

# 小剂量纳洛酮对氯胺酮麻醉小鼠苏醒期行为活动的影响

张可<sup>1</sup>, 张虹<sup>2</sup>, 戴体俊<sup>3</sup>

(徐州医学院 1. 临床学院、2. 麻醉学院、3. 麻醉药理学教研室, 江苏 徐州 221002)

## The effect of low dose naloxone on behavior in ketamine anesthetic model during waking up period

ZHANG Ke<sup>1</sup>, ZHANG Hong<sup>2</sup>, DAI Ti-jun<sup>3</sup>

(1. Clinical Medicine of Xuzhou Medical College, 2. Anesthesiology of Xuzhou Medical College, 3. Pharmacology of Anesthetics, Teaching and Research Section of Xuzhou Medical College, Xuzhou, Jiangsu 221002, China)

中国图书分类号: R-332; R 749. 61; R 971. 2

收稿日期: 2009-01-24, 修回日期: 2009-02-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No 30872432, 30471657, 39970715); 江苏省自然科学基金资助项目 (No BK 200143); 2007 年江苏省高等学校大学生实践创新训练计划项目 (No 404)

作者简介: 张可 (1987-), 男, 本科生, E-mail: prozhangke@163.com;

戴体俊 (1944-), 男, 教授, 硕士生导师, 研究方向: 麻醉药理学, 通讯作者, E-mail: daitijun@163.com

不变, 每 5 孔为一个相同给药组, 100  $\mu\text{l}$  溶液/每孔, 共 8 组。

**1.4 统计学处理** 计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 数据处理采用 SPSS10.0 软件包, 运用单因素 ANOVA 分析。

## 2 结果

**2.1 ELISA** LHRH-PE40 与细胞表面 LHRH 受体的结合反应。LHRH-PE40 与 LHRH 受体结合的 OD 值的平均值明显增加, 与原代鸡胚成纤维细胞的结合相比差异有显著性 ( $P < 0.05$ ), 但是与 HeLa 细胞和 A375 细胞表面相比 ( $P > 0.05$ ) 差异没有显著性。A549 表面的受体在 LHRH-PE40 的浓度达到饱和浓度  $7.2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  之后, 随着给 LHRH-PE40 浓度的加大, 结合量不再上升。

## 2.2 LHRH 或甲状腺素与 LHRH-PE40 的竞争抑制反应

LHRH 与竞争 LHRH-PE40 所得的 OD 值平均值比较甲状腺素 (TRH) 对 LHRH-PE40 的抑制作用差异有显著性 ( $P < 0.05$ )。

**2.3 细胞毒性实验** LHRH-PE40,  $24 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  作用于 A549 细胞 24 h 后细胞色暗、折光性差、体积缩小、裂解死亡。而当用同样的条件作用于原代鸡胚成纤维细胞时, 其改变很难观察到。

## 3 讨论

本实验在对离体的活细胞不作任何破坏的前提下, 用 ELISA 方法对 LHRH-PE40 与 A549 表面 LHRH 的结合进行了检测, 结果发现 LHRH-PE40 可以与 A549 细胞表面的 LHRH 受体特异性的结合。LHRH-PE40 中的 PE40 通过 LHRH 受体对 A549 细胞产生杀伤作用, LHRH-PE40 与癌细

文献标识码: A 文章编号: 1001-1978(2009)05-0699-02

关键词: 纳洛酮; 氯胺酮; 精神运动性活动

Key words: naloxone; ketamine; psychomotor behavior

氯胺酮 (ketamine, KT) 是常用静脉麻醉药, 苏醒期可致一系列精神症状<sup>[1]</sup>。有实验表明<sup>[2]</sup> 小剂量纳洛酮 (Naloxone, NL) 可以增强氯胺酮的镇痛作用, 但能否拮抗其所致精神症状的不良反应未见报道。本实验主要观察小剂量纳洛酮对氯胺酮麻醉小鼠苏醒期行为学活动的影响。

## 1 材料与方

**1.1 药物及仪器** 盐酸纳洛酮 (北京凯因生物技术有限公司生产, 批号 H20053602); 氯胺酮 (江苏省恒瑞股份有限公司生产, 批号 H32022820); 生理盐水 (徐州远恒药业有限公司生产, 批号 040805); YLS-1A 多功能小鼠自主活动记录仪 (山东省医学科学院设备站)。

**1.2 动物** 昆明种小鼠 80 只,  $\delta$ , 月龄 2 mon, 体重 18~25 g, 由徐州医学院实验动物中心提供。

## 1.3 方法

胞表面 LHRH 受体特异性结合的结合曲线随着 LHRH-PE40 浓度的增高而增高, 在一定浓度时达到饱和, 同时一定浓度的 LHRH 可以抑制 LHRH-PE40 与 LHRH 受体的结合, 结果证明 LHRH-PE40 中的 LHRH 具备天然 LHRH 的特点, 可以被 LHRH 阻断。由此我们证明了 LHRH-PE40 是在 LHRH 受体介导下与某些癌细胞表面的 LHRH 受体结合的, 并由此发挥 PE40 的毒性作用<sup>[2]</sup>。

我们的实验结果为进一步研究 LHRH-PE40 诱导 A549 细胞凋亡奠定了基础<sup>[3]</sup>, 也为 LHR-PE40 应用于临床提供了更加可靠的实验依据, 也为部分癌症病人带来了新的希望。

## 参考文献:

- [1] Gong S L, Zhao G, Zhao H G, et al. Ability of luteinizing hormone releasing hormone-Pseudomonas aeruginosa exotoxin 40 binding to LHRH receptor on human liver cancer cells [J]. *World J Gastroenterol*, 2004, **10**(19): 2870-3.
- [2] Deng X, Klussmann S, Wu G M, et al. Effect of LHRH-PE40 on target cells via LHRH receptors [J]. *J Drug Target*, 2008, **16**(5): 379-88.
- [3] 黄益玲, 胡火军, 黄利鸣, 李红军. 天花粉蛋白诱导人宫颈癌 Hela 细胞凋亡的分子机制研究 [J]. *中国药理学通报*, 2007, **23**(1): 99-101.
- [3] Huang Y L, Hu H J, Huang L M, Li H J. Molecular mechanism study of trichosanthin induced apoptosis in human cervical carcinoma Hela cells [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2007, **23**(1): 99-101.

**1.3.1 分组** 将小鼠按分层随机区组设计分为4组,分别为KT+NS组、KT+NL<sub>1</sub>(0.25 μg·kg<sup>-1</sup>)组、KT+NL<sub>2</sub>(0.05 μg·kg<sup>-1</sup>)组、KT+NL<sub>3</sub>(0.01 μg·kg<sup>-1</sup>)组,每组10只,使各组动物平均体重比例相似。腹腔注射容积均为10 ml·kg<sup>-1</sup>。

**1.3.2 自主活动计数** 将各组小鼠放入多功能自主活动箱中,记录5 min内小鼠活动次数作为基础成绩。24 h后,各组小鼠腹腔注射KT 120 mg·kg<sup>-1</sup>,待小鼠翻正反射恢复5 min后分别给予NS和不同剂量的NL,分别于二次给药后5 min、20 min、35 min、50 min测定小鼠的自主活动次数。

**1.3.3 旋转、举肢、后退计数**<sup>[3]</sup> 将各组小鼠放入45×45×30(cm<sup>3</sup>)纸箱内,每箱一只,记录5 min内小鼠360°旋转、举肢和后退次数作为基础成绩。各组小鼠给药和观察同自主活动计数。

**1.4 统计学处理** 所有实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用SPSS 15.0统计软件进行数据处理,组内比较采用配对 $t$ 检验,组间比较采用单因素方差分析和 $q$ 检验。

## 2 结果

与KT+NS组比较,KT+NL<sub>1</sub>组小鼠自主活动次数减少( $P < 0.01$ ),旋转次数减少( $P < 0.05$ ),举肢和后退次数无明显变化( $P > 0.05$ );KT+NL<sub>2</sub>组、KT+NL<sub>3</sub>组小鼠自主活动、旋转、举肢和后退次数无明显变化( $P > 0.05$ );实验中各组小鼠均未观察到后退现象。见Tab 1、2、3。

**Tab 1 Effects of low dose naloxone on the activity level in ketamine-treated mice during waking up period ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )**

Group	Baseline	The activity level after ip drug			
		5 min	20 min	35 min	50 min
KT+NS	109 ± 38	141 ± 47*	139 ± 54*	120 ± 60*	88 ± 38*
KT+NL <sub>1</sub>	104 ± 50	66 ± 64*##	90 ± 63	88 ± 68	78 ± 47
KT+NL <sub>2</sub>	104 ± 28	116 ± 56	102 ± 58	112 ± 58	95 ± 54
KT+NL <sub>3</sub>	121 ± 38	150 ± 56	128 ± 57	116 ± 70	91 ± 73

\*  $P < 0.05$  vs base line; ##  $P < 0.01$  vs KT+NS

**Tab 2 Effects of low dose naloxone on the number of turning in ketamine-treated mice during waking up period ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )**

Group	Baseline	The number of turning after ip drug			
		5 min	20 min	35 min	50 min
KT+NS	0.0 ± 0.0	10.0 ± 10.8*	4.6 ± 3.0*	1.5 ± 1.4*	0.1 ± 0.3
KT+NL <sub>1</sub>	0.0 ± 0.0	3.2 ± 2.3*	0.6 ± 0.7#	0.4 ± 0.5	0.1 ± 0.5
KT+NL <sub>2</sub>	0.0 ± 0.0	2.4 ± 2.5*	3.3 ± 4.4	0.4 ± 0.7	0.1 ± 0.3
T+NL <sub>3</sub>	0.0 ± 0.0	6.3 ± 7.3*	3.2 ± 4.8	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.3

\*  $P < 0.05$  vs base line; #  $P < 0.05$  vs KT+NS

## 3 讨论

氯胺酮为非特异性NMDA受体拮抗剂,陈飒飒等<sup>[4]</sup>发现氯胺酮麻醉大鼠在翻正反射消失和深睡时脑内Glu水平降低,翻正反射恢复时较深睡时增高。纳洛酮是非选择性阿片受体阻断药,Enrico等<sup>[5]</sup>发现单独应用纳洛酮后可降低灌

**Tab 3 Effects of low dose naloxone on the number of rearing in ketamine-treated mice during waking up period ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )**

Group	Baseline	The number of rearing after ip drug			
		5 min	20 min	35 min	50 min
KT+NS	20.8 ± 11.2	3.3 ± 3.8**	4.5 ± 2.8**	5.5 ± 4.0**	8.9 ± 6.0*
KT+NL <sub>1</sub>	23.6 ± 9.4	3.4 ± 5.1**	4.6 ± 6.0**	9.9 ± 12.5**	13.1 ± 15.0
KT+NL <sub>2</sub>	18.9 ± 9.6	3.3 ± 1.2**	3.7 ± 3.6**	7.5 ± 5.8*	10.2 ± 6.6*
KT+NL <sub>3</sub>	20.4 ± 12.6	4.1 ± 5.3**	5.5 ± 8.9*	12.5 ± 15.3	15.1 ± 19.1

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs baseline

流液的谷氨酸的浓度,说明纳洛酮可能通过作用于 $\mu$ 受体,一方面影响神经元释放谷氨酸,另一方面影响神经元、星形胶质细胞摄取谷氨酸。此外秦鑫等<sup>[6]</sup>观察到纳洛酮可以降低脑内cAMP水平。小剂量纳洛酮可部分改善氯胺酮小鼠的行为异常,可能与谷氨酸浓度变化、脑内cAMP水平有关。

本实验结果进一步说明了两药合用的合理性,但纳洛酮拮抗氯胺酮苏醒期精神症状的最佳剂量和作用机制,还有待于进一步研究。

## 参考文献:

- [1] 杨宝峰,苏定冯.药理学[M].第6版.北京:人民卫生出版社,2005:123.
- [1] Yang B F, Su D F. *Pharmacology* [M]. 6th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2005:123.
- [2] 卓九五,庞训雷,张丽,等.小剂量纳洛酮对氯胺酮镇痛效应的影响[J].徐州医学院学报,2007,27(1):5-7.
- [2] Zhuo J W, Pang X L, Zhang L, et al. The effect of low dose naloxone on the analgesia of ketamine [J]. *Atca Acad Med Xuzhou*, 2007, 27(1):5-7.
- [3] Jeffrey ANASTASI, Christopher WILSON, David KNOBLOCH, 等.氯胺酮诱导不同年龄和性别小鼠的过度活动[J].动物学报,2008,54(1):52-9.
- [3] Anastasi J, Wilson C, Knobloch D, et al. Ketamine-induced hyperactivity in mice: an evaluation of age and sex differences [J]. *Acta Zool Sin*, 2008, 54(1):52-9.
- [4] 陈飒飒,段世明,王钧.氯胺酮麻醉期间大鼠脑内氨基酸递质水平的变化[J].中国药理学通报,2002,18(1):117-8.
- [4] Chen S S, Duan S M, Wang J. Changes of amino acids neurotransmitters levels in rats brain regions during ketamine anesthesia [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2002, 18(1):117-8.
- [5] Enrico P, Mura M A, Sposito G, et al. Effect of naloxone on morphine-induced changes in striatal dopamine metabolism and glutamate, ascorbic acid and uric acid release in freely moving rats [J]. *Brain Res*, 1998, 797(1):94-102.
- [6] 秦鑫,曹宇,王慧玲,等.纳洛酮对IL-1 $\beta$ 致热大鼠体温及下丘脑中cAMP和HSP70含量的影响[J].中国药理学通报,2006,10(6):1180-3.
- [6] Qin X, Cao Y, Wang H L, et al. Effects of naloxone on IL-1 $\beta$ -induced fever and the content of cAMP and HSP70 in hypothalamus in rats [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2006, 10(6):1180-3.