

槟榔碱对大鼠脑肌醇含量的影响以及与烟碱的相互作用*

汪 海 崔文玉 卜海之 刘传绩

军事医学科学院毒物药物研究所 北京 100850

【摘要】 急性实验中,经 M受体激动剂槟榔碱 50, 100, 200 mg/kg (ip) 30 min 后,在 100和 200 mg/kg 剂量下可显著地提高大鼠大脑皮层和海马中肌醇含量,但不影响纹状体中肌醇含量;M受体拮抗剂阿托品 2 mg/kg 可对抗槟榔碱 200 mg/kg (ip) 提高大脑皮层和海马中肌醇含量的作用;反复注射 N受体激动剂烟碱 0.5, 1, 1, 2, 2 mg/kg (ip) 与槟榔碱 50 mg/kg (ip) 之间存在协同作用,进一步提高大脑皮层和海马中肌醇含量。慢性实验中,给槟榔碱 2, 5, 10 mg/kg(sc) 每日 2次 14 d 后,在 10 mg/kg 剂量下可显著地提高大脑皮层中肌醇含量;阿托品 2 mg/kg 对抗槟榔碱 10 mg/kg 的作用;烟碱 2 mg/kg 与槟榔碱 5 mg/kg 之间存在协同作用,进一步提高大脑皮层中肌醇含量,烟碱的这一作用可为美加明 1 mg/kg 所对抗。提示槟榔碱激动中枢 M受体提高大脑皮层和海马中肌醇含量,反复注射烟碱可提高 M受体对其激动剂的敏感性。

关键词 烟碱;槟榔碱;受体,胆碱能;肌醇;磷脂酰肌醇

中国图书资料分类法分类号 R966

Effects of arecoline on myo-inositol level of rat brain and nicotine modulation

Wang Hai, Cui Wenyu, Bu Haizhi, Liu Chuangui

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

Abstract In the acute experiment, myo-inositol levels were increased in rat cerebral cortex and hippocampus but not in striatum by arecoline 100 and 200 mg/kg ip. The increase of myo-inositol in cerebral cortex and hippocampus by arecoline 200 mg/kg was prevented by atropine 2.0 mg/kg. Synergism of increase in myo-inositol level was observed between repeated injections of nicotine 0.5, 1, 1, 2, 2 mg/kg and arecoline 50 mg/kg. In the chronic experiment, rats were treated with arecoline 2, 5, 10 mg/kg (sc) twice a day for 14 days. Myo-inositol level was increased by arecoline 10 mg/kg in cerebral cortex and the increase was prevented by atropine 2 mg/kg; The synergism of increase in myo-inositol level was also observed between nicotine 2 mg/kg and arecoline 5 mg/kg. This effect of nicotine could be prevented by mecamylamine 1.0 mg/kg. The results indicated that myo-inositol levels in rat cerebral cortex and hippocampus can be increased by the excitation of muscarinic receptor by arecoline, and the sensitivity of brain muscarinic receptor to its agonists can be increased by repeated doses of nicotine.

Key words nicotine; arecoline; receptors, cholinergic; inositol; phosphatidylinositol

磷脂酰肌醇 (phosphatidylinositol, PI) 占细胞膜磷脂成分的 3% 以下,但与多种神经递质受体的信号跨膜转导有关,因此 PI 代谢具有重要的生物学意义。在 PI 代谢中,肌醇 (myo-inositol) 既是细胞内

信使 1, 4, 5-三磷酸肌醇的分解产物,又是合成 PI 的起始物质,在脑中的含量丰富,观察药物对脑肌醇

* 国家自然科学基金资助课题 (3870879)

含量的影响,是阐明药物或毒物作用机理的重要方法之一。

M₁和M₃胆碱能受体与细胞膜PI代谢相偶联,M激动剂可促进PI分解。烟碱是N胆碱能受体的选择性激动剂,反复注射烟碱可诱导中枢N受体失敏^[1],并提高大脑皮层和海马中肌醇含量^[2]。M和N受体分别隶属不同的受体家族,但其内源性激动剂均为乙酰胆碱,它们之间存在密切的调节关系^[3]。反复注射烟碱诱导中枢N受体失敏,也诱导中枢M受体功能增敏^[4-6]。本研究以脑肌醇含量为观察指标,研究M受体激动剂槟榔碱的作用,以及反复注射烟碱后槟榔碱作用的变化,以进一步分析反复注射烟碱后M受体功能的变化

1 材料与方法

1.1 动物

雄性Wistar大鼠,体重180~200g,由本院实验动物中心提供

1.2 药品与试剂

烟碱、槟榔碱、美加明、阿托品、肌醇、三甲基氯硅烷(TMS)以及双(三甲基甲硅烷基)三氟乙酰胺(BSTFA)均为Sigma公司产品。国产正二十二烷(n-DOC)为色谱标准品

1.3 脑肌醇含量的测定^[7]

大鼠经药物处理后断头,迅速取脑,立即投入液氮中速冻。在冰冻干燥机中-20℃及0.67Pa压力下

冷冻干燥72h,得到冻干组织样品

取上述样品4.0~7.0mg,加200μl衍生化试剂(吡啶、BSTFA及TMS以10∶4∶1混匀)在室温下反应48h,取1μl上清液注入气相色谱仪分析肌醇含量。色谱条件包括OV-1键合石英毛细管色谱柱(10mm×0.25mm,ID),起始柱温200℃,维持4min,以20℃/min速度升温至260℃,维持10min;汽化室温度250℃,检测器温度250℃;高纯氮作载气,流速50ml/min;分流式进样,分流比30∶1

1.4 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多个实验组间差异采用ANOVA分析,两两比较时,实验组与对照组之间采用邓内特t检验,实验组之间比较采用邓肯t检验

2 结果

2.1 槟榔碱对大鼠脑肌醇含量的影响

如表1所示,给M受体激动剂槟榔碱100~200mg/kg(ip)30min后,大鼠大脑皮层和海马中肌醇含量可显著提高,但不影响纹状体中肌醇含量。给M受体拮抗剂阿托品2mg/kg(ip)10min后,再腹腔内注射槟榔碱200mg/kg30min后,大脑皮层和海马中肌醇含量与单用槟榔碱200mg/kg(ip)相比显著降低,其中大脑皮层中肌醇含量降至正常,与正常对照组相比无显著差异。

表1 槟榔碱和(或)烟碱对大鼠不同脑区肌醇含量的影响

药物(wB/mg ^a kg ⁻¹)	肌醇(mB/nmol ^a kg ⁻¹ 组织干重)		
	大脑皮层	海 马	纹状体
对 照	24.0±1.4(16)	29.6±1.4(5)	24.8±2.2(5)
槟榔碱 50	24.0±0.8(16)	28.7±2.9(5)	
100	29.3±2.0(5)*	42.0±2.2(5)*	25.3±0.9(5)
200	30.0±2.2(6)*	41.8±2.3(5)*	25.1±2.3(6)
阿托品 2mg/kg+ 槟榔碱 200mg/kg	24.7±1.9(6)#	38.8±1.4(5)*#	27.2±1.7(5)
烟碱+ 槟榔碱 50mg/kg	31.9±3.7(6)*△	42.0±3.2(8)*△	25.7±1.7(6)
烟碱△	28.4±1.7(16)*	37.5±1.1(8)*	25.2±3.1(6)
美加明 1mg/kg+ 烟碱△	23.3±1.1(5)△	33.3±1.2(5)*△	23.4±2.8(8)

^a间隔5min反复腹腔内注射烟碱0.5,1,1,2,2mg/kg(ip)。数据以 $\bar{x} \pm s(n)$ 表示。与对照组比较,* $P < 0.01$;与槟榔碱200mg/kg组比较,# $P < 0.05$,# $P < 0.01$;与烟碱组比较,△ $P < 0.01$

慢性实验中,槟榔碱分3个剂量组,2.5和10mg/kg(sc)每日2次14d后,其中高剂量组中大脑皮层中肌醇含量显著增高;阿托品2mg/kg与槟榔碱10mg/kg联用,肌醇含量与单用槟榔碱10mg/kg(ip)相比显著降低,而与对照组相比无显著变化,见表2

表 2 慢性注射槟榔碱和(或)烟碱对大鼠大脑皮层肌醇含量的影响

药 物		肌 醇
(w _B /mg° kg ⁻¹)		(m _B /nmol° kg ⁻¹ 组织干重)
生理盐水组		24.8±1.6(10)
槟榔碱	2	24.1±1.5(6)
	5	24.8±1.0(10)
	10	31.3±0.4(6)*
阿托品 2 mg/kg+ 槟榔碱 10 mg/kg		26.5±1.4(6)* [#]
烟碱 2 mg/kg+ 槟榔碱 5 mg/kg		32.1±1.2(10)* ^{△△}
美加明 1 mg/kg+ 烟碱 2 mg/kg		27.9±1.5(6)* ⁺⁺
+ 槟榔碱 5 mg/kg		
阿托品 2		23.3±1.5(6)
烟 碱 2		26.9±1.1(10)*
美加明 1		26.1±1.4(6)

药物均皮下注射,每日两次,共 14 d 数据以 $\bar{x} \pm s(n)$ 表示 与生理盐水组比较,* $P < 0.01$;与槟榔碱 10 mg/kg 组比较,[#] $P < 0.01$;与烟碱 2 mg/kg 组或槟榔碱 5 mg/kg 组比较,^{△△} $P < 0.01$;与烟碱 2 mg/kg 和槟榔碱 5 mg/kg 联用组比较,⁺⁺ $P < 0.01$

以上急性和慢性实验结果表明,M受体激动剂槟榔碱可提高大鼠大脑皮层和海马中肌醇含量,但不影响纹状体中肌醇含量;槟榔碱的这一作用可被M受体拮抗剂阿托品对抗

2.2 烟碱对槟榔碱提高大鼠脑肌醇含量作用的调节

急性实验结果,如表 1所示。5次反复注射烟碱 0.5, 1, 1, 2, 2 mg/kg (ip)或一次注射槟榔碱 100 或 200 mg/kg (ip)可使大鼠大脑皮层中肌醇含量升高 18.8%, 22.2%, 25.3%,使海马中肌醇含量升高 26.8%, 42.0%, 41.3%,对纹状体中肌醇含量无显著性影响;槟榔碱 50 mg/kg (ip)对脑肌醇含量无显著性影响;5次反复注射烟碱后再注射槟榔碱 50 mg/kg (ip),大脑皮层和海马中肌醇含量升高 33.3%和 42.2%,与单用烟碱或槟榔碱组相比均有显著性差异,反复注射烟碱和一次注射槟榔碱之间存在协同效应,但仍对纹状体中肌醇含量无显著影响。

慢性实验结果,如表 2所示。烟碱 2 mg/kg皮下注射每日 2次共 14 d,可使大脑皮层中肌醇含量升高 8.3%,但槟榔碱 5.0 mg/kg皮下注射,每日 2次,14 d后对大脑皮层中肌醇含量无显著性影响,两者联用使大脑皮层中肌醇含量升高 29.2%,与单用此两药组相比均有显著差异。每天在注射烟碱前

预先注射美加明以封闭中枢 N 受体功能,烟碱不再提高大脑皮层中肌醇含量^[2],也不再与槟榔碱产生协同作用以进一步提高大脑皮层中肌醇含量。

3 讨论

M激动剂作用于中枢 M₁和 M₃胆碱能受体,通过 G_s蛋白,激活磷脂酶 C,促进 PI代谢,使信使物质 1,4,5三磷酸肌醇的生成量增加^[8]。本研究观察到槟榔碱能提高大脑皮层和海马中肌醇含量,并为 M受体拮抗剂阿托品对抗,其机制与其激动中枢 M受体增加 1,4,5三磷酸肌醇的生成量有关。相同条件下,槟榔碱对纹状体中肌醇含量无显著性影响,可能与纹状体 M受体属 M₂和 M₄型,通过 Gi蛋白,抑制腺苷酸环化酶^[9],而不影响 PI代谢有关。

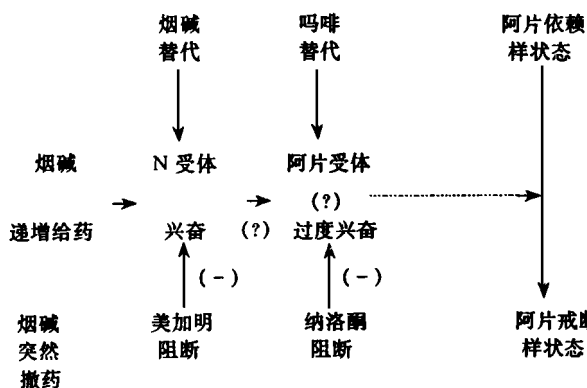
N受体隶属递质门控性受体家族,不干扰细胞膜 PI代谢。一次注射适量的 N激动剂烟碱,开启中枢与 N受体偶联的离子通道。反复注射烟碱诱导中枢 N受体失敏,不再开启与 N受体偶联的离子通道,反而干扰大脑皮层与海马中肌醇含量,但是,其干扰 PI代谢的方式不同于 M激动剂^[2]。本研究发现反复注射烟碱后,再注射不足以影响脑肌醇含量的低剂量的槟榔碱,大脑皮层和海马中肌醇含量进一步增高,两者之间存在协同效应,烟碱的这一作用可被 N受体拮抗剂美加明对抗。提示反复注射烟碱可增强 M激动剂的中枢作用。这与以惊厥、震颤、自发活动和 M受体下行性调节为指标,观察到反复注射烟碱后,M激动剂中枢作用增强相一致^[3];但与以体温下降为指标,观察到反复注射烟碱后,M激动剂中枢作用无显著变化不一致^[10]。

参考文献

1 汪海,崔文玉,何湘平等.烟碱急性和慢性耐受与中枢 N受体失敏.中国药理学与毒理学杂志,1990; 6: 148
2 汪海,卜海之,崔文玉等.脑 N受体与磷脂酰肌醇代谢相偶联的可能性.中国药理学通讯,1992; 9: 10
3 汪海.烟碱对 M胆碱能受体功能的调节及其分子机理.生理科学进展,1994; 25: 240
4 Wang H, Liu CG. Increased sensitivity of brain muscarinic receptor to its agonists as a result of repeated nicotine pretreatment in rats, mice and rabbits. In: Adlkofer F, Thurau K, eds. Effects of nicotine on biological system. Basel: Birkhauser Verlag, 1991: 263-272

(下转第 171页)

此,我们认为烟碱依赖 戒断可能存在以下涉及内源性阿片系统参与的机制:



在以上诱导烟碱依赖形成及戒断诱发的可能机制中,从烟碱作用于 N 受体致阿片受体兴奋之间有许多问题有待进一步研究。但烟碱依赖 戒断综合征模型的建立,无疑将对于研究烟草成瘾的机制及初筛戒烟药物是有益的。以后的研究将从神经生化的角度对烟碱引发的阿片机制进一步加以阐明。

参考文献

- 1 Hughes JR, Gust SW, Skog K *et al.* Symptoms of tobacco withdrawal: a replication and extension. *Arch Gen Psychiat*, 1991; 48: 52
- 2 Carroll ME, Lac ST, Asencio M *et al.* Nicotine dependence in rats. *Life Sci*, 1989; 45: 1381
- 3 Malin DH, Lake JR, Newlin-Maulsby P *et al.* Rodent of nicotine abstinence syndrome. *Pharmacol Biochem Behav*, 1992; 43: 779
- 4 Malin DH, Lake JR, Carter VA *et al.* The nicotinic antagonist mecamylamine precipitates nicotine abstinence syndrome in the rats. *Psychopharmacology*, 1994; 115: 180

- 5 徐江平,刘传绩.大鼠尼古丁依赖 戒断综合征模型的建立. *中国药物依赖性通报*, 1995; 4: 101
- 6 Malin DH, Lake JR, Carter VA *et al.* Naloxone precipitates nicotine abstinence syndrome in rats. *Psychopharmacology*, 1993; 112: 339
- 7 Jensen RA, Gilbert DG, Meliska CJ *et al.* Characterization of a dose-response curve for nicotine-induced taste aversion in rats: relationship to elevation of plasma β -endorphin concentration. *Behav Neural Biol*, 1990; 53: 428
- 8 Davenport KE, Houdi AA, Nanlooy GR. Nicotine protects against mu-opioid receptor antagonism by beta-funaltrexamine: evidence for nicotine-induced release of endogenous opioid. *Neurosci Lett*, 1990; 113: 40
- 9 秦伯益.纳洛酮催瘾试验. *中国药物依赖性通报*, 1995; 4: 46
- 10 Pierzchala K, Houdi AA, Vanloon GR. nicotine-induced alterations in brain regional concentration of native and cryptic met- and leu-enkephalin. *Peptide*, 1987; 8: 1035
- 11 Loimer N, Vedovelli H, Presslich O *et al.* Nicotine addiction and AIDS. Drug use habits of Vienna addicts. *Wien Klin Wochenschr*, 1991; 102: 617
- 12 Strr J, Stark MJ. Treating cigarette smoking in methadone maintenance clients. *J Psychoact Drugs*, 1991; 23: 203
- 13 Pertwee RG. Tolerance to and dependence on psychotropic cannabinoids. In Pratt J ed. *The biological bases of drug tolerance and dependence*, San Diego: Academic Press Inc, 1991: 232~ 263

(1996-06-20 收稿)

(上接第 167 页)

- 5 Wang H, Cui WY, Liu CG. Repeated administration of nicotine selectively enhances the sensitivity of muscarinic receptor. In Seredenin SB, ed. *Biological basis of individual sensitivity to psychotropic drugs*. Edinburgh: Graffham Press Ltd, 1994: 141~ 148
- 6 汪海,崔文玉,刘传绩.烟碱对 M 受体激动剂抑制自发活动作用的调节. *中国药理学与毒理学杂志*, 1996; 10: 98
- 7 卜海之,汪海,崔文玉等.气相色谱法测定大鼠脑及腺体磷脂酰肌醇代谢环路中肌醇的含量. *中国应用生理学杂志*, 1992; 8: 347

- 8 Fisher SK, Bartus RT. Regional differences in the coupling of muscarinic receptors to inositol phospholipid hydrolysis in guinea-pig brain. *J Neurochem*, 1985; 54: 1085
- 9 Olanas MC, Onali P, Schwartz JP *et al.* The muscarinic receptor adenylate cyclase complex of rat striatum: desensitization following chronic inhibition of acetylcholinesterase activity. *J Neurochem*, 1984; 42: 1439
- 10 汪海,张蜀平.中枢 N 受体对 M 受体介导体温降低作用的调节. *中国药理学与毒理学杂志*, 1996; 10: 28

(1996-06-17 收稿)