

DOI:10.3724/SP.J.1008.2013.01061

· 论 著 ·

降低孤束核超氧阴离子具有改善慢性心力衰竭大鼠压力交感反射的作用

谭兴^{1△}, 焦宝明^{2△}, 金茜玫^{1△}, 王玮³, 王伟忠^{1*}

1. 第二军医大学基础部生理学教研室, 上海 200433

2. 广州军区机关门诊部, 广州 510080

3. Department of Physiology, University of Nebraska Medical Center, Omaha, USA

[摘要] **目的** 交感神经活动亢进是慢性心力衰竭(CHF)的主要心血管改变特征之一,并与压力交感反射的功能低下密切相关。孤束核(NTS)是压力反射中枢传递的关键核团,本研究将明确心血管中枢 NTS 超氧阴离子在介导 CHF 压力交感反射低下中的作用。**方法** SD大鼠通过结扎冠状动脉左前降支后获得 CHF 模型,对照为假手术组(Sham),并通过 NTS 微量注射超氧化物歧化酶模拟剂 Tempol 比较观察两组动物肾交感神经活动和压力交感反射敏感性的影响。**结果** 在麻醉动物模型上,CHF 交感神经活动基础值高于 Sham 组($P<0.05$),而压力交感反射敏感性低于 Sham 组。Sham 组 NTS 微量注射 Tempol (10 nmol/50 nL)不影响基础肾交感神经活动和压力交感反射敏感性,而在 CHF 组,Tempol 能降低肾交感神经活动($P<0.05$),并增加压力反射敏感性。**结论** NTS 超氧阴离子不仅参与 CHF 交感兴奋性的增加,而且具有降低压力交感反射敏感性作用,提示 NTS 氧化应激是 CHF 心血管活动异常的重要机制。

[关键词] 心力衰竭;孤束核;交感兴奋性亢进;超氧阴离子;压力交感反射

[中图分类号] R 541.6 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2013)10-1061-04

Reduction of superoxide in the nucleus of solitary tract improves baroreflex control of sympathetic activity in chronic heart failure rats

TAN Xing^{1△}, JIAO Bao-ming^{2△}, JIN Qian-mei^{1△}, WANG Wei³, WANG Wei-zhong^{1*}

1. Department of Physiology, College of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

2. Department of Outpatient, PLA Guangzhou Military Area Command, Guangzhou 510080, Guangdong, China

3. Department of Physiology, University of Nebraska Medical Center, Omaha, USA

[Abstract] **Objective** To determine the role of the nucleus tractus solitarius (NTS) superoxide in mediating the chronic heart failure (CHF)-induced reduction in baroreflex control of sympathetic activity. **Methods** CHF model was produced by coronary ligation in SD rats, and rats receiving sham operation (Sham) served as controls. Changes in renal sympathetic nerve activity (RSNA) and baroreflex sensitivity control of sympathetic activity were observed after microinjections of SOD mimic Tempol into the NTS in Sham and CHF rats. **Results** In anesthetized rats, the baseline level of sympathetic nerve activity was significantly higher in CHF group than in Sham group ($P<0.05$), whereas the baroreflex sensitivity control of sympathetic activity was lower in CHF group than in Sham group. Bilateral microinjection of Tempol (10 nmol in 50 nL) into the NTS had no effect on baseline RSNA and baroreflex sensitivity in the Sham group. In contrast, injection of Tempol notably reduced the baseline RSNA and increased baroreflex sensitivity in CHF group. **Conclusion** Superoxide in the NTS contributes to sympathetic overactivity and baroreflex impairment in rats with CHF, suggesting that increased oxidative stress in the NTS is responsible for cardiovascular dysfunctions in CHF.

[Key words] heart failure; solitary nucleus; sympathetic overactivity; superoxide; baroreflex control of sympathetic activity

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2013, 34(10):1061-1064]

[收稿日期] 2013-08-01 **[接受日期]** 2013-09-28

[基金项目] 国家自然科学基金(31100831)。Supported by National Natural Science Foundation of China(31100831)。

[作者简介] 谭兴, 硕士生。E-mail: tanxing_smmu@163.com; 焦宝明, 硕士, 副主任医师。E-mail: 13889900726@139.com; 金茜玫, 第二军医大学临床医学专业 2009 级学员。E-mail: 418170902@qq.com

△共同第一作者(Co-first authors)。

* 通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-81870982, E-mail: wangwz68@hotmail.com

慢性心力衰竭(CHF)时交感神经活动明显增强,而且其与CHF的进展密切相关,但确切机制并不明确^[1-2]。据研究所示,CHF心血管反射功能出现异常,如压力感受器反射降低、化学感受器反射和心交感传入反射增强,与CHF交感神经活动亢进有关^[2]。中枢传递异常是影响心血管反射功能的重要机制,孤束核(NTS)不仅接受来自外周压力和化学感受信号的传入,并通过投射到迷走和交感中枢,从而调节心血管反射效应,因此压力反射分迷走和交感控制反射两个方面,其中压力交感反射与交感神经活动密切相关^[3-4]。氧化应激是心血管疾病发生发展的重要机制,其主要成分是超氧阴离子(super-oxide),超氧阴离子通过超氧化物歧化酶(SOD)降解,有研究提示CHF时中枢内超氧阴离子明显增加^[5],但并不清楚其是否参与NTS水平上压力反射的传递过程。因此,本研究主要目的是在CHF大鼠模型的基础上观察NTS内超氧阴离子对交感神经活动,尤其是压力交感反射的作用,探索CHF交感兴奋性亢进的中枢机制。

1 材料和方法

1.1 CHF模型建立 参考我们先前的研究工作,CHF模型通过急性冠状动脉结扎后饲养6周建立^[6]。体质量为200~250g的雄性Sprague & Dawley(SD)大鼠,在异氟烷气体麻醉下开胸后打开心包膜,在冠状动脉左前降支上端用细线结扎,观察到心肌壁颜色变淡后,关闭胸腔缝合皮肤,正常饲养6周后CHF模型建立。只接受开胸而不结扎冠状动脉的SD大鼠为对照组(Sham)。每组15只。

1.2 NTS微量注射 具体步骤参考我们先前的研究^[6-7],3%戊巴比妥钠(0.2 mL/100 g)腹腔注射诱导麻醉,气管插管后人工通气,呼出气体中CO₂浓度通过CO₂监测仪控制在4%~5%。于右侧颈总动脉插管,导管插入左心室,先测定室内压后再退出至颈总动脉测定血压(BP)变化,动脉导管连接至PowerLab/8SP(AdInstruments, 澳大利亚),监测动脉BP及心率(HR)的变化。股静脉插管以静脉补液、补充复合麻醉氨基甲酸乙酯,颈静脉插管用于注射苯肾上腺素以升高血压激活压力反射。将其头部固定于立体定位仪,通过去除枕骨后暴露延髓背侧。暴露

左侧肾脏,显微镜下运用玻璃分针分离肾神经,接双极记录电极,用Wacker Silgel 932硅胶覆盖神经和电极。通过前置放大器将肾交感神经活动(renal sympathetic nerve activity, RSNA)信号放大1 000倍,通过频率100~3 000 Hz,并经示波器检测,RSNA信号经PowerLab/8SP系统进行记录和幅度整合,采样速度为每秒2 000次。整合RSNA在处理前统一设定为100%。大鼠腹下垫体温控制底板,温度探头插入大鼠肛门约1 cm,肛温维持于37℃。

NTS定位通过标准图谱来确定^[8]。通过自制的三管电极进行微量注射,分别灌入相应的药物,NTS注射体积分别为50 nL,注射时间为5~10 s。本研究的注射药物L-谷氨酸和SOD模拟剂Tempol均购置于Sigma公司,溶于人工脑脊液(aCSF, mmol/L: NaCl 133.3, KCl 3.4, CaCl₂ 1.3, MgCl₂ 1.2, NaH₂PO₄ 0.6, NaHCO₃ 32.0, glucose 3.4, aCSF 7.4), aCSF并作为溶剂对照。通过注射L-谷氨酸(1 nmol)到NTS引起降压作用进行核团的功能定位,30 min后再进行正式实验。

1.3 心血管功能的监测 Sham组和CHF组在麻醉后每次注射Tempol前10 min和注射后60 min持续监测大鼠的BP、HR和RSNA变化并记录存盘。压力反射的激活和评价方法如我们先前工作^[7]:通过静脉注射硝普钠(25 μg/kg)降压后苯肾上腺素(10 μg/kg)升高血压,Tempol预处理前和处理后的10 min和30 min时,测定血压升高后RSNA的抑制程度(%/mmHg),预处理前对照RSNA设定为100%。

1.4 统计学处理 数据采用 $\bar{x} \pm s$ 形式表示,BP水平以平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)表示。连续变量采用 t 检验,各组间比较采用ANOVA方差分析。检验水准(α)为0.05。

2 结果

2.1 CHF模型的评价 如表1显示,冠状动脉结扎后6周CHF动物的心脏、肺的质量与体质量之比高于Sham组($P < 0.05$),心梗面积占左心室总面积的(38.1±4.2)%。两组的MAP和HR没有明显变化,但CHF组的基础RSNA和心室舒张末期的压力高于Sham组($P < 0.05$)。

表 1 CHF 模型与对照组各项指标间比较

Tab 1 Comparison of parameters between CHF model group and sham group

Index	CHF model group and sham group	
	Sham	CHF model
	<i>n</i> = 15, $\bar{x} \pm s$	
Body mass <i>m</i> /g	356 ± 17	335 ± 14
Heart mass <i>m</i> /g	1.7 ± 0.2	2.4 ± 0.3*
Heart mass/body mass (%)	4.8 ± 0.3	7.2 ± 0.4*
Lung mass/body mass (%)	5.0 ± 0.3	8.2 ± 0.6*
Infarct size/LV area (%)	0	38.1 ± 4.2*
MAP <i>p</i> /mmHg	93 ± 2	89 ± 3
HR <i>f</i> /(min ⁻¹)	378 ± 10	362 ± 12
Basal RSNA mV/s	34 ± 2	76 ± 6*
LVEDP <i>p</i> /mmHg	0.3 ± 0.2	13.2 ± 2.2*

1 mmHg = 0.133 kPa. CHF: Chronic heart failure; RSNA: Renal sympathetic nerve activity; LV: Left ventricle; MAP: Mean arterial pressure; HR: Heart rate; LVEDP: Left ventricular end-diastolic pressure. * $P < 0.05$ vs Sham group

2.2 NTS 微量注射 Tempol 对基础心血管功能的影响 在 Sham 组 ($n=5$), 单侧 NTS 微量注射 10 nmol/50 nL 的 Tempol 并未明显改变基础 MAP (91 ± 3 vs 89 ± 3 mmHg, 1 mmHg = 0.133 kPa)、HR (365 ± 14 vs 359 ± 13 min⁻¹) 和 RSNA (35 ± 3.2 vs 31 ± 3.7 mV/s)。但在 CHF 组 ($n=5$), NTS 给予 Tempol 后 MAP (80 ± 2 vs 90 ± 3 mmHg)、HR (337 ± 10 vs 368 ± 13 min⁻¹) 和 RSNA (42 ± 5.3 vs 71 ± 5.5 mV/s) 下降, 这些效应在注射后 5 min 内达到峰值, 30 min 后逐渐恢复到注射前水平。在 Sham 或 CHF 组, NTS 微量注射溶剂对照 50 nL (aCSF) 不影响基础 MAP、HR 和 RSNA 的变化。

2.3 NTS 注射 Tempol 对交感反射的作用 与 Sham 组 ($n=5$) 相比, CHF 组 ($n=5$) 的基础压力交感反射敏感性低下 (-0.42 ± 0.04 vs -0.76 ± 0.05 %/mmHg, $P < 0.05$)。双侧 NTS 注射 Tempol 并不改变 Sham 组大鼠的压力反射敏感性 (-0.76 ± 0.05 vs -0.79 ± 0.06 %/mmHg, $P > 0.05$), 但在 CHF 组, 双侧 Tempol 注射后 10 min 的压力反射敏感性增加 (-0.42 ± 0.04 vs -0.65 ± 0.05 %/mmHg, $P < 0.05$), 30 min 后仍高于注射前水平 (-0.55 ± 0.04 %/mmHg, $P < 0.05$)。另外, Sham 组和 CHF 组注射 aCSF (50 nL) 均不影响压力

反射敏感性。见图 1。

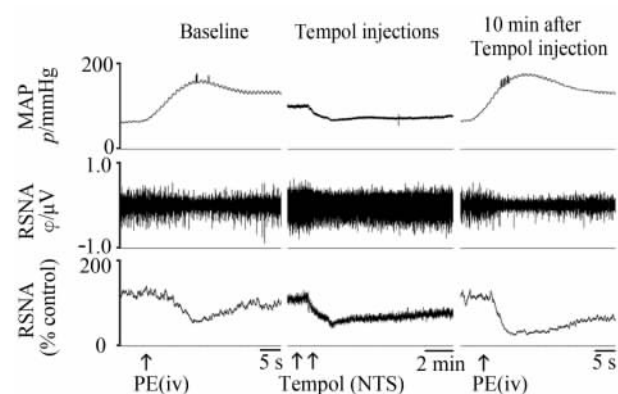


图 1 NTS 注射 Tempol 对压力交感反射的影响

Fig 1 Effect of NTS injection of Tempol on baroreflex sensitivity control of sympathetic activity

NTS: Nucleus of solitary tract; MAP: Mean arterial pressure; RSNA: Renal sympathetic nerve activity; PE: Phenylephrine; Original tracings of MAP and RSNA in response to intravenous PE before and after injection of Tempol into the NTS in a rat with chronic heart failure. In this case, a significant decrease in baseline BP and RSNA was induced by bilateral injection of Tempol into the NTS

3 讨论

交感兴奋性增强和压力反射敏感性降低是 CHF 心血管活动异常的主要特征, 证据提示这两项活动的异常与 CHF 的发展和预后密切相关, 而且降低交感兴奋性和增强压力反射功能已成为 CHF 及其并发症防治策略的一个重要方向, 因此对他们异常的机制进行研究具有重要意义。冠状动脉结扎后心肌梗死 6 周时建立 CHF 的常用模型^[6], 此时出现心肌质量的增加和左心室舒张末期压力增加, 提示心肌肥厚和心力衰竭等特征, 同时证实其交感神经活动明显亢进。

在氧化应激中, 尤其是超氧阴离子的增加在心血管疾病病理过程中具有重要的作用, 中枢心血管区域内超氧阴离子的增加与心力衰竭等疾病病理过程相关^[9]。本研究之所以选择在 NTS 核团水平上观察氧化应激在 CHF 心血管功能异常中的作用, 是因为 NTS 不仅参与基础交感神经活动维持, 而且在心血管反射中枢传递中也具有至关重要的作用。一般情况下, 压力反射敏感性主要通过血压升高后心率改变来评价, 这个方法主要是观察迷走神经对心

脏的控制能力,但不能准确了解交感神经活动的调节机制,因此通过研究交感控制的压力反射敏感性更能评价交感活动调节的作用和意义。本研究发现在正常大鼠模型上,NTS注射 Tempol 并不影响基础活动和压力反射敏感性,但在 CHF 状态下,NTS 水平上消除超氧阴离子(注射 Tempol)不仅可以降低 CHF 的交感神经活动,而且具有增加压力交感反射敏感性的作用,提示 NTS 中氧化应激增强可能是导致 CHF 状态下交感兴奋性亢进和压力反射功能低下的一个重要机制。压力交感反射功能对维持正常的交感输出具有关键作用,反射功能的低下可导致交感活动反射性抑制功能缺乏,从而导致交感输出的增加,即外周交感神经活动的亢进,因此有效地提高压力交感反射功能有利于纠正病理情况下交感神经活动的异常。

本研究的不足之处是未能明确 CHF 状态下超氧阴离子增加的可能机制。研究提示血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 可通过 NADPH 氧化酶的电子转移给氧分子导致超氧阴离子增加。重要的是,在高血压和 CHF 等动物模型中发现,心血管中枢包括 NTS、Ang II 及其作用受体 AT1R 都存在明显的上调^[10],因此,我们推测 Ang II 的增加可能是导致 CHF 状态下 NTS 超氧阴离子增加的重要机制。另外,SOD 活性的降低也可能是氧化应激增强的一个重要因素,心血管中枢内过表达 SOD 增加清除超氧阴离子的能力,可以降低高血压大鼠的血压水平和减弱 CHF 的交感神经活动^[11]。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] Zucker I H, Pliquett R U. Novel mechanisms of sympathetic-excitation in chronic heart failure[J]. *Heart Fail Monit*, 2002, 3: 2-7.
- [2] Malpas S C. Sympathetic nervous system overactivity and its role in the development of cardiovascular disease[J]. *Physiol Rev*, 2010, 90: 513-557.
- [3] bner-Dunlap M E, Thames M D. Baroreflex control of renal sympathetic nerve activity is preserved in heart failure despite reduced arterial baroreceptor sensitivity[J]. *Circ Res* 1989, 65: 1526-1535.
- [4] Boscan P, Pickering A E, Paton J F. The nucleus of the solitary tract: an integrating station for nociceptive and cardiorespiratory afferents[J]. *Exp Physiol*, 2002, 87: 259-266.
- [5] Gao L, Wang W, Li Y L, Schultz H D, Liu D, Cornish K G, et al. Superoxide mediates sympathoexcitation in heart failure: roles of angiotensin II and NAD(P)H oxidase[J]. *Circ Res*, 2004, 95: 937-944.
- [6] Wang W Z, Gao L, Wang H J, Zucker I H, Wang W. Interaction between cardiac sympathetic afferent reflex and chemoreflex is mediated by the NTS AT1 receptors in heart failure[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2008, 295: H1216-H1226.
- [7] Wang W Z, Gao L, Pan Y X, Zucker I H, Wang W. AT1 receptors in the nucleus tractus solitarius mediate the interaction between the baroreflex and the cardiac sympathetic afferent reflex in anesthetized rats[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2007, 292: R1137-R1145.
- [8] Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates[M]. 3rd ed. New York, Academic Press, 1998.
- [9] Kishi T, Hirooka Y, Kimura Y, Ito K, Shimokawa H, Takeshita A. Increased reactive oxygen species in rostral ventrolateral medulla contribute to neural mechanisms of hypertension in stroke-prone spontaneously hypertensive rats [J]. *Circulation*, 2004, 109: 2357-2362.
- [10] Wang G, Anrather J, Huang J, Speth R C, Pickel V M, Iadecola C. NADPH oxidase contributes to angiotensin II signaling in the nucleus tractus solitarius[J]. *J Neurosci*, 2004, 24: 5516-5524.
- [11] Zucker I H, Gao L. The regulation of sympathetic nerve activity by angiotensin II involves reactive oxygen species and MAPK[J]. *Circ Res*, 2005, 97: 737-739.

[本文编辑] 徐 佳, 尹 茶