

MPO 活力呈直线关系。测定心肌组织的结果表明, 在心肌缺血的早期(10-30 min)就有白细胞浸润。缺血到 3 h 后, 白细胞浸润更多。缺血 1 h 再灌 2 h 比单纯缺血浸润为多。大量的中性白细胞浸润于缺血与再灌组织, 引起急性炎症反应和释放氧自由基等可能加速心肌组织的损伤。

钙拮抗剂对心肌缺血再灌时白细胞浸润的影响尚未见报道。我们的实验结果显示 Ver 对心肌缺血所致的早期心律失常 (10 min 内) 有明显的对抗作用。值得注意的是 Ver 可以减少中性白细胞的浸润, 表现为缺血再灌时心肌组织中 MPO 活力降低, 这一作用是否与其抗心律失常作用有关尚不清楚。有资料表明钙拮抗剂可以降低 FMLP 所致的白细胞趋化作用、超氧化物阴离子和细胞内酶的释放⁽⁷⁾。因此 Ver 的抗心肌缺血的作用可能部分还与它减少白细胞浸润有关。

REFERENCES

1 Chatelain P, Latour J-G, Tran D, de Lorgeril M,

Dupras G, Bourassa M. Neutrophil accumulation in experimental myocardial infarcts: relation with extent of injury and effect of reperfusion. *Circulation* 1987; 75 : 1083

2 Mullane KM, Read N, Salmon JA, Moncada S. Role of leukocytes in acute myocardial infarction in anesthetized dogs: relationship to myocardial salvage by anti-inflammatory drugs. *J Pharmacol Exp Ther* 1984; 228 : 510

3 Allan G, Bhattacharjee P, Brook CD, Read NG, Parke AJ. Myeloperoxidase activity as a quantitative marker of polymorphonuclear leukocyte accumulation into an experimental myocardial infarct—The effect of ibuprofen on infarct size and polymorphonuclear leukocyte accumulation. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7 : 1154

4 Nayler WG. The role of calcium in the ischemic myocardium. *Am J Pathol* 1981; 102 : 262

5 何凤慈 唐汝愚. 钙与中性粒细胞功能的关系. *Chin Pharmacol Bull* 1989; 5 : 85

6 Schultz J, Kaminker K. Myeloperoxidase of the leukocyte of normal human blood. I. Content and localization. *Arch Biochem Biophys* 1962; 96: 465

7 Azuma Y, Tokunaga T, Takeda Y, Ogawa T, Takagi N. The effect of calcium antagonists on the activation of guinea pig neutrophils. *Jpn J Pharmacol* 1986; 42 : 243

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1990 Sep; 11 (5) : 438-441

肾性高血压犬交感神经末梢去甲肾上腺素的释放调节¹

徐 标、陈日新、陈达光²、张 林、秉建民 (南京铁道医学院心血管病研究室, 南京 210009, 中国)

Modulation of norepinephrine release in sympathetic nerve endings in renal hypertensive dogs

XU Biao, Chen Ri-Xin, CHEN Da-Guang, ZHANG Lin, LI Jian-Min (Cardiovascular Research Unit, Nanjing Railway Medical College, Nanjing 210009, China)

ABSTRACT Experimental renal hypertensive and normal dogs with femoral arteries constantly perfused were studied. Cocaine was used to block the presynaptic norepinephrine (NE) reuptake and tyramine to initiate the release of NE in sympathetic nerve endings. NE spillover and infusion pressure were measured under basic conditions and during intraarterial infusion of cocaine, tyramine and in combination with α_1 and α_2 adrenoceptor antagonists. The extent of NE spillover increase induced by infusion of tyramine, the increased infusion pressure by cocaine and tyramine, and the reduced infusion pressure by prazosin were all greater in hypertensive dogs than those in normal dogs, but adrenoceptor antago-

Received 1989 Apr 5 Accepted 1990 May 31
¹ Project supported by the Fund for the 7th Five-Year Plan Key Projects, No 75-062-02-05
² Now in Fujian Medical College, Fuzhou 350005, China

nist idazoxan further increased tyramine-induced NE spillover in normal dogs only. It was suggested that reduced-regulation of presynaptic α_2 adrenoceptors to NE release and increased responsiveness of postsynaptic α_1 adrenoceptors to NE were present in hypertensive dogs.

KEY WORDS renal hypertension; adrenergic alpha receptor blockaders; femoral artery; norepinephrine; cocaine; tyramine; prazosin

摘要 观察肾性高血压和正常犬 α_1 和 α_2 受体阻断前后股动脉内灌注可卡因和酪胺引起的去甲肾上腺素(NE)释放率和灌注压的变化。灌注酪胺后高血压犬 NE 释放率及灌注压升高幅度较正常犬明显。咪唑克生仅使正常犬灌注酪胺后 NE 释放率进一步增高,提示高血压犬突触前 α_2 受体对 NE 释放的调节能力下降。

关键词 肾性高血压;肾上腺素能 α 受体阻滞剂;股动脉;去甲肾上腺素;可卡因;酪胺;咪唑克生

从交感神经末梢释放到达效应器与特异性受体结合的去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)量,受到交感神经冲动释放的频率、囊泡内 NE 含量、突触前后对 NE 回摄取和突触前 α_2 受体对 NE 释放的负反馈调节能力等因素的影响。这些因素的异常可引起血管张力的改变。一些研究发现高血压病早期及实验性高血压模型中,交感神经兴奋性增强,NE 释放增多,交感神经电刺激引起的缩血管作用加强⁽¹⁻²⁾。但对高血压时突触前 α_2 受体对 NE 释放的负反馈调节能力的研究还不多。本实验研究实验性高血压基础状态下交感神经激动时 NE 释放的变化,交感神经末梢突触前 α_2 受体及血管壁突触后 α 受体的功能状态。

MATERIALS AND METHODS

药品 可卡因(cocaine, Coc)及酪胺(tyramine, Tyr)(上海生化试剂商店),咪唑克生(prazosin, Pra, Pfizer 药厂),咪唑克生(Idazoxan, Ida, Rackitt & coleman 公司)。Pra 溶剂为 5% 聚丙二醇生理盐水,加热震荡至完全溶解。其余药物均溶解在生理盐水

(NS)中。所有试剂均在试验当天配制,4℃ 冰箱保存备用。

肾性高血压模型的制备 体重为 $14 \pm SD$ 3 kg 的健康杂种犬 13 条,♀♂ 不拘,按包膜法⁽³⁾建立高血压模型。术后所有犬均形成了高血压。

实验步骤 对照组和术后 45-55 d 的肾性高血压犬,1 wk 内未给任何药物,戊巴比妥钠 25 mg/kg ip 麻醉,分离一侧股动脉,插入导管连接压力换能器(Gould 公司 P 50)作持续体循环血压监测。然后分离另一侧股动脉中段的一小分支插入导管作连续灌注压监测。iv 肝素 700 IU/kg 后,于腹股沟韧带下 1 cm 处结扎股动脉,结扎线近心端插入内径 4 mm 的导管连接蠕动泵(沙洲医疗器械厂 RDB-IV 型)的输入管,远心端插入同样管径导管连接蠕动泵的输出管,输出管中间连接一 Y 型管作药物注射用。调节灌流量使灌注压与体循环血压一致,并保持不变。股动脉缺血时间要求短于 5 min。灌注结束前,用量筒校正每分钟灌流量。灌注 30 min 后开始如下实验:

A 组 正常和高血压犬各 8 条,股动脉内灌注 Coc 10 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{min})$,同时灌注 NS 1 ml/min,持续 20 min。第 10 min 开始灌注 Tyr 1 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{min})$,持续 10 min。停药 30 min 后改 NS 为 Ida 0.1 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{min})$,余按上述时间和剂量灌注 Coc 及 Tyr。再停药 45 min 后改 Ida 为 Pra 60 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{min})$ 按同样时间和剂量灌注 Coc 及 Tyr。

B 组 正常和高血压犬各 5 条,按 A 组同样时间和剂量灌注药物,但改 Pra 先灌注 Ida 后灌注。

两个实验组犬各种药物灌注均按 1 ml/min 通过蠕动泵注射,每次灌注前, Tyr 灌注开始前及结束时,同时通过蠕动泵的输入管及灌注侧股静脉直接穿刺抽取血液 5 ml 作 NE 测定。灌注过程中持续作灌注压测定,利用药物灌注前后灌注压的差值作为灌注压变化

的指标。

NE 浓度测定 血液用肝素和偏重亚硫酸钠混合抗凝，迅速在 4℃ 下分离血浆，-30℃ 冻存 LC-304 高效液相色谱仪，LC-4B 安培型电化学检测器测定血浆 NE 含量。色谱柱为 Biophase ODS 5 μm, 4.6 × 250 mm (Bioanalytic System, USA), 柱温 35℃, 工作电极玻碳电极，参比电极 Ag/AgCl 电极，工作电压+650 nV。NE 释放率计算：

$$\text{NE 释放率} = (C_v - C_a) \times V / W$$

其中 C_v 代表灌流侧股静脉血浆 NE 浓度 (pg/ml), C_a 代表灌流侧股动脉血浆 NE 浓度 (pg/ml), W 代表体重 (kg), V 代表灌流量 (ml/ml)。

数据处理 统计学处理采用配对 t 检验。

RESULTS

血压 高血压组血压为 20.0 ± 2.1 kPa, 对照组血压为 15.9 ± 2.1 kPa. 两组间有显著差异 ($P < 0.01$). 药物灌注过程中体循环血压无明显变化。

灌流压的变化 (Tab 1) 两个实验组 Coc 及 Coc+Tyr 灌注后高血压犬灌流压升高幅度均比对照组犬大 ($P < 0.05$). A 组 α_2 受体阻滞

Tab 1. Changes of infusion pressure (kPa) in femoral arteries of hypertensive and normal dogs during various infusions. $\bar{x} \pm SD$. * $P > 0.05$, ** $P < 0.05$, * $P < 0.01$ vs control.**

	Control	Hypertension
Group A (n=8)		
Coc	2.1 ± 1.2	$3.7 \pm 1.6^{**}$
Coc+Tyr	3.2 ± 1.1	$4.3 \pm 1.9^{**}$
Coc+Tyr+Ida	-0.4 ± 0.8	$1.1 \pm 2.0^*$
Coc+Tyr+Pra	-2.4 ± 1.8	$-7.1 \pm 3.1^{***}$
Group B (n=5)		
Coc	1.9 ± 0.9	$3.5 \pm 1.4^{**}$
Coc+Tyr	3.1 ± 1.3	$4.5 \pm 2.0^{***}$
Coc+Tyr+Pra	-2.5 ± 1.1	$-5.4 \pm 1.9^{***}$
Coc+Tyr+Ida	-0.5 ± 0.9	$-0.2 \pm 1.1^*$

Coc = cocaine; Tyr = tyramine; Pra = prazosin; Ida = idazoxan

剂 Ida+Coc+Tyr 灌注后，高血压犬灌流压较 α_2 受体阻滞前灌注 Coc+Tyr 增高，对照组犬轻度下降，但均没有统计学上的明显差异 ($P > 0.05$). B 组 α_1 受体阻滞剂 Pra + Coc + Tyr 灌注后，高血压组灌流压下降比对照组更明显 ($P < 0.01$).

NE 释放率的变化 (Fig 1) 两组中高血压犬和对照组犬基础状态下 NE 释放率无明显差异 ($P > 0.05$). Coc 灌注后高血压和对照犬 NE 释放率均明显增高，其增高幅度无明显差异 ($P > 0.05$). 说明高血压犬突触前膜对 NE 回摄取无明显异常。Coc + Tyr 灌注后高血压犬 NE 释放率增高幅度较对照组明显 ($P < 0.05$). α_2 受体阻滞后灌注 Coc + Tyr 较 α_2 受体阻滞前灌注 Coc + Tyr 对照犬 NE 释放率

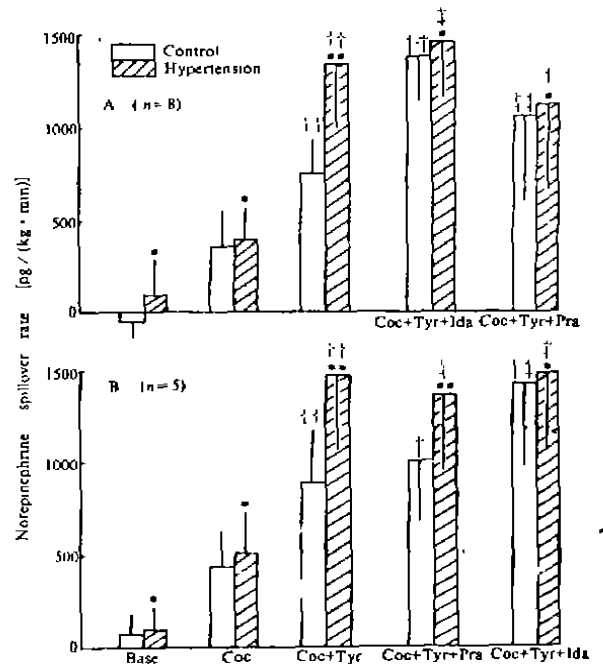


Fig 1. Norepinephrine spillover in femoral arteries of normal and hypertensive dogs during various infusions. $\bar{x} \pm SD$. * $P > 0.05$, ** $P < 0.05$ vs control; * $P < 0.05$ vs Coc 10 μg/(kg·min); † $P > 0.05$, †† $P < 0.05$ vs Coc + Tyr 1 μg/(kg·min); Ida 0.1 μg/(kg·min); Pra 60 μg/(kg·min).**

进一步增高 ($P < 0.05$). 而高血压犬无明显增高 ($P > 0.05$). 虽然 A 组 α_1 受体阻滞剂后灌注 Coc+Tyr 对照犬 NE 释放率较单纯灌注 Coc+Tyr 增高, 高血压犬无明显变化. 但 B 组 α_1 受体先阻滞, α_2 受体后阻滞. 发现 α_1 受体阻滞剂后灌注 Coc+Tyr, 无论是高血压犬和对照犬 NE 释放率与 α_1 受体阻滞剂前均无明显区别 ($P > 0.05$). 提示 A 组 α_1 受体阻滞剂对 NE 释放率的影响是 α_2 受体阻滞剂的延迟作用.

DISCUSSION

交感神经末梢释放的 NE 有部分进入血循环, 进入血循环的 NE 量与交感神经末梢释放的 NE 量成正比⁽⁴⁾, 因此可以用进入血循环中的 NE 量反映交感神经的功能. 进入血循环中的 NE 量可通过 Pick⁽⁵⁾ 氏计算的 NE 释放率求得, 即超过某一器官或组织的静动脉血 NE 浓度差与血流量的乘积. 然而交感神经末梢释放的 NE 仅 20% 左右进入血循环⁽⁶⁾, 大部分被突触前膜回摄取, 因此 Pick 氏法低估了真正的 NE 释放量. 一些研究发现可卡因、吗啡及丙咪嗪类药物有阻断突触前膜对 NE 主动回摄取作用⁽⁷⁾. 本研究利用可卡因阻断突触前膜 NE 的回摄取, 使 NE 释放率更可能准确地反映交感神经末梢 NE 真正的释放量.

高血压者交感神经兴奋时 NE 释放比正常血压者高的机制仍不完全清楚, 本实验发现 α_2 受体阻滞剂后灌注 Tyr 对照犬 NE 释放率比单纯灌注 Tyr 增加. 其原因可能是 Ida 阻断了突触前 α_2 受体, NE 释放的负反馈机制被阻断, 灌注 Tyr 后 NE 释放率可进一步增高. 但在高血压犬突触前 α_2 受体阻断后再灌注 Tyr 不引起 NE 释放的进一步增加, 其原因可能是突触前 α_2 受体激动的负反馈调节能力已经减弱, 当突触间隙内 NE 达到一定浓度后, 突触前 α_2 受体激动已不能阻滞 NE 的进一步释放. 所以 α_2 受体阻滞剂后不引起 NE 释放率的改变. 提示高血压犬交感神经末梢突触前 α_2 受体对

NE 释放的负反馈调节能力减弱.

本研究观察到 Coc 灌注后高血压犬和对照犬 NE 释放率有同等程度的增加, 但高血压犬灌流压增高比对照犬明显. 这可能与突触后 α 受体数量和 / 或 α 受体对 NE 的敏感性增加有关. 结合我们过去研究发现交感神经末梢释放的 NE 主要作用于突触后 α_1 受体, 外源性 NE 作用于 α_2 受体⁽⁸⁾. 我们认为高血压犬突触后 α_1 受体对 NE 的反应性增加. Pra 灌注后高血压犬降压反应比对照组明显说明高血压犬突触后 α_1 受体对阻滞剂的敏感性增高, 也支持以上看法.

REFERENCES

- 1 Collis MG, de Mey C, Vanhoutte PM. Enhanced release of noradrenaline in the kidney of the young spontaneously hypertensive rat. *Clin Sci* 1979; 57 (Suppl 5) : 233S
- 2 Zimmerman BG, Rolewicz TF, Dunham EW, Gisslen JL. Transmitter release and vascular responses in skin and muscle of hypertensive dogs. *Am J Physiol* 1969; 217 : 798
- 3 Yang Y, Chen K, Chen DG. Clonidine stimulates central nervous alpha 2 adrenoceptors not mediating Ca^{2+} channels. *Acta Pharmacol Sin* 1989; 10 : 488
- 4 Esler M, Jennings G, Korner P, et al. Assessment of human sympathetic nervous system activity from measurements of norepinephrine turnover. *Hypertension* 1988; 11 : 3
- 5 de Lecum PW, Falke HE, Punt R, Birkenhager WH. Noradrenaline secretion by the human kidney. *Clin Sci* 1978; 55 (Suppl) : 85s
- 6 Hoeldtke RD, Cümi KM, Reichard GA Jr, Boden G, Owen OE. Assessment of norepinephrine secretion and production. *J Lab Clin Med* 1983; 101 : 772
- 7 Esler M, Jackman G, Leonard P, Skews H, Bobik A, Korner P. Effect of norepinephrine uptake blockers on norepinephrine kinetics. *Clin Pharmacol Ther* 1981; 29 : 12
- 8 Chen DG, Carlyle P, Carlyle W, Eekhoff P, Cohn JN. Adrenergic mechanism of femoral arterial constriction during carotid occlusion in dogs. *Acta Pharmacol Sin* 1987; 8 : 438