

SHR 大鼠脑出血急性期血压调控机制与 NE、E、PRA、Ang II 关系

✍

林高城 吴钢 林军 侯俊霞 施清晓

✍

【摘要】 目的 研究自发性高血压大鼠脑出血急性期血压调控机制与去甲肾上腺素(NE)、肾上腺素(E)、血管紧张素 II (Ang II)、肾素(PRA)的关系,探讨脑出血急性期血压调控机制。 **方法** 采用胶原酶注入尾状核的方法建立大鼠脑出血模型,利用高效液相-电化学法、放射免疫方法测定出血前及出血后 1 d、3 d、7 d 和 14 d 5 个时间点(即 5 个组)血浆 NE、E、Ang II、PRA 及下丘脑 NE、Ang II 的含量。 **结果** (1)血浆 NE、E 及下丘脑 NE 含量在脑出血 1 d 时达高峰[分别为(4.31±0.97) μg/L、(8.55±2.41) μg/L、(919±128) ng/g],与术前比较差异有统计学意义(P<0.05),7~14 d 基本恢复至术前水平;(2)血浆 PRA、Ang II 及下丘脑 Ang II 含量在出血后 3 d 达到高峰[分别为(8.81±3.1) ng/mL·h、(1204±269) pg/mL、(33.6±7.1) pg/mg],与术前比较差异有统计学意义(P<0.05),7~14 d 基本恢复至术前水平;(3)大鼠脑出血第 1 天血压较术前明显升高,差异有统计学意义(P<0.05),第 3 天较第 1 天明显下降,7~14 d 基本恢复至出血前水平。 **结论** SHR 大鼠脑出血急性期血压调控可能与交感-肾上腺髓质系统及肾素-血管紧张素系统在脑出血急性期的应激性激活密切相关。

【关键词】 自发性高血压大鼠; 去甲肾上腺素; 肾上腺素; 肾素; 血管紧张素 II; 脑出血

【中图分类号】 R743 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-8925(2009)01-0026-04

✍

Blood pressure regulatory mechanisms and plasma and hypothalamus noradrenaline, epinephrine, angiotensin II and renin after acute intracerebral hemorrhage in spontaneously hypertensive rats LIN Gao-cheng*, WU Gang*, LIN Jun, HOU Jun-xia*, SHI Qing-xiao*.
 *Department of Neurology, First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, China
 Corresponding author: WU Gang, Email: gangwu48@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To study the levels of noradrenaline, epinephrine, angiotensin II (Ang II) and rennin in acute phase of intracerebral hemorrhage (ICH) and their association with the blood pressure regulatory mechanisms in spontaneously hypertensive rats. **Methods** ICH was induced in spontaneously hypertensive rats by injection of collagenase into the caudate nucleus. Before and at 1, 3, 7 and 14 days after ICH, the plasma and hypothalamus noradrenaline and epinephrine levels were determined with high-performance liquid chromatography, and the Ang II levels and renin activity were examined by radioimmunoassay. **Results** The plasma noradrenalin and epinephrine levels and hypothalamus noradrenalin level increased significantly after ICH, reaching the peak levels at 24 h (4.31±0.97 μg/L, 8.55±2.41 μg/L, and 919±128 ng/g; P=0.011, 0.015, and 0.005, respectively) and recovered the preoperative levels till 7-14 days later. The peak levels of plasma rennin and Ang II and hypothalamus Ang II occurred at 3 days after ICH (8.81±3.1 ng·mL⁻¹·h⁻¹, 1204±269 pg/mL, and 33.6±7.1 pg/mg; P=0.035, 0.036, and 0.024, respectively), and were lowered to the preoperative levels 7-14 days after ICH. One day after ICH, the blood pressure of the rats showed a significant increase (P=0.000) followed by obvious reduction on day 3 and recovered the preoperative level 7-14 days after ICH. **Conclusion** In spontaneously hypertensive rats, the blood pressure regulatory mechanisms following acute ICH can be

✍

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-8925.2009.01.008
 基金项目:福建医科大学教授学术发展基金(JS08014)
 作者单位:350005 福州,福建医科大学附属第一医院神经内科(林高城、吴钢、侯俊霞、施清晓),核医学科(林军)
 通信作者:吴钢,Email:gangwu48@yahoo.com.cn

closely associated with stress-induced activation of the sympathoadrenomedullary system and rennin-angiotensin system. ✓

【Key words】 Spontaneously hypertensive rats; Noradrenaline; Epinephrine; Rennin; Angiotensin II; Intracerebral hemorrhage ✓

脑出血急性期常有明显的血压变化,而血压变化直接影响患者目前的病情及预后,但有关脑出血急性期血压升高机制并不十分清楚。我们前期通过临床观察,提出高血压脑出血急性期血压调控机制假说^[1]。脑出血急性期交感肾上腺髓质系统首先应兴奋性升高,血液中的肾上腺素(E)、甲肾上腺素(NE)活性升高;随之出现肾动脉血管收缩,入球小动脉缺血→肾素释放→肾素—血管紧张系统(RAS 系统)激活加剧血压升高。而国内外关于脑出血急性期血压变化与血浆去甲肾上腺素(NE)、肾上腺素(E)、血管紧张素 II (Ang II)、肾素(PRA)以及脑 NE、Ang II 的关系报道较少。本实验动态观测 SHR 大鼠脑出血急性期血压变化与血浆 NE、E、Ang II、PRA 及下丘脑 NE、Ang II 含量的变化,旨在了解高血压脑出血急性期血压调控与交感肾上腺髓质系统以及 RAS 系统的关系。✓

材料与方法 ✓

一、材料 ✓

SHR 大鼠雄性 30 只,体质量 350~450 g,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供。大鼠按出血时间分为 5 组,分别为术前组、术后 1 d 组、3 d 组、7 d 组、14 d 组 5 个时相点,每组 6 只,各组间鼠龄、体质量差异无统计学意义。大鼠术前动脉收缩压为 (177.83±8.69) mm Hg。江湾型动物头颅定位仪,胶原酶(IV 型),NE 标准品系美国 Sigma 公司产品。✓

二、大鼠脑出血模型的建立 ✓

参照 Rosenberg 等^[2]方法,本实验改用 SHR 大鼠,采用 IV 型胶原酶建立脑出血模型:腹腔注射 10 g/L 水合氯醛 (0.3 mL/100 g) 溶液麻醉动物,然后将大鼠俯卧位固定在立体定向仪上;皮肤消毒后做一长度为 0.5 cm 左右的纵行切口,用牙科钻钻一直径约 1 mm 的圆孔,用微量注射器沿钻孔方向垂直进针,进针深 4~5 mm,接着缓慢匀速注射 IV 型胶原酶入脑,注射后留针 10 min,缓慢退出微量注射器,缝合皮肤切口,术后在保暖和通风环境下待动物苏醒。模型成功的评判根据 Bederson 等^[3]的方法。✓

三、血压测量 ✓

用 RBP-I 型大鼠血压心率测定仪。采用尾筒法测量清醒状态下的收缩压。测血压时间点固定在早

上 10 点,以防 1 d 内不同时间点血压波动造成的实验误差。✓

四、标本处理 ✓

1. 血浆标本:大鼠在安静条件下断头采血,立即注入含肝素的预冷试管内,2500 r/min 离心 5 min,分离出血浆 -70 °C 保存,用于外周血 NE、E 的测定。同时取血 2 mL 置入含抑肽酶和 EDTA 的预冷抗凝管内,4 °C 以下离心,取血浆 -20 °C 保存,用于外周血 PRA、Ang II 的测定。✓

2. 脑组织标本:尽快在冰台上分离出下丘脑,分成两部分并称重,一部分加入 0.1 mol 高氯酸研磨成匀浆,离心 (4 °C, 18 000 r/min) 20 min 后取上清液, -70 °C 保存,用于下丘脑 NE 值测定;另一部分加入含抑肽酶和乙酸的试管中,匀浆,4 °C 以下离心,取上清液 -20 °C 保存,用于下丘脑 Ang II 的测定。✓

五、血浆 PRA、Ang II 及下丘脑 Ang II 测定 ✓

用放射免疫法测定脑组织和外周血 PRA、Ang II,试剂盒由北京北方生物技术研究所提供,操作方法按试剂盒说明书进行。✓

六、血浆 NE、E 及下丘脑 NE 的测定 ✓

采用高效液相—电化学法,色谱条件:色谱柱为 Waters 公司 Nova-pack C1s, 3.9 mm×150 mm 柱,保护柱为 Guard-pak,流动相为 50 mmol/L 乙酸钠—柠檬酸缓冲液,流速 0.9 mL/min。✓

七、统计学处理 ✓

所有数据用均数±标准差表示,采用 SPSS15.0 统计软件,组间比较采用单因素方差分析,进行两两比较采用 SNK 法, P≤0.05 为差异有统计学意义。✓

结 果 ✓

一、大鼠脑出血后 NE、E 含量的变化 ✓

脑出血后血浆 NE、E 与下丘脑 NE 含量开始升高,1 d 后达到高峰,与术前比较差异有统计学意义 (P<0.05), 7~14 d 基本恢复至术前水平,与术前比较差异无统计学意义 (P>0.05)。(表 1) ✓

二、大鼠脑出血后血浆 PRA、Ang II 及下丘脑 Ang II 含量的变化 ✓

脑出血后血浆 PRA、Ang II 及下丘脑 Ang II 含量开始升高,3 d 后达到高峰,与术前比较差异有统计学意义 (P<0.05), 7~14 d 基本恢复至术前水平,与

术前比较差异无统计学意义(P>0.05)。(表 1)✓

三、大鼠脑出血后血压变化✓

脑出血后 1 d 组血压较出血前明显升高, 差异有统计学意义(P<0.05); 出血 3 d 以后血压均较脑出血 1 d 组下降, 与出血前比较差异均无统计学意义(P>0.05)。(表 1)✓

讨 论✓

脑出血急性期血压升高是急性脑出血后机体自身调节的结果, 以增加脑血流量, 改善脑供血。急性期血压升高的机制目前并不十分清楚, 多数认为是由于神经内分泌系统的应激反应以及与颅内压增高的患者中 Cushing 反应有关^[4], 本课题主要从神经内分泌系统方面来研究脑出血急性期血压调控机制。✓

交感-肾上腺髓质系统是体内重要的应激系统, 当机体遭遇特殊紧急情况时, 这一系统被立即调动起来, 使肾上腺髓质激素分泌增多。高血压脑出血急性期交感神经首先应激发兴奋性升高, 血浆中的 NE、E 含量升高使全身细小动脉收缩, 引起脏器缺血, 由于肾动脉压力减低刺激肾小球旁细胞分泌肾素, 从而激活 RAS 系统^[5], 而 Ang II 作用于交感神经末梢血管紧张素受体, 又可使交感神经末梢释放递质 NE 增多^[6], 可见交感肾上腺髓质系统与 RAS 系统关系密切。✓

本实验结果显示在脑出血急性期血压变化过程中, 始终有神经内分泌的激活, 血浆 NE、E 以及脑组织 NE 在出血后第 1 天明显升高, 与 Eghwrujakpor 等^[7]报道一致, 3 d 后 NE、E 含量呈逐渐下降趋势; 血浆 PRA 和 Ang II 及脑组织 Ang II 在出血后第 1 天开始升高, 并且在第 3 天达到高峰, 这与 Han-TS 等^[8]报道一致, 7~14 d PRA、Ang II 与术前比较差异有统计

学意义(P>0.05); 大鼠脑出血后第 1 天血压与术前比较差异有统计学意义(P<0.05), 第 3 天较第 1 天呈下降趋势, 但仍显著高于术前水平, 7~14 d 恢复至术前水平。本研究可见 NE、E 的应激性升高和 PRA、Ang II 的应激性升高存在时间差, PRA、Ang II 系统的应激要迟于 NE、E 系统的应激。✓

脑出血急性期交感肾上腺髓质系统兴奋, 释放大量 NE 入血; 加之由于脑出血早期脑屏障破坏, 血中 NE 可直接进入脑内, 导致脑 NE 含量的增加^[9]。研究表明脑外伤后中枢神经系统内单胺类递质的动态变化与脑组织病理损害密切相关^[10], 这表明单胺类递质可能参与了脑水肿的发生及发展。脑水肿的发生发展势必升高颅内压, 颅内压的加重又势必加重 Cushing 反应; 而血浆 NE、E 含量升高激活 α、β 受体使心率加快, 心肌收缩力增强, 心输出量增加, 故交感肾上腺髓质系统激活可通过中枢及外周两种途径升高急性期血压。✓

近年来的研究证实, 体内不仅存在循环 RAS 系统, 还存在局部 RAS 系统, 生理状态下循环 RAS 系统与局部 RAS 系统既相互独立又相互联系, 处于动态平衡中。研究证实了 RAS 系统在脑组织中存在^[11], 且 Ang II 样免疫活性物质和 AT1 样受体在下丘脑、垂体、脑干及与控制水盐平衡有关的边缘系统含量最高。PRA 本身无生物活性, 但作用于肾素底物, 使底物转变成 Ang I, 在转化酶的作用下, 血管紧张素 I 转变成 Ang II, 而 Ang II 是 RAS 系统的重要生物活性物质^[12]。Ang II 可通过两方面升高脑出血急性期血压, 一方面 Ang II 作用于血管平滑肌, 可使全身微动脉收缩, 升高血压, Ang II 是目前已知最强的缩血管活性物质之一; 另一方面因 Ang II 具有刺激饮水, 增加摄盐, 增加加压素和 ACTH 分泌的作用, 故脑

表 1 各时间点 SHR 大鼠脑出血急性期血压变化情况与血浆 NE、E、Ang II、PRA 及下丘脑 NE、Ang II 含量变化的比较($\bar{x} \pm s$, n=6)

Tab.1 Blood pressure, plasma noradrenaline, epinephrine, angiotensin II, and rennin levels, and hypothalamus noradrenaline and angiotensin II levels in spontaneously hypertensive rats at different time points after ICH (Mean±SD, n=6)

组别	血浆 NE(μg/L)	血浆 E(μg/L)	下丘脑 NE(ng/g)	血浆 PRA(ng/mL·h)	血浆 Ang II (pg/mL)	下丘脑 Ang II (pg/mg)	血压(mm Hg)
术前组	2.03±0.47	3.17±1.3	573±106	2.9±1.3	651±234	17.9±1.76	177.8±8.7
术后 1 d 组	4.31±0.97 ^a	8.55±2.41 ^a	919±128 ^a	4.5±3.2	958±366	24.2±3.32	195.4±8.4 ^a
术后 3 d 组	3.04±0.48	5.99±1.78	771±146	8.81±3.1 ^a	1204±269 ^a	33.6±7.1 ^a	185.4±9.2
术后 7 d 组	2.53±0.84	5.83±2.24	668±94	3.8± 2.6	822±368	21.4±3.2	177.8±5.6
术后 14 d 组	2.73±0.51	4.44±1.39	562±127	3.5±1.99	670±198	17.1±3.3	176.7±6.1
F 值	9.280	6.810	9.001	5.187	3.585	15.390	15.847
P 值	0.000	0.001	0.000	0.003	0.019	0.000	0.000

与术前组比较, *P<0.05

损伤后 Ang II 的升高不仅不利于损伤区周围缺血性脑损伤的恢复,而且势必会加重脑组织的缺血性损害,这可能是脑出血患者脑水肿形成及发病后 3~7 d 时脑水肿加重的原因;同样 Ang II 与 NE 一样也可通过 Cushing 反应升高急性期血压。另有文献报道,用微量注射器向孤束核内注射 Ang II 可明显抑制压力感受器反射,用 AT1 受体拮抗剂可逆转这种抑制^[6],这也进一步证实脑内 Ang II 升高可间接升高血压。随着时间的推移,脑水肿逐渐减轻,应激状态缓解,机体代偿调节 PRA、Ang II 的含量渐渐恢复到术前水平。↙

综上所述,脑出血急性期血浆 NE、E、PRA、Ang II 以及下丘脑 NE、Ang II 与出血前比较普遍升高,提示交感肾上腺髓质系统、RAS 系统先后应激性激活可能在脑出血急性期血压升高过程中起重要调控作用,深入研究它们之间的相互作用,有助于了解脑出血急性期血压调控机制。↙

参 考 文 献 ↙

- [1] 吴钢. 关于高血压卒中急性期的血压调控机制与血压管理的思考[J]. 中国卒中杂志, 2007, 2(9): 776-779. ↙
 [2] Rosenberg GA, Mun-bryce S, Wesley M, et al. Collagenase-Induced intracerebral hemorrhage in rats[J]. Stroke, 1990, 21(5): 801-807. ↙
 [3] Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion; evaluation of the model and development of a neurologic examination[J]. Stroke, 1986, 17(3): 472-476. ↙

- [4] Wityk RJ. The management of blood pressure after stroke[J]. Neurology, 2007, 13(4): 171-181. ↙
 [5] DiBona GF. Nervous kidney: interaction between renal sympathetic nerves and the renin-angiotensin system in the control of renal function[J]. Hypertension, 2000, 36(6): 1083-1088. ↙
 [6] Martin P, Ali PM, Reinhold K. Physiology of local renin-angiotensin systems[J]. Physiol Rev, 2006, 86: 747-803. ↙
 [7] Paul M, Poyan Mehr A, Kreutz R, et al. Central nervous system bioaminergic response to mechanical trauma[J]. Surg Neurol, 1991, 35(4): 273-279. ↙
 [8] Han-TS. Antibody micro-injection: a new approach for studying the functions of neuropeptides [J]. Chin Med J (Engl), 1987, 100(6): 459-464. ↙
 [9] Van Landeghem FK, Schreiber S, Unterberg AW, et al. Differential concentration-dependent effects of prolonged norepinephrine infusion on intraparenchymal hemorrhage and cortical contusion in brain-injured rats[J]. J Neurotra, 2003, 20(12): 1327-1337. ↙
 [10] Noh JS, Kim EY, Kang JS, et al. Neurotoxic and neuroprotective actions of catecholamines in cortical neurons [J]. Exp Neurol, 1999, 159(1): 217-224. ↙
 [11] Vincent JM, Kwan YW, Chan SL, et al. Constrictor and dilator effects of angiotensin II on cerebral arterioles [J]. Stroke, 2005, 36(12): 2691-2695. ↙
 [12] Dickson ME, Sigmund CD. Genetic basis of hypertension: revisiting angiotensinogen[J]. Hypertension, 2006, 48(1): 14-20. ↙

(收稿日期: 2008-07-18) ↙

(本文编辑: 卢丽玉) ↙

(上接 25 页) ↙

用可能与抑制氧化应激反应有关,但关于当归注射液对认知功能的作用是否与其改善了局部循环有关以及其组分在其中的作用如何则有待进一步的研究。↙

参 考 文 献 ↙

- [1] Farkas E, Luiten PG, Bari F. Permanent, bilateral common carotid artery occlusion in the rat: a model for chronic cerebral hypoperfusion-related neurodegenerative diseases [J]. Brain Res Rev, 2007, 54(1): 162-180. ↙
 [2] Zlokovic BV. Vascular disorder in Alzheimer's disease: role in pathogenesis of dementia and therapeutic targets [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2002, 54(12): 1553-1559. ↙
 [3] Otori T, Katsumata T, Muramatsu H, et al. Long-term measurements of cerebral blood flow and metabolism in a rat chronic

hypoperfusion model [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2003, 30(4): 266-272. ↙

- [4] Muralikrishna AR, Hatcher JF. Phospholipase A2, reactive oxygen species, and lipid peroxidation in cerebral ischemia [J]. Free Radic Biol Med, 2006, 40(3): 376-387. ↙
 [5] Kasparova S, Brezova V, Valko M, et al. Study of the oxidative stress in a rat model of chronic brain hypoperfusion [J]. Neurochem Int, 2005, 46(8): 601-611. ↙
 [6] Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing [J]. Nature, 2000, 408(6809): 239-247. ↙
 [7] 刘煜敏, 章军建, 姜健, 等. 当归注射液治疗急性脑梗塞患者的临床疗效观察 [J]. 中国中西医结合杂志, 2004, 24(3): 205-207. ↙
 [8] 章军建, 刘煜敏, 刘汉兴, 等. 阿魏酸钠对大鼠脑缺血-再灌注后氧化性 DNA 损伤的保护作用 [J]. 中国神经科学杂志, 2001, 17(2): 198-200. ↙

(收稿日期: 2008-08-12) ↙

(本文编辑: 张玲)