

# 基于NMR代谢组学方法研究应激性高血压大鼠尿液中的差异性代谢组份

新疆医科大学基础医学院 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011

学的研究。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, No. 81460751.

作者贡献分布:

布都完成。

通讯作者: 830011, 自治区乌鲁木齐市新医路393号, 新疆医科大学基础医学院。  
kurax8824@sina.com  
电话: 0991-4362703

收稿日期: 2017-07-16  
修回日期: 2017-08-24  
接受日期: 2017-08-29  
在线出版日期: 2017-10-08

## Nuclear magnetic resonance-based metabolomic identification of differential urinary metabolites in rats with stress induced hypertension

Halidan Abudu, Gui-Xia Wu, Li Zhong, Kasimujiang Aximujiang, Jing-Ping Zhang, Jia Li, Lan-Peng Chu, Kurexi Yunusi

Halidan Abudu, Gui-Xia Wu, Li Zhong, Kasimujiang Aximujiang, Jing-Ping Zhang, Jia Li, Lan-Peng Chu, Kurexi Yunusi, School of Basic Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous

Region, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81460751.

Correspondence to: Kurexi Yunusi, Professor, Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medicine, Xinjiang Medical University, 393 Xinyi Road, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. kurax8824@sina.com

Received: 2017-07-16  
Revised: 2017-08-24  
Accepted: 2017-08-29  
Published online: 2017-10-08

## Abstract

To identify differential urinary metabolites in rats with stress induced hypertension using a nuclear magnetic resonance (NMR)-based metabolomic approach to help clarify the pathogenesis of stress induced hypertension and provide experimental basis for its pharmaceutical treatment.

## METHODS

Twenty male Wistar rats were divided into a normal control group and a stress induced hypertension model group. The normal control group was not given any treatment, while hypertension was induced by stress in rats of the stress induced hypertension model group. After using a rat tail arteriometer to measure arterial systolic blood pressure to verify the successful induction of hypertension, urinary samples were collected from the rats to identify differential urinary metabolites using

## 背景资料

现代生活节奏的加快、工作压力的增加、人际关系复杂及对经济状况的担忧等因素均可使人处于应激状态。经过大量的研究,人们发现应激状态下机体会发生体温、心血管系统、神经内分泌系统及免疫系统等多个组织脏器功能改变,应激与机体神经内分泌免疫系统之间的密切关系也得到普遍认可。一项约有3000人参与的研究报道显示,青年时期处于应激状态的人在15年后发生高血压的概率大于其他未经应激状态的人。

## 同行评议者

蔡建春, 教授, 主任医师, 厦门大学附属中山医院胃肠外科; 蒋炜, 副教授, 复旦大学附属中山医院消化科; 王书奎, 教授, 主任技师, 博士生导师, 南京医科大学附属南京医院

## 研究前沿

目前国内外对应激性高血压的研究热点、重点主要是通过形态学方面、免疫系统、神经系统方面研究应激性高血压发病机制。亟待研究的问题主要是通过应激性高血压的发病机制研发专门针对治疗应激性高血压的药物。

the NMR-based metabolomic method.

## RESULTS

By measuring arterial systolic blood pressure using a rat tail arteriometer, it was confirmed that hypertension was successfully induced in rats. Compared with the normal control group, the contents of tyrosine, phenylalanine, acetone, 1-methyl histidine,  $\beta$ -glucose, acetate-acetic acid, formic acid, salt acetoacetate, malonic acid, citric acid, malic acid, and creatinine were increased in urine of rats of the stress induced hypertension model group.

## CONCLUSION

Hypertensive rats present with abnormal lipid, amino acid, and glucose metabolism.

© The Author(s) 2017. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Stress induced; Hypertension; Urine; Metabolomics

Halidan Abudu, Wu GX, Zhong L, Kasimujiang Aximujiang, Zhang JP, Li J, Chu LP, Kurexi Yunusi. Nuclear magnetic resonance-based metabolomic identification of differential urinary metabolites in rats with stress induced hypertension. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2017; 25(28): 2551-2558 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v25/i28/2551.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v25.i28.2551>

## 摘要

### 目的

基于代谢组学方法研究应激性高血压大鼠尿液中的差异性代谢组份, 并通过差异性代谢组份探讨应激性高血压的发病机制, 为进一步进行应激性高血压大鼠的药物治疗提供实验依据。

### 方法

♂ Wistar大鼠20只分为正常对照组与应激性高血压模型组, 正常对照组未行任何处理, 应激性高血压模型组大鼠给予足底电刺激、制动、夹尾等刺激。用大鼠尾动脉测压仪尾套法测各组大鼠尾动脉收缩压确定应激性高血压模型建立成功后, 收集各组大鼠尿液, 通过核磁共振氢谱法测出各组大鼠尿液中差异性代谢组份。

### 结果

(1)通过足底电刺激足底电刺激、制动、夹尾等复合刺激方法可以建立应激性高血压

模型; (2)与正常组相比, 应激性高血压模型组大鼠尿液中酪氨酸、苯丙氨酸、丙酮、1-甲基组氨酸、 $\beta$ -葡萄糖、乙酸-醋酸盐、甲酸、乙酰乙酸、丙二酸、柠檬酸、苹果酸、肌酸酐、肌酸、尿素的含量增加。

## 结论

应激性高血压大鼠存在脂类、氨基酸、糖代谢异常。

© The Author(s) 2017. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 应激; 高血压; 尿液; 代谢组学

**核心提要:** 作者在既往的造模方法的基础上, 用到了生理应激和心理应激合在一起的复合性应激, 而且利用代谢组学方法, 根据差异性代谢组份对应激性高血压的发病机制进行探讨, 为进一步进行应激性高血压的药物治疗奠定了一定的基础。

## NMR

研究应激性高血压大鼠尿液中的差异性代谢组份. 世界华人消化杂志 2017; 25(28): 2551-2558 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v25/i28/2551.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v25.i28.2551>

## 0 引言

应激是加拿大生理学家Selye于20世纪30年代末提出的, 是指机体在受到各种内外环境因素及社会、心理因素刺激时所出现的非特异性全身性适应反应。现代生活节奏的加快、工作压力的增加、人际关系复杂及对经济状况的担忧等因素均可使人处于应激状态<sup>[1,2]</sup>。经过大量的研究<sup>[3-6]</sup>, 人们发现应激状态下机体会发生体温、心血管系统、神经内分泌系统及免疫系统等多个组织脏器功能改变, 应激与机体神经内分泌免疫系统之间的密切关系也得到普遍认可。一项约有3000人参与的研究报道<sup>[7]</sup>显示, 青年时期处于应激状态的人在15年后发生高血压的概率大于其他未经历应激状态的人。另外因紧张的工作环境和工作内容本身的压力等应激因素导致的高血压的发病也越来越受到关注<sup>[8-11]</sup>。应激性高血压在高血压病中所占据的比例日益增加<sup>[12,13]</sup>。目前临床上治疗高血压的药物很多, 但是还尚未研制出专门针对

应激性高血压的降压药。因此,明确应激性高血压的发病机制是当下治疗及防治应激性高血压的一项重要课题。本实验首先建立了应激性高血压大鼠模型,以基于核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)的代谢组学方法拟探讨应激所致的代谢组份的变化在高血压发生发展中的作用,为进一步研发治疗应激性高血压的药物提供实验依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** (1)动物:选择健康SPF级♂Wistar品系大鼠20只,体质量 $200\text{ g}\pm 30\text{ g}$ 。购自新疆医科大学动物实验中心;(2)仪器与试剂:Inova600型核磁共振波谱仪(美国Varian公司);BP-600A全自动大小鼠无创血压测量系统(成都泰盟公司);ZH-B6大鼠代谢笼(淮北正华生物仪器设备有限公司);2,4-二硝基氯苯(天津市光复精细化工研究所);重水(美国Sigma公司);3-(甲基硅基)氘代丙酸钠(TSP)(美国Sigma公司);磷酸氢二钠( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ )(天津市光复精细化工研究所);磷酸二氢钾( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )(天津市光复精细化工研究所)。

## 1.2 方法

**1.2.1 应激性高血压大鼠模型的建立:**应激性高血压模型组大鼠10只,动物模型制备以足底电击结合噪声<sup>[14]</sup>以及制动、夹尾等基本手段作为应激条件。将应激性高血压模型组大鼠随机2只为一组放入底部铺有铜栅的电击笼中,电击笼大小为 $24\text{ cm}\times 24\text{ cm}\times 28\text{ cm}$ ,铜栅上通以短暂交流电,电击电压从30 V开始每隔3 d增加5 V,最高电压达75 V,电击比为60%-70%,电击时间为每日上午10-12点2个小时。在电击的同时给予由蜂鸣器发出的强度为90-100 dB的噪声刺激。刺激的间隔时间人工随机控制,一般为5-20 s。电击和噪声刺激结束后,每只老鼠放入制动管内30 min,制动结束前5 min用书夹夹住每只老鼠的尾部。造成动物高度精神紧张及烦躁。正常对照组(10只)在相对湿度60%-80%及( $25\text{ }^\circ\text{C}\pm 3\text{ }^\circ\text{C}$ )室温下用普通饲料饲养,自由饮食水每天维持正常12 h光照,整个实验过程中不给予任何应激刺激。

**1.2.2 大鼠尾动脉收缩压测定:**正常对照组和应激性高血压模型组大鼠处于清醒状态下,用大鼠尾动脉测压仪尾套法测各组大鼠尾动脉收缩压,每次测量均在应激刺激停止2 h后进行。

**1.2.3 鉴定标准:**大鼠血压在85-120 mmHg范围

为正常血压,血压较造模前升高20-25 mmHg及以上并超过135 mmHg者为造模成功,血压无明显升高或死亡者为失败。按照此标准鉴定应激性高血压模型是否建立成功。

**1.2.4 尿液的收集与制备:**将正常对照组和应激性高血压模型组大鼠单只放入代谢笼,禁食,不禁水,收集24 h的尿液,4  $^\circ\text{C}$ ,3000 r/min离心15 min后取上清2 mL分装于EP管中加入50  $\mu\text{L}$ 叠氮钠,并放入-80  $^\circ\text{C}$ 冰箱保存,备用。上样前,取缓慢解冻后的尿液400  $\mu\text{L}$ ,再加入200  $\mu\text{L}$ 含0.05%TSP的重水配制的磷酸缓冲液( $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 1.5 mol/L, PH = 7.4)中混合,室温条件下置15 min,以1000 r/min离心10 min后取上清液550  $\mu\text{L}$ ,放入5 mm的核磁管中。

**1.2.5 尿液核磁共振氢谱的( $^1\text{H}$ MNR)测定:**使用Inova600型核磁共振波谱仪调用NOESY-PRESAT-1D脉冲序列进行尿液氢谱测定。以TSP作为内标,其化学位移定为0 ppm。在25  $^\circ\text{C}$ 的测试温度下采用预饱和方式抑制水峰,饱和时间为2 s,采样点数32 k,扫描次数为128次,谱宽为10000 Hz。以解谱作为目的,部分样品测试了J-分解谱, $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ 同核相关谱和质子全相关谱等核磁共振二维谱<sup>[15]</sup>。

**1.2.6 尿液 $^1\text{H}$ NMR图谱处理和分析:**尿液样品 $^1\text{H}$ 核磁共振图谱( $^1\text{H}$ NMR图谱)进行基线和相位调整后以TSP作为化学位移0.00 ppm的质子信号标准进行定标,在10.0-0.5 ppm范围内把谱图以每段为0.003 ppm分成2668段并摄取水峰信号范围5.20-4.66 ppm后用计算机进行自动积分。用归一化的方法将每一段积分值除以所有积分值之和对积分值进行处理并用SIMCA-P+11(simple independent modeling of class analogy)软件进行偏最小二乘判别分析(partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)和正交偏最小二乘判别分析(orthogonal PLS-DA, OPLS-DA)进行统计分析。通过OPLS-DA获得的每一个积分段所代表的代谢物相关系数( $r$ )来确定各组大鼠尿液中有差异性的代谢成分,检验标准 $P$ 定为0.05。该研究中,根据皮尔森相关系数显著性差异检测,确定 $|r|>0.707$ (最少样品数为6)所代表的代谢物是统计学上有显著性差异即 $P<0.05$ 的代谢物,临界值 $|r|$ 值越大表示差异性越大,反之则越小。

**1.2.7 颈总动脉压的测定:**处死前1 d禁食(不禁水),处死当天用10%的水合氯醛100 g/0.3 mL的

## □ 相关报道

原发性高血压是一种由遗传、环境与体液等因素相互作用所引起的威胁人类健康的头号慢性病,随着医学模式的转变,国内外研究者们日益认识到应激相关的社会心理行为因素在原发性高血压发生发展中的重要性。大量的动物实验和多数流行病学研究证实应激是原发性高血压的重要危险因素,但由于生活中的各种应激因素对原发性高血压的致病过程及机制的错综复杂,其发病的机制目前尚不清楚。



### 创新盘点

本文在造模方法上通过使用心理、生理应激合在一起的复合性应激方法,应用代谢组学方法探讨应激性高血压的发病机制。

表 1 应激性高血压大鼠模型建立后各组大鼠动脉血压变化(mmHg)

动物分组	收缩压	舒张压
正常对照组	107 ± 26.2	88 ± 24.1
应激性高血压模型组	146 ± 20.8 <sup>a</sup>	120 ± 18.4 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 正常对照组。

剂量腹腔注射麻醉实验动物,将麻醉好的大鼠取仰卧位固定于手术板上,切开颈部皮肤,钝性分离覆盖于气管前的肌肉,暴露颈总动脉,在其下方置2根结扎线,先结扎颈总动脉的远心端,并用动脉夹在近心端处夹闭颈总动脉,在结扎处的近心端0.3 cm处,以45°斜角剪一斜切口再将动脉插管由该切口以向心方向插入股动脉,并用事先置好的结扎线牢固固定,防止动脉插管脱落。插管前注意将动脉插管内充满肝素盐水,并排尽插管内的气体。最后将动脉插管与压力换能器联通,利用SMUPE型生物信号处理系统即可采集大鼠的血压、心率数据。为了去除以上手术操作对血压、心率的影响,大鼠血压通常以手术结束,动物休息20-30 min后相对稳定的数值为准。各组大鼠血压变化情况如表1。

**统计学处理** 应用SPSS18.0统计软件对数据进行统计处理以及分析。以mean±SD表示各项数据,各组间差异比较采用One-way ANOVA进行多组样本均数的比较,显著性界值设定为0.05。

## 2 结果

**2.1 慢性应激对大鼠收缩压的影响** 给予动物电击足底结合噪声的应激刺激时,大鼠出现呼吸加深加快、烦躁、互相斗殴、尖叫、直立、试图逃避等一系列紧张表现。与正常组血压相比,给予应激刺激后试验组大鼠的收缩压明显升高(表1)。

**2.2 各组大鼠体质量的变化** 图1及表2均显示第0周(给予应激刺激前)2组大鼠的体质量无明显差异。给予应激刺激后的前2 wk 2组大鼠的体质量均呈增长趋势,但2组大鼠的体质量变化无统计学差异( $P > 0.05$ )。给予刺激后的第3周开始正常组和应激性高血压模型组大鼠体质量增长有差异且应激性高血压模型组大鼠的体质量增长明显低于正常组( $P < 0.05$ )。

**2.3 各组大鼠尿液的<sup>1</sup>H NMR分析** 正常对照组、应激性高血压模型组尿液<sup>1</sup>H NMR谱(图2)。

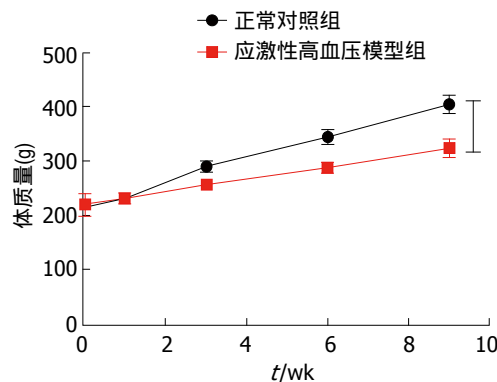


图 1 应激刺激前后各组大鼠体质量变化。

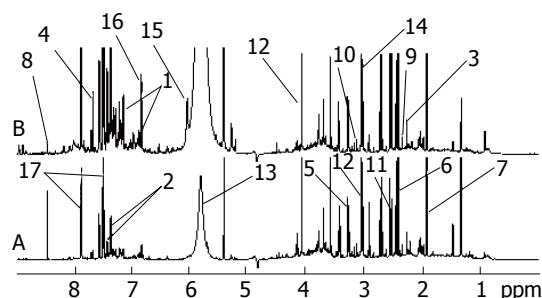


图 2 尿液样本的<sup>1</sup>H NMR图谱。

此次分析中,  $R^2X = 0.55$ ,  $R^2Y = 0.94$ ,  $Q^2 = 0.62$ 。从图3可以看到, 各组的分布区域完全分开, 该图说明各组血清在代谢成分上有明显差异, 从图4 OPLS-DA分析相关系数中得到每2组的差异性代谢组分的化学位移并与相关系数相结合确定差异程度, 根据以上信息及用<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H同核相关谱、质子全相关谱、J-分解谱等核磁共振二位谱技术确定了各组大鼠尿液中差异性代谢组份(表3)。2组尿液代谢组份有明显的差异, 差异性代谢组份中相关系数为正值的代谢物是在应激性高血压大鼠模型组中升高的代谢物, 相关系数为负值的代谢物是在应激性高血压大鼠模型组中降低的代谢物。与正常组相比, 应激性高血压模型大鼠尿液中酪氨酸、苯丙氨酸、丙酮、1-甲基组氨酸、β-葡萄糖、乙酸-醋酸盐、甲酸、乙酰乙酸、丙二酸、柠檬酸、苹果酸、肌酸酐、肌酸、尿素的含量增加。

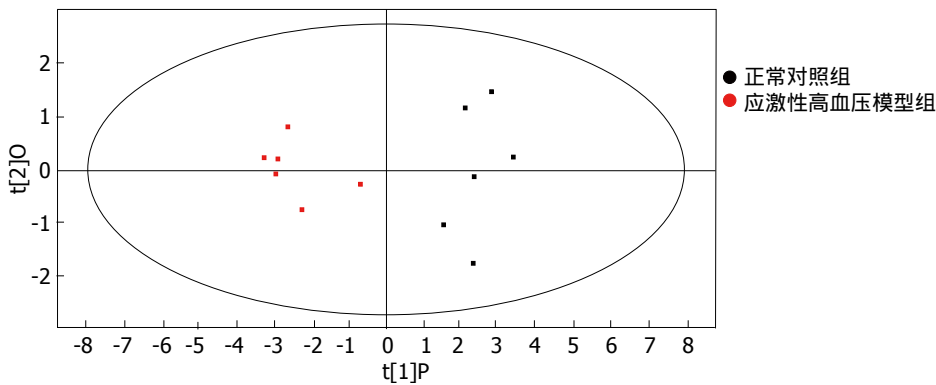


图 3 各组尿液样本<sup>1</sup>HNMR谱OPLS-DA分析平面分布图。

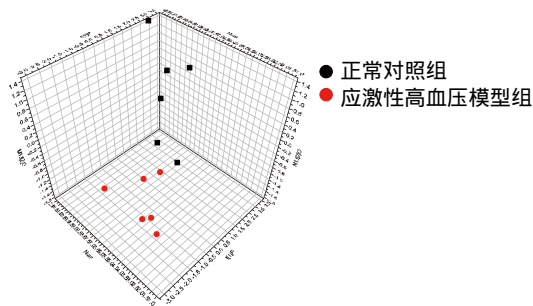


图 4 各组尿液样本<sup>1</sup>HNMR谱OPLS-DA分析3D分布图。

### 3 讨论

近年来,国内外诸多学者已经开始对高血压病进行代谢组学研究。大量研究证实高血压病常与个体中多种代谢异常集结存在。Akira等<sup>[16]</sup>研究表明SHRSP和WKY鼠尿的样本经过常规处理,经过<sup>1</sup>HNMR的检测,发现尿液代谢谱图发生了显著性变化,表明高血压与尿液代谢谱之间有一定的关系。在本研究中我们首先通过复合应激刺激建立了应激性高血压的大鼠模型,应用<sup>1</sup>HNMR检测正常组与应激性高血压模型组大鼠尿液中的差异代谢组份,为应激性高血压的发病机制的研究奠定实验基础。

与正常组相比较应激性高血压模型组大鼠的尿液样品中主要有酪氨酸、苯丙氨酸、丙酮、乙酰乙酸、肌酸、肌酸酐、柠檬酸、苹果酸、β-葡萄糖、1-甲基组氨酸等的含量增加。

苯丙氨酸在机体主要代谢途径是,由苯丙氨酸羟化酶催化下经羟化作用,生成酪氨酸。酪氨酸在肾上腺髓质和神经组织经酪氨酸羟化酶催化生成多巴,多巴在多巴脱羧酶的作用下生成多巴胺。在肾上腺髓质,多巴胺侧链的β-碳原子再被羟化,生成去甲肾上腺素,后者甲基化生成肾上腺素。多巴胺、肾上

腺素、去甲肾上腺素统称为儿茶酚胺。在应激状态下,交感神经被激活,通过交感-肾上腺髓质系统的参与,交感神经末梢及肾上腺髓质释放大量的儿茶酚胺,以及神经肽Y、加压素,再加上肾上腺皮质分泌大量糖皮质激素,肾素-血管紧张素系统激活,使心率增快,心肌收缩力增强,心输出量增加,血压升高。儿茶酚胺类在激动心肌细胞的β肾上腺素能受体后,可通过cAMP转导通路,激活细胞膜上的L型钙通道,增加钙内流,再通过钙触发钙释放机制促进细胞质内Ca<sup>2+</sup>浓度升高,从而使心肌收缩能力增加,心排出量增加使血压升高。除此酪氨酸通过脱羧基生成的酪胺具有升高血压的作用。

在应激状态下,机体所需要的能量有75%-95%来自脂肪分解代谢,脂肪分解代谢加速,使体内脂肪消耗增加,体质量逐渐下降。应激时由于肾上腺素、去甲肾上腺素、胰高血糖素等脂解激素增多,脂肪的动员和分解代谢增强,因而游离脂肪酸和酮体有不同程度的增强,乙酰乙酸和丙酮均为酮体,酮体是脂肪酸在肝细胞线粒体中进行分解代谢所生成的代谢产物,本实验结果提示模型组大鼠尿液中酮体含量明显增高,提示脂肪分解代谢旺盛。本实验结果显示应激性高血压模型组大鼠体质量与正常组大鼠体质量增长明显低于正常组( $P<0.05$ ,表2)。研究<sup>[17,18]</sup>表明,慢性应激反应可导致认知、情绪、行为等缺陷,如个体出现体质量减轻、活动减少或激越等抑郁、焦虑样表现。应激刺激后体质量下降有很多因素,其中应激会导致动物食欲下降<sup>[19]</sup>是原因之一,皮质酮升高是另一重要原因。陈平周等<sup>[20]</sup>研究表明束缚性应激当天大鼠进食量明显减少。汪卫

#### 应用要点

本文主要对应激性高血压大鼠的尿液中的差异性代谢组份进行的探讨,其原因主要由于机体的病理变化,使得机体的代谢产物也会产生某种相应的变化。对由疾病引起的代谢产物的变化进行分析,能够帮助人们更好地理解病理变化过程以及在此病理过程中体内物质的代谢途径,有助于疾病的生物标志物的发现和辅助临床诊断。

### ■名词解释

11 $\beta$ HSD2: 2型11 $\beta$ 羟基脱氢酶, 糖皮质激素分泌过多时可通过肾脏中的2型11 $\beta$ 羟基脱氢酶将皮质醇转换为无活性的肾上腺皮质酮, 以避免激活盐皮质激素受体。

表 2 正常对照组与应激性高血压模型组大鼠体质量的变化

分组	0 wk	1 wk	3 wk	6 wk	9 wk
正常对照组	213.62 $\pm$ 39.11	232.33 $\pm$ 38.27	290.1 $\pm$ 38.14	345.33 $\pm$ 41.08	404.56 $\pm$ 50.98
应激性高血压模型组	219.83 $\pm$ 52.30	230.83 $\pm$ 25.44	256 $\pm$ 21.71 <sup>a</sup>	287.50 $\pm$ 29.82 <sup>a</sup>	324.33 $\pm$ 40.69 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 正常对照组。

表 3 各组大鼠尿液<sup>1</sup>H NMR谱经过OPLS-DA分析获得的主要差异性代谢组分及其相关系数

序号	代谢物	化学位移(mg/L)	归属	相关系数
1	酪氨酸	3.94(dd), 6.89(d), 7.18(d)	$\alpha$ -CH, H <sub>3</sub> /H <sub>5</sub> , H <sub>2</sub> /H <sub>6</sub>	0.84
2	苯丙氨酸	7.32(m), 7.37(m), 7.42(m)	H <sub>2</sub> /H <sub>6</sub> , H <sub>4</sub> , H <sub>3</sub> /H <sub>5</sub>	0.83
3	丙酮	2.22(s)	CH <sub>3</sub>	0.81
4	1-甲基组氨酸	7.05(s), 7.78(s)	H <sub>4</sub> , H <sub>2</sub>	0.78
5	$\beta$ -葡萄糖	3.24(dd)	C-H <sub>2</sub>	0.71
6	苹果酸	2.41(s)		0.83
7	乙酸-醋酸盐	1.91(s)	CH <sub>3</sub>	0.82
8	甲酸	8.44(s)	CH	0.73
9	乙酰乙酸	2.27(s)	CH <sub>3</sub>	0.72
10	丙二酸	3.12(s)	CH <sub>2</sub>	0.80
11	柠檬酸	2.54(d), 2.68(d)	CH <sub>2</sub> , CH <sub>2</sub>	0.78
12	肌酸酐	3.05(s), 4.06(s)	CH <sub>3</sub> , CH <sub>2</sub>	0.78
13	尿素	5.79(s)		0.90
14	肌酸	3.03(s), 3.93(s)	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub>	0.91

s: 单峰; d: 双重峰; t: 三重峰; q: 四重峰; m: 多重峰; dd: 双重双重峰。

华等<sup>[21]</sup>研究发现体质量增长减慢与应激后血浆皮质酮浓度升高相关皮质酮影响三大代谢, 导致体质量增长缓慢。

与正常组比较模型组尿液中柠檬酸、苹果酸、肌酸、肌酸酐等含量增加。柠檬酸、苹果酸是三羧酸循环的中间产物, 三羧酸循环不仅为机体直接提供腺嘌呤核苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP), 而且是联系糖、脂类、氨基酸代谢的重要枢纽。参加三羧酸循环的氧化酶系主要在线粒体上。当机体产生的ATP量高于机体需要量时, 肌酸在肌酸激酶催化下, 接受ATP的高能磷酸基形成磷酸肌酸来储存能量, 磷酸肌酸分子结构中具有P-N型高能磷酸键, 因此他能直接给细胞供应能量。研究<sup>[22]</sup>发现磷酸肌酸具有3倍二磷酸果糖和1.5倍ATP的能量水平。首先, 应激是一种高耗能状态, 其次在应激状态下, 线粒体膜发生去极化使膜电位下降, 线粒体膜通透性增加, 直接影响参加三羧酸循环氧化酶系的功能此时机体通过三羧酸循环产生的ATP远远不能满足机体

需要量, 因此机体所需的能量主要来自磷酸肌酸。从而产生过多的肌酸, 导致尿中肌酸酐的含量增加。

本实验结果提示, 模型组大鼠尿液中 $\beta$ -葡萄糖含量升高。目前, 临床及实验资料<sup>[23]</sup>均证实11 $\beta$ 羟化固醇脱氢酶2型(enzyme 11 $\beta$ -hydroxy steroid dehydrogenase type2, 11 $\beta$ HSD2)缺陷可导致机体血压升高, 而葡萄糖正是11 $\beta$ HSD2的抑制剂。11 $\beta$ HSD2缺陷可以通过2条途径导致血压升高<sup>[24,25]</sup>。11 $\beta$ HSD是目前公认的糖皮质激素受体前调节的最重要的关键物质。11 $\beta$ HSD2通过迅速催化皮质醇成为失去生物活性的代谢产物-皮质素从而确保醛固酮与其受体的特异性结合。倘若11 $\beta$ HSD2功能受到抑制将致使皮质醇取代醛固酮占据盐皮质激素受体, 导致“假性醛固酮增多效应”产生容量扩张性高血压。11 $\beta$ HSD2功能被抑制致使皮质醇增高, 与糖皮质激素受体结合增多, 通过“允许作用”使血压升高。

1-甲基组氨酸去甲基生成组氨酸, 组氨酸

经组氨酸脱羧酶催化下转变为组胺(histamine, HA)。已有报道显示中枢HA能神经元主要通过激活交感肾上腺轴<sup>[26,27]</sup>以及分泌血管加压素<sup>[28-30]</sup>导致血压升高。

总之, 应激性高血压大鼠存在脂类、氨基酸、糖代谢及三羧酸循环的紊乱, 因此我们推测, 应激性高血压是一种代谢性疾病。

#### 4 参考文献

- 1 Taheri S. Orexin A immunoreactivity (orexin A-IR): Regional brain distribution in spontaneously hypertensive rats(SHR) and Wistar-Kyoto rats(WKY). *Journal of Psychopharmacology* 2000; 14(3 Supplement): A71
- 2 Rodgers RJ, Ishii Y, Halford JC, Blundell JE. Orexins and appetite regulation. *Neuropeptides* 2002; 36: 303-325 [PMID: 12450737 DOI: 10.1016/S0143-4179(02)00085-9]
- 3 Luine V, Martinez C, Villegas M, Magariños AM, McEwen BS. Restraint stress reversibly enhances spatial memory performance. *Physiol Behav* 1996; 59: 27-32 [PMID: 8848486 DOI: 10.1016/0031-9384(95)02016-0]
- 4 Kumar KB, Karanth KS. Enhanced processing of an aversive memory following inescapable shock in rats. *Biol Psychiatry* 1993; 33: 169-172 [PMID: 8448265 DOI: 10.1016/0006-3223(93)90136-2]
- 5 Roozendaal B. Stress and memory: opposing effects of glucocorticoids on memory consolidation and memory retrieval. *Neurobiol Learn Mem* 2002; 78: 578-595 [PMID: 12559837 DOI: 10.1006/nlme.2002.4080]
- 6 McIntosh AR. Mapping cognition to the brain through neural interactions. *Memory* 1999; 7: 523-548 [PMID: 10659085 DOI: 10.1080/096582199387733]
- 7 Shirasaka T, Takasaki M, Kannan H. Cardiovascular effects of leptin and orexins. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2003; 284: R639-R651 [PMID: 12571072 DOI: 10.1152/ajpregu.00359.2002]
- 8 Ferguson AV, Samson WK. The orexin/hypocretin system: a critical regulator of neuroendocrine and autonomic function. *Front Neuroendocrinol* 2003; 24: 141-150 [PMID: 14596809 DOI: 10.1016/S0091-3022(03)00028-1]
- 9 Ehmk H, Just A. The orexins: linking circulatory control with behavior. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2003; 285: R519-R521 [PMID: 12909578 DOI: 10.1152/ajpregu.00311.2003]
- 10 Tjen-A-Looi SC, Li P, Longhurst JC. Medullary substrate and differential cardiovascular responses during stimulation of specific acupoints. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 287: R852-R862 [PMID: 15217791 DOI: 10.1152/ajpregu.00262.2004]
- 11 Adamantidis A, de Lecea L. The hypocretins as sensors for metabolism and arousal. *J Physiol* 2009; 587: 33-40 [PMID: 19047201 DOI: 10.1113/jphysiol.2008.164400]
- 12 奥帕里尔. 高血压病学. 北京: 北京大学医学出版社, 2008: 80
- 13 Patel C. Stress management & hypertension. *Acta Physiol Scand Suppl* 1997; 640: 155-157 [PMID: 9401631]
- 14 Zhu DN, Xue LM, Li P. Effect of central muscarine receptor blockade with DKJ-21 on the blood pressure and heart rate in stress-induced hypertensive rats. *Blood Press* 1996; 5: 170-177 [PMID: 8790928 DOI: 10.3109/08037059609062126]
- 15 巴吐尔·买买提明, 买买提·艾买提, 阿仙姑·哈斯木, 衣不拉音·斯马义. 核磁共振技术测试不同性别大鼠尿液代谢物的研究. 分析测试技术与仪器 2010; 16: 157-161
- 16 Akira K, Imachi M, Hashimoto T. Investigations into biochemical changes of genetic hypertensive rats using <sup>1</sup>H nuclear magnetic resonance-based metabolomics. *Hypertens Res* 2005; 28: 425-430 [PMID: 16156506 DOI: 10.1291/hypres.28.425]
- 17 Bremner JD. Does stress damage the brain? *Biol Psychiatry* 1999; 45: 797-805 [PMID: 10202566 DOI: 10.1016/S0006-3223(99)00009-8]
- 18 Checkley S. The neuroendocrinology of depression and chronic stress. *Br Med Bull* 1996; 52: 597-617 [PMID: 8949260 DOI: 10.1093/oxfordjournals.bmb.a011570]
- 19 慧琳, 李树田, 王冬兰, 陈伟强, 冯凭. 应激对大鼠摄食量的影响及其机制的探讨. 中国公共卫生 2003; 19: 1220-1221
- 20 陈平周, 林勇强, 庄希航. 汕头市精神发育迟滞流行病学调查. 中国民政医学杂志 2001; 13: 1-3
- 21 汪卫华, 吴亚南, 汪晓东, 王俊, 翟灵伟, 郑丽, 屈晓燕, 冯琴妹, 孙伟, 马东, 沈晓华. 常州市0-6岁儿童智力残疾的流行病学调查. 中国组织工程研究 2002; 6: 3330-3331
- 22 Tang LH, Xia ZY, Zhao B, Wei XD, Luo T, Meng QT. Phosphocreatine preconditioning attenuates apoptosis in ischemia-reperfusion injury of rat brain. *J Biomed Biotechnol* 2011; 2011: 107091 [PMID: 21317985 DOI: 10.1155/2011/107091]
- 23 Riddle MC, McDaniel PA. Acute reduction of renal 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity by several antinatriuretic stimuli. *Metabolism* 1993; 42: 1370-1374 [PMID: 8412753 DOI: 10.1016/0026-0495(93)90140-J]
- 24 张永生, 吴平生, 刘伊丽. 11 $\beta$ 羟化固醇脱氢酶缺陷与高血压. 国外医学心血管疾病分册 1998; 25: 7-9
- 25 Zhang YS, Wu PS, Liu YL, Wang X, Li X. Changes in plasma total bile acid level of patients with essential hypertension and of spontaneous hypertensive rats and the correlation with systolic and diastolic blood pressure. *J Med Coll PLA* 1998; 13: 276-279
- 26 Akins VF, Bealer SL. Central nervous system histamine regulates peripheral sympathetic activity. *Am J Physiol* 1991; 260: H218-H224 [PMID: 1992801]
- 27 Akins VF, Bealer SL. Hypothalamic histamine release, neuroendocrine and cardiovascular responses during tuberomammillary nucleus stimulation in the conscious rat. *Neuroendocrinology* 1993; 57: 849-855 [PMID: 7692339 DOI: 10.1159/000126444]
- 28 Gatti PJ, Gertner SB. The effect of a vasopressin antagonist on the pressor response to histamine administered centrally. *Neuropharmacology* 1983; 22: 895-902 [PMID: 6688661 DOI: 10.1016/0028-3908(83)90137-5]
- 29 Bealer SL, Abell SO. Paraventricular nucleus histamine increases blood pressure by adrenoreceptor

**□ 同行评价**  
本文利用代谢组学方法研究应激性高血压大鼠尿液中的差异性代谢组份, 并通过差异性代谢组份探讨应激性高血压的发病机制, 数据充分, 有一定的创新性。



- stimulation of vasopressin release. *Am J Physiol* 1995; 269: H80-H85 [PMID: 7631878]
- 30 Knigge U, Willems E, Kjaer A, Jørgensen H, Warberg J. Histaminergic and catecholaminergic

interactions in the central regulation of vasopressin and oxytocin secretion. *Endocrinology* 1999; 140: 3713-3719 [PMID: 10433231 DOI: 10.1210/endo.140.8.6891]

编辑: 闫晋利 电编: 杜冉冉



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2017 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》正文要求

**本刊讯** 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空 1 格写标题; 2 级标题后空 1 格接正文. 以下逐条陈述: (1) 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2) 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3) 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4) 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图 1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: … 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: <sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$ ( $P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套  $P$  值, 则<sup>c</sup> $P<0.05$ , <sup>d</sup> $P<0.01$ ; 第 3 套为<sup>e</sup> $P<0.05$ , <sup>f</sup> $P<0.01$ .  $P$  值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、- 应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用  $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$  表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小  $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$ , 必须使用双面胶条黏贴在正文内, 不能使用浆糊黏贴. (5) 志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**  
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,  
CA 94588, USA  
Fax: +1-925-223-8242  
Telephone: +1-925-223-8243  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

