

内源性 γ -氨基丁酸受体结合抑制物对大鼠血压的影响¹

蔡宁生、肖文彬²、周廷冲 (军事医学科学院基础医学研究所, 北京 100850)

Acta Pharmacologica Sinica 1989 Mar; 10 (2): 101-103

Effects of an endogenous GABA receptor binding inhibitor on rat blood pressure¹

CAI Ning-Sheng, XIAO Wen-Bin, ZHOU Ting-Chong

(Institute of Basic Medical Sciences, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850)

Abstract The GABA receptor agonists GABA (400 μ g icv) and muscimol (1 μ g icv) induced hypotension in urethane-anesthetized rats, while the GABA receptor antagonist bicuculline (2 μ g icv) elicited hypertension. An endogenous GABA receptor binding inhibitor (1 mg), prepared from bovine cerebellum, showed bicuculline-like hypertensive action in a dose-dependent manner. It was antagonized by icv muscimol, but not by the α_2 -adrenoceptor agonist clonidine. These *in vivo* results agree quite well with our previous *in vitro* receptor binding assay experiments.

Key words GABA-benzodiazepine receptors; blood pressure; intraventricular injections; muscimol; clonidine; bicuculline

¹Project supported by National Natural Science Foundation of China, No 3860112

提要 以麻醉大鼠颈动脉血压为指标, 观察脑室内注射 GABA 能药物及一种内源性 GABA 受体结合抑制物对大鼠血压的影响。GABA 400 μ g, 蝇蕈醇 1 μ g icv 使大鼠血压下降。荷包牡丹碱 2 μ g 使血压上升。内源性 GABA 受体结合抑制物 500 μ g 有类似荷包牡丹碱的升压作用, 这种作用可被蝇蕈醇拮抗, 而可乐定不能对抗这种作用。

关键词 γ -氨基丁酸苯二氮革受体; 血压; 脑室内注射; 蝇蕈醇; 可乐定; 荷包牡丹碱

GABA 是中枢神经系统主要的抑制性神经递质, 近年来发现中枢神经系统内除 GABA 外, 尚有一类内源性的 GABA 受体结合抑制物。本实验室 1985 年从牛小脑中分离纯化了一种内源性 γ -氨基丁酸受体结合抑制物 (GABA-RI), 达到高压液相单一峰的纯度⁽¹⁾。GABA-RI 与 Costa 实验室提取的 GABA modulin⁽²⁾不同, GABA-RI 竞争性抑制 [³H] 蝇蕈醇 (muscimol) 与 GABA 受体的结合, 并显示极高的亲和力。此种体外结合实验中有效应的物质, 在整体动物的效应如何, 有待研究。鉴于不少实验已证明 GABA 系统参与心血管功能的调节^(3,4), 我们选用整体大鼠, 观察 icv GABA-RI 对血压的影响。通过与 GABA 能系统的典型工具药物作用相比较, 希望证实此 GABA-RI 确系作用于 GABA 能系统, 并有整体效应。

Materials and methods

大鼠 196 \pm SD 25 g, 雌雄不拘。乌拉坦麻醉, 气管插管和左侧颈总动脉插管, 经压力换能器连接于 RM-46 多导生理记录仪描记血压, 数据以平均血压 (MBP) 表示。

GABA (上海试剂三厂 CR); 蝇蕈醇 本所合成; 荷包牡丹碱 (bicuculline, Bic, 美国

1986年12月20日收稿 1988年9月27日接受

¹ 国家自然科学基金资助课题 No 3860112

² 军事医学科学院毒物药物研究所

Pierce 公司); 可乐定(clonidine, 常州制药厂)。所有药物均用生理盐水配制。

脑室药物注射 大鼠麻醉后暴露颅骨, 在冠状缝后 2.5 mm, 矢状缝旁边 3.5 mm 的交点处钻一直径 0.3 mm 小孔, 经小孔注入微量药物。进针深度为 4 mm, 药物容量为 20 μ l, 注射速度 20 μ l/15 s。

GABA-RI 的提取及活性测定 冰冻牛小脑 500 g, 在 Tris-柠檬酸 5 mmol/L (pH 7.1 1:10, wt/vol) 匀浆。20 000 \times g 离心 20 min 后取上清, 95 $^{\circ}$ C 加热 15 min, 去除杂蛋白, 再经 Amico Pm 30 超滤膜超滤; 滤过液用去离子水透析 48 h, 冰冻干燥。干粉溶于去离子水后经 Sephadex G-100 柱(2.5 \times 100 cm)分离, 取抑制 [3 H] 蝇蕈醇与 GABA 受体结合的活性峰即为 GABA-RI, 详见文献(1)。

Results

GABA 能系统药物 icv 对大鼠血压的影响 4 组大鼠 icv GABA 受体激动剂, 拮抗剂和内源性 GABA-RI, 结果见 Tab 1。

激动剂 GABA 和蝇蕈醇均引起血压下降, 引起同样下降幅度的蝇蕈醇剂量是 GABA 的 1/400。GABA 受体拮抗剂 Bic 2 μ g 使大鼠血压升高 9.3 kPa, 3 μ g 即引起大鼠惊厥。1.5 mg

Tab 1. Effects of icv GABA-RI, GABA, muscimol (Mus) and bicuculline (Bic) on mean blood pressure (MBP) of anesthetized rats, $\bar{x} \pm SD$ *** $P < 0.01$ vs saline group.

Drugs (μ g/20 μ l)	n	Mean blood pressure (kPa)		
		Before	After	Change
Saline (180)	5	12.5 \pm 1.2	12.1 \pm 1.5	-0.4 \pm 0.7
GABA (400)	4	13.2 \pm 2.3	9.4 \pm 1.9	-3.7 \pm 0.4***
Mus (1)	5	14.8 \pm 1.2	10.5 \pm 1.2	-4.3 \pm 1.5***
Bic (2)	6	11.2 \pm 3.5	20.9 \pm 1.7	+9.3 \pm 3.5***
GABA-RI (1500)	6	14.2 \pm 2.4	24.1 \pm 2.7	+10.0 \pm 1.1***

的 GABA-RI 可引起与 Bic 同样幅度的血压升高, 未产生惊厥。1.0 mg GABA-RI 的升压图型与 Bic 升压图型相似, 见 Fig 1。GABA-RI 的升压作用在 0.25-1.5 mg 范围内有明确的剂量-效应关系。

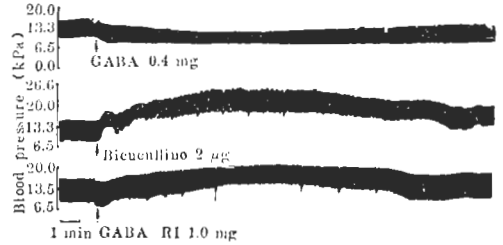


Fig 1. Effects of icv GABA, bicuculline and GABA-RI on blood pressure of anesthetized rats.

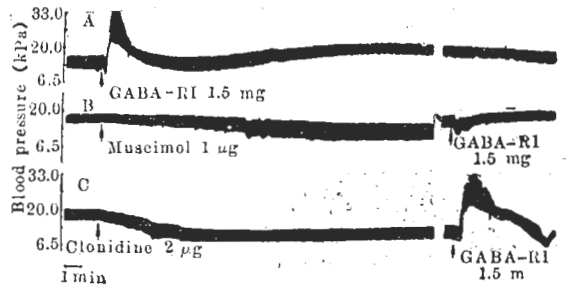


Fig 2. Influence of muscimol and clonidine on the increase of blood pressure induced by GABA-RI. A) Without pretreatment. B) Muscimol injected into one lateral ventricle, and 15 min later GABA-RI was injected into the contralateral ventricle. C) Clonidine injected into one lateral ventricle, 15 min later GABA-RI was injected into the other lateral ventricle.

Tab 2. Influence of Mus and clonidine (Clo) on increase of MBP induced by GABA-RI. Mus or Clo injected into one lateral ventricle and 15 min later GABA-RI 1.5 mg was injected into the contra lateral ventricle. $\bar{x} \pm SD$. * $P > 0.05$, *** $P < 0.01$ vs control group; † $P > 0.05$, †† $P < 0.05$, ††† $P < 0.01$ vs before.

Pretreat-ment	n	Mean blood pressure (kPa)		
		Before	After	Change
Control	6	14.2 \pm 2.4	24.1 \pm 2.9	10.0 \pm 1.1†††
Mus (1 μ g)	7	11.7 \pm 2.4	13.3 \pm 1.6	1.7 \pm 1.7***
Clo (2 μ g)	5	12.8 \pm 4.1	20.9 \pm 5.3	8.1 \pm 3.6*††

GABA-RI 升压作用的专一性 GABA-RI icv 引起的升压效应可被预先 icv 蝇蕈醇所拮抗, 而同样条件预先 icv α_2 -肾上腺能受体激动剂可乐定则不能拮抗这种作用 (Fig 2, Tab 2)。

8 只大鼠 icv 3 μ g 蝇蕈醇, 7 只由于血压下降至零而死亡; 预先 icv GABA-RI 1.0 mg, 可拮抗这种致死性的血压下降作用。可乐定的降压作用不能被 GABA-RI 所拮抗 (Fig 3)。

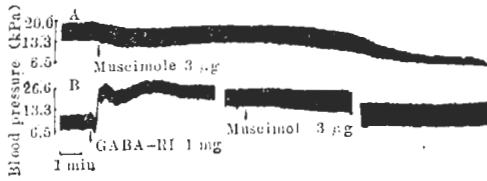


Fig 3. Effects of GABA-RI against the decrease of blood pressure elicited by muscimol on anesthetized rats. A) Without pretreatment, muscimol was injected into lateral ventricle, 20 min later the rat died. B) With pretreatment, GABA-RI was injected into one lateral ventricle, 20 min later muscimol was injected into the other lateral ventricle, rat still alive.

Discussion

在 GABA 受体结合实验中, 许多实验室都证实有一类内源性的 GABA 受体结合抑制物⁽⁵⁾, 但对这类物质的整体动物效应尚未见报告。本实验观察到, 从牛小脑中提取的 GABA-RI icv 有升高麻醉大鼠血压的作用。这种作用类似于 icv Bic 的升压作用。GABA-RI 的升压作用可与 icv 蝇蕈醇的降压作用相互拮抗, 而不受 α_2 -肾上腺能受体激动剂可乐定的影响。

由此分析它与蝇蕈醇可能作用于同一受体部位, 而与肾上腺素能 α_2 -受体无关。这一结果与体外放射性配体结合实验表现出的竞争性抑制结果一致。

尽管本实验在麻醉鼠的血压这一指标上观察到了 GABA-RI 的整体效应, 然而体内为什么会有除 GABA 之外的 GABA 受体结合物, 它的生理功能是什么? 本实验尚不能回答。同时, 目前仅能排除这一物质不是 GABA, 它的确切结构尚未确定。对这一物质的生化和药理有待研究。

致谢 柳用绍同志帮助技术工作。

References

- 1 蔡宁生、张兆耕、王芳、周廷冲。一种内源性的竞争性 γ -氨基丁酸受体抑制剂。生物化学杂志 1987; 3 : 337
- 2 Guidotti A, Konkel DR, Ebstein B, *et al.* Isolation, characterization, and purification to homogeneity of a rat brain protein (GABA-modulin). *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79 : 6084
- 3 Baum T, Becker FT. Hypotensive and postural effects of the γ -aminobutyric acid agonist muscimol and clonidine. *J Cardiovasc Pharmacol* 1982; 4 : 165
- 4 Antonaccio MJ, Taylor DG. Involvement of central GABA receptors in the regulation of blood pressure and heart rate of anesthetized cats. *Eur J Pharmacol* 1977; 46 : 283
- 5 Toffano G. Endogenous modulators of the GABA receptor. In: Enna SJ, ed. *The GABA receptors*. Clifton: Humana Press, 1983 : 129-43
- 6 范少光。 γ -氨基丁酸与心血管活动的调节。生理科学进展 1985; 16 : 168