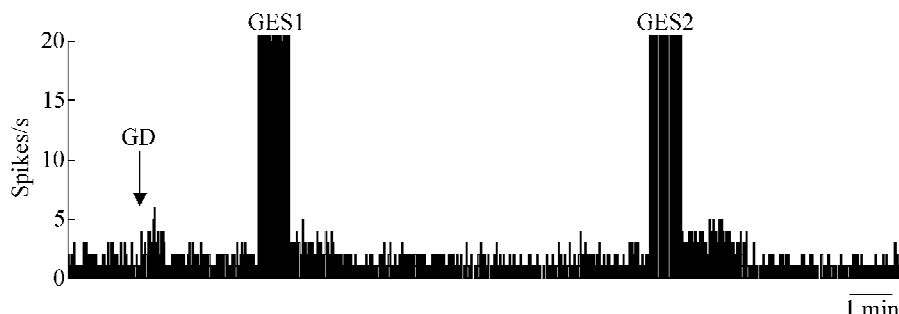


Fig 1 Effects of GES1 and 2 on firing of GD-E neurons in VMH.  
图 1 GES1、GES2 对 VMH 内 GD-E 神经元放电频率的影响



Fig 2 Effects of GES1 and 2 on firing of GD-I neurons in VMH.  
图 2 GES1、GES2 对 VMH 内 GD-I 神经元放电频率的影响

表 1 GES1 和 GES2 对 VMH GD-E 和 GD-I 神经元放电活动的影响  
Tab 1 The effects of GES1 and GES2 on GD-E and GD-I in VMH ( $\bar{x} \pm s$ )

| Responsive type | GES parameters | Firing frequency before GES (Hz) | Firing frequency after GES (Hz) | Firing varied rate (%) | Latency (s) | Duration (s)   |
|-----------------|----------------|----------------------------------|---------------------------------|------------------------|-------------|----------------|
| GD-E<br>(n=31)  | GES1           | 1.50 ± 0.34                      | 2.63 ± 0.83                     | 97.44 ± 33.70          | 0-120       | 85.56 ± 14.15  |
|                 | GES2           | 1.36 ± 0.35                      | 3.47 ± 0.58                     | 343.60 ± 89.21*        | 0-70        | 76.47 ± 8.16   |
| GD-I<br>(n=51)  | GES1           | 1.05 ± 0.25                      | 1.49 ± 0.30                     | 112.00 ± 14.67         | 0-190       | 119.26 ± 14.70 |
|                 | GES2           | 1.47 ± 0.41                      | 7.58 ± 4.61                     | 366.30 ± 87.20*        | 0-20#       | 104.17 ± 14.89 |

\*  $P < 0.05$  vs GES1; #  $P < 0.01$  vs GES1.

## 2 荧光免疫组化实验

GES1 刺激胃 2 h 后, PVN 和 SON 中 OT-IR 阳性神经元与对照组相比明显增加 [(42.6 ± 2.9)/0.1 mm<sup>2</sup> vs (28.9 ± 2.5)/0.1 mm<sup>2</sup>,  $P < 0.01$ ; (45.7 ± 5.0)/0.1 mm<sup>2</sup> vs (32.3 ± 2.2)/0.1 mm<sup>2</sup>,  $P < 0.05$ )。

## 讨 论

1996 年, Cigaina 首先报道了胃电刺激可以减轻肥胖模型猪的体重, 并使处于生长期的小猪摄食量和体重减少<sup>[4]</sup>。临床研究也进一步证实 GES 可以减

轻肥胖病人的体重<sup>[5]</sup>。目前临床上用于肥胖病人治疗的胃电刺激参数为 40 Hz/0.3 ms/2 s - on 3 s - off/6 mA。本实验结果显示, 该参数的胃电刺激可以兴奋大鼠饱食中枢 - VMH 的 GD 反应神经元。为进一步比较不同参数的胃电刺激对 GD 敏感性神经元的影响, 我们将刺激波宽增加 (GES2), 结果显示 GES2 对 GD 敏感性神经元的兴奋作用强于 GES1。提示, 在 GES 改变中枢 GD 敏感性神经元兴奋过程中, 电刺激强度起着一定的影响作用。

有文献报道, 胃的牵张刺激可兴奋胃壁机械性感受器, 兴奋通过迷走传入纤维上传至脑干的孤束

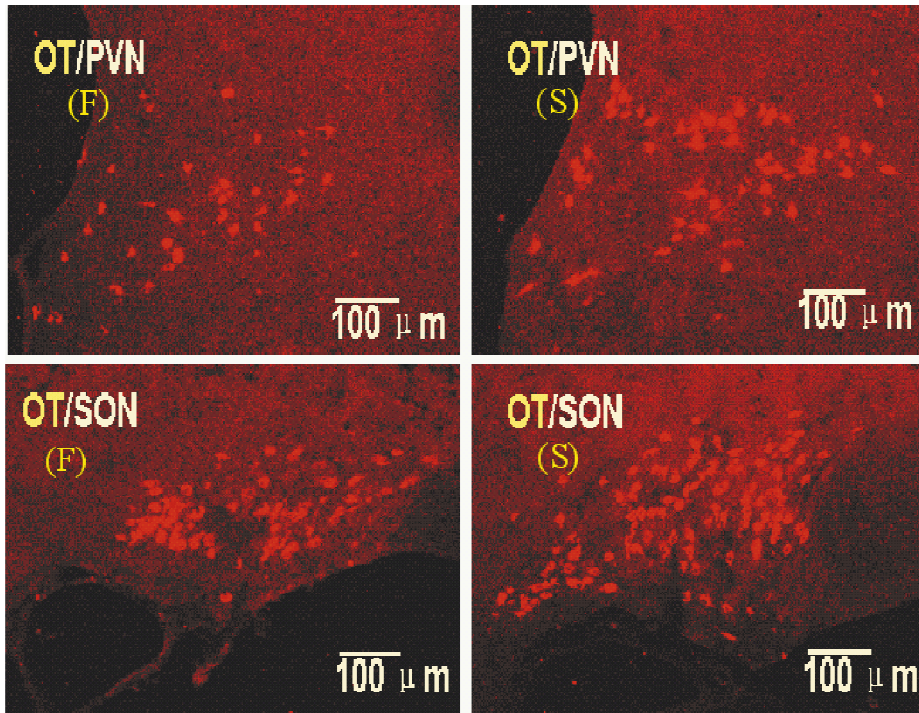


Fig 3 Effects of GES1 2 h on the expression of OT - IR positive neurons in PVN and SON. F: false stimulation group; S: stimulation group.

图3 GES1 刺激 2 h 后 PVN 和 SON 内 OT 免疫反应阳性神经元表达的变化

核(NTS),继而上传至下丘脑及其它脑区如海马、杏仁核、皮层等,引起进食后系统性的情绪、心理及植物神经系统的活动反应<sup>[6]</sup>。电生理学上利用对胃扩张刺激的电应答反应,鉴定消化道机械感受性传入信息的神经途径,用以研究参与调控胃肠机能的中枢部位及影响其活动的神经体液因素。大量研究资料表明胃电刺激可以抑制动物摄食<sup>[4,7,8]</sup>。本研究进一步证实了这一过程是 GD 反应性神经元参与完成的。在胃电刺激作用下,“饱中枢” - VMH 的 GD 反应性神经元的兴奋性提高,其可将电刺激传来的信号传向更高一级的中枢 - 海马、杏仁核、皮层或与下丘脑食欲调节网络有关的核团 - 弓状核、室旁核(PVN)、下丘脑外侧区(LHA)等部位的神经元相互作用,最终使动物产生饱感而抑制摄食。文献报道<sup>[9,10]</sup>,胃扩张刺激可作为一种饱信号,通过迷走神经传入中枢,在臂旁核(PBN)可记录到发生兴奋或抑制反应的神经元,前者主要和胃的机械刺激直接敏感,但对味觉没有反应,而后者多为味觉敏感性神经元。已知孤束核(NTS)和 VMH 有相互纤维联系<sup>[11]</sup>,由此推测,胃电刺激可作为一种饱信号由迷走神经介导兴奋 VMH 的 GD - E 神经元,继而通过与其它饮食敏感的神经中枢联系而产生饱感,减少摄食。而兴奋 GD - I 神经元通路可能主要参与味觉活动的调节。

OT 主要在 PVN 的大细胞部和 SON 合成<sup>[12]</sup>,大细胞部的 OT 神经元发出纤维投射至神经垂体,将 OT 在此储存或释放。OT 的外周作用主要是刺激射乳和在产程中刺激子宫平滑肌收缩。Verbalis 等<sup>[13]</sup>报道,在中枢 OT 除了可影响生殖系统活动外,还可通过下丘脑及杏仁核抑制摄食活动和产生焦虑。OT 抑制摄食的作用可能由中枢内的  $\alpha - 2$  受体介导<sup>[14]</sup>。本结果表明,胃窦部给予胃电刺激,脑内 PVN 和 SON 的 OT - IR 阳性神经元表达显著增多,提示中枢内 OT 可能参与胃电刺激抑制摄食的调节。

综上所述,本实验结果表明,GES 可通过兴奋饱中枢的 GD 敏感性神经元和增加 PVN 和 SON 的 OT 合成,从而起到抑制摄食,治疗肥胖的作用。其作用的效应和电刺激的强度有关。本实验不但揭示了胃电刺激治疗肥胖的中枢作用机制而且为临床上治疗参数的选择提供一定的参考,即对于顽固性的肥胖病人可以通过增加刺激强度的方法来增强 GES 的效果。

[参 考 文 献]

[1] Eagon JC, Kelly KA. Effects of gastric pacing on canine gastric motility and emptying[J]. Am J Physiol, 1993, 265(4 Pt 1): G767 - G774.  
 [2] Eagon JC, Kelly KA. Effect of electrical stimulation on gastric electrical activity, motility and emptying[J]. Neu-

- rogastroenterol Motil, 1995, 7(1): 39-45.
- [3] Willing AE, Berthoud HR. Gastric distension induced c-fos expression in catecholaminergic neurons of rat dorsal vagal complex[J]. Am J Physiol, 1997, 272(1 Pt 2): R59-R67.
- [4] Cigaina V, Saggiaro A, Rigo V, et al. Long-term effects of gastric pacing to reduce feed intake in swine[J]. Obes Surg, 1996, 6(3): 250-253.
- [5] Cigaina V. Gastric pacing as therapy for morbid obesity: preliminary results[J]. Obes Surg, 2002, 12(Suppl 1): 12S-16S.
- [6] Tach Y, Garrick T, Raybould H. Central nervous system action of peptides to influence gastrointestinal motor function[J]. Gastroenterology, 1990, 98(2): 517-528.
- [7] Xu XH, Zhu HB, Chen JDZ. Pyloric electrical stimulation reduces food intake by inhibiting gastric motility in dogs[J]. Gastroenterology, 2005, 128(1): 43-50.
- [8] Xing JH, Brody F, Brodsky J, et al. Gastric electrical stimulation effects on canine gastric emptying, food intake, and body weight[J]. Obes Res, 2003, 11(1): 41-47.
- [9] Baird JP, Travers JB, Travers SP. Parametric analysis of gastric distension responses in the parabrachial nucleus[J]. Am J Physiol, 2001, 281(5): R1568-R1580.
- [10] Suemori K, Kobashi M, Adachi A. Effects of gastric distension and electrical stimulation of dorsomedial medulla on neurons in parabrachial nucleus of rats[J]. J Auton Nerv Syst, 1994, 48(3): 221-229.
- [11] Konturek SJ, Konturek JW, Pawlik T, et al. Brain-gut axis and its role in control of food intake[J]. Journal of physiology and pharmacology, 2004, 55(1): 137-154.
- [12] Zimmerman EA, Nilaver G, Hou YA, et al. Vasopressinergic and oxytocinergic pathways in the central nervous system[J]. Fed Proc, 1984, 43(1): 91-96.
- [13] Verhalis JG, Blackburn RE, Hoffman GE, et al. Establishing behavioral and physiology functions of central oxytocin: insights from studies of oxytocin and ingestive behaviors[J]. Adv Exp Med Biol, 1995, 395(1): 209-225.
- [14] Diaz CZ, Narvaez JA, Petersson M, et al. Oxytocin/alpha(2)-adrenoceptor interactions in feeding responses[J]. Neuroendocrinology, 2000, 71(3): 209-218.

## 第 21 届国际淋巴学大会会议通知

第 21 届国际淋巴学大会将于 2007 年 9 月 26 日至 9 月 29 日在上海召开。大会由国际淋巴学会主办,上海交通大学医学院附属第九人民医院承办。这是代表国际淋巴学领域最高水平的盛会,也是国际淋巴学会成立 40 年来首次在中国召开年会。会议交流的内容包括:淋巴管再生和淋巴管病变的基因学基础,淋巴系统的解剖和生理,淋巴循环障碍疾病的病理生理学,淋巴系统的影像学,肿瘤淋巴学(淋巴道转移和哨兵淋巴结),艾滋病与淋巴,丝虫病与淋巴水肿,淋巴水肿的诊断和治疗等。

本次会议将邀请多位国际著名学者作专题报告。同时还将举办淋巴水肿综合治疗的讲座以及淋巴手法引流的操作示范。报名已经开始,欢迎国内学者和临床医生踊跃参加积极投稿。报名和摘要采用网上投递,最后截止日期:2007 年 5 月 31 日。如果在 2007 年 2 月 1 日前投稿,可竞争国际淋巴学会主席奖励基金。国内参会者注册费 1 200 元/每人。

欲了解详细内容请登陆:[www.lymphology2007.org](http://www.lymphology2007.org)

邮箱联系:[lymphology2007shanghai@yahoo.com](mailto:lymphology2007shanghai@yahoo.com)

[service@lymphology2007.org](mailto:service@lymphology2007.org)

第 21 届国际淋巴学大会组委会

上海交通大学医学院附属第九人民医院整复外科

上海市制造局路 639 号 200011

电话:021-63138341 Ext:5125,5602

传真:021-53078128