

· 基础研究 ·

## 高血压大鼠穹隆下器室管膜扫描电镜特征\*

郭建美<sup>1</sup>, 郭利民<sup>2</sup>, 曹翠丽<sup>3</sup>, 马常升<sup>3△</sup>

(1. 邢台医学高等专科学校解剖教研室, 河北邢台 054000; 2. 河北省邢台市人民医院关节骨科 054000; 3. 河北医科大学神经生物学研究室, 河北石家庄 050017)

**摘要:**目的 观察高血压大鼠穹隆下器室管膜游离面扫描电镜特征。方法 选择雌性 Wistar 大鼠 40 只分为实验组( $n=30$ )和对照组( $n=10$ )。实验组予以左旋硝基精氨酸(L-NNA)15 mg/(d·kg), 分别于 8:00、20:00 腹腔注射, 制备高血压动物模型。于用药 2(10 只)、4(10 只)、8 周(10 只)常规经心灌注固定、取脑。对照组不做任何处理。用扫描电镜观察高血压大鼠穹隆下器室管膜的特征。结果 扫描电镜下主要表现为室管膜细胞形态改变, 过渡区室管膜上纤维网排列紊乱、断裂, 甚至消失; 中央区室管膜上分泌泡先增加后减少。结论 高血压大鼠穹隆下器室管膜细胞和室管膜上结构存在超微结构的损伤, 提示以上形态学的改变和高血压的变化有关。

**关键词:**穹隆下器; 高血压; 扫描电镜

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2012.13.021

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)13-1297-02

## Scanning electron microscopic observation on ependyma of subformal organ in hypertensive rats\*

Guo Jianmei<sup>1</sup>, Guo Limin<sup>2</sup>, Cao Cuili<sup>3</sup>, Ma Changsheng<sup>3△</sup>

(1. Department of Anatomy, Xingtai Medical College, Xingtai, Hebei 054000, China; 2. Department of Orthopedic Joint, Xingtai People's Hospital, Xingtai, Hebei 054000, China; 3. Department of Neurobiology, Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei 050017, China)

**Abstract:** Objective To observe the ependymal changes of subformal organ(SFO) in the hypertensive rats by scanning electron microscope. **Methods** 40 healthy male Wistar rats were chosen randomly and divided into two groups: the experimental group( $n=30$ ) and the control group( $n=10$ ). The experimental rats were treated with 15 mg/(d·kg<sup>-1</sup>) of L-nitroarginine(L-NNA) by twice intraperitoneal injection at 8:00 AM and 8:00 PM for preparing the animal model. The experimental group was performed the conventional cardiac perfusion and fixation in 2(10 cases), 4(10 cases) and 8 weeks(10 cases) after drug administration, then the rat brain was taken out. The control group had no treatment. The ependymal characteristics were observed by scanning electron microscope. **Results** The main manifestations of scanning electron microscope were the morphological changes of ependymal cells, which including disarranging, breakage or even disappearing of supraependymal fiber networks distributed in the rostral zone and transition zone of SFO, the secretory granules of the ependymal cells increased firstly and then decreased in quantity in the central zone. **Conclusion** The ultrastructure injuries of ependymal cells and supraependymal structures of SFO exist, which suggests that the changes might be related with hypertension.

**Key words:** subformal organ; hypertension; SEM

高血压是最常见的心、脑血管疾病。它以动脉血压升高为功能改变特征, 以动脉硬化为主要病理改变特征, 可并发心、脑、肾等靶器官的器质性改变。目前, 国内很多研究已证实高血压时心、脑、肾等器官发生了明显的形态学改变<sup>[1-8]</sup>, 但有关室周器官的形态学研究很少。现将本研究观察高血压状态下穹隆下器(subformal organ, SFO)脑室面的形态学变化报道如下。

## 1 材料与与方法

**1.1 动物模型制备** 选择雌性 Wistar 大鼠(清洁级, 体质量 230~250 g, 由河北医科大学动物中心提供)40 只分为实验组( $n=30$ )和对照组( $n=10$ )。实验组予以左旋硝基精氨酸(L-NNA)15 mg/(d·kg), 分别于 8:00、20:00 腹腔注射, 制备高血压动物模型。于用药 2(10 只)、4(10 只)、8 周(10 只)常规经心灌注固定、取脑。对照组不做任何处理。

**1.2 扫描电镜样品制备** (1)取材与固定。10%水合氯醛(0.3 mL/100 g)腹腔注射麻醉, 开胸, 经左心室插入主动脉,

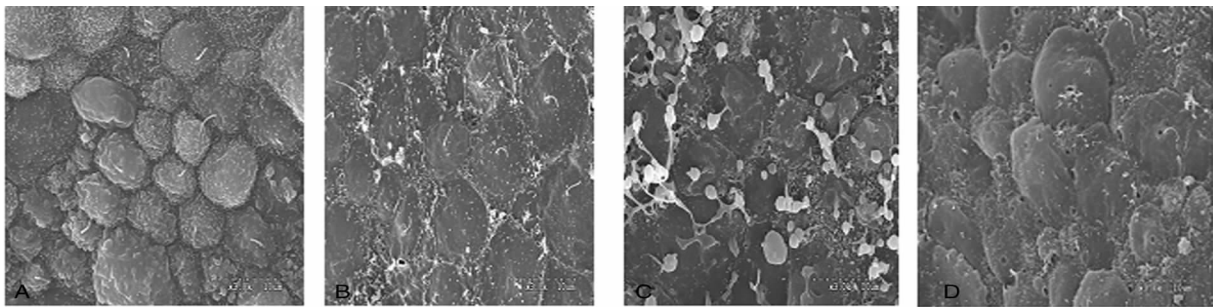
剪去右心耳, 灌注生理盐水, 待冲干净血后, 灌注 2%多聚甲醛和 2.5%戊二醛的混合固定液约 300 mL, 取出整脑, 在上述固定液中浸泡固定 12 h, 在视交叉前后各 3 mm 处做冠状切口去除 SFO 前端脑组织, 再在两侧距离正中矢状面 3 mm 处各做一与正中矢状面平行的切口, 去除 SFO 两侧的脑组织, 将腹侧间脑结构去除, 所暴露的弧形面即为第三脑室的顶面, 弧形面正中的丘状突起即 SFO。(2)洗涤。0.01 M 磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS)充分冲洗固定好的组织块。(3)放入盛有 1%单宁酸的培养器中。室温静置 30 min。目的为增加样品的导电性。(4)加入 1%钨酸, 4℃固定 1 h(1%钨酸需现配现用, 储存液为 2%钨酸, 用 0.2 M PBS: 2%钨酸=1:1 配成 1%钨酸)。(5)梯度乙醇脱水。50%、60%、70%、80%、90%、95%、100%乙醇 I、II、III 各约 20 min(室温)。(6)75%、100%叔丁醇各 20 min(室温)。(7)100%叔丁醇封存, -4℃冰箱冷冻过夜。(8)真空干燥, IB-3 离子喷镀仪镀膜。(9)日立 H-3500S 扫描电子显微镜观察并摄片。

## 2 结 果

SFO 室管膜细胞的脑室面无纤毛或有少量单根纤毛;表面平整,易与周围脑室面相区别,室管膜细胞轮廓清晰。SFO 从嘴侧向尾侧分为嘴侧区、过渡区、中央区、尾侧区。对照组 SFO 的嘴侧区和过渡区室管膜细胞表面较平滑;中央区的室管膜细胞呈卵石样向脑室腔面隆起,室管膜细胞表面可见较密集的微绒毛,并有单根粗长的纤毛,细胞间界限清晰(图 1A)。实验组用药 2 周大鼠,室管膜细胞的轮廓仍可辨认,细胞间界限尚清晰,大多数细胞胞体饱满;室管膜表面微绒毛或乳头状突起数量减少(图 1B);中央区个别室管膜细胞可见分泌颗粒。实验组用药 4 周大鼠,细胞间界限不清楚,细胞胞体普遍饱满;室管膜表面微绒毛数量稀疏,长度变短;中央区室管膜细胞形

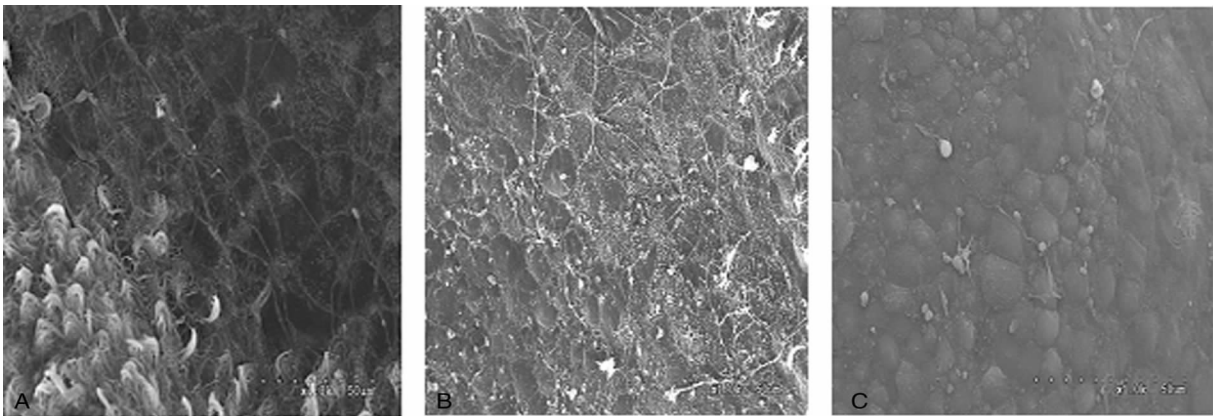
态不规则,出现密集分泌颗粒,分泌颗粒呈球形,大小不一(图 1C)。实验组用药 8 周大鼠,细胞普遍形态不规则,过渡区室管膜细胞表面出现破口,中央区室管膜细胞分泌颗粒少(图 1D)。

对照组在室管膜细胞表面可见丰富的纤维网,主要分布在嘴侧区和过渡区。纤维网由粗细较均匀、长短规整的纤维构成,呈交错状,网眼密集(图 2A)。实验组用药 2 周大鼠可见分布于嘴侧区和过渡区的纤维网出现紊乱,纤维网由粗细不等、长短不一的纤维构成,网眼稀疏(图 2B)。实验组用药 4 周大鼠,分布于嘴侧区和过渡区的纤维网出现断裂或消失,可见单根的纤维(图 2C)。实验组用药 8 周大鼠,分布于嘴侧区和过渡区的纤维网完全消失。



A: 对照组; B: 实验组用药 2 周; C: 实验组用药 4 周; D: 实验组用药 8 周。

图 1 两组大鼠室管膜细胞分泌泡图(扫描电镜  $\times 1.0 \text{ K}$ )



A: 对照组; B: 实验组用药 2 周; C: 实验组用药 4 周。

图 2 两组大鼠室管膜上纤维网图(扫描电镜  $\times 150$ )

## 3 讨 论

SFO 位于第三脑室前背侧壁、海马连合腹侧穹隆脚分歧处,在 2 个侧脑室与第三脑室顶之间,在垂直轴上或矢状切面上,恰好平对室间孔平面,属于感受性室周器官(sensory circumventricular organs, SCVOs)<sup>[9]</sup>。多年来人们对其形态结构已有了较深的认识,有研究表明,SCVOs 即可能作为脑的开窗来感受外周血携信息的变化<sup>[9]</sup>。SFO 缺乏血脑屏障,与其他部位相比可能会更早的接触血携信息,而提前发生改变。Gaillard<sup>[10]</sup>研究证实,腹腔注射内毒素(LPS)主要经室周器官等缺乏血脑屏障的位点、血脑屏障位点及某些传入性神经纤维(如迷走神经)入脑。朱望东等<sup>[11]</sup>研究发现,在应用不同剂量的 LPS 后,SFO 部位较早出现一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)蛋白表达;Quan 等<sup>[12]</sup>曾观察了在外周给予 LPS 后,白细胞介素(IL)-10 mRNA 表达的时程变化,发现 SFO 处为最早表达的部位之一,并从 SFO 处起始逐渐向脑内表达到高峰。

电镜下观察高血压不同时期 SFO 的形态学改变不同,实验组用药 2 周大鼠,SFO 形态已经发生改变,表现为多数室管膜细胞饱满,中央区室管膜细胞出现分泌现象。实验组用药 4 周大鼠,SFO 形态改变最明显,表现为细胞普遍饱满,中央区室管膜细胞出现大量分泌颗粒。实验组用药 8 周大鼠,SFO 形态继续发生改变,表现为中央区室管膜细胞分泌颗粒减少,过渡区室管膜细胞表面出现破口。依据“免疫-神经-内分泌”网络学说<sup>[13]</sup>,作为内分泌器官的 SFO 在接受外来刺激后,必然引起其内分泌状态的改变,或是增强,或是减弱。从扫描电镜的实验结果来看,实验组用药 4 周大鼠,中央区室管膜细胞出现大量分泌颗粒,表明 SFO 的分泌功能被大大地增强了,而过度的功能亢进也会导致细胞过早的死亡<sup>[14]</sup>,故在实验组用药 8 周大鼠,过渡区室管膜细胞表面出现破口。曹翠丽等<sup>[15]</sup>也曾发现在病程的不同阶段 SFO 的许多室管膜上皮细胞出现胞膜破裂,呈火山口样表现。

(下转第 1301 页)

大剂量组表达则协同减低, Smad7 则与同期 TGF- $\beta$ 1 不一致, 提示下调 Smad3 的表达可以抑制 TGF- $\beta$ 1 的部分效应, 而上调 Smad7 表达则可抑制肝纤维化形成。此外, TFL 大剂量组中 TGF- $\beta$ 1、Smad3 表达较模型组减低, 而 Smad7 表达则较模型组增加, 但是 TFL 小剂量组中 TGF- $\beta$ 1、Smad3、7 表达与模型组比较差异无统计学意义, 提示 TFL 大剂量组中三者的表达优于其他组。

综上所述, TFL 抗肝纤维化的机制可能与抑制 TGF- $\beta$ 1、Smad3 在肝组织中的表达, 上调 Smad7 的表达, 阻止 TGF- $\beta$ 1 活化 HSC, 减少 ECM 的沉积, 进而减轻肝纤维化的程度有关。

#### 参考文献:

- [1] Liu H, Wei W. TGF- $\beta$  signal pathway and anti-TGF- $\beta$  strategies for treatment of liver fibrosis[J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2007, 23(5): 561-565.
- [2] Yan X, Liu Z, Chen Y. Regulation of TGF-beta signaling by Smad7[J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2009, 41(4): 263-272.
- [3] 孙杨忠, 耿小平. 阻塞性黄疸大鼠胆总管直径、压力及血清胆红素代谢变化的观察[J]. *肝胆外科杂志*, 2003, 11(2): 141-142.
- [4] 中华肝病学会肝纤维化学组. 肝纤维化诊断及疗效评估共识[J]. *中华肝病杂志*, 2002, 10(10): 327-328.
- [5] 徐庆, 宋芸娟, 李丽亚. 荔枝核总黄酮的抗鸭乙型肝炎病毒作用[J]. *世界华人消化杂志*, 2005, 13(17): 2082-2085.
- [6] 邓志军, 郭洁文, 潘竟铨. 荔枝和荔枝核及其有效部位的

药理及药效学作用[J]. *今日药学*, 2009, 19(5): 7-9.

- [7] 赵永忠, 漆志平, 徐庆. 荔枝核总黄酮抗胆管结扎大鼠肝纤维化的作用及机制[J]. *世界华人消化杂志*, 2010, 18(20): 2084-2089.
- [8] 赵永忠, 肖绪华, 漆志平. 荔枝核总黄酮对大鼠肝纤维化 TGF- $\beta$ 1 及 CTGF 表达的影响[J]. *河北医药*, 2010, 32(10): 1194-1196.
- [9] Gaca MD, Zhou X, Issa R, et al. Basement membrane-like matrix inhibits proliferation and collagen synthesis by activated rat hepatic stellate cells; evidence for matrix-dependent deactivation of stellate cells [J]. *Matrix Biol*, 2003, 22(3): 229-239.
- [10] Kremer M, Perry AW, Milton RJ, et al. Pivotal role of Smad3 in a mouse model of T cell mediated hepatitis[J]. *Hepatology*, 2008, 47(1): 113-126.
- [11] Yokote K, Kobayashi K, Saito Y. The role of Smad3-dependent TGF-beta signal in vascular response to injury [J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2006, 16(7): 240-245.
- [12] Latella G, Vetuschi A, Sferra R, et al. Targeted disruption of Smad3 confers resistance to the development of dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis in mice[J]. *Liver Int*, 2009, 29(7): 997-1009.
- [13] Yu LM, Lv B. TGF- $\beta$ /smad signaling pathways in hepatic fibrosis[J]. *Int J Dig Dis*, 2008, 28(5): 397-400.

(收稿日期: 2011-12-29 修回日期: 2012-01-29)

(上接第 1298 页)

#### 参考文献:

- [1] 李海英, 佟长青, 李国强. 高血压性心肌肥大大鼠心肌超微结构的研究[J]. *现代中西医结合杂志*, 2003, 12(11): 1140-1142.
- [2] 李红, 徐健, 徐鹏霄. 自发性高血压大鼠室周灰质中 NOS 阳性神经元的形态学观察[J]. *武警医学院学报*, 2007, 16(2): 114-116.
- [3] 杨靖, 王玉霞, 曹翠丽, 等. 高血压大鼠第四脑室外侧隐窝室管膜细胞超微结构变化的电镜观察[J]. *电子显微学报*, 2011, 30(3): 227-231.
- [4] 黄璟堂, 黄至斌. 自发性高血压大鼠左心室肥厚心肌 KV4.2 表达的动态变化[J]. *临床医学工程*, 2010, 17(8): 28-29.
- [5] 安欣, 张建中, 杨侃, 等. 两肾一夹型与自发性高血压大鼠肾病变的比较[J]. *西安交通大学学报*, 2010, 31(4): 437-440.
- [6] 郝铁来, 刘英洁. 替米沙坦与贝那普利对原发性高血压患者肾功能的影响[J]. *郑州大学学报: 医学版*, 2008, 43(5): 1000-1002.
- [7] Zhou X, Frohlich ED. Analogy of cardiac and renal complications in essential hypertension and aged SHR or L-NAME/SHR[J]. *Med Chem*, 2007, 3(1): 61-65.
- [8] Wu MY, Ma XJ, Yang C, et al. Effects of allisartan, a new AT(1) receptor blocker, on blood pressure and end-organ damage in hypertensive animals[J]. *Acta Pharmacol Sin*,

2009, 30(3): 307-313.

- [9] Johnson AK, Gross PM. Sensory circumventricular organs and brain homeostatic pathways [J]. *J FASEB*, 1993, 7(8): 678-686.
- [10] Gaillard RC. Interaction between the hypothalamo-pituitary-adrenal axis and the immunological system[J]. *Neurol Sci*, 2001, 24(6): 320-324.
- [11] 朱望东, 马常升, 曹翠丽, 等. 不同免疫状态下穹隆下器的一氧化氮合酶细胞的变化[J]. *解剖学杂志*, 2001, 24(2): 132-135.
- [12] Quan N, Whiteside M, Herkenham M. Time course and localization patterns of interleukin-1 messenger RNA expression in brain and pituitary after peripheral administration of lipopolysaccharide[J]. *Neurol Sci*, 1998, 83(1): 281-293.
- [13] 朱长庚. 免疫-神经-内分泌网络[J]. *解剖学报*, 1993, 24(2): 216-220.
- [14] Heneka MT, Feinstein DL, Galea E, et al. Peroxisome proliferators-activated receptor gamma agonists protect cerebellar granule cells from cytokine-induced apoptotic cell death by inhibition of inducible nitric oxide synthase [J]. *J Neuroimmunol*, 1999, 100(1/2): 156-168.
- [15] 曹翠丽, 杨天祝, 朱望东. 实验性变态反应性脑脊髓炎大鼠穹隆下器的扫描电镜观察[J]. *解剖学杂志*, 2002, 25(3): 293-294.

(收稿日期: 2011-12-15 修回日期: 2012-01-18)