论著

文章编号:1000-5404(2005)23-2324-04

纳洛酮对麻醉大鼠前额叶皮层神经元单位放电的影响及其机制研究

陈伯成[1],赵红梅[1],谌小维[1],薛 丽[1],杨天德[2], 胡志安[1] (第三军医大学:[1]基础医学部基础医学教学实验中心,重庆 400038,[2]新桥医院麻醉科, 重庆 400037)

提 要:目的 研究纳洛酮对大鼠前额叶皮层神经元自发放电的影响,并初步探讨其可能机制。**方法** 用玻璃微电极记录大鼠前额叶皮层神经元的单位放电,分别观察侧脑室给予纳洛酮、吡拉明(组胺 H_1 受体拮抗剂)以及吡拉明+纳洛酮后放电活动的变化。**结果** 在大鼠额叶皮层区总共记录到80个单位放电活动,其放电形式为混合型(43.3%)、单个不均型(36.7%)、束簇状(20.0%),平均放电频率为(4.33±2.85) Hz。经侧脑室给予3组不同剂量纳洛酮溶液,其中8 μg纳洛酮($n=16$)和4 μg纳洛酮($n=14$)溶液可明显增加额叶皮层神经元的发放频率($P<0.05$),但后者作用弱于前者;相反,2 μg纳洛酮($n=12$)对放电频率并无显著性影响($P>0.05$);另外,给予组胺 H_1 受体拮抗剂吡拉明150 μg对自发放电无影响($n=11$,$P>0.05$),而在给予吡拉明150 μg预处理之后,8 μg纳洛酮不能改变皮层电活动($n=15$,$P>0.05$)。**结论** 纳洛酮对大鼠额叶皮层神经元存在剂量-效应依赖性兴奋性作用,其机制可能与组胺 H_1 受体途径有关。

关键词: 纳洛酮;组胺 H_1 受体;胞外单位放电;前额叶皮层;觉醒

中图法分类号: R322.81; R338.8; R971.2 **文献标识码:** A

Effects of naloxone on single-unit activity in the prefrontal cortex of anaesthetized rats

CHEN Bo-cheng[1], ZHAO Hong-mei[1], CHEN Xiao-wei[1], XUE Li[1], YANG Tian-de[2], HU Zhi-an[1] ([1]Experimental Center, College of Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, [2]Department of Anesthesiology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To study the effects of naloxone on the spontaneous unit discharges of the prefrontal cortical neurons in anaesthetized rats. **Methods** The unit discharges of neurons in the prefrontal cortex were recorded by glass microelectrode technique before and after intracerebroventricular injection of artificial cerebrospinal fluid ($n=12$), naloxone ($n=42$), pyrilamine (a histamine H_1 receptor antagonist) ($n=11$), or pyrilamine + naloxone ($n=15$) in 80 SD rats. **Results** Extracellular single-unit recordings were obtained from a total of 80 prefrontal cortical neurons, with a mean frequency of (4.33±2.85)/s. Neurons exhibited three types of firing patterns: (1) complex discharges (43.3%), (2) single, irregular discharges (36.7%), (3) clusters (20.0%). Further, neurons were tested with naloxone at three different concentrations, and then the effects of naloxone were found to be in a dose-dependent manner. Application of naloxone at the dose of 8 μg ($n=16$) or 4 μg ($n=14$) could significantly induce the increase in the discharge rates ($P<0.05$). However, 2 μg naloxone ($n=12$) showed no influence on the spontaneous unit discharges. Administration of 150 μg pyrilamine did not affect the discharge rates. 8 μg naloxone failed to exert an excitatory action on unit discharges of cortical neurons following pretreatment with 150 μg pyrilamine in the lateral ventricle ($n=15$, $P>0.05$), indicating that these responses appear to be associated with histamine neurotransmission. **Conclusion** Naloxone can exert a dose-dependent excitatory effect on prefrontal cortical neurons, which probably results from activation of histamine H_1 receptor pathways.

Key words: naloxone; histamine H_1 receptor; extracellular unit charges; prefrontal cortex; wakefulness

基金项目: 重庆市科学基金资助项目(2003-2005);第三军医大学军事医学创新科研基金资助项目(XJYY200310)

Supported by the Sci & Tech Research Project Foundation of Science Committee of Chongqing (2003-2005) and the Research Foundation for Military Medicine Innovation of Third Military Medical University (XJYY200310)

作者简介: 陈伯成(1965-),男,湖北省广水市人,硕士研究生,主治医师,主要从事麻醉复苏与认知功能方面的研究。电话:(023)68775167

通讯作者: 胡志安,电话:(023)68753704, E-mail: zhianhu@yahoo.com.cn

收稿日期: 2005-09-12;**修回日期:** 2005-10-13

纳洛酮(naloxone)为羟二啡酮的衍生物，是 20 世纪 60 年代合成的阿片受体拮抗剂。纳洛酮与阿片受体的亲和力大于吗啡、脑啡肽，能竞争性抑制或取代吗啡样物质与受体结合从而解除吗啡样物质的抑制作用。最早纳洛酮是用于阿片碱的解毒。到目前为止，纳洛酮已广泛用于各种病因所致的昏迷促醒治疗，如各种药物中毒、各种脑炎、脑病以及各类颅脑损伤等[1]。除此之外，纳洛酮亦用于深麻醉后的促醒治疗。尽管纳洛酮在临床已广泛使用，但其作为促醒药物的神经药理机制目前并不十分清楚[2]。

已经知道，前额叶皮质(prefrontal cortex)参与了哺乳动物的多种高级功能，例如情绪、认知、运动行为以及工作记忆等[3]。另外，有证据表明前额叶皮质还与觉醒状态的维持有关[4]。为了探明纳洛酮促醒作用的机制是否涉及前额叶皮层区域的活动，本研究采用在体细胞外单位放电记录的方式，首先观察侧脑室给予纳洛酮溶液对麻醉大鼠前额叶皮层神经元活动的影响作用；随后，观察组胺 H_1 受体拮抗剂对纳洛酮所引起的皮层神经元反应的影响，以期证实组胺途径是否参与了纳洛酮对皮层的作用过程。

1　材料与方法

1.1　实验动物及药品

健康成年雌性 SPF 级 SD 大鼠 80 只，由第三军医大学实验动物中心提供，体质量 230～270 g。人工脑脊液(artificial cerebrospinal fluid, ACSF)(mmol/L)：NaCl 126, KCl 2.5, $CaCl_2$ 2, $MgCl_2$ 2, NaH_2PO_4 1.25, $NaHCO_3$ 26, 葡萄糖 10。纳洛酮和组胺 H_1 受体拮抗剂吡拉明(pyrilamine, Pyri)购自美国 Sigma 公司，均用新鲜 ACSF 配制成溶液；公司其余试剂为市售分析纯。

1.2　实验分组

80 只大鼠分为 4 组：①对照组(n = 12)，侧脑室给予 ACSF；②纳洛酮组(Nalo 组)(n = 42)，侧脑室给予 3 种不同剂量纳洛酮溶液，分别为 2、4 和 8 μg；③吡拉明组(Pyri 组)(n = 11)，侧脑室给予吡拉明溶液 150 μg；④吡拉明 + 纳洛酮组(Pyri + Nalo 组)(n = 15)：侧脑室先后给予吡拉明溶液 150 μg 以及纳洛酮 8 μg。每次给药体积 10 μl，给药时间为 3 min，吡拉明和纳洛酮给药间隔 3 min。纳洛酮给药剂量参考文献[5]。

1.3　电生理记录

用 25% 乌拉坦(1 g/kg)腹腔注射麻醉大鼠。头部固定于江湾Ⅰ型 C 立体定向仪框架上，调整门齿沟平面高度使其比耳间线平面低 2.4 mm。参照 Paxinos-Watson 图谱[6]，定位侧脑室并插入不锈钢金属套管(直径 0.8 mm)。侧脑室坐标：前囟后 0.8 mm，右侧旁开 1.6 mm，颅骨表面下 3.4 mm。套管用牙托水泥固定。实验时经套管注入药物。随后定位前额叶皮层：前囟前 2.7～4.2 mm，右侧旁开 0.5 mm，颅骨开窗直径为 1～1.5 mm，单位放电记录深度为皮层表面以下 0.3～4.5 mm。用尖端 3～5 μm 玻璃微电极，管内充灌 2% 旁胺天蓝的 0.5 mol/L 醋酸钠溶液作为记录电极，电阻为 4～10 MΩ，由微推进仪垂直脑表面插入。额叶皮层自发放电信号经微电极放大器输入 RM6240 多道生理信号采集处理系统(成都仪器厂)，示波、记录，同时监听放电。在每次给药前，神经元自发放电需至少稳定 10 min，给药后持续记录放电活动至少 30 min，每隔 3 min 统计 1 次放电频率平均值，并作频率直方图处理(采样 bin 宽 10 s)。实验结束后，常规固定脑组织，切片定位，取定位正确的动物的数据进行统计分析。

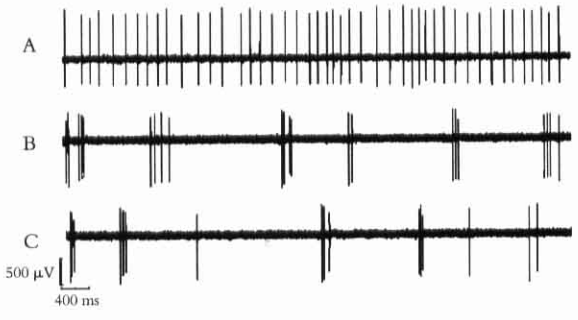
1.4　统计学分析

单位放电频率用 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS 10.0 软件进行配对 t 检验。

2　结果

2.1　纳洛酮对前额叶皮层神经元放电频率的影响

在大鼠额叶皮层区总共记录到 80 个单位。其放电形式可分为 3 种，即单个不均、束簇状以及混合型(图 1)，其所占比率分别为混合型 43.3%、单个不均型 36.7%、束簇状 20.0%。另外，自发放电频率(3 min 平均值)为(4.33 ± 2.85)Hz(n = 80)。



A: Single, irregular discharges; B: Clusters; C: Complex discharges

图 1　麻醉大鼠前额叶皮层神经元单位放电的 3 种发放形式

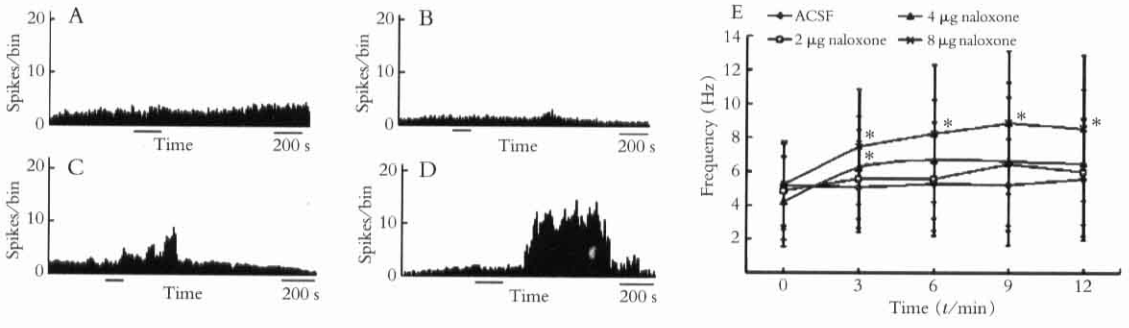
Fig 1　Three types of unit discharge patterns in prefrontal cortex of anaesthetized rats

待自发放电稳定 10 min 后，经侧脑室注入 3 种不同剂量(2、4、8 μg)纳洛酮溶液。如图 2 所示，8 μg 纳洛酮溶液可明显增加额叶皮层神经元的发放频率(n = 16)，在 6～9 min 达到高峰，与基础值比较，给药结束后各时间段都明显增加(P < 0.05)，而 3 min 以后的各时间点之间放电频率无显著性差异；另外，给予 4 μg 纳洛酮(n = 14)后，前 3 min 内频率有明显增加(P < 0.05)，随后放电频率又逐渐下降，3 min 以后各时间段平均放电频率与给药前无显著性差异(P > 0.05)；相反，ACSF 组(n = 12)、2 μg 纳洛酮组(n = 12)给药前后，放电频率并无显著变化(P > 0.05)。因此可以推测，纳洛酮对大鼠额叶皮层神经元具有兴奋作用，且这种作用可能存在剂量-效应依赖关系。

2.2　组胺 H_1 受体拮抗剂吡拉明对前额叶皮层神经元放电的影响

侧脑室给予组胺 H_1 受体拮抗剂吡拉明 150 μg，与给药前相比，给药后各时间段额叶皮层放电频率无明显变化(n = 11, P > 0.05)。从而提示，吡拉明在该浓度下可能对额叶皮层放电活动并无影响。

随后实验中，首先通过侧脑室给予 150 μg H_1 受体拮抗剂吡拉明预处理，3 min 后给予 8 μg 纳洛酮溶液。结果显示，给药前后皮层神经元放电频率并无显著变化（$n=15$，$P>0.05$）。因此推测，纳洛酮对额叶皮层神经元放电频率的增加作用可能被吡拉明所阻断。进而提示，H_1 受体途径可能参与了纳洛酮的皮层兴奋效应。



A: Control group (ACSF); B: 2 μg naloxone; C: 4 μg naloxone; D: 8 μg naloxone; E: Discharge rates before and after application of naloxone at different concentrations; *: $P<0.05$, *vs* 0 min

图 2 纳洛酮溶液对前额叶皮层神经元自发放电的影响

Fig 2 Effects of naloxone at three different concentrations on spontaneous unit discharges of the prefrontal cortical neurons

3 讨论

在本实验中，我们首先观察了侧脑室给予 3 种不同剂量纳洛酮溶液对麻醉大鼠前额叶皮层自发放电的影响。结果显示，高剂量组（8 μg）纳洛酮可明显增加皮层神经元的自发放电频率，4 μg 纳洛酮只是在给药后前 3 min 有明显作用，而低剂量组（2 μg）纳洛酮对皮层神经元放电无明显作用，从而提示，纳洛酮对前额叶皮层神经元具有兴奋作用，且该作用可能存在剂量-效应依赖关系。已经知道，额叶皮层的兴奋性增加在一定程度上反映了机体觉醒水平的升高[4]。因此可以得出，纳洛酮对皮层神经元产生显著的兴奋作用，以此达到逆转昏迷、促进觉醒的目的。然而，纳洛酮对前额叶皮层神经元的兴奋作用是通过何种机制实现的呢？

众所周知，下丘脑结节状乳头体核的组胺能神经元、蓝斑的去甲肾上腺素能神经元以及背缝核的 5-羟色胺能神经元共同构成了重要的皮层下觉醒调节和维持系统，该系统的激活，可最终引起皮层神经元的兴奋，进而启动和维持觉醒[7,8]。因此，我们有理由推测，纳洛酮对前额叶皮层神经元的兴奋作用可能与上述结构相关。在本实验中我们特别关注了组胺系统的可能作用，研究表明，单独给予组胺 H_1 受体拮抗剂吡拉明对皮层神经元放电没有显著影响；在给予吡拉明预处理后，8 μg 纳洛酮亦未能引起皮层神经元放电频率发生变化，从而提示，纳洛酮对前额叶皮层神经元放电活动的兴奋性效应可能被组胺 H_1 受体拮抗剂所阻断。这一发现证实了我们的推测，即纳洛酮有可能通过对组胺能系统的作用来兴奋前额叶皮层神经元。但纳洛酮的这一作用是否还涉及其他皮层下觉醒调节系统有待进一步实验证明。另外，值得说明的是，尽管组胺能系统在生理状态下对于调节和维持觉醒有重要作用[7]，但本实验中却观察到单独给予组胺 H_1 受体拮抗剂对麻醉大鼠皮层神经元放电并无明显影响。之所以出现这一现象，我们考虑可能与麻醉状态有关，即在这种状态下，组胺系统有可能不参与皮层神经元基本电活动的维持，因此即使阻断组胺受体也对皮层神经元放电不产生影响。然而，其确切机制还需要实验阐明。

既然组胺能系统可能是纳洛酮的作用靶点，那么接下来的问题就应该是纳洛酮通过什么途径来调节组胺系统的活动呢。传统观点认为，纳洛酮作为阿片肽受体的特异抑制剂，可以阻断内源性阿片肽对神经系统的抑制作用[9]。另外，纳洛酮还存在阿片肽受体以外的药物作用。例如，Lechner[10] 曾报道，在进行猪心脏乳头肌变力性实验时，液体环境中无阿片样物质存在，当加入异丙肾上腺素，纳洛酮可以产生显著的正性变力作用，且具有剂量依赖效应，而在无异丙肾上腺素时，这一效应消失，从而提示纳洛酮的兴奋效应并非与阿片受体机制有关。最近涂明义等[11]研究发现，纳洛酮对急性分离的前额叶皮层锥体神经元具有直接的兴奋作用，这一过程也与阿片受体无关。因此，纳洛酮可能是通过阿片肽受体以及非阿片肽受体两条途径来调节组胺能系统的。

综上所述，纳洛酮促醒作用神经药理机制可能与兴奋组胺途径，间接地激活皮层神经元神经有关，这一机制使其能在多种病理条件下发挥促进觉醒和逆转昏迷的功能。

参考文献：

[1] Clarke S F, Dargan P I, Jones A L. Naloxone in opioid poisoning:

walking the tightrope[J]. Emerg Med J, 2005, 22(9): 612 - 616.
[2] Pinkofsky H B, Manno J E, Krause A. Naloxone-reversible coma unrelated to opiate drugs[J]. Ann Clin Psychiatry, 1996, 8(4): 211 - 213.
[3] Yamasaki H, LaBar K S, McCarthy G. Dissociable prefrontal brain systems for attention and emotion[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(17): 11447 - 11451.
[4] Lambe E K, Aghajanian G K. Hypocretin (orexin) induces calcium transients in single spines postsynaptic to identified thalamocortical boutons in prefrontal slice[J]. Neuron, 2003, 40(1): 139 - 150.
[5] Zarrindast M R, Samadi P, Haeri Rohani A, *et al*. Nicotine potentiation of morphine-induced catalepsy in mice[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2002, 72(1 - 2): 197 - 202.
[6] Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates[M]. 2nd ed. San Diego: Academic Press, 1986. F4 - F5.
[7] Huang Z L, Qu W M, Li W D, *et al*. Arousal effect of orexin A depends on activation of the histaminergic system[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(17): 9965 - 9970.
[8] Sutcliffe J G, de Lecea L. The hypocretins: setting the arousal threshold[J]. Nat Rev Neurosci, 2002, 3(5): 339 - 349.
[9] Zeman A. Consciousness[J]. Brain, 2001, 124 (Pt 7): 1263 - 1289.
[10] Lechner R B. Naloxone potentiates the inotropic effects of isoproterenol *in vitro* by a nonopiate receptor mechanism[J]. Circ Shock, 1992, 38(3): 157 - 164.
[11] 涂明义，李朝武，张苏明，等. 纳洛酮对大鼠额叶皮层神经元兴奋性的影响[J]. 中华神经科杂志，2004，37(6)：490.

（编辑 陈聪连）

文章编号：1000-5404(2005)23-2327-01

个案与短篇

动脉栓塞治疗严重软产道损伤1例

Management of severe laceration of birth canal with arterial embolization: a case report

王 琳，常 青，李玉迪 （第三军医大学西南医院妇产科，重庆 400038）

产后出血为产妇重要死亡原因之一，而产道裂伤、产道血肿又为产后出血的重要原因，严重的软产道裂伤所致的产后出血治疗困难。近日我院用髂内动脉栓塞术成功抢救了1例严重软产道损伤致产后出血、失血性休克产妇，手术安全简单，效果良好。

1 临床资料

孕妇21岁，因"孕39+周临产"于2005年7月15日12:40在当地医院经会阴侧切分娩一女活婴，体质量3 350 g，产后出血约300 ml，检查发现阴道左侧穹隆撕伤，缝合后暂无出血，下午15:00因阴道流血较多，再次行阴道裂伤缝合，并填塞阴道纱条，但一直有间断流血。次日晨7:00突然出现阴道大量流血，并将阴道纱条冲出，出血量约1 600 ml，患者出现失血性休克表现，立即输血1 200 ml，检查发现仍为阴道左穹隆裂伤处出血，经4 h的缝合及压阴道纱条失败，缝合术中又出血约2 000 ml，阴道填塞纱条后于当日13:30以"软产道裂伤、失血性休克"转入我院。入院查体：脉搏200次/min，血压50/20 mmHg，患者面色苍白，神智淡漠，立即快速输血，检查发现阴道左侧壁、左侧穹隆及前穹隆均有裂伤，活动性出血及广泛渗血，予缝合及纱条填塞无效，累计失血量约5 000 ml，共输血4 200 ml，故决定行介入疗法栓塞双侧髂内动脉。患者局麻下经右股动脉穿刺，引入导管导丝，选择性地插入左侧髂内动脉，造影示左侧阴部内动脉远端出血，阴道造影剂弥漫性外溢，用明胶海绵颗粒栓塞左髂内动脉前枝。同法行右侧髂内动脉前枝栓塞，手术时间31 min。患者术后阴道流血渐止，次日取出阴道纱条，发现阴道多处裂伤伴感染，经静脉使用抗生素，阴道换药治疗15 d后痊愈出院。

2 讨论

在传统上对严重软产道损伤者的治疗采取寻找出血点，结扎止血，缝合血肿腔隙等局部缝合术及阴道填塞纱条。手术失败时行开腹双侧髂内动脉结扎术，在患者失血性休克时行开腹术风险较大，技术难度较高而成功率低，报道有效率仅为42%[1]。我们对本例严重软产道损伤致大出血、休克患者成功地实施了经导管髂内动脉栓塞术(transcatheter arterial embolization, TAE)，由于TAE是在X线的引导下将介入导管插入到出血动脉进行造影、栓塞，因此，在术中可清楚地看到出血部位和范围，实施针对性治疗。本病例选用的栓塞剂为新鲜明胶海绵，有效地降低子宫血管的动脉压及血流量，有利于出血动脉的血栓形成。明胶海绵可在7 d吸收，不影响子宫的血供，不影响患者今后的生育和妊娠结局[2]。我们的临床应用结果说明，TAE技术具有操作相对简单，手术时间短，止血快、损伤小、疗效确切，术后恢复快，并发症少等优点。只要妇产科医护人员及DSA室技术人员熟练配合，均可顺利完成。

关键词：软产道损伤；动脉栓塞术
中图法分类号：R364.15 文献标识码：B

参考文献：

[1] 陈春林，马 奇，方艺川，等. 导管动脉栓塞术在难治性产后出血中的应用[J]. 中华妇产科杂志，2001，36(3)：133 - 136.
[2] Salomon L J, deCayrac R, Castaigne Meary V, *et al*. Fertility and pregnancy outcome following pelvic arterial embolization for severe postpartum haemorrhage: A cohort study[J]. Hum Reprod, 2003, 18(4): 849 - 852.

（编辑 陈聪连）

作者简介：王 琳(1964 -)，女，四川省巴中市人，博士，副主任医师，副教授，主要从事高危妊娠方面的研究。电话：023 68765399
收稿日期：2005-08-30；修回日期：2005-09-23