DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.04.024
第23卷第4期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 4
2001年4月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Apr. 2001

文章编号:1000-5404(2001)04-0419-03

论著

寒冷刺激诱发孕鼠妊娠高血压综合征动物模型研究

俞丽丽[1],李 力[1],陈 鸣[2],吴国萍[3],胡春秀[1],祝之明[4] (第三军医大学:[1]附属大坪医院野战外科研究所妇产科,重庆 400042;[2]附属西南医院检验科,重庆 400038;附属大坪医院野战外科研究所:[3]第六研究室;[4]高血压中心实验室;重庆 400042)

提 要:目的 探讨寒冷刺激是否能诱发孕鼠妊娠高血压综合征样的改变。方法 将成年Wistar雌鼠随机分为4组:非孕对照组(NN)、非孕寒冷组(NC)、妊娠对照组(PN)、妊娠寒冷组(PC),从妊娠第1天至妊娠第19天每天分别置于(4±2)℃ 4 h(寒冷组)及25℃(对照组),测定大鼠血压、尿蛋白、体重、红细胞压积,测量胎盘重量、胎鼠重量及身长,观察胎盘、肾脏组织学改变。结果 NC及PC组刺激两周后血压升高、尿蛋白增加,与NN及PN组相比,均有统计学意义。PC组与PN组相比,胎盘重量、胎鼠重量及身长均显著降低,其肾脏及胎盘各层均有明显的缺血、缺氧的组织学表现。结论 反复寒冷刺激可诱发孕鼠妊娠高血压综合征样的改变,为妊娠高血压综合征的动物模型制作提供了一种新的非侵袭性方法。

关键词:寒冷;妊娠并发症,心血管;高血压
中图法分类号:R339.55;R544.1;R714.252 文献标识码:A

Cold-stress stimulates pregnancy-induced hypertension syndrome in pregnant rats

YU Li-li, LI Li, CHEN Ming, WU Guo-ping, HU Chun-xiou, ZHU Zhi-ming (Research Institute of Surgery, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To determine whether cold-stress stimulation could lead to pregnancy-induced hypertension syndrome (PIH) in rats. Methods Female adult Wistar female rats were randomly divided into 4 groups: non-pregnant control group (NN), non-pregnant cold-stress group (NC), pregnant control group (PN) and pregnant cold-stress group (PC). The rats were kept in (4±2) ℃ for 4 h (cold-stress groups) every day or remained in 25 ℃ (control groups) from the 1 st day to 19 th day of pregnancy. The blood pressure, urine protein, body weight, haematocrit (HCT), weight of placenta, length and weight of fetus were all measured. The histological change of the placenta and kidneys were also observed. Results After cold-stress stimulation for 2 weeks, the blood pressure, urine protein in NC and PC group increased significantly compared with that in control group, while the weight of placenta and fetus, the length of fetus in PC decreased significantly than that in PN. Obvious ischemic and anoxic histological changes in kidneys and all layers of placenta were found in PC group. Conclusion Repeated cold-stress stimulation can induce PIH in rats, thus provide a new non-invasive method to establish an animal model of PIH.

Key words: cold-stress; pregnancy complication; cardiovascular; hypertension

妊娠高血压综合征是严重危害母婴健康的产科常见病,在我国孕产妇中的发病率达9.4%~10.4%[1],是导致产妇及新生儿死亡的主要原因之一,但其致病机制至今尚未明了。流行病学调查资料表明寒冷是诱发妊娠高血压综合征的一个重要因素[2]。本实验试图通过非侵袭性手段——反复寒冷刺激孕鼠,观察反复寒冷刺激是否能诱发孕鼠妊娠高血压综合征样的改变,以探讨环境因素对妊娠高血压综合征发病的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选择清洁级成年Wistar大鼠(购自重庆大坪医院实验动物中心),雌性48只,体重195~250 g,雄性12只,体重210~300 g,在室温25 ℃、相对湿度40%~70%的屏障系统内饲养,不控制饲料和饮水。按完全随机分组法随机取雌鼠24只作为妊娠组,每晚20:00按雌雄2:1合笼,次晨8:00取阴道分泌物镜检,发现精子为妊娠第0日。

1.2 实验方法

1.2.1 实验分组 按完全随机分组法将雌鼠随机分为4组:正常温度(25 ℃)非孕大鼠组(NN),寒冷环境(4 ℃)非孕大鼠组(NC),正常温度(25 ℃)妊娠大鼠组(PN),寒冷环境(4 ℃)妊娠大鼠组(PC)。寒冷大鼠组为妊娠第1天至妊娠第19天每天上午8:00~12:00将大鼠置于冷室(4±2) ℃,4 h。

1.2.2 血压测量 分别于妊娠第0、6、12、14、16、18天采用大鼠血压测量仪(中日友好医院)测量大鼠尾动脉收缩压,方法按使用说明书进行。

1.2.3 尿蛋白测定 分别于妊娠第0、6、12、14、16、18天将大鼠置标准代谢笼内饲养,收集15 h尿量,磺基水杨酸比浊定量法测定尿蛋白。

1.2.4 红细胞压积测定 于妊娠第19天各组分别取腹腔静脉血1 ml入抗凝管中,用文氏法测量红细胞压积。

1.2.5 组织标本及血标本的采集 于妊娠第19天在10%乌拉坦(10 ml/kg)腹腔注射麻醉下,剖宫取胎,记录胎鼠的体重、身长、胎鼠数、胎鼠成活率及胎盘湿重,留取肾脏、胎盘,4%多聚甲醛固定24 h后常规脱水、石蜡包埋、切片及HE染色,光镜观察。

1.3 统计学分析

各组数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用Microsoft Excel 2000统计软件

作者简介:俞丽丽(1972-),女,江苏省无锡市人,硕士研究生,医师,主要从事妊娠高血压综合征方面的研究。电话:(023)65321579

收稿日期:2000-09-20;修回日期:2001-01-11

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

进行χ^2检验、t验和方差分析。

2 结果

2.1 血压变化

各组基础血压之间差异无显著性，在孕12 d内差异无显著性。NC组血压于孕12 d起明显上升，与NN组差异有显著性，PN组在孕14 d起血压持续下降，而PC组血压并不下降，且明显高于PN组，见表1。

2.2 尿蛋白检测

寒冷刺激两周后，PC组、NC组与PN组、NN组相比，15 h尿蛋白总量均有明显增加，见表2。且孕18 d时，PC组与NC组比较增加明显($P<0.001$)。

表1 各组收缩压的变化(p/ mmHg, $\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Change of systolic blood pressure in different groups(p/ mmHg $\bar{x}\pm s$)

Group	Duration of pregnancy (d)					
	0	6	12	14	16	18
NN	103.33±9.04	104.67±10.03	105.67±12.18	111.00±11.71	107.67±10.88	110.33±12.26
NC	108.17±11.79	113.33±12.54	119.83±9.32△△	125.08±12.92△	133.67±12.58△△△	131.83±13.06△△△
PN	108.33±9.94	110.67±9.24	109.67±11.66	105.17±13.14	102.83±9.28	97.17±8.76
PC	108.83±12.43	112.00±11.05	115.58±13.06	119.67±10.58 *	115.50±13.54 *	113.67±9.02 **

1 mmHg= 0.133 kPa; △: $P<0.05$, △△: $P<0.01$, △△△: $P<0.001$ *vs* NN; *: $P<0.01$, **: $P<0.001$ *vs* PN

表2 各组15 h尿蛋白总量的变化(mg, $\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Changes of total Duration 15 h urine protein in different groups(mg, $\bar{x}\pm s$)

Group	Time of pregnancy (d)					
	0	6	12	14	16	18
NN	0.61±0.15	0.59±0.15	0.64±0.16	0.62±0.16	0.64±0.14	0.59±0.16
NC	0.61±0.17	0.59±0.16	0.70±0.18	0.85±0.22△	1.28±0.27 △△△	1.58±0.21△△△
PN	0.62±0.20	0.59±0.14	0.63±0.15	0.71±0.19	0.73±0.15	0.69±0.15
PC	0.58±0.17	0.67±0.21	0.73±0.16	0.77±0.16	1.48±0.21 **	2.28±0.26 **

△: $P<0.05$, △△△: $P<0.001$ *vs* NN; **: $P<0.001$ *vs* PN

2.3 红细胞压积(HCT)检测

寒冷刺激后，PC组HCT(0.36±0.04)较PN组(0.32±0.03)明显增加($P<0.05$)。而非孕两组间(0.38±0.04, 0.39±0.05)差异无显著性。

2.4 胎鼠及胎盘情况

PC组发现胎死宫内2例，但无统计学意义。PN组与PC组胎鼠个数无明显差异。PC组胎盘重量(0.51±0.05) g、胎鼠重量(2.7±0.29) g、胎鼠身长(3.03±0.17) cm均明显小于NP组[(0.58±0.06) g, (3.06±0.28) g, (3.30±0.15) cm]。P值分别为<0.05, <0.05, <0.01。

2.5 肾脏、胎盘光镜所见

PC组与NC组肾小球基底膜增厚，系膜细胞增生，肾小管可见广泛上皮细胞水肿、空泡样变，肾间质水肿，与PN组、NN组相比，病变明显。且PC组与NC组比较，肾小管上皮细胞浊肿及空泡样变的病变广泛。大鼠胎盘组织学上分为三带：蜕膜带、基带和迷路带。PC组蜕膜带肿胀增厚，炎性细胞浸润及纤维样坏死；基带滋养叶巨细胞增生，空泡化细胞岛增多致基带增厚；迷路带滋养叶细胞增生，伴肿胀肥大、空泡样变，血间膜增厚伴纤维蛋白沉积，与PN组相比，病变明显，见图1、2。

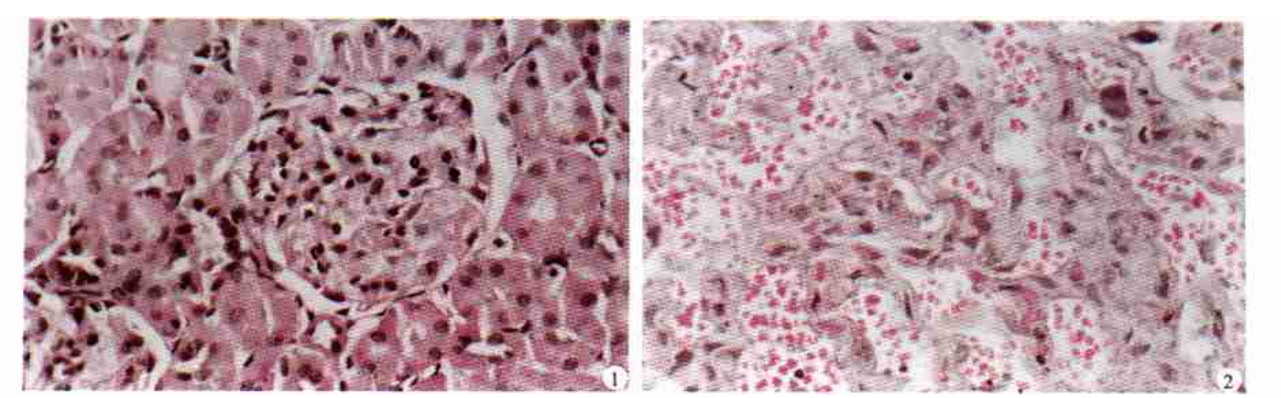


图1 肾小球基底膜增厚，系膜细胞增生，肾小管上皮可见广泛水肿 (HE×400)

Fig 1 Hydropic degeneration of renal tubular epithelial cell, thickening of glomerular basement membrane and proliferation of mesangial cell in cold-stress group (HE×400)

图2 胎盘迷路带血间膜增厚伴纤维蛋白沉积 (HE×400)

Fig 2 Fibrous protein deposition and Thickening of the intervillus of placental labyrinth in PC with fibrin deposition (HE×400)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3　讨论

关于妊娠高血压综合征的动物模型的报道不少, 主要有以下几种制作方法: ①结扎双侧子宫动脉致子宫、胎盘缺血。②内毒素皮下注射致血管内皮损伤[3]。③一氧化氮合酶(NOS)抑制剂皮下注射致一氧化氮合成降低[4]。这些动物模型的制作均通过外源性毒性物质及侵袭性操作所造成。寒冷刺激诱发高血压的动物模型[5]已有较多文献报道, 而关于寒冷刺激诱发妊娠高血压综合征的动物模型的报道极少。Kanayama 等[6]研究表明: 通过局部寒冷刺激孕鼠足底可诱发妊娠高血压综合征样的改变。本实验根据气温突变时子痫易发作的流行病学资料和长时间的寒冷刺激可导致大鼠对低温的耐受, 采用反复寒冷刺激的方式, 即每天将大鼠置于寒冷环境中 4 h, 使大鼠每天都受到温度突变的刺激以达到实验的目的, 同时也符合人类在寒冷环境中的生活方式。实验结果证实反复寒冷刺激可诱发孕鼠血压升高及尿蛋白, 同时出现红细胞压积升高、胎鼠宫内发育迟缓等症状, 与人类妊娠高血压综合征的表现极为类似。NC 组亦可见高血压、尿蛋白等症状, 但其红细胞压积与 NN 组差异无显著性, 其孕 18 d 时 15 h 尿蛋白总量明显低于 PC 组, 肾脏病理学改变亦较 PC 组轻, 提示在妊娠状态下血管对寒冷刺激的敏感性增加, 其具体原因有待进一步研究。

本实验 PC 组孕鼠在光镜下出现了一系列诸如肾小球基底膜增厚, 系膜细胞增生, 肾小管上皮广泛浊肿、空泡样变, 胎盘蜕膜带、基带均增厚, 基带、迷路带滋养叶细胞增生, 迷路带血间膜增厚伴纤维蛋白沉积等组织缺血、缺氧的常见病理改变, 与人类妊娠高血压综合征的肾脏、胎盘的病理改变相一致, 从另一个侧面支持了妊娠高血压综合征的病因学说中胎盘滋养叶细胞缺血学说及血管内皮损伤学说[7]。有报道寒冷刺激可激活交感神经系统, 使去甲肾上腺素、肾上腺素分泌增多, 致血管痉挛、组织缺血[8]。因此, 可以推测: 本实验孕鼠经反复寒冷刺激后, 交感神经系统活跃, 致肾脏、胎盘缺血缺氧, 胎盘灌注量减少, 血管内皮细胞损伤, 导致血管活性物质平衡紊乱而产生妊娠高血压综合征样的改变。寒冷刺激诱发妊娠高血压综合征样的改变从改变环境因素的角度更有利地阐明了胎盘滋养叶细胞缺血学说。本实验结果也与流行病学调查结果相符合。

总之, 反复寒冷刺激可诱发妊娠高血压综合征样的改变, 为妊娠高血压综合征的动物模型制作提供了一种新的非侵袭性的方法, 为深入进行妊娠高血压综合征的病因学研究提供了新思路。

参考文献:

[1] 李　巨 主编. 产科理论与手术[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1998. 218.

[2] 蒋迪仙, 钱尚萍. 妊娠高血压综合征流行病学调查[J]. 实用妇产科杂志, 1991, 7(3): 119－120.

[3] Faas M M, Schuiling G A, Baller J F W, *et al*. A new animal model for human preeclampsia: ultra-low-dose endotoxin infusion in pregnant rats[J]. Am J Obstet Gynecol, 1994, 171(1): 158－164.

[4] Yallampalli C, Garfield R E. Inhibition of nitric oxide synthesis in rats during pregnancy produces signs similar to these of pre-eclampsia[J]. Am J Obstet Gynecol, 1993, 169(5): 1 316－1 320.

[5] Fregly M J, Kikta D C, Threatte R M, *et al*. Development of hypertension in rats during chronic expoure to cold[J]. J Appl Physiol, 1989, 66(2): 741－749.

[6] Kanayama N, Tsujimura R, She L, *et al*. Cold-induced stress stimulates the sympathetic nervous system, causing hypertension and proteinuria in rats[J]. J Hypertens, 1997, 15(4): 383－389.

[7] 林其德. 妊娠高血压综合征病因学研究进展[J]. 中华妇产科杂志, 1997, 32(1): 3－5.

[8] Shechtman O, Fregly M J, Van Bergen, *et al*. Prevention of cold-induced increase in blood pressure of rats by captopril[J]. Hypertension, 1991, 17(6 Pt1): 763－770.

(编辑　王　红)

(上接 418 页)

IPH3 例中 2 例为足月儿, 5 例 IVH 均为早产儿。显示足月儿常见 SAH、SPH, 早产儿则为 IVH 多见, 与文献报道相符。CT 通过测定 CT 值判定颅内出血, 可较为全面、准确、定量了解颅内情况, 尤其对 SAH 诊断正确率较高, 是目前诊断 ICH 较为可靠、准确的方法。

3.3　临床分度和 CT 分度之间的关系

CT 分度并不与临床分度完全一致, 目前在 HIE 临床和 CT 符合情况上尚有争议。卢道奋等[2]对 73 例 HIE 患儿临床和 CT 进行分析, 轻、中、重度符合率分别为 66.7%、58.1%、33.3%, 两者差异有显著性($P<0.05$)。沙莎等[3]对 39 例 HIE 患儿进行分析, 轻、中、重度临床和 CT 分度符合率分别为82.3%、90.0%、100%, 两者差异无显著性($P>0.05$)。本组资料 CT 与临床分度对照, 轻、中、重度符合率分别为 54.55%、60.00%、66.67% ($\chi^2>\chi^2_{0.05}$, $P<0.05$), CT 分度与临床分度有显著性差异。临床分度是根据临床表现来判定的, 受观察查者经验、观察密切程度等因素影响。CT 分度则是根据脑损伤的程度、分布范围、灰白质界限、侧脑室受压情况决定, 两种判断间常存在一定差异。

因此, 我们认为在评估 HIE 病情轻重时, 不能单独根据某一方面做决定, 应结合临床及 CT 表现综合进行分析。并建议儿科医生和 CT 室医生共同读片, 记录密度值, 综合进行判断, 使诊断更为可靠, 对脑损害的评价更为客观。

关键词: 脑缺氧; 脑缺血; CT
中图法分类号: R722.1; R743.31　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 韩玉昆, 虞人杰, 卜定方. 新生儿缺氧缺血性脑病临床诊断依据和分度[J]. 中华儿科杂志, 1990, 28(1): 31－32.

[2] 卢道奋, 郑锡元. 73 例新生儿缺氧缺血性脑病的临床与 CT 特点[J]. 临床儿科杂志, 1997, 15(1): 21－22.

[3] 沙　莎, 张思莱. 新生儿缺氧缺血性脑病临床与 CT 分度的关系分析[J]. 临床儿科杂志, 1997, 15(6): 403－404.

(编辑　冯崇英)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net