

• 实验研究 •

寒邪诱发高血压大鼠脑出血发病中
血管活性因子的变化

刘晓燕* 郭霞珍 李立华 杨云霜

北京中医药大学基础医学院, 北京市朝阳区北三环东路 11 号, 100029)

基金项目: 北京市自然科学基金资助项目 (7072038)

* 通讯作者: liuxy1088@sina.com, 13693318075

[摘要] 目的 研究寒邪导致高血压大鼠发生脑卒中的机制。方法 将 100 只 SD 大鼠随机分为正常组 (30 只), 模型组 (40 只), 假手术组 (30 只)。每组于降温前、降温中、降温后 3 个时间点取材, 采用双肾双夹法复制易卒中型肾血管性高血压模型。通过人工模拟气温的骤降诱发脑卒中, 检测各组大鼠内皮素-1 (ET-1)、血管紧张素 II (Ang II)、精氨酸血管加压素 (AVP)、一氧化氮 (NO) 水平的变化。结果 降温后模型组大鼠 20 只, 发生脑出血的有 13 只 (其中 10 只存活, 3 只死亡), 7 只无明显变化。其他组均无脑卒中发生。气温骤降使正常组大鼠 Ang II 和 AVP 水平上升, 而 NO 水平明显下降 ($P < 0.05$)。模型组大鼠在气温骤降的刺激下血 ET-1、Ang II 和 AVP ($P < 0.05$) 水平均上升, 但 NO 水平与正常组大鼠相反, 不降反升。降温后模型组大鼠 NO、Ang II、AVP 水平较降温前升高, ET-1 水平则较降温前和同时时间点的正常组下降 ($P < 0.05$)。结论 气温骤降促进了高血压大鼠血管舒缩反应性的紊乱, 可能是寒邪诱发高血压状态脑卒中发病的重要机制。

[关键词] 寒邪; 气温骤降; 脑卒中; 高血压; 大鼠; 血管活性因子

Changes of Vasoactive Factors in Rats with Hypertensive Cerebral Hemorrhage Induced by Cold Pathogens

LIU Xiaoyan, GUO Xiazhen, LI Lihua, YANG Yunshuang

(Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029)

ABSTRACT Objective To study the mechanism of stroke in hypertensive rats induced by cold pathogens. **Methods** Totally 100 SD rats were randomized into normal group ($n=30$), model group ($n=40$) and sham operation group ($n=30$). Renovascular hypertension model was established by clipping two sides of renal artery. Stroke was induced by simulating a sudden drop in temperature. Ten rats were randomly selected before, during and after drop in temperature respectively in each group. The level of endothelin-1 (ET-1), angiotensin II (Ang II), arginine vasopressin (AVP) and NO was detected in each group before and after sudden drop in temperature. **Results** After the sudden drop in temperature, 13 rats suffered cerebral hemorrhage in 20 rats of the model group, among which 3 died. Stroke did not attack in other groups. The levels of Ang II and AVP were increased in the normal group, but the level of NO were significantly decreased ($P < 0.05$). The levels of ET-1, Ang II and AVP were significantly increased in the model group ($P < 0.05$), and the level of NO was increased as well. The levels of NO, Ang II, AVP and NO were increased in the model rats, while the level of ET-1 was significantly decreased as compared with that of the normal group at the same time ($P < 0.05$). **Conclusion** The mechanism of stroke in hypertensive rats induced by cold pathogens is due to disorder of angiokinesis.

Keywords cold pathogens; sudden drop of temperature; stroke; hypertension; vasoactive factor

气温下降过于突然或幅度过大时会成为重要的致病诱因, 中医学称其为寒邪。寒主收引, 极易影响人体血脉。早在《素问·举痛论》中就有“经脉流行不止, 环周不休, 寒气入经而稽迟。泣而不行, 客于脉外则血少, 客于脉中则气不通, 故卒然而痛”的论述。现代流行病学研究也发现^[1-4], 气温骤降是脑血管疾病发病的重要启动因素。目前, 尽管有大量的流行病学调查和中医古代文献已经认识到寒邪在

脑卒中(中风)发病中的作用, 但是其发病机理并没有得到充分研究。本研究从与脑卒中发病相关的参与脑血管舒缩调节的因素出发, 通过模拟气温骤降, 探讨寒邪诱发脑卒中的发病机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级 SD 大鼠 100 只, 雄性, 体重 70g~80g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 动物

合格证号:SCSK(京)2006-0009。

1.2 实验药物、试剂与仪器

TTC(染色剂,批号:0765)美国 Amresco 公司产品。内皮素-1(ET-1)放射免疫试剂盒(批号:20081125)、血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)放射免疫试剂盒(批号:20081201)、精氨酸血管加压素(AVP)放射免疫试剂盒(批号:20081130)、一氧化氮(NO)试剂盒(批号:20081202),北京华英生物技术有限公司产品。

大鼠无创血压计(型号 BP-98A,日本 Softron 公司);步入式人工气候试验箱(型号:SLR/W380,重庆万达仪器有限公司); γ 放射免疫分析仪(型号 HH6003,北京核海高技术开发公司);低温高速离心机(型号 Optima MAX,美国 Beckman 公司)。

1.3 动物分组与造模方法

大鼠随机分成模型组(40只)、假手术组(30只)和正常组(30只)。模型组根据改进的双肾双夹法(2k2c)制备成易卒中型肾血管性高血压大鼠模型^[5-6]。操作步骤:3%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,消毒,剑突下0.5cm处向下行腹正中纵行切口,无菌条件下依次暴露下腔静脉、腹主动脉、左肾静脉、右肾动脉,并小心钝性分离出左肾动脉,用一膨大端内直径为0.3mm的银夹套在双肾动脉上。假手术组手术操作过程同上,分离肾动脉后不套银夹。正常组不做任何处理。术后大鼠在室温17℃环境饲养7周,其间每周用大鼠无创血压计在大鼠尾部测量血压1次。造模4周后,模型组大鼠平均血压稳定为200mmHg。

1.4 气温骤降的模拟

采用人工模拟气候箱模拟冬季气温的骤降。方法:术后5周,对所有大鼠按 Longa 5 分制法进行行为学评分。将 Longa=0 即无神经损伤症状的大鼠同时置于人工气候箱中,在温度17℃,相对湿度60%的环境中饲养2周。相对湿度不变,将温度设置为5℃8h(气象学规定,24h内降温10℃以上为寒潮天气;模拟实验的降温过程在30min内完成),之后温度恢复至17℃,第2天重复降温过程1次,随后出箱。

1.5 取材

正常组、假手术组、模型组又各自分成降温前(降温前1天)、降温中(第一次降温中)、降温后(第

2次降温结束后)共9个亚组大鼠,分别按上述3个时间点取材。在降温过程中死亡大鼠放弃取材。对于模型组降温后的大鼠只取发生脑出血的10只,未发生卒中者除外。各组大鼠经腹主动脉取血,分离血浆,-20℃保存待测。

1.6 检测指标

1.6.1 大体观察 各组大鼠采血后快速断头取脑,-20℃冷冻10min,将脑组织切成2mm厚的冠状薄片,先观察出血情况,再TTC染色观察梗死情况。

1.6.2 血管活性因子的测定 大鼠血液离心取血清后入-20℃备用,采用放射免疫法测定 ET-1、AngⅡ和 AVP,采用硝酸还原酶法测定 NO。

1.7 统计学方法

运用 SPSS 11.5 统计软件进行数据分析处理,计量数据采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较用单因素方差检验。

2 结果

2.1 气温骤降诱发脑卒中发病的结果

降温结束后正常组和假手术组大鼠脑卒中发生率均为0;模型组大鼠20只,发生脑出血者13只(其中10只存活,3只死亡),7只无明显变化,脑出血发生率65%,脑梗死发病率为0。

2.2 各组大鼠 ET-1 水平比较

表1示,降温前后,正常组和假手术组大鼠 ET-1 水平变化不明显。气温骤降使模型组大鼠 ET-1 水平略有上升,但降温后的脑出血大鼠 ET-1 水平明显降低,与本组降温中和降温后的假手术组相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表1 各组大鼠 ET-1 水平比较(pg/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	降温前	降温中	降温后
正常组	10	78.423±7.122	81.625±10.609	83.482±10.131
假手术组	10	88.215±16.676	87.084±26.135	86.641±7.255
模型组	10	80.630±29.002	88.803±8.965	72.189±17.053*#

注:与本组降温中比较,* $P < 0.05$,与假手术组同时间点比较,# $P < 0.05$

2.3 各组大鼠 NO 水平比较

表2示,正常组大鼠降温中 NO 水平较降温前明显下降($P < 0.05$),降温后则有所回升。假手术组降温前后变化不明显。模型组大鼠降温前 NO 水平明显低于同时时间点的正常组大鼠($P < 0.05$),降温后模型组大鼠的 NO 水平高于降温前及降温后的正常组,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 2 各组大鼠 NO 水平比较($\mu\text{mol/L}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	降温前	降温中	降温后
正常组	10	40.881 $\pm$ 7.973	32.447 $\pm$ 6.073*	36.562 $\pm$ 9.241
假手术组	10	37.624 $\pm$ 3.565	37.600 $\pm$ 9.219	38.238 $\pm$ 5.486
模型组	10	34.075 $\pm$ 6.719#	38.125 $\pm$ 10.383	40.383 $\pm$ 6.629

注:与本组降温前比较,* $P<0.05$;与正常组同时时间点比较,# $P<0.05$

2.4 各组大鼠 Ang II 水平比较

表 3 示,正常组大鼠降温中 Ang II 水平较降温前略上升,而降温后 Ang II 水平继续升高,明显高于降温前($P<0.01$)和降温中($P<0.05$)。模型组大鼠降温中及降温后 Ang II 水平与降温前比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 3 各组大鼠 Ang II 水平比较(pg/ml , $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	降温前	降温中	降温后
正常组	10	295.400 $\pm$ 8.672	316.521 $\pm$ 58.634	376.366 $\pm$ 23.386* Δ
假手术组	10	329.803 $\pm$ 55.044	364.218 $\pm$ 39.641	360.768 $\pm$ 58.563
模型组	10	288.237 $\pm$ 50.565	296.282 $\pm$ 55.411#	326.516 $\pm$ 70.549

注:与本组降温前比较,* $P<0.01$;与本组降温中比较, $\Delta P<0.05$;与假手术组同时时间点比较,# $P<0.05$

2.5 各组大鼠 AVP 水平比较

表 4 示,降温前后,正常组大鼠 AVP 水平变化不明显。降温使假手术组大鼠降温中 AVP 水平略升高,但降温后 AVP 水平下降明显低于降温前($P<0.05$)和降温中($P<0.01$)。模型组大鼠在降温前 AVP 水平低于同时时间点的正常组和假手术组($P<0.05$),降温则使 AVP 水平与降温前比较明显升高($P<0.01$),降温后模型组大鼠 AVP 水平则较降温中组有所下降。

表 4 各组大鼠 AVP 水平比较(pg/ml , $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	降温前	降温中	降温后
正常组	10	14.945 $\pm$ 2.503	15.720 $\pm$ 6.024	15.239 $\pm$ 3.943
假手术组	10	16.106 $\pm$ 4.824	18.016 $\pm$ 3.684	11.992 $\pm$ 2.887* Δ
模型组	10	11.742 $\pm$ 2.680#	19.097 $\pm$ 5.670*	15.309 $\pm$ 6.044

注:与本组降温前比较,* $P<0.05$;与本组降温中比较, $\Delta P<0.01$;与其他组同时时间点比较,# $P<0.05$

3 讨论

有研究通过观察华北气旋或蒙古气旋的几次从西向东移动过程^[7],发现随着冷峰影响,所经过的银川、北京、郑州、长春、哈尔滨就会接连顺序出现脑血管病患者。这一天气过程与脑血管病发病有相当密切的关系,并且没有显著的地域区别。由此说明气温骤降在脑卒中发病过程中起到重要作用。同时许

多研究也表明^[8-9],气温的骤降(例如寒潮天气)更易引发脑出血的发病。现代研究表明^[9-11],ET-1、Ang II、AVP 和 NO 均与血管的舒缩有关,并都参与了脑卒中的发病。

本研究提示:①气温骤降使正常组大鼠血管收缩相关因子 ET-1、Ang II 和 AVP 水平上升,而与血管舒张相关的 NO 却明显下降,这表明气温的骤降在对血管舒缩的调节上是以收缩血管为主。这与张平等^[12]关于人工寒潮对高血压和正常血压大鼠脑血管收缩反应性的研究结果一致,同时也证明了寒邪对血脉确有收引作用。②模型组大鼠在气温骤降的刺激下血中缩血管物质 ET-1、Ang II 和 AVP 水平也均上升,但其幅度明显高于正常组大鼠。值得注意的是,模型组大鼠血中的 NO 水平与正常组大鼠变化相反,不降反升。由此表明,有卒中倾向的高血压大鼠在气温骤降的刺激下,血管的收缩和舒张作用都在加强,这很可能导致脑血管舒缩的紊乱,进而发生痉挛。这同施晓耕等^[13]观察到的人工寒潮使高血压大鼠血管收缩反应能力降低,易发生痉挛的实验结果相同。③降温后模型组大鼠 Ang II、AVP 水平较降温前升高,而 ET-1 水平则较降温前下降;有舒血管作用的 NO 水平则持续上升,可见降温后发生脑卒中大鼠舒缩血管的调节进一步紊乱。

综上,气温骤降促进了高血压机体血管舒缩反应性的紊乱,导致了血管的痉挛,这可能是寒邪诱发高血压状态脑卒中(脑出血)发病的重要机制。然而本文仅是发现了以气温骤降为代表的寒邪能够通过引发血管的痉挛而促发脑出血,但是气温骤降所引发的血管舒缩反应的紊乱是如何加重高血压大鼠脑血管的损伤,进而发生出血,其机制尚待进一步研究。

参考文献

- [1]Laaidi K, Minier D, Osseby GV, et al. Seasonal variation in strokes incidence and the influence of the meteorological conditions[J]. Rev Neurol, 2004, 160(3): 321 - 330.
- [2]Ohshige K, Hori Y, Tochikubo O, et al. Influence of weather on emergency transport events coded as stroke: population-based study in Japan[J]. Int J Biometeorol, 2006, 50(5): 305 - 311.
- [3]Longo-Mbenza B, Phanzu-Mbete LB, M'Buyamba-Kabangu JR, et al. Hematocrit and stroke in black Africans under tropical climate and meteorological influence[J]. Ann Med Interne, 1999, 150(3): 171 - 177.

2.3 舒通胶囊和麻仁软胶囊对燥结便秘大鼠大肠推进作用的效能

舒通胶囊对燥结便秘大鼠大肠推进作用的效能(35.1 ± 6.0)% 大于麻仁软胶囊(32.2 ± 6.7)%, 但无显著性差异($P > 0.05$), 因此舒通胶囊增强燥结便秘大鼠大肠的推进作用与麻仁软胶囊相当。

3 讨论

针对便秘的主要临床表现之一, 即肠蠕动乏力, 在治疗便秘时则应充分考虑恢复、维护大肠的正常生理功能。大肠主要功能是传化糟粕。Bazzocchi 等^[4]采用同位素和测压方法研究便秘患者结肠转运功能和动力时, 发现部分便秘患者结肠动力降低。舒通胶囊方中大黄苦寒通降, 泻热通便, 荡涤胃肠燥热积滞, 为君药。汪兴伟等^[5]报道, 大黄可使便秘大鼠结肠异常的慢波频率和振幅恢复。火麻仁性味甘平, 质润多脂, 润肠通便, 现代药理学实验证实火麻仁所含脂肪油有轻度兴奋肠管、增加蠕动等作用^[6]; 桃仁活血行滞, 润肠通便。木香行气导滞, 木香煎剂对大鼠肠推进有促进作用, 并呈正相剂量依从关系^[7]; 红花活血祛瘀, 有助于通便。

本实验研究结果表明, 舒通胶囊可显著增强燥结便秘大鼠大肠的推进作用, 且量效呈正相关; 舒通胶囊的效价强度大于麻仁软胶囊, 但差异无统计学意义($P > 0.05$)。本实验研究仅从舒通胶囊对燥结

便秘大鼠大肠推进作用机制做了初步探讨, 至于舒通胶囊对便秘动物结肠肌电有何影响; 及其对便秘动物胃肠激素、神经递质的释放是否有影响, 还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 康永, 李慧娟, 程霞. 舒通胶囊的主要药效学实验研究[J]. 湖南中医学院学报, 2004, 24(10): 132 - 133.
- [2] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991: 320.
- [3] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993: 337.
- [4] Bazzocchi G, Ellis J, Villanueva-Meyer J, et al. Postprandial colonic transit and motor activity in chronic constipation[J]. Gastroenterology, 1990, 98(3): 686 - 693.
- [5] 汪兴伟, 刘海峰, 房殿春, 等. 大黄对慢传输型便秘大鼠结肠肌电影响的实验研究[J]. 消化外科, 2005, 4(2): 108 - 112.
- [6] 任汉阳, 张瑜, 刘红雨, 等. 火麻仁油对便秘模型小鼠抗氧化作用的实验研究[J]. 中国医药学报, 2004, 19(2): 123 - 124.
- [7] 朱金照, 冷恩仁, 陈东风. 木香对大鼠胃肠运动的影响及其机制探讨[J]. 中国中西医结合脾胃杂志, 2000, 8(4): 236 - 246.

(收稿日期: 2011-07-04; 修回日期: 2011-12-06)

[编辑: 行 之]

(上接第 509 页)

- [4] 陈丽明, 袁成林, 李军. 1584 例急性脑血管病患者的发病与季节气温及年龄的关系[J]. 临床神经病学杂志, 1999, 12(3): 163 - 164.
- [5] 刘晓燕, 郭霞珍, 杨云霜, 等. 骤然升温导致脑梗塞发病的血液流变学机制研究[J]. 北京中医药大学学报, 2010, 33(1): 23 - 27.
- [6] 刘晓燕, 郭霞珍, 杨云霜, 等. 气温骤降诱发高血压大鼠脑卒中发病的血液流变学机制研究[J]. 辽宁中医杂志, 2010, 37(8): 1610 - 1612.
- [7] 饶明俐, 张淑琴, 邬英全, 等. 中国七城市监测人群中脑血管病发病与气象因素的关系及其预测预报研究[J]. 中国慢性病预防与控制, 1993, 1(1): 14 - 17.
- [8] 赵瑞祥, 高翔. 杭州地区季节变化与脑血管病关系的调查分析[J]. 中国疗养医学, 2000, 9(3): 1 - 2.
- [9] 杨贤为, 叶殿秀. 我国心脑血管病的医学气象研究[J]. 气象科技, 2003, 31(6): 376 - 380.
- [10] 程丰, 邵国富, 张志霖. 脑卒中患者血中 NO、ET 含量的

改变及其临床意义[J]. 河南实用神经临床杂志, 2002, 5(3): 24 - 25.

- [11] 陈荐, 叶创新. 急性脑梗死患者血浆一氧化氮垂体内素泌乳素的变化研究[J]. 现代医药卫生, 2007, 23(15): 2256 - 2257.
- [12] Sokol SI, Portnay EL, Curtis JP, et al. Modulation of the renin-angiotensin-aldosterone system for the secondary prevention of stroke[J]. Neurology, 2004, 63(2): 208 - 213.
- [13] 张平, 聂亚雄, 夏鹏辉, 等. 易卒中中型肾血管性高血压大鼠血浆 NO 和 TNF- α 的动态变化[J]. 南华大学学报·医学版, 2007, 35(3): 355 - 358.
- [14] 施晓耕, 梁凤萍, 黄如训, 等. 人工寒潮对高血压和正常血压大鼠脑血管收缩反应性的不同影响[J]. 第四军医大学学报, 2007, 28(16): 1468 - 1470.

(收稿日期: 2011-07-20; 修回日期: 2011-12-06)

[编辑: 行 之]