

# 益生菌干预对运动大鼠胃肠激素与 AQP4 表达的影响

莫伟彬<sup>1,2</sup>, 杨衍滔<sup>1</sup>, 郭艳菊<sup>1</sup>, 周彩华<sup>1</sup>, 邵晓云<sup>3\*</sup>

(1. 广西师范大学体育学院, 广西 桂林 541004; 2. 药用资源化学与药物分子工程国家重点实验室 广西 桂林 541004; 3. 桂林医学院人体解剖学教研室, 广西 桂林 541004)

**【摘要】 目的** 研究益生菌干预下力竭性运动大鼠胃肠道功能的影响。**方法** 40只SD雄性大鼠随机分为安静对照组(NC), 运动对照组(ME), 安静给药组(NCY), 运动给药组(MEY)。ME与MEY组进行6周力竭训练, 速度为19.3 m/min, 坡度为5°, 每天训练1次, 每周6d。NCY与MEY组每日灌胃浓度为 $10^7$  CFU/mL益生菌溶液10.0 mL/(kg·d)。6周力竭训练结束后, 检测大鼠血清中胃肠激素 ghrelin、PYY、CCK、GLP-1、MTL 和 GAS 指标含量, 并采用 RT-PCR 和 Western blot 法检测大鼠胃和结肠组织中 AQP4 的表达。**结果** ME组大鼠血清 ghrelin 和 PYY 含量均高于 NC 组( $P < 0.01$ ), 而 ME 组 CCK、GLP-1、MTL 和 GAS 含量均低于 NC 组( $P < 0.01$ ); NCY 组大鼠血清 ghrelin、PYY 均低于 ME 组( $P < 0.01$ ), 而 CCK、GLP-1、MTL 和 GAS 含量均高于 ME 组( $P < 0.01$ ); MEY 组大鼠血清 ghrelin 高于 NC 组( $P < 0.05$ )而低于 ME 组( $P < 0.01$ ); MEY 组大鼠血清 PYY 的含量低于 ME 组( $P < 0.01$ ); MEY 组大鼠血清 CCK 含量低于 NC 组( $P < 0.05$ )而高于 ME 组( $P < 0.05$ ); MEY 组大鼠血清 GLP-1、MTL 和 GAS 含量均高于 ME 组( $P < 0.01$ )。ME 组大鼠胃肠组织 AQP4 mRNA 和蛋白表达均低于 NC 组( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ); NCY 和 MEY 组大鼠胃肠组织 AQP4 mRNA 和蛋白表达均高于 ME 组( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ )。**结论** 力竭性运动引起大鼠胃肠激素含量发生变化以及 AQP4 表达的上升与补充益生菌溶液密切相关, 提示益生菌可能参与了胃肠激素的分泌和水代谢的过程。

**【关键词】** 益生菌; 力竭运动; 胃肠激素; 水通道蛋白-4; 大鼠

**【中图分类号】** Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2018) 04-0411-07

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2018.04.001

## Effect of probiotics on gastrointestinal hormones and expression of AQP4 in rats during exercise

MO Weibin<sup>1,2</sup>, YANG Yantao<sup>1</sup>, GUO Yanju<sup>1</sup>, ZHOU Caihua<sup>1</sup>, SHAO Xiaoyun<sup>3\*</sup>

(1. Sport School of Guangxi Normal University, Guilin 541004, China. 2. State Key Laboratory of Cultivation Base for the Chemistry and Molecular Engineering of Medicinal Resources, Ministry of Science and Technology of China, Guilin 541004. 3. Department of Human Anatomy, Guilin Medical University, Guilin 541004)  
Corresponding author: SHAO Xiaoyun. Email: 576941624@qq.com

**【Abstract】 Objective** To study the effect of intervention of probiotics on gastrointestinal function and expression of AQP4 in rats during exhaustive exercise. **Methods** Forty male SD rats were randomly divided into quiet control group

**【基金项目】** 国家自然科学基金资助项目(No. 21562006, No. 31060121); 教育发展基金会“教师成长基金”项目(No. EDF2016005); 广西教育厅科研项目(No. 2016JGY73); 国家重点实验室开放项目(No. CMEMR2012-B04)。

Funded by National Natural Science Funded Project of China (No. 21562006, No. 31060121), Education Development Foundation “Teacher Growth Fund” Project (No. EDF2016005), Guangxi Education Department Research Project (No. 2016JGY73), and National Key Laboratory Open Project (No. CMEMR2012-B04)

**【作者简介】** 莫伟彬 (1979—), 男, 高级实验师, 研究方向: 运动生理学与动物学。Email: mogaol@163.com

**【通信作者】** 邵晓云 (1978—), 女, 副教授, 研究方向: 解剖学和神经系统发育。Email: 576941624@qq.com

(NC), exercise control group (ME), quiet medication group (NCY) and exercise medication group (MEY). The exercise control group and the exercise medication group were subjected to exhaustive training for 6 weeks; the running speed was 19.3 m/min, the slope was 5°, the training was once a day, 6 d/week for 6 weeks. Probiotics in concentration of  $10^7$  CFU/mL was gavaged 10.0 mL/(kg/d) in the quiet medication group and exercise medication group. After 6 weeks of exhaustive training, the activities of serum gastrointestinal hormones ghrelin, PYY, CCK, GLP-1, MTL and GAS were measured. The expression of AQP4 was detected by RT-PCR and western blot. **Results** The contents of serum ghrelin and PYY were significantly higher in the ME group than those in the NC group ( $P < 0.01$ ). The contents of intestinal CCK, GLP-1, MTL and GAS in the ME group were significantly lower than those in the NC group ( $P < 0.01$ ). The serum ghrelin and PYY were lower in the NCY group than in the ME group ( $P < 0.01$ ), while the contents of intestinal CCK, GLP-1, MTL and GAS in the NCY group were higher than those in the ME group ( $P < 0.01$ ). The serum ghrelin in the MEY group was higher than that in the NC group ( $P < 0.05$ ) and lower than that in the ME group ( $P < 0.01$ ). The PYY in the MEY group was lower than that in the ME group ( $P < 0.05$ ). The serum CCK was lower in the MEY group than that in the NC group ( $P < 0.05$ ) and higher than that in the ME group ( $P < 0.05$ ). The serum GLP-1, MTL and GAS in the MEY group were higher than those in the ME group ( $P < 0.01$ ). The expression of AQP4 mRNA and protein in the gastrointestinal tissue of the ME group were lower than those in the NC group ( $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ). The expression of AQP4 mRNA and protein in the NCY and MEY groups were higher than those in the ME group ( $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ). **Conclusions** Exhaustive exercise causes changes in gastrointestinal hormone levels and increase of AQP4 expression in rats. Probiotics may be involved in the gastrointestinal hormone secretion and water metabolic process.

**【Key words】** probiotics; exhaustive exercise; gastrointestinal hormones; aquaporin 4; rats

Conflict of interest statement: We declare that we have no conflict of interest statement.

胃肠运动受肠道神经系统和体液调节的影响,而长时间的激烈运动或高强度运动应激常引起肠道屏障功能受损,肠道微生态系统紊乱<sup>[1]</sup>。益生菌是人和动物等宿主有益的微生物。在 2001 年 FAO/WHO(联合国粮农组织/世界卫生组织)将益生菌定义为“当机体从膳食中摄入足够的量,能够对机体或宿主产生有益作用的活性微生物”<sup>[2]</sup>。Del 等<sup>[3]</sup>研究表明,益生菌能够耐受机体组织内胃液、胆汁和胰脏等分泌物黏附于肠道上皮细胞的活性微生物。最近研究还发现,益生菌在机体内具有改善胰岛素敏感性与降胆固醇<sup>[4]</sup>、增强肠道的消炎抗菌、抗氧化和提高肌肉的抗疲劳能力<sup>[5]</sup>等作用。目前通过益生菌干预运动大鼠胃肠道调节激素和水通道蛋白-4(aquaporin4, AQP4)变化的研究较少。本研究建立 6 周的力竭运动大鼠模型,观察益生菌对运动大鼠胃肠道功能的影响,为探讨高强度运动时益生菌对机体消化系统的影响提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 实验动物

40 只 SPF 级 SD 雄性大鼠,10 周龄,体重(250 ± 10) g,购自桂林医学院实验动物中心【SCXK(桂)2013-0001】。饲养和实验均在桂林医学院

实验动物中心屏障环境中进行【SYXK(桂)2013-0001】。饲养期间给予大鼠标准饲料及洁净饮用水(均由桂林医学院实验动物中心提供)。饲养环境温度 20 ~ 26℃,湿度 60% ± 5%。所有操作均符合实验动物伦理学要求(伦理审批号:GLMC201703049)。

#### 1.1.2 益生菌

研究材料为益生菌固体配剂(每 100 g 益生菌中含长双歧杆菌  $1.2 \times 10^{10}$  CFU、两歧双歧杆菌  $1.9 \times 10^{10}$  CFU、嗜热链杆菌  $3.2 \times 10^9$  CFU、嗜酸乳杆菌  $4.6 \times 10^9$  CFU、德氏乳杆菌保加利亚亚种  $3.0 \times 10^9$  CFU),购于哈尔滨美化生物技术股份有限公司(批号:G20110198)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 动物分组及益生菌灌服量

将大鼠随机分为安静对照组(NC),运动对照组(ME),安静给药组(NCY),运动给药组(MEY)。动物适应性饲养 3 d 后,运动对照组和运动给药组进行适应性训练 1 周。每天训练前 30 min 采用专业灌胃器灌胃 1 次,其中安静给药组和运动给药组每日灌胃新配制的益生菌 10.0 mL/(kg·d),其中益生菌浓度为  $10^7$  CFU/mL<sup>[5]</sup>。对照组灌服等量生理盐水,连续灌服给药 6 周,1 次/日,直到实验结束。

1.2.2 动物模型与取材

运动训练模型按 Bedford<sup>[6-7]</sup> 方案进行设计, 设定大鼠运动跑台的速度为 19.3 m/min (76% 的 VO<sub>2max</sub> 左右), 保持此强度至力竭, 其中跑台坡度为 5°, 每天训练 1 次, 每周 6 d, 共 6 周。力竭判断标准为大鼠四肢伏地, 声光电刺激不能继续运动。6 周力竭训练结束后大鼠空腹 24 h, 用乌拉坦溶液(浓度 20%) 按 3 mL/kg 腹腔注射麻醉后解剖, 抽取主动脉血液 5 mL, 放入离心管中, 待放 2 h 后, 经 3500 r/min 离心 10 min (4℃), 取血清于 EP 管中, 标记, -80℃ 冰箱中保存。取血后迅速解剖取胃和肠, 胃沿胃大弯处剪开分为二份, 肠组织主要取结肠部分, 然后用冰冻的生理盐水清洗三次后, 滤纸吸干, 包裹后放入 -80℃ 冰箱中待测。

表 1 引物序列与扩增长度

| Table 1 Primer sequence and amplification length |                                                     |                                        |
|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------|
| 引物<br>Primers                                    | 引物序列(5' - 3')<br>Primer sequences(5' - 3')          | 扩增长度 (bp)<br>Amplification length (bp) |
| 水通道蛋白 - 4<br>AQP4                                | CAAACGGACTGATGTCACTGGCTC<br>CTCTCCAGATTGGTCTTTCCCTT | 429                                    |
| 内参基因<br>β-actin                                  | CCCATCTATGAGGGTTACGC<br>TTTAATGTCACGCACGATTTC       | 150                                    |

(2) AQP4 mRNA 检测

首先, 取胃肠组织各 100 mg 匀浆, 各组织的测定严格按照 Trizol 说明提取总 RNA; 然后按 Fermentas 公司生产的反转录 RT-PCR 试剂盒说明书取胃肠组织各 5.5 μL RNA 合成 cDNA, 其条件: 室温反应 10 min; 42℃, 45 min; 95℃, 5 min; 4℃, 5 mi)。取各组织 cDNA 2.5 μL, 上下游引物各 0.5 μL, 去离子水 10 μL, PCR Master Mix 10 μL 进行 PCR 扩增转录, 胃肠组织转录条件均为: 95℃ 预变性 3 min; 95℃ 变性 45 s; 55℃ 退火 30 s; 40 个循环, 72℃ 延伸 5 min。最后, 各取 10 μL 转录产物于 1.5% 的琼脂糖凝胶模板电泳 (110 V, 60 min)。用凝胶成像系统 (Bioserss-1805 型, BD 公司, 美国,) 分析其灰度值, 其比值均采用胃肠组织 AQP4 /β-actin 来表示。

(3) Western blot 法

取大鼠胃肠组织各 200 mg 经剪碎、液氮研磨并充分裂解后, 离心 (10 000 rpm/min) 5 min 取上清液, 胃肠组织均用 BCA 法测定浓度, 各组织以 25 μL 上样, 经 10% 的 SDS-PAGE 电泳后, 将蛋白转移至 PVDF 膜上, 恒定电流 14 V, 100 mA, 转印 2 h 后, 封闭过夜, 加入 AQP4、β-Actin 一抗过夜, 加入二抗孵育 1 h, ECL 显色

1.2.3 大鼠激素指标测定

采用酶联免疫法测定胃肠激素指标, 大鼠血清 ghrelin (生长激素酰化肽) 试剂盒 (货号: hj-C1989); PYY (酪酪肽) 试剂盒 (货号: hj-C8241); CCK (胆囊收缩素) 试剂盒 (货号: C3558)、GLP - 1 (胰高血糖素样肽) 试剂盒 (货号: C1402); MTL (胃动素) 试剂盒 (货号: C1749) 和 GAS (胃泌素) 试剂盒 (货号: C1748) 均由上海常斤生物科技有限公司提供, 测定方法严格按照说明方法进行。测定仪器为酶标测定仪 (型号: M1000, TeCAAn, 瑞士)。

1.2.4 大鼠胃肠组织 AQP4 mRNA 及蛋白表达的测定

(1) 引物合成

大鼠 AQP4 与 β-actin 基因引物设计见表 1 (由上海生工设计合成)。

和曝光。用凝胶成像系统对胃肠组织 AQP4 与 β-Actin 蛋白条带的灰度扫描并用比值表示。

1.3 统计学方法

对各组数据统计均用 SPSS 19.0 进行处理, 计量资料用 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 组间比较采用多重比较和单因素方差分析, 并进行 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 益生菌对运动大鼠胃肠激素含量的比较

ME 组大鼠血清 ghrelin 和 PYY 含量均高于 NC 组 (*P* < 0.01), 而 ME 组大鼠血清 CCK、GLP - 1、MTL 和 GAS 含量均低于 NC 组 (*P* < 0.01); NCY 组大鼠血清 ghrelin、PYY 均低于 ME 组 (*P* < 0.01) 但高于 NC 组, 而 CCK、GLP - 1、MTL 和 GAS 含量均高于 ME 组 (*P* < 0.01); MEY 组大鼠血清 ghrelin 高于 NC 组 (*P* < 0.05) 而低于 ME 组 (*P* < 0.01); MEY 组大鼠血清 PYY 的含量低于 ME 组 (*P* < 0.01); MEY 组大鼠血清 CCK 含量低于 NC 组 (*P* < 0.05) 而高于 ME 组 (*P* < 0.05); MEY 组大鼠血清 GLP - 1、MTL 和 GAS 含量均高于 ME 组 (*P* < 0.01)。见表 2。

表 2 益生菌对运动大鼠胃肠激素影响的比较 (  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ , pg/mL)

Table 2 Comparison of effect of probiotics on the gastrointestinal hormones in the rats during exercise(  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ , pg/mL)

| 组别<br>Groups | 生长激素酰化肽<br>Ghrelin          | 酪酪肽<br>PYY                 | 胆囊收缩素<br>CCK                | 胰高血糖素样肽<br>GLP-1          | 胃动素<br>MTL                 | 胃泌素<br>GAS                |
|--------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
| 安静对照组 NC     | 203.45 ± 9.05               | 98.21 ± 1.04               | 167.87 ± 1.40               | 27.51 ± 0.49              | 279.35 ± 2.19              | 47.45 ± 2.15              |
| 运动对照组 ME     | 280.35 ± 6.17 <sup>b</sup>  | 113.24 ± 2.05 <sup>b</sup> | 137.50 ± 1.19 <sup>b</sup>  | 21.33 ± 0.56 <sup>b</sup> | 239.31 ± 1.18 <sup>b</sup> | 37.22 ± 1.35 <sup>b</sup> |
| 安静给药组 NCY    | 210.13 ± 5.15 <sup>d</sup>  | 99.28 ± 2.15 <sup>d</sup>  | 168.80 ± 1.46 <sup>d</sup>  | 27.81 ± 0.41 <sup>d</sup> | 280.15 ± 1.14 <sup>d</sup> | 48.17 ± 2.26 <sup>d</sup> |
| 运动给药组 MEY    | 216.23 ± 8.10 <sup>ad</sup> | 100.13 ± 1.06 <sup>d</sup> | 159.79 ± 1.51 <sup>ac</sup> | 26.52 ± 0.39 <sup>d</sup> | 269.32 ± 2.09 <sup>d</sup> | 45.61 ± 2.18 <sup>d</sup> |

注:与 NC 组比较,“a”示  $P < 0.05$ ,“b”示  $P < 0.01$ ;与 ME 组比较,“c”示  $P < 0.05$ ;“d”示  $P < 0.01$ 。  
Note. Compared with the NC group, “a” means  $P < 0.05$ , “b” means  $P < 0.01$ . Compared with the ME group, “c” means  $P < 0.05$ , “d” means  $P < 0.01$ .

2.2 大鼠胃肠组织 AQP4 mRNA 表达

ME 组大鼠胃肠组织 AQP4 mRNA 表达均低于 NC 组 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ );NCY 大鼠胃肠组织 AQP4 mRNA 表达均高于 ME 组 ( $P < 0.01$ );MEY 组大鼠胃肠组织 AQP4 mRNA 表达均高于 ME 组 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ),但低于 NC 组,其中

MEY 组大鼠胃肠组织 AQP4 mRNA 表达与 NC 组比较差异无显著性。见图 1、表 3。

2.3 大鼠胃肠组织 AQP4 蛋白表达

ME 组大鼠胃肠组织 AQP4 蛋白表达均低于 NC 组 ( $P < 0.01$ ),NCY 和 MEY 组大鼠胃肠组织 AQP4 蛋白表达均高于 ME 组 ( $P < 0.01$ )。见图 2、表 3。

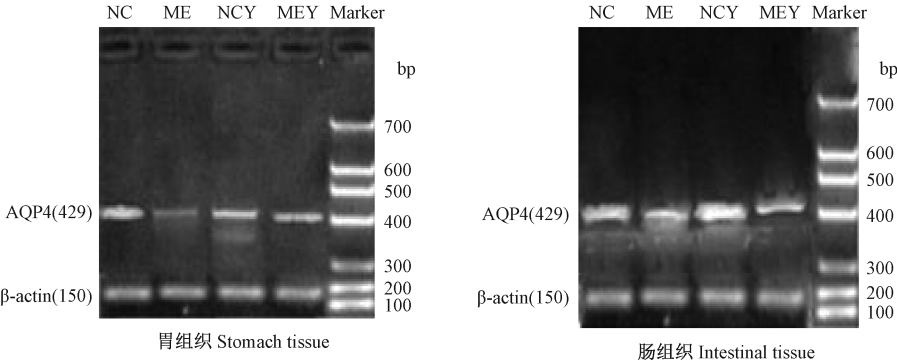


图 1 各组大鼠胃肠组织 AQP4 mRNA 产物电泳图

Figure 1 Electrophoresis of AQP4 mRNA product in gastric and intestine tissues each group of rats

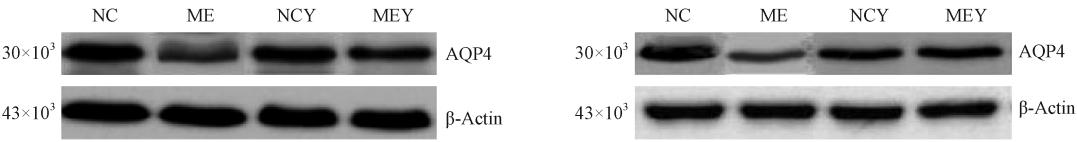


图 2 各组大鼠胃肠组织 AQP4 蛋白表达

Figure 2 AQP4 protein expression in the stomach and intestinal tissues in each group of rats

表 3 大鼠胃肠组织 AQP4 表达量比较 (  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$  )

Table 3 Comparison of AQP4 expression in gastrointestinal tissue of the rats (  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$  )

| 组别<br>Groups | 胃水通道蛋白-4 mRNA<br>Stomach AQP4 mRNA | 肠水通道蛋白-4 mRNA<br>Intestinal AQP4 mRNA | 胃水通道蛋白-4 蛋白<br>Stomach AQP4 protein | 肠水通道蛋白-4 蛋白<br>Intestinal AQP4 protein |
|--------------|------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------------|
| 安静对照组 NC     | 1.32 ± 0.09                        | 1.40 ± 0.10                           | 2.16 ± 0.18                         | 1.96 ± 0.05                            |
| 运动对照组 ME     | 0.45 ± 0.13 <sup>b</sup>           | 0.91 ± 0.06 <sup>a</sup>              | 1.31 ± 0.15 <sup>b</sup>            | 1.07 ± 0.16 <sup>b</sup>               |
| 安静给药组 NCY    | 1.38 ± 0.07 <sup>d</sup>           | 1.45 ± 0.16 <sup>d</sup>              | 2.19 ± 0.16 <sup>d</sup>            | 1.98 ± 0.13 <sup>d</sup>               |
| 运动给药组 MEY    | 1.27 ± 0.10 <sup>d</sup>           | 1.29 ± 0.21 <sup>c</sup>              | 1.96 ± 0.05 <sup>d</sup>            | 1.91 ± 0.16 <sup>d</sup>               |

注:与 NC 组比较,“a”示  $P < 0.05$ ,“b”示  $P < 0.01$ ;与 ME 组比较,“c”示  $P < 0.05$ ;“d”示  $P < 0.01$ 。  
Note. Compared with the NC group, “a” means  $P < 0.05$ , “b” means  $P < 0.01$ . Compared with the ME group, “c” means  $P < 0.05$ , “d” means  $P < 0.01$ .



### 3 讨论

胃肠道作为机体内的内分泌器官,存在着大量的微生物菌群,肠道细菌量达到  $10^{14}$  个以上,在机体内具有相互依赖、制约和维持胃肠道平衡<sup>[8]</sup>。有研究表明,肠道正常菌群受到破坏时,易引起菌群失调,导致便秘<sup>[9]</sup>、胃肠道功能失调或肿瘤<sup>[10]</sup>等各类胃肠道疾病。益生菌是人和动物等宿主有益的微生物,对保护机体组织中胃和肠道方面具有重要的作用。Schwartz 等<sup>[11]</sup>和 Barbara 等<sup>[12]</sup>研究表明,益生菌能够调节肠道炎症患者的肠道菌群平衡,稳定肠道黏膜的屏障和减少胃肠道菌群移位的发生。Jensen 等<sup>[13]</sup>证明了益生菌与消化性溃疡和慢性胃炎中的幽门螺杆菌存在拮抗作用,并且能够抑制幽门螺杆菌的黏附和修复胃黏膜。因此,研究益生菌干预运动大鼠胃肠道激素具有重要的意义。

胃肠道激素 ghrelin、PYY 肽、CCK、GLP-1、MTL 和 GAS 对机体的胃肠道调节具有重要的生理作用<sup>[14-15]</sup>。Wu 等<sup>[16-17]</sup>研究表明,ghrelin 具有保护肠道功能屏障和降低乳酸的堆积等功能。Ashby 等<sup>[18]</sup>和 Sloth 等<sup>[19]</sup>研究发现,PYY 是抑制食欲作用的多肽,在机体内具有调节能量、减缓肠胃的排空和胃酸分泌的增多。CCK 属 CCKRs 中 G 蛋白偶联受体的家族成员,具有调节肠胃功能和抑制食欲的作用<sup>[20-21]</sup>。GLP-1 属肠源性肠促胰岛素激素,具有抑制胃排空和增加肠道葡萄糖的转化<sup>[22]</sup>。MTL 是由 22 个氨基酸组成的多肽,具有增加胃肠动力的收缩和刺激胃蛋白酶的分泌<sup>[23]</sup>。GAS 是重要的胃肠道调节因素,具有加快胃肠道蠕动、刺激胃酸分泌、促进胃内因子和胆汁的分泌等作用<sup>[23-24]</sup>。胃肠道调节激素的含量能够反映胃肠道功能的状态,调节激素的正常分泌能够保证胃肠道的消化、吸收和排泄等,以免发生胃肠道功能失调。常保荣等<sup>[25]</sup>研究发现,有氧运动能够提高大鼠血清 ghrelin 含量,提高大鼠胃排空速率,改善身体成份。有研究表明,节食减肥引起机体 ghrelin 水平升高,PYY 和 GLP-1 的含量受到抑制<sup>[26-27]</sup>。运动结合饮食干预后胃肠调控激素 ghrelin 水平升高,而 PYY 水平不变<sup>[28]</sup>。王茹等<sup>[14]</sup>对肥胖青少年进行为期 4 周的高住低练与膳食干预后,实验组青少年胃肠道调控激素 ghrelin、PYY 和 GLP-1 含量升高,CCK 含量有所降低。蒋波等<sup>[29]</sup>在窒息新生儿饮食中添加益生菌后发现,窒息新生儿补充益生菌后体内的激素 MTL

和 GAS 含量逐渐恢复到正常的水平,同时表明添加益生菌有利于新生儿肠道的恢复。本研究发现,力竭运动后大鼠血清 ghrelin 和 PYY 含量均显著升高,这与 Martins 等<sup>[30]</sup>研究结果一致,提示力竭运动使机体糖原的消耗导致能量代谢负平衡有关,加速了胃的排空。通过补充益生菌溶液后发现,大鼠血清 ghrelin 和 PYY 含量均高于安静对照组但与运动组比较有一定的差异性,提示这可能是由于益生菌溶液保护胃肠道在运动中发生异常,防止胃肠道功能紊乱。研究还发现,力竭运动后大鼠血清 CCK、GLP-1、MTL 和 GAS 含量均低于安静对照组。而 CCK 属抑制食欲因子,血清中 CCK 含量的下降表明胃肠分泌量下降,机体能量消耗加大,食欲增强<sup>[7]</sup>。力竭运动中 GLP-1 和 MTL 含量的下降这与郑必海等<sup>[31]</sup>研究结果一致,这可能是由于力竭运动引起机体内氧的缺乏,GLP-1 和 MTL 分泌量增加,加速了胃肠动力的排空和能量的消耗,易引起胃肠道黏膜损伤。GAS 的下降这可能是由于胃酸分泌增多和能量的消耗存在一定的关系。通过补充益生菌溶液后发现,大鼠血清 CCK、GLP-1、MTL 和 GAS 含量均有上升的趋势,逐渐恢复到安静时的水平。提示益生菌溶液可能起到调节胃肠激素,使胃肠动力和胃液分泌等功能趋于正常,保护胃肠道损伤和运动紊乱。但胃肠道调节激素机制还有待深入研究。

水通道蛋白-4 (AQP4) 属水通道蛋白 (AQP) 特异性转运水跨膜蛋白家族成员之一,它的表达主要存在于胃壁和结肠组织中<sup>[32]</sup>;具有维持胃肠道水液代谢平衡、免疫调节和细胞迁移等生理功能<sup>[33]</sup>。Hardin 等<sup>[34]</sup>研究发现,大鼠和人体中的结肠损伤都与 AQP4 表达下调和 AQP4 参与了结肠液体的分泌相关。杨鹏等<sup>[35]</sup>研究发现,活动性胃炎和胃黏膜腺体萎缩与 AQP4 表达下调有关。赵琴等<sup>[36]</sup>研究表明,胃和十二指肠有炎症和腹泻时,AQP4 表达下降,胃肠道水的重吸收减少,胃肠黏膜的电解质失调,但通过补充藤黄后胃肠道 AQP4 表达升高,胃肠道的通透性增加。本研究发现,力竭运动后大鼠胃肠组织 AQP4 mRNA 和蛋白表达均低于安静对照组,提示长时间的力竭运动可能导致大鼠胃肠组织黏膜功能受损和胃肠道调节激素分泌异常,从而引起胃肠道水液代谢失调。通过补充益生菌溶液后发现,大鼠胃肠组织 AQP4 mRNA 和蛋白表达均增加,提示 AQP4 表达在益生菌的作用下增加可能参与了胃肠水代谢的过程,调节了胃肠激素分泌,保

证了胃肠道功能的正常。但益生菌溶液在不同强度运动方式下对机体产生的机制还有待深入研究。

### 参 考 文 献(References)

- [1] 杨建昌, 王军, 陈乐琴, 等. 过度训练对大鼠胃肠道组织形态及功能的影响 [J]. 中国体育科技, 2005, 41(5): 123–126.  
Yang JC, Wang J, Chen LQ, et al. Effect of overtraining on gastrointestinal form and function of rat [J]. China Sport sci Technol, 2005, 41(5): 123–126.
- [2] FAO, WHO. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional proper ties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria [M]. Cordoba: Argentina, 2001.
- [3] Del PM, Morelli L, Strozzi GP, et al. Probiotics: from research to consumer. [J]. Dig Liver Dis, 2006, 38 (Suppl 2): S248-S255.
- [4] Huang WC, Chen YM, Kan NW, et al. Hypolipidemic effects and safety of Lactobacillus Reuteri 263 in a hamster model of hyperlipidemia [J]. Nutrients, 2015, 7(5): 3767–3782.
- [5] Chen YM, Wei L, Chiu YS, et al. Lactobacillus plantarum TWK10 supplementation improves exercise performance and increases muscle mass in mice [J]. Nutrients, 2016, 8(4): 205.
- [6] Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, et al. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures [J]. J Appl Physiol, 1979, 47(6): 1278–1283.
- [7] 莫伟彬, 邱晓玲, 李国峰. 罗汉果甜苷对训练大鼠骨骼肌 PGC- $\alpha$  mRNA 及蛋白表达的影响 [J]. 现代预防医学, 2017, 44(1): 131–134.  
Mo WB, Qiu XL, Li GF. MOG on the expression of PGC-  $\alpha$  mRNA and protein of skeletal muscle of endurance training rat [J]. Modern Prev Med, 2017, 44(1): 131–134.
- [8] Malaguarnera G, Leggio F, Vacante M, et al. Probiotics in the gastrointestinal diseases of the elderly [J]. J Nutr Health Aging, 2012, 16(4): 402–410.
- [9] Chassard C, Dapoigny M, Scott KP, et al. Functional dysbiosis within the gut microbiota of patients with constipated-irritable bowel syndrome [J]. Alim Pharmacol Ther, 2012, 35(7): 828–838.
- [10] Gareau MG, Sherman PM, Walker WA. Probiotics and the gut microbiota in intestinal health and disease [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2010, 7(9): 503–514.
- [11] Schwartz M, Regueiro M. Prevention and treatment of postoperative Crohn's disease recurrence: An update for a new decade [J]. Curr Gastroenterol Rep, 2011, 13(1): 95–100.
- [12] Barbara G, Zecchi L, Barbaro R, et al. Mucosal permeability and immune activation as potential therapeutic targets of probiotics in irritable bowel syndrome [J]. J Clin Gastroenterol, 2012, 46: S52–55.
- [13] Jensen H, Grimmer S, Naterstad K, et al. In vitro testing of commercial and potential probiotic lactic acid bacteria [J]. Int J Food Microbiol, 2012, 153(1–2): 216–222.
- [14] 王茹, 刘冬梅, 吴娜娜, 等. 高住低练对肥胖青少年内源性大麻素及相关食欲调节激素的影响 [J]. 体育科学, 2016, 36(2): 51–57.  
Wang R, Liu DM, Wu NN, et al. The influences of “Living High-Training Low” on endocannabinoids and gastrointestinal hormones changes in obese adolescents [J]. China Sport Sci, 2016, 36(2): 51–57.
- [15] 王江, 周永学, 谢勇波. 半夏泻心汤拆方对胃溃疡大鼠胃组织 GAS、MTL 与血清 PAF、ET、NO 的影响及其寒热并用配伍的意义研究 [J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(11): 2776–2779.  
Wang J, Zhou YX, Xie YB. Effect of decomposed Banxia Xiexin decoction on GAS and MTL in gastric tissue and PAF, ET and NO in serum of gastric ulcer rats and its significance of cold and heat compatibility [J]. Chin Arch Trad Chin Med, 2016, 34(11): 2776–2779.
- [16] Wu R, Dong W, Qiang X, et al. Orexigenic hormone ghrelin ameliorates gut barrier dysfunction in sepsis in rats [J]. Crit Care Med, 2009, 37(8): 2421–2426.
- [17] Wu R, Dong W, Zhou M, et al. Ghrelin improves tissue perfusion in severe sepsis via downregulation of endothelin-1 [J]. Cardiovas Res, 2005, 68(2): 318–326.
- [18] Ashby D, Bloom SR. Recent progress in PYY research — An update report for 8th NPY meeting [J]. Peptides, 2007, 28(2): 198–202.
- [19] Sloth B, Holst JJ, Flint A, et al. Effects of PYY1–36 and PYY3–36 on appetite, energy intake, energy expenditure, glucose and fat metabolism in obese and lean subjects [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2007, 292(4): E1062.
- [20] Rosenbaum DM, Rasmussen SGF, Kobilka BK. The structure and function of G-protein-coupled receptors [J]. Nature, 2009, 459(7245): 356–363.
- [21] Moreno JL, Holloway T, González-Maeso J. Chapter Eight — G Protein-coupled receptor heterocomplexes in neuropsychiatric disorders [J]. Progr Mol Biol Transl Sci, 2013, 117: 187–205.
- [22] Ritzel R, Orskov C, Holst JJ, et al. Pharmacokinetic, insulinotropic, and glucagonostatic properties of GLP-1 [7–36 amide] after subcutaneous injection in healthy volunteers. Dose-response-relationships [J]. Diabetologia, 1995, 38(6): 720–725.
- [23] 牛亨惠, 吴国泰, 陈振鹤, 等. 幼龄厌食模型大鼠胃肠激素变化规律研究进展 [J]. 甘肃中医学院学报, 2017, 34(1): 82–85.  
Niu TH, Wu GT, Chen ZH, et al. Research progress of changes of gastrointestinal hormones in young Rats with anorexia [J]. J. Gansu Univ Chin Med, 2017, 34(1): 82–85.
- [24] Dockray G, Dimaline R, Varro A. Gastrin: old hormone, new functions [J]. Pflügers Archiv Eur J Physiol, 2005, 449(4): 344–355.

- [25] 常保荣, 王小梅. 有氧运动对老年大鼠胃肠动力及血清胃促生长素、瘦素水平的影响 [J]. 中国应用生理学杂志, 2016, 32(4): 331–333.
- Chang BR, Wang XM. The influence of aerobic exercise on growth hormone, leptin levels in aged rats on gastrointestinal motility and stomach serum [J]. Chin J Appl Physiol, 2016, 32(4): 331–333.
- [26] Westerterp-Plantenga MS. Decreased Glucagon-like peptide 1 release after weight loss in overweight/obese subjects [J]. Obesity, 2005, 13(4): 710–716.
- [27] Doucet E, Cameron J. Appetite control after weight loss: what is the role of bloodborne peptides? [J]. Appl Physiol Nutr Metab, 2007, 32(3): 523–532.
- [28] Gueugnon C, Mougin F, Nguyen NU, et al. Ghrelin and PYY levels in adolescents with severe obesity: effects of weight loss induced by long-term exercise training and modified food habits [J]. Eur J Appl Physiol, 2012, 112(5): 1797–1805.
- [29] 蒋波, 孙丽霞. 肠道益生菌对窒息新生儿血浆胃动素、胃泌素及降钙素基因相关肽水平的相关性分析 [J]. 中国食物与营养, 2014, 20(7): 80–83.
- Jiang B, Sun LX. Correlation analysis on the probiotics and plasma motilin, gastrin and calcitonin gene-related peptide of asphyxia neonatorum [J]. Food Nutr China, 2014, 20(7): 80–83.
- [30] Martins C, Morgan LM, Bloom SR, et al. Effects of exercise on gut peptides, energy intake and appetite [J]. J Endocrinol, 2007, 193(2): 251–258.
- [31] 郑必海, 李素芝, 闫春城, 等. 高原急性缺氧致急性胃肠道黏膜损伤及其机制探讨 [J]. 华南国防医学杂志, 2011, 25(1): 4–7.
- Zheng BH, Li SZ, Yan CC, et al. Acute injury of gastrointestinal mucosa caused by acute hypobaric hypoxia and its mechanism [J]. Military Med J South China, 2011, 25(1): 4–7.
- [32] McCoy ES, Haas BR, Sontheimer H. Water permeability through aquaporin–4 is regulated by protein kinase C and becomes rate-limiting for glioma invasion [J]. Neuroscience, 2010, 168(4): 971–981.
- [33] Nagelhus EA, Ottersen OP. Physiological roles of aquaporin–4 in brain [J]. Physiol Rev, 2013, 93(4): 1543–1562.
- [34] Hardin JA, Wallace LE, Wong JF, et al. Aquaporin expression is downregulated in a murine model of colitis and in patients with ulcerative colitis, Crohn's disease and infectious colitis [J]. Cell Tissue Res, 2004, 318(2): 313–323.
- [35] 杨鹏, 徐华, 张华, 等. 慢性胃炎不同病理类型与水通道蛋白 3、水通道蛋白 4 表达的相关性 [J]. 实用医学杂志, 2015, 31(15): 2471–2474.
- Yang P, Xu H, Zhang H, et al. The correlations between the different pathological types gastritis and the expressions of AQP3 and AQP4 [J]. J Pract Med, 2015, 31(15): 2471–2474.
- [36] 赵琴, 房芸, 潘凌云, 等. 基于致炎毒性、胃和十二指肠 AQP3、AQP4 表达的藤黄炮制减毒机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(9): 1627–1634.
- Zhao Q, Fang Y, Pan LY, et al. Attenuation mechanism of gamboges during processing based on inflammatory toxicity and AQP3, AQP4 protein and mRNA expressions in rat gastric and duodenal tissues [J]. China J Chin Mat Med, 2016, 41(9): 1627–1634.

[收稿日期] 2018–03–27