

• 实验研究 •

基于 PET 探讨自发性高血压大鼠肝阳上亢证模型脑功能变化 *

刘晨笑¹, 孙天才², 刘子旺^{1△}, 孟 玥¹, 孙治琪¹, 赵永烈¹

(1. 北京中医药大学第三附属医院, 北京 100029; 2. 郑州市中医院, 河南 郑州 450002)

摘要: 目的 利用正电子发射计算机断层显像(positron emission computed tomography, PET)技术, 探究自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rats, SHR)肝阳上亢证脑功能成像的改变。方法 取 8 只 SHR 作为模型组, 10 只正常清洁级 SD 大鼠作为对照组。模型组给予附子汤灌服 28 d 造模后, 将两组大鼠分别进行氟 18 脱氧葡萄糖(18F-FDG)PET 脑功能成像扫描, 应用 SPM2 图像分析软件对两组数据进行双样本 *t* 检验, 得到 SHR 肝阳上亢证脑内葡萄糖代谢变化的区域。结果 与对照组相比, 模型组葡萄糖代谢减低脑区有右侧间脑、中脑顶盖、丘脑、基底核、两侧大脑半球、尾状核、纹状体、屏状核、尾状核($P < 0.05$); 而葡萄糖代谢增高的脑区有右侧大脑半球、联合纤维、胼胝体($P < 0.05$)。结论 PET 可以直观显示自发性高血压肝阳上亢证功能改变的特定脑区, 为临床早期诊断, 防治高血压导致的认知功能障碍提供了可靠依据。

关键词: 自发性高血压大鼠; 肝阳上亢证; 正电子发射计算机断层显像(PET); 脑功能

中图分类号: R259

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2019)06-0001-08

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2019.06.001

Changes of Brain Functional Imaging in Spontaneously Hypertensive Rats with Hyperactivity of Liver Yang Based on PET

LIU Chenxiao¹, SUN Tiancai², LIU Ziwan¹, MENG Yue¹, SUN Zhiqi¹, ZHAO Yonglie¹

(1. Third Affiliated Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

2. Traditional Chinese Medicine Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450002, China)

ABSTRACT: **Objective** To explore the changes of brain functional imaging of hyperactivity of liver yang in spontaneously hypertensive rats (SHRs) by positron emission computed tomography (PET). **Methods** 8 SHRs were taken as model group and 10 normal SD rats as control group. The rats in the model group were administrated with Fuzi decoction for 28 d, then the brain functional imaging of 18F-FDG PET was carried out respectively, and the data of the two groups were tested with SPM2 image analysis software to obtain the areas of glucose metabolism in the brain of SHRs with hyperactivity of liver yang. **Results** Compared with control group, there were decreased glucose metabolism observed in right diencephalon, midbrain tectum, thalamus, basal nucleus, bilateral cerebral hemispheres, caudate nucleus, striatum, screen nucleus and caudate nucleus ($P < 0.05$), while increased in left cerebral hemispheres, combined fibers and corpus callosum in model group ($P < 0.05$). **Conclusion** PET can directly display the specific brain areas of the functional change of the spontaneous hypertension with hyperactivity of liver yang, which provides a reliable basis for early clinical diagnosis and prevention of cognitive dysfunction caused by hypertension.

KEY WORDS: spontaneously hypertensive rats; hyperactivity of liver yang; PET; brain function

收稿日期: 2019-11-10

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81373591); 北京中医药大学第三附属医院科研课题孵化项目(2019kyfh-03); 北京中医药大学第三附属医院在读研究生项目(2019-XS-ZB13)

第一作者简介: 刘晨笑(1995-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 中医药防治心脑血管疾病的研究。

△通信作者: 刘子旺, E-mail: liuziw@163.com

高血压是一种临床上的常见病,症状主要表现为头晕、头痛、失眠、口干口苦或手足麻^[1]等。若不能及时有效地给予控制,后期会出现情绪、认知、记忆、学习等脑功能障碍,给患者心理、生活和社会带来沉重负担,因此学术界对高血压导致脑功能障碍的防治研究备受关注。高血压在中医上属于“眩晕”“头痛”等范畴,其中以肝阳上亢证最为常见^[2]。高血压导致脑功能障碍发病机制尚未完全明确,脑功能障碍早期诊断临床上亦缺乏客观的可视化依据。PET 技术通过放射性示踪剂在组织内部发生电离辐射,产生电信号,通过软件处理成图像结果可以直观显示身体内部状态。因此本实验拟以 SHR 为研究对象,采用附子汤灌胃的方法制备肝阳上亢型高血压模型大鼠,利用 PET 成像技术,获得脑功能改变的特定区域,以期临床早期预防和治疗高血压脑功能障碍提供诊断依据,进一步提高高血压患者生活质量。

1 材料和方法

1.1 材料 自发性高血压大鼠(SHRs)8 只,雄性,8 周龄,体质量(190±10)g;正常清洁级 SD(Sprague Dawley)大鼠 10 只,雄性,8 周龄,体质量(190±10)g。以上动物均由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,动物许可证号:SCXK(京)2012-0001。实验过程中,大鼠处于温度 20~25℃、湿度 55%±2% 的相对恒定饲养环境中。

18F-FDG 示踪剂由中国人民解放军总医院制备,异氟烷由河北九派制药有限公司提供,附子汤饮片由北京中医药大学第三附属医院中药房提供。

附子汤制备方法:90 g 单味制附子浸泡 30 min,煎煮 2 次,将 2 次药液合并浓缩,生药量为 0.2 g/mL,4℃保存备用。

小动物 PET(E-plus animal PET)由中国科学院高能物理研究所研制,动物呼吸麻醉机(VME 系列)由美国 Matrx 公司生产,大鼠无创血压测量分析系统(ALC-NIBP)由上海奥尔科特生物科技有限公司提供,大鼠固定器自制。

1.2 模型制备 SHR 肝阳上亢证模型参照鄢东红等^[3]的方法,采用附子汤灌胃进行造模。取 8 只 SHR 作为模型组,10 只正常清洁级 SD 大鼠作为对照组。

模型组每天按 10 mL/kg 剂量灌胃附子汤,相当于每天生药用量为 2 g/kg,连续灌服 28 d。正常组每天 10 mL/kg 灌胃生理盐水作为对照,连续灌服 28 d。实验开始前,大鼠适应性饲养 1 周,自由进食饮水。

1.3 一般指标检测 ①在静息状态下测量全部大鼠尾动脉血压,重复测量 3 次后取平均值,于造模前和造模后各测量 1 次。②易激惹程度评分检测:捉持颈部时惊跳、尖叫记 1 分;捉持颈部时激怒欲咬人记 2 分;提尾部时即尖叫、惊跳,甚至欲咬人或同笼大鼠频繁打斗,频咬铁笼记 3 分;无明显现象记 0 分;将全部大鼠于造模完成后进行测量 1 次。③依次观察所有大鼠毛发及眼结合膜充血情况,于造模前后进行测量 1 次。

1.4 PET 脑功能成像 本次实验采用 18F-FDG 示踪剂,18F-FDG 是放射化学纯度高(>90%),测量误差较小(<10%)的优良示踪剂。扫描前各组大鼠禁食禁水 6 h,经尾静脉注射 148~185 MBq 18F-FDG 示踪剂,30 min 后,予 5%异氟烷麻醉,然后将大鼠以俯卧位置于 PET 扫描台上,扫描过程中保持头部固定,并予 2.5%~3%异氟烷持续吸入以保证检查顺利进行。各组大鼠按程序行投射显像和发射显像,获得的图像经时间衰减及组织衰减校正后进行滤波处理和计算机影像重建,获得脑组织各断层影像。

1.5 统计学分析 采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析,结果采用“均数±标准差($\bar{x} \pm s$)”表示,干预前后各组之间采用配对样本 t 检验,组间比较采用单因素 ANOVA 检验。分析 PET 图像时,运用统计参数图(SPM2)图像分析软件,选择 PET 模块,获得大鼠标准脑图像,采用高斯平滑滤波去噪,提高影像信噪比,最后行实验矩阵设计、参数估计等,通过各组实验前后配对样本 t 检验,获得代谢差异脑区,并自动给出 Talairach 坐标与 t 值,按照坐标查阅各脑功能区的解剖定位。

2 结果

2.1 大鼠血压及一般情况变化 造模前,模型组收缩压明显高于对照组($P<0.05$),舒张压也明显高于对照组($P<0.05$),说明模型组符合高血压动物模型;模型组造模后收缩压、舒张压分别与造模前相比,变化

均不明显 (收缩压 P 值为 0.063, 舒张压 P 值为 0.203),说明附子汤对模型组血压影响较小。

造模完成后,与对照组相比,模型组易激惹程度明显增高($P<0.05$),毛发蓬松无光泽,眼结合膜呈明显充血状,颜色加深。综合以上造模前后血压结果,说明附子汤对模型组行为学影响明显,对血压影响不明显,提示 SHR_s 肝阳上亢证模型制备成功,结果见表 1。

2.2 PET 脑功能成像结果 在 PET 成像中,红、黄区域代表葡萄糖代谢增高脑区,蓝、绿区域代表葡萄糖代谢减低脑区。该 PET 图像中,SHR_s 肝阳上亢证模型组蓝、绿区域存在于右侧间脑、中脑顶盖、丘脑、基底核、两侧大脑半球、尾状核、纹状体、屏状核、尾状

表 1 两组大鼠造模前、后血压及易激惹程度变化情况($\bar{x}\pm s$)

组别	n	收缩压/mmHg		舒张压/mmHg		易激惹程度/分
		造模前	造模后	造模前	造模后	
对照组	10	102±11	102±13	67±13	67±14	0.64±0.21
模型组	8	180±11 [△]	197±23 [△]	141±13 [△]	149±17 [△]	1.33±0.41 [△]

注:与对照组相比,[△] $P<0.05$

核,说明以上区域葡萄糖代谢降低,以上脑区体素水平与对照组各脑区相比,差异具有统计学意义($P<0.05$)。模型组红、黄区域存在于右侧大脑半球、联合纤维、胼胝体,说明这些区域葡萄糖代谢增高,以上脑区体素水平与对照组各脑区相比,差异具有统计学意义($P<0.05$)。结果见表 2,图 1、2、3。

表 2 SHR_s 肝阳上亢证模型葡萄糖代谢改变脑区

脑区	体素水平		坐标/mm		
	t	P	x	y	z
右侧间脑、中脑顶盖、上丘	13.31	0.000	2	5	-7
右侧间脑、中脑顶盖、下丘	11.93	0.000	2	5	-8
左侧大脑半球、基底核、纹状体、尾状核	10.31	0.000	-3	4	-0
右侧大脑半球、基底核、纹状体、尾状核	7.44	0.000	5	3	-1
左侧大脑半球、基底核、屏状核	5.80	0.000	-3	5	2
右侧大脑半球、连合纤维、胼胝体	11.36	0.000	2	6	3

3 讨论

高血压属中医“眩晕”“头痛”等范畴,临床上以肝阳上亢证最为常见^[2]。肝阳上亢型高血压的中医病机多因肾阴亏虚,水不涵木,肝阳偏亢,上盛下虚^[4],发则眩晕、头痛。高血压导致的脑损害主要表现为认知功能障碍,在中医理论中属“痴呆”“健忘”等范畴,此类疾病病位在脑,病机多从肝来论述。中医认为肝主疏泄,调畅情志,肝经不和则情志异常,而情志主要为脑所主;肝藏血,肝血充盛,脑髓得养,肝阳偏亢,肝血亏虚,脑髓失养,情志出现异常;肝又藏魂,肝司藏失职,魂志不全,亦是认知障碍的表现。其中肝阳上亢型高血压导致的“痴呆”“健忘”等情志性疾病多因肝阳偏亢,肝肾阴虚,阴虚日久,则肾精亏耗,肾精充于脑,肾精亏耗则脑髓失养,脑髓失养则神机不灵,从而出现“痴呆”“健忘”等疾病。可见中医从肝阳上亢论述

“痴呆”“健忘”等情志疾病与现代医学所谓的高血压导致的认知功能障碍机理多有类似。因此从高血压肝阳上亢证探讨脑功能变化对于诊断和防治高血压导致的认知功能障碍具有重要的临床意义,而且对于揭示中医从肝论治“痴呆”“健忘”等情志疾病的脑部病理基础也具有重要的研究意义。SHR_s 是与人类原发性高血压最接近的动物模型^[9],因此本实验以 SHR_s 为研究对象,采用灌服附子汤的方法^[9]制备肝阳上亢证模型,最终行为学结果显示本次实验 SHR_s 肝阳上亢证造模成功,造模后的症状与人发病症状类似。

现代医学认为认知功能是人脑所特有的高级活动功能,是大脑采集、整理、存储信息的能力,包括学习、记忆、想象等能力。认知功能障碍是指各种原因导致的上述大脑功能受损,引起学习记忆等严重障碍的病症,根据其损伤程度分为轻度认知功能障碍到痴



图 1 自发性高血压肝阳上亢证模型大鼠葡萄糖代谢改变脑区(冠状面图)

注:PET 成像显色为红、黄区域为葡萄糖代谢增高脑区,PET 成像显色为蓝、绿区域为葡萄糖代谢减低脑区,右下角图示代表激活由强到弱的变化(由黄色到红色递减,由蓝色到绿色递减)。下图皆同。

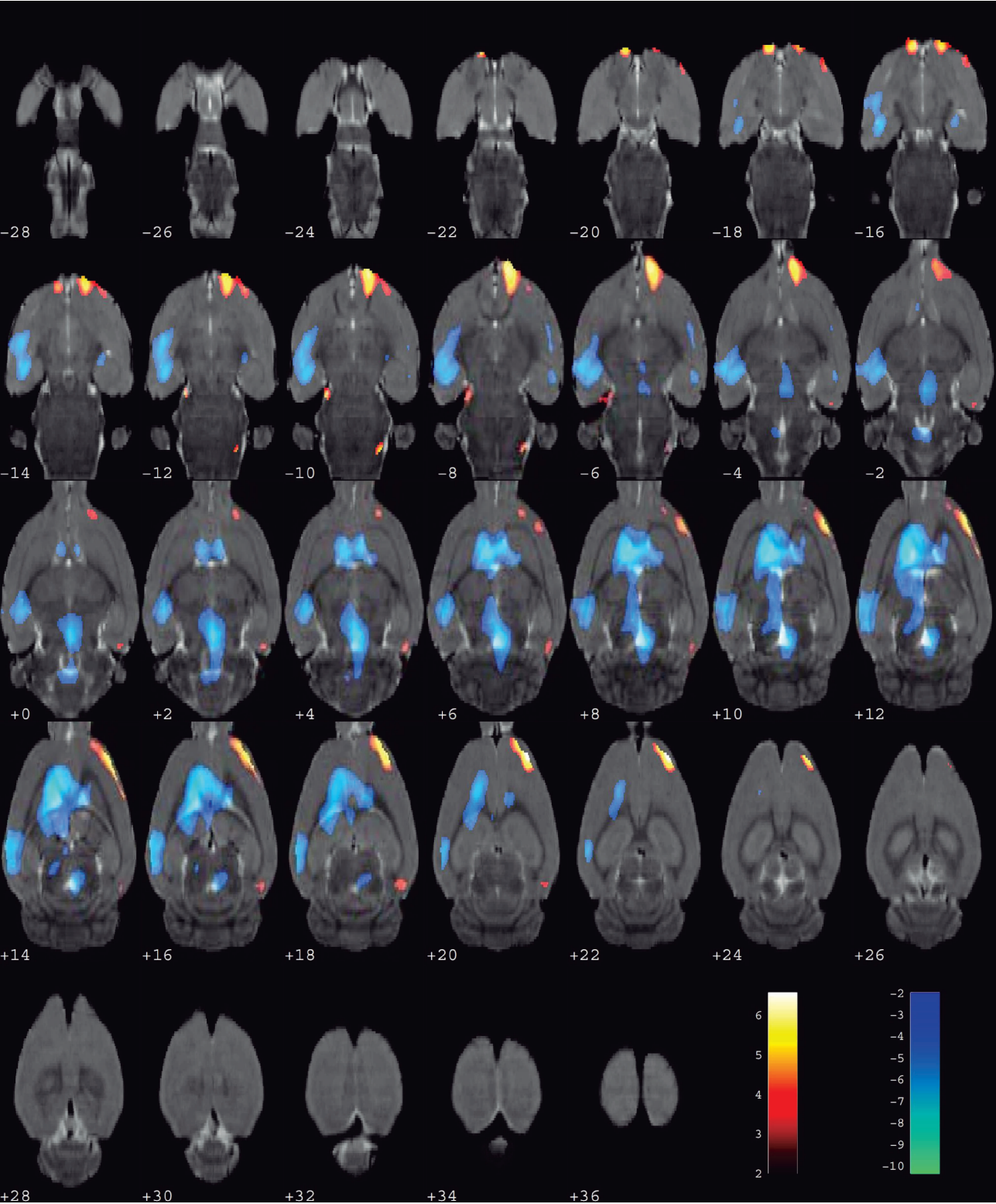


图 2 自发性高血压肝阳上亢证模型大鼠葡萄糖代谢改变脑区(横切面图)

注:PET 成像显色为红、黄区域为葡萄糖代谢增高脑区,PET 成像显色为蓝、绿区域为葡萄糖代谢减低脑区,右下角图示代表激活由强到弱的变化(由黄色到红色递减,由蓝色到绿色递减)

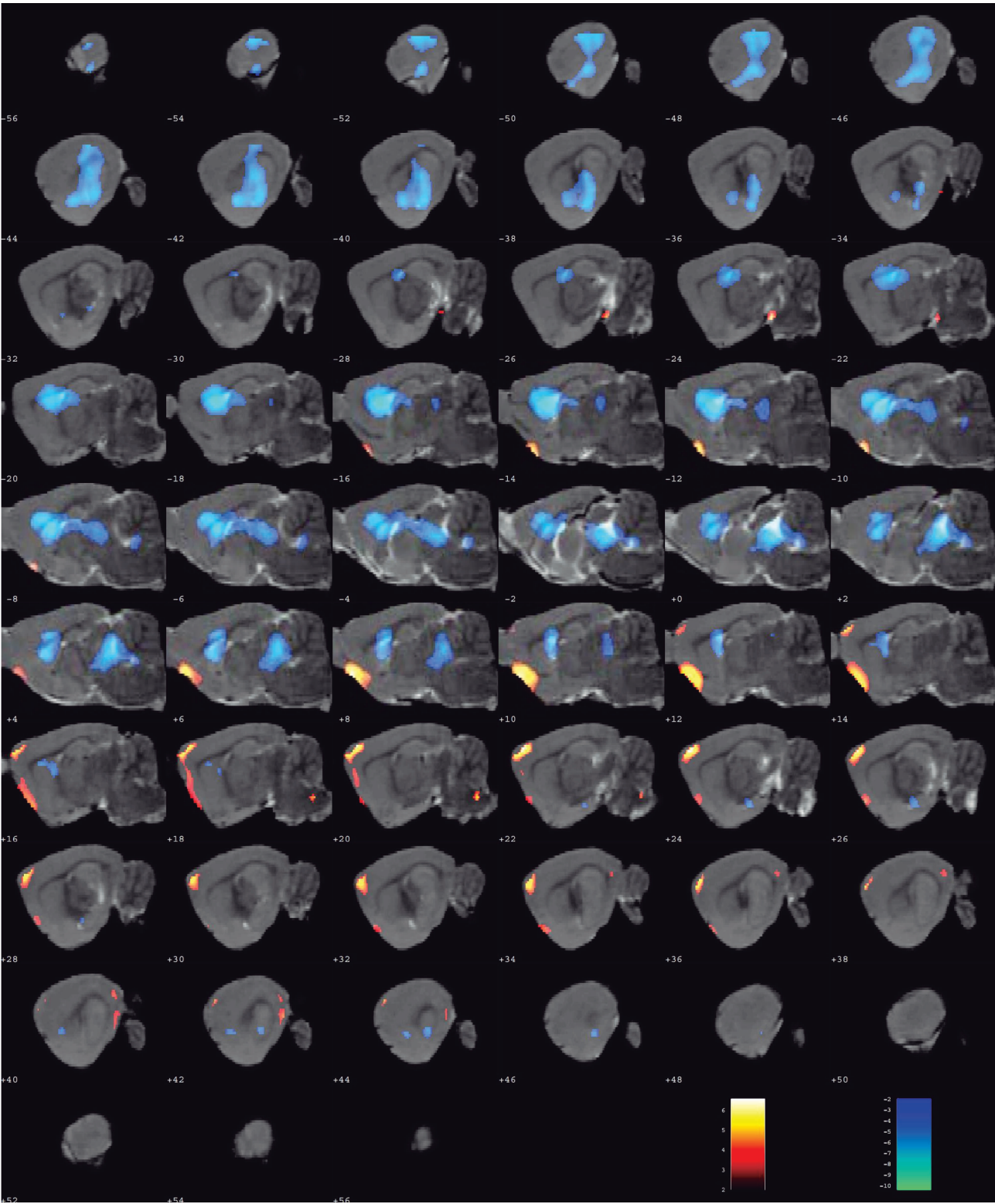


图 3 自发性高血压肝阳上亢证模型大鼠葡萄糖代谢改变脑区(矢状面图)

注:PET 成像显色为红、黄区域为葡萄糖代谢增高脑区,PET 成像显色为蓝、绿区域为葡萄糖代谢减低脑区,右下角图示代表激活由强到弱的变化(由黄色到红色递减,由蓝色到绿色递减)

呆等不同阶段,其中以痴呆最为严重,极大影响生活质量^[6]。而认知功能障碍的发生与高血压关系密切,高血压可使学习、记忆、思维等脑功能受损,影响认知^[7-8]。李拥军等^[9]提出高血压可使脑血流灌注失衡、脑血管及脑白质损伤,从而造成认知功能障碍。同时高血压可使全脑血流量下降,脑组织缺血缺氧,神经元受损,亦导致认知功能障碍^[10]。高血压还可以导致动脉硬化,影响血管功能,血运减少从而降低脑组织功能,进而影响认知功能^[11]。但目前高血压导致的各项脑功能受损的特定脑区尚不甚明确,高血压肝阳上亢证脑功能受损区域研究更为稀少。因此在本实验中,我们采用 PET 脑功能成像技术,在高血压发病初期即可直观看到自发性高血压大鼠肝阳上亢证模型脑功能发生变化的特定脑区,其中脑功能减低的脑区主要有丘脑、基底核、尾状核,脑功能增高的脑区主要为胼胝体,这为高血压导致的认知功能障碍早期诊断提供了可靠依据。

丘脑是间脑的一部分,与前脑和皮层下结构联系密切,在大脑皮层和皮层下区域之间发挥着中继站的作用,参与记忆、语言及智力等活动,对于意识水平和调节感觉信息具有重要作用^[12]。Richard Jennings J^[13]和张艳等^[14]研究发现高血压可致丘脑供血减少,使得该脑区代谢减低、脑功能受到抑制,从而使患者出现记忆、语言、智力等认知功能障碍。本实验中,肝阳上亢型高血压大鼠丘脑代谢明显减低,这提示在高血压导致的认知障碍未表现以前,丘脑已经发生了功能改变,也说明了高血压引发认知功能障碍的可能脑部病灶为丘脑位置,这也揭示了肝阳上亢导致的中医“痴呆”“健忘”等病出现记忆减退,智力低下等症潜在的病理基础。基底核的主要功能为辅助言语产生、自主运动的控制、整合调节意识活动和运动反应,同时还参与记忆、情感和学习等高级功能。基底核中不同核团的神经元能够合成不同的神经递质,形成胆碱能网络连接基底核与皮质,两者分离可能作为言语、运动、认知等脑功能缺陷的解释^[15]。临床发现高血压导致偏瘫、失语、运动障碍患者 MRI 显示病灶部位多在基底核^[16]。本次实验中,动物模型基底核功能降低,这提示基底核功能早期改变是高血压导致认知障

碍的病理原因,也揭示了肝阳上亢导致的中医“痴呆”出现的言语障碍、运动失衡等症的潜在脑部病理基础。PET 图像发现尾状核区葡萄糖代谢亦有所降低,有人研究尾状核体积缩小可导致认知功能障碍^[17],这也提示尾状核代谢降低可能也是高血压引发认知功能障碍的早期病理改变,也是中医肝阳上亢证“痴呆”的病理原因。

在本实验中,胼胝体葡萄糖代谢增强。胼胝体连接两侧大脑半球,是最大的连合纤维,对于视觉、语言和认知具有重要作用^[18]。高血压状态下,胼胝体血流量减少,代谢降低^[19],但在本实验中该区代谢异常增强,这可能与本次实验研究对象为肝阳上亢证模型这一特殊因素有关。在肝阳上亢模型中,由于 TH 基因扩增使 TH 基因的 mRNA 及蛋白质过度表达,引起 TH 活性增加,导致血浆 NE、E 增加^[20],而胼胝体的功能与 NE、E 等神经递质的含量成正相关^[21],因此导致了该区域代谢异常增强。本次实验中该动物模型胼胝体代谢增强是否代表了高血压肝阳上亢证患者胼胝体代谢增强,以及胼胝体代谢增强与认知功能障碍之间的关系尚待进一步研究。

高血压发病初期即有脑功能改变,本次实验从 PET 对不同脑区代谢情况成像亦证实了这一点,但脑功能改变早期症状往往具有隐匿性,直到后期功能障碍严重时症状才开始凸显^[22],因此临床上往往存在诊治不及时,从而延误病情的情况。通过本次实验发现了肝阳上亢型高血压大鼠早期脑代谢异常的区域,这不仅为临床早期诊断高血压导致的脑功能改变提供了可视化依据,进而为肝阳上亢证高血压导致认知功能障碍的提早预防与治疗提供了可靠依据,同时也初步揭示了肝阳上亢导致的中医“痴呆”“健忘”等情志性疾病潜在的脑部病理基础。

参考文献:

- [1] 贾微,郭超峰,杨小英,等. 632 例高血压病中医症状与证候要素的相关性研究 [J]. 内蒙古中医药,2017,36(11): 2-3.
- [2] 谷万里,史载祥,余云旭,等. 原发性高血压的中医证型特征[J]. 中西医结合学报,2010,8(9):842-847.

- [3] 鄢东红,金益强,肖纯,等. 自发性高血压大鼠肝阳上亢证模型的复制[J]. 湖南中医学院学报,1999,19(4):35-38.
- [4] 赵浩,江艳芬,周学春,等. 肝阳上亢型高血压的理论探析[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2016,14(18):2192-2193.
- [5] 李强. 化痰祛浊通络方对自发性高血压大鼠血压一氧化氮、内皮素 1 及血管紧张素 II 的影响 [J]. 河北中医,2015,37(8):1179-1182.
- [6] 曹颖,吕洋. 轻度认知功能障碍向痴呆进展的危险因素研究进展[J]. 医学综述,2015,21(17):3076-3079.
- [7] 申晓芬,倪伟,李黎,等. 老年人高血压和降压治疗与认知功能障碍的关系 [J]. 现代医药卫生,2019,35(5):682-686.
- [8] NIERMEYER M A. Cognitive and gait decrements among non-demented older adults with Type 2 diabetes or hypertension:a systematic review[J]. The Clinical Neuropsychologist,2018,32(7):1256-1281.
- [9] 李拥军,金鑫. 高血压与老年人认知功能的关系[J]. 中华老年多器官疾病杂志,2009,8(0):398-399.
- [10] EFIMOVA I Y,EFIMOVA N Y,TRISS S V,et al. Brain perfusion and cognitive function changes in hypertensive patient[J]. HypertensRes,2008,31(4):673-678.
- [11] 王平,曾慧. 高血压与认知功能关系研究进展[J]. 中国全科医学,2011,14(6):677-679.
- [12] SHUO L,YOGESH K,NISHANT G,et al. Clinical and neuroimaging findings in thalamic territory infarctions:a review [J]. Journal of Neuroimaging,2018,28(4):343-349.
- [13] RICHARD J J,CHRISTIE I C,MULDOON M F,et al. Brain function,cognition,and the blood pressure response to pharmacological treatment [J]. Psychosomatic Medicine,2010,72(7):702-711.
- [14] 张艳. 高血压患者的经颅多普勒超声检测结果分析[J]. 中华全科医学,2014,12(7):1125-1126.
- [15] MENG D,LI X F,BAUER M,et al. 通过基底核功能连接改变预测轻度认知障碍疗效 [J]. 国际医学放射学杂志,2019,42(1):114.
- [16] 孔文龙,石小峰,冯晓慧,等. 磁共振弥散张量成像对成人基底节脑出血内囊传导束损伤的诊治价值[J]. 中国实用神经疾病杂志,2018,21(11):1183-1189.
- [17] 吴迪,范国光. 磁共振体积测量技术在评价特发性全面性癫痫患者皮层下结构体积与认知功能相关性中应用[J]. 创伤与急危重病医学,2017,5(4):236-241.
- [18] 辛勇通,林秀孟. 可逆性胼胝体压部病变综合征的临床及文献分析 [J]. 神经损伤与功能重建,2019,14(8):395-398.
- [19] 王婷. 高血压相关脑小血管病发病机制及临床评估的磁共振成像研究[D]. 北京:中国人民解放军医学院,2016.
- [20] 金益强,胡随瑜,鄢东红,等. 高血压肝阳上亢证的分子机理研究[J]. 中国中西医结合杂志,2000,20(2):87-90.
- [21] 雷楚,黄嘉璐,陈昊炜,等. 双环己酮草酰二胺诱导脱髓鞘模型小鼠情绪及神经递质的变化[J]. 第三军医大学学报,2016,38(11):1263-1269.
- [22] KÖHLER S,BOARS M A,SPAUWEN P,et al. Temporal evolution of cognitive changes in incident hypertension: prospective cohort study across the adult age span [J]. Hypertension,2014,63(2):245-251.