

3,4-二氨基吡啶对多粘菌素 B 神经肌肉阻遏作用的对抗

方向明、章元沛 (浙江医科大学药理学系药理教研室, 杭州 310006)

施玉樑、王文萍 (中国科学院上海生理研究所, 上海 200031)

提要 在离体大鼠膈神经膈肌标本, Poly B(0.2 mg/ml)能迅速降低 EPP 和 MEPP 的振幅, 阻遏神经肌肉传递。3,4-DAP 可对抗 Poly B 的作用: 复加 3,4-DAP(最终浓度 0.1 mmol/L)后 EPP 重新出现, 振幅逐渐增大, 直至神经肌肉传递阻遏暂时解除, 恢复膈肌对间接刺激的收缩反应。但 3,4-DAP 不能恢复 MEPP 的发放。

关键词 3,4-二氨基吡啶; 多粘菌素 B; 神经肌肉阻滞剂; 膈神经; 膈

对于多粘菌素 B (polymyxin B, Poly B) 引起的外周性呼吸抑制, 目前尚无理想的解救药⁽¹⁾。新斯的明通常无效, 甚或使抑制加重⁽¹⁻³⁾, 钙盐的效果也不佳^(1,3,4)。4-氨基吡啶 (4-aminopyridine, 4-AP) 在麻醉猫实验中能迅速、完全解除 Poly B 引起的神经肌肉阻遏, 但可引起反射亢进、肌痉挛等中枢兴奋症状⁽⁵⁾。近年发现 4-AP 的衍生物 3,4-二氨基吡啶 (3,4-

diaminopyridine, 3,4-DAP) 的促进神经肌肉传递作用比 4-AP 更强⁽⁶⁾, 而中枢兴奋作用较弱^(7,8)。先前在麻醉兔和猫身上我们已观察到 3,4-DAP 能有效对抗 Poly B 引起的神经肌肉阻遏, 而无明显副作用(未发表资料)。本文利用电生理学方法, 在离体大鼠膈神经膈肌标本上对 3,4-DAP 的抗 Poly B 作用作了初步分析。

材料与方 法

动物及标本 大鼠体重 $200 \pm SD 20$ g, ♀♂不拘, 按文献(9)法制备膈神经膈肌标本, 蓄养于通气(95%O₂ + 5%CO₂)、保温(30 ± 2°C)的 Krebs 溶液中。溶液成分为(mmol/L): NaCl 136.8; KCl 5; CaCl₂ 2; MgCl₂ 1; NaH₂PO₄ 1; NaHCO₃ 12; 葡萄糖 11⁽¹⁰⁾。

膈肌收缩记录 按文献(9)方法, 将神经膈肌标本置于含定量通气保温 Krebs 溶液的肌槽

中,描记用 0.1 Hz, 0.2 ms 的超强方波脉冲刺激膈神经时诱起的膈肌收缩。做好对照后,依次将 Poly B 及 3,4-DAP 加入肌槽内溶液中,连续记录收缩幅度的变化。肌槽溶液温度 32°C。

细胞内电活动的记录 按常法⁽¹¹⁾用尖端阻抗为 10-20 MΩ, 内充 KCl 3 mol/L 的玻璃微电极插入肌纤维终板区, 做 EPP 和 MEPP 的记录。肌槽温度维持在 28-30°C。标本预先不经箭毒处理, 溶液中自始至终无新斯的明存在。

药物 Poly B 和 3,4-DAP 分别为美国 Pfizer 和 Alfa 公司产品。实验前用 Krebs 溶液配制适当浓度的溶液, 贮于冰箱备用。

结 果

膈肌收缩 标本蓄养液中加入 Poly B(最终浓度 0.2 mg/ml)后,大鼠膈肌对刺激神经引起的收缩反应迅即开始减弱,收缩幅度下降至对照的 50%的时间为 24.7 ± 2.4 min ($n=3$), 至对照的 10%的时间为 40.3 ± 1.9 min。提高标本蓄养液的 Ca^{2+} 浓度, 收缩抑制的出现延缓。如在 $Ca^{2+} 2.5$ mmol/L 的溶液中, 同样条件下加入同样浓度的 Poly B 后, 收缩幅度降至对照的 50%的时间为 54 ± 7 min ($n=4$)。

我们还观察到, 降低 Poly B 的浓度亦可使收缩幅度的下降速度变缓。且在抑制前常有一明显的兴奋时相, 此时的收缩幅度高于对照。在低至 2.5-5 μg/ml 的浓度时, 兴奋相明显而持久, 甚至不出现抑制。

3,4-DAP 对 Poly B 产生的收缩抑制有明显的对抗作用。如图 1 所示, 将 3,4-DAP(最终浓度 0.2 mmol/L)复加到溶液中后, 膈肌对间接刺激的收缩反应立即增强, 幅度变大, 并迅速达到和超过对照水平。但在 Poly B 和 3,4-DAP 同时存在于溶液的条件下, 恢复不能持久, 此后收缩幅度又逐渐下降。下降至对照的 50%的时间是 39 ± 9 min ($n=3$); 下降至对照的 10%的时间约为 1.5-2 h,

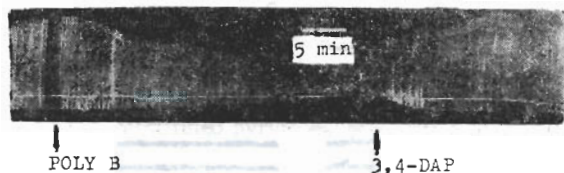


Fig 1. Depression of contractile response to indirect stimulation by polymyxin B (0.2 mg/ml) and its restoration after administration of 3,4-diaminopyridine (0.2 mmol/L) in rat phrenic nervediaphragm preparation. Stimulation: 0.1 Hz, 0.2 ms, supramaximal, 32°C.

终板电位 大鼠的膈神经膈肌标本在 Poly B(0.2 mg/ml)的作用下, 由间接刺激引起的膈肌收缩逐渐减弱, 在近乎完全麻痹时将微电极插入肌纤维的终板区, 可记录到振幅迅速下降和很快消失的 EPP。此时将 3,4-DAP(最终浓度 0.1 mmol/L)加入标本蓄养液, EPP 立即恢复, 振幅迅速增大, 达到阈电位水平时, 即能触发动作电位, 使肌纤维恢复对间接刺激的收缩反应。为了在一个终板连续观察 3,4-DAP

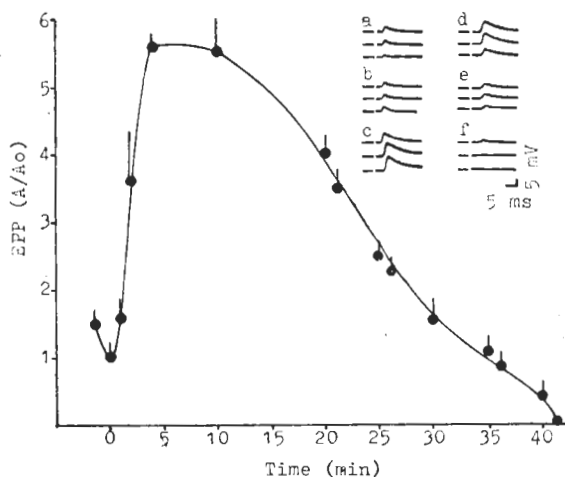


Fig 2. Effect of 3,4-diaminopyridine (0.1 mmol/L) on decreasing end-plate potential (EPP) recorded in polymyxin B-treated neuromuscular preparations at 30°C. A_0 : the lowest value of EPP amplitude just before 3,4-diaminopyridine. A: EPP amplitude after 3,4-diaminopyridine, $n=8-10$. All data come from continuous observation on 2 end-plates in 2 muscles. Inset: a, control; b-f, 1, 4, 10, 20 and 40 min respectively after 3,4-diaminopyridine.

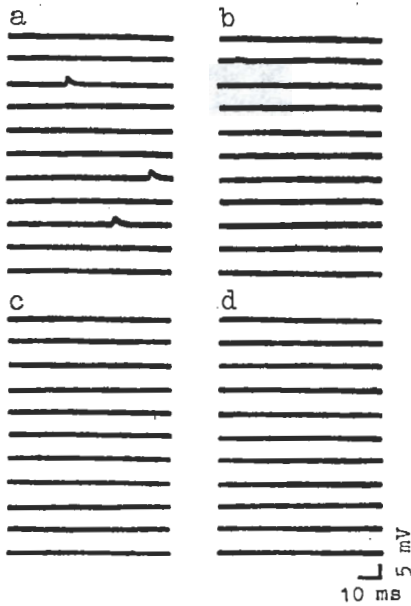


Fig 3. Influence of polymyxin B (0.2 mg/ml) and 3,4-diaminopyridine (0.1 mmol/L) on miniature end-plate potential in rat phrenic nerve diaphragm preparation at 30°C. a) control; b) 15 c) 20 min after polymyxin B and d) 5 min after 3,4-diaminopyridine.

对终板电位的影响, 要选择受 Poly B 阻遏较深, 加入 3,4-DAP 后只有深部少数肌纤维恢复收缩的标本。此时, 将微电极插入肌肉表层的肌纤维终板区, 可以记录到 EPP 从在 Poly B 作用下振幅迅速下降, 和在加入 3,4-DAP 后振幅迅速恢复和又逐渐降低, 直至完全消失的整个过程。图 2 就是由两次实验得到的对这样两个终板区进行连续观察的结果。纵坐标是 EPP 振幅同其加 3,4-DAP 以前的最低值之比。从图 2 可以看到, 在溶液中有 Poly B 存在的情况下, 3,4-DAP 只有暂时的恢复 EPP 作用, 这与膈肌收缩描记得到的结果相一致。

小终板电位 图 3 是将电极固定在一个终板, 在 Poly B (0.2 mg/ml) 作用前后和复加 3,4-DAP (最终浓度 0.1 mmol/L) 后的 MEPP 记录。从该图可以看到 Poly B 使 MEPP 的振幅迅速下降, 并很快完全消失, 整个标本记不到 MEPP。而在加入 3,4-DAP 以后, 与对 EPP 的影响不同, 无 MEPP 的振幅增大和恢复现

象, 即使在经 3,4-DAP 的作用对间接刺激已暂时恢复收缩反应的肌肉也是如此。

顺便指出, 在加入 Poly B 和复加 3,4-DAP 后的整个过程中, 未观察到肌细胞终板区的静息膜电位有明显变化。

讨 论

在具有神经肌肉阻遏作用的抗生素中, Poly B 属作用最强者之一, 具有接头前、后两种作用⁽¹¹⁾。用电压钳位技术进行的研究发现, Poly B 显著缩短终板电流(EPC)的时程, 在膜电位比 -60 mV 更负时, 使钳位电压同 EPC 半衰期之间丧失依赖关系⁽¹²⁾, 从而证实 Poly B 对 ACh 激活通道的阻遏作用, 解释了 Poly B 与 ACh 的非竞争性对抗性质。本文观察到的 Poly B 不影响肌纤维的静息膜电位, 迅速降低 EPP 和 MEPP 的振幅, 及高 Ca^{2+} 溶液的延缓作用等与文献中 Poly B 具有接头前、后两种作用的报道⁽¹¹⁾是一致的。

4-AP 对神经肌肉传递的易化作用主要是它阻遏电压依赖性 K^+ 通道, 延长神经末梢动作电位的时程, 促进 Ca^{2+} 内流, 从而增加 ACh 释放的结果⁽¹³⁾。3,4-DAP 具有同样作用⁽¹⁴⁾。本文观察到 3,4-DAP 在 Poly B 的存在下能恢复 EPP, 暂时解除神经肌肉阻遏, 但不能使已消失的 MEPP 重新出现。这些结果表明 3,4-DAP 的抗 Poly B 效应可以通过它作用于神经末梢 K^+ 通道, 延长动作电位时程, 增加 ACh 的释放量来解释。同时由于 Poly B 的主要作用是阻遏 ACh 激活的终板离子通道, 所以在有 Poly B 存在的情况下, 无论高 Ca^{2+} , 还是 4-AP 或 3,4-DAP 的解除阻遏效应, 都只能是暂时的, 且不能使 MEPP 重新出现。

致谢 杨亚琴参加部分实验工作。

参 考 文 献

- 1 Lindsmith LA, Baines RD Jr, Bigelow DB, Petty TL. Reversible respiratory paralysis associated with polymyxin therapy. *Ann*

- Intern Med* 1968; 68 : 318
- 2 Van Nyhuis LS, Miller RD, Fogdall RP. The interaction between d-tubocurarine, pancuronium, polymyxin B and neostigmine on neuromuscular function. *Anesth Analg* 1976; 55 : 224
 - 3 Lee C, Chen D, Engel EL. Neuromuscular block by antibiotics: polymyxin B. *Ibid* 1977; 56 : 373
 - 4 Singh YN, Harvey AL, Marshall IG. Antibiotic-induced paralysis of the mouse phrenic nerve-hemidiaphragm preparation and reversibility by calcium and by neostigmine. *Anesthesiology* 1978; 48 : 418
 - 5 Lee C, deSilva AJC, Katz RL. Antagonism of polymyxin B-induced neuromuscular and cardiovascular depression by 4-aminopyridine in the anesthetized cat. *Ibid* 1978; 49 : 256
 - 6 Molgó J, Lundh H, Thesleff S. Potency of 3,4-diaminopyridine and 4-aminopyridine on mammalian neuromuscular transmission and the effect of pH changes. *Eur J Pharmacol* 1980; 61 : 25
 - 7 Lemeignan M, Millart H, Lamiable D, Molgó J, Lechat P. Evaluation of 4-aminopyridine and 3,4-diaminopyridine penetrability into cerebrospinal fluid in anesthetized rats. *Brain Res* 1984; 304 : 166
 - 8 Foldes FF, Nagashima H, Lalezari I, Chaudhry I, Ohta Y, Deery A. Comparison of the neuromuscular and central effects of 4- and 3,4-substituted pyridines. *Anesthesiology* 1982; 57 : A273
 - 9 Bülbring E. Observation on the isolated phrenic nerve diaphragm preparations of the rat. *Br J Pharmacol* 1946; 1 : 38
 - 10 Liley AW. The quantal components of the mammalian end-plate potential. *J Physiol (Lond)* 1956; 133 : 571
 - 11 施玉樑、沈克飞. 肉毒杆菌素中毒后大鼠膈神经膈肌小终板电位的观察. *科学通报* 1975; 20 : 97
 - 12 Durant NN, Lambert JJ. The action of polymyxin B at the frog neuromuscular junction. *Br J Pharmacol* 1981; 72 : 41
 - 13 Molgó J. Effects of aminopyridines on neuromuscular transmission. In: Lechat P, Thesleff S, Bowman WC, eds. *Aminopyridines and similarly acting drugs*. Oxford: Pergamon, 1982 : 95-116
 - 14 Kirsh GE, Narahashi T. 3,4-DAP: a potent new potassium channel blocker. *Biophys J* 1978; 22 : 507

Acta Pharmacologica Sinica 1987 Jan; 8 (1) : 22-25

Antagonism of the neuromuscular blocking effect of polymyxin B by 3,4-diaminopyridine

FANG Xiang-Ming, ZHANG Yuan-Pei

(Dept Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Medical University, Hangzhou 310006)

SHI Yu-Liang, WANG Wen-Ping

(Shanghai Institute of Physiology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031)

ABSTRACT Polymyxin B (0.2 mg/ml) depressed the contractile response of rat diaphragm to indirect stimulation, decreased the amplitude of end-plate potential and blocked the neuromuscular transmission at last. 3,4-Diaminopyridine (0.1 mmol/L) antagonized this inhibitory effect. It increased the amplitude of end-plate potential and restored the neuromuscular transmission. The twitch responses recovered immediately after the addition of 3,4-diaminopyridine

(0.2 mmol/L) and exceeded its control. However, the antagonistic effect of 3,4-diaminopyridine lasted only 1.5-2 h. The miniature end-plate potential abolished by polymyxin B did not reappear after the administration of 3,4-diaminopyridine.

KEY WORDS 3,4-diaminopyridine; polymyxin B; neuromuscular blocking agents; phrenic nerve; diaphragm