

赛拉嗪对麻醉大鼠海马 CA₁ 区乙酰胆碱含量的影响

丁日高 黄世杰 杨进生

(军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850)

提要 应用乙酰胆碱选择性微电极技术, 观察到小剂量赛拉嗪(2.0 和 6.0 mg · kg⁻¹)可显著增加大鼠海马 CA₁ 区 ACh 的含量, 而大剂量赛拉嗪(10.0 mg · kg⁻¹)及咪唑克生(0.6 mg · kg⁻¹)则作用相反。咪唑克生虽可明显拮抗赛拉嗪的作用, 但海马 CA₁ 区 ACh 的含量仍显著低于正常水平。在去兰斑核的大鼠上, 赛拉嗪(2.0 和 6.0 mg · kg⁻¹)及咪唑克生(0.6 mg · kg⁻¹)分别对海马 CA₁ 区 ACh 的含量具有减少和增加作用, 且咪唑克生拮抗赛拉嗪的作用后, 海马 CA₁ 区 ACh 的含量基本恢复至正常水平。结果提示, 赛拉嗪对麻醉大鼠海马 CA₁ 区 ACh 含量呈双相性影响, 咪唑克生虽能显著拮抗赛拉嗪的作用, 但海马 CA₁ 区 ACh 的含量仍明显低于正常水平, 可能分别与赛拉嗪和咪唑克生降低或提高中枢 NE 能系统的功能有关。

关键词 赛拉嗪; 咪唑克生; 兰斑核; 海马 CA₁ 区; 乙酰胆碱

赛拉嗪(xylazine)具有镇静、镇痛和肌松等作用, 是动物常用的制动剂和麻醉诱导剂⁽¹⁾。研究资料表明, 赛拉嗪的镇静效应由中枢突触前 α₂-受体介导⁽²⁾, 但特异性 α₂-受体拮抗剂育亨宾尚不能完全拮抗赛拉嗪的镇静效应⁽³⁾。4-氨基吡啶(4-aminopyridine)可促进乙酰胆碱(ACh)释放, 明显改善育亨宾的拮抗效果⁽⁴⁾, 提示中枢胆碱能递质系统可能参与赛拉嗪的镇静效应。我们以往的工作提示, 赛拉嗪对胆碱能系统具有抑制性作用⁽⁵⁾。为进一步了解中枢胆碱能系统与赛拉嗪镇静效应的关系, 本文观察了赛拉嗪对麻醉大鼠海马 CA₁ 区 ACh 含量的影响。

材 料 与 方 法

试剂与药品 赛拉嗪(xylazine hydrochloride, xy1), 本所合成。6-羟基多巴胺(6-hydroxydopamine chloride, 6-OH-DA) Fluka 产品。咪唑克生(idazoxan hydrochloride, ida)由董立春提供。氯化乙酰胆碱为本院条件处产品。ACh 敏感性材料购自上海第二医科大学。所有药物均用生理盐水配制, 但在 6-OH-DA 溶液中按 0.2 mg · ml⁻¹加入抗坏血酸。除按文献⁽⁶⁾对大鼠兰斑核(locus coeruleus, LC)进行特异性毁损外, 其余药物 ip。

实验仪器 大鼠脑立体定位仪, 日本 Narishige 科学仪器公司产品。720 型离子计为美国 Orion 公司制造。XWT 台式平衡记录仪, 上海大华仪表厂。

实验方法 Wistar 大鼠, ♂, 体重 290 ± 10 g, ip 乌拉坦 ($1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 麻醉。海马 CA_1 区的定位座标为前囟后 6.3 mm, 正中中线旁 5.4 mm, 顶骨骨面下 5.0 mm⁽⁷⁾。ACh 选择性微电极的制备及记录系统的建立参照文献⁽⁸⁾。ACh 的校正曲线如图 1。因此, 本文直接以 ACh 选择性电位的变化反映海马 CA_1 区 ACh 的含量变化。实验时, 将动物体温维持于 37°C , 术后 40 min 开始观察。实验资料的统计学分析采用单因素 F 检验和 t 检验。

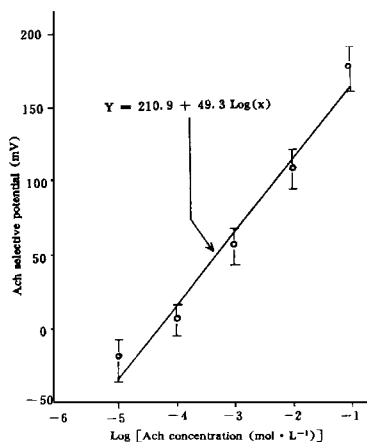


Fig 1 Calibration curve for the acetylcholine selective microelectrode. $\bar{x} \pm s, n=10$.

实验结果

赛拉嗪对正常和去兰斑核大鼠海马 CA_1 区 ACh 含量的影响

赛拉嗪 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 可显著增加大鼠海马 CA_1 区 ACh 的含量, 与对照组比较 $df(1, 10)$, $F=58.1, P<0.01$ 。而赛拉嗪 $6.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 仅在给药初 10~20 min 有增加 ACh 含量作用(与对照组比较 $P<0.01$), 给药 30 min 后则呈减少海马 ACh 含量的趋势。将赛拉嗪的剂量增至 $10.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 可明显减少海马 ACh 的含量, 与对照组比较 $df(1, 10)$, $F=851.8, P<0.01$, 见图 2A。

去兰斑核的大鼠仅观察到赛拉嗪 2.0 和 $6.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 有减少海马 CA_1 区 ACh 含量的作用, 与对照组比较 $df(1, 10)$, $F_{2.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}} = 5.0, P<0.05$, $F_{6.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}} = 72.6, P<0.001$, 见图 2B。

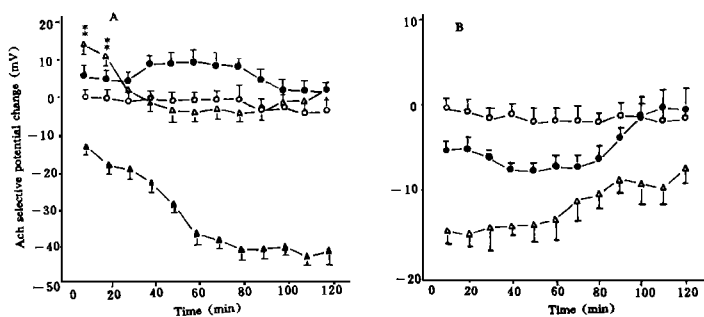


Fig 2 Time course of xylazine (ip) induced acetylcholine selective potential change of the hippocampal CA_1 region in urethane anesthetized normal (A) and locus coeruleus lesioned rats (B). $\bar{x} \pm s, n=6$. ** $P<0.01$ compared with normal saline treated group. —○— Normal saline; —●— Xylazine $2.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; —△— Xylazine $6.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; —▲— Xylazine $10.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

咪唑克生对正常和去兰斑核大鼠海马 CA₁ 区 ACh 含量的影响

α_2 -受体拮抗剂咪唑克生 0.6 mg · kg⁻¹可明显减少正常大鼠海马 CA₁ 区 ACh 的含量,与对照组比较 df(1,10),F=188.7,P<0.001,见图 3A。在去 LC 的大鼠上,咪唑克生则有相反作用,与对照组比较 df(1,10),F=156.1,P<0.001,见图 3B。

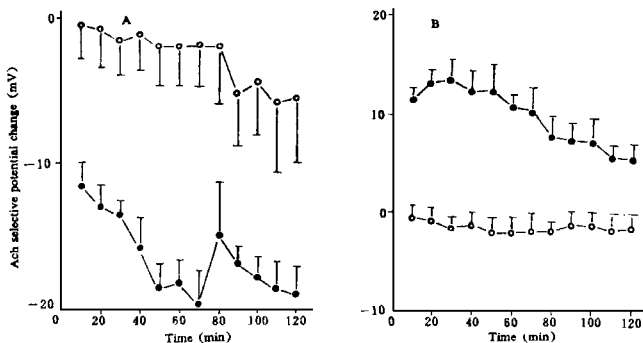


Fig 3 Time course of idazoxan(ip) induced acetylcholine selective potential change of the hippocampal CA₁ region in urethane anesthetized normal (A) and locus coeruleus lesioned rats(B). $\bar{x} \pm s$, n=6. —○— Normal saline; —●— Idazoxan 0.6 mg · kg⁻¹.

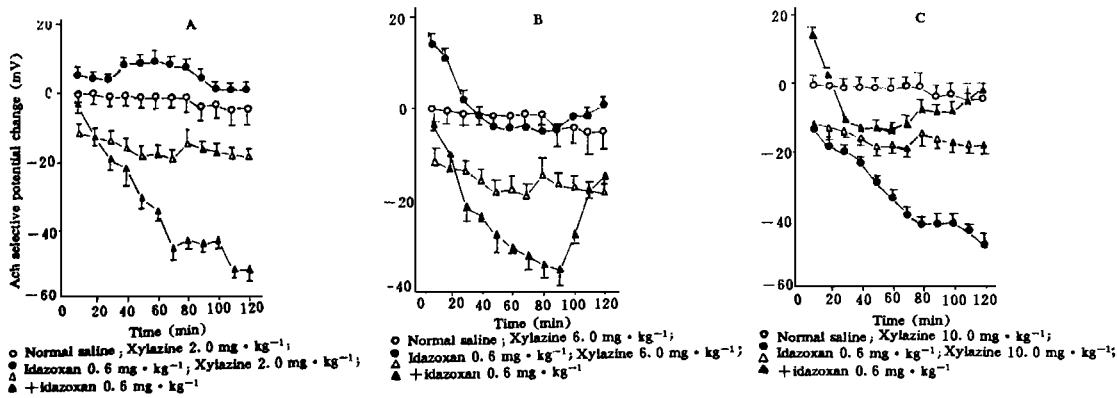


Fig 4 Time course of acetylcholine selective potential change in the hippocampal CA₁ region of urethane anesthetized rats when idazoxan was given (ip) 5 min before xylazine. $\bar{x} \pm s$, n=6.

咪唑克生对赛拉嗪影响麻醉大鼠海马 CA₁ 区 ACh 含量效应的拮抗作用

在正常大鼠上, α_2 -受体拮抗剂咪唑克生 0.6 mg · kg⁻¹虽可显著拮抗赛拉嗪 2.0, 6.0 和 10.0 mg · kg⁻¹影响麻醉大鼠海马 CA₁ 区 ACh 含量的作用。与单用赛拉嗪相应剂量组比较 df(1,10),F_{2.0 mg · kg⁻¹}=4839.3, F_{6.0 mg · kg⁻¹}=3305.9, F_{10.0 mg · kg⁻¹}=1423.7,P<0.001。但其在拮抗赛拉嗪 2.0 和 6.0 mg · kg⁻¹的作用时,海马 CA₁ 区 ACh 的含量明显减少,与单用咪唑克生组比较 df(1,10),F_{2.0 mg · kg⁻¹}=889.1, F_{6.0 mg · kg⁻¹}=61.2,P<0.001。咪唑克生仅对赛拉嗪 10.0 mg · kg⁻¹减少海马 CA₁ 区 ACh 含量的作用有部分拮抗效果,与对照组比较 df(1,10),F=1423.7,P<0.001,见图 4。

在去 LC 的大鼠上,咪唑克生可完全拮抗赛拉嗪 2.0 和 6.0 mg · kg⁻¹减少海马 CA₁ 区 ACh

含量的作用,与对照组比较 $df(1, 10)$, $F_{2.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}} = 17.9, P < 0.01$, $F_{6.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}} = 1.7, P < 0.05$, 见图 5。

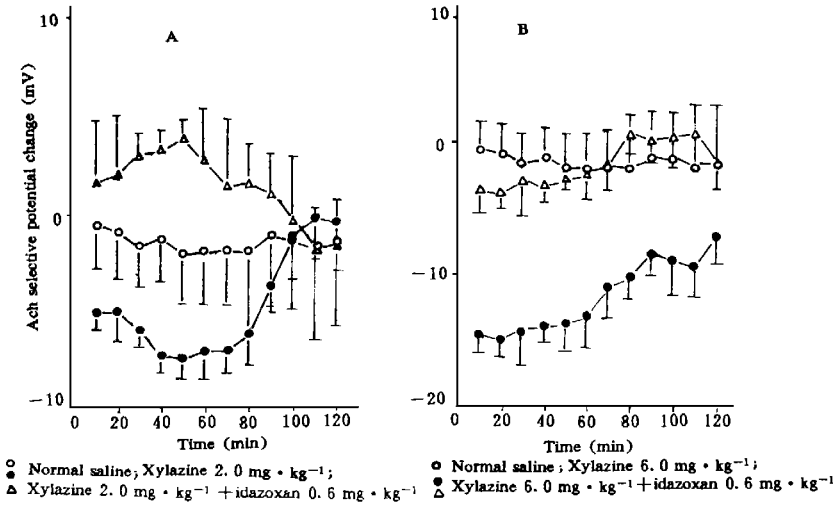


Fig 5 Time course of acetylcholine selective potential change in the hippocampal CA₁ region of urethane anesthetized locus coeruleus lesioned rats when idazoxan was given (ip) 5 min before xylazine. $\bar{x} \pm s$, $n=6$.

讨 论

隔-海马胆碱能通路起自隔内侧核和 Broca 斜束,止于海马结构,在维持动物与人的觉醒及学习记忆功能方面有重要意义。资料表明,赛拉嗪是一个选择性较强的 α_2 -受体激动剂,其镇静效应由突触前 α_2 -受体介导,与抑制交感神经末梢释放 NE 有关⁽²⁾。本实验结果提示,赛拉嗪对海马 CA₁ 区 ACh 的含量呈双相性影响,可能基于以下原因: 1. 部分起自 LC 的中枢 NE 能神经纤维止于隔内侧核及海马结构,并对隔-海马胆碱能通路 ACh 的释放有抑制性调节作用^(9,10),因此,本实验观察到,小剂量赛拉嗪增加海马 CA₁ 区 ACh 含量的作用可为特异性毁损 LC 所取消,很可能与赛拉嗪具有降低中枢 NE 能递质系统的功能,从而解除交感神经 NE 能纤维对隔-海马胆碱能通路的抑制性调节作用有关。2. 用放射性自显影及辣根过氧化物酶逆行技术,均曾观察到隔区和海马分布有大量 α_2 -受体^(9,11)。有资料表明, α_2 -受体激动剂可乐定 (clonidine) 可激活位于胆碱能神经原上的 α_2 -受体,抑制中枢及外周 ACh 的释放⁽¹²⁾,且本文在去 LC 的大鼠上,仅观察到赛拉嗪有减少海马 CA₁ 区 ACh 的含量的作用,均提示大剂量赛拉嗪减少海马 CA₁ 区 ACh 含量的作用,可能与其直接激活位于隔区和海马的 α_2 -受体有关。

α_2 -受体拮抗剂育亨宾和咪唑克生,可阻断 NE 能神经的突触前 α_2 -受体负反馈作用,促进交感神经释放 NE⁽¹³⁾。因此,我们的实验结果显示,在正常和去 LC 的大鼠,咪唑克生分别对海马 CA₁ 区 ACh 的含量有减少和增加作用,及特异性毁损 LC 可取消咪唑克生拮抗赛拉嗪 2.0 和 6.0 mg · kg⁻¹ 的作用时,海马 CA₁ 区 ACh 的含量减少,很可能与咪唑克生促进交感神经释放 NE,增强中枢 NE 能递质系统的功能有关。

总之,我们的研究表明,赛拉嗪对麻醉大鼠海马 CA₁ 区 ACh 含量呈双相性影响,咪唑克生虽能显著拮抗赛拉嗪的作用,但海马 CA₁ 区 ACh 的含量仍明显低于正常水平,可能分别

与赛拉嗪和咪唑克生可降低或提高中枢 NE 能系统的功能有关。

参 考 文 献

- 1 Booth NH. Nonnarcotic analgesics. In: Booth NH, McDonald LE, eds, *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 5th ed. Iowa State University Press, 1982 : 297.
- 2 Colpaert FC. Effect of putative α -adrenergic antagonists and other compounds on the loss of righting reflex and on exophthalmia induced by xylazine in the rat. *Drug Dev Res* 1986;7 : 125.
- 3 Hatch RC, et al. Antagonism of xylazine sedation with yohimbine, 4-aminopyridine and doxapram in dogs. *Am J Vet Res* 1985;46 : 371.
- 4 Cronin MF, et al. Acepramazine-xylazine combination in dogs; antagonism with 4-aminopyridine and yohimbine. *Ibid* 1983;44 : 2037.
- 5 丁日高,等. 拟胆碱药物对赛拉嗪镇静效应的拮抗作用. *药 学 学 报* 1993;28 : 172.
- 6 Nassif-Caudarella S, et al. Clonidine induced sedation is not modified by single or combined chemical lesion of the locus ceruleus, the median and dorsal raphe nuclei. *Pharmacol Biochem Behav* 1986;25 : 1211.
- 7 Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 2nd. Academic Press, 1986 : Figure 43.
- 8 成柏华,等. 应用乙酰胆碱微电极对针刺影响皮层急性脑缺血后乙酰胆碱含量变化的初步观察. 见:成柏华,陈执中主编. *生物传感器技术及其应用*. 上海:华东化工学院出版社,1991 : 40~42.
- 9 Segal M, Landis SC. Afferents to the septal area of the rat studied with the method of retrograde axonal transport of horse-radish peroxidase. *Brain Res* 1974;82 : 263.
- 10 Segal M, Bloom FE. The action of norepinephrine in the rat hippocampus; II. Activation of the input system. *Ibid* 1974;72 : 99.
- 11 Jones BE, Moore RY. Ascending projections of the locus ceruleus in the rat. II. Autoradiographic study. *Ibid* 1977;127 : 23.
- 12 Buccafusco JJ, Spector S. Influence of clonidine on experimental hypertension by cholinergic stimulation. *Experientia* 1980;36 : 671.
- 13 Harley CW. A role for norepinephrine in arousal, emotion and learning? : limbic modulation by norepinephrine and Kety hypothesis. *Prog Neuro—Psychopharmacol Biol Psychiatry* 1987;11 : 419.

EFFECT OF XYLAZINE ON ACETYLCHOLINE CONTENT OF THE HIPPOCAMPAL CA₁ REGION IN URETHANE ANESTHETIZED RATS

RG Ding, SJ Huang and JS Yang

(Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850)

ABSTRACT By using acetylcholine selective microelectrode technique, a biphasic effect of xylazine on acetylcholine content of the hippocampal CA₁ region in urethane anesthetized rats was observed as evidenced by the fact that small doses of xylazine (2.0 and 6.0 mg · kg⁻¹) significantly increased, while higher dose (10.0 mg · kg⁻¹) decreased the acetylcholine content. Though idazoxan (0.6 mg · kg⁻¹) significantly antagonized the effect of xylazine when used in combination, the acetylcholine content in the hippocampal CA₁ region of urethane anesthetized rats was still much lower than that of the control group. In rats whose nucleus locus coeruleus was chemically lesioned, xylazine (2.0 and 6.0 mg · kg⁻¹) significantly decreased the acetylcholine content, and idazoxan (0.6 mg · kg⁻¹), which increased the acetylcholine content in the hippocampal CA₁ region when used alone, completely antagonized the effect of xylazine. These results suggest that the biphasic effect of xylazine and the lower than normal acetylcholine content observed when idazoxan was used to antagonize xylazine induced changes in acetylcholine content of the hippocampal CA₁ region in urethane anesthetized rats might be related to the effects of xylazine and idazoxan on the central noradrenergic neurotransmitter system.

Key words Xylazine; Idazoxan; Locus ceruleus; Acetylcholine; Hippocampal CA₁ region