

· 基础研究 ·

## 异丙酚对大鼠下丘神经元第一动作电位延时-声强函数曲线的作用\*

张新建<sup>1</sup>, 盛莉<sup>2</sup>, 张元信<sup>3△</sup>

(1. 中国人民解放军第四〇一医院济南军区麻醉中心/手外科麻醉科, 山东青岛 266071; 2. 中国人民解放军第一五九中心医院麻醉科, 河南驻马店 463000; 3. 中国人民解放军第四〇一医院全军手外科中心, 山东青岛 266071)

**摘要:**目的 探讨异丙酚对大鼠下丘神经元第一动作电位延时-声强(FSL-A)函数曲线的作用,以揭示异丙酚麻醉过程导致听觉消失的神经电生理学机制。方法 无特定病原体(SPF)级 SD 大鼠 43 只,雌雄不限,体质量 200~250 g。应用肌松药和小动物呼吸机建立听觉实验模型,将玻璃微记录电极刺入大鼠下丘中央核,用 TDT3 听觉研究系统采用细胞外记录的方式研究清醒和异丙酚麻醉(100 mg/kg 腹腔注射)后每间隔 10 min FSL-A 的改变规律。结果 共记录到 43 个单单位神经元,特征频率范围 2.5~44 kHz,1 个单单位神经元呈现 Offset 反应,其余 42 只大鼠下丘神经元呈现 Onset 反应。给药后不同时间 FSL-A 函数曲线  $r^2$  之间的比较差异具有统计学意义( $P<0.05$ ),给药后 10 min 与给药前比较差异有统计学意义( $P<0.05$ );给药前、后不同时间点 FSL-A 函数曲线  $r^2>0.95$ ( $P<0.05$ );同一大鼠给药后 FSL-A 曲线向下平移,可与给药前函数曲线完全重合。结论 异丙酚改变大鼠下丘神经元 FSL-A 函数曲线位置从而影响听觉对声音强度的信息传递,但不改变对其编码的信息含义。

**关键词:**二异丙酚;第一动作电位延时;声音;下丘;神经元

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.35.026

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)35-4299-03

## Effect of propofol on the first spike latency-amplitude curve of rat inferior colliculus neurons\*

Zhang Xinjian<sup>1</sup>, Sheng Li<sup>2</sup>, Zhang Yuanxin<sup>3△</sup>

(1. Anesthesiology Center of Jinan Military Region/Department of Hand Surgery Anesthesiology, the 401th Hospital of PLA, Qingdao, Shandong 266071, China; 2. Department of Anesthesiology, the 159th Center Hospital of PLA, Zhumadian, Henan 463000, China; 3. Hand Surgery Center, Hospital No. 401 of PLA, Qingdao, Shandong 266071, China)

**Abstract:** Objective To evaluate effect of propofol on the first spike latency-amplitude curve of rat inferior colliculus neurons and to find out mechanisms that propofol leads to the disappearance of auditory nerve electrophysiological. Methods 43 healthy specific pathogen free (SPF) grade sprague dawley (SD) rats (weighing 200-250 g) were used to established wakeful animal models by ventilating with animal respirator after infusing vecuronium. A microelectrode was penetrated in the inferior colliculus (IC), and then research first spike latency-amplitude (FSL-A) using a Tucker-Davis Technologies System 3 (TDT3) before and after intraperitoneal injection of propofol 100 mg/kg of each 10 minutes interval. Results CFs ranging from 2.5 to 44 kHz. An acoustic response of neurons showed offset response, the remaining 42 neurons showed onset response.  $r^2$  of FSL-A curve equations are significant difference between administered propofol before and after 10 minutes ( $P<0.05$ ), all of them are larger than 0.95 ( $P<0.05$ ). FSL-A curve after administration can shift the lower curve and coincident with the previous administration in the same rat. Conclusion Propofol affect auditory information transmission by convert localization of FSL-A curve of rat inferior colliculus neurons, but does not change the meaning of the information encoded.

**Key words:** propofol; first spike latency; sound; inferior colliculus; neurons

听觉是麻醉过程中最后消失的感觉,也是麻醉恢复期最先恢复的感觉。术中知晓是指全身麻醉手术期间患者对周围环境或声音存在着一定程度的感知与记忆,其外部信息来源主要通过听觉系统,但是麻醉药物对听觉系统的作用部位及作用机制尚缺少相关研究,因此对术中知晓本质的认识缺乏相关的理论基础。最新的研究表明:听觉系统中第一动作电位延时(first spike latency, FSL)可能编码了外界信息<sup>[1-2]</sup>。本研究拟评价异丙酚对大鼠下丘神经元第一动作电位延时-声强(first spike latency-amplitude, FSL-A)函数曲线的作用,以揭示异丙酚麻醉过程导致听觉消失的可能的神经电生理学机制。

## 1 材料与方

**1.1 实验动物** 无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 级 SD 大鼠 43 只,体质量 200~250 g,雌雄不限,由南方医科

大学实验动物中心提供。

## 1.2 方法

**1.2.1 动物模型制备** 经耳镜检查鼓膜和中耳均无异常且听觉反应灵敏。实验前 1 d 皮下注射阿托品 0.5 mg/kg 后,腹腔注射 3% 戊巴比妥钠 40 mg/kg,给药后 30 min 以 2% 利多卡因局部浸润麻醉下,颅顶部剪去皮,暴露颅骨,在颅骨矢状缝左或右旁开 1~2 mm,双耳连线上约 0.5 mm 电钻开窗 2 mm×2 mm,显微镜下清除骨片,挑开硬脑膜,明胶海绵填塞备用。实验当天在屏蔽室内给大鼠腹腔注射维库溴安 1 mg,3~5 min 后迅速经口插入自制喉罩,连接呼吸机(型号:DW-3000,广州飞迪科技有限公司)进行机械通气,通气频率每分钟 80~110 次,潮气量 4~12 mL;吸呼比 1:1.5,氧浓度 21%,调整好喉罩位置,自制颅骨钉尖端钉入眼耳之间的顶骨下缘肌肉

表 1 给药后不同时间点大鼠下丘脑神经元 FSL-A 函数  $r^2$  与给药前和 0.95 的比较 ( $n=42, \bar{x} \pm s$ )

给药前	给药后								
	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min	70 min	80 min	90 min
0.98±0.03 <sup>b</sup>	0.96±0.02 <sup>ab</sup>	0.97±0.03 <sup>b</sup>	0.98±0.04 <sup>b</sup>	0.98±0.04 <sup>b</sup>	0.98±0.03 <sup>b</sup>	0.98±0.04 <sup>b</sup>	0.98±0.06 <sup>b</sup>	0.98±0.04 <sup>b</sup>	0.98±0.03 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与给药前比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与 0.95 比较。

附着点的骨质,将大鼠俯卧位固定在定位仪上,调整定位仪使门齿钩平面比耳间线平面低 10~12 mm,使前囟、后囟水平。大鼠躯干悬挂在防震实验台架上,前肢悬空,距大鼠头部正前方 30 cm 安装喇叭。

**1.2.2 声音刺激和数据采集** 在手术显微镜下将玻璃微记录电极(尖端直径约 1  $\mu\text{m}$ ,阻抗 10~20 M $\Omega$ ,填充 2 mol/L 醋酸钠溶液)移动至开窗处,使头侧与水平面夹角约 50~60°,并轻触大脑皮层表面,在屏蔽室外通过日本产微操纵仪(它通过液压系统连接屏蔽室内的玻璃微记录电极运动装置),推进玻璃微记录电极插入大鼠下丘。电极推进过程中通过喇叭给予 50 ms 的噪音刺激(声音长度 55 ms,包括上升和下降时间各 5 ms),探测到神经元信噪比大于 4:1 的反应后换为相应特征频率(CF,最小阈值下有反应的短纯音的频率)的纯音刺激。纯音刺激参数为(声音长度 50 ms,包括上升时间 20 ms 和下降时间 10 ms)进行频率一幅度扫描,声音频率在 CF  $\pm$  5 kHz 范围内以 1 或 0.5 kHz 为一个单位变化,同时幅度从 90 dB 至阈下 10 dB(MT-10 dB),以 5~20 dB 为单位变化,而当幅度接近阈值时以 1~3 dB 为间隔进行变化。每个声音刺激通过 BrainWare 软件以 1 Hz 的速度随机发出,声音信号经自由场传递至动物。每个声音刺激均重复 10~15 次。数据变化情况通过屏蔽室外 TDT3 数据显示屏幕进行观察。

同一刺激参数分别于麻醉前给予腹腔注射异丙酚(批号:DC613, AstraZeneca 公司,瑞典)100 mg/kg 后每间隔 10 min 进行扫描,记录在不同频率和声强下 FSL 的改变。数据用 BrainWare 软件通过发放数顺序、刺激后时间直方图、动作电位形状和特征窗进行观察。神经元放电反应放大 2 000~10 000 倍,数字放大器(RA16)进行滤波(0.3~3 kHz),通过 BrainWare 软件进行记录和显示,声音刺激诱发的动作电位的波形,数目和时间都被收集并存储在数据库中,通过 TDT3 系统获取数据并进行分析。间断腹腔注射维库溴铵维持肌松状态。

**1.3 统计学处理** 采用 OriginPro7.5 软件中一阶指数函数  $[Y = A1 \times e^{(-X/t1)} + Y0]$  对给药前 FSL-A 进行曲线拟合, Y 为 FSL, X 为声音强度, Y0 为当声音强度增加时延时在曲线上无限接近 X 轴时的最小延时,计算常数 A1 和 t1,采用该函数分别拟合给药不同时点 FSL-A 函数曲线,计算 FSL-A 一阶指数函数拟合度( $r^2$ )。采用 SPSS13.0 软件进行数据分析,正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,不同时点 FSL-A 函数曲线  $r^2$  之间的比较采用重复测量设计的方差分析;不同时点 FSL-A 函数曲线  $r^2$  与 0.95 间的比较采用  $u$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

共记录到 43 个单单位神经元,CF 范围 2.5~44 kHz,平均(12±9) kHz。1 个单单位神经元呈现 Offset 反应(对声音刺激末尾产生反应),其余 42 只大鼠下丘神经元 Onset 反应(对声音刺激起始部分产生反应)。

42 个 Onset 反应神经元 FSL 随声强增高而缩短,在最大

声强处达到最短。所有神经元的 FSL-A 函数曲线均呈随声强增高 FSL 单调下降。给药后不同时点 FSL-A 函数曲线  $r^2$  之间的比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),给药后 10 min 与给药前比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ );给药前、后不同时间点 FSL-A 函数曲线  $r^2 > 0.95$  ( $P < 0.05$ ),见表 1。同一大鼠给药后的 FSL-A 曲线向下平移,可与给药前函数曲线完全重合,见表 2。

表 2 给予异丙酚前后不同时点同一只大鼠下丘脑神经元 FSL-A 拟合曲线函数及拟合优度 (NO.080514; CF:9 kHz)

时间点	拟合方程	$r^2$
给药前	$Y = 47 \times e^{(-X/20)} + 15.02$	0.99
给药后		
10 min	$Y = 47 \times e^{(-X/20)} + 17.22$	0.94
20 min	$Y = 47 \times e^{(-X/20)} + 19.93$	0.95
30 min	$Y = 47 \times e^{(-X/20)} + 19.40$	0.96
40 min	$Y = 47 \times e^{(-X/20)} + 19.79$	0.98
50 min	$Y = 47 \times e^{(-X/20)} + 19.55$	0.98
60 min	$Y = 47 \times e^{(-X/20)} + 19.34$	0.99
70 min	$Y = 47 \times e^{(-X/20)} + 18.16$	0.98
80 min	$Y = 47 \times e^{(-X/20)} + 16.89$	0.98

## 3 讨 论

哺乳动物下丘在听觉中枢传导路上是连接听觉脑干和听皮层的中转站,执行信息传递、整合、修饰,也是集中处理双耳信息的第一级中枢<sup>[3-9]</sup>。全麻药影响神经元放电特性可能是导致麻醉过程中听觉消失的重要原因之一。实验记录到的神经元 CF 集中分布于(12±9)kHz,此范围频率与大鼠听觉最敏感区域频率相吻合<sup>[3]</sup>,因此本试验对下丘功能区定位较准确。本研究因为仅记录到 1 只大鼠下丘神经元对声音刺激呈 Offset 反应,没有对比研究对象,因此只进行描述。

本研究固定声刺激参数进行频率-声音强度扫描,按方程  $Y = A1 \times e^{(-X/t1)} + Y0$  拟合 FSL-A 函数曲线,结果显示:不同时间点 FSL-A 函数曲线拟合度良好( $r^2 > 0.95$ ,  $P < 0.05$ ),说明该函数可准确反映拟合曲线的特征,本函数可以精确反映声音强度与 FSL 的关系。给药后不同时点 FSL-A 函数曲线  $r^2$  之间的比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),但仅表现出给药后 10 min 与给药前比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),进一步说明麻醉这种函数关系的准确性,给药后 10 min 拟合度相对较差,可能原因是:此刻麻醉深度较深,影响了神经元的动作电位发放数,最终导致测量 FSL 误差所致。给予异丙酚前、后用同一函数拟合均较好,说明麻醉仅仅导致曲线位置的不同(如表 2 所示),即  $Y = A1 \times e^{(-X/t1)} + Y0$  方程中 Y0 不同,且 Y0 麻醉后随麻醉深度不同而不同,随麻醉清醒而接近麻醉前。说明给予异丙酚后 FSL-A 曲线向下方平移,可与给药前曲线完全重合,异丙酚没有改变 FSL-A 函数曲线的形状,即没有改变 FSL

编码的信息含义<sup>[10-13]</sup>。

综上所述,异丙酚通过改变大鼠下丘神经元 FSL-A 函数曲线位置从而影响听觉对声音强度的信息传递,但不改变对其编码的信息含义。

#### 参考文献:

- [1] Neubauer H, Heil PA. Physiological model for the stimulus dependence of first-spike latency of auditory-nerve fibers[J]. *Brain Research*, 2008(1220):208-223.
- [2] Tan XD, Wang X, Yang WG, et al. First spike latency and spike count as functions of tone amplitude and frequency in the inferior colliculus of mice[J]. *Hear Res*, 2008, 235(1/2):90-104.
- [3] Mei HX, Cheng L, Tang J, et al. Bilateral collicular interaction: modulation of auditory signal processing in amplitude domain. [J]. *PLoS One*, 2012, 7(7):e41311.
- [4] Jen PH, Wu CH, Wang X. Dynamic temporal signal processing in the inferior colliculus of echolocating bats[J]. *Front Neural Circuits*, 2012(6):27.
- [5] Macias S, Mora EC, Hechavarría JC, et al. Properties of echo delay-tuning receptive fields in the inferior colliculus of the mustached bat[J]. *Hear Res*, 2012, 286(1/2):1-8.
- [6] Macias S, Hechavarría JC, Kössl M, et al. Neurons in the inferior colliculus of the mustached bat are tuned both to echo-delay and sound duration[J]. *Neuroreport*, 2013, 24(8):404-409.
- [7] Orton LD, Poon PW, Rees A. Deactivation of the inferior colliculus by cooling demonstrates intercollicular modula-

tion of neuronal activity[J]. *Front Neural Circuits*, 2012(6):100.

- [8] Brown AM, Skamarauskas J, Lister T, et al. Differential susceptibility of astrocytic and neuronal function to 3-chloropropanediol in the rat inferior colliculus[J]. *J Neurochem*, 2011, 116(6):996-1004.
- [9] Heil P, Irvine DR. First-spike timing of auditory-nerve fibers and comparison with auditory cortex[J]. *J Neurophysiol*, 1997, 78(5):2438-2454.
- [10] Phillips DP. Factors shaping the response latencies of neurons in the cat's auditory cortex[J]. *Behav Brain Res*, 1998, 93(1/2):33-41.
- [11] VanRullen R, Guyonneau R, Thorpe SJ. Spike times make sense[J]. *Trends Neurosci*, 2005, 28(1):1-4.
- [12] Clarkson C, Juárez JM, Merchán MA. Transient down-regulation of sound-induced c-fos protein expression in the inferior colliculus after ablation of the auditory cortex[J]. *Front Neuroanat*, 2010(4):141.
- [13] Kirby AE, Middlebrooks JC. Unanesthetized auditory cortex exhibits multiple codes for gaps in cochlear implant pulse trains[J]. *J Assoc Res Otolaryngol*, 2012, 13(1):67-80.
- [14] Liu X, Lauer KK, Ward BD, et al. Propofol disrupts functional interactions between sensory and high-order processing of auditory verbal memory[J]. *Hum Brain Mapp*, 2012, 33(10):2487-2498.

(收稿日期:2013-09-03 修回日期:2013-10-10)

(上接第 4298 页)

- 问题[J]. *中华烧伤杂志*, 2007, 23(5):321-323.
- [2] 袁霆, 张长青, 李四波, 等. 富血小板血浆促进骨修复的理论研究与临床实践[J]. *中国临床康复*, 2006, 10(5):190-192.
- [3] 胡以信, 袁杰, 邹勇, 等. 富血小板血浆对兔烫伤创面愈合的实验研究[J]. *临床医药实践*, 2012, 21(9):686-688.
- [4] Akhundov K, Pietrmaggiore G, Waselle L, et al. Development of a cost-effective method for platelet-rich plasma (PRP) preparation for topical wound healing [J]. *Ann Burns Fire Disasters*, 2012, 25(4):207-213.
- [5] 彭旦明, 刘雯. 烧(烫)伤动物模型的建立及评价[J]. *辽宁中医杂志*, 2011, 38(9):1712-1713.
- [6] 陈学玲, 刘宇飞. 祛腐生肌膏促进感染创面愈合作用的实验研究[J]. *徐州医学院学报*, 2009, 29(11):722-724.
- [7] Zhang J, Middleton KK, Fu FH, et al. HGF mediates the anti-inflammatory effects of PRP on injured tendons[J]. *Plos One*, 2013, 8(6):1371-1376.
- [8] 黄谦, 吴涛, 金丹, 等. 不同比例激活富血小板血浆对其生长因子浓度及人骨髓基质干细胞增殖的影响[J]. *中华创伤骨科杂志*, 2008, 10(10):965-969.
- [9] Fufa D, Shealy B, Jacobson M, et al. Activation of platelet-rich plasma using soluble type collagen[J]. *J Oral Maxil-*

*lofac Surg*, 2008, 66(4):684-690.

- [10] 马桂芳, 李惠芬, 杨李. 胃腺癌组织中 HDGF、VEGF 的表达及意义[J]. *重庆医学*, 2012, 41(22):2253-2255.
- [11] Lee HW, Reddy MS, Geurs N, et al. Efficacy of platelet-rich plasma on wound healing in rabbits[J]. *J Periodontol*, 2008, 9(4):691-696.
- [12] 张云松, 何井华, 戴丽冰. 富血小板血浆对血管内皮细胞增殖及血管形成的影响[J]. *实用医学杂志*, 2011, 7(27):1145-1147.
- [13] He S, Xia T, Wang H, et al. Multiple release of polyplexes of plasmids VEGF and bFGF from electrospun fibrous scaffolds towards regeneration of blood vessels[J]. *Acta Biomater*, 2012, 8(7):2659-2669.
- [14] Weyergang A, Selbo PK, Berg K. Sustained ERK[correction of EKR] inhibition by EGFR targeting therapies is a predictive factor for synergistic cytotoxicity with PDT as neoadjuvant therapy [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1830(3):2659-2670.
- [15] 刘晓韬, 洪小芳, 张志文, 等. 富血小板血浆治疗慢性难愈伤口效果分析[J]. *当代医学*, 2013, 19(9):61-62.

(收稿日期:2013-09-05 修回日期:2013-10-01)