

· 论 著 ·

低压缺氧对原发性高血压大鼠血压的影响

张司兰¹, 徐立群¹, 彭禄荣¹, 韩 威²

(1. 重庆市璧山县人民医院心血管内科 402760; 2. 成都医学院医学检验系实验中心 610083)

摘要:目的 观察低压缺氧对原发性高血压(EH)大鼠血压的影响。方法 将 12 周龄 EH 大鼠随机分为常氧组和低压缺氧组, 低压缺氧分别模拟海拔 4 000 m 和 6 000 m; 于实验第 4、8 周末测量血压, 尾静脉取血检测血管紧张素 II 1 型受体(AT1) mRNA 和血管紧张素转换酶 2(ACE2) 蛋白和 mRNA 的表达。结果 低压缺氧能明显升高 EH 大鼠的血压, 全血 AT1 mRNA、ACE2 蛋白和 mRNA 表达显著增高($P < 0.05$)。结论 低压缺氧能升高 EH 大鼠的血压, 其机制可能与 AT1、ACE2 的表达增高有关。

关键词: 高血压; 血管紧张素 II 1 型受体; 血管紧张素转换酶 2; 缺氧

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2010.24.013

中图分类号: R544.102

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)24-3333-03

Effects of hypobaric hypoxia on blood pressure of essential hypertensive rat

ZHANG Si-lan¹, XU Li-qun¹, PENG Lu-run¹, et al.

(1. Department of Cardiology, Bisan People's Hospital of Chongqing, Chongqing 402760, China;

2. Experimental Center of Department of Medical Laboratory Science, Chengdu Medical College, Sichuan 610083, China)

Abstract: Objective To observe effects of hypobaric hypoxia on blood pressure of essential hypertensive rat. **Methods** The 12 weeks old essential hypertensive rats were randomly divided into hypobaric hypoxia group and normal oxygen concentration group, and the hypobaric hypoxia groups were apart imitated 4 000 m and 6 000 m height. The blood pressure, AT1 mRNA, ACE2 mRNA and protein in blood were measured in fourth week and eighth week. **Results** In hypobaric hypoxia groups, The blood pressure, AT1 mRNA, ACE2 mRNA and protein in blood were increased markedly($P < 0.05$). **Conclusion** hypobaric hypoxia could increase blood pressure of essential hypertensive rat. This maybe be concerned with increase of AT1 mRNA, ACE2 mRNA and protein.

Key words: hypertension; AT1; ACE2; hypoxia

原发性高血压(essential hypertension, EH)是最常见的心血管疾病,其并发症是造成人类死亡的主要原因之一^[1-2]。EH 可引发心、脑、肾等器官的损伤,严重威胁人类健康和生命^[3-4]。EH 是由遗传因素和环境因素共同作用引起的多基因遗传性疾病,其发病机制仍不十分清楚,治疗多限于降压等对症治疗,且疗效有限,须终身服药。本研究发现进驻高原人群中许多个体会导致血压升高,提示低压缺氧因素可能与 EH 发病有关。本研究拟复制高原低压缺氧 EH 大鼠(SHR)模型^[5-6],探讨低压缺氧对 EH 发病的影响,为进一步研究缺氧与 EH 的关系奠定基础。

1 材料与与方法

1.1 材料 12 周龄的 EH 大鼠 24 只,清洁 II 级,雌雄各半,体质量(260±20)g。由中国医学科学院实验动物研究所繁育场提供。

1.2 试剂 血管紧张素转换酶 2(angiotensin-converting II, ACE2)ELISA 试剂盒为美国 santa cruz 公司产品, RNasin、逆转录试剂盒及荧光定量 Realtime PCR 试剂盒为 Takara 公司产品。

1.3 仪器 BP26 动物无创血压测试系统及 BL2820 通用 8 道生物功能实验系统(成都泰盟科技有限公司)、紫外分光光度计(sigma 公司)、LightCycler II 型实时荧光定量基因扩增仪(Roche 公司)等。

1.4 方法

1.4.1 实验分组 将 12 周龄的 EH 大鼠 24 只随机分为常氧

组、4 000 m 缺氧和 6 000 m 缺氧组($n=8$)。其中缺氧组减压条件:低压氧舱模拟海拔 4 000 m 和 6 000 m 高原连续减压 23.5 h(放回平原 0.5 h 打扫清洁及喂食)。连续 8 周,建立低压低氧模型。常氧组动物于舱外同时饲养。另选 8 只相同周龄雄性 Wistar Kyoto 大鼠(WKY)舱外饲养作为对照组。

1.4.2 RNA 提取及荧光定量逆转录聚合酶链反应 取 0.1 mL 全血,加入 1 mL Trizol,用加样枪吹打混匀,室温静置 5 min,加入 0.2 mL 氯仿,摇匀,室温下静置 15 min,4 ℃、10 000 ×g 离心 15 min。将上层水相转移至新的离心管中,加入等体积的异丙醇,摇匀,室温下静置 10 min 后于 4 ℃、10 000 ×g 离心 10 min。弃去上清液,沉淀用 75%乙醇清洗 2 次,将 RNA 沉淀晾干,用 20 μL DEPC 水溶解,-70 ℃保存待用。逆转录反应按试剂盒说明书进行。荧光定量聚合酶链反应:1 μL cDNA 样本作为 PCR 扩增模板,阴性对照扩增模板为去离子水。扩增参数为:94 ℃ 5 min,1 个循环;94 ℃ 30 s,72 ℃ 20 s,35 个循环;72 ℃ 延伸 10 min。采用 primer premier 5.0 软件设计引物,由上海生物工程公司合成,见表 1。

1.4.3 大鼠尾动脉压测量 恒定室温,保持在(20±2)℃,所有大鼠用 BP26 动物无创血压测试系统的尾部加压法。正式测压前,电热加温恒温箱至 37 ℃,然后选择合适的大鼠固定套笼将大鼠固定于其中,并充分暴露大鼠尾部,将其固定在恒温状态下的测压台上,尾部套置红外线测定装置,待大鼠稳定后测压。在大鼠安静状态下,连续测收缩压 3 次,取平均值作为测压结果。测压过程中,动作要轻柔,避免引起大鼠躁动

表 1 引物序列

基因	长度(bp)	上游引物	下游引物	退火温度(°C)
AT1	198	5'GCC TTG GCT GAC TTA TGC TTT 3'	5'AGA CTT CAT TGG GTG GA CGAT 3'	58.0
GAPDH	144	5'AAG AAG GTG GTG AAG CAG GC 3'	5'TCC ACC ACC CTG TTG CTG TA 3'	58.0
ACE2	232	5'TCA GAA TGC GAC CAT CAA GCG 3'	5'CCA AGC CCA GAG CCT ACG ATT 3'	62.0

使血压波动从而影响测量结果。正式测量前 7 d 每天尾部加压测 1 次大鼠尾动脉血压,让大鼠适应每天将要进行的血压测量的环境和刺激。

1.4.4 ELISA 法检测血清中 ACE2 表达 取血清按照试剂盒说明书操作,使用标准抗原作为对照,做标准曲线,检测血清中 ACE2 的表达。

1.5 统计学处理 应用 SPSS10.0 软件进行统计学数据分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,结果比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 低压缺氧对 EH 大鼠血压的影响 与 WKY 对照组比较,EH 大鼠血压不断升高;低压缺氧能升高 EH 大鼠的血压,且随海拔高度的增加,其升高幅度也相应增加。见表 2。

2.2 低压缺氧对 EH 大鼠全血管紧张素 II 1 型受体(angio-

len sin II type,AT1)、ACE2 mRNA 表达的影响 与 WKY 对照组比较,EH 大鼠全血 AT1、ACE2 mRNA 表达显著升高;低压缺氧能升高 EH 大鼠全血 AT1、ACE2 mRNA 表达,且随海拔高度的增加,其升高幅度也相应增加。见表 3。

表 2 低压缺氧对 EH 大鼠血压的影响(mm Hg)

组别	血压	
	第 4 周	第 8 周
对照组	103.92±15.49	109.24±19.38
常氧组	162.54±19.62 ^a	187.72±26.31 ^a
4 000 m 组	205.86±24.30 ^b	225.91±28.26 ^b
6 000 m 组	219.82±25.73 ^b	236.51±26.92 ^b

^a: $P < 0.05$,与对照组比较;^b: $P < 0.01$,与常氧组比较。

表 3 低压缺氧对 EH 大鼠全血 AT1、ACE2 mRNA 表达的影响

组别	AT1/ β -actin mRNA		ACE2/ β -actin mRNA	
	第 4 周	第 8 周	第 4 周	第 8 周
对照组	0.011±0.0017	0.013±0.0021	0.018±0.0025	0.021±0.0038
常氧组	0.031±0.0054 ^a	0.065±0.016 ^a	0.047±0.0079 ^a	0.077±0.013 ^a
4 000 m 组	0.051±0.0062 ^b	0.088±0.019 ^b	0.074±0.018 ^b	0.13±0.029 ^b
6 000 m 组	0.069±0.0097 ^b	0.098±0.016 ^b	0.089±0.017 ^b	0.16±0.031 ^b

^a: $P < 0.05$,与对照组比较;^b: $P < 0.01$,与常氧组比较。

2.3 低压缺氧对 EH 大鼠外周血中 ACE2 蛋白表达的影响 与 WKY 对照组比较,EH 大鼠外周血中 ACE2 蛋白表达显著升高;低压缺氧能升高 EH 大鼠外周血中 ACE2 蛋白表达,且随海拔高度的增加,其升高幅度也相应增加。见表 4。

表 4 低压缺氧对 EH 大鼠外周血中 ACE2 蛋白表达的影响(ng/mL)

组别	ACE2	
	第 4 周	第 8 周
对照组	9.56±1.92	10.34±2.09
常氧组	23.75±4.26 ^a	29.87±4.98 ^a
4 000 m 组	29.84±5.17 ^b	36.94±6.18 ^b
6 000 m 组	35.46±6.37 ^b	47.21±7.34 ^b

^a: $P < 0.05$,与对照组比较;^b: $P < 0.01$,与常氧组比较。

3 讨 论

缺氧对机体的影响日益受到重视,缺氧对机体的许多器官和系统均有影响^[7-8],若长期缺氧或慢性缺氧时,则容易发生肺源性心脏病,右心房肥大甚至右心衰竭,动脉硬化,红细胞代偿性增多使血液黏滞性增强,ATP 生成减少,心律失常或传导阻滞,钙钠离子超载导致氧自由基生成增多,损伤细胞膜受体,影

响脂质糖等物质利用,促进细胞内钠水增多而水肿等。缺氧可使肺小动脉痉挛,产生肺动脉压升高^[9]。严重持续缺氧,使能量产生障碍而引起心肌收缩无力,甚至心肌细胞内酸中毒,最终形成心肌不可逆性损害——心肌纤维化。

EH 是目前最常见的心血管疾病,不仅引起眩晕、头痛等症状,而且可导致心、脑、肾、眼底等一系列靶器官的损害,严重威胁人类健康^[10]。肾素-血管紧张素系统(RAS)在 EH 的发病机制中占有重要的地位^[11]。ACE 是 RAS 中的一个关键酶。参与血管活性肽的代谢,在血压的维持和调节过程中具有重要的作用。它把无活性的 Ang I 转化为具有血管收缩效应的 Ang II,而 Ang II 又是 RAS 中起主要病理作用的组分,可以通过与 AT1 受体结合,使血管收缩,醛固酮分泌增加,造成水钠潴留,从而增加交感神经张力,导致血压升高^[12-13]。

本研究选取 EH 大鼠为研究对象,发现 16 周龄的 EH 大鼠其血压已达到 EH 标准,随着时间的延长,其血压继续升高。本实验模拟 4 000 m 和 6 000 m 海拔低压缺氧环境观察其对自发性高血压(SHR)大鼠血压的影响,发现低压缺氧环境能升高 SHR 大鼠血压,增加外周血中 AT1、ACE2 的表达,其升高 SHR 大鼠血压的机制可能与其增加外周血中 AT1、ACE2 的表达有关。本实验为进一步研究 EH 发病机制和治疗提供了新的思路 and 方向。缺氧与 EH 的发病机制有关,或只是 EH 的

一个加剧因素,有待进一步研究探讨。

参考文献:

- [1] Engstrom G, Hedblad B, Janzon L, et al. Fatality of acute coronary events in relation to hypertension and low-grade inflammation; a population-based cohort study[J]. *J Hum Hypertension*, 2006, 20(8): 581.
- [2] Wexler RK. Treatment of hypertension critical in reducing morbidity and mortality[J]. *JABFM*, 2007, 20(3): 322.
- [3] 冯正平. 血管紧张素与肾小球硬化的研究进展[J]. *重庆医学*, 1998, 27(2): 75.
- [4] 彭献代, 张建儒, 曾祥明, 等. 慢性血液透析患者血浆肾素-血管紧张素及醛固酮的变化[J]. *重庆医学*, 1995, 24(10): 29.
- [5] Sil vestrov VP, Kovalenko EA, Krysin IUS. Pulsed hypoxia in the treatment of obstructive lung diseases[J]. *Ter Arkh*, 1993, 65(3): 9.
- [6] 缪琪蕾. 高原气候降低居室尘埃螨过敏性哮喘小儿的周围血 T 淋巴细胞活性、嗜曙红细胞增多和支气管阻塞[J]. *高原医学杂志*, 1995, 5(3): 35.
- [7] Fagan KA. Selected Contribution: Pulmonary hypertension in mice following intermittent hypoxia[J]. *J Appl Physiol*, 2001, 90(6): 502.
- [8] Fike CD, Slaughter JC, Kaplowitz MR, et al. Reactive oxygen species from NADPH oxidase contribute to altered pulmonary vascular responses in piglets with chronic hypoxia-induced pulmonary hypertension[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2008, 295(5): L881.
- [9] 李南方, 杨婷, 祖菲亚, 等. 男子高血压患者长期饮酒与阻塞性睡眠呼吸暂停综合征[J]. *中华高血压杂志*, 2007, 15(10): 817.
- [10] Mazza A, Zamboni S, Cuppini S, et al. Internal carotid artery fibromuscular dysplasia in arterial hypertension: management in clinical practice[J]. *Blood*, 2008, 17(5): 274.
- [11] 叶自林, 何作云, 袁发焕, 等. 血管紧张素-(1-7)对二肾一夹高血压大鼠肾保护作用及机制探讨[J]. *重庆医学*, 2004, 33(4): 557.
- [12] 杨天德, 陶军, 吴悦维, 等. 42 例麻醉期间心跳、呼吸骤停的原因与救治[J]. *重庆医学*, 2007, 36(16): 1064.
- [13] 衣香明, 郭涛, 杜彦辉, 等. ACE 基因多态性与中青年缺血性脑卒中关系的探讨[J]. *重庆医学*, 2006, 35(10): 916.
- (收稿日期: 2010-07-08 修回日期: 2010-08-05)
-
- (上接第 3332 页)
- et al. Roscovitine up-regulates p53 protein and induces apoptosis in human HeLaS(3) cervix carcinoma cells[J]. *J Cell Biochem*, 2008, 105(5): 1161.
- [5] Takita M, Furuya T, Sugita T, et al. An analysis of changes in the expression of cyclins A and B1 by the cell array system during the cell cycle: comparison between cell synchronization methods[J]. *Cytometry A*, 2003, 55(1): 24.
- [6] Kurose A, Tanaka T, Huang X, et al. Synchronization in the cell cycle by inhibitors of DNA replication induces histone H2AX phosphorylation: an indication of DNA damage[J]. *Cell Prolif*, 2006, 39(3): 231.
- [7] Takita M, Furuya T, Sugita T, An analysis of changes in the expression of cyclins A and B1 by the cell array system during the cell cycle: comparison between cell synchronization methods[J]. *Cytometry A*, 2003, 55(1): 24.
- [8] Shewach DS, Lawrence TS. Antimetabolite radiosensitizers[J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(26): 4043.
- [9] Cohen EE, Haraf DJ, Kunnnavakkam R, et al. Epidermal growth factor receptor inhibitor gefitinib added to chemoradiotherapy in locally advanced head and neck cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(20): 3336.
- [10] Norden AD, Drappatz J, Wen PY. Advances in meningioma therapy[J]. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2009, 9(3): 231.
- [11] Seiwert TY, Haref DJ, Cohen EE, et al. Phase I study of bevacizumab added to fluorouracil and hydroxyurea-based concomitant chemoradiotherapy for poor-prognosis head and neck cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(10): 1732
- [12] Janot F, de Raucourt D, Benhamou E, et al. Randomized trial of postoperative reirradiation combined with chemotherapy after salvage surgery compared with salvage surgery alone in head and neck carcinoma[J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(34): 5518.
- [13] González-Cortijo L, Carballo N, González-Martín A, et al. Novel chemotherapy approaches in chemoradiation protocols[J]. *Gynecol Oncol*, 2008, 110(3 Suppl 2): S45.
- [14] Rose PG, Ali S, Watkins E, et al. Long-term follow-up of a randomized trial comparing concurrent single agent cisplatin, cisplatin-based combination chemotherapy, or hydroxyurea during pelvic irradiation for locally advanced cervical cancer: a Gynecologic Oncology Group Study[J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(19): 2804.
- [15] 朱宇熹, 陈绪元, 陈晓品. 同步放、化疗治疗Ⅲ期非小细胞肺癌的研究进展[J]. *重庆医学*, 2002, 31(10): 1000.
- (收稿日期: 2010-06-23 修回日期: 2010-08-25)