

硫喷妥钠对大鼠不同脑区 ATP 酶活性的影响

张林^{1*}, 戴体俊², 刘红亮^{1*}, 孟晶², 段世明²

(1. 青岛大学医学院附属医院麻醉科, 山东 青岛 266003; 2. 徐州医学院江苏省麻醉学重点实验室, 江苏 徐州 221002)

摘要:目的 探讨硫喷妥钠对大鼠不同脑区 ATP 酶活性的动态影响, 是否与麻醉作用有关。方法 采用♂ SD 大鼠 40 只, 随机分为 5 组, 生理盐水(10 mL·kg⁻¹, ip)对照期组及给硫喷妥钠(30 mg·kg⁻¹, ip)后的诱导期组、麻醉期组、恢复期组、清醒期组。断头取脑, 用分光光度法测定大脑皮层、脑干、海马和纹状体 Na⁺, K⁺-ATP 酶、Ca²⁺-ATP 酶活性。结果 给硫喷妥钠后大脑皮层的 Na⁺, K⁺-ATP 酶活性在诱导期和恢复期显著降低, 而 Ca²⁺-ATP 酶活性在诱导期和麻醉期显著升高, 到清醒期时, 两种酶活性均恢复到对照期组水平; 脑干的 Na⁺, K⁺-ATP 酶、Ca²⁺-ATP 酶活性在给硫喷妥钠后诱导期、麻醉期和恢复期均显著低于对照期组, 直至清醒期仍与对照组有显著性差异, 而以诱导期最低。海马、纹状体的 Na⁺, K⁺-ATP 酶和 Ca²⁺-ATP 酶活性则在整个麻醉期间无明显变化。结论 硫喷妥钠的全麻作用可能与其影响大脑皮层和脑干的 ATP 酶活性有关。

关键词:硫喷妥钠; 腺苷三磷酸酶; 脑

中图分类号: R971.2

文献标识码: A

文章编号: 1000-3002(2002)03-0188-03

硫喷妥钠(thiopental sodium)为一经典的静脉麻醉药, 广泛地应用于麻醉诱导和维持, 小剂量引起镇静和催眠, 大剂量引起麻醉。一般认为, 其主要的中

枢作用部位是在大脑皮质和脑干网状结构, 抑制后者的上行激活系统, 降低皮质的兴奋性, 且直接影响皮质的多突触传导。对小脑、前庭和脊髓的抑制作用较弱^[1]。然而其全麻作用的确切机理仍然不十分清楚。ATP 酶在维持神经细胞的兴奋性、传导性和影响神经递质的释放等方面具有极为重要的作用^[2]。本研究的目的在于探讨硫喷妥钠全麻作用是否与脑 ATP 酶活性有关。

1 材料与方法

1.1 药品和试剂

硫喷妥钠为上海新亚制药厂产品, 批号 91102; 高速冷冻离心机(CR-21, 日本); 超低温冰箱(Harris, 美国); 紫外光栅分光光度计(752-G, 上海分析仪器厂); ATP 酶试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

1.2 动物和模型

♂ Sprague-Dawley(SD)大鼠 40 只, 体重(275 ± 25)g($\bar{x} \pm s$), 随机分为 5 组, 每组 8 只, 分别在 ip 生理盐水 10 mL·kg⁻¹ 5 min 后(对照组), ip 硫喷妥钠 30 mg·kg⁻¹ 2 min 后, 翻正反射消失前(诱导期组), 翻正反射消失后 5 min(麻醉期组), 翻正反射刚恢复尚未完全清醒(恢复期组), 动物完全清醒后(清醒期组)断头取脑, 在生理盐水冰面上迅速分取皮层、脑干、双侧海马和纹状体, 置于液氮中冷冻备用。将不同脑区的脑组织称重后置入预冷的生理盐水中, 按 10% 体积匀浆, 匀浆液置于高速冷冻离心机中, 离心(4000 × g, 10 min), 取上清液测定 ATP 酶活性(0 ~ 4℃)。

1.3 ATP 酶活性测定

采用比色法测定 ATP 酶催化分解 ATP 生成的无机磷, 双缩脲法测定蛋白质含量^[3]。

1.4 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用方差分析和 *q'* 检验处理数据。

收稿日期: 2001-03-12 接受日期: 2001-12-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39970715)

作者简介: 张林(1968-), 男, 山东淄博人, 主治医师, 医学硕士, 主要从事脑复苏及全麻机理的研究; 戴体俊(1945-), 男, 江苏徐州人, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事麻醉药理学研究。

* 联系作者 Tel: (0532)2911519, 13012554395, Fax: (0532)2911301, E-mail: KLZhangcn@yahoo.com.cn

2 结果

2.1 硫喷妥钠对大鼠大脑 Na⁺, K⁺-ATP 酶及 Ca²⁺-ATP 酶活性的影响

表 1 结果表明,硫喷妥钠(30 mg·kg⁻¹, ip)能明显抑制大脑皮层 Na⁺, K⁺-ATP 酶活性。与对照组比较,诱导期及恢复期活性显著降低,但麻醉期活性下降不显著($P > 0.05$)。硫喷妥钠(30 mg·kg⁻¹, ip)能使大脑皮层 Ca²⁺-ATP 酶活性明显升高,与对照组比较,诱导期和麻醉期活性显著增高,但恢复期活性升高未达显著水平。清醒期大脑皮层 Na⁺, K⁺-ATP 酶及 Ca²⁺-ATP 酶活性恢复,与对照期组比较已无显著差异($P > 0.05$)。给硫喷妥钠(30 mg·kg⁻¹, ip)后,脑干 Na⁺, K⁺-ATP 酶活性明显降低,诱导期、麻醉期及恢复期与对照期比较分别下降 51%、62% 和 44%。清醒期与对照期比较差异无显著性($P > 0.05$)。硫喷妥钠(30 mg·kg⁻¹, ip)还能使脑干 Ca²⁺-ATP 酶活性明显降低,诱导期、麻醉期及恢复期与对照期比较均有显著差异。清醒期略有恢复,但与对照组比较仍有显著性差异。此外,海马、纹状体 Na⁺, K⁺-ATP 酶活性及 Ca²⁺-ATP 酶活性在给硫喷妥钠后从麻醉诱导期至清醒期与对照期组均无显著性差异($P > 0.05$, 数据资料略)。

3 讨论

本研究的新意在于改静态研究为动态研究,把生化测定与行为变化紧密结合起来。发现临床相关剂量的硫喷妥钠能明显影响大鼠大脑皮层、脑干 Na⁺, K⁺-ATP 酶和 Ca²⁺-ATP 酶的活性,但对海马、纹状体无明显影响。这与硫喷妥钠的中枢作用部位主要是皮层和脑干网状结构上行激活系统相符^[1]。

神经系统分布有较高的 Na⁺, K⁺-ATP 酶, Na⁺, K⁺-ATP 酶在维持跨膜 Na⁺ 电化学梯度中发挥着重要作用,进而对突触的化学传递作用以及神经传导功能的兴奋性产生重要影响,因此, Na⁺, K⁺-ATP 酶活性的降低必然影响突触的化学传递作用及神经的传导功能^[4]。本实验结果表明,硫喷妥钠可使皮层、脑干的钠泵活性在诱导期降低,直至清醒期才基本恢复正常,此变化与行为变化相一致,表明钠泵很可能是硫喷妥钠的主要作用靶位之一。钙离子是膜兴奋性和递质释放的耦联因子, Ca²⁺ 内流的数量与突触前膜去极化的程度有关。Na⁺/Ca²⁺ 交换蛋白在结构上与 Na⁺, K⁺-ATP 酶具有相似性。中枢神经系统对 Ca²⁺ 浓度的调节除通过各型 Ca²⁺ 通道外,主要是通过 Ca²⁺-ATP 酶和 Na⁺/Ca²⁺ 交换这两个机理维持细胞内 Ca²⁺ 稳态^[5]。突触体 Ca²⁺-ATP 酶可将 Ca²⁺ 从细胞内泵出,影响 Ca²⁺ 衰减曲线和 Ca²⁺ 振荡,维持胞浆 Ca²⁺ 稳态。本研究发现临床相关剂量的硫喷妥钠能显著影响大鼠大脑皮层、脑干 Ca²⁺-ATP 酶的活性。这进一步证实了硫喷妥钠全麻作用机理之一,可能是通过对 Ca²⁺-ATP 酶活性的影响,进而扰乱细胞内 Ca²⁺ 稳态,影响突触兴奋、传递和递质释放。质膜 Ca²⁺-ATP 酶的主要功能是维持胞浆 Ca²⁺ 的低稳态,这需通过离子交换。本研究表明,硫喷妥钠能抑制脑干的 Ca²⁺-ATP 酶活性,这可能是硫喷妥钠导致胞内 Ca²⁺ 浓度升高的机理之一。已有研究表明临床相关浓度的异丙酚能使神经细胞内 Ca²⁺ 浓度短暂性升高^[6]。胞内 Ca²⁺ 能介导麻醉药对 γ 氨基丁酸受体的作用,推测硫喷妥钠抑制脑干 Ca²⁺-ATP 酶活性,也参与其中枢抑制作用。硫喷妥钠使皮层 Ca²⁺-ATP 酶活性增高的原因,尚待进一步研究。

Tab 1. Effects of thiopental sodium on Na⁺, K⁺-ATPase and Ca²⁺-ATPase activities in rat brain

| Phase | Na ⁺ , K ⁺ -ATPase /mmol·h ⁻¹ ·g ⁻¹ portein | | Ca ²⁺ -ATPase /mmol·h ⁻¹ ·g ⁻¹ portein | |
|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|----------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| | Cortex | Brain stem | Cortex | Brain stem |
| Control | 6.3 ± 1.4 | 7.1 ± 0.8 | 4.8 ± 1.1 | 6.5 ± 1.4 |
| Induction | 4.0 ± 0.9* # | 3.5 ± 1.0* * * # | 6.1 ± 1.3* # | 2.6 ± 0.7* * * # # |
| Anesthesia | 5.0 ± 1.6 | 2.7 ± 0.7* * # | 6.1 ± 1.3* # | 3.6 ± 0.3* * |
| Restoration | 4.9 ± 1.2* | 4.0 ± 1.1* * * # | 5.9 ± 1.5 | 3.8 ± 0.9* * |
| Awake | 5.3 ± 1.3 | 5.9 ± 1.1* | 4.6 ± 1.0 | 4.2 ± 1.0* * |

Experimental groups were administered ip thiopental sodium 30 mg·kg⁻¹. Control group was given ip normal saline 10 mL·kg⁻¹. $\bar{x} \pm s$, $n = 8$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, compared with awake group.

研究结果提示,硫喷妥钠的中枢抑制效应,可能与其影响脑 Na^+ , K^+ -ATP 酶和 Ca^{2+} -ATP 酶活性有关。

4 参考文献:

- [1] Liu JJ, Zhao J. *Modern Anesthesiology* (现代麻醉学) [M]. 2nd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 1997. 279 - 284.
- [2] Cheng TY, Wu BJ. Construction and function of Na^+ , K^+ -ATPase[J]. *World Notes Mol Biol* (国外医学·分子生物学分册), 1990, 12(5):236 - 238.
- [3] Xu SY, Bian RL, Chen X. *Methods of Pharmacologic Experiments* (药理实验方法学)[M], 2nd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 1991. 449 - 501.
- [4] Boireau A, Meunier M, Imperato A. Ouabain-induced increase in dopamine release from mouse striatal slices is antagonized by riluzole[J]. *J Pharm Pharmacol*, 1998, 50(11):1293 - 1297.
- [5] Janicki PK, Horn JL, Singh G, Janson VE, Franks WT, Franks JJ. Reduced anesthetic requirements, diminished brain plasma membrane Ca^{2+} -ATPase pumping, and enhanced brain synaptic plasma membrane phospholipid methylation in diabetic rats: effects of insulin[J]. *Life Sci*, 1995, 56(18):PL357 - PL363.
- [6] Ratnakumari L, Hemmings HC. Effects of propofol on sodium channel-dependent sodium influx and glutamate release in rat cerebrocortical synaptosomes[J]. *Anesthesiology*, 1997, 86(2):428 - 439.

Effects of thiopental sodium on ATPase activities in different brain regions of rats

ZHANG Lin¹, DAI Ti-Jun², LIU Hong-Liang¹, MENG Jing², DUAN Shi-Ming²

(1. Department of Anesthesiology, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, China, 2. Key Lab of Anesthesiology of Jiangsu Province, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, China)

Abstract: **AIM** To investigate whether the dynamic changes of ATPase activities induced by thiopental sodium are related to its anesthetic effect. **METHODS** Forty SD rats were randomly divided into five groups (control, induction, anesthesia, restoration, awake). Thiopental sodium ($30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ip) or normal saline ($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, control group) was intraperitoneally injected respectively. The activities of Na^+ , K^+ -ATPase and Ca^{2+} -ATPase were measured by spectrophotometric analysis. **RESULTS** Thiopental sodium treatment decreased the Na^+ , K^+ -ATPase activity of cortex in rats significantly in phases of induction and restoration, while Ca^{2+} -ATPase activity of cortex was increased significantly in phases of induction and anesthesia, and the two ATPases restore to the level of control in

awake phase. After administration of thiopental sodium, Na^+ , K^+ -ATPase and Ca^{2+} -ATPase activities of brain stem were significantly lower than those in control group, even in awake phase. The activities of ATPases of hippocampus and striatum were changed little. **CONCLUSION** The central inhibitory effects of thiopental sodium may be related to the changes of the activities of Na^+ , K^+ -ATPase and Ca^{2+} -ATPase in cortex and brain stem of rats.

Key words: thiopental sodium; adenosine triphosphatase; brain

Foundation item: The project supported by National Natural Science Foundation of China (39970715)

(本文编辑 周宇红)