

## 可乐定激动中枢神经 $\alpha_2$ 受体不依赖钙离子通道<sup>1</sup>

杨毅、陈珂、陈达光 (福建医学院第一附属医院高血压病研究室, 福州 350005, 中国)

### Clonidine stimulates central nervous alpha 2 adrenoceptors not mediating $Ca^{2+}$ channels<sup>1</sup>

YANG Yi, CHEN Ke, CHEN Da-Guang

(Hypertension Research Division, 1st Affiliated Hospital, Fujian Medical College, Fuzhou 350005, China)

**ABSTRACT** Seven renal hypertensive (2 kidneys - 2 clipped) and 8 normotensive conscious dogs were given icv clonidine. After the medication the mean arterial blood pressure (MAP) were lowered and the heart rate (HR) and plasma norepinephrine (NE) were decreased. The magnitude of the decrease of MAP was greater than normotensive dogs; while no differences of decrease of NE was found. Nicardipine (10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) icv caused significant increases of MAP and HR in both hypertensive and normotensive groups. The decrease of MAP induced by clonidine was not changed by the pretreatment of nicardipine icv in both groups. It is thus concluded that clonidine stimulates central nervous alpha adrenoceptors not mediating  $Ca^{2+}$  channels.

**KEY WORDS** clonidine; alpha adrenergic receptors; nicardipine; calcium channel blockers; renovascular hypertension

**摘要** 7只双肾-双结扎的高血压清醒犬在可乐定侧脑室给药后, 平均动脉压(MAP)、心率(HR)和血浆去甲肾上腺素(NE)浓度明显下降。MAP下降幅度明显大于正常清醒犬。血浆NE的下降无大差别。尼卡地平(10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  icv)在两组犬都引起明显的MAP与HR增加。预先用尼卡地平处理的两组犬对可乐定的降压作用无影响。

Received 1988 Aug 20 Accepted 1989 Apr 18

<sup>1</sup>Project supported by National Key Scientific Project 75-62-02-05

**关键词** 可乐定; 肾上腺素能 $\alpha$ 受体; 尼卡地平; 钙通道阻滞剂; 肾血管高血压

外周靶器官, 如血管平滑肌细胞、血小板等, 突触后 $\alpha_2$ 受体激动时, 可引起靶器官激动作用, 如血管收缩、血小板聚集等, 通常都依赖于细胞膜上的钙离子通道的开放<sup>(1)</sup>。双氢吡啶类钙离子阻滞剂能阻断这一过程。可乐定激动中枢 $\alpha_2$ 受体, 使中枢突触后抑制性 $\alpha_2$ 受体激动, 抑制中枢交感张力性冲动, 起降压作用。本实验目的在于研究可乐定引起的中枢 $\alpha_2$ 受体激动, 是否也是钙离子通道依赖型, 以对可乐定降压作用的机理有更深入的了解。

### MATERIALS AND METHODS

**肾性高血压犬模型制备** 7只杂种犬, 性别不拘。按改良的Page法建立肾性高血压模型。在剥离部份肾周包膜后, 用无菌乳胶分别包裹双肾, 代替双侧肾动脉结扎。肾蒂端固定乳胶。术后注射硫酸庆大霉素(8 IU bid)。待正常进食后, 与8只正常犬一起驯养。术后2-3个月, 即形成稳定的肾性高血压。血压升高值超过正常犬血压 $\bar{x} + 2SD$ , 即被认为已形成肾性高血压模型。

**实验犬侧脑室保留插管** 中枢给药前1wk, 两组犬进行第二次手术, 在颅骨正中线

距枕骨隆突 5 cm 处, 作垂直于颅中线的切口。用牙科钻钻开颅骨硬脑膜, 再用 9 号注射针穿通硬脑膜, 用长 6-7 cm 的 PX 29-01 硬膜外导管(内径 1 mm)向前向内插入 2.5-3 cm。见脑脊液从导管自由溢出, 为导管进入侧脑室标志。用磷酸锌固定粉固定导管于颅骨上, 缝合。堵塞导管外端, 埋入皮下备用。

**直接动脉压测定** 中枢给药前 1 d, 两组犬进行了第 3 次手术。在 0.5%利多卡因局麻下, 经小切口把充盈肝素生理盐水的乳胶导管插入一侧股动脉, 固定, 供次日测定平均动脉压。测压仪器用 M-1000 血流动力学监护仪(Gould, USA)。

**血浆 NE 浓度测定** 血液用肝素和偏重硫酸钠混合抗凝, 迅速在 4℃下分离血浆, -30℃保存, 在 2 wk 内用 LC-304 高压液相色谱仪, LC-4 B 安培型电化学检测器, 内标法测定 NE 含量<sup>(3)</sup>, 内标为二羟苯胺。本实验室用该法测定血浆 NE 的灵敏度为 25 pg/ml, 线性范围为 900 pg/ml。在血浆 NE 浓度超过 900 pg/ml 时, 稀释血样, 重复测定。批内变异 8.1%, 批间变异 15.1%。回收率 72%。

**实验步骤** 犬饱食后, 在清醒状态下静卧 30 min, 然后每隔 5 min 记录安静状态下的 MAP, HR, 求 6 次  $\bar{x} \pm SD$  为基础值。icv 生理盐水 0.02 ml/kg。观察 15 min 的 MAP, HR。即经动脉导管取血 5 ml, 测定药前血浆 NE。可乐定用生理盐水稀释, 按 0.05, 0.1, 0.5, 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 4 个剂量依次 icv, 容量各为 0.5 ml。每个剂量相隔时间如下: 第 1 次与第 2 次之间为 1 h, 第 2 次与第 3 次之间为 2 h, 第 3 次与第 4 次之间亦为 2 h。保证下次注射时 MAP 恢复到基础状态。以 MAP 及 HR 下降最低值为准, 制出可乐定对清醒高血压犬及正常犬 MAP, HR 的量-效曲线。可乐定最大剂量 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  icv 后 MAP 降到最低值时, 测定药后的血浆 NE 值。在最后一剂的可乐定注射后 2 h, MAP 恢复到基础值时, icv 尼卡地平 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 20 min 后测定 MAP,

HR。然后再重复上述可乐定 4 个剂量, 方法与步骤同前。每一剂量前 3 min, 都预先给尼卡地平 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。由于整个实验时间较长, 在用尼卡地平前, 再次饲食, 让犬稍事活动, 再做尼卡地平加可乐定的实验。

可乐定针剂由桂林第二制药厂生产。临用前, 用无菌生理盐水稀释, 配成上述 4 个剂量。尼卡地平由张家口东风制药厂生产, 避光称取 50 mg, 加入 25%山梨醇 20 ml, 先加热溶解, 再用生理盐水稀释到 100 ml。

**统计方法** 用药前后 MAP, HR 及血浆 NE 含量变化, 用自身对照配对 *t* 检验, 可乐定 icv 后两组的 MAP, HR, NE 下降幅度比较, 用两样本均数 *t* 检验, MAP, HR, NE 下降幅度之间关系用相关分析。所有观察数据均以  $\bar{x} \pm SD$  表示。

## RESULTS

**高血压犬与正常血压犬药前各指标比较** 双肾乳胶包埋术后 2-3 个月的高血压犬 MAP ( $n=7$ )及血浆 NE 含量 ( $n=6$ ) 分别为  $19.9 \pm 1.8 \text{ kPa}$  ( $149 \pm 14 \text{ mm Hg}$ ),  $1444 \pm 628 \text{ pg/ml}$ 。正常血压犬 MAP 及血浆 NE 含量 ( $n=8$ ) 分别为  $15.1 \pm 0.76 \text{ kPa}$  ( $113 \pm 14 \text{ mm Hg}$ ),  $819 \pm 95 \text{ pg/ml}$ 。高血压组 MAP 及血浆 NE 水平在药前明显高于正常组。P 值分别为  $P < 0.01$  和  $P < 0.02$ 。两组药前 HR 分别为  $139 \pm 33$  与  $121 \pm 24 \text{ bpm}$ , 无明显差别。

**各剂量可乐定 icv 后, 高血压犬与正常犬 MAP 及 HR 反应比较** 两组犬 icv 生理盐水 0.02 ml/kg, 未见 MAP 及 HR 有明显变化。可乐定按 0.05, 0.1, 0.5, 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 4 个剂量依次 icv 后, 两组 MAP 及 HR 都有明显下降, 但高血压的 MAP 下降幅度较正常血压组大(Fig 1 A), 其中在 0.1 和 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  两个剂量差别显著。两组之间 HR 下降幅度未见差异。在可乐定 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  icv 后, 两组血浆 NE 均有明显下降, 高血压组与正常血压组 NE 分

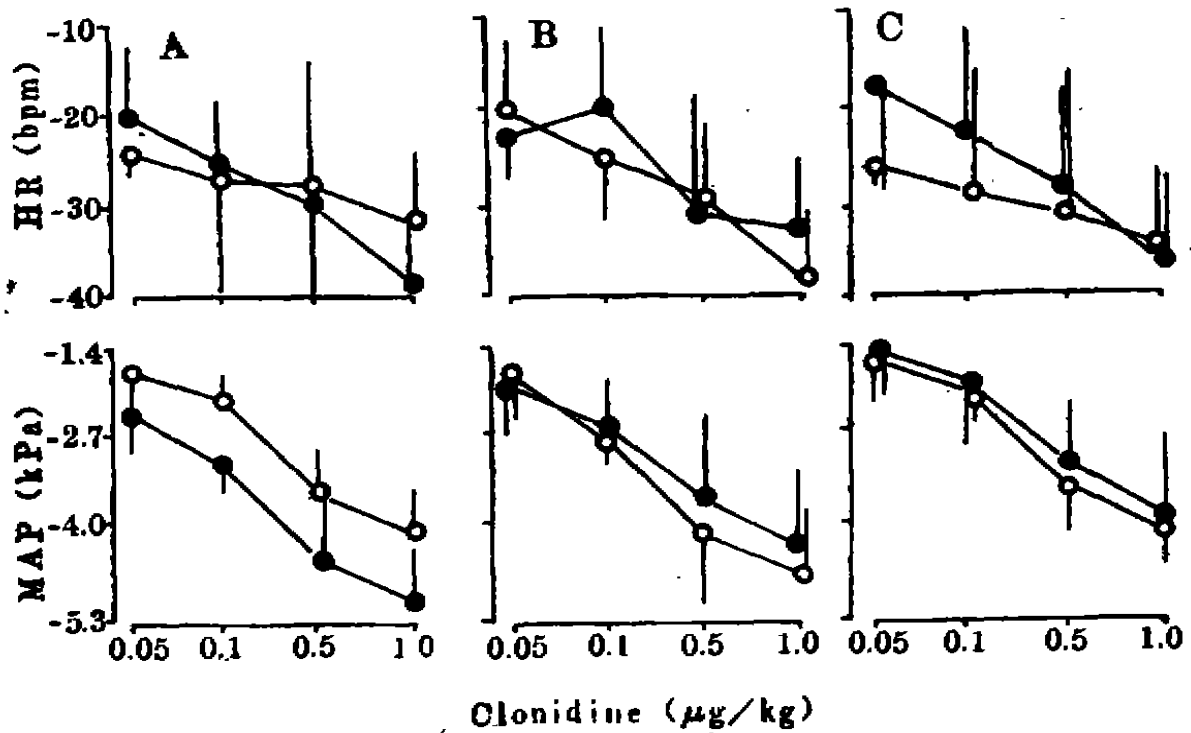


Fig 1. Effects of icv clonidine on mean arterial pressure(MAP) and heart rate (HR) in conscious dogs. (A) in normotensive (○) and chronic renovascular hypertensive (●) dogs. Pretreated with nicardipine (10 μg/kg) (●) and control (○) in (B) hypertensive dogs and (C) normotensive dogs.  $n=7$ ,  $\bar{x} \pm SD$ .

别降为  $955 \pm 179$ ,  $671 \pm 133$  pg/ml, 两组间无明显差别。

**尼卡地平预处理后对可乐定血压、心率量-效曲线的影响** icv 山梨醇-生理盐水溶剂  $0.02$  ml/kg 对 MAP, HR 无明显影响。尼卡地平溶液  $10$  μg/kg icv 后 20 min, 正常血压组 8 例中 7 犬出现 MAP 升高, HR 加速 ( $\Delta$ MAP =  $2.1 \pm 0.6$  kPa,  $P < 0.01$ ;  $\Delta$ HR =  $29 \pm 8$  bpm,  $P < 0.001$ ), 6 例高血压犬中, 有 5 犬 MAP 及 HR 明显增加, ( $\Delta$ MAP =  $2.0 \pm 0.7$  kPa,  $P < 0.002$ ;  $\Delta$ HR =  $28 \pm 9$  bpm,  $P < 0.05$ )。经尼卡地平预处理的犬, 可乐定 MAP 与 HR 量-效曲线都与未处理前相同 (Fig 1 B,C)。

可乐定 icv, 高血压组与正常血压组 MAP 下降幅度与本组的血浆 NE 下降幅度明显相关, 与本组的 HR 下降幅度也有明显相关。高血压组  $r = 0.96$ , 正常血压组  $r = 0.92$  ( $P < 0.01$ )。

## DISCUSSION

已有实验证明可乐定作用于延髓孤束核、迷走核、侧网状核等<sup>(4)</sup>, 使在这些核内的  $\alpha_2$  受体兴奋, 抑制中枢交感冲动释放, 使肾素-血管紧张素释放减少, 周围血管扩张, 血压下降, 心率减慢, 血浆 NE 下降<sup>(6,8)</sup>。用 [<sup>3</sup>H] 可乐定放射自显影显示这些核内的  $\alpha_2$  受体与可乐定结合良好。可乐定对  $\alpha_2$  受体亲和力较对  $\alpha_1$  受体大 100 倍。 $\alpha_2$  受体阻断剂如育亨宾, rauwolscine 等能对抗可乐定的降压作用。而  $\alpha_1$  受体阻断剂如哌唑嗪等无效。这些都证明可乐定是通过中枢神经内  $\alpha_2$  受体起作用。

本实验表明, 同一剂量的可乐定 icv 后, 高血压犬的 MAP 下降幅度较正常血压组大。在人身上也有类似的发现, 但高血压患者与正常人的其他可乐定的中枢作用, 如: 嗜睡、口腔干燥感却未见差别<sup>(7)</sup>。因此学者们推论高血

压患者中枢神经  $\alpha_2$  受体的数目以及对激动剂的亲和力无变化, 只是敏感性增加了。这一观点后来得到许多研究实验的证实<sup>(8,9)</sup>。

钙离子阻断剂中枢作用的心血管效应, 最近才受到重视。尼卡地平 icv 使麻醉动物 MAP, HR 增加, 胍乙啶能阻断这一效应<sup>(10,11)</sup>。在清醒犬, 尼卡地平 icv 可增加血压, 对 HR 无影响。神经节阻断剂 chlorisondamine 处理后, 该效应消失。以上观察证明钙离子阻断剂的中枢作用所引起的心血管效应与交感神经兴奋有关。但迄今为止尚无钙离子阻断剂对高血压犬在清醒状态下对可乐定降压效应的报道。本文首次在国内建立了清醒高血压犬中枢给药的实验, 实验证明尼卡地平预处理后, 可乐定对清醒高血压犬与正常犬的降压的量-效曲线, 与未用尼卡地平预处理者完全相同。提示: 中枢  $\alpha_2$  受体的激动过程可能与周围器官的突触后  $\alpha_2$  受体的激动过程不同。双氢吡啶类的钙离子通道阻断剂不能抑制可乐定的降压效应。

#### REFERENCES

- 1 Langer SZ, Massingham R, Shepperson NB. Presence of postsynaptic  $\alpha_2$ -adrenoreceptors of predominantly extrasynaptic location in the vascular smooth muscle of the dog hind limb. *Clin Sci (Suppl)* 1980; 59 : 225 s
- 2 Sullivan PA, De Quattro V, Foti A, Curzon G. Effects of clonidine on central and peripheral nerve tone in primary hypertension. *Hypertension* 1986; 8 : 611
- 3 Davis GC, Kissinger PT, Shoup RE. Strategies for determination of serum or plasma norepinephrine by reverse-phase liquid chromatography. *Anal Chem* 1981; 53 : 156
- 4 Sharma JN, Sandrew BB, Wang SC. CNS site of clonidine induced hypotension: a microiontophoretic study of bulbar cardiovascular neurons. *Brain Res* 1978; 151 : 127
- 5 Timmermans PBMWM, Schoop AMC, Kwa HY, Van Zwieten PA. Characterization of  $\alpha$ -adrenoreceptors participating in the central hypotensive and sedative effects of clonidine using yohimbine, rauwolscine and corynanthine. *Eur J Pharmacol* 1981; 70 : 7
- 6 Houston MC. Clonidine hydrochloride: Review of pharmacologic and clinical aspects. *Prog Cardiovasc Dis* 1981; 23 : 337
- 7 Wing LMH, Reid JL, Davies DS, Neill AM, Tippett P, Dollery CT. Pharmacokinetic and concentration-effect relationships of clonidine in essential hypertension. *Eur J Clin Pharmacol* 1977; 12 : 463
- 8 Reid JL. Alpha-adrenergic receptors and blood pressure control. *Am J Cardiol* 1986; 57 : 6 E
- 9 Augustine SJ, Tachikawa S, Lokhandwala MF, Buckley JP. Central  $\alpha$ -adrenergic control of blood pressure. Effects clonidine withdrawal. *Chest* 1983; 83 (2 Suppl) : 328
- 10 Chelly J, Montastruc J-L, Doursout M-F, Dang-Trang L, Hysing E, Montastruc P. Blockade of central calcium channels induces hypertension in dogs. *Hypertension* 1986; 8 : (4 Suppl) : I-66
- 11 Imai Y, Abe K, Sasaki S, et al. The mechanism of centrally mediated cardiovascular actions of the three structurally different calcium antagonists, verapamil, diltiazem and nifedipine, in rats. *Tohoku J Exp Med* 1987; 151 : 85