

七种药物对电刺激大鼠坐骨神经引起后肢皮肤血流量的影响

陈季强¹、米原典史、今井康夫、大井康浩、猪木令三(大阪大学齿学部药理教室, 大阪 565, 日本国)
卞如濂(浙江医科大学药理教研室, 杭州 310006, 中国)

Effects of 7 drugs on cutaneous blood flow evoked by electric stimulation of rat sciatic nerve

CHEN Ji-Qiang¹, YONEHARA Norifumi, IMAI Yasuo, OOI Yasuhiro, INOKI Reizo
(Department of Pharmacology, Faculty of Dentistry, Osaka University, Osaka 565, Japan) BIAN Ru-Lian
(Department of Pharmacology, Zhejiang Medical University, Hangzhou 310006, China)

ABSTRACT The non-invasive technique of laser-Doppler flowmeter (LDF) was used to measure the change of cutaneous blood flow evoked by electric stimulation of rat sciatic nerve. The sciatic nerve was cut centrally and placed on bipolar electrodes. Drug were infused in a carotid artery. Electric stimulation of the sciatic nerve containing sensory afferent fibers caused an increase in cutaneous blood flow. This increase was not modified by the ia infusion of adrenergic blocking agents (phentolamine, 0.1 mg/kg and propranolol, 0.5 mg/kg), anti-muscarinic agent (atropine 0.5 mg/kg), anti-histamines (mepyramine, 10 mg/kg and cimetidine, 10 mg/kg) and 5-HT antagonist (methysergide, 0.5 mg/kg). Pretreatment with capsaicin (50 mg/kg, sc) in the newborn rat or the ia infusion of spantide (1, 2 μ mol/kg) significantly inhibited the the stimulation-induced increase of the blood flow. These results suggest that substance P released from the peripheral endings of sensory nerve may be involved in vasodilation following electric stimulation of the sciatic nerve in rat.

KEY WORDS blood flow velocity; electric stimulation; sciatic nerve; spantide; capsaicin; substance P

摘要 电刺激含有感觉神经纤维的坐骨神经可以引起大鼠后肢皮肤血流量增加, 这种血流量的增加不受酚妥拉明、普萘洛尔、阿托品、美吡拉敏、西咪替丁和美西麦角的影响。而辣椒素或 spantide 均抑制其增加。结果表明电刺激坐骨神经引起的皮肤血流量增加与感觉神经纤维末梢释放 P 物质有关。

关键词 血流速度; 电刺激; 坐骨神经; Spantide; 辣椒素; P 物质

Received 1990 May 8 Accepted 1990 Jun 6

¹ Visiting Scholar from Department of Pharmacology, Zhejiang Medical University, Hangzhou 310006, China

电刺激感觉神经或脊髓后根可引起伴有血管扩张的神经性炎症反应⁽¹⁾。这种反应与感觉神经末梢释放 SP 有关⁽²⁾。感觉神经纤维内有 SP 存在^(3,4)，含有 SP 的神经纤维不仅仅在脊髓后角，而且在皮肤的毛细血管周围也有高密度的分布。我们用大鼠后肢皮下灌注的方法，发现电刺激坐骨神经时，灌注液中 SP 的含量增加(未发表资料)。为了探明电刺激时神经末梢释放 SP 与血管扩张的直接关系，本文研究电刺激坐骨神经引起皮肤血管扩张的机理。

MATERIALS AND METHODS

神经刺激和皮肤血流量的测定 SD 系大鼠 150 \pm SD 24 g, δ , 购自日本动物株式会社, ip 乌拉坦 780 mg/kg 麻醉, 气管插管, 在一侧坐骨神经安置双极电极并覆盖液体石蜡棉花。除胍乙啶及其对照组外均在刺激电极的近心端处切断坐骨神经。同侧足背用除毛霜除毛。用激光多普勒血流量仪(ALF 2100, Advance Co Ltd, Japan)测定足背皮肤的血流量变化, 激光探头放置在第三趾骨趾端 5 mm 处的皮肤上, 为了监测全身性动态循环, 在大鼠一侧颈动脉插管, 接换能器记录血压, 由于坐骨神经内除含有感觉神经外, 还含有运动神经, 因此在实验中每 2h 给大鼠 sc 肌松剂 alcuronium (Hoffmann-La Roche Co, Swiss), 1 mg/kg, 以消除电刺激(10 V, 2 Hz, 1 ms duration, 30 s)时肌肉的收缩。

药品和给药方法

胍乙啶(Guanethidine), 20 mg/kg, sc, qd \times 2 d.

Capsaicin (Sigma 产品), 50 mg/kg, 出生后 d 2 的幼鼠, sc, 2 个月后用热板法确认

疼痛阈值上升者用于实验。

酚妥拉明 (phentolamine), 普萘洛尔 (propranolol), 阿托品 (atropine), 美吡拉敏 (mepyramine), 西咪替丁 (cimetidine), 美西麦角 (methysergide), spantide (Peptide Institute Inc, Japan 产品)均由股动脉内注射(ia)局部投药(Fig 1), 目的是为了尽量减少药物的全身作用。

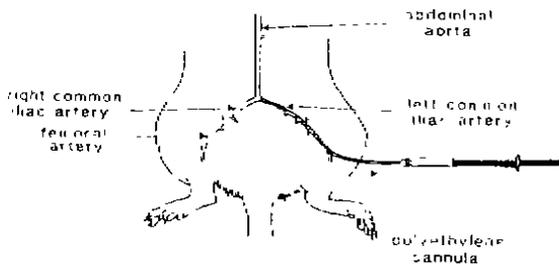


Fig 1. Diagram of ia infusion of drugs.

ia 用微量恒速注射泵 (Microinjection pump CMA / 100 Sweden), 给药时间是从电刺激前 10 min 开始, 给药速度为 12 μ l / min, 5 min 内注射完毕。

RESULTS

坐骨神经电刺激 30 s 后, 大鼠后肢足背皮肤血流量迅速增加, 在 30-120 s 之间达到最高水平(+356 \pm 80% n = 13), 同时全身血压也发生短暂的上升。在切断坐骨神经的大鼠, 电刺激时皮肤血流量先出现短暂地下降, 随后迅速增加, 峰值在 60-180 s 之间(+85 \pm 12%, n = 171), 较神经未切断组低, 但全身血压未发生变化(Fig 2), 因此本文中除胫乙啶组及其对照组外, 均施于坐骨神经切断。

经胫乙啶处理的大鼠电刺激坐骨神经时, 后肢皮肤血流量增加 357 \pm 86% (n = 29), 与对照组比较无显著差异(P < 0.05)。 α 肾上腺素受体阻断药酚妥拉明(0.1 mg / kg, ia), β 肾上腺素受体阻断药普萘洛尔(0.5 mg / kg, ia)以及 M 胆碱受体阻断药阿托品(0.5 mg / kg, ia)投

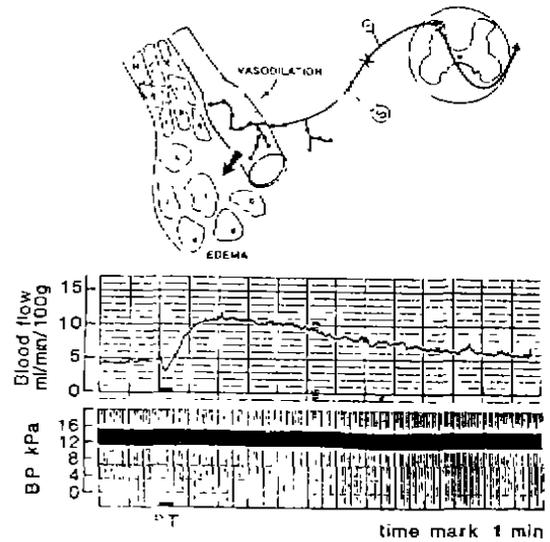


Fig 2. Effect of electric stimulation (10 V, 2 Hz, 1 ms duration) for 30 s of the cut sciatic nerve on cutaneous blood flow and the systemic blood pressure.

药后, 电刺激坐骨神经时, 后肢皮肤血流量的变化与投药前基本相同(Tab 1), H_1 组胺受体阻断药 mepyramine (10 mg / kg, ia)合用 H_2 组胺受体阻断药西咪替丁(10 mg / kg, ia)以及 5-HT 拮抗剂 methysergide (0.5 mg / kg, ia)投药后, 电刺激坐骨神经时后肢皮肤血流量的变化与投药前亦相同(Tab 1)。P 物质的拮抗剂 spantide (1-2 μ mol / kg, ia)投药后, 电刺激坐骨神经时皮肤血流量增加的幅度较投药前显著

Tab 1. Effects of ia 7 drugs on the increase (%) of laser-Doppler flowmeter readings evoked by electric stimulation of sciatic nerve. $\bar{x} \pm SD$. * P > 0.05, ** P < 0.05, *** P < 0.01.

| Drug | Dose | Rats | Before | After |
|--------------|------------------|------|-------------|---------------|
| Phentolamine | 0.1 mg / kg | 10 | 88 \pm 20 | 78 \pm 18* |
| Propranolol | 0.5 mg / kg | 6 | 81 \pm 12 | 87 \pm 18* |
| Atropine | 0.5 mg / kg | 7 | 80 \pm 19 | 89 \pm 28* |
| Mepyramine | 10 mg / kg | 8 | 79 \pm 12 | 94 \pm 21* |
| Cimetidine | 10 mg / kg | 5 | 81 \pm 22 | 76 \pm 18* |
| Methysergide | 0.5 mg / kg | 5 | 81 \pm 22 | 76 \pm 18* |
| Spantide | 1 μ mol / kg | 8 | 77 \pm 13 | 42 \pm 11** |
| | 2 μ mol / kg | 9 | 81 \pm 14 | 12 \pm 6*** |

减少(Tab 1)。

用 capsaicin 处理后的大鼠,电刺激坐骨神经时,皮肤血流量增加 $23 \pm 5\%$ ($n=5$),而对对照组电刺激坐骨神经时皮肤血流量增加 $84 \pm 14.2\%$ ($n=10$),有显著差异($P < 0.01$)。

DISCUSSION

用激光多普勒血流量仪能观察到电刺激大鼠坐骨神经时后肢皮肤组织血流量显著增加。激光多普勒血流量仪的工作原理是发射出的激光束遇到移动中的血细胞发生反射,根据多普勒效应计算出血细胞移动的速度,血细胞移动速度的增加反映单位时间内血流量的增加。由仪器直接显示出血流量的读数,单位是 $\text{ml}/(\text{min} \cdot 100 \text{ g tissue})$ 。由于 He-Ne 激光的穿透力仅为 1 mm,因此,激光多普勒血流量仪的读数变化实际上反映激光探头部位皮肤组织内微循环的动态变化⁽⁵⁾。用激光多普勒血流量仪测定血流量变化的主要优点之一是对组织没有损伤。本研究中,每间隔 1 小时电刺激坐骨神经 1 次,重复刺激 7 次以上激光多普勒血流量仪的读数变化基本相同。

实验结果表明,电刺激坐骨神经引起的皮肤血流量增加,不受肾上腺素神经阻断药, M 胆碱神经阻断药,抗组胺药以及 5-HT 拮抗药的影响。

Spantide $[(D\text{-Arg}^1, D\text{-Trp}^{7,9}, \text{Leu}^{11})\text{-SP}]$ 是人工合成的 P 物质的特异性拮抗剂⁽⁶⁾,其化学结构与 P 物质相似,仅在肽链的第 1, 7, 9 和 11 位的氨基酸被替代。给大鼠股动脉 ia spantide ($i-2 \mu\text{mol}/\text{kg}$)后,电刺激坐骨神经引起的皮肤血流量增加的幅度较给药前显著降

低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

Capsaicin 是红辣椒中提取的一种辛辣成分,能使感觉神经中细直径的 c-纤维变性⁽⁷⁾,成年的动物给以 capsaicin 后可以引起感觉神经可逆性变性,变性时间持续几天到 1 个月左右,在动物初生时给药可引起感觉神经终身变性⁽⁷⁾。本研究中,在大鼠初生第 2 天 sc capsaicin, 2 个月后经热板法确认感觉神经已经变性再给大鼠坐骨神经电刺激,观察皮肤血流量增加的幅度与对照组比较显著为低($P < 0.01$)。

以上结果表明,电刺激坐骨神经引起的大鼠后肢皮肤血流量增加与感觉神经纤维释放 P 物质有关。

REFERENCES

- 1 Foreman JC, Jordan CC. Neurogenic inflammation. *Trends Pharmacol Sci* 1984; 5 : 116
- 2 Lembeck F, Holzer P. Substance P as neurogenic mediator of antidromic vasodilation and neurogenic plasma extravasation. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol* 1979; 310 : 175
- 3 Hökfelt T, Kellerth J-O, Nilsson G, Pernow B. Experimental immunohistochemical studies on the localization and distribution of substance P in cat primary sensory neurons. *Brian Res* 1975; 100 : 235
- 4 Cuello AC, Del Fiacco M, Paxinos G. The central and peripheral ends of the substance P containing sensory neurons in the rat trigeminal system *Ibid* 1978; 152 : 499
- 5 Nilsson GE, Tenland T, Öberg PA. Evaluation of a laser Doppler flowmeter for measurement of tissue blood flow. *IEEE Trans Biomed Eng* 1980; BME-27 : 597
- 6 Folkers K, Hakanson R, Hörig J, Xu J-C, Leander S. Biological evaluation of substance P antagonists *Br J Pharmacol* 1984; 83 : 449
- 7 Jancsó G, Kiraly E, Jancsó-Gabór A. Chemosensitive pain fibers and inflammation. *Int J Tiss React* 1980; 2 : 57