

氯胺酮和乌拉坦对猫视皮层细胞中刺激诱导的 c-fos 表达的影响

王珂, 朱慧, 陈翠云, 李鹏, 金彩虹, 王紫露, 姜三, 华田苗*

安徽师范大学 生命科学学院, 安徽 芜湖 241000

摘要: 氯胺酮 (ketamine) 和乌拉坦 (urethane) 对神经细胞活动的影响大小和机制尚存在争议。c-fos 是刺激依赖表达的立早基因 (immediate early genes), 其表达量可反应神经细胞活动的强弱。该研究通过免疫组织化学方法比较观察乌拉坦和盐酸氯胺酮急性麻醉对猫初级视皮层细胞中刺激依赖的 c-fos 蛋白表达的影响。结果显示, 氯胺酮组和乌拉坦组初级视皮层各层神经元密度与对照组无显著差异; 乌拉坦组视皮层 c-fos 蛋白免疫阳性细胞密度和免疫反应强度与对照组无显著差异; 而盐酸氯胺酮组视皮层细胞中 c-fos 蛋白免疫阳性细胞密度及免疫反应强度均显著降低。即氯胺酮对视皮层细胞反应的抑制作用较强, 而乌拉坦的抑制作用不显著。

关键词: 氯胺酮; 乌拉坦; 初级视皮层; 视觉刺激; c-fos 蛋白表达

中图分类号: Q344⁺.13 文献标志码: A 文章编号: 0254-5853-(2013)06-0582-07

Effects of ketamine and urethane on stimulation-induced c-fos expression in neurons of cat visual cortex*

Ke WANG, Hui ZHU, Cui-Yun CHEN, Peng LI, Cai-Hong JIN, Zi-Lu WANG, San JIANG, Tian-Miao HUA*

College of Life Sciences, Anhui Normal University, Wuhu 241000, China

Abstract: The effects of ketamine and urethane on neuronal activities remain in debate. As a member of immediate early genes family, the expression of c-fos is stimulation dependent and could be treated as an index to evaluate the strength of neural activities. In this study, SABC immunohistochemical techniques were applied to compare the c-fos expression in neurons of the primary visual cortex (V1) of cats and therefore, to evaluate the effects of acute anesthesia with ketamine HCl and urethane on inhibiting neural activities. Our results showed that compared with control cats, there were no significant differences with the average densities of Nissl-stained V1 neurons in each cortical layers of either urethane or ketamine anesthetized cats. In urethane anesthetized cats, neither the average densities nor the immunoreactive intensities of c-fos positive V1 neurons showed significant difference with that of control ones. However, both the average densities and immunoreactive intensities of c-fos positive V1 neurons in ketamine anesthetized cats decreased significantly compared with that of control and urethane anesthetized cats. These results suggested that ketamine has strong inhibitory effects on the activities of visual cortical neurons, whereas urethane did not.

Keywords: Ketamine; Urethane; Primary visual cortex; Visual stimulation; c-fos protein expression

麻醉剂通过影响神经系统神经元和胶质细胞的活动而达到镇静效应。氯胺酮 (ketamine) 和乌拉坦 (urethane) 是临床手术和动物实验中常用的麻醉诱导和维持剂, 探讨其对神经系统活动的影响及作用机制对临床实践中麻醉剂的选择和神经科学研究设计均有重要的理论和实际价值。研究显示, 氯胺酮和乌拉坦对中枢神经系统神经元活动可能有相似的影响, 表现为对 N-甲基-D-天冬氨酸

(NMDA) 受体活动的抑制和对 γ -氨基丁酸 a 型 (GABA_A) 受体活动的增强 (Hara & Harris, 2002; Jin et al, 2013; McCardle & Gartside, 2012)。但视觉皮层的电生理研究结果显示, 正常的乌拉坦麻醉剂量对单个神经元的自发和诱发放电活动无明显影响或影响微小 (Peng et al, 2011; Sceniak & Maciver, 2006), 仅在高剂量时产生抑制作用, 且作用机制可能与氯胺酮不同 (Sceniak & Maciver, 2006)。导

收稿日期: 2013-06-25; 接受日期: 2013-08-27

基金项目: 国家自然科学基金 (31171082); 安徽省教育厅重点项目 (KJ2009A167); 安徽省学术与技术带头人后备人选学术科研活动经费

*通信作者 (Corresponding author), E-mail: tmhua@mail.ahnu.edu.cn

致以上结果不一致的重要原因可能与麻醉剂作用的物种和脑区有关 (Xu et al, 2000, 2001)。为进一步探讨其作用机制, 本研究通过比较观察氯胺酮和乌拉坦急性麻醉对猫初级视皮层神经元活动的影响, 证实两者在不同物种和脑区间的效应差异。

近期研究显示, 氯胺酮对中枢神经系统可能具有抑制和兴奋双重作用。它既可通过阻断 NMDA 谷氨酸受体来抑制神经元对刺激的反应 (Jin et al, 2013), 又可通过结合非 NMDA 受体和类阿片受体以增加神经元的兴奋性活动 (Höfken et al, 2013; Howland, 2013; Kochs & Bischoff, 1994; Patel & Chapin, 1990)。氯胺酮对视皮层神经元的活动是以抑制还是兴奋为主以及作用的机制目前仍鲜见报道。

c-fos 是刺激依赖表达的立早基因 (immediate early genes), 在正常生理情况下处于低表达状态 (Nakadate et al, 2012), 在缺氧、光、机械和疼痛等刺激作用下该基因快速、大量表达, 其表达量可作为衡量相关神经元被激活的指标之一 (Filipkowski, 2000; Marchant & Morin, 2001; Poveda & Kretz, 2009; Van der Gucht et al, 2005)。该基因编码的 *fos* 蛋白可与 *jun* 蛋白结合后作为第三信使进入胞核, 调节靶基因转录, 从而使刺激信号与基因表达偶联, 参与某些生理及病理活动的调节。

本研究采用免疫组织化学方法比较盐酸氯胺酮和乌拉坦急性麻醉对猫初级视皮层中 *c-fos* 蛋白免疫阳性神经元密度及 *c-fos* 蛋白免疫反应强度的影响, 以评价两种麻醉剂对视皮层神经元活动的影响程度。另外, 通过相应切片的尼氏 (Nissl) 染色来确定初级视皮层各层的界限, 并统计各层神经元的密度, 以排除神经元密度在实验组和对照组间可能存在的差异性。

1 材料与方 法

1.1 实验动物及组织取材

实验用 9 例健康雄性猫 (2~3 a, 2~2.5 kg), 均购自芜湖市郊农贸市场, 经检查无影响视力的折光系统和视网膜疾病。实验操作遵守国家健康中心关于实验动物照料和使用的准则。

实验猫随机分为 3 组, 即盐酸氯胺酮 (福建古田药业有限公司, 国药准字 H35020148) 组、乌拉坦 (曹杨第二中学化工厂, 批号 870530) 组和对照组 (注射生理盐水) 各 3 只, 黑暗饲养 24 h, 以使视皮层细胞的 *c-fos* 表达降至最低水平。红外光下实施麻醉剂肌肉注射, 盐酸氯胺酮组基础剂量为 40 mg/kg, 乌拉坦组为

50 mg/kg, 至眨眼和缩腿反射消失为止, 对照组注射剂量相当的生理盐水; 麻醉完成后, 将猫置于自然光下, 以硫酸阿托品扩瞳, 强闪光刺激双眼 1 h; 等待 1 h 后, 将实验组和对照组猫深麻醉后开胸, 经升主动脉依次灌注生理盐水及 0.1 mol/L PBS 缓冲液 (pH 7.2~7.4, 200 mL/kg, 含 4% 多聚甲醛及 2.5% 戊二醛); 开颅取全脑固定 2 h, 分离两侧初级视皮层并移入固定液 (含 4% 多聚甲醛、2.5% 戊二醛和 30% 蔗糖) 中固定至组织沉底; 制作连续冠状冰冻切片, 厚 40 μm , 每隔 10 张切片取 3 张为一组, 分别用于 *c-fos* 蛋白免疫组织化学标记、阴性对照和尼氏染色, 每例取相应位置的 10 组切片进行细胞计数和数据分析。

1.2 尼氏染色与 *c-fos* 免疫标记

0.5% 甲苯胺蓝溶液用于尼氏染色, 以确定皮层分层并统计各层神经元密度。

常规 *c-fos* 蛋白免疫标记分别用 3% H_2O_2 、0.3% Triton X-100 及 5% 胎牛血清处理, 然后滴加 *c-fos* 一抗 (兔抗鼠多克隆抗体, 浓度为 1:200, 武汉博士德生物工程有限公司), 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 24 h; PBS 冲洗后滴加生物素标记二抗 (羊抗兔 IgG 工作液, 武汉博士德生物工程有限公司), 室温孵育 20 min; PBS 冲洗后滴加三抗 (链霉卵白素过氧化物酶工作液, 武汉博士德生物工程有限公司 SABC), 室温孵育 20 min; DAB 显色, 梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封片, 显微镜下观察。阴性对照以 PBS 液代替一抗进行孵育, 其余步骤相同。

1.3 数据统计与分析

染色及免疫标记切片在 Olympus BX-51 显微镜下观察, 用 Image-Pro Express 6.0 图像分析软件进行图像采集, 定量统计并分析尼氏染色的神经元密度、*c-fos* 蛋白免疫阳性细胞密度和细胞光密度 (IOD: integrated optical density) 值。选取初级视皮层中部区域 (皮层表面和白质几乎平行) 进行定量统计。

每张尼氏染色切片在低倍镜下 ($\times 40$) 获取图像, 在较高放大倍数下 ($\times 100$) 标出皮质各层次界限 (I、II~III、IV、V、VI 层), 并随机选取 10 个视野测量皮质表面至各层上、下界限的垂直距离, 取平均值作为相邻切片中皮质各层边界定位的依据。在高倍镜 ($\times 400$) 下分别于皮质各层选取 10 个视野 (样方大小 50 $\mu\text{m} \times 50 \mu\text{m}$) 计数尼氏染色神经元和 *c-fos* 免疫阳性细胞数, 取平均值并换算成细胞密度 (cells/mm^2)。从每张免疫标记切片中随机选取 80 个 *c-fos* 阳性细胞, 用图像分析软件测定光密度值,

取平均值代表免疫阳性细胞的免疫反应强弱。

所有数据用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,用SPSS13.0统计软件进行组间数据差异性的ANOVA检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

尼氏染色切片中,初级视皮层层次分明,神经

元结构清晰,细胞形态、大小各异,胞体和突起呈蓝紫色或浅蓝色。

根据尼氏染色结果,猫初级视皮层可分为6层,从外向内依次为分子层(I)、外颗粒层(II)、外锥体层(III)、内颗粒层(IV)、内锥体层(V)和多形层(VI)(图1A-C),与已有报道一致。

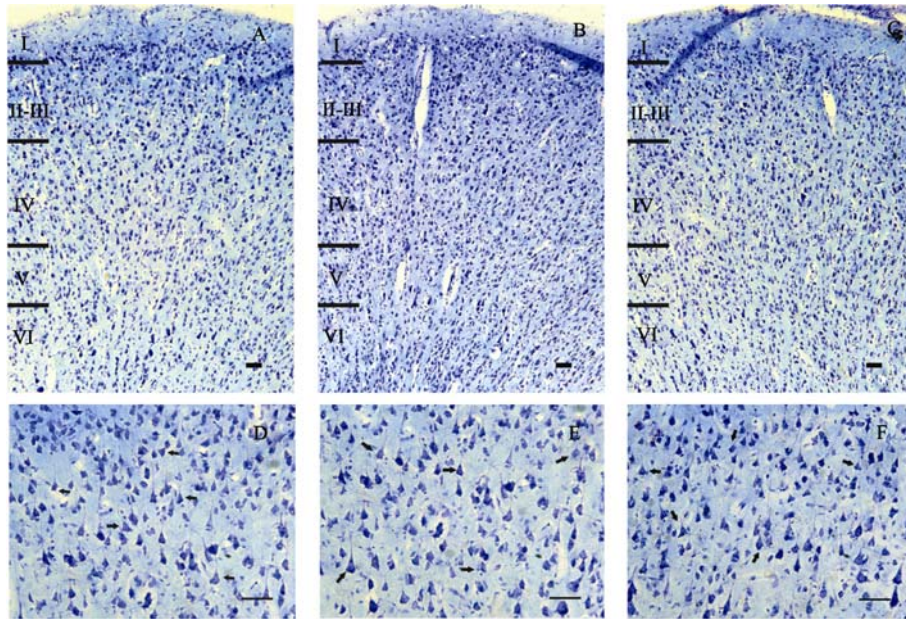


图1 盐酸氯胺酮处理组(A, D)、乌拉坦处理组(B, E)及对照组(C, F)猫初级视皮层灰质各层的尼氏染色神经元
Figure 1 Nissl-stained neurons in each layers of the primary visual cortex in ketamine-treated (A, D), urethane-treated (B, E) and control (C, F) cats

A-C: 视皮层第I、II-III、IV、V、VI层; D-F: 视皮层第III层锥体细胞。Scale bar=50 μm 。

A-C: Layer I, II-III, IV, V and VI of visual cortex; D-F: Pyramidal cells in layer III of visual cortex. Scale bar=50 μm 。

实验组和对照组视皮层中均分布有c-fos免疫阳性细胞,免疫阳性物质主要集中在细胞核区域,胞核呈褐色或棕褐色,神经元胞体及轴突、树突处染色较浅,呈棕色或浅棕色(图2A-I),符合c-fos免疫阳性反应特征。

2.1 神经元密度统计与分析

光镜下观察并统计实验组和对照组切片中初级视皮层灰质第I、II-III、IV、V、VI层的神经元密度。方差分析结果显示,各组内初级视皮层尼氏染色神经元密度存在显著层次差异(盐酸氯胺酮组: $F_{(4, 150)} = 253.256$, $P < 0.0001$; 乌拉坦组: $F_{(4, 150)} = 615.428$, $P < 0.0001$; 对照组: $F_{(4, 150)} = 524.08$, $P < 0.0001$)。表现为第I层尼氏染色神经元密度相对较低,第II-III、IV、V、VI层神经元密度相对较高;第IV层神经元密度相对低于第II-III、V和VI层,但第II-III、V、VI层之间的神经元密度无明显差异(表

1)。神经元密度在组内个体间无显著差异(盐酸氯胺酮组: $F_{(2, 150)} = 0.831$, $P = 0.438$; 乌拉坦组: $F_{(2, 150)} = 0.615$, $P = 0.542$; 对照组: $F_{(2, 150)} = 1.971$, $P = 0.143$)。

多因素方差分析结果显示,初级视皮层各层的神经元密度在组间无显著差异(麻醉剂影响效应: $F_{(2, 450)} = 2.323$, $P = 0.099$; 麻醉剂处理与个体交叉效应: $F_{(2, 450)} = 0.344$, $P = 0.848$; 麻醉剂处理与皮层层次交叉效应: $F_{(4, 450)} = 0.368$, $P = 0.937$) (表1),表明各实验组猫初级视皮层各层的神经元密度与对照组无显著差异。

2.2 c-fos 免疫阳性细胞密度统计与分析

各组实验猫初级视皮层灰质各层中均分布有呈褐色或棕褐色的c-fos免疫阳性神经元。其中,第I层分布较稀少,免疫阳性细胞体积很小,第IV层稍多,第II-III、V、VI层较密集,白质中未发现c-fos免疫阳性神经元。

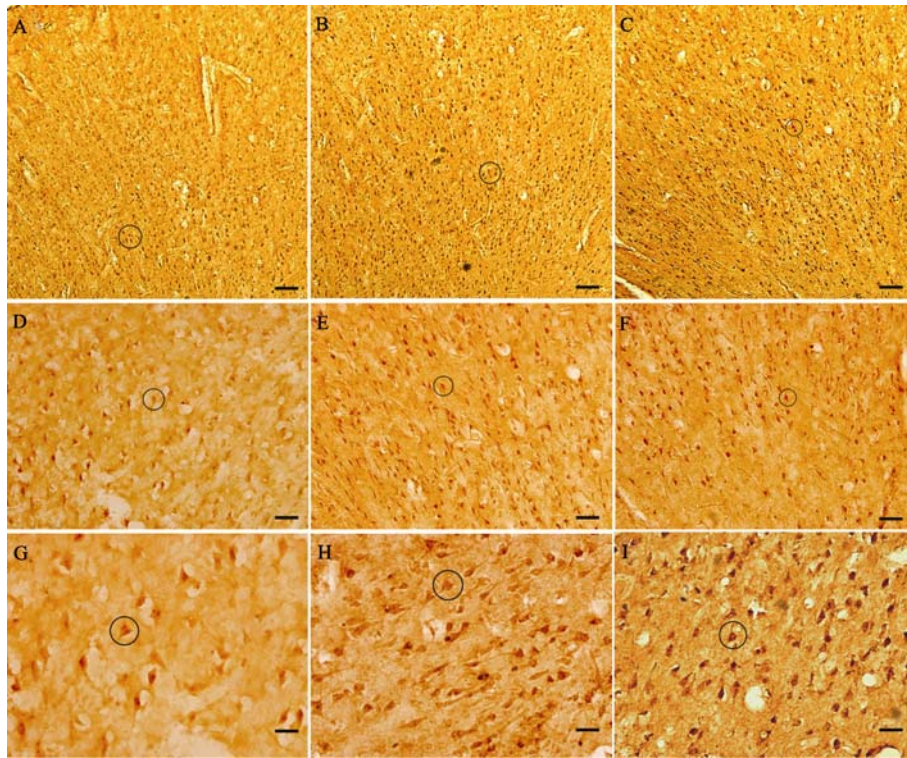


图2 盐酸氯胺酮处理组 (A, D, G)、乌拉坦处理组 (B, E, H) 和对照组 (C, F, I) 猫初级视皮层的 c-fos 免疫阳性神经元 (圆圈指示)

Figure 2 c-fos immunoreactive neurons (as circles indicated) in primary visual cortex of ketamine-treated (A, D, G), urethane-treated (B, E, H) and control (C, F, I) cats

A~C: 初级视皮层灰质冠状切面整体观 (Scale bar=60 μm); D~F: 第 V/VI 层 c-fos 免疫阳性神经元, (Scale bar=25 μm); G~I: 第 V 层 c-fos 免疫阳性椎体细胞, (Scale bar=15 μm)。

A-C: Coronal view of the gray matters of the primary visual cortex (Scale bar=60 μm); D-F: c-fos positive neurons in layer V/VI of the primary visual cortex (Scale bar=25 μm); G-I: c-fos positive pyramidal neurons in layer V of the primary visual cortex (Scale bar=15 μm).

组内方差分析结果显示, 各组实验猫初级视皮层 c-fos 免疫阳性神经元密度存在显著层次差异 (盐酸氯胺酮组: $F_{(4, 150)}=447.241, P<0.0001$; 乌拉坦组: $F_{(4, 150)}=610.816, P<0.0001$; 对照组: $F_{(4, 150)}=461.945, P<0.0001$), 表现为第 I 层 c-fos 免疫阳性细胞密度相对较低, 第 II-III、IV、V、VI 层 c-fos 免疫阳性细胞密度相对较高; 第 IV 层 c-fos 免疫阳性细胞密度相对低于 II-III、V、VI 层, 而 II-III、V、VI 层之间的免疫阳性细胞密度无明显差异 (表 1)。c-fos 免疫阳性细胞密度在组内个体间无显著差异 (盐酸氯胺酮组: $F_{(2, 150)}=0.546, P=0.58$; 乌拉坦组: $F_{(2, 150)}=0.851, P=0.429$; 对照组: $F_{(2, 150)}=0.074, P=0.928$)。

组间方差分析结果显示, 盐酸氯胺酮组中初级视皮层各层 c-fos 免疫阳性细胞密度较乌拉坦组和对照组均显著降低 [$F_{(1, 300)}=16.389, P<0.0001$; $F_{(1, 300)}=18.856, P<0.0001$], 乌拉坦组中 c-fos 免疫阳性神经元密度与对照组无明显差异 [$F_{(2, 450)}=0.733, P=0.393$] (图 2A-I; 表 1)。三组数据比较分析结果

显示, 乌拉坦对视皮层神经元 c-fos 蛋白表达无显著影响, 而盐酸氯胺酮会显著抑制 c-fos 蛋白在视皮层各层的表达, 与对照组相比, 盐酸氯胺酮组中初级视皮层第 I、II-III、IV、V、VI 层 c-fos 免疫阳性细胞密度分别降低 66.88%、45.38%、41.22%、27.06% 和 28.32% (表 1)。

2.3 c-fos 蛋白免疫反应强度测量与分析

光镜下, 盐酸氯胺酮组中 c-fos 蛋白免疫阳性神经元着色较浅, 乌拉坦组和对照组 c-fos 阳性神经元着色较深。

对各层 (主要包括第 II-III、IV、V、VI 层) 内随机抽取的 c-fos 免疫阳性神经元进行平均光密度分析, 结果显示, 盐酸氯胺酮组平均光密度值较乌拉坦组和对照组均显著降低 [$F_{(1, 60)}=173.771, P<0.0001$; $F_{(1, 60)}=173.707, P<0.0001$], 降低程度分别为 18.72% 及 19.41%。乌拉坦组 c-fos 免疫阳性反应强度与对照组相比无明显差异 [$F_{(1, 60)}=0.482, P=0.886$] (图 3)。

表 1 盐酸氯胺酮处理组 (KC1-3)、乌拉坦处理组 (UC1-3) 及对照组 (NC1-3) 猫的初级视皮层第 I、II-III、IV、V、VI 层尼氏染色神经元和 c-fos 免疫阳性神经元密度

Table 1 Densities of Nissl-stained and c-fos immunoreactive neurons in layer I, II-III, IV, V and VI of the primary visual cortex in ketamine-treated (KC1-3), urethane-treated (UC1-3) and control (NC1-3) groups of cats

个体 Subject	皮层分层 Cortical layers				
	I	II-III	IV	V	VI
尼氏染色神经元密度 Densities of Nissl-stained neurons (cells/mm ²)					
KC1	396±135.3	1736±261.4	1524±196.4	1664±232.6	1696±258.7
KC2	416±98.3	1800±181.8	1568±160.9	1728±223.7	1756±165.9
KC3	384±177.1	1784±235.7	1592±153	1736±220.1	1696±228.8
UC1	432±129	1780±183.1	1556±102.3	1736±125.4	1756±122.9
UC2	444±127.1	1812±156.7	1580±110.4	1764±160.5	1780±137.6
UC3	404±78.8	1744±116.5	1512±101.2	1784±128.2	1808±123.4
NC1	420±100.2	1760±161.1	1520±126.5	1720±148.5	1772±125.1
NC2	472±88	1828±147.3	1600±161.1	1788±160.1	1740±148.8
NC3	456±115	1844±125.7	1572±129.3	1788±165.5	1772±146.1
c-fos 免疫阳性神经元密度 Densities of c-fos immunoreactive neurons (cells/mm ²)					
KC1	148±75.5*	940±136.3*	820±112*	1176±163.5*	1184±160.2*
KC2	132±88.5*	960±129.3*	820±80.5*	1244±125.7*	1212±99.9*
KC3	132±88.5*	892±117.8*	836±76.5*	1268±110*	1248±114.4*
UC1	312±129	1620±183.1	1396±102.3	1736±125.4	1676±122.9
UC2	404±127.1	1624±192.5	1420±110.3	1720±103.3	1708±129.3
UC3	364±78.8	1664±116.5	1392±101.2	1704±128.2	1768±123.4
NC1	380±100.2	1720±161.1	1360±126.5	1680±148.5	1732±125.1
NC2	448±104.6	1708±147.3	1440±186.7	1668±160.1	1660±148.8
NC3	416±115	1684±125.7	1412±129.3	1708±165.5	1692±146.1

*: 个体神经元密度显著低于 UC1~3 及 NC1~3 个体 ($P<0.05$)。

*: Individual's neuronal densities are significantly lower than UC1-3 and NC1-3 ($P<0.05$).

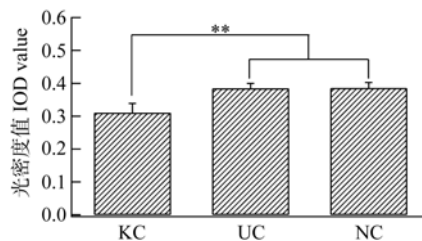


图 3 盐酸氯胺酮处理组 (KC)、乌拉坦处理组 (UC) 和对照组猫 (NC) 初级视皮层 c-fos 免疫阳性神经元平均光密度 (IOD) 值

Figure 3 Average IOD (integrated optical density) value of c-fos immunoreactive neurons in the primary visual cortex of ketamine-treated (KC), urethane-treated (UC) and control cats (NC)

** $P<0.01$

以上分析表明, 盐酸氯胺酮急性麻醉对猫初级视皮层刺激依赖的 c-fos 蛋白表达有显著的抑制作用, 而乌拉坦对初级视皮层 c-fos 表达的影响不显著。

3 讨论

已有研究表明, 刺激因素和药物诱导的中枢神经系统 c-fos 表达可显著被 NMDA 受体的拮抗剂阻断, 提示 c-fos 的诱导可能经 NMDA 受体介导 (Herrera & Robertson, 1990; Torres & Rivier, 1993)。氯胺酮是临床手术或动物实验中常用的麻醉诱导药物, 有研究证实, 它是 NMDA 受体的非竞争性拮抗剂 (Jin et al, 2013), 因此, 有可能会抑制光刺激激发的视皮层兴奋性突触活动, 从而抑制视皮层 c-fos 表达。本研究结果显示, 盐酸氯胺酮急性麻醉处理组中视皮层各层的神经元密度与对照组无显著差异, 而光刺激诱导的 c-fos 蛋白免疫阳性细胞密度显著低于对照组, 且阳性细胞中 c-fos 免疫反应强度亦显著减弱, 表明氯胺酮对视皮层神经元的诱发反应活动主要起抑制作用, 这与其他研究者报

道的氯胺酮能抑制伤害性刺激诱发的脊髓c-fos基因的表达结果相一致(Huang & Simpson, 1999), 且与氟烷、氧化二氮、异氟醚及异丙酚等其他麻醉剂的作用较相似(Hagihira et al, 1997; Jinks et al, 2002; Yan et al, 2002)。

乌拉坦为麻醉维持剂, 因其对心血管和呼吸功能的影响很小(Hara & Harris, 2002), 常用于大鼠、小鼠、家兔和猫等动物的神经生理学实验(Devonshire et al, 2010; Peng et al, 2011)。离体实验观察发现, 乌拉坦能显著抑制海马和视皮层神经元对刺激的诱发反应和突触反应强度(Shirasaka & Wasterlain, 1995; Sceniak & Maciver, 2006), 而在体实验显示, 乌拉坦在正常麻醉剂量时对皮层神经元的诱发反应活动无显著影响或影响很小(Peng et al, 2011; Sceniak & Maciver, 2006)。

本研究结果显示, 正常麻醉剂量的乌拉坦组中刺激诱导的c-fos蛋白免疫阳性细胞密度和免疫反应强度与对照组相比均无显著差异, 提示正常麻醉剂量的乌拉坦对视皮层神经元诱发反应活动的抑制作用微弱。该结果支持以前的在体实验研究, 与离体实验观察存在差异, 而这些差异是否与麻醉剂量有关, 尚有待进一步研究。乌拉坦影响中枢神经元活动的作用位点和机制还不甚清楚, 有学者认为它不影响兴奋性和抑制性突触传递, 其抑制作用可能由通过改变细胞膜K⁺通道的通透性得以实现(Sceniak & Maciver, 2006)。另有学者认为, 乌拉坦可作用于兴奋性和抑制性递质受体通道

(McCardle & Gartside, 2012), 但在正常麻醉剂量时作用较弱, 在高麻醉剂量时可对多种受体通道产生影响(Hara & Harris, 2002)。我们以前的电生理研究发现, 高剂量(高于正常麻醉剂量150 mg)乌拉坦能抑制视皮层神经元对视觉刺激的诱发反应, 但未显著改变神经元对光栅刺激方位和运动方向反应的选择性(Peng et al, 2011), 而视皮层神经元对光栅或光条刺激方位及运动方向反应的选择性强弱主要取决于皮层内抑制性递质(特别是GABA)系统作用的强弱(Eysel et al, 1998; Leventhal et al, 2003), 据此推测, 乌拉坦在高剂量时对神经元活动的抑制作用可能不是通过GABA能抑制性递质系统介导, 而可能与谷氨酸受体的抑制或K⁺离子通道的激活有关(Daló & Hackman, 2013; Sceniak & Maciver, 2006)。乌拉坦作用机制与物种、脑区和麻醉剂量的关系有待进一步研究。

总之, 本研究通过观察立早基因 c-fos 蛋白的表达评价了两种常用麻醉剂在正常麻醉剂量时对视皮层神经元刺激诱发反应的影响, 发现盐酸氯胺酮能显著抑制视皮层神经元刺激诱导的 c-fos 蛋白表达, 而乌拉坦对刺激诱导的 c-fos 蛋白表达无明显影响, 表明氯胺酮对视皮层神经元的刺激诱发反应可能存在较强的抑制作用, 而乌拉坦的抑制作用不显著。提示在视觉生理学实验中, 乌拉坦相对于氯胺酮而言是比较适合的麻醉维持剂。本研究结果为进一步探讨氯胺酮和乌拉坦对视皮层神经元活动的影响途径和细胞分子机制提供线索。

参考文献:

- Daló NL, Hackman JC. 2013. The anesthetic urethane blocks excitatory amino acid responses but not GABA responses in isolated frog spinal cords. *Journal of Anesthesia*, **27**(1): 98-103.
- Devonshire IM, Grandy TH, Dommett EJ, Greenfield SA. 2010. Effects of urethane anaesthesia on sensory processing in the rat barrel cortex revealed by combined optical imaging and electrophysiology. *European Journal of Neuroscience*, **32**(5): 786-797.
- Eysel UT, Shevelev IA, Lazareva NA, Sharaev GA. 1998. Orientation tuning and receptive field structure in cat striate neurons during local blockade of intracortical inhibition. *Neuroscience*, **84**(1): 25-36.
- Filipkowski RK. 2000. Inducing gene expression in barrel cortex-focus on immediate early genes. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, **60**(3): 411-418.
- Hagihira S, Taenaka N, Yoshiya I. 1997. Inhalation anesthetics suppress the expression of c-Fos protein evoked by noxious somatic stimulation in the deeper layer of the spinal cord in the rat. *Brain Research*, **751**(1): 124-130.
- Hara K, Harris RA. 2002. The anesthetic mechanism of urethane: the effects on neurotransmitter-gated ion channels. *Anesthesia and Analgesia*, **94**(2): 313-318.
- Herrera DG, Robertson HA. 1990. N-methyl-D-aspartate receptors mediate activation of the c-fos proto-oncogene in a model of brain injury. *Neuroscience*, **35**(2): 273-281.
- Höfken O, Haussleiter IS, Westermann A, Lötsch J, Maier C, Tegenthoff M, Schwenkreis P. 2013. Influence of (S)-ketamine on human motor cortex excitability. *Experimental Brain Research*, **225**(1): 47-53.
- Howland RH. 2013. Ketamine for the treatment of depression. *Journal of Psychosocial Nursing and Mental Health Services*, **51**(1): 11-14.
- Huang W, Simpson RK Jr. 1999. Ketamine suppresses c-fos expression in dorsal horn neurons after acute constrictive sciatic nerve injury in the rat. *Neuroscience Letters*, **269**(3): 165-168.
- Jin JH, Gong KR, Zou XJ, Wang RR, Lin Q, Chen J. 2013. The blockade of

- NMDA receptor ion channels by ketamine is enhanced in developing rat cortical neurons. *Neuroscience Letters*, **539**: 11-15.
- Jinks SL, Antognini JF, Martin JT, Jung SW, Carstens E, Atherley R. 2002. Isoflurane, but not halothane, depresses c-fos expression in rat spinal cord at concentrations that suppress reflex movement after supramaximal noxious stimulation. *Anesthesia and Analgesia*, **95**(6): 1622-1628.
- Kochs E, Bischoff P. 1994. Ketamine and evoked potentials. *Anaesthesist*, **43**(Suppl 2): S8-S14.
- Leventhal AG, Wang YC, Pu ML, Zhou YF, Ma YY. 2003. GABA and its agonists improved visual cortical function in senescent monkeys. *Science*, **300**(5620): 812-815.
- Marchant EG, Morin LP. 2001. Light augments FOS protein induction in brain of short-term enucleated hamsters. *Brain Research*, **902**(1): 51-65.
- McCardle CE, Gartside SE. 2012. Effects of general anaesthetics on 5-HT neuronal activity in the dorsal raphe nucleus. *Neuropharmacology*, **62**(4): 1787-1796.
- Nakadate K, Imamura K, Watanabe Y. 2012. Effects of monocular deprivation on the spatial pattern of visually induced expression of c-Fos protein. *Neuroscience*, **202**: 17-28.
- Patel IM, Chapin JK. 1990. Ketamine effects on somatosensory cortical single neurons and on behavior in rats. *Anesthesia and Analgesia*, **70**(6): 635-644.
- Peng QS, Zhou J, Shi XM, Hua GP, Hua TM. 2011. Effects of urethane on the response properties of visual cortical neurons in young adult and old cats. *Zoological Research*, **32**(3): 337-342.(in Chinese)
- Poveda A, Kretz R. 2009. c-Fos expression in the visual system of the tree shrew (*Tupaia belangeri*). *Journal of Chemical Neuroanatomy*, **37**(4): 214-228.
- Sceniak MP, Maciver MB. 2006. Cellular actions of urethane on rat visual cortical neurons *in vitro*. *Journal of Neurophysiology*, **95**(6): 3865-3874.
- Shirasaka Y, Wasterlain CG. 1995. The effect of urethane anesthesia on evoked potentials in dentate gyrus. *European Journal of Pharmacology*, **282**(1-3): 11-17.
- Torres G, Rivier C. 1993. Cocaine-induced expression of striatal c-fos in the rat is inhibited by NMDA receptor antagonists. *Brain Research Bulletin*, **30**(1-2): 173-176.
- Van der Gucht E, Clerens S, Jacobs S, Arckens L. 2005. Light-induced Fos expression in phosphate-activated glutaminase-and neurofilament protein-immunoreactive neurons in cat primary visual cortex. *Brain Research*, **1035**(1): 60-66.
- Xu LX, Zhang H, Zhang HK, Li J, Zhang GL. 2000. Effects of enflurane and isoflurane on spontaneous neural discharge of the supraoptic nucleus neurons of rat hypothalamic slices. *The Journal of Clinical Anesthesiology*, **16**(6): 299-301. [徐礼鲜, 张惠, 张洪凯, 李军, 张国良. 2000. 安氟醚和异氟醚对大鼠脑薄片视上核神经元自发电活动的影响. 临床麻醉学杂志, **16**(6): 299-301.]
- Xu LX, Ma JH, Zhang H. 2001. Effects of enflurane and isoflurane on the spontaneous neural discharge of central amygdaloid nucleus in rats. *Chinese Journal of Anesthesiology*, **21**(11): 676-678. [徐礼鲜, 马加海, 张惠. 2001. 安氟醚和异氟醚对大鼠中央杏仁核神经元自发电活动的影响. 中华麻醉学杂志, **21**(11): 676-678.]
- Yan M, Zhang LC, Dai TJ, Zheng YM, Duan SM. 2002. Propofol depresses c -fos expression of NOS neurons in the spinal cord of rats with inflammatory pain. *Acta Physiologica Sinica*, **54**(1): 60-64.(in Chinese)