

研究论文

依托咪酯对新生大鼠离体脊髓运动神经元下行激活的影响

郑超, 汪萌芽*

皖南医学院细胞电生理研究室, 芜湖 241002

摘要: 脊髓下行激活通路是启动和调控随意运动的重要途径, 全麻药对其的影响是否参与了肌松作用的产生及其兴奋性氨基酸受体机制, 尚不完全清楚。为深入探索依托咪酯(etomidate, ET)对离体大鼠脊髓运动神经元(motoneuron, MN)下行激活的影响及可能的谷氨酸受体机制, 本实验应用7~14日龄新生大鼠脊髓切片MN细胞内记录技术, 观察ET对MN电刺激脊髓同侧腹外侧索(ventrolateral funiculus, VLF)诱发兴奋性突触后电位(excitatory postsynaptic potential, EPSP)(简称VLF-EPSP)的作用。对能稳定记录到VLF-EPSP的MN依次灌流0.3、3.0 (相当于临床浓度)和30.0 $\mu\text{mol/L}$ 的ET。结果显示0.3 $\mu\text{mol/L}$ 的ET对VLF-EPSP及其N-甲基-D-门冬氨酸(*N*-methyl-*D*-aspartate, NMDA)和非NMDA (non-NMDA)受体成分具有双向作用: 既可表现增强, 使VLF-EPSP和NMDA受体介导的VLF-EPSP成分的时程延长、曲线下面积增大和(或)半幅时程延长($P < 0.05$), non-NMDA受体介导的VLF-EPSP成分幅度升高、曲线下面积增大、半幅时程延长($P < 0.05$); 也可表现抑制, 使VLF-EPSP及其NMDA和non-NMDA受体成分的幅度降低、曲线下面积减小(皆 $P < 0.05$)。而灌流浓度 $\geq 3.0 \mu\text{mol/L}$ 的ET, 仅呈浓度、时间依赖性抑制, 表现为VLF-EPSP及其NMDA和non-NMDA受体成分的幅度和(或)时程和(或)曲线下面积显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。此外, 与VLF-EPSP的non-NMDA受体成分相比, $\geq 3.0 \mu\text{mol/L}$ 的ET更易于压抑NMDA受体成分。以上结果表明, ET对下行激活的突触传递及介导VLF-EPSP的谷氨酸受体呈现浓度相关的差异性作用。

关键词: 依托咪酯; 脊髓; 运动神经元; 下行激活; 兴奋性突触后电位; 谷氨酸受体

中图分类号: R338

Effects of etomidate on descending activation of motoneurons in neonatal rat spinal cord *in vitro*

ZHENG Chao, WANG Meng-Ya*

Cell Electrophysiology Laboratory, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China

Abstract: Descending activation pathways in spinal cord are essential for inducing and modulating autokinesis, but whether the effects of general anesthetic agents on the descending pathways are involved in initiation of skeletal muscle relaxation or not, as well as the underlying mechanisms on excitatory amino acid receptors still remain unclear. In order to explore the mechanisms underlying etomidate's effects on descending activation of spinal cord motoneurons (MNs), the conventional intracellular recording techniques in MNs of spinal cord slices isolated from neonatal rats (7–14 days old) were performed to observe and analyze the actions of etomidate on excitatory postsynaptic potential (EPSP) elicited by electrical stimulation of the ipsilateral ventrolateral funiculus (VLF), which was named VLF-EPSP. Etomidate at 0.3, 3.0 (correspond to clinical concentration) and 30.0 $\mu\text{mol/L}$ were in turn perfused to MN with steadily recorded VLF-EPSPs. At low concentration (0.3 $\mu\text{mol/L}$), etomidate increased duration, area under curve and/or half-width of VLF-EPSP and *N*-methyl-*D*-aspartate (NMDA) receptor-mediated VLF-EPSP component (all $P < 0.05$), as well as amplitude, area under curve and half-width of non-NMDA receptor-mediated VLF-EPSP component (all $P < 0.05$), or decreased amplitude and area

Received 2011-11-25 Accepted 2012-02-16

This work was supported by the Research Fund of Anhui Province for Outstanding Young Talents in Colleges and Universities, China (No. 2010SQRL177), the Anhui Provincial Natural Science Foundation, China (No. 090413084) and the National Natural Science Foundation of China (No. 30270366).

*Corresponding author. Tel: +86-553-3932276; E-mail: wangmy@wnmc.edu.cn

under curve of VLF-EPSP, its NMDA receptor component, and non-NMDA receptor component (all $P < 0.05$). However, at 3.0 and 30.0 $\mu\text{mol/L}$, it was only observed that etomidate exerted inhibitory effects on amplitude and/or duration and/or area under curve of VLF-EPSP ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) with concentration- and time-dependent properties. Moreover, NMDA receptor-mediated VLF-EPSP component was more sensitive to etomidate at $\geq 3.0 \mu\text{mol/L}$ than non-NMDA receptor-mediated VLF-EPSP component did. As a conclusion, etomidate, at different concentrations, exerts differential effects on VLF-EPSP and glutamate receptors mediating the synaptic transmission of descending activation of MNs in neonatal rat spinal cord *in vitro*.

Key words: etomidate; spinal cord; motor neurons; descending activation; excitatory postsynaptic potential; glutamate receptors

脊髓运动神经元 (motoneuron, MN) 的活动依赖于多通路调控, 包括外周传入、各种下行通路和脊髓内神经元网络的突触调制。由脑干发出的下行通路可直接或间接 (通过中间神经元) 影响脊髓 MN, 运动控制的最高水平大脑皮层运动区也可直接 (通过皮层脊髓束) 或间接 (通过脑干的下行系统) 下行到脊髓, 对其运动传出进行调控^[1]。因此, 下行激活通路在传递运动控制高级中枢的指令中具有重要作用。脊髓伤害性反射也往往需要高级中枢通过下行通路介导精细的随意运动来更有效地躲避刺激^[2], 但在镇痛研究中, 有时利用镇痛药或针刺对下行运动控制并不影响, 但可抑制伤害性反射^[3], 表现出分离抑制现象, 提示药物或针刺镇痛对感觉作用的特异性。然而, Jin 等研究发现投射到脊髓灰质的 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 能下行纤维对针刺镇痛机制并不重要, 但与吗啡镇痛关系密切^[4], 这也提示了不同镇痛方法可能对下行通路具有不同的影响。在与此相似的全麻药脊髓作用特别是肌松作用的机制研究中, 全麻药对下行激活通路的影响是否参与了肌松作用的产生及其受体机制, 尚不完全清楚。

依托咪酯 (etomidate, ET) 是一种静脉麻醉剂, 具有起效快、恢复快、镇痛作用确切和基本无副作用等优点, 被广泛用于临床麻醉。目前, 有关 ET 全麻作用的中枢机制研究结果^[5-9], 均提示 ET 主要通过增强 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 能系统的作用而抑制神经元的兴奋性, 并与抑制 Na^+ 、 Ca^{2+} 和延迟整流 K^+ 通道, 激活 K_{Ca} 通道等有关^[10-13]。但这些研究在脊髓水平仅限于背角, 有关 ET 对抗伤害作用中重要一环的脊髓 MN 的作用机制, 尤其对兴奋性氨基酸受体 [如 *N*-甲基-D-门冬氨酸 (*N*-methyl-D-aspartate, NMDA) 和非 NMDA (non-NMDA) 受体] 是否存在直接作用鲜有报道。前期研究中, 我们已观察、分析了 ET 对电刺激外周感觉传入的脊髓背根所诱发的 MN 兴奋性突触传

递的作用^[14], 而 ET 对 MN 下行激活的突触传递是否有影响, 以及机制如何? 至今未见报道。

为此, 本实验采用脊髓切片 MN 细胞内记录技术, 用电刺激腹外侧索 (ventrolateral funiculus, VLF) 作为对下行纤维的激活^[15,16], 观察 ET 对电刺激脊髓同侧 VLF 诱发的兴奋性突触后电位 (excitatory postsynaptic potential, EPSP) (简称 VLF-EPSP) 的作用, 并进行受体机制的初步分析。

1 材料和方法

1.1 实验材料 7~14 日龄新生 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 40 只, 雌雄不拘, 由南京江宁青龙山动物繁殖场提供, 许可证号 SCXK(苏)2002-0018。

ET 为德国贝朗医疗有限公司产品“宜妥利” (0.2%, *W/V*) 的有效成分, 进口药品注册证号: X8002522。荷包牡丹碱 (bicuculline)、印防己毒素 (picrotoxin)、土的宁 (strychnine)、DNQX (6,7-dinitroquinoxaline-2,3-dione)、APV (2-amino-5-phosphonopentanoic acid) 和二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 均为 Sigma 公司产品。荷包牡丹碱、印防己毒素、土的宁和 APV 用蒸馏水配成母液, DNQX 用 DMSO 助溶后配成母液, 均置冰箱冷冻备用, 临用前用人工脑脊液 (artificial cerebrospinal fluid, ACSF) 稀释到所需浓度灌流给药。ACSF 的配方^[17]为 (mmol/L): NaCl , 127; KCl , 1.9; KH_2PO_4 , 1.2; CaCl_2 , 2.4; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1.3; NaHCO_3 , 26; $\text{Glucose} \cdot \text{H}_2\text{O}$, 10。

1.2 脊髓切片制备 参照文献^[17], 取 7~14 日龄新生 SD 大鼠, 在乙醚合并冰浴麻醉下, 分离出含腰膨大的脊髓段, 用振荡切片器 (Vibratome) 制备横切脊髓厚片 (400~500 μm) 3~4 片, 置室温 (23~25 $^{\circ}\text{C}$) 下的 ACSF 中孵育、备用。ACSF 用混合气体 (95% O_2 + 5% CO_2) 饱和。从游离脊髓到完成切片制备整个过程尽量控制在 15 min 以内。

1.3 电生理记录 切片于室温下孵育 1 h 后, 用

吸管移入自制的全浸式记录浴槽,用上、下两个丝网相夹固定,注意暴露出两侧脊髓 VLF,并用混合气体饱和的 ACSF 以 2~3 mL/min 速度经恒流泵持续灌流脊髓切片。

将含纤维玻璃毛坏用 P-97 型水平式程控拉制仪 (Sutter Instrument Co., USA) 拉制成微电极,取内充 3 mol/L 乙酸钾、尖端阻抗为 100~140 MΩ 的微电极,在体视显微镜下,利用微操纵仪 (MP-1, Narishige, Japan) 和微电极放大器的遥控开关 (Buzz),对脊髓切片腹角区域进行 MN 穿刺。记录到的电信号通过 Axoclamp-2B 微电极放大器 (Axon Instruments, USA) 放大后,经 DigiData 1200 接口输入微机,用 pClamp 7.0 软件 (Axon) 进行采样、记录和贮存。细胞内电流注射由微机触发,信号经 DigiData 1200 联机接口传到微电极放大器后,刺激电流由探头输出经微电极注入细胞内。VLF 和腹根电刺激,由三通道电刺激器 (日本光电) 产生的方波脉冲分别经刺激器中一个通道输出,经隔离器以恒压模式至同芯双极刺激电极,刺激电极尖端放置到脊髓切片的同侧 VLF 和腹根,用于激活 VLF 下行纤维和腹根中的 MN 轴突。

1.4 数据分析与统计方法 用 pClamp 8.0 中的 Clampfit 8.1 软件 (Axon) 和 Origin 5.0 软件 (Microcal Software Inc., USA) 对实验记录资料进行分析、作图。数据以 mean ± SD 表示。统计方法用配对 *t* 检验和单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

通过加在脊髓腹根的同芯双极刺激电极,对静息电位 (resting potential, RP) 负于 -60 mV 且动作电位 (action potential, AP) 有超射的记录稳定的细胞进行逆行激活鉴定,若记录到具有“全或无”特点的 AP (逆行 AP) 或碰撞试验阳性,即可鉴定为 MN,并用于以下实验。

2.1 ET 对 MN VLF-EPSP 的影响

在记录稳定的 MN,对脊髓同侧 VLF 给予电刺激 (0.1~0.2 ms, 0.1 Hz, 20~100 V),以诱发 VLF-EPSP,待记录稳定后,依次累积灌流 0.3、3.0 和 30.0 μmol/L ET (3.0 μmol/L 相当于临床浓度^[18]),观察 ET 的作用。对 12 例实验数据分析时,发现 ET 在 0.3 μmol/L 时对 VLF-EPSP 存在双向作用,即兴奋和抑制作用皆可随机出现,遂分为 VLF-I 组和 VLF-II

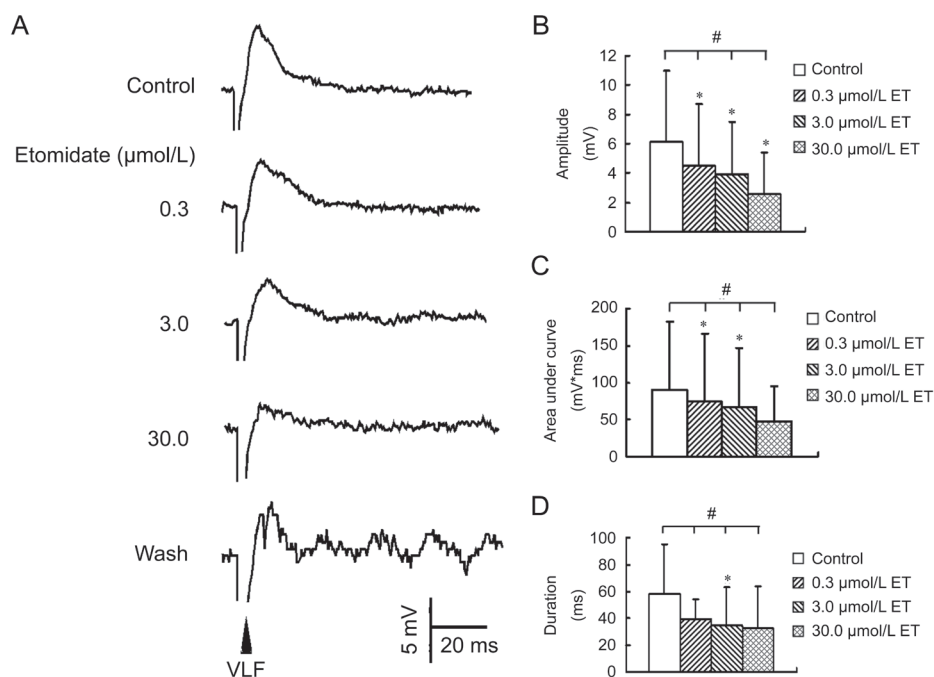


图 1. 依托咪酯对运动神经元(VLF-I组)VLF-EPSP的抑制作用

Fig. 1. Inhibitory effects of etomidate (ET) on VLF-EPSPs in motoneurons (MNs) (Group VLF-I). A: Typical recordings in an MN with resting potential of -76 mV. Arrow head indicates VLF electrical stimulus artifact. B, C and D: Histograms (mean ± SD, $n = 5$) summarizing the inhibitory effects of ET at 0.3, 3.0 and 30.0 μmol/L on amplitude (B), area under curve (C) and duration (D) of VLF-EPSP, respectively. Paired *t* test: * $P < 0.05$ vs control; One-way ANOVA among concentration groups: # $P < 0.05$.

组进行统计分析, 具体如下。

在 5 个 MN (VLF-I 组), 典型结果见图 1A。0.3 $\mu\text{mol/L}$ ET 显著性压抑 VLF-EPSP 的幅度和曲线下面积 (皆 $P < 0.05$, 图 1A~C); 3.0 $\mu\text{mol/L}$ ET 抑制 VLF-EPSP 的幅度、曲线下面积和时程 (皆 $P < 0.05$, 图 1A~D); 30.0 $\mu\text{mol/L}$ ET 抑制 VLF-EPSP 的幅度 ($P < 0.05$, 图 1A 和 B)。其中 0.3、3.0、30.0 $\mu\text{mol/L}$ ET 分别取消 1 个 MN 的 VLF-EPSP 或呈现为抑制性突触后电位。对于幅度、曲线下面积和时程 3 项指标, ET 不同浓度组间单因素方差分析显示差异有显著性意义 (皆 $P < 0.05$, 图 1B~D)。

在另外 7 个 MN (VLF-II 组), 代表性结果见图 2A。0.3 $\mu\text{mol/L}$ ET 增大 VLF-EPSP 的曲线下面积并延长时程 (皆 $P < 0.05$, 图 2A, C 和 D), 并有一个 MN 在 VLF-EPSP 基础上爆发 AP, 但之后 3.0 $\mu\text{mol/L}$ ET 的抑制作用不显著, 30.0 $\mu\text{mol/L}$ ET 抑制 VLF-EPSP 的幅度、延长潜伏期 (皆 $P < 0.05$, 图 2A, B 和 E), 并能可逆地完全取消 2 个 MN 的 VLF-EPSP。

2.2 ET对VLF-EPSP的NMDA受体成分的影响

应用 30.0 $\mu\text{mol/L}$ 荷包牡丹碱、1.0 $\mu\text{mol/L}$ 士的宁和 10.0 $\mu\text{mol/L}$ DNQX 联合预处理 ($n = 6$), 待所记录的 VLF-EPSP 稳定后, 再灌流 0.3~3.0 $\mu\text{mol/L}$

ET 和荷包牡丹碱、士的宁、DNQX 的混合溶液, 记录的典型结果见图 3A。结果显示: 灌流 0.3 $\mu\text{mol/L}$ ET 15 min 后, 可增大 VLF-EPSP 曲线下面积、时程和半幅时程 (皆 $P < 0.05$, 图 3A, C~E), 但有一个细胞被抑制; 灌流 3.0 $\mu\text{mol/L}$ ET 15 min 后, 可抑制 VLF-EPSP 幅度和曲线下面积 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$, 图 3A~C), 并能可逆地完全取消 3 个 MN 的 VLF-EPSP, 该作用可被含上述工具药的 ACSF 洗出。在曲线下面积、时程 2 项指标上, ET 各浓度组间差异均有显著性意义 (单因素方差分析, 皆 $P < 0.05$, 图 3C, D)。

2.3 ET对VLF-EPSP的non-NMDA受体成分的影响

预先灌流 30.0 $\mu\text{mol/L}$ 荷包牡丹碱或 30.0 $\mu\text{mol/L}$ 印防己毒素、1.0 $\mu\text{mol/L}$ 士的宁和 10.0 $\mu\text{mol/L}$ APV ($n = 6$), 待 VLF-EPSP 稳定后, 再灌流 0.3~300.0 $\mu\text{mol/L}$ ET 和荷包牡丹碱或印防己毒素、士的宁、APV 的混合溶液, 记录的典型结果见图 4A。结果显示: 灌流 0.3 $\mu\text{mol/L}$ ET 15 min 后 ($n = 6$), 除有一个 MN 的 VLF-EPSP 被抑制外, 对 VLF-EPSP 皆有增强作用, 表现为幅度、曲线下面积和半幅时程增大 (皆 $P < 0.05$, 图 4A~C 和 E); 灌流 3.0、30.0 $\mu\text{mol/L}$ ET 各 15 min 后, VLF-EPSP 可逐渐被抑制, 但作用比

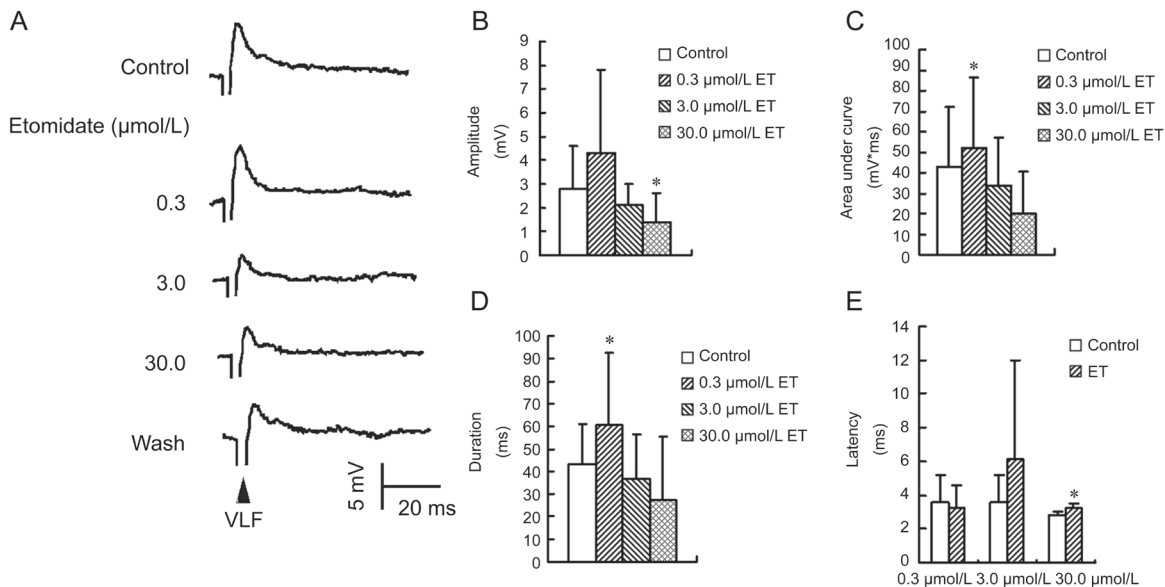


图 2. 依托咪酯对运动神经元(VLF-II组)VLF-EPSP的差异化作用

Fig. 2. Diversified effects of etomidate (ET) on VLF-EPSPs in motoneurons (MNs) (Group VLF-II). A: Representative recordings from an MN with RP of -77 mV. Arrow head indicates VLF electrical stimulus artifact. B, C, D and E: Summarized histograms (mean $\pm$ SD, $n = 7$, but $n = 5$ corresponding to 30.0 $\mu\text{mol/L}$ in E) presenting diversified effects of ET at 0.3, 3.0 and 30.0 $\mu\text{mol/L}$ on amplitude (B), area under curve (C), duration (D) and latency (E) of VLF-EPSP, respectively. VLF-EPSPs in 2 of 7 recorded MNs were nullified by ET at concentration of 30.0 $\mu\text{mol/L}$. Paired t test: * $P < 0.05$ vs control.

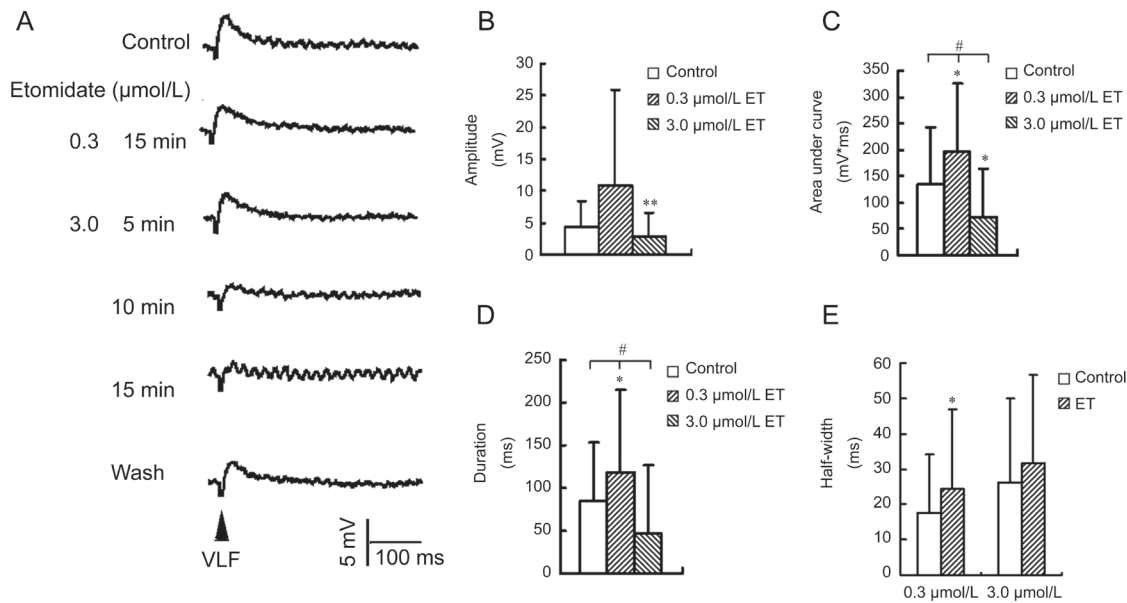


图 3. 应用荷包牡丹碱、土的宁和DNQX预处理后, 依托咪酯对运动神经元VLF-EPSP的作用

Fig. 3. Effects of etomidate (ET) on VLF-EPSPs in motoneurons (MNs) pretreated by bicuculline, strychnine and DNQX. *A*: Typical recordings in an MN with RP of -71 mV. Arrow head indicates VLF electrical stimulus artifact. *B*, *C*, *D* and *E*: Histograms (mean $\pm$ SD, $n = 5$, but $n = 2$ according with $3.0 \mu\text{mol/L}$ in *E*) indicating the effects of 0.3 and $3.0 \mu\text{mol/L}$ ET on amplitude (*B*), area under curve (*C*), duration (*D*) and half-width (*E*) of NMDA receptor component of VLF-EPSP, respectively. VLF-EPSPs in 3 of 5 recorded MNs were nullified by $3.0 \mu\text{mol/L}$ ET. Paired t test: $*P < 0.05$, $**P < 0.01$ vs control; One-way ANOVA among concentration groups: $\#P < 0.05$.

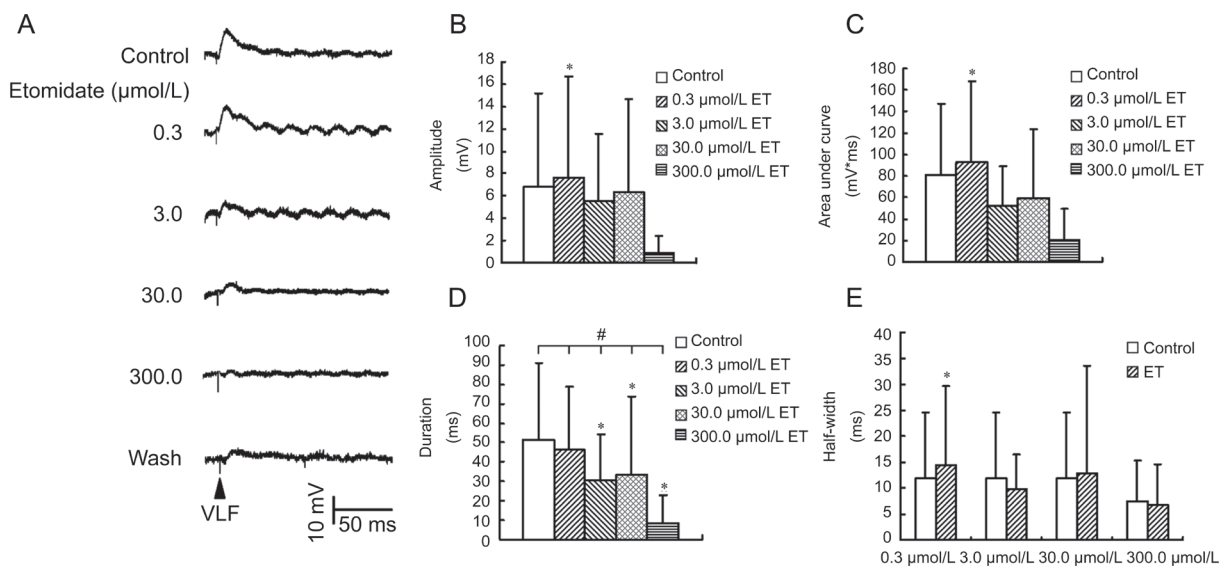


图 4. 使用印防己毒素、土的宁和APV预处理后, 依托咪酯对运动神经元VLF-EPSP的作用

Fig. 4. Effects of etomidate (ET) on VLF-EPSPs in motoneurons (MNs) pretreated by picrotoxin, strychnine and APV. *A*: Representative recordings in an MN with RP of -64 mV. Arrow head indicates VLF electrical stimulus artifact. *B*, *C*, *D* and *E*: Summarized data (mean $\pm$ SD, $n = 5$, but $n = 3$ corresponding to $300.0 \mu\text{mol/L}$ in *E*) showing the effects of ET at different concentrations on amplitude (*B*), area under curve (*C*), duration (*D*) and half-width (*E*) of non-NMDA receptor component of VLF-EPSP, respectively. VLF-EPSPs in 2 of 5 recorded MNs were nullified by ET at $300.0 \mu\text{mol/L}$. Paired t test: $*P < 0.05$ vs control; One-way ANOVA among concentration groups: $\#P < 0.05$.

较弱, 仅有时程被显著缩短 ($P < 0.05$, 图 4D); 对其中 5 个 MN 用 $300.0 \mu\text{mol/L}$ ET 灌流 15 min 后, 有 2 个 MN 的 VLF-EPSP 被完全取消, 该作用可被含上述工具药的 ACSF 洗出。对时程而言, 各浓度组间差异具有统计学意义 (单因素方差分析 $P < 0.05$, 图 4D)。

3 讨论

目前, 有关 ET 作用的脊髓机制的研究多局限于支配感觉传入的脊髓背角, 且多以 GABA 能系统为主要研究靶点, 至于其作用是否有甘氨酸能系统参与, 目前尚无定论 [7,9,19,20]。有研究 [21] 表明, 在大鼠脊髓背角神经元上, ET 可模拟 GABA 的作用激活 GABA_A 受体, 并能调节 GABA_A 受体的功能, 增强 GABA 与 GABA_A 受体结合后产生的效应, 提示 ET 在脊髓水平诱发的变化可能在镇痛和全身麻醉中具有重要作用。但在成年大鼠脊髓背角胶状质神经元和海马 CA_1 锥体细胞上, Li、Zhan 等 [7,22] 分别观察到 ET 对兴奋性突触传递和 NMDA 受体介导的胞内 Ca^{2+} 浓度的升高均无作用。而本研究在大鼠脊髓腹角 MN, 观察到不同浓度 ET 对通过电刺激脊髓同侧 VLF 所诱发的 VLF-EPSP 具有兴奋或抑制的差异性作用; 进行受体机制分析, 结果显示低浓度 ET 对 VLF-EPSP 及其 NMDA 和 non-NMDA 受体成分具有兴奋或抑制的双向作用, 而临床浓度 / 高浓度的 ET 则只产生抑制效应, 这将有助于完善对 ET 脊髓作用机制的认识。

已有研究 [17,23,24] 证实 VLF 中的下行纤维可能释放谷氨酸类兴奋性氨基酸而激活 MN, 因此 MN 的胞体和 / 或突起可能分布有谷氨酸受体, 包括 NMDA 受体和 non-NMDA 受体。本实验在阻断 GABA_A 受体、甘氨酸受体和 non-NMDA/NMDA 受体的情况下, 低浓度的 ET 可显著增大 VLF-EPSP 的幅度和 / 或曲线下面积, 而临床浓度 / 高浓度的 ET 则能够可逆性取消 VLF-EPSP, 提示低浓度的 ET 可能对 VLF-EPSP 的 NMDA 受体和 non-NMDA 受体成分有直接或间接的兴奋作用, 而临床浓度 / 高浓度的 ET 则产生直接或间接抑制作用。至于 ET 对 MN VLF-EPSP 的差异性作用机制, 首先可能与 MN 在脊髓腹角的分布区域差异有关, 因为脊髓 MN 有内、外侧细胞群之分, 分别支配躯干和四肢肌肉的运动, 而高位运动中枢的下行激活部分也可根据生理需要, 通过可能相互独立的神经通路对两

类 MN 发挥着不同调节作用 [1], 进而影响 MN 的兴奋性, 细胞膜上的受体因细胞兴奋性不同也会处于激活或失活等状态, 因而 ET 就有可能对不同状态下的谷氨酸受体具有差异性作用。其次, 在神经环路上低浓度 ET 可能取消抑制性中间神经元的活动而产生去抑制作用, 但在本实验中阻断 GABA_A 受体和甘氨酸受体后, 低浓度 ET 依然能增强 VLF-EPSP, 说明去抑制作用可能并不是其中的原因, 至少不是主要原因。另外, 也可能涉及某些代谢型谷氨酸受体 (metabotropic glutamate receptors, mGluRs) 的参与, 因为 mGluRs 在脊髓高度表达 [25,26], 不少研究发现 I 组 mGluRs 可以上调 NMDA 受体和 non-NMDA 受体的功能, 因此 ET 通过 mGluRs 间接调制 NMDA 受体和 non-NMDA 受体也是可能的机制之一 [27,28]。还有报道称全麻药氯胺酮可以增强包括海马在内的多个脑区的乙酰胆碱 (acetylcholine, ACh) 的释放 [29,30], 而在胚胎大鼠 MN 的研究中发现 ACh 可促进 MN 释放谷氨酸 [31]。因此, 一方面, ACh 可能在 ET 作用下释放增加, 并与 MN 的 M 型胆碱能受体结合产生兴奋作用; 另一方面, ACh 促进 MN 的谷氨酸释放, 间接兴奋 NMDA 受体和 non-NMDA 受体, 这或许也是低浓度 ET 增强 VLF-EPSP 的一个原因。至于临床浓度 / 高浓度的 ET 对 NMDA 受体和 non-NMDA 受体除了有直接抑制作用外, 可能还存在其它间接机制, 比如通过抑制突触前神经末梢 AP 产生 (高剂量时) [14], 或阻断 Ca^{2+} 通道 [11], 或激活突触前 II 组 mGluRs [32] 而减少谷氨酸释放, 使 VLF-EPSP 减弱, 或通过 5-HT 与 5-HT_{1A} 受体结合使细胞膜超极化, 从而抑制 NMDA 受体开放等 [33]。

另有报道 [34,35] 提示 NMDA 受体可分为 NR1、NR2A、NR2B、NR2C、NR2D、NR3A 等亚型, non-NMDA 受体包括 AMPA 和 KA 受体等, 其中 AMPA 受体是由 4 种亚单位 (GluR1~GluR4) 组成的四聚体, 通常由 2 个同源或异源二聚体 (GluR1/1、GluR2/2 或 GluR1/2、GluR2/3) 组成。KA 家族包括 GluR5-7 和 KA1-2。而 ET 对这些受体亚型的作用又是怎样的? 是否具有选择性? 还需进一步研究。

单从 ET 对介导 VLF-EPSP 的谷氨酸受体的抑制作用来看, non-NMDA 受体显然不如 NMDA 受体对 ET 的敏感性高, 原因可能在于 VLF-EPSP 主要由 non-NMDA 受体介导 [17], non-NMDA 受体在 VLF 突触后膜的分布数量或密度上可能比 NMDA

受体明显占优,若要完全阻断 non-NMDA 受体的功能,则须提高 ET 的灌流浓度方能实现。此外,尚不能排除两类谷氨酸受体诸如亚型结构等方面的差异^[34,35]而导致对 ET 的敏感性不同。

本实验结果提示 ET 对脊髓下行激活通路谷氨酸能神经传递具有差异性作用,因而有可能参与了肌松作用的产生,但在 ET 对兴奋性突触传递作用的研究中,目前的实验发现或许只是其中的一个方面,因为 Finnegan 等^[36-38]认为在介导神经元兴奋性突触传递的受体中,除了谷氨酸受体以外,烟碱型乙酰胆碱受体(nicotinic acetylcholine receptor, nAChR)也具有重要作用。Rekling 等^[39]也发现尽管 MN 兴奋性突触传递主要是谷氨酸能的,但其它的递质如 ACh 可能也参与兴奋的传递。因此,ET 对胆碱能系统介导的 MN 兴奋性突触传递的作用又是怎样的?值得进一步探讨。另有报道^[40],电刺激脊髓对侧 VLF 也可在 MN 诱发突触后电位,那么 ET 对该条件下诱发的突触反应是否存在差异性作用,以及机制如何?也有待深入研究。

* * *

致谢: 感谢皖南医学院细胞电生理研究室王邦安高级实验师提供技术协助。

参考文献

- Han JS (韩济生). Neuroscience. 3rd ed. Beijing: Peking University Medical Press, 2009, 705-714 (Chinese).
- Yang J (杨静), Wang XW, Zhang ZY, Huang QQ, Liu T, Hu TZ. Effects of brain stem and spinal cord by isoflurane inhibiting nociceptive reflex. J Sichuan Univ (Med Sci Ed) (四川大学学报医学版) 2007; 38(2): 255-256 (Chinese, English abstract).
- Shen E, Ouyang S, Ma WX, Lan Q. Influence of acupuncture, raphe stimulation or morphine on intercostal discharges elicited by stimulation of motor cortex. Chin Sci Bull 1982; 27(11): 1235-1240.
- Jin WQ, Liu PL, Zhou BH. The effect of high level intraspinal injection of 5, 6-DHT on electro-acupuncture analgesia and morphine analgesia. Chin Sci Bull 1982; 27(2): 225-228.
- Belelli D, Muntoni AL, Merrywest SD, Gentet LJ, Casula A, Callachan H, Madau P, Gemmell DK, Hamilton NM, Lambert JJ, Sillar KT, Peters JA. The *in vitro* and *in vivo* enantioselectivity of etomidate implicates the GABA_A receptor in general anaesthesia. Neuropharmacology 2003; 45(1): 57-71.
- Sun YY (孙焱莹), Chen J, Xiong LZ, Li HL, Zeng XL. Effects of intravenous and/or intrathecal etomidate on thermal and mechanical hyperalgesia induced by intraplantar injection of bee venom in rats. Chin J Anesthesiol (中华麻醉学杂志) 2001; 21(5): 302-305 (Chinese, English abstract).
- Li Z (李震), Luo C, Sun YY, Chen J. Effects of etomidate on local synaptic transmission in substantia gelatinosa neurons of the adult rat spinal cord. Acta Physiol Sin (生理学报) 2004; 56(3): 413-418 (Chinese, English abstract).
- Hong Z (洪楨), Wang DS, Li JS. Activation of GABA_A receptor-gated chloride currents by etomidate in rat sacral dorsal commissural neurons. Chin J Neurosci (中国神经科学杂志) 2004; 20(4): 266-269 (Chinese, English abstract).
- Mascia MP, Machu TK, Harris RA. Enhancement of homomeric glycine receptor function by long-chain alcohols and anaesthetics. Br J Pharmacol 1996; 119(7): 1331-1336.
- Frenkel C, Weckbecker K, Wartenberg HC, Duch DS, Urban BW. Blocking effects of the anaesthetic etomidate on human brain sodium channels. Neurosci Lett 1998; 249(2-3): 131-134.
- Hirota K, Lambert DG. I.V. anaesthetic agents inhibit dihydropyridine binding to L-type voltage-sensitive Ca²⁺ channels in rat cerebrocortical membranes. Br J Anaesth 1996; 77(2): 248-253.
- Tan HY, Sun LN, Wang XL, Ye TH. Effect of etomidate on voltage-dependent potassium currents in rat isolated hippocampal pyramidal neurons. Chin Med J (Engl) 2010; 123(6): 702-706.
- Li MX (李明星), Wang QY, Wang RR, Zeng XR. Effects of etomidate on single calcium-activated potassium channel in neonatal rat sensory cortex neurons. Basic Med Sci Clin (基础医学与临床) 1999; 19(2): 169-173 (Chinese, English abstract).
- Zheng C (郑超), Wang MY. Etomidate (ET) produced differential effects on afferent sensory transmission to motor neurons (MNs) in neonatal rat spinal cord slices. Chin Crit Care Med (中国危重病急救医学) 2011; 23(10): 593-598 (Chinese, English abstract).
- Takahashi T. Thyrotropin-releasing hormone mimics descending slow synaptic potentials in rat spinal motoneurons. Proc R Soc Lond 1985; 225(1240): 391-398.
- Wang MY. Electrical properties and synaptic responses of neonatal rat motoneurons in transverse spinal cord slices. Chin J Physiol Sci 1994; 10: 85-91.
- Wang MY (汪萌芽), Shen E. Characteristics of synaptic responses of motoneurons to ventrolateral funiculus stimulation *in vitro*. Acta Physiol Sin (生理学报) 1997; 49(6): 625-631 (Chinese, English abstract).
- Esener Z, Sarihasan B, Güven H, Ustün E. Thiopentone and

- etomidate concentrations in maternal and umbilical plasma, and in colostrums. *Br J Anaesth* 1992; 69(6): 586–588.
- 19 Moraga-Cid G, Yevenes GE, Schmalzing G, Peoples RW, Aguayo LG. A Single phenylalanine residue in the main intracellular loop of $\alpha 1$ γ -aminobutyric acid type A and glycine receptors influences their sensitivity to propofol. *Anesthesiology* 2011; 115(3): 464–473.
 - 20 Lu H, Xu TL. The general anesthetic pentobarbital slows desensitization and deactivation of the glycine receptor in the rat spinal dorsal horn neurons. *J Biol Chem* 2002; 277(44): 41369–41378.
 - 21 Zhang ZX, Lü H, Dong XP, Liu J, Xu TL. Kinetics of etomidate actions on GABA_A receptors in the rat spinal dorsal horn neurons. *Brain Res* 2002; 953(1–2): 93–100.
 - 22 Zhan RZ, Qi S, Wu C, Fujihara H, Taga K, Shimoji K. Intravenous anesthetics differentially reduce neurotransmission damage caused by oxygen-glucose deprivation in rat hippocampal slices in correlation with N-methyl-D-aspartate receptor inhibition. *Crit Care Med* 2001; 29(4): 808–813.
 - 23 Wang MY (汪萌芽). Responses of motoneurons to ventrolateral funiculus stimulation in neonate rat spinal cord slices. *Acta Physiol Sin* (生理学报) 1994; 46(2): 148–153 (Chinese, English abstract).
 - 24 Pinco M, Lev-Tov A. Synaptic transmission between ventrolateral funiculus axons and lumbar motoneurons in the isolated spinal cord of the neonatal rat. *J Neurophysiol* 1994; 72(5): 2406–2419.
 - 25 He SM (贺世明), Zhao L, Lang B, Jiao XY, Zhao ZW, Gao GD. Distribution of subtypes of metabotropic glutamate receptors in lumbosacral spinal cord of adult macaques. *J Fourth Mil Med Univ* (第四军医大学学报) 2005; 26(2): 115–118 (Chinese, English abstract).
 - 26 Nistri A, Ostroumov K, Sharifullina E, Taccola G. Tuning and playing a motor rhythm: how metabotropic glutamate receptors orchestrate generation of motor patterns in the mammalian central nervous system. *J Physiol* 2006; 572(Pt 2): 323–334.
 - 27 Heidinger V, Manzerra P, Wang XQ, Strasser U, Yu SP, Choi DW, Behrens MM. Metabotropic glutamate receptor 1-induced upregulation of NMDA receptor current: mediation through the Pyk2/Src-family kinase pathway in cortical neurons. *J Neurosci* 2002; 22(13): 5452–5461.
 - 28 Cho K, Francis JC, Hirbec H, Dev K, Brown MW, Henley JM, Bashir ZI. Regulation of kainate receptors by protein kinase C and metabotropic glutamate receptors. *J Physiol* 2003; 548(3): 723–730.
 - 29 Sato K, Wu J, Kikuchi T, Wang Y, Watanabe I, Okumura F. Differential effects of ketamine and pentobarbitone on acetylcholine release from the rat hippocampus and striatum. *Br J Anaesth* 1996; 77(3): 381–384.
 - 30 Kikuchi T, Wang Y, Shinbori H, Sato K, Okumura F. Effects of ketamine and pentobarbitone on acetylcholine release from the rat frontal cortex *in vivo*. *Br J Anaesth* 1997; 79(1): 128–130.
 - 31 Barthélémy-Requin M, Bévangut M, Portalier P, Ternaux JP. Release of glutamate by the embryonic spinal motoneurons of rat positively regulated by acetylcholine through the nicotinic and muscarinic receptors. *Neurochem Int* 2006; 49(6): 584–592.
 - 32 Moran MM, McFarland K, Melendez RI, Kalivas PW, Seamans JK. Cystine/glutamate exchange regulates metabotropic glutamate receptor presynaptic inhibition of excitatory transmission and vulnerability to cocaine seeking. *J Neurosci* 2005; 25(27): 6389–6393.
 - 33 Graeff FG, Guimarães FS, De Andrade TG, Deakin JF. Role of 5-HT in stress, anxiety, and depression. *Pharmacol Biochem Behav* 1996; 54(1): 129–141.
 - 34 Goebel DJ, Poosch MS. NMDA receptor subunit gene expression in the rat brain: a quantitative analysis of endogenous mRNA levels of NR1Com, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D and NR3A. *Brain Res Mol Brain Res* 1999; 69(2): 164–170.
 - 35 Gill SS, Pulido OM. Glutamate receptors in peripheral tissues: current knowledge, future research, and implications for toxicology. *Toxicol Pathol* 2001; 29(2): 208–223.
 - 36 Finnegan TF, Li DP, Chen SR, Pan HL. Activation of mu-opioid receptors inhibits synaptic inputs to spinally projecting rostral ventromedial medulla neurons. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 309(2): 476–483.
 - 37 Perrins R, Roberts A. Cholinergic and electrical synapses between synergistic spinal motoneurons in the *Xenopus laevis* embryo. *J Physiol* 1995; 485(Pt 1): 135–144.
 - 38 Nishimaru H, Restrepo CE, Kiehn O. Activity of Renshaw cells during locomotor-like rhythmic activity in the isolated spinal cord of neonatal mice. *J Neurosci* 2006; 26(20): 5320–5328.
 - 39 Reklung JC, Funk GD, Bayliss DA, Dong XW, Feldman JL. Synaptic control of motoneuronal excitability. *Physiol Rev* 2000; 80(2): 767–852.
 - 40 Zhang Y (张艳), Jiang X, Wang MY. Synaptic responses of motoneurons evoked by contralateral ventrolateral funiculus stimulation in neonatal rat spinal cord slices. *J Wannan Med Univ* (皖南医学院学报) 2008; 27(5): 316–323 (Chinese, English abstract).