

可乐定对豚鼠腹腔神经节突触传递的阻抑作用¹

邵庆兰、欧 玲、黄振信、吴瑞林、马如纯 (安徽医科大学生理教研室, 合肥 230022)

摘要 应用细胞内记录技术, 观察到可乐定对豚鼠腹腔神经节的N型胆碱能突触传递具有明显的阻抑作用。这种阻抑作用可为育亨宾可逆地阻断, 但不受哌唑嗪与普萘洛尔的影响。鉴于可乐定在阻抑突触传递的同时也能使乙酰胆碱(ACh)电位明显减小, 提示其阻抑作用与突触后机理有关。

关键词 交感神经节; 突触; 可乐定; 育亨宾; 哌唑嗪; 普萘洛尔

可乐定是一种中枢降压药^(1,2)。据报道, 它可使大鼠颈上交感神经节细胞产生超极化反应^(3,4), 使豚鼠腹腔神经节细胞分别产生超极化反应、去极化反应或先去极化、后超极化的双相反应⁽⁵⁾。在大鼠颈上交感神经节上, 可乐定还可使由电刺激节前神经诱发的节后神经干复合动作电位的幅度明显减小, 提示它对神经节的突触传递可能有阻抑作用^(4,6,7)。本工作系应用细胞内记录技术, 观察可乐定对豚鼠腹腔神经节N型胆碱能突触传递的影响, 以期进一步阐明可乐定降压作用与交感神经节的联系。

材 料 和 方 法

豚鼠♀♂兼用, 体重 $235 \pm SD 43$ g ($n = 31$)。击脑致昏, 颈部放血处死。取腹腔神经-肠系膜上神经丛, 移入 $35 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 浴槽内, 用 $95\% \text{O}_2 + 5\% \text{CO}_2$ 饱和的 Krebs 液灌流 ($3-5$ ml/min)。溶液 pH 为 7.40 ± 0.05 。鉴于本实验系观察可乐定对N型胆碱能突触传递的作用, 为消除ACh的M样作用, 灌流液中加阿托品 ($1 \mu\text{mol/L}$)。

将内充 KCl 溶液 (3 mol/L)、尖端阻抗为 $30-60 \text{ m}\Omega$ 的玻璃微电极固定在微电极操纵仪 (MP-1, Narishige) 上, 在解剖镜下确定穿刺细胞的部位, 并将微电极刺入细胞。由三通道刺激器通过隔离器 (SS-8301, 南通) 提供方波电流, 输入微电极放大器 (MEZ-8201, Nihon Kohden) 并经玻璃微电极向细胞内注射跨膜电流。借吸引电极刺激左内脏大、小神经以获得突触反应。生物电信号经微电极放大器放大后, 分别输入双线示波器 (SBR-1 型, 汕头) 和二道生理记录仪 (LMS-2 B, 成都) 进行监测并记录。示波屏上的图象用示波器照相机 (SB 408, 上海) 摄片⁽⁸⁾。

1987年11月30日收稿 1988年3月29日接受

¹ 国家自然科学基金资助项目 No 854345

内脏神经是一支混合神经,兼有传向神经节及从神经节发出的纤维。当单个方波电流(波宽 1 ms, 强度 6-12 V)刺激神经时,既可能从细胞内记录到 N 型胆碱能快兴奋性突触后电位(f-EPSP)及在它基础上产生的顺向动作电位⁽⁹⁾,也可能记录到逆向动作电位。本实验系观察可乐定对突触传递的影响,故用碰撞试验⁽¹⁰⁾鉴别电刺激内脏神经引起的动作电位的性质。若电刺激内脏神经时记录不到 f-EPSP 或顺向动作电位,则该细胞予以摒弃。

盐酸可乐定标准品购自卫生部药品生物制品检定所。盐酸育亨宾、盐酸哌唑嗪、盐酸普萘洛尔、硫酸阿托品、氯化 ACh 均购自 Sigma 公司。

结 果

可乐定对 N 型胆碱能突触传递的阻抑作用 用阈下 0.1 Hz 的方波电流连续刺激内脏神经以引起 f-EPSP,其幅度为 16 ± 10 mV, 时程为 33 ± 21 ms ($n=13$)。随后用可乐定 ($10 \mu\text{mol/L}$) 灌注神经节 5-10 min, f-EPSP 明显被阻抑,其幅度减为 3 ± 4 mV ($p < 0.001$), 时程减为 11 ± 17 ms ($p < 0.001$); 用阈上 0.1 Hz 的方波电流刺激内脏神经以引起顺向动作电位,随后灌注可乐定 ($10 \mu\text{mol/L}$) 5-10 min, 顺向动作电位均被阻抑 ($n=24$)。若可乐定的浓度为 1 或 $0.1 \mu\text{mol/L}$ 时,则需延长灌注时间始能阻抑顺向动作电位 ($n=10$)。当可乐定浓度为 $0.01 \mu\text{mol/L}$ 时,需灌注 29 ± 27 min ($n=5$) 才开始显示对顺向动作电位的阻抑作用。为了使可乐定的阻抑作用较快出现,以下实验均用 $10 \mu\text{mol/L}$ 灌注神经节。

可乐定阻抑 N 型胆碱能突触传递的介导受体 在 9 个细胞上获得稳定的 f-EPSP 或顺向动作电位记录后,用可乐定溶液灌注神经节 5-10 min。待 f-EPSP 或顺向动作电位出现阻抑后,随即用 Krebs 液灌洗直至恢复。接着用育亨宾 ($10 \mu\text{mol/L}$) 灌注神经节 10 min 未显示任何作用。继而用育亨宾与可乐定混合溶液同时

灌注神经节 10 min, 则不再出现可乐定对 f-EPSP 或顺向动作电位的阻抑,表明育亨宾可以阻断可乐定对 N 型胆碱能突触传递的阻抑作用。在另 7 个细胞上按同样的步骤观察了哌唑嗪 ($10 \mu\text{mol/L}$) 及普萘洛尔 ($10 \mu\text{mol/L}$) 的作用,结果表明这两种阻断剂对可乐定阻抑 N 型胆碱能突触传递的作用无影响(图 1)。

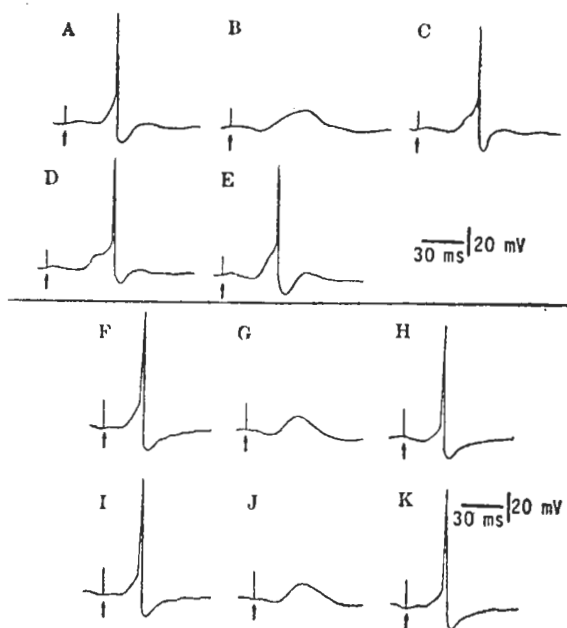


Fig 1. Clonidine inhibition effect on f-EPSP was blocked by yohimbine, but was not affected by prazosin and propranolol. A) and F) Control. B) and G) Clonidine ($10 \mu\text{mol/L}$) 10 min. C) and H) Wash 10 min. D) Yohimbine ($10 \mu\text{mol/L}$) 10 min. E) Clonidine and yohimbine 10 min. I) Prazosin ($10 \mu\text{mol/L}$) and propranolol ($10 \mu\text{mol/L}$) 10 min. J) Clonidine, prazosin and propranolol 10 min. K) Wash 10 min. (\uparrow) Stimulation of the splanchnic nerve.

可乐定阻抑 N 型胆碱能突触传递的突触后机理 用阈上 0.1 Hz 的方波电流连续刺激内脏神经并引起稳定的顺向动作电位后,用 ACh (1mmol/L) 灌注神经节 10 s, 以引起 ACh 电位 ($n=10$), 其幅度为 10 ± 7 mV, 持续 3.4 ± 1.1 min。随后用可乐定 ($10 \mu\text{mol/L}$) 灌注神经节 10 min, 在顺向动作电位被可乐定阻抑的同时, ACh 电位亦明显减小(图 2),

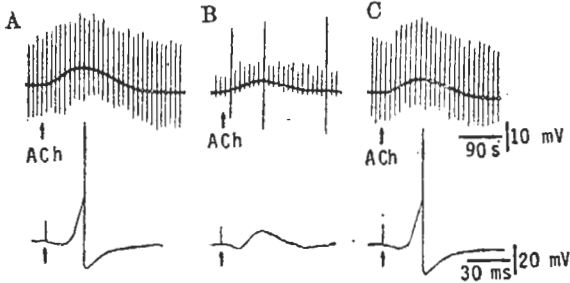


Fig 2. Post-synaptic mechanism of clonidine inhibition effect on synaptic transmission. A) Control. B) Clonidine (10 $\mu\text{mol/L}$) 10 min. C) Wash 10 min. Upper: Large vertical deflexions in the figure recorded on a pen recorder indicate orthodromic action potentials. Their amplitude was attenuated because of the limited frequency response of the pen recorder. Lower: The synchronous recordings from the same cell on an oscilloscope.

其幅度减为 $5.0 \pm 2.8 \text{ mV}$ ($p < 0.01$), 持续时间减为 $2.4 \pm 0.8 \text{ min}$ ($p < 0.05$)。说明可乐定对 N 型胆碱能突触传递的阻抑作用与突触后膜受体对 ACh 的敏感性降低有关。

讨 论

可乐定的临床剂量为 75–150 $\mu\text{g tid}$, 其血浆浓度为 0.2–2 ng/ml (相当于 1–10 nmol/L)⁽¹¹⁾。实验表明, 用可乐定 (0.01 $\mu\text{mol/L}$) 灌注 29 min 即可使顺向动作电位发生可逆性阻抑。提示在临床用药的情况下, 可乐定对交感神经节突触传递过程已具有一定程度的阻抑作用, 这一作用可能是可乐定降压机理的一个组成部份。可乐定对突触传递的阻抑作用可为育亨宾阻断, 但不受哌唑啉及普萘洛尔的影响, 说明 α_2 肾上腺素能受体是可乐定阻抑 N 型胆碱能突触传递的介导受体, 与 Medgett 的报道⁽⁶⁾ 一致。

可乐定阻抑 N 型胆碱能突触传递的机理可能有二: 一是可乐定作用于突触后膜, 使后膜 ACh 受体的数量减少或使受体对 ACh 的敏感性降低, 从而使突触传递阻抑。鉴于可乐定在阻抑顺向动作电位的同时, 确能使 ACh 电位明

显减小, 提示突触后机理是可乐定阻抑突触传递的部分机理; 另一种可能是可乐定抑制突触前神经末梢释放 ACh, 从而导致突触传递阻抑。鉴于可乐定的阻抑作用通过 α_2 受体介导, 而 α_2 受体也存在于交感神经节的胆碱能突触前神经末梢⁽¹²⁾, 设想可乐定通过激活突触前 α_2 受体而使 ACh 释放减少的可能性是存在的, 这一问题正在探讨中。

致谢 齐佩文、江智俊、黄瑛同志参加部分技术工作。

参 考 文 献

- 1 连其深. 可乐宁的药理作用及其临床应用. 生理科学进展 1983; 14: 172
- 2 关永沅、马传庚、徐叔云. 可乐定中枢降压作用与中枢胆碱能神经系统的关系. 药理学报 1982; 17: 815
- 3 Brown DA, Caulfield MP. Hyperpolarizing ' α_2 '-adrenoceptors in rat sympathetic ganglia. *Br J Pharmacol* 1979; 65: 435
- 4 Medgett IC. Modulation of transmission in rat sympathetic ganglia by activation of presynaptic α - and β -adrenoceptors. *Ibid* 1983; 78: 17
- 5 马如纯、吴瑞林、董以键. 可乐定对豚鼠腹腔神经节细胞膜特性的作用. 中国药理学通报 1987; 3: 270
- 6 Medgett IC. An analysis of the effects of clonidine and three structural isomers on transmission in rat superior cervical ganglia *in vitro*. *Neuropharmacology* 1985; 24: 381
- 7 Medgett IC. Effects of clonidine-like imidazolidines on transmission in rat isolated superior cervical ganglion. *Br J Pharmacol* 1982; 76: 298 p
- 8 吴瑞林、黄振信、邵庆兰、马如纯、董以键. 豚鼠腹腔神经节的细胞内生物电记录. 安徽医科大学学报 1986; 21: 81
- 9 Dun N, Nishi S. Effects of dopamime on the superior cervical ganglion of the rabbit. *J Physiol (Lond)* 1974; 239: 155
- 10 Purves D. Functional and structural changes in mammalian sympathetic neurones following interruption of their axons. *Ibid* 1975; 252: 429
- 11 Lilja M, Jounela AJ, Juustila HJ, Paalzow L. Abrupt and gradual change from clonidine to beta blockers in hypertension. *Acta Med*

Scand 1982; 211 : 375
 12 Brown DA, Caulfield MP. Adrenoceptors in
 ganglia. In: Kunos G, ed. *Adrenoceptors and*

catecholamine action. NY: Wiley, 1981 : 99-
 116

Acta Pharmacologica Sinica 1988 Sep; 9 (5) : 388-391

Clonidine inhibition effect on synaptic transmission of guinea pig celiac ganglia¹

SHAO Qing-Lan, OU Lin, HUANG Zhen-Xin, WU Rui-Ling, MA Ru-Chun
 (Department of Physiology, Anhui Medical University, Hefei 230022)

ABSTRACT After superfusion of the celiac ganglia with clonidine (0.01-10 $\mu\text{mol/L}$), the N type-cholinergic transmission was reversibly depressed. This effect was blocked by yohimbine (10 $\mu\text{mol/L}$), but was not affected by prazosin (10 $\mu\text{mol/L}$) and propranolol (10 $\mu\text{mol/L}$) respectively. It is indicated that clonidine inhibition effect on synaptic transmission is mediated by α_2 -adrenoceptors. Since ACh potentials decreased when synaptic transmission was depressed

by clonidine, clonidine inhibition effect on synaptic transmission is partially related to post-synaptic mechanism.

KEY WORDS sympathetic ganglia; synaptic transmission; clonidine; yohimbine; prazosin; propranolol

¹Project supported by National Natural Science Foundation of China. No 854345