

• 基础实验研究论著 •

兔迷走神经压迫后对血浆血管紧张素 II 及其 1 型受体 mRNA 表达水平的检测*

呼格吉乐¹, 董 莉¹, 张彩虹¹, 渠志臻¹, 高乃康^{2△}

(内蒙古医学院附属医院: 1. 检验科; 2. 神经外科, 内蒙古呼和浩特 010050)

摘要:目的 通过手术建立兔颈总动脉对迷走神经的持续压迫的动物模型, 检测血浆血管紧张素 II (Ang II) 水平及其 1 型受体(AT1R)mRNA 在心肌中的表达水平。方法 构建手术组动物模型, 将 25 只新西兰兔的迷走神经与颈部结缔组织固定, 造成颈总动脉对迷走神经的持续压迫。同时将 25 只未经手术处理的新西兰兔作为对照组。采用放射免疫法检测两组新西兰兔血浆 Ang II 的水平, 用 RT-PCR 法检测两组新西兰兔心肌 AT1R mRNA 的表达水平。结果 手术组兔血浆 Ang II 水平和心肌 AT1R mRNA 的表达水平均高于对照组($P < 0.05$)。结论 兔颈总动脉对迷走神经的持续压迫会刺激左侧颈部迷走神经, 导致兔血浆 Ang II 和心肌 AT1R mRNA 表达水平的增高。

关键词:迷走神经; 血管紧张素 II; 受体, 血管紧张素, 1 型; 兔

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.05.002

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)05-0515-02

The detection of the levels of plasma Ang II and AT1R mRNA expression
after the compression of rabbit's vagus nerve*

Huge Jile¹, Dong Li¹, Zhang Caihong¹, Qu Zhizhen¹, Gao Naikang^{2△}

(1. Department of laboratory medicine; 2. Department of Neurosurgery, Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia 010050, China)

Abstract: **Objective** To establish an animal model by fixing vagus nerve with connective tissue to make an cross-compression of vagus nerve and arteria carotis, and then to detect the levels of Ang II and the mRNA expression of AT1R. **Methods** As the surgery group, 25 New Zealand rabbits' vagus nerves were fixed with connective tissue to make persistent compression of vagus nerve by arteria carotis. Radioimmunoassay was applied to detect Ang II level and RT-PCR to detect the expression of AT1R mRNA. Meanwhile 25 New Zealand rabbits without surgical treatment were used as controls. **Results** The level of plasma Ang II and myocardial AT1R mRNA expression were enhanced significantly compared with controls. **Conclusion** The persistent compression from arteria carotis to the demyelinated vagus nerve of left cervical part could enhance the levels of Ang II and mRNA of AT1R.

Key words: vagus nerve; angiotensin II; receptor, angiotensin, type 1; rabbit

原发性高血压病是目前威胁人类的最重要疾病之一, 它是许多因素共同作用的结果, 目前该疾病具体的病理、生化机制尚未完全明了^[1-2]。肾素-血管紧张素系统是体内极其重要的体液调节系统, 具有很高的生物活性, 其中血管紧张素(Ang II)是维持和升高血压的关键因子, 通过与其受体结合才能发挥生理作用^[3]。刘佳等^[4]认为, 迷走神经受压迫可能导致血压升高, 为此笔者通过手术造成颈总动脉对迷走神经的长期稳定的压迫, 进而检测兔血浆 Ang II 和心肌 AT1R mRNA 表达的水平, 为高血压的预防和治疗的研究提供新的实验资料。

1 材料与方法

1.1 材料 新西兰大白兔购自内蒙古大学动物中心。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立 手术组: 将 25 只新西兰兔经 10% 水合氯醛全麻成功后, 取仰卧位, 颈部正中切开, 在气管左侧顺着肌肉之间的纤维间隔向下分离颈动脉鞘, 分离颈总动脉和迷走神经主干, 将 1~2 mm 长的铬制肠线轻置于迷走神经周围,

然后将迷走神经与一侧的肌肉固定, 使其与颈总动脉形成交叉压迫, 逐层缝合切口。非手术组为 25 只未经手术处理的新西兰兔, 年龄、体质量与手术组无统计学差异。

1.2.2 RT-PCR 检测兔心肌 mRNA 的表达水平 使用 RNA 提取试剂盒(TaKaRa 公司)提取试剂盒提取细胞总 RNA, 然后用 RNA PCR Kit(AMV) Ver. 3.0 试剂盒(TaKaRa 公司)进行 RT-PCR 反应。反应产物作 2% 琼脂糖凝胶电泳后, 采用凝胶分析软件通过分析目的条带与内参条带的灰度值比值估算 mRNA 的表达水平。Ang II 检测试剂盒购自上海研生生化试剂有限公司。

1.2.3 血浆中 Ang II 含量测定 腹腔注射麻醉后, 通过腹主动脉采血。采得血浆标本于 4℃, 3 200 r/min 离心 5 min, 用碘标记的放射免疫法试剂盒检测血浆 Ang II 水平, 严格按照试剂盒说明书操作。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验, 显著性检验水准

* 基金项目: 内蒙古医学院附属医院重大课题资助项目(NYFY ZD 2006003)。 作者简介: 呼格吉乐, 男, 检验师, 主要临床检验基础研究。△ 通讯作者, E-mail: hujile07@163.com。

为 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 RT-PCR 检测心肌 AT1R mRNA 的表达 以 β -actin 作内参对 PCR 产物进行凝胶电泳检测,在 1、3 泳道约 225 bp 处可见一条带,与已知的 β -actin 片段大小一致;2、4 泳道约 720 bp 处出现特异性条带,符合已知的 AT1R mRNA 扩增片段大小,见图 1。采用凝胶分析软件测量条带的灰度值,得出手术组与非手术组心肌 AT1R mRNA 表达水平分别为 1.16 ± 0.12 和 2.19 ± 0.17 ,二者差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

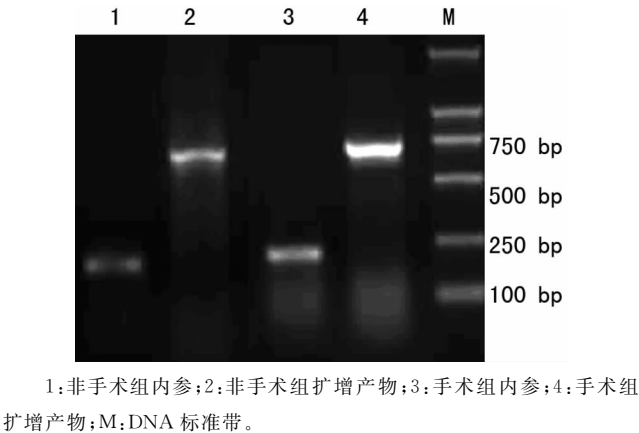


图 1 AT1R mRNA 的表达

2.2 兔血浆中 Ang II 值的浓度比较 见表 2。

表 2 两组新西兰兔手术前后不同时间
血浆 Ang 水平比较 (pg/mL)

组别	手术前	手术后 2 周	手术后 3 周	手术后 4 周
手术组	97±19	212±51*	201±44*	209±45*
非手术组	94±18	101±18	96±19	97±21

*: $P < 0.05$, 与非手术组比较。

3 讨 论

头端延髓腹外侧区 (RVLM) 是中枢神经系统对心血管活动调节的最后通路,存在有发放紧张性冲动的血管运动神经元^[5]。RVLM 的血管运动神经元活动能够使得压力敏感性神经元活动,从而导致机体基础血压下降^[6]。本实验原本拟采用的方法是根据“神经源性高血压”假说,在 RVLM 迷走神经根入脑干区植入球囊来建立动物模型,有国内的学者曾利用此方法建立了犬的高血压动物模型。但是由于兔脑部太小且实验方法过于复杂以致导致兔的死亡率极高,所以此方法不适合用于建立小动物的实验模型。因此笔者采用了经颈动脉制作神经源性高血压动物模型,此方法比较适合小型动物模型的建立,并用于对高血压的基础研究。以上两种方法都是有效的建立高血压动物模型的方法^[4]。

原发性高血压是一种遗传、环境、肥胖、高血糖、尿酸等

因素相互作用而形成的多基因疾病^[7],Bourassa 等^[8]认为高血压发病的原因之一可能就是由于 RVLM 的作用 Ang II 浓度升高。肾素-血管紧张素系统在该疾病的发病中起着重要的作用^[7,9]。血管紧张素原在肾素的作用下水解产生 Ang I,进而在血管紧张素转换酶作用下变成 Ang II^[10]。当体内的 Ang II 水平升高时,Ang II 可使血管内皮受损,使血管通透性增大,最终使得血压升高。AT1R 通过影响 Na^+/H^+ 交换、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换等机制引起血管收缩,促进血管平滑肌细胞增殖和迁移,对维持血压及靶器官损害有着重要作用^[11]。

本实验通过颈动脉压迫兔迷走神经制作了原发性高血压动物模型。与对照组比较,手术组兔血浆 Ang II 水平及其 AT1R mRNA 的表达水平增高,本研究为高血压的产生机制和治疗提供了新的实验资料。

参考文献

[1] 刘洁琳,楼煜清,刘阔,等. WNK4 基因单核苷酸多态性与原发性高血压相关性研究进展[J]. 心肺血管病杂志,2011,30(6):54-57.

[2] 王尚才,刘阔,楼煜清,等. 醛固酮合酶基因多态性与血管紧张素转换酶抑制剂降压疗效的相关性研究[J]. 心肺血管病杂志,2011,30(4):293-296.

[3] 赵希军,赵爱玲,刘现亮,等. 兔急性心肌梗死再灌注后无复流与血管紧张素 II、缺血时间的关系[J]. 滨州医学院学报,2011,34(5):325-329.

[4] 刘佳,夏大胜. 经颅及颈动脉制作神经源性高血压模型的比较研究[J]. 天津医科大学学报,2011,17(2):207-209.

[5] 李宏宝,鲁彦,郑天珍. 头端延髓腹外侧区与原发性高血压[J]. 中华高血压杂志 2011,19(10):917-919.

[6] 钟明奎. 延髓腹外侧头端活性氧介导室旁核血管紧张素 II 的交感兴奋作用[J]. 中国老年学杂志,2011,6(31):2008-2011.

[7] 杨文娟. 尿酸水平与原发性高血压相关性的临床研究[J]. 实用心脑血管病杂志,2012,6(20):939-940.

[8] Bourassa EA, Sved AF, Speth RC. Angiotensin modulation of rostral ventrolateral medulla (RVLM) in cardiovascular regulation [J]. Mol cell Endocrinol, 2009, 302(2):167-175.

[9] 倪挺,刘奇良,于浩. 一氧化氮和血管紧张素 II 在原发性高血压中的作用[J]. 心血管康复医学杂志,2012,21(2):147-149.

[10] Maan Z, Patel D, Moraitis K, et al. Comparison of stent-related symptoms between conventional Double-J stents and a new-generation thermoexpandable segmental metallic stent: a validated-questionnaire-based study[J]. J Endourol, 2010, 24(4):589-593.

[11] 牛秋丽,刘洁琳,王佐广,等. 血管紧张素 II 1 型受体基因 rs388915 多态性与原发性高血压的相关性[J]. 心肺血管病杂志,2012,31(3):232-235.

(收稿日期:2012-11-09)

(上接第 514 页)

lung Cancer[J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(22 Pt 1):6624-6631.

[8] 郝可可,展平,王琴. KIF4A 在非小细胞肺癌中的表达及其与预后的相关性[J]. 临床肿瘤学杂志,2010,15(12):1066-1069.

[9] Zhu C, Jiang W. Cell cycle-dependent translocation of PRC1 on the spindle by Kif4 is essential for midzone formation and cytokinesis

[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005, 102(2):343-348.

[10] 王文晓,杨海彦,刘连新,等. 驱动蛋白 4A:驱动蛋白超家族的新成员[J]. 哈尔滨医科大学学报,2011,45(2):195-197.

(收稿日期:2012-11-09)