

- shift caused by adenosine in rabbit SA node.
Pfluegers Arch 1985; 403 : 66-74.
- 4 West GA, Belardinelli L. Correlation of sinus slowing and hyperpolarization caused by adenosine in sinus node.
Pfluegers Arch 1985; 403 : 75-81. 414-417
- 5 Szentmiklosi AJ, Nemeth M, Szegi J, Papp JG, Szekeres L. Effect of adenosine on sinoatrial and ventricular automaticity of the guinea pig. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1980; 311 : 147-9.
- 6 Kirsch GE, Codina J, Birnbaumer L, Brown AM. Coupling of ATP-sensitive K^+ channels to A_1 receptors by G proteins in rat ventricular myocytes. A
Am J Physiol 1990; 259 : H800-6.
- 7 Bellomi FL, Hintze TH. Glibenclamide attenuates adenosine-induced bradycardia and coronary vasodilatation.
Am J Physiol 1991; 261 : H720-7.
- 8 Li YL, He RR. Effects of 8-phenyltheophylline and glibenclamide on cardiovascular responses to adenosine and $[-N^6\text{-}(phenylisopropyl)]$ adenosine in anesthetized rats. *Chin J Physiol Sci* 1993 ; in press.
- 9 Ashcroft FM. Adenosine 5'-triphosphate-sensitive potassium channels.
Annu Rev Neurosci 1988; 11 : 97-118.

10 Sturgess NC, Ashford MIJ, Cook DL, Hales CN. The sulphonylurea receptor may be an ATP-sensitive potassium channel. *Lancet* 1985; 2 : 474-5. (8)

环戊腺苷和苯基异丙基腺苷对豚鼠窦房结起搏细胞的电生理效应

李玉龙, 何瑞荣 (河北医学院基础医学研究所生理室, 石家庄050017, 中国)

R 965. 2

摘要 利用细胞内微电极技术, 观察环戊腺苷(CPA)和苯基异丙基腺苷(R-PIA)对豚鼠窦房结起搏细胞电活动的影响。CPA和R-PIA不仅能增加豚鼠窦房结起搏细胞APA、MDP和 V_{max} , 且能减小VDD、RPF和 APD_{90} 。8-苯茶碱和格列苯脲能明显地抑制环戊腺苷的电生理效应。本文结果提示环戊腺苷的电生理效应是受体依赖性的和主要由腺苷受体耦联的ATP敏感性钾通道的激活所中介。

关键词 腺苷; 茶碱; 格列苯脲; 嘌呤受体; 钾通道; 窦房结; 电生理学

Q417-420

(9)

吗啡对蟾蜍脊神经节细胞 α -肾上腺素受体敏感性的影响

陈永¹, 王阿敬², 马逸龙³ (同济医科大学, 实验医学研究中心; ³环境医学研究所, 武汉430030, 中国)

Effects of morphine on sensitivities of α -adrenoceptors in toad spinal ganglion neurons

CHEN Yong¹, WANG A-Jing², MA Yi-Long³
(Research Center of Experimental Medicine; ³Institute of Environmental Medicine, Tongji Medical University, Wuhan 430030, China)

ABSTRACT Intracellular recordings were performed on 35 neurons from 35 isolated toad spinal ganglia (SG) and the extracellular free calcium ion activities

Received 1992-05-13 Accepted 1993-01-04

¹ Now in Institute of Liver Diseases, Affiliated Hospital, Hubei College of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430061, China.

² To whom correspondence should be addressed.

were measured in another 26 isolated toad SG by Ca^{2+} -selective microelectrodes. The effects of morphine on the sensitivities of α -adrenoceptors were observed. It was found that depolarization of membrane potential induced by norepinephrine (NE 10-100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) or α_1 -adrenoceptor agonist phenylephrine (100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) was depressed by morphine (27 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). Superfusing SG with opioid receptor antagonist naloxone (100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) blocked the depressing effect of morphine on NE-induced depolarization. The depressing effect of morphine on NE-induced depolarization was not affected by superfusing SG with α_2 -adrenoceptor antagonist yohimbine (5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). NE (100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) reduced the extracellular free calcium ion activity while morphine (27 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) increased the extracellular free calcium ion

(注释见后页)

activity in SG. It is concluded that morphine down-regulates the sensitivity of α_1 -adrenoceptor in toad SG neuron mediated by opioid receptor and the variation in Ca^{2+} activity may be involved in this effect.

KEY WORDS spinal ganglia; membrane potentials; morphine; alpha adrenergic receptors; calcium

A 摘要 应用细胞内记录方法及钙离子选择性微电极，在离体蟾蜍脊神经节(SG)观察到：吗啡可抑制去甲肾上腺素(NE)及苯福林引起的膜电位去极化，纳洛酮可阻断吗啡的这一效应。吗啡和NE可分别升高和降低SG细胞外钙离子活度。提示吗啡可能通过影响钙通道的活性而降低 α_1 受体的敏感性。

关键词 脊神经节；膜电位；吗啡；肾上腺素能 α 受体；钙

脑啡肽和其它吗啡类物质对去甲肾上腺素的释放及其生物效应具有抑制作用^[1-2]，脊神经节(spinal ganglion, SG)内有肾上腺素神经存在^[3]。脑啡肽和去甲肾上腺素共存于交感神经中^[4]。本文通过观察吗啡对蟾蜍SG神经细胞 α_1 -肾上腺素受体敏感性的影响，探讨初级感觉信息传入过程中，阿片受体与 α_1 -肾上腺素受体间的相互关系。

MATERIALS AND METHODS

中华大蟾蜍，♀♂不拘，行椎板切除术分离出连有脊神经的第8或第9脊神经节。标本固定于0.25 ml的灌流小室，经微量输液器做表面灌流。灌流任氏液： NaCl 114, KCl 2, CaCl_2 2, Tris 10, glucose 5.6 ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)，充以纯 O_2 , pH 7.4。灌流 $1 - 3 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

用内充 KAc 4 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的玻璃微电极进行细胞内记录，电极电阻 $30 - 50 \text{ M}\Omega$ 。电活动经光电 MEZ-8201 微电极放大器显示于 SBR-1 示波器，并由光电四导生理笔描记录仪进行记录。刺激电极为双极吸引式电极，使其阴极与被吸入的脊神经断端接触。刺激电极阴极与 SG 中点的距离为 10 mm，刺激强度为 2—10 V，波宽 0.1 ms，频率 1 Hz。

Ca^{2+} 选择性微电极内充中性载体 ETH 1001

(Fluka)，经 ISE-1 离子计(上海生理所)与光电四导生理笔描记录仪相接作细胞外 Ca^{2+} 活度的测量。

所用阿片及肾上腺素受体激动剂，采用滴加方式加至灌流小室，每次 0.01 ml，阿片与肾上腺素受体激动剂间的滴加间隔不超过 1 min，其余滴加间隔至少 30 min。浓度按稀释后瞬间最高值计算。试剂有：重酒石酸去甲肾上腺素(norepinephrine, NE, 武汉制药厂)，苯福林(phenylephrine, Phe, 上海第十制药厂)，盐酸吗啡(morphine, Mor, 沈阳制药厂)。以灌流方式给药者有盐酸纳洛酮(naloxone, Sigma)、盐酸育亨宾(yohimbine, Sigma)。

RESULTS

实验用 35 个 SG 标本，记录了 35 个神经细胞，静息膜电位为 $63.5 \pm 1.3 \text{ mV}$ ($n = 35$)。根据电刺激脊神经在 SG 细胞内引导的动作电位潜伏期及刺激电极阴极至 SG 中心点的距离，测得神经元传导速度为 $5 - 11.5 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ ，属 A 类神经元。另用 26 个 SG 标本，进行了细胞外 Ca^{2+} 活度的测定。

细胞膜的 α_1 -肾上腺素受体及阿片受体
在 16 个 SG 神经细胞中，滴加 NE ($10 - 100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 引起膜电位去极化，去极化幅值为 $24 \pm 8 \text{ mV}$ ($n = 16$)。NE 的这一效应可被兴奋 α_1 受体为主的激动剂 Phe ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 所模拟 ($n = 6$)。

在 13 个 SG 神经细胞中，滴加 Mor ($27 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 引起 12 个细胞膜产生超极化反应，占 92%，超极化幅值为 $2.5 \pm 0.8 \text{ mV}$ ($n = 12$)。另有 1 个细胞对 Mor 无反应。预先灌流含 naloxone $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的任氏液，可阻断 Mor 所致的膜电位超极化 ($n = 6$)。

Mor 对 NE 及 Phe 引起膜电位反应的影响
在滴加 NE 前滴加 Mor ($27 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 可使 NE 引起的去极化幅值减少 $18 \pm 8 \text{ mV}$ ($n = 12$)，相当于减少了 75%，与单纯应用 NE 相比，差异非常显著 ($P < 0.01$)。同样，在滴加 Phe 前滴加 Mor，也可使 Phe 引起的去极化幅值减少 75% ($n = 6$) (Fig 1)。

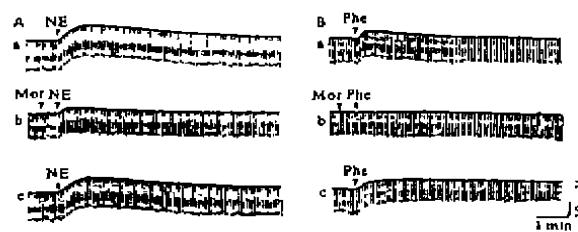


Fig. 1. Effects of morphine on norepinephrine- and phenylephrine-induced depolarization. A: a) NE control, b) morphine $27 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ depressed NE-induced depolarization, c) addition of NE 30 min after washing out morphine. B: a) Phe control, b) morphine $27 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ depressed Phe-induced depolarization, c) addition of Phe 30 min after washing out morphine, in another neuron. Downward vertical tracings denote electrotonic potentials caused by intracellular injection of constant current pulses.

Naloxone 及 yohimbine 对 Mor 抑制 NE 所致膜电位去极化反应的影响 预先用含 naloxone $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的任氏液灌流 SG, 可阻断 Mor 对 NE 所致膜电位去极化的抑制效应 ($n=6$)。而预先灌流含 yohimbine $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的任氏液对 Mor 抑制 NE 所致膜电位去极化效应则无明显影响 ($n=4$) (Fig. 2)。

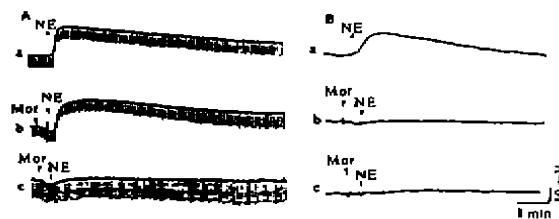


Fig. 2. Actions of naloxone and yohimbine on depressing effect of morphine on NE-induced depolarization. A: a) NE control, b) additions of morphine and NE after superfusing with naloxone $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, c) additions of morphine and NE 30 min after washing out naloxone. B: a) NE control, b) additions of morphine and NE after superfusing with yohimbine $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, c) additions of morphine and NE 30 min after washing out yohimbine, in another neuron.

NE 及 Mor 对 SG 细胞外 Ca^{2+} 活度的影响 应用 Ca^{2+} 选择性微电极, 测得 SG 细胞外 Ca^{2+}

活度对照值为 $1.98 \pm 0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ($n=26$)。当滴加 NE $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 后, SG 细胞外 Ca^{2+} 活度减少 $1.3 \pm 0.3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ($n=16$), 与对照值相比, 差异非常显著 ($P<0.01$)。作为对照, 滴加相同剂量的 NE 于无 SG 的灌流小室, 结果, Ca^{2+} 选择性微电极的电位值无明显变化 (Fig. 3A)。

滴加 Mor ($27 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 后, SG 细胞外 Ca^{2+} 活度增加了 $0.4 \pm 0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ($n=10$) ($P<0.01$)。作为对照, 滴加相同剂量的 Mor 于无 SG 的灌流小室, 结果, Ca^{2+} 选择性微电极的电位值无明显变化 (Fig. 3B)。

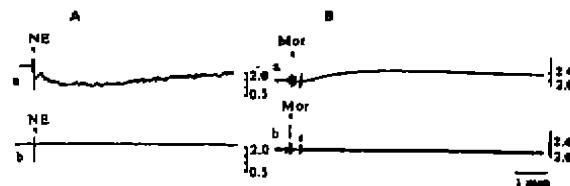


Fig. 3. A: a) Effect of NE $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ on extracellular Ca^{2+} activity ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) in SG. A: b) Addition of NE $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ after removing SG. B: a) Effect of morphine $27 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ on extracellular Ca^{2+} activity ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) in SG. B: b) Addition of morphine $27 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ after removing SG.

DISCUSSION

我室曾报道, 蟾蜍 SG 神经细胞膜存在 α_1 和 α_2 肾上腺素受体, α_1 受体可介导膜电位去极化, α_2 受体可介导膜电位超极化^[5]。本工作表明 NE 可使膜电位去极化, Phe 可以模拟 NE 的这一效应, 与上述报道的结论一致。

猕猴 SG 神经细胞膜上存在阿片受体^[6]。本研究发现 Mor 可引起蟾蜍 SG 神经细胞膜电位超极化, 阿片受体阻断剂 naloxone 可阻断 Mor 的这一效应, 提示蟾蜍 SG 神经细胞膜上可能存在阿片受体。Mor 是典型的 μ 型阿片受体激动剂, naloxone 对 μ 型阿片受体有很强的拮抗作用。因此, 上述的阿片受体可能属于 μ 型阿片受体。

受体间的相互调控问题，近受重视。激活阿片受体可使 N 受体的数目减少^⑦。α-肾上腺素受体密度降低时，脑啡肽受体密度也降低^⑧。阻断 5-HT₂受体后可使 α₂受体致敏^⑨。本文观察到 Mor 可逆地抑制 NE 及 Phe 引起的去极化反应，预先灌流 naloxone 可阻断 Mor 对 NE 所致去极化的抑制效应，表明 Mor 可降低 α₁受体的敏感性，提示在初级感觉信息传入过程中，SG 神经细胞膜上的阿片受体对 α₁受体具有一定的调控作用。灌流 α₂受体阻断剂 yohimbine 对 Mor 抑制 NE 所致去极化效应无明显影响，排除了 Mor 通过增加 α₂受体敏感性而抑制 NE 所致去极化的可能性。

Mor 可抑制突触体对 Ca²⁺的摄取^⑩。本实验观察到 Mor 可使 SG 细胞外的 Ca²⁺活度升高，提示 Mor 可能有抑制 Ca²⁺内流的作用。此外，本实验观察到 NE 可使 SG 细胞外 Ca²⁺活度降低，联系我室以往用钙通道阻断剂灌流 SG 后，使 NE 引起的去极化反应幅值减少的事实^⑪，可认为 NE 引起膜电位的去极化与 Ca²⁺内流增加有关。上述结果提示，SG 神经细胞膜钙通道活性的改变参与了 α₁受体介导的膜电位去极化反应，Mor 可能通过抑制 Ca²⁺内流降低 α₁受体的敏感性。

REFERENCES

- 1 Henderson G, Hughes J, Kosterlitz HW. The effects of morphine on the release of noradrenaline from the cat isolated nictitating membrane and the guinea-pig ileum myenteric plexus-longitudinal muscle preparation. *Br J Pharmacol* 1975; **53**: 505-12.
- 2 Knoll J, Illes P, Medzihradsky K. The action of enkephalins and enkephalin analogues on neurotransmission in the isolated nictitating membrane of the cat. *J Pharm Pharmacol* 1978; **30**: 394-5.
- 3 Ru LQ, Yin GF, Lin CY, Ai MK. Fluorescence histochemical observations on the sympathetic nerves in spinal ganglia of rat. *Acta Acad Med Wuhan* 1985; **5**: 5-9.
- 4 Wilson SP, Klein RL, Chang KJ, Gasparis MS, Viveros OH, Yang WH. Are opioid peptides co-transmitters in noradrenergic vesicles of sympathetic nerves? *Nature* 1980; **288**: 707-9.
- 5 Li ZW, Wang AJ, Leng M, Yan XP. Actions of noradrenaline on alpha-adrenergic receptors of toad dorsal root ganglion neurones. *Acta Physiol Sin* 1988; **40**: 240-9.
- 6 Ninkovic M, Hunt SP. Opiate and histamine H₁ receptors are present on some substance p-containing dorsal root ganglion cells. *Neurosci Lett* 1985; **53**: 133-7.
- 7 Kumakura K, Karoum F, Guidotti A, Costa E. Modulation of nicotinic receptors by opiate receptor agonists in cultured adrenal chromaffin cells. *Nature* 1980; **283**: 489-92.
- 8 Smantov R, Baran D, Levy R, Nadler H. Enkephalin and α-adrenergic receptor: evidence for both common and differentiable regulatory pathways and down-regulation of the enkephalin receptor. *Life Sci* 1982; **31**: 1323-6.
- 9 Yang J, Bao J, Su DF. Effects of serotonin and norepinephrine on neuronal discharges of the nucleus tractus solitarius in medullary slices. *Acta Pharmacol Sin* 1992; **13**: 42-4.
- 10 Guerrero-Munoz F, Cerreta KV, Guerrero ML, Way EL. Effect of morphine on synaptosomal Ca²⁺ uptake. *J Pharmacol Exp Ther* 1979; **209**: 132-6.
- 11 Wang AJ, Li ZW, Hu MX, Wang SD, Leng M. Ionic mechanism of noradrenaline-induced membrane potential changes of neurons in toad dorsal root ganglion. *Acta Physiol Sin* 1989; **41**: 145-52.

重要通知

为了同国际接轨，本刊从现在起只收英文稿，敬请各位作者协助。

《中国药理学报》