

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.05.002

Orexin 能神经元在依托咪脂麻醉中的促觉醒作用 *

张丽娜^{1,2} 肖东方³ 董海龙³ 武 婷^{1,2} 王 智^{1,2,Δ}

(1 陕西省颅颌面精准医学研究重点实验室 陕西 西安 710004; 2 西安交通大学口腔医院麻醉科 陕西 西安 710004;

3 空军军医大学西京医院麻醉科 陕西 西安 710032)

摘要 目的:观察 orexin 能神经元在依托咪脂麻醉中的促觉醒作用。**方法:**选择雄性 SD 大鼠 36 只,体重 230~250g。将 18 只 SD 大鼠随机分为脂肪乳剂组($60\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$),依托咪脂麻醉($50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)30 min 组和 60 min 组(每组 $n=6$),用放射免疫法检测 3 组大鼠血浆中 orexin 含量;3 天后,将脂肪乳剂组大鼠颈椎脱臼处死后灌注取脑,另外两组在依托咪脂麻醉下灌注取脑,采用免疫荧光双标染色,分别观察 3 组大鼠 orexin 神经元活性。另取 18 只 SD 大鼠随机分为乳酸林格氏液组,orexin-A 30 pmol 组和 100 pmol 组(每组 $n=6$),记录大鼠翻正反射消失时间为麻醉诱导时间及翻正反射恢复时间为觉醒时间。**结果:**与脂肪乳剂组相比,依托咪脂麻醉 30 min 和 60 min 后,血浆 orexin-A 含量下降($P<0.05$),有活性的 orexin 神经元数目减少($P<0.01$);与依托咪脂麻醉 30 min 组相比,60 min 组有活性的 orexin 神经元数目减少($P<0.05$),但血浆 orexin-A 含量与 30 min 组无差异($P>0.05$);与乳酸林格氏溶液组相比,基底前脑区微注射 orexin-A 30 pmol 或 100 pmol 对麻醉诱导无影响,但能显著缩短依托咪脂麻醉觉醒时间($P<0.05$, $P<0.01$);但 orexin-A 30 pmol 组和 100 pmol 组诱导和觉醒时间比较均无统计学差异($P>0.05$)。**结论:**依托咪脂麻醉抑制大鼠下丘脑 orexin 神经元的活性,orexin-A 对依托咪脂麻醉具有促觉醒作用。

关键词: Orexin; 全身麻醉; 依托咪脂**中图分类号:** R-33; R338.2; R614 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2019)05-807-04

The Role of Orexinergic Neurons in the Etomidate Anesthesia*

ZHANG Li-na^{1,2}, XIAO Dong-fang³, DONG Hai-long³, WU Ting^{1,2}, WANG Zhi^{1,2,Δ}

(1 Key Laboratory of Shaanxi Province for Craniofacial Precision Medicine Research, Xi'an, Shaanxi, 710004, China;

2 Department of Anesthesiology, Hospital of stomatology, Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, 710004, China;

3 Department of Anesthesiology, Xijing Hospital, The Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To evaluate the stimulative effect of orexinergic neurons on the etomidate anesthesia. **Methods:** Thirty-six male SD rats weighed 230~250 g were used in this study. Eighteen SD rats were randomly divided into the emulsion group ($60\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), the etomidate pumping ($50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) 30min and 60min group ($n=6$ each). Blood was firstly taken from the femoral vein to determine the concentrations of orexin-A in plasma by radioimmunoassay. Three days later, the rats in emulsion group were killed by cervical dislocation and then infused by polyoxymethylene, the other two groups were pumped etomidate and infused by polyoxymethylene at 30 min and 60 min respectively, then immunofluorescence was used to detect the activation of orexinergic neurons before and after etomidate anesthesia. The other eighteen SD rats were randomly divided into the Ringer's group, orexin-A 30 pmol group and 100 pmol group ($n=6$ each). The loss of righting reflex, induction time and the return of righting reflex which was recorded as emergence time were compared between different groups. **Results:** Compared with the emulsion group, the concentration of orexin-A in plasma was significantly decreased ($P<0.05$) and the number of activated orexinergic neurons were also decreased in etomidate 30 min and 60 min group ($P<0.01$); in contrast to etomidate 30min group, the number of activated orexinergic neurons decreased in etomidate 60 min group but the concentration of orexin-A in plasma had no change ($P>0.05$). In contrast to ringer's group, microinjection of 30 or 100 pmol orexin-A in basal forebrain had no effect on induction time but significantly shortened the emergence time of etomidate anesthesia ($P<0.05$, $P<0.01$); they was no significant difference in the induction and emergence time between orexin-A 30 pmol group and 100 pmol group ($P>0.05$). **Conclusion:** The activation of orexinergic neurons was depressed by etomidate anesthesia and orexin-A could promote the emergence time of etomidate.

Key words: Orexin; General Anesthesia; Etomidate**Chinese Library Classification (CLC):** R-33; R338.2; R614 **Document code:** A**Article ID:** 1673-6273(2019)05-807-04

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81571351);国家自然科学基金青年基金项目(81701362);

陕西省重点研发计划——一般项目社会发展领域(2018SF-057)

作者简介:张丽娜(1984-),女,博士,主治医师,电话:15891755136, E-mail: 847158073@qq.com

Δ 通讯作者:王智,男,硕士,副主任医师,主要研究方向:全身麻醉药物作用机制, E-mail: 15891755136@163.com, 电话:18092548415

(收稿日期:2018-07-28 接受日期:2018-08-23)

前言

Orexin 又称 hypocretin, 是一种能够参与调节能量代谢、睡眠、神经内分泌等多种生理功能的新神经肽, 包括 orexin-A 和 orexin-B 两种亚型, 其中 orexin-A 是主要发挥作用的亚型^[1,2]。以往的研究显示神经肽 orexin 可以有效逆转异氟醚引起的麻醉作用, 使脑电波形由爆发性抑制转变为类觉醒波形, 同时使体感皮层的乙酰胆碱(acetylcholine, Ach)释放增加, 基底前脑区(basal forebrain, BF)orexin 微注射可显著缩短七氟醚麻醉的觉醒时间^[3-5]。近期有研究表明 orexin 神经元可能参与调节静脉麻醉药丙泊酚的麻醉过程^[6]。但 orexin 神经元是否参与调节依托咪脂(另一种常用静脉麻醉药)的麻醉过程尚不明确, orexin 能神经元活性究竟发生何种变化, 其在整个麻醉-觉醒过程中主要针对哪个阶段发挥作用均需要进一步探讨。因此, 本研究旨在探究依托咪脂麻醉过程中, orexin 神经元的表达、活化和释放情况, 并通过大脑区域微注射的方法, 明确 orexin 能神经元在静脉麻醉剂依托咪脂麻醉-觉醒过程中发挥的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

实验采用成年雄性 SD 大鼠, 体重 230~250 g, 月龄 3~4 月, 由西安交通大学医学部实验动物中心提供。所有实验动物饲养在温度(24±0.5)℃, 相对湿度为(60%±2%)的动物房内。由于环境温度对动物麻醉诱导和觉醒时间影响较大, 因此所有手术操作, 大鼠均放置于垫有加热毯的鼠板(保持温度为 37℃)上进行。

1.2 颈静脉管和股静脉管植入

给大鼠腹腔注射戊巴比妥(40~60 mg/kg), 进行颈静脉和股静脉置管。首先, 将大鼠头端朝向术者, 用眼科剪剪开大鼠颈部一侧皮肤, 钝性分离, 暴露其颈静脉, 避免过度牵拉造成痉挛, 随后结扎静脉远心端, 并用显微镊在颈静脉上剪一"V"形小口, 植入聚乙烯软管(I.D.58 mm; O.D.965 mm; Becton Dickinson)约 3 cm, 丝线固定颈静脉置管, 静脉推注少量肝素防止血管堵塞, 随后用小弯钳将聚乙烯管从大鼠皮下背部穿过, 穿透背部皮肤引出后固定。做完颈静脉置管后, 将大鼠尾侧朝向术者, 用眼科剪剪开大鼠腹股沟皮肤, 暴露股静脉, 以同样方法在股静脉置聚乙烯软管。

1.3 放射免疫法检测血中 orexin-A 的含量

取 18 只大鼠随机分为脂肪乳剂对照组(60 mg·kg⁻¹·h⁻¹), 依托咪脂泵入(50 mg·kg⁻¹·h⁻¹)30 分钟组, 依托咪脂泵入 60 分钟组(每组 n=6)。对三组大鼠血浆中 orexin-A 的含量进行放射免疫法检测。各组动物在静脉管置入后休息 5 天, 泵入脂肪乳剂和依托咪脂, 分别在麻醉前, 麻醉 30 分钟, 60 分钟从股静脉取血 0.5 mL, 放入加入 EDTA 和抑肽酶的离心管内, 混匀后在 4℃离心机内 12000 转离心 15 分钟, 收集上清液, 所有上清液中 orexin-A 含量的检测, 均由西京医药检验科同一位检验师完成, 所用放免试剂盒为 RK-003-30(美国, 菲克尼斯医药制品公司)。

1.4 依托咪脂泵入及灌注取材

上述三组大鼠在股静脉抽血做完放射免疫检测后, 休息 3 天, 随后再次泵入脂肪乳剂和依托咪脂, 观察对照组和依托咪

脂麻醉组 orexin 神经元活性的变化。脂肪乳剂泵注组, 采用颈椎脱臼法处死, 致死后立即灌注 0.9%生理盐水和 4%的多聚甲醛灌注。依托咪脂麻醉组分别在麻醉 30 分钟, 麻醉 60 分钟后, 立即用生理盐水和多聚甲醛灌注。各组大鼠多聚甲醛灌注后, 取脑继续后固定 2 小时, 再用 20%及 30%的葡萄糖溶液脱水, 对下丘脑 orexin 能神经元进行免疫荧光染色。

1.5 免疫荧光染色

用 OCT 包埋剂包埋脑组织, 置于冰冻切片机上, 切 10 μm 厚的脑片行免疫荧光双标染色。由于 c-Fos 是一种基因快速反应蛋白, 可靠的反应了细胞水平的转录活性^[7], 因此, 我们用 c-Fos 来标记 orexin 神经元的活性。将脑组织浸入由抗体稀释液配制的含小鼠抗 orexin-A (1:100, sc80623, Santa Cruz Biotechnology)和兔抗 c-Fos (1:1000, ab6176, abcam)的一抗中, 4℃孵育 48 小时后, 用磷酸盐缓冲液(pH=4.0)冲洗 3 次, 每次 5 分钟。冲洗后加入马抗小鼠(1:400, 绿色, Vector 公司, 美国)和山羊抗兔(1:500, 红色, 中杉金桥公司)的荧光二抗中, 室温孵育 2 小时, 随后用磷酸盐缓冲液(pH=4.0)冲洗 3 次, 封片。

1.6 基底前脑区微注射管置入

另取 18 只大鼠进行基底前脑区置管。大鼠随机分为对照组(Ringer's 溶液组), orexin-A 30 pmol 和 100 pmol 组(每组 n=6)。给大鼠腹腔注射 2%戊巴比妥 40~60 mg/kg 麻醉, 将大鼠头部用耳杆固定, 连接脑立体定位仪, 根据 Paxinos and Watson 的大鼠脑立体定位图谱, 以大鼠前囟为参照, 前脑基底区定位为前囟后侧 1.4 mm; 前囟右侧侧 2.5 mm; 上下轴: 向下深度 8.5 mm。根据深度置入微量注射外套管。置入后外套管周围用牙胶固定防止脱落, 微量注射针的长度比外套管长 2 mm。

1.7 翻正反射消失和恢复时间

将上述三组大鼠在基底前脑区置管后休息 5 天, 分别置于圆柱形鼠笼中, 在脂肪乳剂和依托咪脂泵注前 10 分钟(orexin 的起效时间为 10 分钟), 向基底前脑区注入 0.3 μL orexin-A 或 Ringer's 溶液, 随后泵注依托咪脂, 每 30 秒翻动鼠笼 180°, 当大鼠进入四肢和腹部朝上的状态后, 则认为大鼠翻正反射消失, 记录大鼠翻正反射消失时间为麻醉诱导时间。观察麻醉觉醒时间时, 给大鼠泵注脂肪乳剂或依托咪脂, 在泵注 15 分钟后, 记向基底前脑区注入 0.3 μL orexin-A 或 Ringer's 溶液(微注射时间为 5 分钟), 麻醉 30 分钟后停药, 翻动鼠笼, 如果实验大鼠恢复四肢和腹部朝下的状态, 则认为翻正反射恢复, 记录翻正反射恢复时间为麻醉觉醒时间。

1.8 统计学分析

采用 SPSS13.0 统计软件进行分析处理数据资料。放射免疫结果用均数±标准误(±SME)表示, 多组间数据比较用单因素方差(ANOVA)分析, 组间两两比较时用 Student-Newman-Keuls, 以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血浆神经肽 orexin-A 的释放量随依托咪脂麻醉时间延长而减少

采用放射免疫试剂盒检测血浆中 orexin-A 的含量, 结果如图 1 显示, 在未给予依托咪脂麻醉的对照组中, orexin-A 含量为(26.25±0.99) pg/mL; 分别给予依托咪脂麻醉 30 min 和

60 分钟后, 血浆中 orexin-A 含量分别 (21.54 ± 0.72) pg/mL 和 (18.70 ± 1.03) pg/mL。与对照组相比, 依托咪脂麻醉作用下, 血浆 orexin-A 含量显著下降, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。但依托咪脂麻醉 60 分钟组血浆中 orexin-A 含量虽然较麻醉 30 分钟组下降, 但无统计学差异 ($P > 0.05$)。

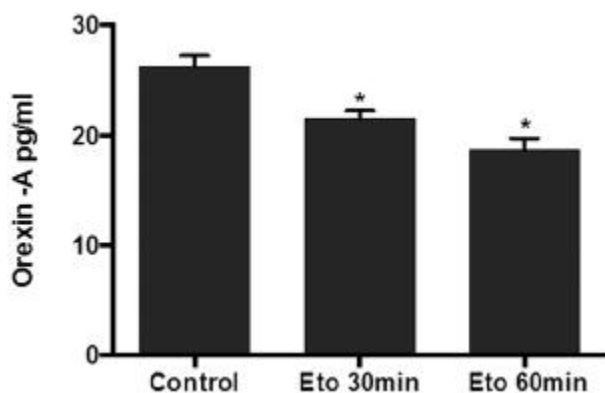


图 1 依托咪脂麻醉不同时间时血浆中 orexin-A 含量的变化

Fig. 1 The changes of plasma orexin-A in concentration during etomidate anesthesia (* $P < 0.05$, compared with control group, Eto: etomidate)

2.2 Orexin 神经元的活性随依托咪脂麻醉时间延长而下降

如图 2 所示, 采用免疫荧光染色标记大鼠下丘脑中有活性的 orexin 神经元的数目。红色标记细胞核内的 c-Fos, 绿色标记 orexin 神经元, 双标神经元视为有活性的 orexin 神经元。如图 3 所示, 对照组泵入脂肪乳剂, 大鼠下丘脑有活性的 orexin 神经元数目较多, 约为 (56.8 ± 2.4) 个; 但随着依托咪脂泵入 30、60 分钟后, 双标神经元数目分别为 (43.8 ± 1.5) 和 (40.6 ± 0.8) 个, 均较对照组明显减少 ($P < 0.01$)。依托咪脂麻醉 60 分钟组和 30 分钟组相比, 双标神经元数目也显著下降, 且具有统计学差异 ($P < 0.05$)。

2.3 Orexin-A 对依托咪脂麻醉诱导和觉醒时间的影响

如图 4(左)显示, 麻醉前给大鼠基底前脑区微注射 $0.3 \mu\text{L}$ Ringer's 溶液, 依托咪脂诱导时间为 (239.2 ± 11.1) s, 微注射 30 pmol orexin-A 和 100 pmol orexin-A 后, 大鼠诱导时间分别为 (236.0 ± 11.2) s 和 (243.3 ± 14.3) s。对照组、orexin-A 30 pmol 组和 100 pmol 组之间, 大鼠依托咪脂诱导时间无显著差异 ($P > 0.05$)。如图 4(右)显示, 对照组微注射 Ringer's 溶液后, 依托咪脂觉醒时间为 (841.0 ± 22.9) s, 微注射 30 pmol orexin-A 和 100 pmol orexin-A 后, 觉醒时间分别为 (734.0 ± 26.4) s ($P < 0.05$) 和 (690.3 ± 34.8) s ($P < 0.01$)。与对照组相比, orexin-A 30 pmol 和 100 pmol 组觉醒时间均显著缩短, 但 orexin-A 30 pmol 和 100 pmol 组觉醒时间比较无统计学差异 ($P > 0.05$)。

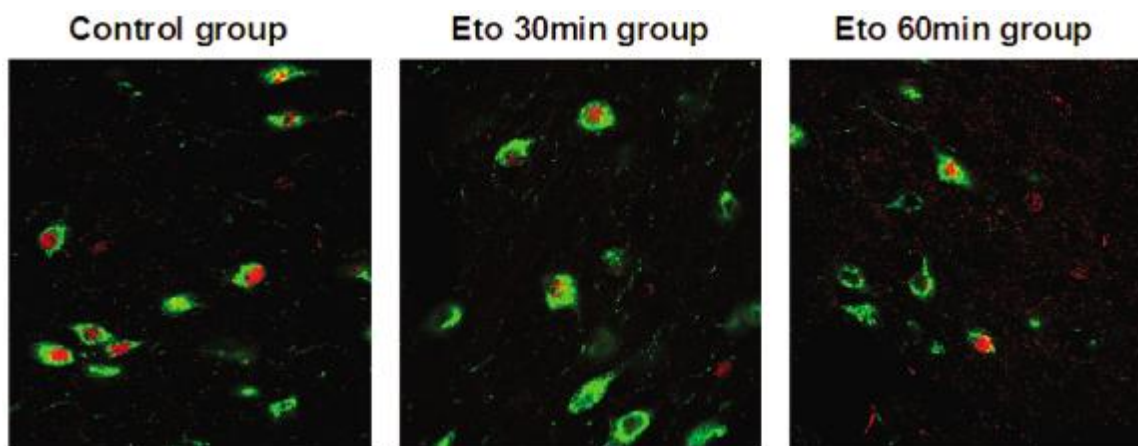


图 2 免疫荧光染色标记大鼠有活性的 orexin 神经元的数目在依托咪脂麻醉中下降

Fig.2 The immunofluorescence showed that the number of activated orexinergic neurons were decreased under etomidate anesthesia

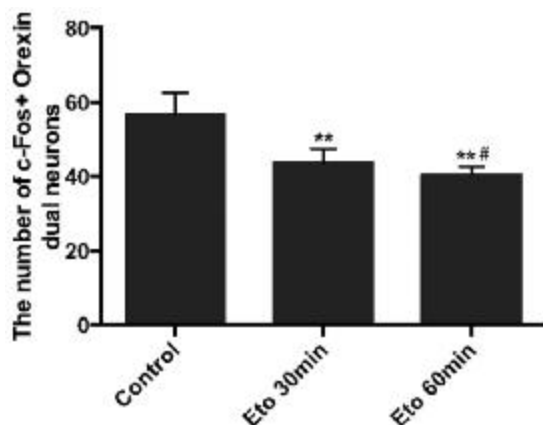


图 3 依托咪脂麻醉不同时间时 orexin 神经元活性的变化

Fig.3 The changes of orexinergic neurons activity during etomidate anesthesia (** $P < 0.01$, compared with control group, # $P < 0.05$, Eto: etomidate)

3 讨论

依托咪酯因其在诱导期对血流动力学影响小, 常被用于血管弹性差或合并冠心病的老年患者。既往研究认为依托咪酯可以抑制肾上腺皮质功能, 长时间使用依托咪酯有可能加重肾上腺皮质功能低下^[8]。但近期研究表明依托咪酯抑制肾上腺功能的作用轻微, 往往在停止用药 24 小时后恢复正常水平^[9]。因此, 目前临床上依然将依托咪脂作为常备麻醉诱导药物。依托咪脂是一种咪唑的羟化盐, 其作用机制通常被认为时作用于 GABAA 受体^[10,11]。有研究表明使用 GABAA 受体拮抗剂可以对抗依托咪脂产生的镇静催眠作用^[12,13]。然而, 依托咪脂在脑中是否存在其它的作用靶点仍不清楚。本实验着眼于一种新的神经肽, 通过检测其神经元活性和释放量的变化, 初步探讨了依托咪脂另一种可能的作用靶点。

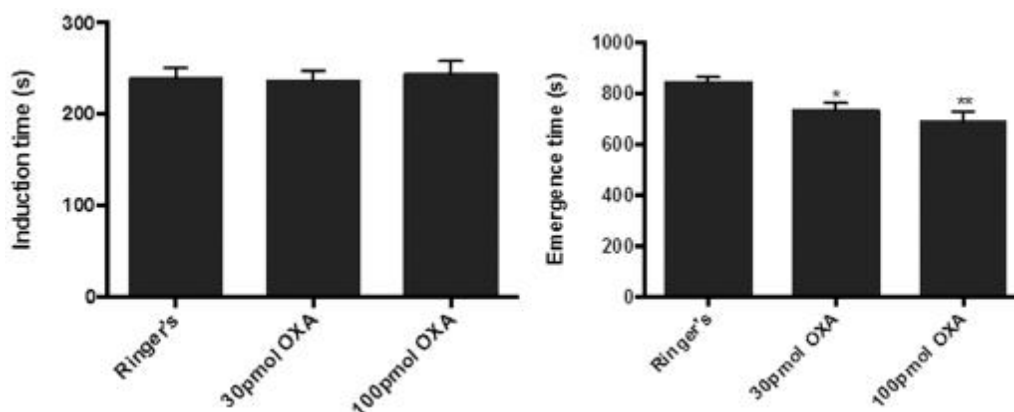


图4 基底前脑区微注射 orexin 缩短依托咪脂麻醉苏醒时间

Fig.4 Microinjection of orexin into basal forebrain shortened emergence time during etomidate anesthesia

(*P<0.05, **P<0.01, compared with Ringer's group)

在睡眠节律的研究中, orexin 神经元通常发挥着调节昼夜节律的作用^[14]; 在突发性卒倒的研究中, 神经肽 orexin 在患者的脑脊液中通常缺失或者下降^[15]。而在以往对异氟醚、七氟醚等麻醉药物的研究中, orexin 均在麻醉苏醒期发挥了促觉醒作用^[3,6], 并且在两组吸入麻醉作用下, 采用免疫荧光双标的方法也观察到 orexin 能神经元活性被抑制。此外, 除了基础研究, 采用七氟醚合并瑞芬太尼进行眼科手术的临床研究也显示麻醉患者的血浆 orexin-A 含量在麻醉中降低, 但在苏醒后显著增高。但是, 吸入麻醉药作用机理并不与静脉麻醉药完全相同, 因此, 在静脉麻醉药依托咪脂的作用机制中, orexin 神经元是否也参与其中有待于进一步求证。以往对麻醉药作用的研究通常仅关注麻醉诱导和觉醒时间, 本研究进一步监测了在依托咪脂麻醉下, orexin 神经肽的释放情况和有活性的 orexin 神经元的变化, 证明了下丘脑后外侧区的 orexin 神经元也是依托咪脂作用靶点的一部分。研究显示 orexin 神经元也涉及在另一种常用的静脉麻醉药丙泊酚中^[6]。相比于丙泊酚, 虽然对照组在泵注脂肪乳剂后, 血浆中 orexin-A 含量变化不大, 但丙泊酚麻醉中血浆 orexin-A 的含量远远低于依托咪脂麻醉; 且在丙泊酚麻醉下, 失去活性的 orexin 神经元数目也多于依托咪脂, 这可能说明丙泊酚对下丘脑 orexin 能神经元的抑制作用更强。

基底前脑区是组成上行觉醒激活系统的重要组成部分, 对麻醉、睡眠和觉醒都起重要作用, 其神经元组成较为复杂, 主要包括胆碱能神经元、GABA 能神经元和谷氨酸能神经元^[17,18]。因此, 本实验中选择将神经肽 orexin 微注射于前脑基底区, 推测 orexin-A 可能通过其在基底前脑区的神经末梢, 作用于此区域的兴奋性神经元(胆碱能系统或者谷氨酸能系统)表面的 orexin 受体发挥促觉醒作用。类似的研究结果在其它一些神经能系统中也被发现, 如在基底前脑区微注射组胺, 组胺通过作用于 H1 受体在异氟醚麻醉中发挥促觉醒作用, 而微注射 H1 受体阻滞剂曲普利啶可以延长麻醉苏醒时间; 在基底前脑区微注射去甲肾上腺素可以缩短地氟烷的麻醉苏醒时间。

其它与 orexin 能神经系统密切相关的核团还包括结节乳头体核^[19]、蓝斑核^[20]以及中缝背核等^[21]。研究显示在这些部位微注射神经肽 orexin, 可以通过刺激组胺能系统、去甲肾上腺素能系统、多巴胺能系统, 发挥其在睡眠、麻醉或药物成瘾中的作用。值得注意的是, 这些研究中发挥作用的大多为 orexin-A,

orexin-B 不论是在摄食、能量代谢或者睡眠觉醒和麻醉苏醒过程中, 作用均不明显, 这也是我们选择检测和微注射神经肽 orexin 时, 仅以 orexin-A 作为有效神经肽亚型的原因。

综上所述, orexin 神经元可能是依托咪脂在脑中产生镇静作用的另一靶点, orexin-A 在依托咪脂麻醉苏醒期可发挥促觉醒作用。

参考文献(References)

- [1] Inutsuka A, Yamanaka A: The regulation of sleep and wakefulness by the hypothalamic neuropeptide orexin/hypocretin [J]. Nagoya journal of medical science, 2013, 75(1-2): 29-36
- [2] Ran MZ, Wu W, Li JN, et al. Reduction of orexin-A is responsible for prolonged emergence of the rat subjected to sleep deprivation from isoflurane anesthesia [J]. CNS neuroscience & therapeutics, 2015, 21 (3): 298-300
- [3] Zhang LN, Yang C, Ouyang PR, et al. Orexin-A facilitates emergence of the rat from isoflurane anesthesia via mediation of the basal forebrain[J]. Neuropeptides, 2016, 58: 7-14
- [4] Dong H, Niu J, Su B, et al. Activation of orexin signal in basal forebrain facilitates the emergence from sevoflurane anesthesia in rat[J]. Neuropeptides, 2009, 43(3): 179-185
- [5] Dong HL, Fukuda S, Murata E, et al. Orexins increase cortical acetylcholine release and electroencephalographic activation through orexin-1 receptor in the rat basal forebrain during isoflurane anesthesia[J]. Anesthesiology, 2006, 104(5): 1023-1032
- [6] Zhang LN, Li ZJ, Tong L, et al. Orexin-A facilitates emergence from propofol anesthesia in the rat[J]. Anesthesia and analgesia, 2012, 115 (4): 789-796
- [7] Hoffman GE, Smith MS, Verbalis JG. c-Fos and related immediate early gene products as markers of activity in neuroendocrine systems [J]. Frontiers in neuroendocrinology, 1993, 14(3): 173-213
- [8] Jung B, Clavieras N, Nougaret S, et al. Effects of etomidate on complications related to intubation and on mortality in septic shock patients treated with hydrocortisone: a propensity score analysis [J]. Critical care, 2012, 16(6): R224
- [9] van den Heuvel I, Wurmb TE, Bottiger BW, et al. Pros and cons of etomidate--more discussion than evidence? [J] Current opinion in anaesthesiology, 2013, 26(4): 404-408

(下转第 858 页)

- around the world [J]. International journal of molecular sciences, 2016, 17(12): 2069
- [11] 舒慧英, 张庆, 李蕊, 等. 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症基因突变分析[J]. 中华妇幼临床医学杂志(电子版), 2018, 14(3): 291-295
- [12] Nóbrega-Pereira S, Fernandez-Marcos P J, Brioché T, et al. G6PD protects from oxidative damage and improves healthspan in mice[J]. Nature communications, 2016, 7: 10894
- [13] Tang H, Ho H, Wu P, et al. Inability to maintain GSH pool in G6PD-deficient red cells causes futile AMPK activation and irreversible metabolic disturbance [J]. Antioxidants & redox signaling, 2015, 22(9): 744-759
- [14] Tang J, Jiang C, Xiao X, et al. Changes in red blood cell membrane structure in G6PD deficiency: An atomic force microscopy study[J]. Clinica Chimica Acta, 2015, 444: 264-270
- [15] Fang Z, Jiang C, Tang J, et al. A comprehensive analysis of membrane and morphology of erythrocytes from patients with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency [J]. Journal of Structural Biology, 2016, 194(3): 235-243
- [16] Mischley L K, Lau R C, Shankland E G, et al. Phase IIb study of intranasal glutathione in Parkinson's disease [J]. Journal of Parkinson's disease, 2017, 7(2): 289-299
- [17] Schmacht M, Lorenz E, Senz M. Microbial production of glutathione [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2017, 33(6): 106
- [18] Luzzatto L, Nannelli C, Notaro R. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency [J]. Hematology/Oncology Clinics, 2016, 30 (2): 373-393
- [19] Karafin M S, Fu X, D'Alessandro A, et al. The clinical impact of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in patients with sickle cell disease[J]. Current opinion in hematology, 2018
- [20] Kurdyukov S, Eccles C A, Desai A A, et al. New cases of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency in Pulmonary Arterial Hypertension[J]. PloS one, 2018, 13(8): e0203493
- [21] Orgalaleh A, Shahzad MS, Younesi MR, et al. Evaluation of liver and kidney function in favism patients, Med J Islam Repub Iran, 2013, 27: 17-22
- [22] Zhang Z, Zhang X, Fang X, et al. Glutathione inhibits antibody and complement-mediated immunologic cell injury via multiple mechanisms[J]. Redox Biology, 2017, 12: 571-581
- [23] 杜冠魁, 肖曼, 蔡望伟. 血液中原型谷胱甘肽含量与 6-磷酸葡萄糖脱氢酶活性的相关性分析[J]. 吉林医学, 2012, 33(15): 3163-3164
- [24] 叶军, 张道飞. 还原型谷胱甘肽治疗儿童红细胞葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症并溶血 40 例疗效观察 [J]. 中国实用医药, 2012, (02): 168-169

(上接第 810 页)

- [10] Babateen O, Jin Z, Bhandage A, et al. Etomidate, propofol and diazepam potentiate GABA-evoked GABAA currents in a cell line derived from human glioblastoma[J]. European journal of pharmacology, 2015, 748: 101-107
- [11] Liu K, Jounaidi Y, Forman SA, et al. Etomidate uniquely modulates the desensitization of recombinant alpha1beta3delta GABA(A) receptors[J]. Neuroscience, 2015, 300: 307-313
- [12] Zarnowska ED, Rodgers FC, Oh I, et al. Etomidate blocks LTP and impairs learning but does not enhance tonic inhibition in mice carrying the N265M point mutation in the beta3 subunit of the GABA(A) receptor[J]. Neuropharmacology, 2015, 93: 171-178
- [13] Atucha E, Hammerschmidt F, Zolle I, et al. Structure-activity relationship of etomidate derivatives at the GABA(A) receptor: Comparison with binding to 11beta-hydroxylase [J]. Bioorganic & medicinal chemistry letters, 2009, 19(15): 4284-4287
- [14] de Lecea L, Huerta R: Hypocretin (orexin) regulation of sleep-to-wake transitions[J]. Frontiers in pharmacology, 2014, 5: 16
- [15] Chemelli RM, Willie JT, Sinton CM, et al. Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation[J]. Cell, 1999, 98(4): 437-451
- [16] Kelz MB, Sun Y, Chen J, et al. An essential role for orexins in emergence from general anesthesia[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105 (4): 1309-1314
- [17] Xu M, Chung S, Zhang S, et al. Basal forebrain circuit for sleep-wake control[J]. Nature neuroscience, 2015, 18(11): 1641-1647
- [18] Anacleit C, Pedersen NP, Ferrari LL, et al. Basal forebrain control of wakefulness and cortical rhythms [J]. Nature communications, 2015, 6: 8744
- [19] Bastianini S, Silvani A, Berteotti C, et al. Histamine Transmission Modulates the Phenotype of Murine Narcolepsy Caused by Orexin Neuron Deficiency[J]. PloS one, 2015, 10(10): e0140520
- [20] Puskas N, Papp RS, Gallatz K, et al. Interactions between orexin-immunoreactive fibers and adrenaline or noradrenaline-expressing neurons of the lower brainstem in rats and mice[J]. Peptides, 2010, 31(8): 1589-1597
- [21] Shaw JK, Ferris MJ, Locke JL, et al. Hypocretin/orexin knock-out mice display disrupted behavioral and dopamine responses to cocaine [J]. Addiction biology, 2017, 22(6): 1695-1705