

噻环乙胺对大鼠不同脑区 NOS 活性及 NO 产量和 cGMP 含量的影响

王洪斌,范宏刚,卢德章,胡 魁,张建涛,李 静

(东北农业大学动物医学学院,哈尔滨 150030)

摘 要: 动态观察噻环乙胺对大鼠不同脑区 NOS 活性、NO 产量、cGMP 含量的影响,以探讨 NO/cGMP 信号转导系统对噻环乙胺全麻分子机理的调控。SD 大鼠 168 只,随机分为对照组和高、低剂量组(腹腔注射 60、30 mg/kg 噻环乙胺),每个剂量组又分为麻醉组、恢复 I 组和恢复 II 组 3 个亚组。用分光光度法测定脑 NOS 活性和 NO 产量,放射免疫法测定脑 cGMP 含量。在两个剂量的麻醉组,不但大脑皮层、海马和丘脑的 NOS 活性受到明显抑制,而且显著减少上述脑区 NO 产量和 cGMP 含量(与对照组相比, $P < 0.05$)。在高、低剂量的恢复 I 组上述 3 个脑区的 NOS 活性、NO 产量、cGMP 含量均有不同程度的恢复,在恢复 II 组除丘脑 cGMP 含量明显低于对照组($P < 0.05$)外,其余指标均显著恢复(与对照组相比, $P > 0.05$)。两个剂量组脑干、小脑的 NOS 活性、NO 产量和 cGMP 含量均无明显的改变。噻环乙胺的麻醉作用可能与抑制大脑皮层、海马和丘脑等脑区 NO/cGMP 信号转导系统相关。

关键词: 噻环乙胺;NO/cGMP;信号转导;分子机理

中图分类号:S857.124

文献标识码:A

文章编号:0366-6964(2008)11-1599-07

Effect of Tiletamine on the Activity of NOS, NO Production, and cGMP Content in Rat Different Brain Regions

WANG Hong-bin, FAN Hong-gang, LU De-zhang, HU Kui, ZHANG Jian-tao, LI jing
(College of Veterinary Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: The effect of tiletamine on the activity of NOS, NO production, and cGMP content in different brain regions of rat were observed to investigate the modulation of NO/cGMP signal transduction in the molecular mechanisms of general anaesthesia mediated by tiletamine. 168 SD rats were randomly divided into control group, high dose tiletamine group (intraperitoneally tiletamine 60 mg/kg) and low dose tiletamine group (ip tiletamine 30 mg/kg), and each dose group was divided into three sub-groups, eg anesthesia group, recovery group I and recovery group II. The activity of NOS and production of NO were measured by spectrophotometric analysis, and the cGMP content were measured by radioimmunoassay (RIA) in different brain regions. After administering tiletamine, the activity of NOS in the cerebral cortex, the hippocampus and the thalamus in the anesthesia group were obviously inhibited, and the NO production and cGMP content in above-mentioned regions were obviously decreased (compared with control group, $P < 0.05$). The activity of NOS, NO production and cGMP content in recovery group I at the two dosage were recovered in different degree, and they were significant recovered (compared with control group, $P > 0.05$) other than cGMP content in the thalamus (compared with control group, P

收稿日期:2008-04-17

基金项目:国家自然科学基金项目(30671552);黑龙江省自然科学基金重点项目(ZJN0503-01)

作者简介:王洪斌(1958-),男,内蒙古赤峰人,教授,博士生导师,博士,主要从事动物麻醉与镇痛、兽医信息学及动物电子腹腔镜技术等研究,

Tel: 0451-55191833, E-mail: hbwang@neau.edu.cn

<0.05) in the recovery group II. Different dose of tiletamine affected significantly the activity of NOS, NO production and cGMP content in the brain stem, and cerebellum. The anesthesia effects of tiletamine might relate to inhibition of NO/cGMP signal transduction in cerebral cortex, the thalamus, and the hippocampus.

Key words: tiletamine; NO/cGMP; signal transduction; molecular mechanisms

一氧化氮(NO)是近些年来发现的一种重要的细胞内信使。其中枢神经系统中可能发挥着信息传递作用^[1]。NO可由L-精氨酸经一氧化氮合酶(NOS)的催化作用而产生,NO激活可溶性鸟苷酸环化酶(sGC),使细胞内环鸟苷酸(cGMP)含量增加,cGMP又作为细胞内第二信使,通过调控离子通道、调节磷酸二酯酶(PDE)的活性、激活cGMP依赖的蛋白激酶(GPK)和与依赖cAMP的蛋白激酶(PKA)的交互作用,而引发细胞一系列的级联反应,发挥信息传递作用。麻醉药对兴奋性突触的抑制和对抑制性突触的增强作用可能是由NO-NOS-cGMP信息传递系统介导的^[2-3]。噻环乙胺(Tiletamine)为苯环己哌啶类静脉全麻药,其药理作用与氯胺酮类似,但效果优于氯胺酮且安全性较高。该药在国外较早地应用于兽医麻醉领域,常与噻拉嗪、美托咪啶、唑氟氮草及乙酰丙嗪等药物复合使用。目前将其与唑氟氮草1:1复制成Telazol合剂,是国外应用于宠物、野生动物及实验动物最为广泛的复方麻醉合剂^[4-6]。近年来随着国内动物医疗水平的提高及氯胺酮、曲马多、爱托菲等被列为管制药品,噻环乙胺逐渐被引入到国内动物临床麻醉中,并具有广阔的应用前景,但由于对其全麻机理不甚了解,影响了其在国内动物医学领域的深度开发和广泛应用。本研究通过观察噻环乙胺麻醉下大鼠脑NOS活性、NO产量以及cGMP含量的变化,从而探讨NO/cGMP信号转导系统在噻环乙胺全麻分子机理中可能发挥的作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

盐酸噻环乙胺购自法国维克公司,cGMP测定试剂盒由上海中医药大学核医学实验室提供,NOS测定试剂盒、NO试剂盒(酶法)及考马斯亮蓝蛋白质含量测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所;Avanti™30Centrifuge高速冷冻离心机(Japanese Beckman Company)、SN-6958型智能放免 γ 计数器(上海核辐日环光电仪器有限公司)等。

1.2 实验动物及分组处理

168只180~200日龄SD大鼠,由黑龙江中医药大学实验动物中心提供,雌雄各半,体重200~300g。先随机均分为2大组,其中一组测定脑NOS活性、NO产量,另一组测定脑cGMP含量。每大组先取12只大鼠为对照组,腹腔注射(ip)生理盐水10mL/kg;其余随机均分为高、低剂量组,分别腹腔注射噻环乙胺60、30mg/kg(用前稀释成10mL/kg,以与对照组等容)。每个剂量组又随机均分为麻醉组、恢复I组和恢复II组3个亚组。对照组在注射5min后断头取材,麻醉组在大鼠翻正反射消失后立即断头取材,恢复I组在大鼠翻正反射恢复后断头取材,恢复II组在大鼠直线爬行后断头取材。

1.3 NO、NOS活性的测定

断头后迅速在生理盐水冰面上取脑,用4℃生理盐水将脑上的血迹冲洗干净,分离双侧大脑皮层、海马、小脑、脑干、丘脑,立即液氮冷冻保存,待测。将不同脑区的脑组织称重后置入预冷的生理盐水内(1/10,W/V),匀浆、1000r/min离心10min制备成10%脑组织匀浆,所有操作均在0~4℃下进行。-70℃冰箱中保存,待测NOS活性和NO产量。采用比色法测定NOS活性和NO产量。NOS酶活性定义为每毫克组织蛋白每分钟生成的NO量,即nmol/(mg·min),按考马斯亮蓝法测定蛋白质含量。

1.4 cGMP含量测定

精确称取组织50mg,放入盛有预冷的2mL50mmol/LpH4.75醋酸缓冲液的匀浆器内,在冰水浴中进行匀浆,然后将匀浆后的混悬液倒入10mL的试管内,用2mL无水乙醇洗匀浆器,再将乙醇倒入混悬液内混匀静置5min,3500r/min离心15min,收集上清,再用1mL75%酒精连续洗涤2次匀浆器,用该2mL75%酒精洗液洗沉淀混匀,3500r/min离心15min,合并2次上清液在60℃水浴中吹干。待干后将沉渣放于4℃冰箱保存。测量时,将提取好的小脑样品溶于2mL醋酸缓冲液中,取50 μ L再加入150 μ L醋酸缓冲液充分混匀后,再取100 μ L上样测定,大脑、脑干和海马提取样

品溶于 2 mL 醋酸缓冲液中,取 50 μ L 再加入 50 μ L 醋酸缓冲液充分混匀后(总计 100 μ L)上样测量,放射免疫法测定各脑区的 cGMP 含量。

1.5 统计分析

数据以均数士标准差($\bar{x} \pm s$)表示。用 SPSS 13.0 数据统计分析软件进行数据统计分析, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 行为学变化

低剂量组大鼠给药后较为安静,逐渐表现为行动迟缓、共济失调、趴卧不动,最后翻正反射消失。少数大鼠有上体晃动现象。在麻醉期间部分大鼠有流涎、流泪现象。翻正反射恢复时,大鼠呼吸增快,

给予一定刺激大鼠可出现体动,少数可斜线爬行或转圈运动。到大鼠可直线爬行时,行动比较缓慢,极少数大鼠有复睡现象。高剂量噻环乙胺组,翻正反射平均消失时间较对照组减少 32.85% ($P < 0.01$),翻正反射平均恢复时间及出现直线苏醒时间,分别较低剂量组增加 192.73% ($P < 0.01$)、165.78% ($P < 0.01$),具体结果见表 1。高剂量组与低剂量组相比除了各时期的时间明显延长外,大鼠表现的行为也有明显的不同,主要表现在麻醉诱导期无上体晃动现象;麻醉期(麻醉组)流涎、流泪现象更为严重,且大鼠眼睛颜色变为淡红色;苏醒期(恢复 I 组和恢复 II 组)呼吸明显增快,体动及行动较低剂量组少,发生复睡大鼠的数量略微增多。

表 1 大鼠噻环乙胺麻醉行为学变化情况

Table 1 Changes of behaviors about rats which were anesthetized mediated by tiletamine ($\bar{x} \pm s, n=24$) min

	翻正消失时间 Disappearance time of righting reflex	翻正恢复时间 Recovery time of righting reflex	出现直线爬行的时间 Appearance time of rectilinear creeping
低剂量组 Low dose group	2.07 \pm 0.18	87.65 \pm 15.18	133.46 \pm 23.62
高剂量组 High dose group	1.39 \pm 0.22**	256.58 \pm 32.65**	354.71 \pm 49.37**

高剂量组与低剂量组比较, ** $P < 0.01$, * $.01 < P < 0.05$

Comparison between high dose group and low dose group, ** $P < 0.01$; * $.01 < P < 0.05$. Denote the difference level is $P < 0.01$; * $.01 < P < 0.05$

2.2 噻环乙胺对大鼠不同脑区 NOS 活性的影响

大鼠 ip 噻环乙胺 30 mg/kg 后,在麻醉组大脑皮层、海马和丘脑的 NOS 活性明显受到抑制,分别较对照组降低 19.80% ($P < 0.05$)、19.67% ($P < 0.05$)和 33.55% ($P < 0.01$),而在恢复 I 组除丘脑 NOS 活性仍受到明显抑制外(与对照组相比, $P < 0.01$),大脑皮层、海马的 NOS 活性明显恢复(与对照组相比, $P > 0.05$),在恢复 II 组大脑皮层、海马和丘脑的 NOS 活性明显恢复,与对照组相比,差异不显著($P > 0.05$),同时与麻醉组相比,差异显著或极显著($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。大鼠 ip 噻环乙胺 60 mg/kg 后,在麻醉组及恢复 I 组大脑皮层、海马和丘脑的 NOS 活性均受到明显抑制($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),而在恢复 II 组大脑皮层、海马和丘脑的 NOS 活性明显恢复,与对照组相比,差异不显著($P > 0.05$),同时与麻醉组相比,差异显著或极显著($P <$

0.05 或 $P < 0.01$)。在高、低剂量的麻醉组和恢复 I 组,噻环乙胺对大脑皮层、海马和丘脑的 NOS 活性均有不同程度的抑制作用,而且这种抑制作用随着用药剂量增加呈现出剂量依赖性增强的趋势。在两剂量噻环乙胺麻醉全过程中小脑和脑干 NOS 活性无明显变化。具体结果见表 2。不论是高剂量组还是低剂量组,大脑皮层、海马和丘脑的 NOS 活性变化趋势与大鼠行为学变化相平行(基本吻合)。而小脑、脑干的 NOS 活性变化趋势与大鼠行为学变化相比较,没有规律。

2.3 噻环乙胺对大鼠不同脑区 NO 产量的影响

在低剂量的麻醉组大脑皮层、海马和丘脑的 NO 产量明显下降,分别较对照组降低 42.46% ($P < 0.01$)、32.66% ($P < 0.01$)和 44.12% ($P < 0.01$)。而在恢复 I 组除大脑皮层 NO 产量明显恢复外(与对照组相比, $P > 0.05$),海马及丘脑的 NO

表 2 噻环乙胺对大鼠不同脑区 NOS 活性的影响

Table 2 Effect of tiletamine on the activity of NOS in different brain regions of rat ($\bar{x} \pm s, n=12$)

		nmol/(mg · min)				
		大脑皮层	海马	小脑	脑干	丘脑
		Cerebral cortex	Hippocampus	Cerebellum	Brain stem	Thalamus
低剂量组 Low dose group	对照组 Control group	1.01 ± 0.11	1.22 ± 0.13	1.95 ± 0.20	0.96 ± 0.09	1.49 ± 0.11
	麻醉组 Anesthesia group	0.81 ± 0.11*	0.98 ± 0.11**	1.85 ± 0.16	0.87 ± 0.09	0.99 ± 0.11**
	恢复 I 组 Recovery group I	0.88 ± 0.13	1.09 ± 0.10	1.97 ± 0.13	0.87 ± 0.10	1.22 ± 0.12**▲
	恢复 II 组 Recovery group II	1.02 ± 0.08▲▲	1.15 ± 0.10▲	1.88 ± 0.11	0.94 ± 0.11	1.32 ± 0.18▲▲
	对照组 Control group	1.01 ± 0.11	1.22 ± 0.13	1.95 ± 0.20	0.96 ± 0.09	1.49 ± 0.11
	麻醉组 Anesthesia group	0.63 ± 0.07***#	0.82 ± 0.08***#	1.75 ± 0.18	0.86 ± 0.09	0.85 ± 0.11**
高剂量组 High dose group	恢复 I 组 Recovery group I	0.78 ± 0.09**	1.02 ± 0.09*▲	1.93 ± 0.17	0.96 ± 0.14	1.04 ± 0.12**#▲
	恢复 II 组 Recovery group II	1.12 ± 0.18▲▲	1.24 ± 0.14▲▲	1.86 ± 0.21	0.99 ± 0.11	1.40 ± 0.10▲▲

与对照组比较, * . $P < 0.05$, ** . $P < 0.01$; 与低剂量组比较, # . $P < 0.05$, ## . $P < 0.01$; 与麻醉组比较, ▲ . $P < 0.05$, ▲▲ . $P < 0.01$ 。下同

Compared with control group, * . $P < 0.05$, ** . $P < 0.01$; Compared with low dose group, # . $P < 0.05$, ## . $P < 0.01$; Compared with anesthesia group, ▲ . $P < 0.05$, ▲▲ . $P < 0.01$. The same as below

产量仍显著低于对照组 ($P < 0.01$), 在恢复 II 组大脑皮层、海马和丘脑的 NO 产量明显恢复 (与对照组相比, $P > 0.05$)。在高剂量的麻醉组及恢复 I 组大脑皮层、海马和丘脑的 NO 产量明显受到抑制 (与对照组相比, $P < 0.01$), 而在恢复 II 组大脑皮层、海马和丘脑的 NO 产量明显恢复, 与对照组相比, 差异不显著 ($P > 0.05$), 但与麻醉组相比, 差异极显著 ($P < 0.01$)。在两剂量的麻醉组和恢复 I 组, 噻环乙胺对大脑皮层、海马和丘脑 NO 产量的抑制作用呈现出剂量依赖性增强的趋势。在不同剂量噻环乙胺麻醉全过程中小脑和脑干 NO 产量无明显变化。具体结果见表 3。不论是高剂量组还是低剂量组, 大脑皮层、海马和丘脑的 NO 含量变化趋势与大鼠行为学变化相平行 (基本吻合)。而小脑和脑干的 NO 含量变化趋势与大鼠的行为学变化相比较, 没有规律。

2.4 噻环乙胺对大鼠不同脑区 cGMP 含量的影响

大鼠 ip 噻环乙胺 30 mg/kg 后, 在麻醉组大脑

皮层、海马、丘脑的 cGMP 含量明显降低, 较对照组分别降低 35.30% ($P < 0.01$)、40.67% ($P < 0.01$) 和 26.48% ($P < 0.01$)。而恢复 I 组和恢复 II 组 cGMP 含量明显恢复, 与对照组相比, 差异不显著 ($P > 0.05$), 同时与麻醉组相比, 差异显著或极显著 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。大鼠 ip 噻环乙胺 60 mg/kg 后, 在麻醉组及恢复 I 组大脑皮层、海马和丘脑的 cGMP 含量明显受到抑制, 与对照组相比, 差异极显著 ($P < 0.01$), 而在恢复 II 组除丘脑 cGMP 含量仍处于抑制状态 (与对照组相比, $P < 0.05$), 大脑皮层、海马 cGMP 含量明显恢复 (与对照组相比, $P > 0.05$), 同时与麻醉组相比, 差异极显著 ($P < 0.01$)。在两剂量的麻醉组和恢复 I 组, 噻环乙胺对大脑皮层、海马和丘脑 cGMP 含量的抑制作用呈现出剂量依赖性增强的趋势。在不同剂量噻环乙胺麻醉全过程中小脑和脑干两脑区的 cGMP 含量无明显变化。具体结果见表 4。

表 3 噻环乙胺对大鼠不同脑区 NO 产量的影响

Table 3 Effect of tiletamine on the NO production in different brain regions of rat($\bar{x} \pm s, n=12$) $\mu\text{mol/g}$

		大脑皮层 Cerebral cortex	海马 Hippocampus	小脑 Cerebellum	脑干 Brain stem	丘脑 Thalamus
低剂量组 Low dose group	对照组 Control group	1.78±0.26	2.06±0.30	3.44±0.50	1.62±0.21	2.83±0.28
	麻醉组 Anesthesia group	1.02±0.24**	1.39±0.22**	3.18±0.40	1.76±0.20	1.58±0.27**
	恢复 I 组 Recovery group I	1.46±0.30▲	1.78±0.22**▲	3.44±0.25	1.49±0.17	2.17±0.31**▲
	恢复 II 组 Recovery group II	1.67±0.25▲▲	1.91±0.24▲▲	3.27±0.29	1.56±0.28	2.41±0.45▲▲
	对照组 Control group	1.78±0.26	2.06±0.30	3.44±0.50	1.62±0.21	2.83±0.28
	麻醉组 Anesthesia group	0.88±0.16***#	1.16±0.18**	3.33±0.44	1.37±0.22	1.24±0.27**
高剂量组 High dose group	恢复 I 组 Recovery group I	1.24±0.21**	1.60±0.22**▲	3.39±0.42	1.63±0.35	1.71±0.30***#▲
	恢复 II 组 Recovery group II	2.05±0.43▲▲	2.11±0.32▲▲	3.42±0.52	1.69±0.27	2.60±0.26▲▲

表 4 噻环乙胺对大鼠不同脑区 cGMP 含量的影响

Table 4 Effect of tiletamine on the cGMP content in different brain regions of rat($\bar{x} \pm s, n=12$) pmol/100 mg

		大脑皮层 Cerebral cortex	海马 Hippocampus	小脑 Cerebellum	脑干 Brain stem	丘脑 Thalamus
低剂量组 Low dose group	对照组 Control group	23.23±2.87	28.86±3.41	43.46±5.60	20.30±2.32	34.38±3.17
	麻醉组 Anesthesia group	15.03±2.56**	21.22±2.53**	40.56±4.46	21.85±2.19	20.40±2.97**
	恢复 I 组 Recovery group I	19.81±3.27▲	25.63±2.53▲	38.33±3.65	18.83±1.95	29.57±3.48▲
	恢复 II 组 Recovery group II	22.08±2.75▲▲	27.21±2.67▲▲	41.57±3.21	19.68±3.17	32.66±5.07▲▲
	对照组 Control group	23.23±2.87	28.86±3.41	43.46±5.60	20.30±2.32	34.38±3.17
	麻醉组 Anesthesia group	13.43±1.70**	18.62±2.01**	37.96±4.95	19.53±3.40	16.60±3.04**
高剂量组 High dose group	恢复 I 组 Recovery group I	18.41±2.29**▲	23.67±2.46**▲	42.95±4.65	20.43±3.87	21.87±3.35***#▲
	恢复 II 组 Recovery group II	21.39±2.87▲▲	25.21±3.01▲▲	42.61±4.15	18.07±2.44	28.86±2.81**▲▲

从表 4 可以看出,不论是高剂量组还是低剂量组,大脑皮层、海马和丘脑的 cGMP 含量变化趋势与大鼠行为学变化相平行(基本吻合)。而小脑和脑干的 cGMP 含量变化趋势与大鼠行为学变化相比

较,没有规律。

2.5 不同脑区 NOS 活性、NO 含量及 cGMP 含量相关性分析

结果表明在噻环乙胺麻醉下大脑皮层、海马及

丘脑 3 个脑区中 NOS 活性、NO 含量及 cGMP 含量相互之间呈现显著的相关性。而小脑、脑干的 NOS 活性、NO 产量及 cGMP 含量之间无相关性。具体结果见表 5。

表 5 不同脑区 NOS 活性、NO 含量及 cGMP 含量相关性分析

Table 5 Correlation analysis of the activity of NOS, NO production and cGMP content in rats different brain regions

		NOS 活性	NO 产量	cGMP 含量
		The activity of NOS	The NO production	The cGMP content
大脑皮层 Cerebral cortex	NOS 活性	1.000	0.964	0.884
	NO 产量	0.964	1.000	0.916
	cGMP 含量	0.884	0.916	1.000
海马 Hippocampus	NOS 活性	1.000	0.985	0.907
	NO 产量	0.985	1.000	0.918
	cGMP 含量	0.907	0.918	1.000
小脑 Cerebellum	NOS 活性	1.000	0.511	0.407
	NO 产量	0.511	1.000	0.199
	cGMP 含量	0.407	0.199	1.000
脑干 Brain stem	NOS 活性	1.000	0.456	0.299
	NO 产量	0.456	1.000	0.398
	cGMP 含量	0.299	0.398	1.000
丘脑 Thalamus	NOS 活性	1.000	0.954	0.954
	NO 产量	0.990	1.000	0.956
	cGMP 含量	0.954	0.956	1.000

3 讨论

NO 作为一种重要的信息物质,在中枢伤害性感受传递和维持清醒状态中发挥着重要作用。NO 作为鸟苷酸环化酶内源性活化因子,促进 cGMP 合成。cGMP 是 NO/cGMP 信号转导系统的中心环节^[7]。在中枢神经系统(CNS),与 NO/cGMP 信号转导系统有关的中枢神经通路包括兴奋性和抑制性两个方面,前者包括非特异性 N-甲基-D-天门冬氨酸(NMDA)受体介导的 NMDA 受体通路和乙酰胆碱激活的毒蕈碱型(M)受体通路,而后者涉及 GABA 通路和 α_2 -肾上腺素能受体激动通路。在 CNS 激活兴奋性通路,则通过 NO/cGMP 系统而使神经细胞内 cGMP 含量上升;而增强抑制性通路的功能,可使其下降。研究表明,多数麻醉药能明显减少大脑皮层和小脑等脑区 cGMP 的含量。NOS 抑制剂能使大鼠氟烷和异氟醚的 MAC 以及小鼠异氟醚的 MAC 和翻正反射均呈剂量依赖性降低,提示 NO/cGMP 信号转导系统的抑制可能促使了全身麻醉作用的出现^[8-9]。

全麻药影响 NO/cGMP 信号转导系统的环节

可能包括改变 cGMP 磷酸二酯酶活性,改变 NO 的半衰期,阻止 NO 的释放以及对 NOS 的直接作用等方面^[10]。噻环乙胺主要作用于 CNS 的 NMDA 受体,阻断兴奋性神经传导的 NMDA 受体是其产生麻醉作用的主要机制。相关研究表明,在 CNS 激活 NMDA 受体,即可兴奋 NO/cGMP 信号转导系统。在 NMDA 受体通道复合体与 NO/cGMP 信号转导系统之间是以 Ca^{2+} 作为桥梁来发挥效应的,内源性 NO 介导了 NMDA 引发的兴奋性,成为 NMDA 功能的执行者之一,其具体过程包括:突触前的去极化刺激使谷氨酸释放到突触间隙,随即与突触后膜上的谷氨酸受体结合,NMDA 受体通道复合体被活化后,通道开放, Ca^{2+} 大量内流,导致 $[Ca^{2+}]_i$ 增高, Ca^{2+} 与钙调蛋白偶联并结合于胞质 NOS 上相应的结合位点,在还原型辅酶 II (NADPH) 等辅助因子的协同下激活 NOS,催化 L-精氨酸氧化生成 NO 和胍氨酸,使神经细胞内 cGMP 含量上升,引发细胞一系列的级联反应,发挥信息传递作用,从而通过多途径诱发神经系统的生理反应,如神经兴奋性的传导和视觉的形成等生物学效应。同样,阻断 NMDA 受体,将抑制 NO/cGMP 信号转导系统,使

cGMP 含量降低,从而抑制神经兴奋性的传导过程,改变意识状态,产生镇静、催眠效应^[11-12]。

分析结果发现大鼠 ip 不同剂量的噻环乙胺后,在翻正反射消失后不但大脑皮层、海马和丘脑的 NOS 活性受到明显抑制,而且显著减少上述脑区 NO 产量和 cGMP 含量;在翻正反射恢复后,上述 3 个脑区的 NOS 活性、NO 产量、cGMP 含量均有不同程度的恢复,且低剂量恢复显著。到大鼠可直线爬行时除高剂量组丘脑 cGMP 含量仍处于明显降低状态(与对照组相比, $P > 0.05$),其余均显著恢复,基本上恢复至麻醉前正常水平。大脑皮层、海马和丘脑的 NOS 活性、NO 产量、cGMP 含量的这种变化趋势与大鼠行为学变化相平行(基本吻合)。剂量组间比较结果表明:在两剂量的麻醉组和恢复 I 组大脑皮层、海马和丘脑 NOS 活性、NO 产量、cGMP 含量在麻醉全过程呈现出剂量依赖性抑制增强趋势。不同脑区的 NOS 活性、NO 产量及 cGMP 含量相关性分析结果表明:在噻环乙胺麻醉下大脑皮层、海马及丘脑 3 个脑区中 NOS 活性、NO 含量及 cGMP 含量相互之间呈现显著的相关性。综合试验结果,NO/cGMP 信号转导系统参与了噻环乙胺的全麻分子学调控,且噻环乙胺的麻醉作用可能与抑制大脑皮层、海马和丘脑等脑区 NO/cGMP 信号转导系统相关。

参考文献:

- [1] QUIMM A C, PETROS A J, VALLANCE P. Nitric oxide: An endogenous gas [J]. *B J Anaesth*, 1995, 74: 443.
- [2] YÜKSEL K, WILHELM B, SÖNKE B, et al. NO-cGMP signaling molecules in the rat epithelial rests of Malassez [J]. *European Journal of Oral Sciences*, 2004, 112 (1): 55-60.
- [3] TSUGUNOBU A, CHOCK P B, CHIUEH C C. Preconditioning-mediated neuroprotection role of nitric oxide, cGMP, and new protein expression [J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2002, 962(5): 1-7.
- [4] LUISTO S P, JAMES E B. Etomidate and telazol [J]. *The Veterinary Clinics of North America-Small Animal Practice*, 1999, 29: 779-793.
- [5] SWEITZER R A, GHNEIM G S, GARDNER I A. Immobilization and physiological parameters associated with chemical restraint of wild pigs with telazol and xylazine hydrochloride [J]. *Journal of Wildlife Diseases*, 1997, 32(2): 198-205.
- [6] WILIAMS B L, ROGERS E R. Increasing xylazine combination in swine [J]. *Laboratory Animals Science*, 1995, 29(3): 269-275.
- [7] 王伟鹏,李立环. 临床麻醉学[M]. 第 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 269-271.
- [8] 庄心良,曾因明,陈伯銮. 现代麻醉学[M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 397-399.
- [9] JOHNS R A. Nitric oxide, cyclic guanosine monophosphate, and the anesthetic state [J]. *Anesthesiology*, 1996, 85: 457-459.
- [10] 孙大业,郭艳林,马力耕. 细胞信号转导[M]. 第 3 版. 北京: 科学出版社, 2002: 94-96.
- [11] SHUMIN L, MAURO F, IPE N, et al. α -Synuclein involvement in hippocampal synaptic plasticity: role of NO, cGMP, cGK and CaMKII [J]. *European Journal of Neuroscience*, 2007, 25 (12): 3583-3596.
- [12] MADHUSOODANAN K S, FERID M. NO-cGMP signaling and regenerative medicine involving stem cells [J]. *Neurochemical Research*, 2007, 32 (4): 681-694.