

中國醫藥大學
醫學研究所
碩士學位論文

一氧化氮合成酶與 NMDA 接受體在 Zucker
rats 感壓反射中的功能角色

Role of nitric oxide synthase and NMDA
receptor in baroreflex function in Zucker rats.

指導教授：陳卓昇副教授

研究生：饒芝奇

中華民國九十五年 六 月

致謝辭

兩年的青春光陰就這樣飛逝而過，開始寫下致謝詞的當下，才發現千言萬語也道不盡這兩年寒暑所累積的回憶！剛進學校時懵懂又有衝勁的我在這些日子的洗鍊之下成熟自信許多。七百多個晨昏累積下來的回憶竟然會想不起當初令自己傷心落淚的原因，剩下全是與老師同學們之間的互相漏氣求進步的搞笑鏡頭，每一個畫面都令人莞爾！同學們也都相約好要把彼此的婚喪喜慶都當做吐槽大會，一次又一次的重溫這些日子以來的嬉笑怒罵！

這麼美好的回憶當然少不了我的最佳吐槽戰友-陳卓昇老師啦！夜深人靜時偶爾想起自己愛偷懶的毛病都會替自己捏把冷汗！不過陳老師的放牛吃草美式教育風格讓我如魚得水，可以照著自己的步調與想法做事，並且能適時的給我許多人生的建議，是我生活上的一盞明燈！此外非常感謝李信達老師兩年來不辭勞苦的遠從中山醫學大學送實驗老鼠，並且在實驗設計上給予指導與鼓勵，我想我大概是榮登全世界最幸福的研究生吧！另外感激的是張文正教授在擔任口試委員時不吝指導，尤其是撰寫論文的技巧上更是讓我受益許多！此外，生理科的老師們：林靜茹老師、蔡宗統老師、許明志老師、王惠如老師與我們這些臭研究生玉潔、雅亭、文玲、蓉蓉、佩融、佩玉、

義忠媽媽以及小雨、佩娟、佳澄、傑文等同學們一同交織的血淚史，
套一句志玲姐姐的名言：「才不會忘記你呢！」

另外要感謝的是一直在我身邊關心我的朋友們，若不是有妳們的
鼓勵我也不會變得越來越堅強！還有一直以來對我十分包容的柏
蒼，謝謝你在我失意傷心的時候陪在我左右！在最後，我要把我最大
的感謝送給我生命中最重要的兩個女人-我的外婆與媽咪！若我能有
任何一絲的榮耀都歸於她們對我無私的愛！



芝奇

2006年6月于中國醫藥大學

總目錄

第一章、前言	頁數
第一節、 研究背景-----	11
1-1-1、動脈感壓反射 (arterial baroreflex) -----	12
1-1-2、Zucker rat-----	13
1-1-3、瘦體素 (Leptin) -----	14
1-1-4、一氧化氮 (Nitric oxide, NO) -----	15
1-1-5、L-Glutamate 接受體與感壓反射之間的調節-----	17
1-1-6、自主神經系統對心血管反射的作用-----	20
第二節、 研究目的-----	22
第二章、材料與方法	
第一節、實驗動物及藥品	
2-1-1、實驗動物-----	24
2-1-2、藥物-----	24
2-1-3、動物手術準備-----	25
第二節、生理參數的測量	
2-2-1、動脈血壓、平均動脈壓及心跳速率之測量與紀錄 -----	26
2-2-2、感壓反射敏感度評估-----	26

2-2-3、 其他生理參數的測量及記錄-----	27
第三節、實驗步驟	
2-3-1、 NMDA 接受體的影響-----	28
2-3-2、 一氧化氮合成酶(Nitric oxide synthase, NOS)實驗-----	29
第四節、統計方法-----	31
第三章、研究結果	
第一節、敘述性統計分析	
3-1-1、 LZR 組與 OZR 組的基礎生理參數-----	32
3-1-2、 抑制 LZR 組與 OZR 組的 NOS 對血壓、心跳及感壓反射敏感度的影響-----	33
3-1-3、 抑制 LZR 組與 OZR 組的 NMDA 接受體對血壓、心跳及感壓反射敏感度的影響-----	34
3-1-4、 同時抑制 NOS 與 NMDA 接受體時，LZR 組與 OZR 組的血壓、心跳及感壓反射敏感度的改變-----	35
第四章、討論	
第一節、結果討論-----	37
第五章、結論-----	42
參考資料-----	43
附錄-----	57

表目錄

表一、LZR 組與 OZR 組給藥前生理參數.....	58
表二、LZR 組與 OZR 組阻斷 NOS 前後生理參數.....	59
表三、LZR 組與 OZR 組阻斷 NMDA 接受體前後生理參數.....	60
表四、LZR 組與 OZR 組阻斷 NOS 與 NMDA 接受體前後生理參數...	61



圖目錄

圖一、感壓反射所牽涉中樞神經與神經物質.....	62
圖二、兩種 Ionotropic glutamate receptor 的差異.....	63
圖三、三種不同的 glutamate receptors 的作用.....	64
圖四、神經細胞中 NO 與 NMDA 接受體的回饋系統.....	65
圖五、感壓反射敏感度評估.....	66
圖六、未給任何阻斷劑時 LZR 與 OZR 的感壓反射敏感度.....	67
圖七、將 NOS 阻斷前後 OZR 與 LZR 的血壓、平均動脈壓、心跳變化.....	68
圖八、將 NOS 阻斷前後 LZR 與 OZR 的感壓反射敏感度變化.....	69
圖九、將 NMDA 接受體阻斷前後 OZR 與 LZR 的血壓、平均動脈壓與心跳變化.....	70
圖十、將 NMDA 接受體阻斷前後 LZR 與 OZR 的感壓反射敏感度變化.....	71
圖十一、將 NOS 與 NMDA 接受體阻斷前後 OZR 組與 LZR 組的血壓、平均動脈壓、心跳變化.....	72
圖十二、將 NOS、NMDA 接受體或是兩者皆阻斷前後 LZR 與 OZR 的感壓反射敏感度.....	73

摘要

動脈感壓反射 (arterial baroreflex) 是藉由一連串神經傳遞物質 (neurotransmitter) 的傳導, 將調控訊息傳遞至自主神經來改變血管平滑肌的收縮與放鬆以及心功能, 以維持血壓穩定的重要生理調節機制。離子型接受體 (Ionotropic glutamate) 與一氧化氮 (Nitric oxide, NO) 已經被證實對於感壓反射的調節上是相互影響的。在之前的研究指出 Zucker 肥胖鼠的感壓反射有異常的情形, 因此本實驗的目的為證明離子型 NMDA 接受體 (N-methyl-D-aspartate receptor) 與一氧化氮合成酶 (nitric oxide synthase, NOS) 在 8-12 周的 Zucker 肥胖鼠異常感壓反射中所扮演的角色。利用靜脈連續一分鐘灌注 phenylephrine 之後, 血壓上升所得到的反射性心搏徐緩反應, 以線性迴歸的方式評估感壓反射敏感度 (BRS)。發現 Zucker 正常鼠組 (lean Zucker rats, LZR) 與 Zucker 肥胖鼠組 (obese Zucker rats, OZR) 的 BRS 分別為 -2.00 ± 0.29 、 -0.43 ± 0.05 (bpm/mmHg), OZR 組的 BRS 顯著的低於 LZR 組。使用一氧化氮合成酶抑制劑 L-NAME (10 mg/kg, iv.) 後, LZR 組的 BRS 有顯著性的抑制情形, 而 OZR 組的 BRS 分別為 -0.34 ± 0.02 、 -0.21 ± 0.09 (bpm/mmHg) 並沒有顯著性的抑制情形。即在阻斷 NOS 後 LZR 組與 OZR 組已沒有顯著性的差異。給予 NMDA 接受體抑制

劑 Dextromethorphan(DXM, 10mg/kg, iv.) 之後，LZR 組與 OZR 組的 BRS 都有顯著性的抑制情形。但阻斷 NMDA 接受體後，LZR 組與 OZR 組相比較，其 BRS 則沒有顯著性的差異。在 LZR 組或是 OZR 組單獨抑制 NOS 或是單獨抑制 NMDA 接受體或同時抑制 NOS 與 NMDA 接受體相比較之下皆無顯著差異。綜合以上，本篇實驗結果得知 8-12 周齡 OZR 的感壓反射敏感度已有顯著性的低下，而主要的原因可能與 OZR 的 NOS 與 NMDA 接受體功能有關。



ABSTRACT

Arterial baroreflex is an important physiological regulatory system for buffering systemic blood pressure. The reflex is accomplished by releasing of a series of neural transmitters in the medulla and mediating of the autonomic outflows which in turn adjust the function of both blood vessels and the heart. Baroreflex was attenuated in the obese Zucker rats (OZR) when compared to the contra-parts, the lean Zucker rats (LZR). Iontropic glutamate receptors and nitric oxide have been shown to modulate baroreflex function in an interactive way. The goal of the present study was to investigate the effects of ionotropic glutamate receptors and nitric oxide on the baroreflex function in 8-12weeks old OZR. Arterial baroreflex function was assessed by intravenous infusion of phenylephrine to create a ramp increase of blood pressure, and the degree of reflex bradycardia was analyzed by linear regression method. The slope of the linear regression line was used as the index of the baroreflex sensitivity (BRS, bpm/mmHg). The BRS of LZR and OZR were -2.00 ± 0.29 and -0.43 ± 0.05 (bpm/mmHg), respectively. The BRS of OZR was significantly lower than that of LZR. After treatment with nitric

oxide synthase (NOS) inhibitor, L-NAME (10 mg/kg, iv.), the BRS of LZR (-1.81 ± 0.16 bpm/mmHg) was significantly suppressed, and became not different from that of OZR (-0.21 ± 0.09 bpm/mmHg). NMDA receptor antagonist, Dextromethorphan (DXM, 10mg/kg, iv.) also significantly attenuated BRS in both LZR and OZR groups, and the BRS was not different between OZR and LZR after blockade of NMDA receptors. There were no differences in BRS among groups of both LZR and OZR with NOS or NMDA receptor blockade alone, or with combination of NOS and NMDA receptor blockades. In conclusion, the results of the present study suggested that BRS was depressed in the 8-12 weeks old OZR. The depression of BRS might be attributed to the abnormalities in NOS activity and NMDA receptor function.

第一章、前言

第一節、研究背景

病理生理研究發現，肥胖 (DiBona, 2004)、第二型糖尿病 (Weston et al., 1998)、高血壓 (Grassi et al., 2006)、心衰竭 (Zucker et al., 2004)、粥狀動脈硬化 (Klaus et al., 2000; Patterson et al., 2002) 等情況都有感壓反射異常的發生。

肥胖 Zucker rat (fa/fa) 由於下視丘的瘦體素接受體 (Leptin receptor) 缺乏而導致肥胖。此種動物也常做為高血壓、第二型胰島素阻抗型糖尿病及高膽固醇的實驗動物模式。

動脈感壓反射 (arterial baroreflex) 是動物體為了維持穩定血壓而衍生出來的神經調節機制。當血壓波動時，訊息由感覺神經末梢 (感壓接受器, baroreceptor) 傳入中樞，中樞神經系統會藉由一連串神經傳遞物質 (neurotransmitter) 將調控訊息傳遞至自主神經，藉由血管平滑肌的收縮與放鬆以及心功能的改變，使動脈壓恢復穩定的狀態。許多的研究指出 glutamate 和 γ -aminobutyric acid (GABA) 是參與中樞感壓反射的兩個主要神經傳遞物質。尤其是 glutamate，不但是孤立核 (nucleus tractus solitarius, NTS) 上所產生的第一個神經傳遞物質，

它並且與一氧化氮（nitric oxide, NO）一同交互對心血管做調控。

根據 Barringer et al. (1989) 及 Bunag et al. (1988) 的實驗研究發現，肥胖 Zucker rat 的感壓反射異常，但是異常原因目前並不清楚。

1-1-1、動脈感壓反射（arterial baroreflex）

循環系統的主要功能是提供適當的血流，供器官使用，但生理的調控，往往是在維持動脈壓的恆定。血壓太高，嚴重時會有血管破裂出血的危險；血壓太低則無法維持正常的灌注功能，導致組織壞死。因此，人體以三種不同的調控方式來維持血壓的穩定：反應快，但時效短的神經系統、反應較慢，但時效較長的內分泌系統，以及器官的局部血管調節。

當血壓因任何因素有上升或下降的變動時，會牽扯位於頸動脈竇 (carotid sinus) 及主動脈弓 (aortic arch) 血管壁之感壓接受器，訊息經第九、十對腦神經傳入中樞後，終止於延腦背側區孤立核。藉由一系列的神經傳遞物質 (neurotransmitter) 及中間神經元，將訊息傳到延腦吻端腹外側核 (rostral ventrolateral medulla, RVLM)，利用 γ -aminobutyric acid (GABA) 來調控對交感神經的活性，進而影響血管張力調節血壓。經由一連串的心臟及血管的調節，快速將血壓恢復

穩定，即為感壓反射(baroreflex)。

將調節訊息傳出的神經系統，由自主神經系統(autonomic nervous system)的交感神經系統(sympathetic nervous system)及副交感神經系統(parasympathetic nervous system)來共同完成。當交感神經興奮時，心臟收縮力增強及心跳速率變快、小動脈收縮，全身血管阻力上升，血壓上升；副交感神經在血管的作用較少，當副交感神經興奮時心跳速率會變慢，間接使血壓下降（如圖一所示）。

1-1-2、Zucker rat

肥胖 Zucker rat (fa/fa) 是一種體染色體隱性基因突變使得下視丘瘦體素接受體缺乏，導致肥胖的特別實驗動物品系。此種動物常存在的健康問題包括：暴食、高血壓 (Simler et al., 2006)、第二型胰島素阻抗型糖尿病(Chisholm et al.,1997)及不正常的感壓反射控制 (Barringer et al., 1989; Bunag et al., 1988)。

交感神經活性對於休息狀態肥胖 Zucker rat 的平均動脈壓有高度的影響，並且顯示具有高度的活性(Morgan , et al.,1995)。若將自主神經節阻斷之後，瘦 Zucker rat 的平均動脈壓會大大的降低，但肥胖 Zucker rat 的平均動脈壓卻無法降低。(Carlson, et al., 2000;

Pamidimukkala and Jandhyala, 1996)顯示肥胖的 Zucker rat 的自主神經節對血壓的調控上是有問題的。此外，Barringer 等人在 1989 的研究發現，肥胖 Zucker rat 的自主神經與感壓反射對心跳的控制是比較差的。

1-1-3、瘦體素 (Leptin)

哺乳動物體重的變化與食慾、體內能量之所以能達到平衡狀態，主要與中樞神經系統中的下視丘 (hypothalamus) 恆定有關係。中樞神經系統中的下視丘 (hypothalamus) 腹內側核的飽覺中樞以及在外側核的餓覺中樞負責相互調解食慾和體內能量的恆定。

因為瘦體素的發現而證明脂肪細胞也具有內分泌的功能。瘦體素 (leptin) 由脂肪細胞所分泌後，經由血液循環作用於中樞神經。如果動物脂肪儲存過多，血中瘦體素會增加，進而抑制腦中神經胜肽 Y (neuropeptide Y, NPY) 的形成而降低食慾。瘦體素在中樞神經系統對食慾的作用機轉是在下視丘降低神經胜肽 Y 的作用。神經胜肽 Y 可刺激食慾、抑制交感神經且增加副交感神經活性。研究指出，無論是在大白鼠或是其他哺乳動物，神經胜肽 Y 都是一強效促進攝食的訊號 (Marcelo et al., 2002)。因此血中瘦體素濃度降低時，會有大量

的神經胜肽 Y 製造出來，進而刺激食慾、增加攝食 (Chang et al., 2005)，導致肥胖。

之前的文獻也發現瘦體素與血壓的維持有著相關性。Lembo et al. (2000) 指出瘦體素可直接作用在血管壁內皮細胞，產生 NO 所媒介的血管擴張作用、對抗交感神經 (Mitchell et al., 2001)，並且抑制血管張力素 II (angiotensin-II) 在大動脈平滑肌產生的鈣離子增加及血管收縮作用 (Fortuno et al., 2002)。

1-1-4、一氧化氮 (Nitric oxide, NO)

L-精氨酸(L-arginine)是一氧化氮合成酶(nitric oxide synthase , NOS)的受質，當一氧化氮合成酶活化時，可將 L-精氨酸轉換成一氧化氮(nitric oxide, NO)與 L-瓜氨酸 (L-citrulline)。Tagawa et al.(1994) 將不同劑量的 L-精氨酸注射至 NTS，造成不同程度的血壓降低與心搏徐緩作用，並降低腎交感神經的的活性。而 NOS 的抑制劑可降低此作用 (Tseng et al., 1996)。

一氧化氮合成酶依照位置的不同分成三型：

- Type I：神經性一氧化氮合成酶 (neuronal NOS, nNOS)：存在於神經組織。

- Type II: 誘發性一氧化氮合成酶 (inducible NOS, iNOS): 存在於巨嗜細胞。當發炎細胞受到細菌毒或發炎細胞激素刺激，會大量分泌一氧化氮，執行殺菌或其他免疫調節功能。
- Type III: 內皮性一氧化氮合成酶 (endothelial NOS, eNOS): 存在於血管內皮細胞。

一般nNOS與eNOS可藉由細胞外鈣離子濃度來調節，而iNOS的活化則是由病毒或細菌所刺激，而非由細胞外鈣離子濃度來調節 (Nathan and Xie, 1994)。根據文獻指出只有nNOS及eNOS牽涉中樞孤立核對心血管的調節 (Batten et al., 2000a; Paton et al., 2001)。

一氧化氮的生理功能：(Nathan and Xie, 1994)

1. 感染時，免疫細胞會藉由釋放一氧化氮來達到消滅細菌與病毒，具有抗發炎、抗腫瘤等作用。
2. 神經傳導方面，一氧化氮可當作神經細胞間的訊息傳遞因子，促進神經細胞之間的溝通、協調學習、記憶能力。
3. 血管的收縮與鬆弛是血壓調節的基本機制。在週邊，血管內皮細胞可生產一氧化氮，使 myosin 與 actin 分離、平滑肌細胞放鬆、血管擴張、降低血壓、增進血流、預防血栓形成，預防血管損傷、冠狀動脈疾病等。在中樞，一氧化氮可以則

可以活化鳥甘酸環脢 (guanylate cyclase)，將鳥嘌呤核甘三磷酸 (GTP) 轉化成環鳥嘌呤核甘單磷酸 (cGMP)，而 cGMP 的增加，在中樞神經可由釋放 glutamate 來調節血壓 (Lin et al., 2000)。研究並指出 NO 藉由對中樞節前交感神經活性的抑制及興奮來控制血壓 (Garcia et al., 1995)。

1-1-5、L-Glutamate 接受體與感壓反射之間的調節

Glutamate 被認為是哺乳類動物中樞神經系統中主要的興奮性胺基酸，其接受體 (receptor) 可分為離子型接受體 (ionotropic glutamate receptor) 及代謝型接受體 (metabotropic glutamate receptor) 兩種亞型，分別透過 ligand gated ion channels 以及 G-protein coupled receptor 產生不同的生理作用：學習與記憶的 long-term potentiation (LTP)、long-term depression (LTD) 以及中樞對心血管的調節上扮演著很重要的角色 (Leone and Gordon, 1989; Colombari et al., 1997)。

Glutamate 接受體的兩個主要的亞型 (見圖二) (Hollmann and Heinemann 1994; Nakanishi et al, 1998)：

1. Metabotropic glutamate receptor：利用細胞內代謝機制,屬於 G-protein 聯合受器,作用於(a)提高 IP3 及 DAG 含量,(b)降低細胞內 cGMP 的含量。
2. Ionotropic glutamate receptor：為 ligand-gated 之離子通道。根據拮抗劑的反應又可再分：
 - N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor：允許鈉離子與鈣離子內流及鉀離子的外流。
 - non-NMDA receptor：AMPA receptor 以及 kainate receptor：允許鈉離子內流及鉀離子的外流。

靜止膜電位時，NMDA 接受體是處於不活化的狀態，此時鎂離子會將 NMDA 接受體的離子通道阻斷，使得突觸前神經分泌的 glutamate 不能使 NMDA 接受體活化、促進鈣離子內流，無法讓 NOS 活化產生 NO。突觸前神經分泌 glutamate 必須先作用在 AMPA 接受體，促進突觸後神經細胞去極化之後才能將 NMDA 接受體的離子通道上阻斷的鎂離子移除，進而促使 NOS 活化產生 NO (圖三)。

在孤立核，nNOS:cGMP 訊息傳遞系統藉由活化 ionotropic glutamate 接受體產生降低血壓與心搏徐緩。實驗證明 NMDA 和 non-NMDA 接受體皆參與 L-glutamate 對心血管反應(Lin et al.,1999)。

但在麻醉鼠的實驗發現在孤立核給予 glutamatergic metabotropic 接受體的阻抗劑對感壓反射沒有影響(Vagner et. al, 2003)。一般認為 metabotropic glutamate 接受體的活化需要大而強的高頻率刺激 (Scanziani et al., 1997)。

孤立核對感壓反射具有很大的調節功能。研究發現在孤立核的位置可以同時發現 L-glutamate 與 nitric oxide synthase (NOS) 神經末端與神經元(Talman et al., 2001)。而 nitric oxide 被認為對於調控血壓跟交感神經上扮演很重要的角色(Lo et al.,1997; Lawrence and Jarrott, 1996)。Glutamate 也被認為是當感壓反射傳入中樞後的第一個神經傳導物質(Ohta and Talman , 1996)。Lin 等人在 2000 的研究指出 nitric oxide 跟 glutamate 對心血管的調節是交互促進作用。

在孤立核發現，一氧化氮的訊息傳遞路徑參與精氨酸引起的心血管反應(Lin et al., 1999)。一氧化氮可透過環鳥嘌呤核苷酸 (cGMP) 的上昇而增加孤立核的神經活性(Tagawa et al., 1994)。

一氧化氮與 glutamate 之間是藉由極短的回饋系統互相調控 (Garthwaite, 1991)。當突觸後神經元的神經性一氧化氮合成酶活化、產生一氧化氮一氧化氮化本身的神經細胞鳥甘酸環酶 (soluble guanylyl cyclase, sGC) (Garthwaite and Boulton, 1995)，將鳥嘌呤核

甘三磷酸(GTP)轉化成環鳥嘌呤核苷酸(cGMP),促進 glutamate 的釋放之外,一氧化氮還可以利用擴散作用到突觸前神經元調控 glutamate 的釋放以及影響 NMDA 接受體的活性或是到其他細胞(圖四)(Lei et al, 1992; Garthwaite and Boulton, 1995)。

實驗發現,如果在中樞的孤立核以 microinjection 的方法注射 glutamate 或是離子型 glutamate 接受體的促進劑,會產生降低動脈壓及心搏徐緩的類似感壓反射反應 (Van Giersbergen et al., 1992)。反過來,將 NMDA 以及 AMPA 接受體阻斷之後再投給 L-glutamate,發現心搏徐緩的反應被抑制。證明了離子型 glutamate (NMDA 和 AMPA) 接受體,的確參與了中樞神經的心血管反射(Lin et al.,1999),尤其是 NMDA 接受體(Lin et al., 2000)。

1-1-6、自主神經系統對心血管反射的作用

許多研究已經證明了自主神經系統對心血管的調控無論是在中樞、週邊的感壓反射,或是其路徑中接受體跟受體的位置,都可以偵測到一氧化氮合成酶的活性。一氧化氮是自主神經對心臟的控制重要的傳遞物(Chowdhary, 1999)。在麻醉兔子及老鼠的孤立核注射

L-NMMA (一氧化氮合成酶抑制劑)可以增加血壓和交感神經活性(Di Paola et al., 1991; Harada et al., 1993; Lo et al., 1997; Tseng et al., 1996) 。此外研究也顯示出一氧化氮可以降低腦幹交感神經活性 (Sakuma , 1992; Tagawa , 1994)、增加迷走運動神經活性(Travagli, 1994) , 引起降低交感神經並增加迷走神經對心臟反應(Balligand , 1993) 。在孤立核, 一氧化氮對於血壓以及交感神經活性的調控, 也扮演著很重要的角色(Lo et al.1997, Lawrence and Jarrott , 1996) 。

Saqib 在 2000 年的研究顯示:一氧化氮對心跳的調控主要藉由副交感神經, 但也無法排除交感神經的參與。而 glutamate 接受體被認為不是副交感神經感壓反射主要的傳遞訊息角色及神經調節作用 (Vagner et al., 2003) 。

第二節、研究目的

Bunag 在 1988 及 1989 的研究都指出肥胖 Zucker rats 的感壓反射是比較差的。但是肥胖 Zucker rats 一氧化氮合成酶的功能角色卻有不同的研究結果：

1. 抑制一氧化氮合成酶可降低肥胖 Zucker rats 的暴食情況 (Squadrito et al., 1993)。
2. 抑制肥胖 Zucker rats 腦中一氧化氮合成酶可以引起中樞血清氨系統媒介的厭食症(Squadrito et al., 1994)。
3. 發現糖尿病 Zucker rats 的一氧化氮合成酶活性增加 (Schwaninger et al., 2003)。
4. 肥胖 Zucker rats 的下視丘一氧化氮合成酶活性是比較低的 (Morley et al., 1996)。

所以雖然知道肥胖 Zucker rats 的感壓反射異常，但是中樞一氧化氮酶的功能角色目前還不清楚。所以在本論文的研究目的在：

1. 研究肥胖 Zucker rats (OZR) 異常的感壓反射，是否與感壓反應路徑上的第一個主要神經傳遞物 glutamate 的作用有關。

2. 給予一氧化氮合成酶抑制劑 L-NAME 來研究一氧化氮在 OZR 的感壓反射神經傳遞路徑上所扮演的角色。
3. 一氧化氮合成酶與 NMDA 之間是否有交互影響。



第二章、材料與方法

第一節、實驗動物及藥品

2-1-1、實驗動物

本實驗使用的肥胖 Zucker 鼠 (OZR) 與瘦 Zucker 鼠 (LZR) 週齡介於 8 到 12 周、不限性別，動物來源自 Vassar College, Poughkeepsie, NY。飼養環境在中國醫藥大學動物中心，不限制飲食飲水，光照明/暗週期為 12/12 小時 (7 A.M to 7 P.M.)、動物室溫度約維持在 $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 。

2-1-2、藥物

所有的藥物皆購買自 Sigma，並以 normal saline 泡製：

1. Dextromethorphan：(DXM, 10mg/kg, iv.) NMDA 接受體的非競爭性抑制劑
2. L-NAME：(10 mg/kg, iv.) NOS 抑制劑

3. Phenylephrine : (750 to 1500 ng/100g/min , iv.) α -adrenergic receptor agonist 可造成血管平滑肌收縮 與 心跳反射性減少

2-1-3、動物手術準備

1. 麻醉

動物先以腹腔注射 α - Chloralose 50mg/kg and Urethane 500mg/kg 麻醉，待動物麻醉之後將四肢固定在手術檯在鼠蹊部進行插管。在實驗當中再依照需要以靜脈給予全劑量之五分之一的 α - Chloralose 50mg/kg + Urethane 500mg/kg 以維持穩定的麻醉狀態。

2. 股動靜脈插管

動物麻醉之後，分別在其左右鼠蹊部位進行插管。將左右股動脈及股靜脈游離，在以充滿肝素（Heparin, 40IU）的 PE-50 導管插入左右股動脈及股靜脈內。股動脈導管用來記錄平均動脈壓及心跳的變化；兩邊股靜脈則是用來施打藥物用。視情況行氣管切管接上室內空氣。

第二節、生理參數的測量

2-2-1、動脈血壓(Arterial blood pressure, ABP)、平均動脈壓(Mean Arterial blood pressure, MABP) 及心跳速率 (Heart rate, HR) 之測量與紀錄

將已插入股動脈之 PE 管接上 Gould 壓力轉換器 (pressure transducer), 在經過血壓放大器 (Pressure Processor Amplifier, Model NO.20-4615-52) 將訊號放大後, 以四頻道數位記錄儀 PowerLab 4/25 (ADInstruments Pty Ltd) 分析記錄 ABP、MABP、HR。

2-2-4、感壓反射敏感度評估 (Evaluation of Baroreflex Sensitivity, BRS)

本實驗參考 Barringer et al., 1989 方式, 簡述之, 靜脈給予升壓藥 phenylephrine (750 to 1500 ng salt/100g body/min) 以一分鐘連續注射的方式, 將動脈壓慢慢上升 30-40 mmHg, 紀錄每上升 5 mmHg 對心跳的影響。靜脈灌注 phenylephrine 之後所得到心搏徐緩反應, 以線性迴歸的方式分析, 迴歸直線之斜率, 做為感壓反射敏感度的指標。

2-2-5、 其他生理參數的測量及記錄

肥胖與瘦 Zucker 鼠的體重、平均動脈壓及心跳的基準值以及給不同的抑制劑前後的平均動脈壓及心跳。



第三節、實驗步驟

動物經一般外科手術之後將導管連接至記錄器紀錄血壓及心跳的變化，待血壓及心跳平穩之後（約 30 分鐘）紀錄基礎血壓、心跳。之後以連續灌注 PE 的方式使血壓在一分鐘之內升高 30~40 mmHg，評估基礎的感壓反射敏感度。（圖五）

2-3-1、NMDA 接受器的影響

待血壓及心跳恢復平穩後，依序給予藥物處理：靜脈給予 NMDA 接受體的非競爭性抑制劑 DXM(10mg/kg)，等血壓及心跳恢復平穩後評估一次阻斷 NMDA 的感壓反射敏感度。

接著在血壓及心跳再次恢復平穩後以靜脈給予 NOS 抑制劑 L-NAME(10mg/kg)，等待血壓及心跳再次恢復平穩後再評估一次同時阻斷 NMDA 及 NOS 的感壓反射敏感度。

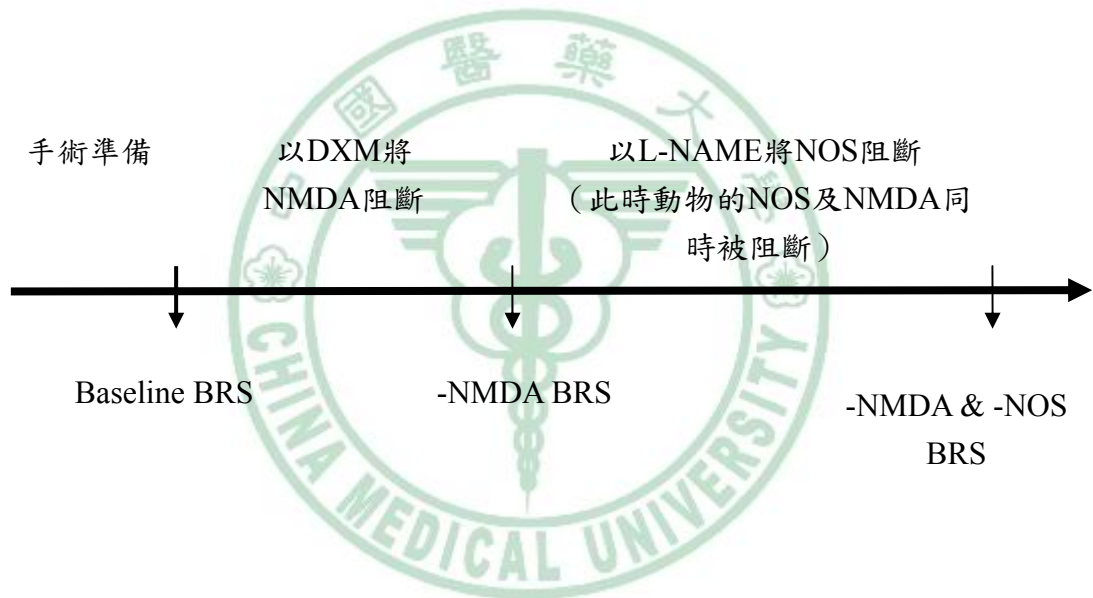
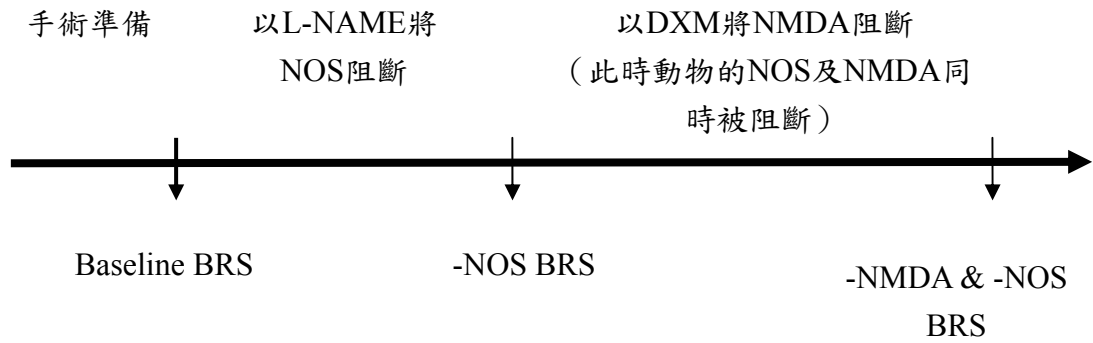
2-3-2、一氧化氮合成酶(Nitric oxide synthase, NOS)實驗

插管手術後，待血壓及心跳恢復平穩，依序給予藥物處理：靜脈給予 NOS 抑制劑 L-NAME(10mg/kg)，等血壓及心跳恢復平穩後評估阻斷 NOS 感壓反射敏感度。

接著在血壓及心跳再次恢復平穩後以靜脈給予 MNDA 接受體的非競爭性抑制劑 DXM(10mg/kg)，等待血壓及心跳再次恢復平穩後，再予以評估同時阻斷 NMDA 及 NOS 後的感壓反射敏感度。



實驗步驟如下圖所示：



第四節、統計方法

實驗結果之各項生理參數及感壓反射敏感度以平均值±標準誤差 (mean±SE)來表示。統計分析採用 two-way 檢定各種處理間之差異，偵測出有統計差異，再以 Student-Newman-Keul test 作組間的比較。部份統計基於需要是以 paired t-test 來比較給不同組抗劑前後的變化。當 P 值小於 0.05 ($P < 0.05$)，視為具有統計上顯著的差異。



第三章、研究結果

第一節、敘述性統計分析

3-1-1、LZR 組與 OZR 組的基礎生理參數

表一為 8-12 周齡 LZR 組與 OZR 組的基礎生理參數。LZR 組與 OZR 組的體重分別為 162 ± 6 g 與 225 ± 11 g，OZR 組的體重顯著性較重。而 baseline HR 分別為 346 ± 9 與 312 ± 12 (bpm) 在統計上有顯著性的差異。在兩組動物的血壓及體溫並沒有顯著性的差異。

如圖六及圖七的 control 為 LZR 組與 OZR 組在正常情況下利用升壓藥 PE 所測得的感壓反射敏感度。兩組動物的感壓反射敏感度方面，LZR 組與 OZR 組的數值分別為 -2.00 ± 0.29 、 -0.43 ± 0.05 (bpm/mmHg)，OZR 組的感壓反射敏感度顯著的低於 LZR 組。

3-1-2、 抑制 LZR 組與 OZR 組的 NOS 對血壓、心跳及感壓反射敏感度的影響

使用 L-NMAE 將 NOS 抑制之後 LZR 組與 OZR 組生理參數如表二及圖八所示。當 NOS 抑制時兩組皆顯示出有血壓上升 (127 ± 11 mmHg、 145 ± 3 mmHg)、心跳降低 (248 ± 11 bpm、 268 ± 15 bpm) 的情形，但是兩組相比較則皆無差異。

圖七及圖八為 LZR 組與 OZR 組抑制 NOS 前後的感壓反射改變。LZR 組的感壓反射敏感度分別為 -1.81 ± 0.16 、 -0.27 ± 0.19 (bpm/mmHg) 有顯著性的抑制情形。OZR 組的感壓反射敏感度分別為 -0.34 ± 0.02 、 -0.21 ± 0.09 (bpm/mmHg) 並沒有顯著性的抑制情形。

圖八為 LZR 組與 OZR 組阻斷 NOS 後感壓反射敏感度的比較。發現在阻斷 NOS 後 LZR 組與 OZR 組分別為 -0.27 ± 0.19 、 -0.21 ± 0.09 (bpm/mmHg) 沒有顯著性的差異。

3-1-3、抑制 LZR 組與 OZR 組的 NMDA 對血壓、心跳及感壓反射敏感度的影響

表三為抑制 NMDA 接受體之後 LZR 組與 OZR 組生理參數的變化。在阻斷 NMDA 前後 LZR 組與 OZR 組的血壓與心跳雖然有下降的情形但是皆不具有統計上的差異。

圖九與圖十則為抑制 NMDA 前後 LZR 組與 OZR 組的感壓反射的改變。LZR 組的感壓反射敏感度分別為 -2.11 ± 0.35 、 -0.22 ± 0.05 (bpm/mmHg)，OZR 組的感壓反射敏感度分別為 -0.50 ± 0.07 、 -0.12 ± 0.03 (bpm/mmHg) 皆有顯著性的抑制情形。

LZR 組與 OZR 組阻斷 NMDA 後感壓反射敏感度的比較。發現在阻斷 NMDA 後 LZR 組與 OZR 組沒有顯著性的差異。

3-1-4、同時抑制 NOS 與 NMDA 時，LZR 組與 OZR 組的血壓、心跳及感壓反射敏感度的改變

同時阻斷 NOS 與 NMDA 之後兩組的生理參數如表四所示。在 LZR 組以及 OZR 組的血壓、心跳皆沒有顯著性差異。而在兩組之間的感壓反射敏感度分別為 -0.02 ± 0.03 、 -0.01 ± 0.10 (bpm/mmHg) 相較之下亦無顯著性的差異 (如圖十一、圖十二)。

分別將同時抑制 NOS 與 NMDA 的 LZR 組與 OZR 組之感壓反射敏感度，對單獨只抑制 NOS 或 NMDA 情形下的兩組之感壓反射敏感度相比較 (圖十二)。發現 LZR 組單獨抑制 NOS 組 (-0.27 ± 0.19 bpm/mmHg) 或是 LZR 單獨抑制 NMDA 組 (-0.22 ± 0.05 bpm/mmHg) 與 LZR 同時抑制 NOS 與 NMDA 組 (-0.02 ± 0.03 bpm/mmHg) 相比較之下無顯著差異。OZR 組單獨 NOS 組 (-0.21 ± 0.1 bpm/mmHg) 或是 OZR 單獨抑制 NMDA 組 (-0.12 ± 0.03 bpm/mmHg) 與 OZR 同時抑制 NOS 與 NMDA 組 (-0.01 ± 0.10 bpm/mmHg) 相比較之下無顯著差異。

若將兩組單獨抑制 NOS 組與單獨抑制 NMDA 組感壓反射敏感度相比較 (圖十二) 無論是 LZR 單獨抑制 NOS 組 (-0.27 ± 0.19 bpm/mmHg) 與 LZR 單獨抑制 NMDA 組 (-0.22 ± 0.05 bpm/mmHg)

的比較或是 OZR 組單獨抑制 NOS 組 (-0.21 ± 0.1 bpm/mmHg) 與 OZR 單獨抑制 NMDA 組 (-0.12 ± 0.03 bpm/mmHg) 的比較皆沒有顯著差異。



第四章、討論

第一節、結果討論

本實驗主要的發現：8-12 周大的 OZR 已經有感壓反射異常的情形，而異常的情形跟 NOS 與 glutamate 的 NMDA 接受器皆有相關性。

由實驗結果顯示，8-12 周齡的 OZR 已有體重以及心跳的顯著差異，且 OZR 的感壓反射敏感度（barosensitivity）與 LZR 相較之下確實是比較差的（圖六）。根據 1988 及 1989 Barringer & Bunag 的實驗即指出，OZR 的自主神經與感壓反射對心跳的控制是比較低下的。

無論是 eNOS 或是 nNOS 對於血壓的控制都具有相當大的影響。NO 在周邊的主要功能在於血管平滑肌的舒張作用，在中樞則與交感神經的抑制有關(Balligand, 1993)。所以當實驗用 L-NAME 將 NOS 抑制會有交感神經活性增加、血管收縮，造成血壓上升以及心跳的反射性下降的情形（表二）。

本實驗以一氧化氮合成酶抑制劑 L-NAME 將 NOS 阻斷之後，發現只有 LZR 組在阻斷 NOS 前後的感壓反射敏感度具有顯著的差異，而 OZR 組則沒有差異。將 NOS 阻斷後，LZR 組與 OZR 組的感

壓反射敏感度相比較之下發現沒有顯著性的差異（圖八）。我們推論 NOS 對於感壓反射有高度的參與，而 OZR 的異常感壓反射敏感度可能與 NOS 有關。

造成 OZR 感壓反射異常的因素也可能牽涉到內分泌系統的異常以及周邊血管內皮的功能缺陷。

遺傳性肥胖可能導致腎臟 eNOS 和 nNOS 的向下調節，明顯減少 NO 的生產，開始形成 OZR 異常的腎絲球廓清作用，造成糖尿病和高血壓（Zhen et al., 2005）。

正常情況下，胰島素可提高血管張力素 II（angiotensin-II）的利尿和血管收縮的能力（Tallam and Jandhyala, 2003）。已經有文獻發現在 8-9 周大的 OZR 處在高血壓前期、胰島素抵抗型糖尿病（Carlson et al., 2006）的情況。所以當 OZR 出現胰島素抵抗（insulin resistance）及高胰島素血症（hyperinsulinemia）時會使血管產生收縮，此時在 OZR 的胰島素和乙醯膽鹼（acetylcholine）引起的血管擴張（vasodilatation）的能力是比較弱的（Hayashi et al., 2002）。血管收縮能力大增、而擴張能力不足使得 OZR 血壓升高，產生高血壓（He and MacLeod, 2002）。研究發現可藉由刺激 NOS 的活性、增加 NO 產生，使糖尿病 OZR 胰島素分泌、降低血壓（Kawaguchi et al., 1999 and 2001）。此外，OZR 瘦體素的缺乏也會造成血管張力素（angiotensin-II）

增加血管平滑肌細胞內鈣離子而使血管產生收縮作用 (Fortuno et al., 2002)、減少 NO 所媒介的血管擴張作用 (Mitchell et al., 2001)。

血管舒張有兩種不同的方式：內皮依賴和非內皮依賴。內皮依賴性血管舒張是指血管內皮細胞 (endothelium) 所分泌的內皮衍生之舒張因子 (endothelium-derived relaxing factor, EDRF, 目前認為就是 NO) 和前列腺環素 (prostacyclin) 等物質來擴張動脈。內皮細胞 (endothelium) 會藉由分泌內皮素 (endothelin-1, ET-1) 及內皮衍生之舒張因子 (endothelium-derived relaxing factor, EDRF) 的相互作用來達到循環系統的動態平衡。研究指出當動物出現有高脂血症、動脈粥樣硬化和高血壓等因素時均可損傷內皮細胞，造成血管重塑 (vascular remodeling) 的血管結構與功能產生改變。David 等人在 2000 的研究也發現 12 周的 OZR 的血管內皮細胞功能受損、NO (EDRF) 的產生降低，使得 OZR 的血壓及感壓反射異常 (Walker, 1997; Karagiannis, 2003)。

Glutamate 對心血管的調控主要是藉由細胞內的鈣離子濃度增加而刺激 NOS 活化產生 NO。此作用是透過 Ionotropic glutamate receptor，尤其是 NMDA 接受器 (Lin et al., 1999)。利用非競爭性 NMDA 接受器的阻斷劑 DXM 將 NMDA 阻斷的結果發現：LZR 組和 OZR 組的阻斷前的感壓反射有顯著性的差異，但將阻斷 NMDA 接

受器後的兩組感壓反射敏感度相比較之下發現已沒有顯著性的差異（圖十）。這個結果顯示 NMDA 接受器對於 LZR 與 OZR 的感壓反射路徑上扮演著很重要的功能角色，並且 NMDA 接受器在 OZR 的感壓反射上仍然具有功能，但是 OZR 的 NMDA 接受器在感壓反射上功能表現比 LZR 弱。

自主神經系統與心血管調節相關性的研究都認為 NO 會降低中樞的交感神經興奮 (Sakuma, 1992; Tagawa, 1994)，減少交感神經的傳出 (Balligand, 1993) 並增加迷走神經對心血管的控制 (Conlon et al., 1998)。而影響自主神經活性與血管張力主要就是藉由 glutamate 對 γ -aminobutyric acid (GABA) 的調控 (Patel et al., 2001)。Morgan 等人在 1995 的研究就指出 12-13 周 OZR 的腎交感神經 (SNA) 活性增加，顯示出 GABA 對交感神經的抑制較少 (Zhang and Patel, 1998)。這印證了我們實驗當中 OZR 的 NMDA 在感壓反射的功能較弱。

把抑制 NOS、抑制 NMDA 以及兩者皆抑制情形下，LZR 組與 OZR 組比較的感壓反射敏感度做比較（如圖十二）發現，抑制 NOS 或是抑制 NMDA 的情形下，無論是 LZR 組或是 OZR 組的感壓反射敏感度都沒有差異性。若將抑制 NOS 與抑制 NMDA 分別與兩者皆抑制的組別做比較，發現在 LZR 組以及 OZR 組也都沒有顯著差異。根據 Lin et al., (2003) 研究發現在 NTS，glutamate 和 nitric oxide 是相

互促進作用的。在 NTS, L-NAME 抑制 NOS 之後(包括 eNOS、nNOS 抑制) 給予 Glutamate 和 NMDA 接受器發現心血管反應降低(Matsuo, 2001)。 反之, 增加 nitric oxide 的會引起 glutamate 的釋放(Lin et al., 2000)。 如此可解釋當我們阻斷 NOS 或 NMDA 接受器任一之後, LZR 組或是 OZR 組之間的感壓反射敏感度都是沒有差異的。



第五章、結論

綜合以上，本篇實驗結果得知 8-12 周齡 OZR 的感壓反射敏感度已有顯著性的低下，而主要的原因可能與 OZR 的 NOS 與 NMDA 有關。OZR 的 NOS 對於感壓反射的功能已經非常的小、甚至沒有貢獻。但是 NMDA 在 OZR 的感壓反射上仍然具有功能。這可能是因為 glutamate 還可以由 non-NMDA 以及 Metabotropic glutamate 接受器來調節心血管。並且發現 NOS 與 NMDA 對感壓反射的調控上具有相互作用影響的關係。



參考文獻

Balligand JL, Kelly RA, Marsden PA, Smith TW, Michel T. Control of cardiac muscle cell function by an endogenous nitric oxide signaling system. *Proc Natl Acad Sci USA*. 90: 347-51, 1993.

Balligand JL, Kobzik L, Han X, Kaye DM, Belhassen L, O'Hara DS, Kelly RA, Smith TW, Michel T. Nitric oxide-dependent parasympathetic signaling is due to activation of constitutive endothelial (type III) nitric oxide synthase in cardiac myocytes. *J Biol Chem*. 270: 14582-6, 1995.

Barringer DL and Bunag RD. Uneven blunting of chronotropic baroreflexes in obese Zucker rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 256: H417- H421, 1989.

Bear MF. Neurotransmitter systems in *Neuroscience: Exploring the brain*. ed. by Paradiso BC. 2nd ed. Lippincott Williams & Wilkins A Wolters Kluwer company. USA. pp. 131-162, 2001.

Bunag RD and Barringer DL. Obese Zucker rats, though still normotensive, already have impaired chronotropic baroreflexes. *Clin Exp Hypertension*. 10: 257-262, 1988.

Carlson SH, Shelton J, White CR, and Wyss JM. Elevated sympathetic activity contributes to hypertension and salt sensitivity in diabetic obese Zucker rats. *Hypertension*. 35: 403-408, 2000.

Carlson SH, Shelton J, White CR, Wyss JM. Elevated sympathetic activity contributes to hypertension and salt sensitivity in diabetic obese Zucker rats. *Hypertension*. 35: 403-8, 2000.

Chang GQ, Karatayev O, Davydova Z, Wortley K, Leibowitz SF. Glucose injection reduces neuropeptide Y and agouti-related protein expression in the arcuate nucleus: A possible physiological role in eating behavior . *Molecular Brain Research* 135:69-80, 2005.

Chisholm DJ, Campbell LV, Kraegen EW. Pathogenesis of the insulin resistance syndrome (syndrome X). *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 24:782-

784, 1997.

Chowdhary S, Townend JN. Role of nitric oxide in the regulation of cardiovascular autonomic control. *Clin Sci (Lond)*. 97: 5-17, 1999.

Colombari E, Bonagamba LG, Machado BH. NMDA receptor antagonist blocks the bradycardic but not the pressor response to L-glutamate microinjected into the nucleus tractus solitarius(NTS) of unanesthetized rats. *Brain Research*. 749:209-213, 1997.

Conlon K, Collins T, Kidd C. The role of nitric oxide in the control by the vagal nerves of the heart of the ferret. *Exp Physiol*. 83:469-80, 1998.

Correia MLG, Morgan DA, Sivitz WI, Mark AL, Haynes WG.

Hemodynamic Consequences of Neuropeptide Y-Induced Obesity. *AJH* 15:137-142, 2002.

Del Carmen GM, Celuch SM, Adler-Graschinsky E. Possible participation of spinal nitric oxide in the control of the blood pressure in

anesthetized rat. *J Neurophysiol.* 74:2600-3, 1997.

DiBona GF. The sympathetic nervous system and hypertension: recent developments. *Hypertension.* 43:147-50, 2004.

Fortuno A, Rodriguez A, Gomez-Ambrosi J, Muniz P, Salvador J, Diez J, Fruhbeck G. Leptin Inhibits Angiotensin II-Induced Intracellular Calcium Increase and Vasoconstriction in the Rat Aorta. *Endocrinology* 143:3555-3560, 2002.

Kandel ER. Cellular mechanisms of learning and the biological basis of individuality in Principles of neural science. ed. by Jessel TM. 4th ed. McGraw- Hill companies. Pp1247-1277, 2000.

Garthwaite G, Garthwaite J. Mechanisms of AMPA Neurotoxicity in Rat Brain Slices. *Eur J Neurosci.* 3:729-736, 1991.

Garthwaite J, Boulton CL. Nitric oxide signaling in the central nervous system. *Annu Rev Physiol.* 57:683-706, 1995.

Giuseppe Lembo, Carmine Vecchione, Luigi Fratta, Gennaro Marino,
Valentina Trimarco, Giulia d'Amati, and Bruno Tr i m a r c o. Leptin
Induces Direct Vasodilation Through Distinct Endothelial Mechanisms .
DIABETES 49:293-297, 2000.

Grassi G, Fosca Quarti Trevano GQ, Seravalle G, Scopelliti F, Mancia G.
Baroreflex Function in Hypertension: Consequences for Antihypertensive
Therapy. *Progress in Cardiovascular Diseases* 48:407-415, 2006.

Hayashi K, Kanda T, Homma K, Tokuyama H, Okubo K, Takamatsu I,
Tatematsu S, Kumagai H, Saruta T. Altered renal microvascular response
in Zucker obese rats. *Metabolism*. 51:1553-61, 2002.

He Y, MacLeod KM. Modulation of noradrenaline-induced
vasoconstriction in isolated perfused mesenteric arterial beds from obese
Zucker rats in the presence and absence of insulin. *Can J Physiol
Pharmacol*. 80:171-9, 2002.

Karagiannis J, Reid JJ, Darby I, Roche P, Rand MJ, Li CG. Impaired nitric oxide function in the basilar artery of the obese Zucker rat. *J Cardiovasc Pharmacol.* 42:497-505, 2003.

Kawaguchi M, Koshimura K, Murakami Y, Tsumori M, Gonda T, Kato Y. Antihypertensive effect of insulin via nitric oxide production in the Zucker diabetic fatty rat, an animal model for non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol.* 140:341-9, 1999.

Kawaguchi M, Koshimura K, Sohmiya M, Murakami Y, Gonda T, Kato Y. Effect of insulin on nitric oxide synthase-like immunostaining of arteries in various organs in Zucker diabetic fatty rats. *Eur J Endocrinol.* 145:343-9, 2001.

Laight DW, Desai KM, Anggard EE, Carrier MJ. Endothelial dysfunction accompanies a pro-oxidant, pro-diabetic challenge in the insulin resistant, obese Zucker rat in vivo. *European Journal of Pharmacology* 402:95-99, 2000.

Lawrence AJ, Jarrott B. Neurochemical modulation of cardiovascular

control in the NTS. *Prog Neurobiol.* 48:21-53, 1996.

Lawrence AJ, Jarrott B. Neurochemical modulation of cardiovascular control in the nucleus tractus solitarius. *Prog Neurobiol.* 48:21-53, 1996.

Lei SZ, Pan ZH, Aggarwal SK, Chen HS, Hartman J, Sucher NJ, Lipton SA. Effect of nitric oxide production on the redox modulatory site of the NMDA receptor-channel complex. *Neuron.* 8:1087-99, 1992.

Leone C, Gordon FJ. Is L-glutamate a neurotransmitter of baroreceptor information in the nucleus of the tractus solitarius? *J Pharmacol Exp Ther.* 250 : 953-62, 1989.

Li Z, Rodriguez-Iturbe B, Ni Z, Shahkarami A, Sepassi L, Vaziri ND.

Effect of hereditary obesity on renal expressions of NO synthase, caveolin-1, AKt, guanylate cyclase, and calmodulin. *Kidney International* 68:2766-2772, 2005.

Lin HC, Kang BH, Wan FJ, Huang ST, Tseng CJ. Reciprocal regulation

of nitric oxide and glutamate in the nucleus tractus solitarii of rats. *Eur J Pharmacol.* 407:83-9, 2000.

Lin HC, Wan FJ, Cheng KK, Tseng CJ. Nitric oxide signaling pathway mediates the L-arginine-induced cardiovascular effects in the nucleus tractus solitarii of rats. *Life Sci.* 65:2439-51, 1999.

Lo WC, Lin HC, Ger LP, Tung CS, Tseng CJ. Cardiovascular effects of nitric oxide and N-methyl-D-aspartate receptors in the nucleus tractus solitarii of rats. *Hypertension.* 30:1499-503, 1997.

Masuda J, Omagari K, Matsuo I, Kinoshita H, Sakimura K, Hazama H, Ohba K, Isomoto H, Murase K, Murata I, Kohno S. Changes in titers of antimitochondrial and antinuclear antibodies during the course of primary biliary cirrhosis. *J Gastroenterol Hep.* 16:239-43, 2001.

Mitchell JL, Morgan DA, Correia ML, Mark AL, Sivitz WI, Haynes WG. Does leptin stimulate nitric oxide to oppose the effects of sympathetic

activation? *Hypertension*. 38:1081-6, 2001.

Mitchell JL, Morgan DA, Correia MLG, Mark AL, Sivitz WI, Haynes WG.
Does Leptin Stimulate Nitric Oxide to Oppose the Effects of Sympathetic
Activation? *Hypertension* 38:1081-6, 2001.

Morgan DA, Anderson EA, and Mark AL. Renal sympathetic nerve
activity is increased in obese Zucker rats. *Hypertension* 25:834- 838,
1995.

Morgan DA, Anderson EA, Mark AL. Renal sympathetic nerve activity is
increased in obese Zucker rats. *Hypertension*. 25:834-8, 1995.

Morley JE, Michael B. Nitric oxide synthase levels in obese Zucker rats.
Neurosci Lett 209:137 -139, 1996.

Nakanishi S, Nakajima Y, Masu M, Ueda Y, Nakahara K, Watanabe D,
Yamaguchi S, Kawabata S, Okada M. Glutamate receptors: brain function
and signal transduction. *Brain Res Brain Res Rev*. 26:230-5, 1998.

Nathan C, Xie QW, 1994. Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls.
Cell 78:915-8, 1994.

Ohta H, Li X, Talman WT. Release of glutamate in the nucleus tractus
solitarius in response to baroreflex activation in rats. *Neuroscience*.
74:29-37, 1996.

Pamidimukkala J and Jandhyala BS. Evaluation of hemodynamics,
vascular reactivity and baroreceptor compensation in the insulin resistant
Zucker obese rats. *Clin Exp Hypertens* 18:1089-1104, 1996.

Patel KP, Li YF, Hirooka Y. Role of nitric oxide in central sympathetic
outflow. *Exp Biol Med* 226:814-24, 2001.

Paton JF, Deuchars J, Ahmad Z, Wong LF, Murphy D, Kasparov S .
Adenoviral vector demonstrates that angiotensin II-induced depression of
the cardiac baroreflex is mediated by endothelial nitric oxide synthase in
the nucleus tractus solitarius of the rat. *J Physiol*. 531(Pt 2):445-58, 2001.

Sakuma I, Togashi H, Yoshioka M, Saito H, Yanagida M, Tamura M, Kobayashi T, Yasuda H, Gross SS, Levi R. NG-methyl-L-arginine, an inhibitor of L-arginine-derived nitric oxide synthesis, stimulates renal sympathetic nerve activity in vivo. A role for nitric oxide in the central regulation of sympathetic tone? *Circ Res.* 70(3):607-11, 1992.

Scanziani M, Salin PA, Vogt KE, Malenka RC, Nicoll RA. Use-dependent increases in glutamate concentration activate presynaptic metabotropic glutamate receptors. *Nature.* 385:630-4, 1997.

Schwaninger RM, Sun H, Mayhan WG. Impaired nitric oxide synthase-dependent dilatation of cerebral arterioles in type II diabetic rats. *Life Sciences* 73:3415-3425, 2003.

Squadrito F, Calapai G, Altavilla D, Cucinotta D, Zingarelli B, Arcoraci V, Campo GM, Caputi AP. Central serotonergic system involvement in the anorexia induced by NG-nitro-L-arginine, an inhibitor of nitric oxide synthase. *Eur J Pharmacol.* 255(1-3):51-5, 1994.

Squadrito F, Calapai G, Cucinotta D, Altavilla D, Zingarelli B, Ioculano M, Urna G, Sardella A, Campo GM, Caputi AP. Anorectic activity of NG-nitro-L-arginine, an inhibitor of brain nitric oxide synthase, in obese Zucker rats. *Eur J Pharmacol.* 230(1):125-8, 1993.

Tagawa T, Imaizumi T, Harada S, Endo T, Shiramoto M, Hirooka Y, Takeshita A. Nitric oxide influences neuronal activity in the nucleus tractus solitarius of rat brainstem slices. *Circ Res.* 75:70-6, 1994.

Tallam LS, Jandhyala BS. Influence of plasma insulin levels on antinatriuretic and vasoconstrictor actions of angiotensin-II. *Clin Exp Hypertension.* 25:257-70, 2003.

Talman WT, Dragon DN, Ohta H, Lin LH. Nitroxidergic influences on cardiovascular control by NTS: a link with glutamate. *Ann N Y Acad Sci.* 940:169-78, 2001.

Travagli RA, Gillis RA. Nitric oxide-mediated excitatory effect on

neurons of dorsal motor nucleus of vagus. *Am J Physiol.* 266(1 Pt 1): G154-60, 1994.

Tseng CJ, Liu HY, Lin HC, Ger LP, Tung CS, Yen MH. Cardiovascular effects of nitric oxide in the brain stem nuclei of rats. *Hypertension.* 27, P36-42, 1996.

Vagner RA, Benedito HM. Antagonism of glutamatergic metabotropic receptors in the NTS of awake rats does not affect the gain of the baroreflex. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical.* 103:65- 71, 2003.

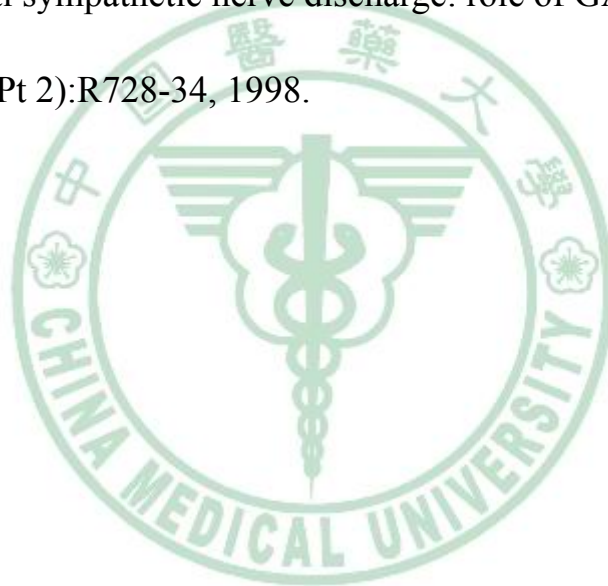
van Giersbergen PL, Palkovits M, De Jong W. Involvement of neurotransmitters in the nucleus tractus solitarii in cardiovascular regulation. *Physiol Rev.* 72:789-824, 1992.

Walker AB, Dore J, Buckingham RE, Savage MW, Williams G. Impaired insulin-induced attenuation of noradrenaline-mediated vasoconstriction in insulin-resistant obese Zucker rats. *Clin Sci (Lond).* 93:235-41, 1997.

Weston PJ, James MA, Panerai RB, McNally PG, Potter JF, Thurston H.

Evidence of defective cardiovascular regulation in insulin-dependent diabetic patients without clinical autonomic dysfunction. *Diabetes Research and Clinical Practice* 42:141-148, 1998.

Zhang K and Patel KP. Effect of nitric oxide within the paraventricular nucleus on renal sympathetic nerve discharge: role of GABA. *Am J Physiol.* 275(3 Pt 2):R728-34, 1998.



附錄

表附錄

圖附錄



<i>Basic</i>		
	<i>LZR (n=50)</i>	<i>OZR (n=23)</i>
<i>BW (g)</i>	162 ±6	225 ±11*
<i>BT (°C)</i>	33 ±0.3	33 ±0.2
<i>BP (mmHg)</i>	108 ±2	105 ±4
<i>HR (bpm)</i>	350 ±9	313 ±12*

表一、LZR 組與 OZR 組在未給任何藥物之前的基礎生理參數。

* LZR vs OZR $P < 0.05$



-NOS				
	<i>LZR (n=6)</i>		<i>OZR (n=7)</i>	
	<i>before</i>	<i>after</i>	<i>Before</i>	<i>after</i>
<i>BP (mmHg)</i>	114± 8	127 ±11	110±5	145 ±3 [#]
<i>HR (bpm)</i>	280±17	248 ±11	272±7	268 ±15

表二、LZR 組與 OZR 組在靜脈給予 NOS 阻斷劑 L-NAME 前後之生理參數。

before vs after $P < 0.05$



-NMDA				
	<i>LZR (n=43)</i>		<i>OZR (n=16)</i>	
	<i>before</i>	<i>after</i>	<i>Before</i>	<i>after</i>
<i>BP (mmHg)</i>	107 ± 2	102 ± 4	103 ± 5	102 ± 6
<i>HR (bpm)</i>	358 ± 9	333 ± 22	326 ± 16	319 ± 19

表三、LZR 組與 OZR 組在靜脈給予 NMDA 接受體阻斷劑 DXM 前後生理之參數。



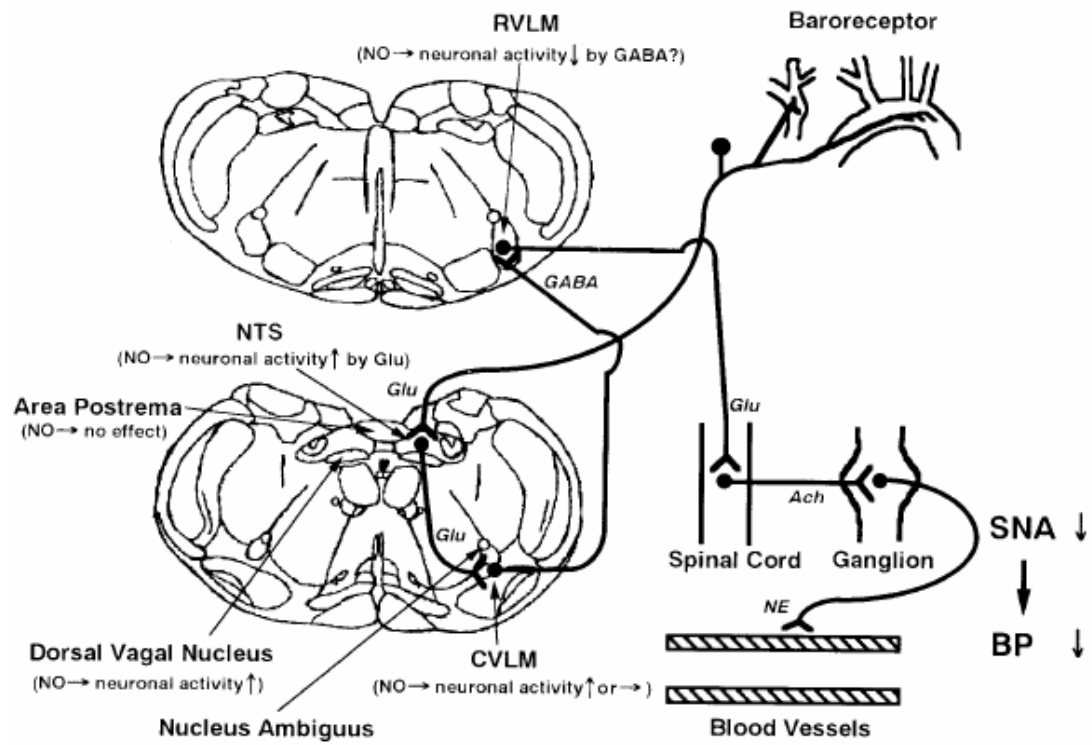
-NOS & -NMDA				
	<i>LZR (n=13)</i>		<i>OZR (n=10)</i>	
	<i>before</i>	<i>after</i>	<i>Before</i>	<i>after</i>
<i>BP (mmHg)</i>	108 ±2	126 ±7 [#]	105 ±4	119 ±6 [#]
<i>HR (bpm)</i>	350 ±9	299 ±21 [#]	313 ±12 [*]	267 ±20 [#]

表四、LZR 組與 OZR 組同時阻斷 NOS 與 L-NAME 之前後生理參數。

before treatment vs after treatment $P < 0.05$

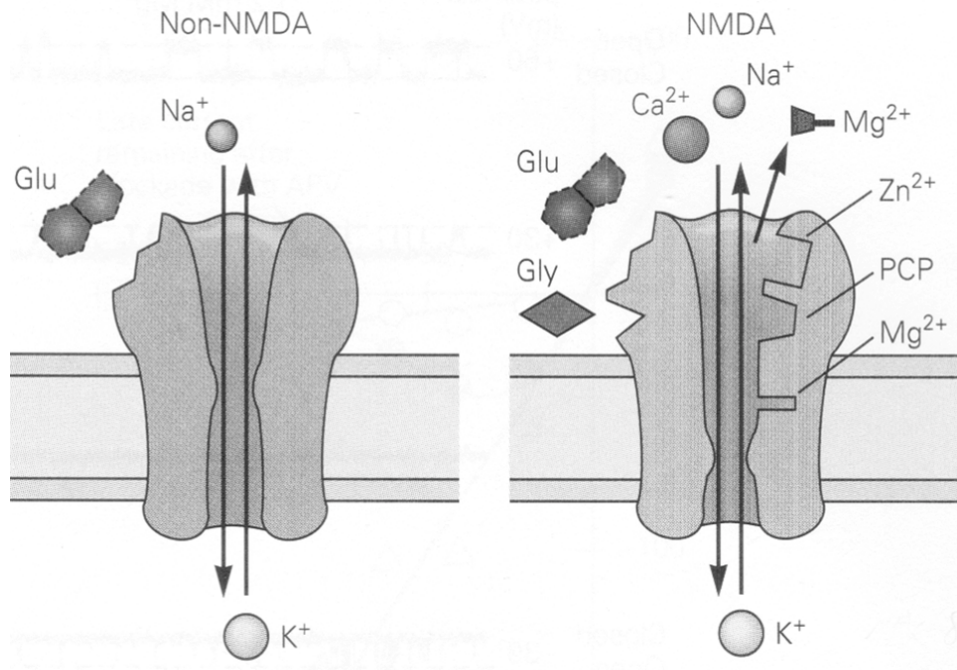
* OZR vs LZR $P < 0.05$





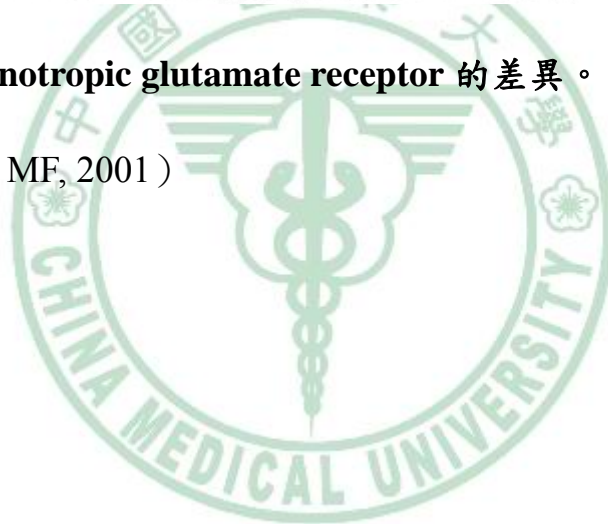
圖一、感壓反射所牽涉中樞神經與神經物質。

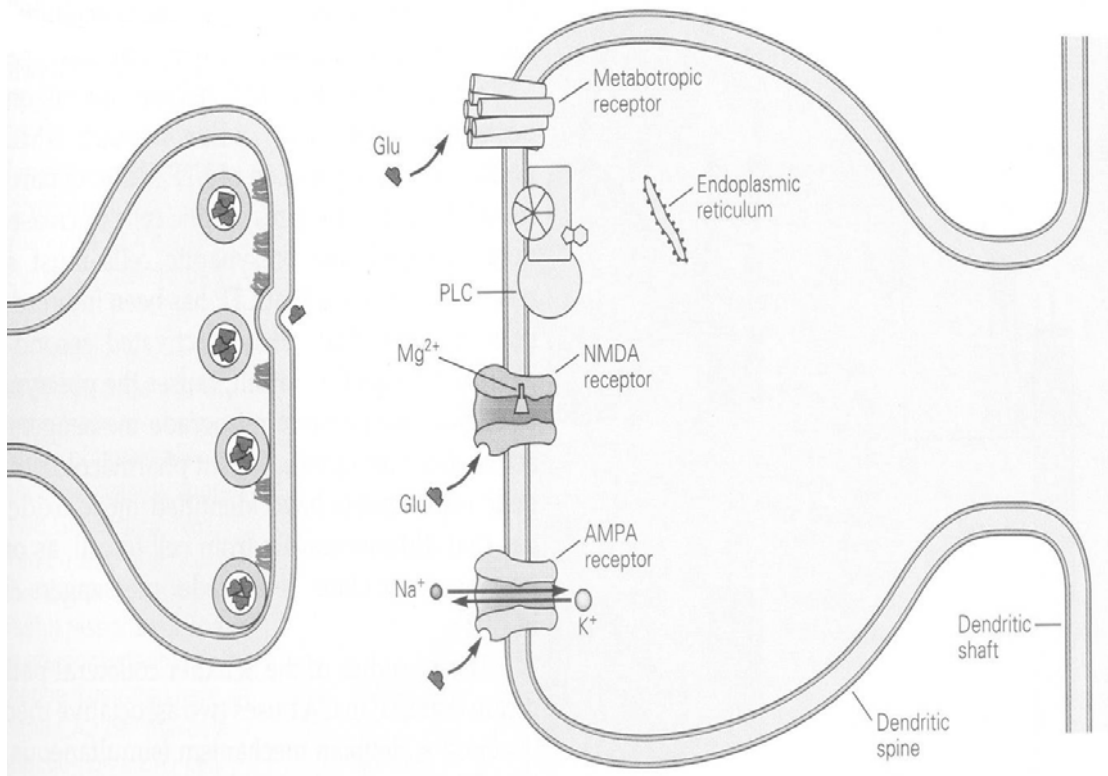
(引用自 Patel et al., 2001)



圖二、兩種 Ionotropic glutamate receptor 的差異。

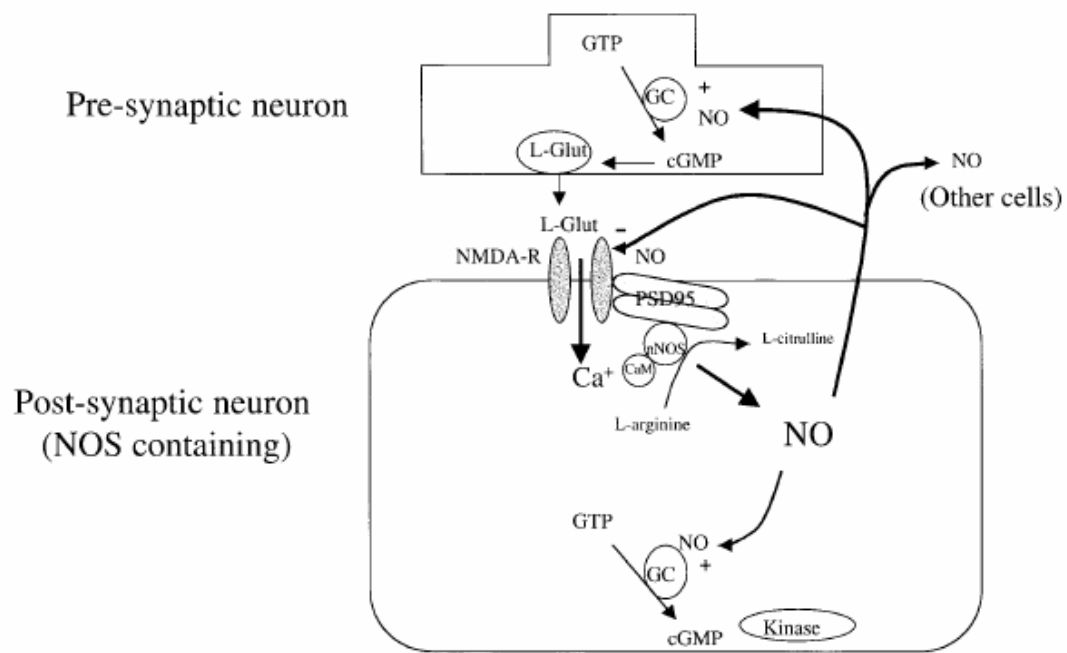
(引用自 Bear MF, 2001)





圖三、三種不同的 glutamate receptors 的作用。

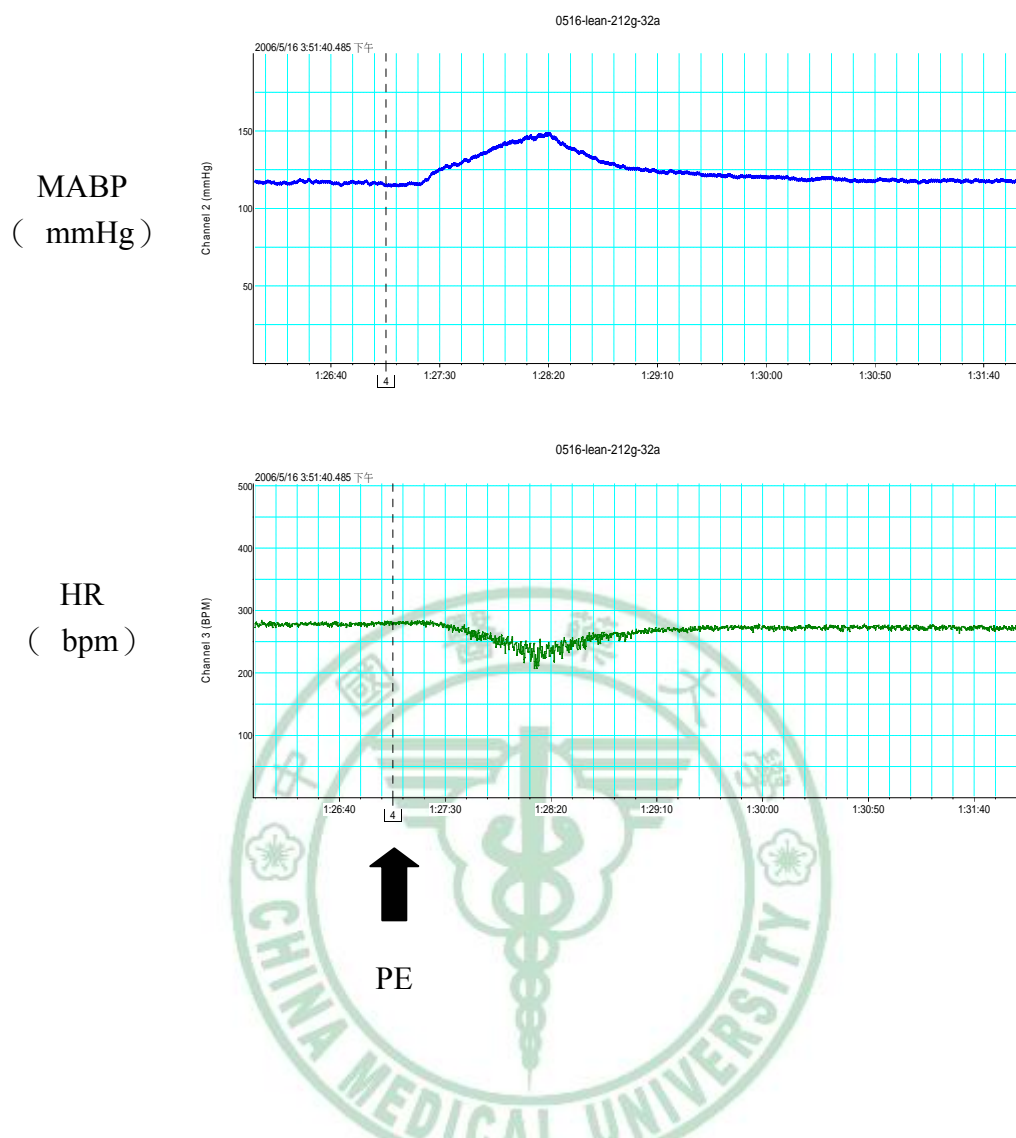
(引用自 Kandel ER, 2000)



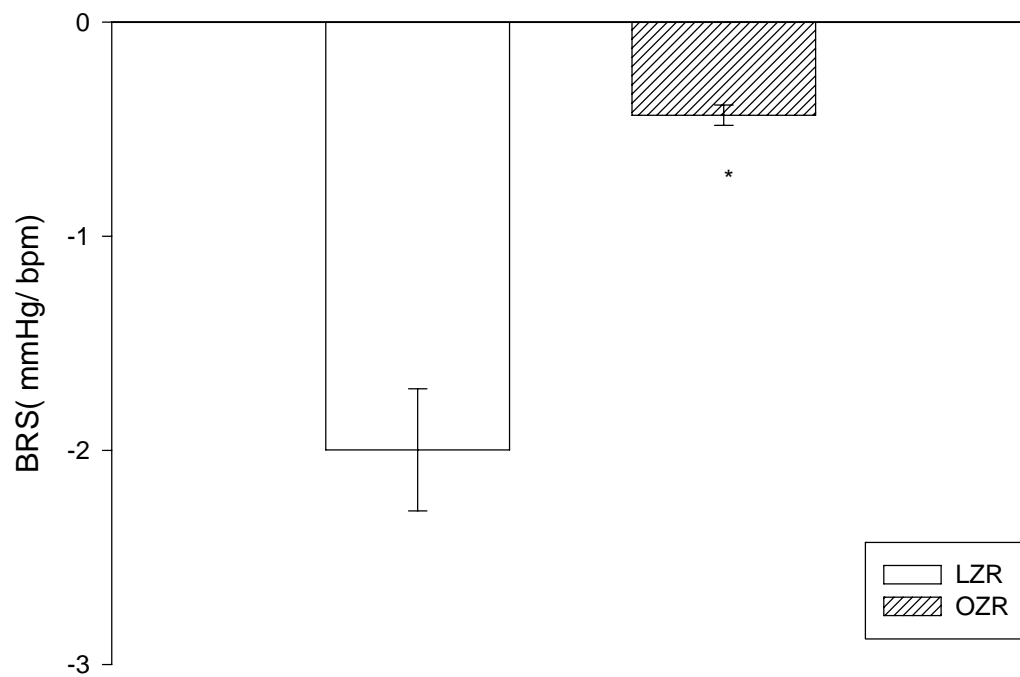
圖四、神經細胞中 NO 與 NMDA 接受體的回饋系統。

(引用自 Patel et al., 2001)



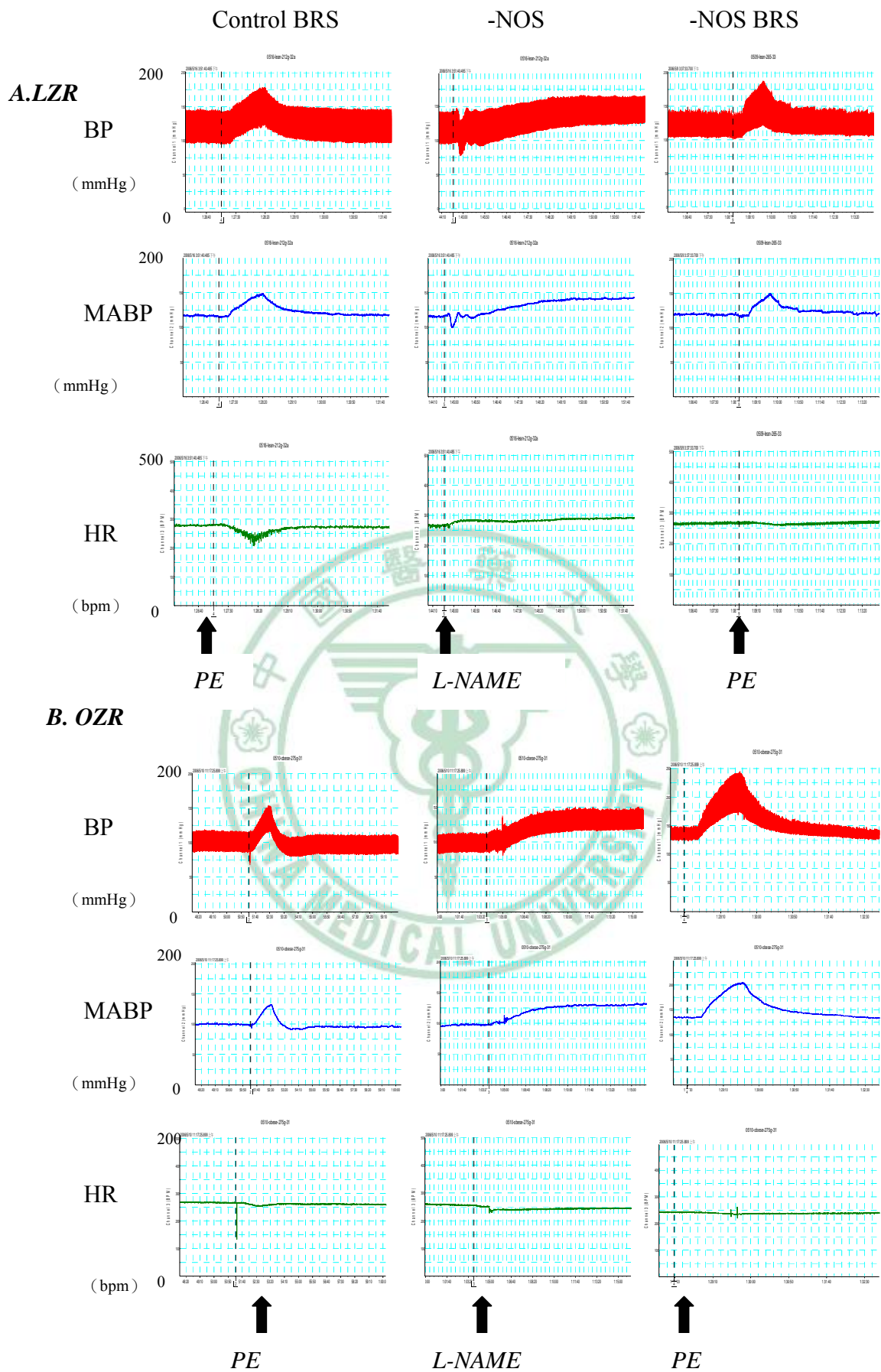


圖五、感壓反射敏感度評估 (Baroreflex sensitivity, BRS)：參考 Berringer et al.,1989 的方式，在靜脈以一分鐘連續灌注升壓藥 phenylephrine (PE) 的方式，將動脈壓慢慢上升 30~40mmHg，紀錄動脈壓每上升 5mmHg 對心跳的影響。

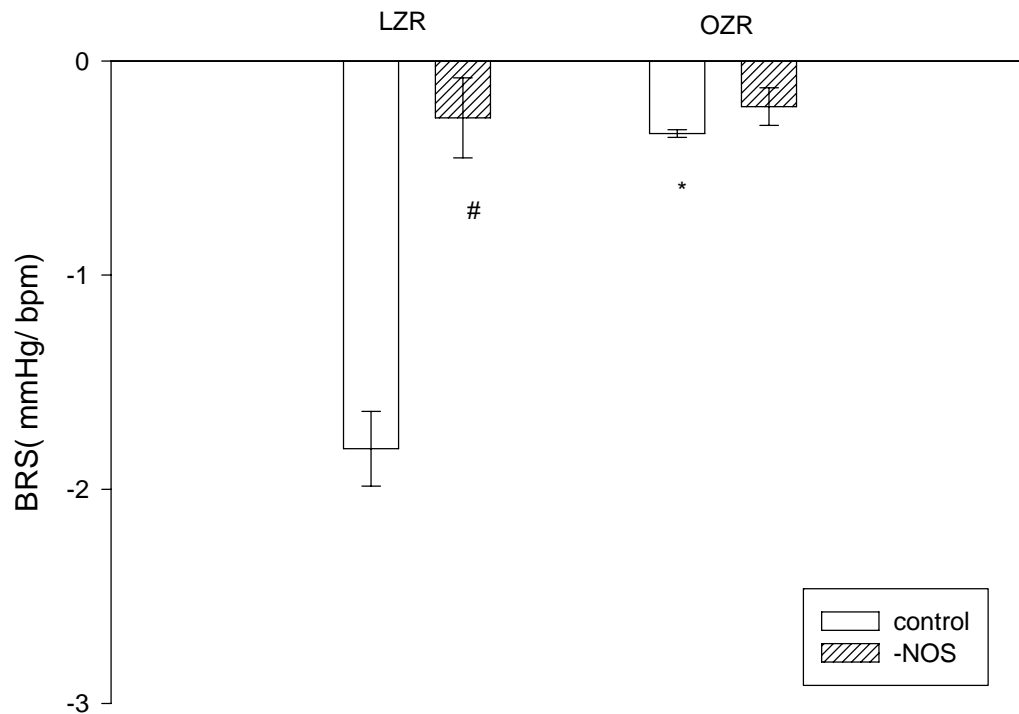


圖六、為給何阻斷劑之前 LZR 組(n=24) 與 OZR 組(n=10)的感壓犯涉
 敏感度。

* OZR vs LZR $P < 0.05$



圖七、NOS 阻斷前後 LZR 組與 OZR 阻血壓、平均動脈壓與心跳變化。

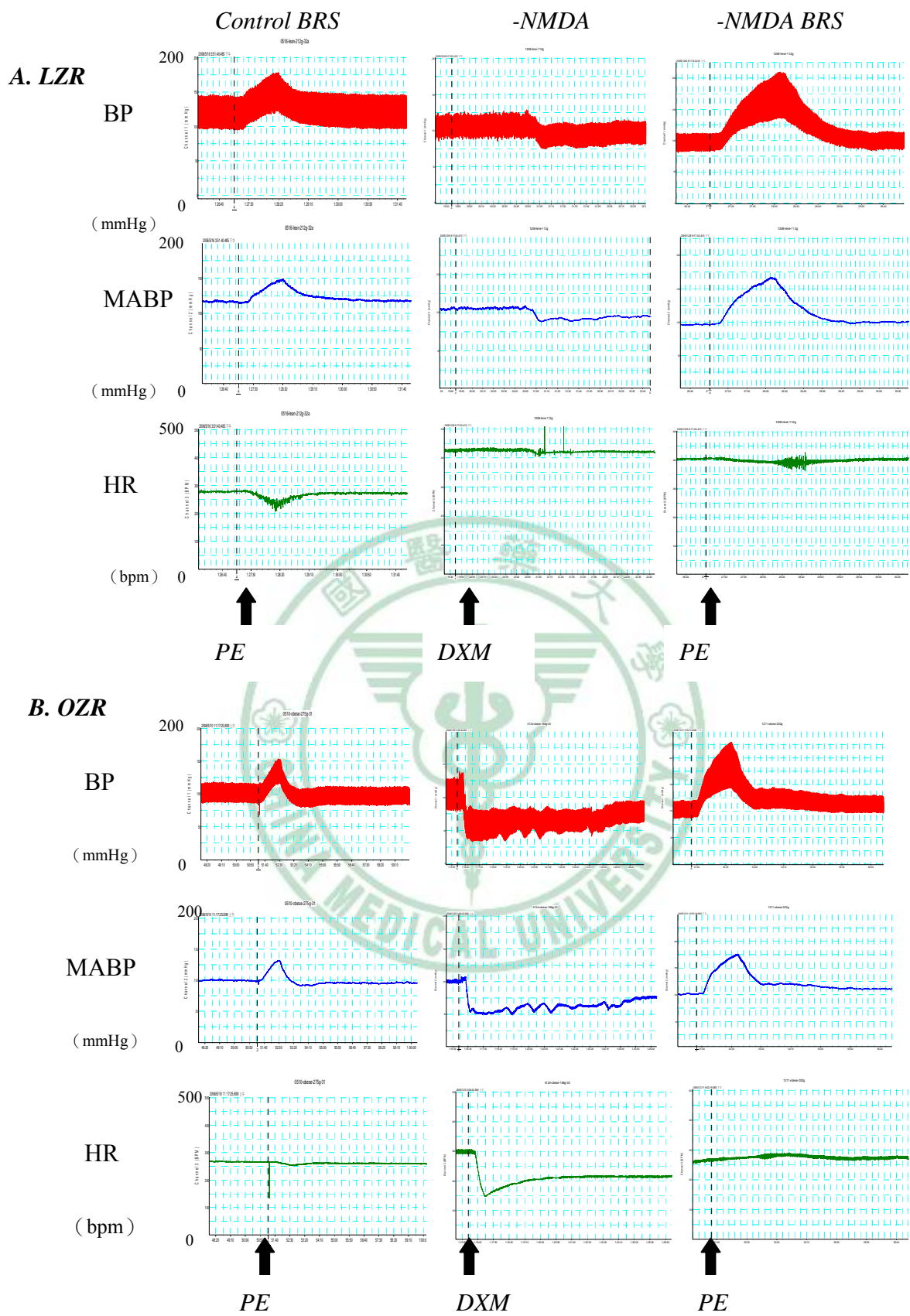


圖八、阻斷 NOS 前後 LZR(n=4,3) 與 OZR(n=4,4)感壓反射敏感度變化。

Control BRS: 阻斷 NOS 前的感壓反射敏感度數值。

: control vs -NOS $P < 0.05$

* : LZR BRS vs OZR BRS $P < 0.05$



圖九、NMDA 阻斷前後 LZR 與 OZR 血壓、平均動脈壓與心跳變化。

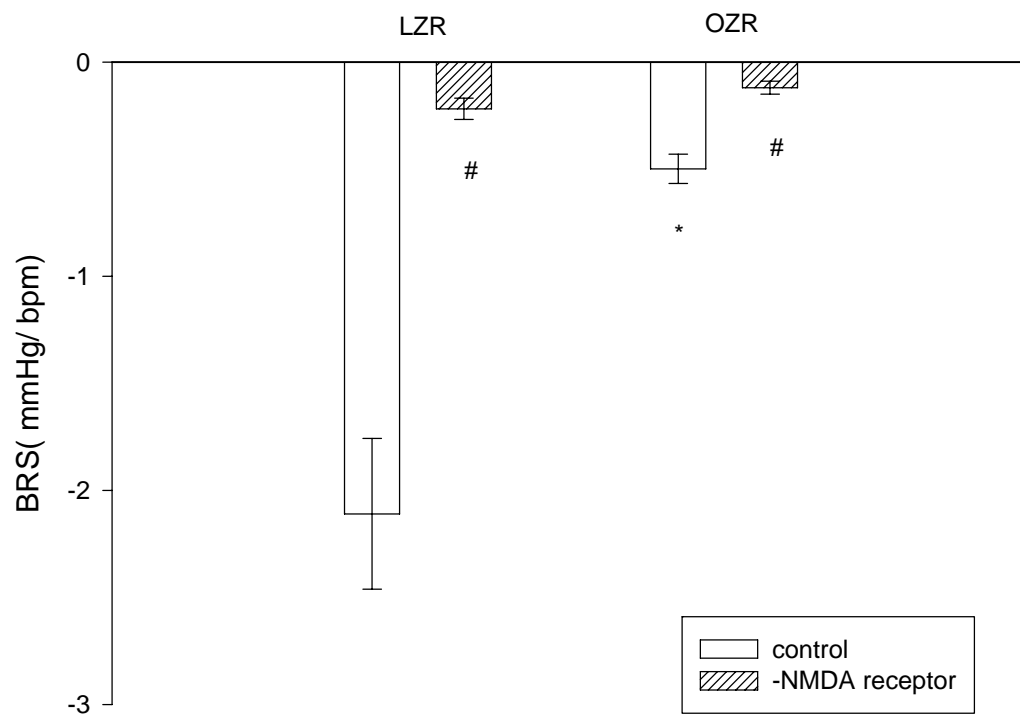
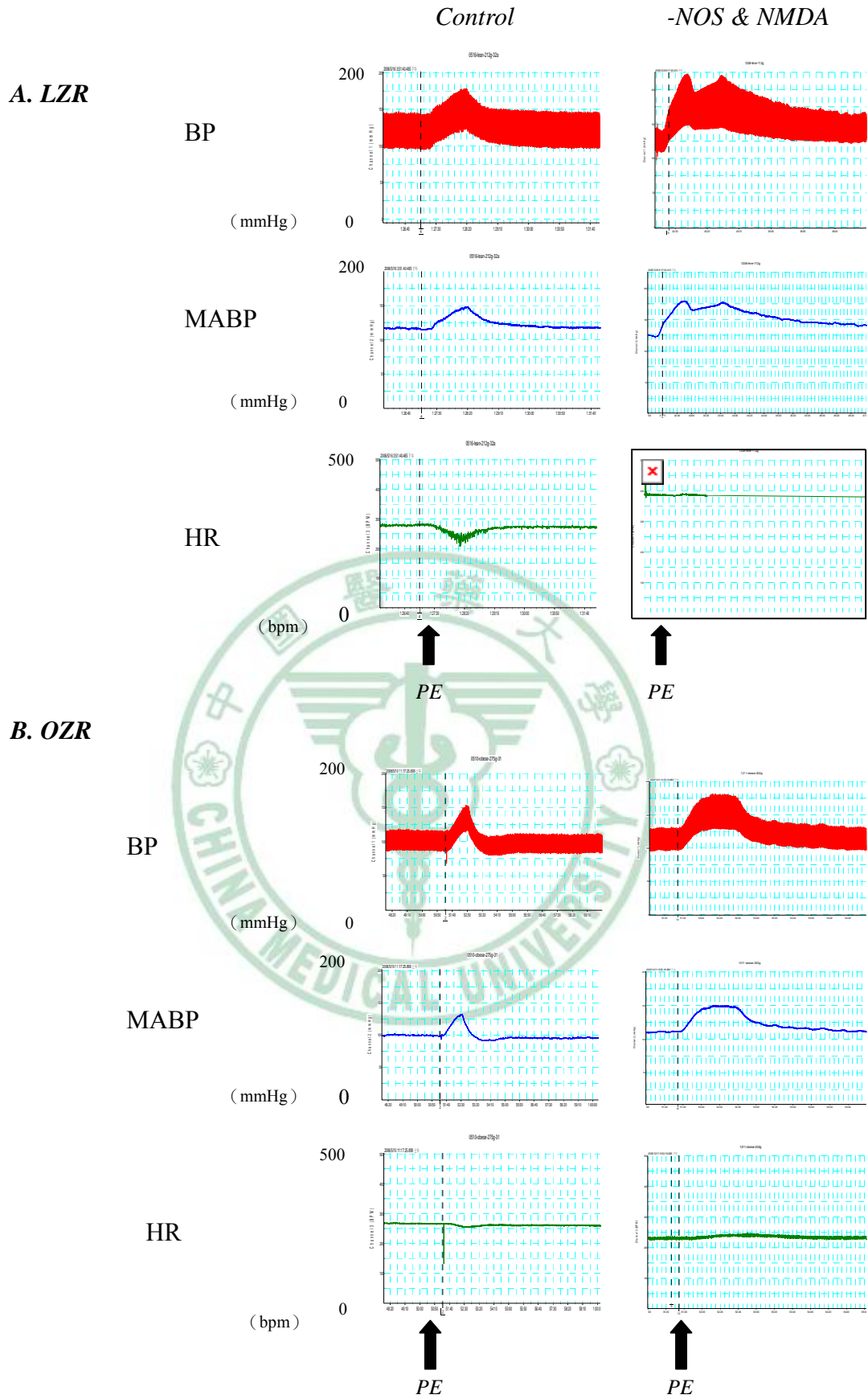


Fig 10. 阻斷 NMDA 接受體前後 LZR 組(n=4,3) 與 OZR 組(n=4,4)感
壓反射敏感度變化。

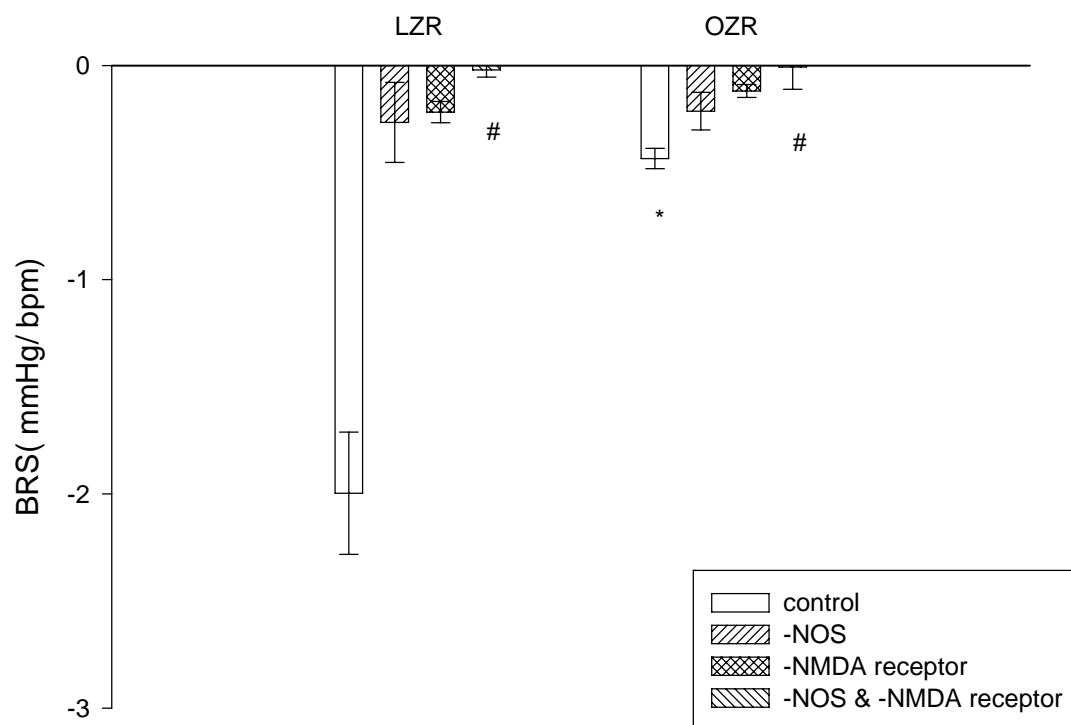
Control BRS:阻斷 NMDA 接受體前的感壓反射敏感度數值。

: control vs -NMDA $P < 0.05$

* : LZR BRS vs OZR BRS $P < 0.05$



圖十一、同時阻斷 NOS 及 NMDA 接受體前後 OZR 與 LZR 血壓、平均動脈壓與心跳變化。



圖十二。將 NOS、NMDA 接受體或兩者皆阻斷(LZR n=8,OZR n=9) 的情況，LZR 組與 OZR 組感壓反射敏感度變化。

Control BRS: 未給任何阻斷劑的感壓反射敏感度數值。

: control vs - NOS and -NMDA $P < 0.05$

* : LZR BRS vs OZR BRS $P < 0.05$