

硫酸核糖霉素对神经肌肉传递的阻遏作用

束怀德、张丽华¹、顾建伟²、陈林爱 (上海医科大学药理教研组, 上海 200032)

提要 硫酸核糖霉素(RS)在麻醉猫 腓总神经-胫前肌制备和大鼠离体膈神经-膈肌制备均能阻遏神经肌肉传递, RS可降低膈肌 epp 幅度和减少 epp 量子含量, 并防止高 K⁺ 所引起的 mepp 频率增加。RS 对电场刺激所致小鼠输精管收缩, 有浓度依赖性抑制作用。也能明显抑降低 NE 和 KCl 所激发的收缩反应。

关键词 核糖霉素; 链霉素; 神经肌肉接头; 输精管; 氯化钙; 4-氨基吡啶; 育亨宾; 纳洛酮; 去甲肾上腺素; 氯化钾

核糖霉素(ribostamycin, vistamycin, RS)系由放线菌属的核糖链丝菌(*Streptomyces ribodificus*) 培养液中提出的一种新的氨基甙类抗生素。核糖霉素的抗菌效果与卡那霉素相似, 但对听神经的毒性较低⁽¹⁾。由于氨基甙类抗生素对神经肌肉传递均有阻遏作用, 临床上与竞争型肌松剂合并应用时, 可能引起呼吸抑制或窒息⁽²⁾。氨基甙类抗生素也能抑制多种平滑肌活动。本工作就 RS 对神经-骨骼肌及神经-平滑肌接头传递的作用及其机制进行了研究。

材料和方法

麻醉猫腓总神经-胫前肌制备 实验用体重 $2.6 \pm SD 0.6$ kg 的猫 17 只, ♀♂不拘。以氯醛糖(75 mg/kg)和戊巴比妥钠(7.5 mg/kg) ip 复合麻醉。一侧颈动脉分离并插入动脉导管, 内充盈含有 1 mg/ml 浓度肝素的生理盐水, 经插入式血压计将血压变化描记于记录仪(上海自动仪表二厂出品)上。气管插入玻璃导管, 以备必要时给以人工呼吸。分离一侧腓总神经及胫前肌, 将胫前肌的肌腱游离, 以细线结扎, 通

过滑轮连接到张力换能器, 肌张力变化也显示在记录仪上。腓总神经给以超强方波刺激, 波宽 0.3 ms, 频率 6/min。

大鼠离体膈神经-膈肌制备 用体重 206 ± 17 g 的大鼠, ♀♂兼用。断头处死后, 取出左侧带有膈神经的膈肌, 悬挂于含有改良台氏液的浴管中(记录肌收缩变化)或固定在肌槽中(记录细胞内电活动)。通 95% O₂ + 5% CO₂ 水浴温度 37°C。超强方波刺激, 以 6/min 的频率, 单独给予膈神经; 或交替给予膈神经和膈肌。波宽 0.3 ms。膈肌收缩通过张力换能器, 描记于记录仪上。

微电极细胞内记录 玻璃微电极充盈 3 M KCl 溶液, 阻抗 10-30 MΩ。细胞内电活动通过 FW-2 型微电极放大器(中国科学院上海生理研究所工厂产品), 显示于 SBR-1 型示波器上摄影记录。膜电位变化在 PZ 26 型直流数字电压表上直接读出。

小鼠离体输精管制备 用体重 48 ± 2 g 小鼠, 取两侧输精管, 悬于 5 ml 无镁 Krebs 液(NaCl 119.0, KCl 4.7, CaCl₂ 2.5, NaH₂PO₄ · 2 H₂O 1.2, NaHCO₃ 35.0, 葡萄糖 11.0 mM)的 37°C 水浴中, 通 95% O₂ + 5% CO₂。负荷 400 mg。收缩活动通过张力换能器描记于记录仪上。电场刺激通过一对平行的铂环电极, 超强方波刺激, 波宽 2 ms, 频率 0.1 Hz。

药品 RS(上海第四制药厂, 批号 820419); 硫酸链霉素(上海第四制药厂, 批号 821119-1); 甲基硫酸新斯的明(上海第七制药厂, 批号 820203); 4-氨基吡啶(4-aminopyridine, 4-AP, 美国 Aldrich 化学制药厂); 重酒石酸去甲肾上腺素(NE, 上海第十制药厂, 批号 800826); 育亨宾(美国 Sigma); 纳洛酮(上海

1984年6月20日收稿 1985年5月2日修回

¹ 山东医学院药理教研组

² 上海华山医院抗生素研究室

医科大学药物化学教研组合成)。

实验结果

对麻醉猫神经肌肉传递的作用 猫 iv 硫酸链霉素(80 和 160 mg/kg) 或 RS (320 和 480 mg/kg) 均能抑制电刺激腓总神经所致胫前肌收缩。作用一般于给药后 5 min 达高峰, 以后逐渐恢复, 30-60 min 可恢复到给药前水平。比较这两个抗生素对神经肌肉传递的阻遏作用, 用非对称设计的平行线四点法检验, RS 的效强, 约相当于硫酸链霉素的 27.4% (95% 可信限为 23.6-32.0%)。iv 上述两药, 在阻遏神经肌肉传递的同时还可引起明显的血压降低, RS 480 mg/kg 可使血压水平降低 85% ± 18%。胫前动脉 ia, RS 在 5-20 mg/kg 剂量时, 就能完全阻断神经肌肉接头的传递, 此时血压仅有轻度下降。在 RS 引起神经肌肉传递完全阻遏时, ia 微量 ACh, 仍能导致胫前肌收缩。iv 4-AP (0.2 mg/kg) 或 CaCl₂ (10 mg/kg) 可完全对抗 RS 的作用 (图 1)。

对大鼠离体膈神经-膈肌的作用 硫酸链霉素和 RS 在浓度 0.8-3.2 mM 时, 对电刺激膈神经所致膈肌收缩, 均可引起浓度依赖性抑

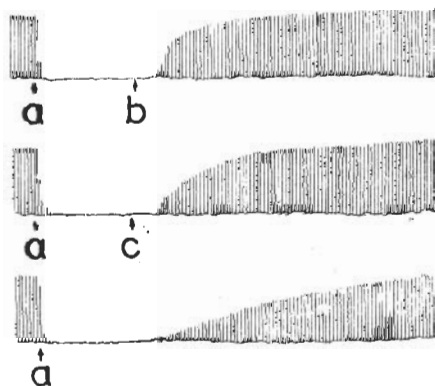


Fig 1. Effects of 4-aminopyridine (4-AP) and CaCl₂ on inhibitory action of RS on neuromuscular transmission in common peroneal nerve-anterior tibial muscle of anesthetized cats. (a) RS 20 mg/kg, ia; (b) CaCl₂ 10 mg/kg, iv; (c) 4-AP 0.2 mg/kg, iv

制; 而对直接刺激膈肌所致收缩影响不大。用六点法比较两者对离体大鼠膈神经-膈肌的阻遏作用, RS 的效强约为硫酸链霉素的 72% (95% 可信限为 51-91%)。

在 RS 引起神经肌肉传递部分阻断时, 强直刺激 (100 Hz, 10 s) 引起的收缩反应可以维持, 没有强直后增强现象。当 RS 使神经肌肉传递完全阻断时, 在溶液中加入 4-AP (0.1 mM) 或 CaCl₂ (使溶液中 Ca²⁺ 浓度提高到 6 mM), 可使膈肌收缩迅速重现, 收缩幅度逐渐增加, 甚至可超过给药前对照幅度 (图 2)。甲基硫酸新斯的明 (0.08 mM) 没有对抗 RS 阻断神经肌肉传递的作用。

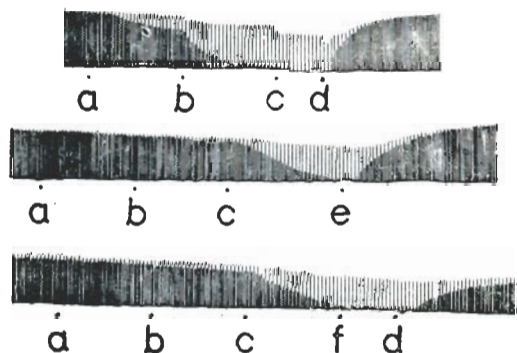


Fig 2. Effects of 4-AP, CaCl₂ and neostigmine methylsulfate on inhibitory action of RS on neuromuscular transmission in isolated rat phrenic nerve-diaphragm preparations. The indirect and direct stimuli were applied alternately. (a) RS 0.8 mM; (b) RS 1.6 mM; (c) RS 3.2 mM; (d) CaCl₂ 6 mM; (e) 4-AP 0.1 mM; (f) neostigmine 0.04 mM

对膈肌细胞静息膜电位的影响 在 12 个标本测定了膈肌细胞 (包括终板区和非终板区) 的静息膜电位, 给药前对照值为 74 ± 8 mV (n = 133); 加入 RS (3 mM) 后 10-20 min 测定膜电位为 73 ± 8 mV (n = 129), p > 0.05。

对小终板电位 (mepp) 的影响 RS (3 mM) 对自发 mepp 的频率无明显影响, 当溶液中 K⁺ 浓度从 3 mM 提高到 30 mM 时, 可迅速导致 mepp 发放频率明显增加, 呈雪崩样。如预先以 RS (3 mM) 处理标本 20 min, 再加入相等浓

度的 KCl, 则高 K^+ 增加 mepp 频率的作用被明显减弱或完全防止(图 3)。

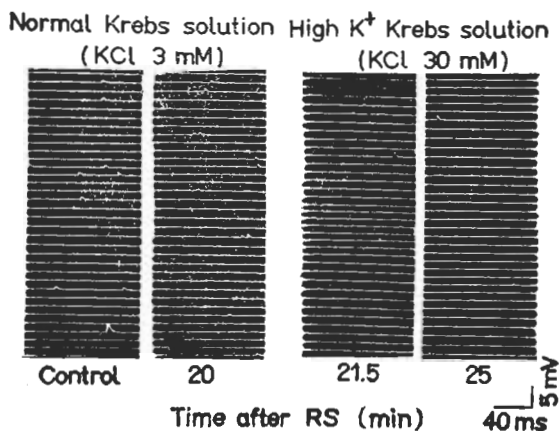


Fig 3. Effects of RS on mepp in normal and high K^+ Krebs solutions.

对终板电位(epp)的影响 RS(3 mM)可使电刺激膈神经所致膈肌收缩逐渐减弱和消失。与此同时, 从膈肌终板区肌细胞所引导出的动作电位, 转变为 epp, 并随着神经肌肉接头阻遏的不断加深, epp 振幅逐渐减低, 终至记录不出。4-AP(0.1 mM)或 $CaCl_2$ (6 mM) 可使已经消失的 epp 重新出现, 甚至转变为动作电位。给膈神经施加高频刺激(50 Hz)所引导出的一串 epp, 幅度没有递减或递增的现象。

对终板电量子含量的影响 提高溶液中

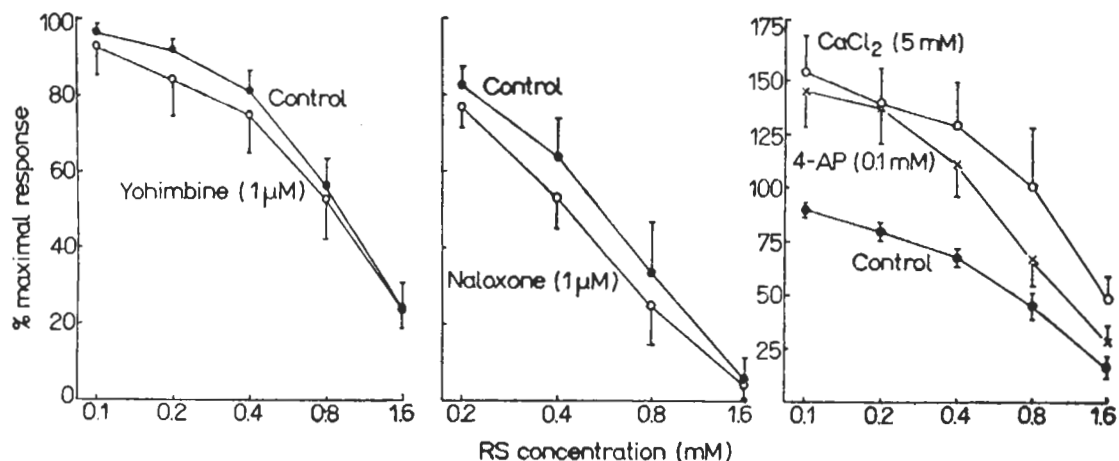


Fig 5. Effects of yohimbine, naloxone, 4-AP, and $CaCl_2$ on inhibitory action of RS on field stimulation-induced contraction in mouse vas deferens.

$MgCl_2$ 浓度至 16 mM, 使重复刺激(1/s)膈神经所激发的 epp 幅度变小, 甚至部分脱落。根据 $M = \log_e$ (刺激次数/脱落次数) 公式计算量子含量, 使给药前的 epp 的 M 值控制在 2-3 间。加入 RS(3 mM)后, M 值逐渐降低。图 4 所示

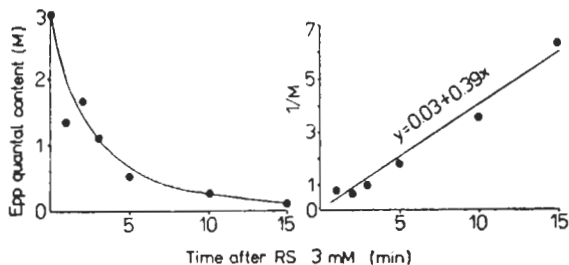


Fig 4. Effect of RS (3 mM) on the epp quantal content.

为 RS 对 epp 量子含量影响的一例, 给药 15 min 时 M 值已降至 0.16。以 epp 量子含量 M 值的倒数(1/M)与给药后时间作直线回归, 得方程式: $Y = 0.03 + 0.39 X$, 相关系数 $r = 0.986$ 。

对电场刺激所致小鼠输精管收缩的抑制作用 RS(0.1-1.6 mM) 对此收缩有浓度依赖性抑制作用。这种抑制不能被育亨宾(0.1 和 1 μM)和纳洛酮(1 μM)所对抗(图 5)。冲洗后, 输精管对电场刺激所致收缩反应能够恢复。高 Ca^{++} (5 mM)和 4-AP(0.1 mM) 可明显增加此收缩的幅度, 并对抗 RS 的抑制作用(图 5)。

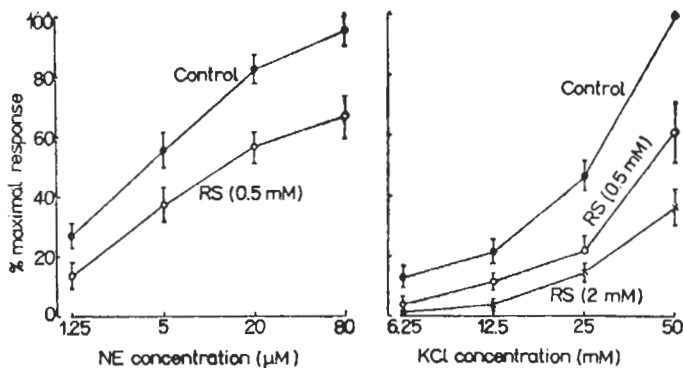


Fig 6. Effects of RS on NE- and KCl-induced contractions in mouse vas deferens.

对 NE 和 KCl 所致小鼠输精管收缩的抑制作用 NE(1.25-80 μM) 可迅速导致小鼠输精管产生浓度依赖性收缩。RS(0.5 mM) 本身对输精管的自发活动和基础张力均无明显影响, 但能显著抑低 NE 所激发的收缩反应(图 6)。KCl(6.25-50 mM) 也可激发小鼠输精管产生迅即出现的收缩高峰(时相性收缩)和随后的持续性张力增加(张力性收缩)。RS(0.5 和 2 mM) 能对抗 KCl 的作用, 尤以时相性收缩的抑低更为明显(图 6)。

讨 论

本工作表明, RS 与其它氨基甙类抗生素一样, 对神经肌肉接头传递也有选择性阻遏作用。但与硫酸链霉素相比, 无论在麻醉猫腓总神经-胫前肌制备或离体大鼠膈神经-膈肌制备, 其神经肌肉阻遏作用均较弱。

RS 不引起膈肌细胞膜电位的明显变化, 其神经肌肉阻断作用与右旋筒箭毒碱(*d*-Tc)又有明显区别。与新霉素和 bekanamycin 的作用^(3,4)相似, RS 能减少和防止高 K^+ 引起的 mepp 频率增加, 并使 epp 量子含量减少, 支持 RS 对神经肌肉接头突触前膜具有抑制作用。这一作用与 Mg^{++} 相似, 可能是在突触前膜, 与 Ca^{++} 竞争受体, 从而妨碍神经末梢 ACh 的释放。

RS 对小鼠输精管肾上腺素能神经-平滑肌传递的阻遏作用, 与接头前神经末梢上的

α_2 肾上腺素受体和阿片受体无关; 而其抑低输精管平滑肌对外源性 NE 和高 K^+ 的反应性, 则支持 RS 的作用部位主要在输精管平滑肌, 而不是影响神经末梢 NE 的释放。文献中报道丁胺卡那霉素在豚鼠或兔的离体肠和离体子宫制备, 能对抗 ACh、组胺、5-HT、 BaCl_2 和烟碱所致平滑肌收缩⁽⁵⁾, 也说明氨基甙类抗生素对平滑肌具有直接抑制作用。

RS 抑制小鼠输精管对电场刺激所致收缩反应的作用, 可被 4-AP 对抗; 而 4-AP 在显著增强电场刺激所致收缩同时, 并不影响兔输精管平滑肌对外源性 NE 的反应⁽⁶⁾。故 4-AP 对 RS 作用的对抗, 似不在于提高输精管平滑肌对 NE 的反应性, 而可能是促进神经末梢释放更多的 NE。因为 4-AP 为 K^+ 通道阻断剂, 能延长神经末梢动作电位时程, 促进 Ca^{++} 内流⁽⁷⁾, 从而可能增加 NE 的释放。

本实验所示高 Ca^{++} 对抗 RS 抑制电场刺激所致输精管收缩的作用, 作用部位可能有二: 一是在平滑肌水平, 直接对抗 RS 阻碍 Ca^{++} 内流的作用; 二是在肾上腺素能神经末梢, 促进更多 NE 释放。后一作用与 4-AP 相似。

参 考 文 献

- 1 Akiyoshi M, Sato K. *Audiology* 1971; 14: 189
- 2 Paradelis AG. *J Antimicrobiol Chemother* 1979, 5: 737
- 3 Elmquist D, Josefsson J. *Acta Physiol Scand* 1962, 54: 105

- 4 Uchiyama T, Molgo J, Lemeignan M. *Eur J Pharmacol* 1981; 72 : 271
- 5 Koeda T, Umemura K, Yokota M. *Toxicology and Pharmacology of aminoglycoside antibiotics*. 1st ed. Berlin: Springer, 1982 : 293-356
- 6 Johns A, Golko DS, Lauzon PA, Paton DM. *Eur J Pharmacol* 1976; 38 : 71

- 7 Molgo J. Effects of aminopyridines on neuromuscular transmission. In: Lechat P, Thesleff S, Bowman WC, eds. *Aminopyridines and similarly acting drugs. Effects on nerves, muscles and synapses*. 1st ed. Oxford: Pergamon, 1982 : 95-116

Acta Pharmacologica Sinica 1986 Jan; 7 (1) : 26-30

INHIBITORY ACTION OF RIBOSTAMYCIN SULFATE ON NEUROMUSCULAR TRANSMISSION

SHU Huai-de, ZHANG Li-hua, GU Jian-wei, CHEN Lin-ai

(Dept Pharmacology, Shanghai Medical University, Shanghai 200032)

ABSTRACT In common peroneal nerve-anterior tibial muscle preparations of anesthetized cats and isolated rat phrenic nerve-diaphragm preparations, the efficacies of ribostamycin sulfate (RS) blocking neuromuscular transmission were 27% and 72%, respectively in comparison with that of streptomycin sulfate. RS did not affect the resting membrane potential of muscle cells nor the frequency of spontaneous miniature end-plate potential (mepp). However, it prevented the increase in discharge frequency of mepp induced by high K^+ (30 mM), reduced the amplitude of end-plate potential (epp), and decreased the epp quantal content. The inhibitory action of RS on neuromuscular transmission was antagonized by 4-aminopyridine or $CaCl_2$.

RS inhibited the twitch responses of vas deferens to field stimulation. The inhibition induced by RS was antagonized by 4-amino-

pyridine and by increasing the Ca^{++} concentration (5 mM) in Mg^{++} -free Krebs solution, but not antagonized by yohimbine or naloxone. RS also reduced the contractile amplitude of vas deferens induced by norepinephrine or KCl.

It is postulated that the main effect of RS on cholinergic neurotransmission in motor nerve-skeletal muscle junction was to decrease the amount of acetylcholine liberated from nerve endings, whereas the inhibitory effect of RS on adrenergic neurotransmission in vas deferens was mainly by reducing the response of the smooth muscle to endogenous and/or exogenous norepinephrine.

KEY WORDS ribostamycin; streptomycin; neuromuscular junction; vas deferens; $CaCl_2$; 4-aminopyridine; yohimbine; naloxone; norepinephrine; KCl