论著

文章编号:1000-5404(2006)24-2448-03

下丘脑胰岛素及其受体在高血压大鼠的变化及与血压的关系

石伟彬,杨成明,刘光耀,王旭开,傅春江 (第三军医大学大坪医院野战外科研究所心血管内科,重庆 400042)

提 要:目的 探讨下丘脑胰岛素及其受体在高血压大鼠的变化及与血压的关系。**方法** 比较自发性高血压大鼠(spontaneous hypertensive rats, SHR)与正常血压Wistar大鼠对照下丘脑的胰岛素含量、胰岛素受体最大结合容量(maximum binding capacity, B_{max})和平衡解离常数(equilibrium dissociation constant, K_D),观察下丘脑前区微量注射胰岛素对平均动脉血压(mean arterial pressure, MAP)的影响。**结果** 下丘脑胰岛素含量SHR高于Wistar大鼠,而血浆胰岛素与Wistar大鼠无明显变化。SHR下丘脑胰岛素受体B_{max}显著低于Wistar大鼠,K_D值无显著变化。SHR下丘脑前区微量注入0.2 pmol胰岛素,在注射1 h后MAP显著下降,Wistar大鼠组MAP无变化。**结论** 下丘脑胰岛素在高血压发生发展过程可能起到保护作用,抑制血压的过度升高。

关键词: 胰岛素;胰岛素受体;下丘脑前区;微量注射;血压

中图法分类号: R338.27;R544.1;R977.15 **文献标识码:** A

Relationship between changes of insulin and insulin receptor in hypothalamus and blood pressure in hypertensive rats

SHI Wei-bin, YANG Cheng-ming, LIU Guang-yao, WANG Xu-kai, FU Chun-jiang (Department of Cardiovascular Diseases, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To observe the changes of insulin and its receptor in hypothalamus of spontaneous hypertensive rats (SHR) and their relationship with blood pressure. **Methods** Thirty SHR and 30 Wistar rats matched with SHR respectively were randomly assigned to receive normal saline, 0.02, 0.2 pmol insulin. The concentration of insulin in hypothalamus, the B_{max} and K_D of insulin receptor in cellular membrane from hypothalamus in SHR and Wistar rats were investigated and the effect of insulin microinjection into anterior hypothalamic area on blood pressure were analysed. **Results** The insulin concentration in hypothalamus of SHR was higher than that in Wistar rats ($P<0.05$), but the plasma insulin concentration was similar in both groups. The quantity of insulin receptor in the hypothalamus of SHR was less than that of Wistar rats but no difference of K_D was found between the two groups. Microinjection of 0.2 pmol insulin into anterior hypothalamic area significantly decreased MAP in SHR in 1 h, but not in Wistar rats. **Conclusion** Insulin in hypothalamus may be a negative feedback to the high arterial pressure and has a protective effect against the continuous increase of arterial pressure during the development of hypertension.

Key words: insulin; insulin receptor; anterior hypothalamic area; microinjection; blood pressure

近1个世纪来,研究者们对高血压的病理生理学机制进行了多方面的探索,目前研究表明胰岛素抵抗和高胰岛素血症是高血压的独立发病因素。中枢神经系统能自身合成胰岛素和胰岛素受体。研究表明脑室和下丘脑腹内侧核微量注入胰岛素可通过抑制交感神经活性和洋地黄类物质的释放而显著减低乌拉坦麻醉大鼠的血压和心率,而且自发性高血压大鼠(spontaneous hypertensive rat, SHR)脑组织中胰岛素含量高于正常血压Wistar大鼠[1]。这表明脑胰岛素在中枢内对血压也可能存在调节作用。本研究初步探讨了下丘脑胰岛素及其受体与高血压的相互影响和关系,为高血压的发病和诊治提供新的实验理论依据。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

大鼠脑立体定位仪(日本)、微量注射器、微量推进器(日本)、牙科台式电钻(中国)、冰冻切片机(Lica,德国)、单组份胰

作者简介:石伟彬(1975-),男,山东省泰安市人,硕士,主治医师,主要从事高血压病机制基础方面的研究,发表论文5篇。电话:(023)68757246,E-mail: stonewb@163.com

通讯作者:杨成明,电话:(023)68757266

收稿日期:2006-03-22;修回日期:2006-04-13

岛素(Roch，美国)、膀胺天蓝(Sigma，美国)，其余为市售分析纯。

1.2　实验动物及分组

12 周龄雄性 Wistar 及 SHR 大鼠各 40 只，购自我院动物中心及北京阜外医院动物所。每组 10 只用于脑胰岛素含量测定。SHR、Wistar 大鼠各 30 只，分为对照组(注射生理盐水)、下丘脑注射胰岛素 0.02 pmol 组和下丘脑注射胰岛素组 0.2 pmol[2]；各组均为 10 只，Wistar 各组之间、SHR 各组之间各项指标相比无统计学差别($P>0.05$)。胰岛素以生理盐水溶解。

1.3　胰岛素、血糖、血压测定

酸乙醇提取下丘脑组织标本，放射免疫测定胰岛素，快速血糖仪测定血糖。下丘脑的定位：前为视交叉，后为乳头体，宽度约为 6 mm，深度约为 2 mm。

1.4　下丘脑细胞膜膜胰岛素受体放射分析

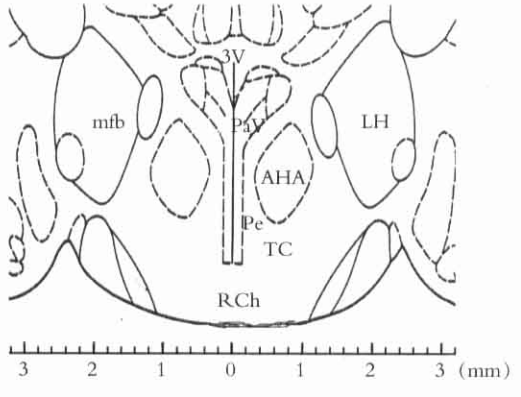
参照文献[3]略作修改提取下丘脑细胞膜，Lowry 法蛋白定量，空白滤纸点样计数进行校正，仪器计数效率为 40%。RBA 软件程序以 Scatchard 作图分析，分别计算出下丘脑细胞膜胰岛素受体的最大结合容量(B_{max})和平衡解离常数(K_D)，单位分别以 fmol/mg 和 nmol/L 表示。

1.5　下丘脑前区(anterior hypothalamic area，AHA)微量注射胰岛素对血压的影响

1.5.1　注射方法　1% 戊巴比妥钠 40 mg/kg 腹腔注射麻醉，成功后固定于大鼠脑立体定位仪上。切开头部皮肤，暴露颅骨。参照 Paxinos 图谱[4]，用牙科钻在颅顶钻孔，AHA 定位坐标为前囟后 1.4～1.7 mm，左右旁开 1.0 mm，颅骨表面下 8～9 mm；埋入外径为 0.7 mm 不锈钢套管，用 502 胶和自凝牙托粉固定。于 2 min 内将药物注入 AHA 内[5]，注射体积均为 0.5 μl。注射完毕 1 min 拔出微量注射器。

1.5.2　血压测定　左侧髂总动脉插管监测血压，在整个实验过程中，维持室温在 30～32 ℃。

1.5.3　注射部位鉴定　每次实验结束时，各注射点均以同法注入等量的 1% 膀胺天蓝做定位标志，于 4% 多聚甲醛溶液中脑组织固定，作 50 μm 连续切片，光镜下行组织学鉴定，将注射管轨迹的顶端及着色部位，按照图谱核定注射部位，不准确者不计入分析[5]。见图 1。



前囟后 1.8 mm 平面

图 1　AHA 定位示意图

1.6　统计学分析

所有计量资料均以 $\bar{x}\pm s$ 表示，采用 SPSS 10.0 统计软件进行方差分析和 t 检验。对部分参数变化以作图方式表示。

2　结果

2.1　下丘脑胰岛素、胰岛素受体容量、解离常数的测定

SHR 血压显著高于 Wistar 组($P<0.05$)，但血浆胰岛素、血糖水平二者无统计学差别($P>0.05$)，SHR 下丘脑胰岛素含量显著高于 Wistar 组，下丘脑 B_{max} 显著低于 Wistar 组($P<0.05$)，其 K_D 无显著差别($P>0.05$)。见表 1。

表 1　大鼠血浆、下丘脑组织胰岛素、胰岛素受体容量、解离常数血压及血糖($n=10$)

大鼠种类	下丘脑胰岛素 (ng/g)	血糖 (mmol/L)	血浆胰岛素 (mIU/ml)	血压 (mmHg)	B_{max} (fmol/mg)	K_D (nmol/L)
Wistar	4.56±1.22	4.6±0.5	34.2±5.8	121±14	228.51±31.06	1.44±0.69
SHR	12.42±2.56[a]	5.1±1.4	39.5±7.2	173±19[a]	162.43±22.33[a]	1.22±0.52

a：$P<0.05$，与 Wistar 组比较

2.2　下丘脑前区微量注射胰岛素的血压变化

根据图谱核定注射部位，Wistar 大鼠生理盐水组、胰岛素 0.02、0.2 pmol 组分别有 7、8、7 只定位准确；SHR 大鼠生理盐水组、胰岛素 0.02、0.2 pmol 组分别有 7、7、8 只定位准确。SHR 组 AHA 微量注射胰岛素 0.2 pmol 在 5 min 后血压开始下降，至 1 h 降至最低，下降幅度平均为(9.1±2.5) mmHg，之后上升恢复注射前水平。自身配对 t 检验血压下降有统计学意义($P<0.05$)，而在生理盐水组同期血压平均下降(3.1±1.6) mmHg。在正常血压 Wistar 对照组注射前及注射后各观察点血压无显著变化($P>0.05$)，血压在原水平上下有波动。

3　讨论

胰岛素是含 51 个氨基酸的小分子蛋白质，其主要作用是加速组织对葡萄糖的摄取、贮存和利用，从而降低血糖。大量研究证明胰岛素及其受体在大鼠脑内广泛存在，而且其分布不均匀，胰岛素以嗅球、下丘脑和海马部位最高，其含量分布不平衡与其转运和降解速度可能有关，但在某些脑区部位神经细胞可自身合成胰岛素。脑内胰岛素的作用目前不清楚。最近研究也表明：脑胰岛素受体基因敲除小鼠神经系统可顺利发育，而表现在摄食、肥胖、胰岛素抵抗、生殖等功能障碍，这提示胰岛素及其受体在神经系统发育中并非必需的，它们在遗传性肥胖性胰岛素抵抗方面发挥重要作用[6]。

本研究结果显示 SHR 组下丘脑胰岛素水平显著高与正常血压组，推测下丘脑胰岛素水平可能与血压

调控有关系[7,8]。而 AHA 目前被认为是下丘脑的心血管活动高级整合中枢，它参与压力感受性发射的调节过程，多种神经递质参与 AHA 的血压调节[9]。

本研究结果显示：SHR 下丘脑的 B_{max} 值低于正常血压 Wistar 组，推测可能是胰岛素受体对高胰岛素水平的抑制反应，表现为下向调节，而 K_D 值无显著变化，这与 Devaskar 等[10]报道新生兔脑内注射胰岛素可引起循环血中胰岛素水平升高和血糖下降，同时伴有脑胰岛素受体数目的下降，亲和力无显著改变相符。而 AHA 微量注射胰岛素在戊巴比妥钠麻醉 SHR 组胰岛素 0.2 pmol 产生血压逐渐下降，在 1 h 时血压下降明显（$P<0.05$），之后逐渐有恢复趋势，在 Wistar 组大鼠无血压显著的改变。对于产生这一结果的原因，结合胰岛素含量、受体变化，我们推测 SHR 下丘脑胰岛素含量显著增加可能是血压升高的结果。下丘脑胰岛素含量的增加反馈调节血压的升高，或者说是一种保护性调节。

外源性胰岛素在 SHR 大鼠下丘脑前区产生血压下降，就目前研究结果推测可能通过其受体抑制去甲肾上腺素的再摄取而增加其在突触间的浓度，通过影响下丘脑局部的去甲肾上腺素水平而产生血压下降，亦可能通过其受体对脑内血管紧张素系统调节进而影响外周交感神经系统产生血压下降[5,7,11]。但胰岛素究竟通过何种机制来调节血压仍需进一步研究。

参考文献：

[1] 李 民，汪雨来，黄丹平，等. 自发性高血压大鼠中枢胰岛素的表达[J]. 临床军医杂志，2001，29(3)：10－11.

[2] PORTER J P. Effect of intrahypothalamic insulin on sympathetic nervous function in rats drinking a high-sucrose solution[J]. Am J Physiol，1994，266(5 Pt 2)：R1463－R1469.

[3] KIM H H，DIVALL S A，DENEAU R M，*et al*. Insulin regulation of GnRH gene expression through MAP kinase signaling pathways[J]. Mol Cell Endocrinol，2005，242(1－2)：42－49.

[4] PAXINOS G，WASTON C. The rat brain in stereotaxic coordinates[M]. 2th ed. Sydney：Academic Press，1986：Figure21－28，79，92，97－102.

[5] DING C N，CAO Y X，ZHOU L，*et al*. Effects of microinjection of melatonin and its receptor antagonists into anterior hypothalamic area on blood pressure and heart rate in rats[J]. Acta Phamacol Sin，2001，22(11)：997－1002.

[6] STOCKHORST U，DE-FRIES D，STEINGRUEBER H J，*et al*. Insulin and the CNS：effects on food intake，memory，and endocrine parameters and the role of intranasal insulin administration in humans[J]. Physiol Behav，2004，83(1)：47－54.

[7] 梁 雪，张琳郁. 原发性高血压患者脉压与血管内皮功能及胰岛素抵抗的关系[J]. 郑州大学学报：医学版，2005，40(4)：711－713.

[8] 王旭开，杜文华，李 陶，等. 高血压伴胰岛素抵抗病人颈动脉血流动力学的研究[J]. 第三军医大学学报，2004，26(17)：1564－1566.

[9] MCKINLEY M J，ALBISTON A L，ALLEN A M，*et al*. The brain renin-angiotensin system：location and physiological roles[J]. Int J Biochem Cell Biol，2003，35(6)：901－918.

[10] DEVASKAR S U，HOLEKAMP N. Insulin downregulates neonatal brain insulin receptors[J]. Biochem Biophys Res Commun，1984，120(2)：359－367.

[11] FISHER S J，BRUNING J C，LANNON S，*et al*. Insulin signaling in the central nervous system is critical for the normal sympathoadrenal response to hypoglycemia[J]. Diabetes，2005，54(5)：1447－1451.

（编辑 栾 嘉）

第十届全军战创伤外科学术会议征文通知

全军战创伤外科专业委员会定于2007年4月中上旬在福建省福州市举办第十届全军战创伤外科专业学术会议。届时我国著名战创伤专家王正国院士、程天民院士、卢世璧院士等30余位专家将莅临会议，并就战创伤外科救治新进展、现代战争条件下的卫勤保障与战伤救治、战创伤急救、严重多发伤和重要部位伤的诊治新技术、战创伤基础研究新进展等方面作专题报告。参会者可获军队继续教育学分。征文要求：凡未曾发表的有关战创伤研究与临床救治的论文，论文摘要800～1 000字。截稿日期：2007年2月20日。

联系人：尹志勇 教授 传 真：(023)68810837

E-mail：zyyin@cta.cq.cn，zy.yin@tom.com

地 址：重庆市大坪长江支路10号，第三军医大学大坪医院野战外科研究所 邮 编：400042

电 话：(0801)757885(军线)，(023)68757885，(023)66193386，13983128386