

腰段连续硬膜外阻滞对大鼠妊娠期高血压疾病防治作用的研究

董有静,高琳琳,崔健君

(中国医科大学附属盛京医院麻醉科,辽宁 沈阳 110004)

[摘要] 目的:观察连续硬膜外阻滞对大鼠妊娠期高血压疾病的防治作用。方法:Wistar大鼠40只复制妊娠期高血压疾病模型,分为4组,于妊娠14d开始,A组皮下注射生理盐水;B组皮下注射左硝基精氨酸甲酯(L-NAME);C组硬膜外腔置管,但不给药;D组硬膜外腔注入布比卡因。监测妊娠13,20d的体质量、食量、尿量、入水量;从妊娠的13d起,应用鼠尾动脉仪每日监测血压;以磺柳酸法检测孕鼠第13,20日尿蛋白浓度;硝酸还原酶法检测子宫、胎盘组织的一氧化氮(NO)含量。结果:孕20d B、C组与A、D组比较体质量增加($P < 0.01$),食量下降($P < 0.01$),入水量无差别($P > 0.05$),尿量下降($P < 0.01$);孕20d B、C组与A、D组比较收缩压、心率均显著增高($P < 0.01$),A组与D组比较心率显著增快($P < 0.01$);孕20d B、C、D组与A组比较尿蛋白含量明显增加($P < 0.01$),D组与B、C组比较明显减少($P < 0.01$);孕20d B、C组与A、D组比较存活率明显下降($P < 0.01$);孕20d A、D组与B、C组比较NO浓度明显增加($P < 0.01$)。结论:腰段连续硬膜外阻滞可能对大鼠妊娠期高血压疾病具有防治作用。

[关键词] 妊娠期高血压疾病;连续硬膜外阻滞

[中图分类号] R714.24

[文献标识码] A

[文章编号] 0258-4646(2007)01-0038-03

Preventive and therapeutic effects of continuous lumbar epidural block in rats with hypertensive disorder complicating pregnancy

DONG You-jing, GAO Lin-lin, CUI Jian-jun

(Department of Anesthesia, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, China)

[Abstract] Objective: To study the preventive and therapeutic effects of continuous lumbar epidural block in rats with hypertensive disorder complicating pregnancy. Methods: The rat model of hypertensive disorder complicating pregnancy was established according to Olson's method in 40 Wistar rats. The rats were injected with normal saline subcutaneously in group A, L-NAME subcutaneously in group B, and Bupivacaine epidurally in group D. The rats in group C received no drug. The body weight, food intake, urine volume, and water intake were recorded on days 13 and 20 of gestation. The blood pressure was monitored with tail-cuff method from day 13 of the gestation. The urine protein content and the levels of nitric oxide in the uterus and placenta on days 13 and 20 of gestation were determined by sulfosalicylic acid test and nitric acid reductase method, respectively. Results: On day 20 of gestation, compared with groups A and D, the body weight increased and the food intake and urine volume decreased in groups B and C (all $P < 0.01$), but no significant difference in water intake was found. The systolic blood pressure and heart rate in groups B and C were significantly higher than those in groups A and D on day 20 of gestation, and the heart rate in group A was significantly higher than that in group D (all $P < 0.01$). The urine protein content in groups B, C, and D was significantly higher than that in group A on day 20 of gestation, and in groups B and C it was significantly higher than that in group D (all $P < 0.01$). Compared with groups A and D, the survival rate and the level of nitric oxide significantly decreased in groups B and C ($P < 0.01$). Conclusion: The continuous lumbar epidural block may have preventive and therapeutic effects in rats with hypertensive disorder complicating pregnancy.

[Key words] hypertensive disorder complicating pregnancy; continuous epidural block

妊娠期高血压疾病(hypertensive disorder complicating pregnancy)是多发于妊娠20周以后的以高血压、水肿、蛋白尿为临床表现,同时伴有多脏器功能受损及胎儿宫内发育迟缓(intrauterine growth retardation, IUGR)的综合征。本实验对妊娠期高血压疾病大鼠行连续硬膜外阻滞,观察该方法对大鼠妊

娠期高血压疾病的防治作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物:选用健康雌性Wistar大鼠40只,体质量230~300g(由本院动物实验室提供),在室温18~28℃,相对湿度40%~70%的屏障系统内饲养,不控制饮食,发情期将雌性大鼠和雄性大鼠(比例为5:1)同笼饲养,每日行阴道涂片,镜下见到精子作为妊娠的第1日。

[基金项目] 辽宁省自然科学基金资助项目(20051042)

[作者简介] 董有静(1967-),男,副教授,博士。

E-mail: dyj1cn@yahoo.com.cn

1.1.2 主要试剂和仪器:左硝基精氨酸甲酯(L-NAME)(Sigma公司);一氧化氮(nitric oxide, NO)试剂盒(南京建成生物工程研究所);磺柳酸(北京分析化学试剂厂);RBp-1型鼠尾动脉测压仪(北京中日友好临床医学研究所);电子天平 AA-250(Penver Instrument Company)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立:参照 OLSON 等的方法,复制妊娠期高血压疾病大鼠模型^[1]。

1.2.2 孕鼠硬膜外腔置管:采用 10%水合氯醛(4 ml/kg)对大鼠进行腹腔注射后取俯卧位,腰部垫高,四肢及头部固定,将其背部剃毛消毒后铺洞巾,在腰椎 1~2 间隙处作一长约 2 cm 纵行切口,并切断其间的韧带,分离第 2 腰椎棘突两侧肌肉,用制备好的无菌导管(直径 0.3 mm,长 20 cm,容量 18~22 μ l)经黄韧带破口插入,向尾侧与脊柱纵轴平行,送入 3 cm,如无清亮的脑脊液外溢即为位于硬膜外间隙。导管固定皮下,造隧道至大鼠颈背部皮肤穿出,接无菌封闭接头,固定。1%利多卡因 20 μ l 缓慢注入,大鼠立即出现双后肢及尾部麻痹,双前肢肌力正常。其后按实验设计给药。

1.2.3 试验动物分组:将孕鼠分 4 组,每组 10 只,均为孕 14 d 给药。对照组(A)每日皮下注射 0.5 ml 生理盐水;实验组(B)皮下注射 L-NAME,每日 2 次,每次 25 mg;假手术组(C)行硬膜外腔置管术,但不给药,余同 B 组;治疗组(D)行硬膜外腔置管术,注入 0.125% 布比卡因,每日 2 次,每次 25 ml,余同 B 组。

1.2.4 观察指标及方法:于妊娠 13,20 d 将孕鼠置于代谢笼内,收集 24 h 尿液并测量体质量、食量、入水量。从妊娠第 13 日起,应用鼠尾动脉仪每日监测血压(测压过程依据产品说明书)。磺柳酸法测孕鼠第 13,20 日尿蛋白浓度。将收集的 24 h 尿液,以 3 000 r/min 离心 15 min 取上清液送本院检验科即时检测。硝酸还原酶法检测子宫、胎盘组织的 NO 含量。剖宫取仔后,计数胎鼠数、活胎数,并计算活胎数占总胎鼠数的百分比即存活率。

1.3 统计学方法

实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,结果采用 SPSS 11.0 软件进行统计学处理,计量资料采用成组设计的 t 检验,ANOVA 检验,计数资料采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 各组孕鼠体质量、食量、尿量、入水量变化比较

孕 13 d 各组孕鼠体质量、食量、尿量及入水量比较无明显差异($P > 0.05$);孕 20 d, A、D 组间, B、C 组间体质量、食量、尿量、入水量比较无明显差异($P > 0.05$)。B、C 组与 A、D 组比较体质量增加,食量下降,尿量下降($P < 0.01$),入水量无明显差异。

2.2 各组孕鼠收缩压、心率变化的比较

孕 13 d 各组孕鼠收缩压、心率无明显差异;孕 20 d B、C 组与 A、D 组比较收缩压、心率均显著增高($P < 0.01$), A、D 组间收缩压无明显差异,但 A 组与 D 组比较心率显著加快($P < 0.01$)。

2.3 各组孕鼠孕 24 h 尿蛋白总量的变化

孕 13 d 各组尿蛋白无显著差异;孕 20 d B、C、D 组与 A 组之间比较尿蛋白明显增加($P < 0.01$), B、C 组与 D 组之间比较显著增加($P < 0.01$), B 组与 C 组比较有显著差异($P < 0.05$)。

2.4 各组孕鼠存活率的比较

B、C 组与 A、D 组比较存活率下降显著($P < 0.01$), B、C 组间, A、D 组间比较无差异。

2.5 各组孕鼠子宫、胎盘 NO 含量变化的比较

B、C 组与 A、D 组比较明显降低($P < 0.05$), A、D 组间, B、C 组间比较无差异。

3 讨论

妊娠期高血压疾病的发病原因及病理生理基础至今尚未完全清楚。越来越多的研究资料表明^[2], 血管内皮损伤及其所释放的一系列血管活性物质在妊娠期高血压疾病发病中起重要作用, 其中 NO 产生减少被认为是影响妊娠期高血压疾病病理生理变化的关键因素。MCCARTHY 等^[3]对孕妇和未孕妇皮下血管进行研究表明, 子宫、胎盘以及脐血管是产生 NO 的主要部位, 而其他部位产生 NO 的能力则较弱。这些表明妊娠期高血压疾病时 NO 的产生释放系统处于抑制状态。胎儿胎盘局部的 NO 合成减少, 胎盘循环阻力升高, 造成慢性缺血缺氧, 从而影响胎儿生长发育。由于子宫胎盘缺血缺氧是导致 IUGR 的重要原因, 而缺氧本身可使 NO 的合成释放减少, 因而 NO 的减少可能是 IUGR 的一个重要环节。WU 等^[4]研究发现 NO 前体 L-精氨酸在胎儿生长中是必须氨基酸, 在胎儿营养及代谢方面起关键作用。血管平滑肌对周围环境变化所发生的反应, 部分是通过内源性 NO 对血管平滑肌的作用来实现的^[5]。

MOLNAR 等^[6]对孕鼠进行实验, 在妊娠后期, 如果给孕鼠连续注射 L-NAME, 孕鼠可发生类似人

类妊娠期高血压疾病时所出现的高血压、蛋白尿、血小板减少、小鼠宫内发育迟缓以及肾脏损害的表现。OLSON 等^[1]制备了重复性很好的妊娠期高血压疾病大鼠模型。本实验的模型就是以此为基础进行改进复制的,并基本符合上述妊娠期高血压疾病大鼠的病理改变。在实验组孕 20 d,即给药后第 6 日出现包括血压升高、水肿、蛋白尿、胎鼠宫内发育迟缓等一系列症状,证明妊娠期高血压疾病大鼠的复制是成功的。

SCHOBELD 等^[7]的研究表明妊娠期高血压疾病是一种交感神经激活状态。在妊娠期高血压疾病的病理生理中,交感神经系统放电加强,血管张力增高,分娩后趋于正常。妊娠期高血压疾病患者血浆、血小板及尿中儿茶酚胺浓度较正常孕妇增高。体外实验证实,用妊娠期高血压疾病孕妇的血浆刺激培养的交感神经元分泌去甲肾上腺素的量较正常孕妇和非孕妇女明显增高。另有实验将怀孕大鼠置于冰上两周,以局部慢性冷刺激来兴奋交感神经,结果大鼠血中去甲肾上腺素浓度升高,发生高血压和蛋白尿,病理检查发现滋养细胞侵蚀能力下降,胎盘局部充血,纤维素样坏死,胎死数增加和胎仔发育受阻^[8]。目前临床上多认为蛋白尿发生于高血压之后,是由于高血压导致肾血管的收缩和痉挛,引起肾组织缺氧,使管壁的通透性增高,同时肾小管的吸收功能不全,也加重蛋白的漏出,使蛋白在尿中出现。同时,蛋白尿的程度及其持续时间与胎婴儿的预后关系更为密切。肾血管痉挛常与子宫血管痉挛同时出现,故由肾血管痉挛所引起的蛋白尿与由子宫血管痉挛所引起的胎盘供血不足、胎盘功能减退是并行的。以往的临床实验也已证实腰段连续硬膜外阻滞可以降低妊娠期高血压疾病患者的血压,增加妊娠期高血压疾病患者的血浆 NO 及雌激素的含量,而后两者同样具有舒张血管的作用。本实验的结果显示治疗组的 24 h 尿蛋白总量与实验组比较明显降低,从而为腰段连续硬膜外阻滞对妊娠期高血压疾病大鼠尿蛋白症状具有明显的改善作用提供了可信的依据。至于治疗组 24 h 尿蛋白总量较对照组仍明显增高可能与该治疗方法还不够完善有关。胎盘抗原与肾脏抗原相似,在动物中可以引起类似子痫前期的肾脏改变,硬膜外阻滞治疗妊娠期高血压疾病的免疫学机制的阐明,可能为该方法应用于临床治疗妊娠期高血压疾病提供更有利的证据。

硬膜外神经阻滞可以节段性地阻滞交感神经传出纤维,引起阻力血管和容量血管扩张^[9]。腰段连续硬膜外阻滞通过应用低浓度的局麻药,可以选择性地阻滞腹部的交感神经。虽然说对腹部的交感神经直接阻滞的方法是最有效的,但在妊娠期无法施行。有实验报道,腰段的硬膜外阻滞和腰交感神经丛阻滞对交感神经的抑制效果是一样的^[10]。临床实验也已证实,腰段脊神经阻滞可增加妊娠期高血压疾病患者血浆 NO、雌二醇的含量。本实验结果显示,腰段硬膜外神经阻滞是完全有可能对妊娠期高血压疾病具有治疗作用。

随着连续硬膜外阻滞镇痛在自然分娩中的应用的不断发展和完善,使该技术应用于临床治疗妊娠期高血压疾病有了良好的前景。

参考文献:

- [1] OLSON GL, SAADO GR, BUHIMSCHI I, et al. The effect of endothelin antagonist on blood pressure in a rat model of preeclampsia [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1999, 181(3): 638-641.
- [2] 乐杰. 妇产科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 97-106.
- [3] MCCARTHY AL, TAYLOR P, GRAVES J, et al. Endothelium-dependent relaxation human resistance arteries in pregnancy [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1994, 171(3): 1309-1315.
- [4] WU G, MEININGER CJ, KNABE DA, et al. Arginine nutrition in development health and disease [J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2000, 3(1): 59-66.
- [5] GARTHWAITE J, CHARLES SL, CHESS-WILLIAM R, et al. Endothelium-derived relaxing factor release on activation of NMDA receptor suggests role as intercellular messenger in the brain [J]. *Nature*, 1988, 336(4): 385-388.
- [6] MOLAR M, SUTO T, TOTH T, et al. Prolonged blockade of nitric oxide synthesis in gravid rats produces sustained hypertension, proteinuria, thrombocytopenia, and intrauterine growth retardation [J]. *Am J Obstet Gynecol*. 1994, 170(3): 1458-1466.
- [7] SCHOBEL HP, THORSTEN F, HENSZER K, et al. Preeclampsia: a state of sympathetic overactivity [J]. *N Engl J Med*, 1996, 335(5): 1480-1485.
- [8] KANAYAMA N, JSUJIMURA R, SHE, et al. Cold induced stress stimulates the sympathetic nervous system, causing hypertension and proteinuria in rats [J]. *Hypertens*, 1997, 15(4): 383-389.
- [9] 刘俊杰、赵俊. 现代麻醉学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997: 631-632.
- [10] FRANK SI, EL-RAHMANY HK, TRAN KI, et al. Comparison of lower extremity cutaneous temperature changes in patients receiving lumbar sympathetic ganglion blocks versus epidural anesthesia [J]. *J Clin Anesth* 2000, Nov, 12(7): 525-530.

[收稿日期] 2006-08-02