

## 右美托咪定预先给药对罗哌卡因所致大鼠神经毒性的影响

程江霞,彭晓红\*,李霞,秦汉,杨春梅,罗高平,焦晶晶

(华中科技大学同济医学院附属普爱医院麻醉科,湖北 武汉 430033)

**[摘要]** 目的:比较右美托咪定预先给药对罗哌卡因静脉注射所致的大鼠神经毒性的影响及可能机制。方法:将80只SD大鼠随机分为4组:对照组(C组)、罗哌卡因组(R组)、咪唑安定组(M)、右美托咪定组(D组)。C组和R组静脉缓推生理盐水10 ml/kg,10 min 静脉泵注完毕;D组右美托咪定10  $\mu$ g/kg,容量为10 ml/kg,10 min 静脉泵注完毕;M组咪唑安定0.8 mg/kg,容量为10 ml/kg,10 min 静脉泵注完毕。10 min后,R组、M组和D组静脉注射1%罗哌卡因1 ml/h。以出现肢体抽搐为惊厥标准。于大鼠惊厥发作时采集血液测血浆罗哌卡因浓度,记录从罗哌卡因泵注开始到惊厥发作时间;测定脑组织谷氨酸(Glu)、天门冬氨酸(Asp)、甘氨酸(Gly)和 $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)的含量。结果:与R组相比,D组及M组发生中枢神经毒性所需罗哌卡因剂量、毒性发生所需时间及血药浓度增加( $P < 0.05$ )。与C组相比,其余3组Glu、Asp、Gly、GABA的含量均增高( $P < 0.05$ );与R组比较,M组和D组Glu、Asp、Gly、GABA的含量均降低( $P < 0.05$ );与M组比较,D组的Glu的含量降低( $P < 0.05$ )。结论:预先给予右美托咪定有预防罗哌卡因所致的大脑神经毒性的作用,其机制可能为降低了中枢神经系统的兴奋性氨基酸Glu的水平。

**[关键词]** 罗哌卡因;中枢神经系统毒性;右美托咪定;咪唑安定

**[中图分类号]** R971.2

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2014)12-1658-03

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20141207

周围神经阻滞全身不良反应发生率为1.9/10 000~7.5/10 000<sup>[1]</sup>,局麻药中毒一旦发生,进展迅速,易引起室性心律失常,且复苏困难,因此仍被广泛关注。局麻药同时多水平干扰细胞功能和内环境的稳定是临床上局麻药中毒严重而难治的根本原因;临床越来越多的个案报道指出布比卡因等局麻药所致心血管以及中枢神经系统毒性中使用脂肪乳可成功复苏<sup>[2-3]</sup>,但研究证实预先给脂肪乳可增加神经毒性,安全性有待进一步考察<sup>[4]</sup>,临床需要安全可靠的药物来预防局麻药中毒的发生。右美托咪定(DEX)为新型 $\alpha_2$ 受体激动剂,具有镇静、催眠、交感神经阻滞、保护神经元、抑制胰岛素分泌等效应。Takenami等<sup>[5-6]</sup>比较发现在神经毒性的表现上布比卡因>普鲁卡因>左布比卡因>罗哌卡因,因此长效酰胺类局麻药罗哌卡因在临床的应用更为广泛。本研究通过观察右美托咪定对罗哌卡因所致的成年大鼠的神经毒性和半数致死量的影响,探讨右美托咪定预先给药预防局麻药中毒的安全有效性。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

健康雄性SD大鼠60只,体重200~300 g(华中科技大学同济试验动物中心)。右美托咪定(200  $\mu$ g/ml,江苏恒瑞医药公司),盐酸罗哌卡因(100 mg/10 ml,阿斯利康公司);咪唑安定(10 mg/2 ml,中国恩华药业);罗哌卡因(100 mg/10 ml,阿斯利康制药,瑞典)。LC-10Atvp Waters 高效液相色谱仪。3000 紫外分光光度计(Shimadzu 公司,日本),Beckman110 高效液相色谱仪(Beckman 公司,德国)。动物随机分成4组:对照组(C组)、罗哌卡因组(R组)、咪唑安定组(M)、右美托咪定组(D组)。

#### 1.2 方法

将大鼠称重,戊巴比妥钠40 mg/kg 腹腔麻醉,分离出右颈总动脉,用24G套管针穿刺,留置套管。C组和R组先静脉缓推生理盐水10 ml/kg,10 min 静脉泵注完毕;D组右美托咪定10  $\mu$ g/kg,容量为10 ml/kg,10 min 静脉泵注完毕;M组咪唑安定0.8 mg/kg,容量为10 ml/kg,10 min 静脉泵注完毕。10 min后,R组、M组和D组静脉注射1%罗哌卡因1 ml/h。给药完毕后观察大鼠反应,并开始计时。以出现肢体抽搐为惊厥标准,记录出现惊厥时间,计算每组出现惊厥的罗哌卡因剂量。

#### 1.2.1 血药浓度的测定

惊厥时经右侧股动脉采集动脉血样3 ml 血液样本。所得血液离心(4 000 r/min),取上层液保存

**[基金项目]** 武汉市卫计委基金资助项目(武卫WX11A05)

\*通信作者(Corresponding author),E-mail:pxhong01@hotmail.com

于-20℃冰箱待测,计算血药浓度;采用反相高效液相色谱法检测血浆罗哌卡因浓度,取血浆 0.5 ml,依次加入利多卡因 (9.4 μg/ml)100 μl 和氢氧化钠溶液(2 mol/L)200 μl,漩涡振荡 1 min;加重蒸馏乙酸乙酯 3 ml,漩涡振荡 5 min;4 000 r/min 离心 10 min,离心半径 80 mm,吸取上层有机层,99.9% N<sub>2</sub>:气流下水浴吹干(水浴温度为 40~50℃),残留物加 100 μl 流动相 (1:3) 溶解,20 μl 自动进样。色谱柱 Shim-pack C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm,5 μm);预柱 Alltech C<sub>18</sub>(10 min × 4.6 mm,5 μm);流速 1.0 ml/min;检测波长 215 nm;柱温 30℃。

### 1.2.2 4 种氨基酸的测定

停止输注罗哌卡因后即处死大鼠,取静脉血 1 ml,快速取脑(去小脑),冻存于液氮中,脑组织称重,每克组织加入 0.1 mol/L 高氯酸 1 ml,用内切式匀浆机将组织粉碎匀浆 1 min,4℃下 12 000 r/min 离心 30 min,取上清液,加入等体积的高氯酸混匀,同等条件下重复 3 次离心,取 20 μl 混合液上样待测,测定脑组织谷氨酸(Glu)、天冬氨酸(Asp)、甘氨酸(Gly)和 γ-氨基丁酸(GABA)的含量。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS19.0 软件对实验结果进行统计分析,计量资料以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,多组间比较采用单因素方差分析、SNK 法两两检验,  $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

各组 SD 大鼠体重分别为 C 组 (280 ± 12)g, R 组(275 ± 10)g, M 组(279 ± 15)g, D 组(291 ± 12)g, 各组之间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

### 2.1 各组血药浓度

与 R 组相比, D 组及 M 组发生中枢神经毒性所需的罗哌卡因剂量、毒性发生所需的时间及血药浓度增加 ( $P < 0.05$ , 表 1)。D 组与 M 比较, 各组之间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

表 1 3 组大鼠罗哌卡因剂量、发生神经毒性时间和血浆罗哌卡因浓度的比较 ( $\bar{x} \pm s, n=7$ )

组别	罗哌卡因剂量(mg)	神经毒性时间(min)	罗哌卡因血药深度(μg/kg)
R 组	2.3 ± 1.0	9.2 ± 2.4	0.85 ± 0.26
M 组	3.4 ± 0.9 <sup>#</sup>	20.1 ± 3.3 <sup>#</sup>	2.65 ± 1.03 <sup>#</sup>
D 组	3.1 ± 0.7 <sup>#</sup>	18.4 ± 1.2 <sup>#</sup>	1.65 ± 0.30 <sup>#</sup>

与 R 组比较, <sup>#</sup> $P < 0.05$ 。

### 2.2 4 组脑组织中各氨基酸的含量

与 C 组相比, 其余 3 组 Glu、Asp、Gly、GABA 的

含量均增高 ( $P < 0.05$ , 表 2); 与 R 组比较, M 组 Glu、Asp、Gly、GABA 的含量均降低 ( $P < 0.05$ , 表 2); 与 M 组比较, D 组的 Glu 的含量降低 ( $P < 0.05$ )。

表 2 4 组脑组织中各氨基酸的含量

组别	( $\mu\text{mol/g}, \bar{x} \pm s, n=20$ )			
	Asp	Glu	Gly	GABA
C 组	0.9 ± 0.2	2.7 ± 1.2	3.1 ± 1.9	4.8 ± 3.7
R 组	4.8 ± 1.0 <sup>*</sup>	7.1 ± 1.3 <sup>*</sup>	13.4 ± 2.6 <sup>*</sup>	19.6 ± 3.9 <sup>*</sup>
M 组	2.0 ± 0.7 <sup>**</sup>	6.1 ± 1.1 <sup>**</sup>	10.2 ± 2.3 <sup>**</sup>	16.5 ± 2.7 <sup>**</sup>
D 组	3.9 ± 1.1 <sup>**</sup>	3.5 ± 1.2 <sup>**#</sup>	12.3 ± 2.1 <sup>**</sup>	17.8 ± 2.1 <sup>**</sup>

与 C 组比较, <sup>\*</sup> $P < 0.05$ ; 与 R 组比较, <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; 与 M 组比较, <sup>\*</sup> $P < 0.05$ 。

## 3 讨论

本文采用文献[6]的方法用罗哌卡因 1 ml/h 的注射速率制造神经毒性模型, 咪唑安定作为临床最常用的预防局麻药中毒药物, 用 0.8 mg/kg 咪唑安定预先给药可预防罗哌卡因对大鼠中枢神经系统的毒性, 并通过降低脑组织兴奋性氨基酸的水平, 降低罗哌卡因致中枢神经系统毒性反应的程度<sup>[8]</sup>, 因此本研究采用此浓度静脉注射。同时文献[5]用 5、10、15 μg/kg, 右美托咪定预先给药可升高罗哌卡因诱发大鼠心肌毒性的阈值, 但是与右美托咪定剂量无关。右美托咪定 9 μg/kg 对大鼠有神经保护作用<sup>[9]</sup>; Can 等<sup>[10]</sup>的研究结果表明, 右美托咪定 10 μg/kg 可抑制脊髓损伤大鼠炎症反应, 因此本研究选用了 10 μg/kg 这个剂量组观察它对神经毒性的作用。

在本研究中发现右美托咪定可以增加罗哌卡因引起的神经毒性发生的时间, 罗哌卡因的用量及增大血药浓度的阈值, 且与咪唑安定预给药的各参数相似, 表明右美托咪定可以提高罗哌卡因所致的神经毒性的阈值, 与咪唑安定预先给药预防局麻药中毒的临床用药在安全性和有效性相似。原因可能是右美托咪定预先给药后, 80% 右美托咪定与血浆蛋白结合<sup>[11]</sup>, 因此早期占据了血浆蛋白, 使罗哌卡因与血浆蛋白结合的减少, 从而使罗哌卡因的剂量加大, 增加其神经毒性发生的阈值。但是具体的药代动力学及是否引发延迟的毒性反应的发生, 仍需进一步研究。

中枢神经系统兴奋与抑制作用相互制约, 当兴奋性氨基酸(Glu、Asp)能神经活动与抑制性氨基酸(Gly 和 GABA)能神经活动平衡失调时, 可引起惊厥发生。本研究中惊厥发生时 4 种氨基酸含量均升高。其中兴奋性氨基酸 Asp、Glu 以及协同 Glu 作用于 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体的抑制性氨

氨酸 Gly, 增强了神经的兴奋作用。GABA 为主要的抑制性氨基酸, 使 NMDA 受体活性或抑制性递质增强, 加强其中枢神经系统抑制作用。咪唑安定通过调节这 4 种氨基酸的平衡抑制神经毒性的发生<sup>[8]</sup>。有研究显示右美托咪定通过氧化还原机制增加了脑内谷氨酰胺在星状神经细胞中的代谢, 减少其作为兴奋性氨基酸前体的活性, 从而调节神经的兴奋性<sup>[12-14]</sup>。在本研究中右美托咪定预给药后罗哌卡因引起中枢神经毒性诱发时 Glu 的含量显著降低, 其他含量与咪唑安定比较无差别, 本文推测右美托咪定可能与 Glu 的相关位点结合, 通过变构调节作用, 增强 Glu 的抑制效应。从而延缓或抑制了罗哌卡因所致神经毒性的发生。

综上所述, 右美托咪定在局麻药使用之前预先给药对于预防局麻药中毒是安全有效的, 其效能与咪唑安定相似。

#### [参考文献]

- [1] 周仁龙, 王珊娟, 杭燕南. 局麻药的毒性及其防治措施进展[J]. 实用疼痛学杂志, 2007, 3(1): 64-68
- [2] Litz RJ, Popp M, Stehr SN, et al. Successful resuscitation of a patient with ropivacaine-induced asystole after axillary plexus block using lipid infusion [J]. *Anaesthesia*, 2006, 61(8): 800-801
- [3] Mizutani K, Oda Y, Sato H. Successful treatment of ropivacaine-induced central nervous system toxicity by use of lipid emulsion; effect on total and unbound plasma fractions [J]. *J Anesth*, 2011, 25(3): 442-445
- [4] 吕小兰, 万福红, 左云霞. 脂肪乳、与丙泊酚预先给药对罗哌卡因致大鼠神经毒性及其半数致死量影响[J]. 中华医学杂志, 2012, 92(33): 2362-2365
- [5] Takenami T, Wang G, Nara Y. Intrathecally administered ropivacaine is less neurotoxic than procaine, bupivacaine, and levobupivacaine in a rat spinal model [J]. *Can J Anaesth*, 2012, 59(5): 456-465
- [6] Brummett CM, Hong EK, Janda AM, et al. Perineural dexmedetomidine added to ropivacaine for sciatic nerve block in rats prolongs the duration of analgesia by blocking the hyperpolarization-activated cation current [J]. *Anesthesiology*, 2011, 115(4): 836-843
- [7] Hanci V, Karakaya K, Yurtlu S, et al. Effects of dexmedetomidine pretreatment on bupivacaine cardiotoxicity in rats [J]. *Anesth Pain Med*, 2009, 34(6): 565-568
- [8] 汪春英, 贺为人, 王祥瑞. 咪唑安定预先给药对罗哌卡因致大鼠中枢神经系统毒性反应的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2006, 26(4): 339-341
- [9] Jolkkonen J, Puurunen K, Koistinaho J, et al. Neuroprotection by the adrenoceptor- or agonist, dexmedetomidine, in rat focal cerebral ischemia [J]. *Eur J Pharmacol*, 1999, 372(1): 31-36
- [10] Can M, Gul S, Bektas S, et al. Effects of dexmedetomidine or methylprednisolone on inflammatory responses in spinal cord injury [J]. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2009, 53(8): 1068-1072
- [11] Bol CJG, Danhof M, Stanski DR, et al. Pharmacokinetic c-pharmacodynamic characterization of the cardiovascular, hypnotic, EEG and ventilatory responses to dexmedetomidine in the rat [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1997, 283(3): 1051-1058
- [12] Dahmani S, Rouelle D, Gressens P, et al. Effects of dexmedetomidine on hippocampal focal adhesion kinase tyrosine phosphorylation in physiologic and ischemic condition [J]. *Anesthesiology*, 2005, 103(5): 969-977
- [13] Goyagi T, Nishikawa T, Tobe Y, et al. The combined neuroprotective effects of lidocaine and dexmedetomidine after transient forebrain ischemia in rats [J]. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2009, 53(9): 1176-1183
- [14] Chiu KM, Lin TY, Lu CW, et al. Inhibitory effect of glutamate release from rat cerebrocortical nerve terminals by  $\alpha 2$  adrenoceptor agonist dexmedetomidine [J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 670(1): 137-147

[收稿日期] 2014-05-29