

网络出版时间: 2020/5/29 13:03 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20200527.1643.023.html>

预给七叶莲花醇提物对大鼠布比卡因毒性影响

祝劲松¹, 张洋¹, 刘蕾¹, 罗君¹, 吴仲¹, 邹小华²

摘要 目的 探讨预先给予3种不同剂量七叶莲花醇提物对布比卡因(BPV)致大鼠中枢和心脏毒性反应的影响。方法 60只雄性10周龄SD大鼠随机均分为4组,所有大鼠禁食不禁水12h后连续3d进行灌胃处理,每天1次。对照组(D组)灌胃生理盐水,另外3组分别按大鼠每公斤体质量灌胃七叶莲花醇提物2g(S1组)、4g(S2组)和8g(S3组),连续灌3d后所有大鼠经股静脉泵注0.5% BPV 2 mg/(kg·min)。分别记录大鼠发生抽搐、室性心律失常和心跳停止时BPV的用量。并对各组大鼠出现抽搐时血气分析、心脏组织HE切片病理检查、qRT-PCR测定各组大鼠海马N-甲基-D天冬氨酸受体(NMDAR)1亚基与2B亚基表达水平变化情况考察七叶莲花醇提物解救大鼠BPV中枢毒性的效果。结果 S1组、S2组和S3组大鼠出现抽搐、心律失常和心跳停止时BPV用量大于D组,S2组、S3组的用量也大于S1组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。血气分析S1组、S2组和S3组大鼠抽搐时动脉二氧化碳分压均高于D组,且S3组与D组相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。心脏组织HE切片病理检查D组大鼠可见炎细胞浸润,间质充血或出血明显,S1组、S2组、S3组大鼠间质炎细胞浸润较D组明显减轻,间质轻微充血或轻微出血。qRT-PCR测定的S1组、S2组、S3组NMDAR1和NMDAR2B与D组相比表达水平均降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 七叶莲花醇提物预先给药可减轻BPV所致大鼠中枢和心脏毒性反应。

关键词 七叶莲花醇提物;布比卡因;毒性

中图分类号 R 281.4; R 961.1

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2020)06-0943-04
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.06.023

布比卡因(bupivacaine, BPV)中毒因其具有神经阻滞作用,是临床麻醉实施过程中可能致命的一种并发症。七叶莲花醇提物具有抗感染镇痛的作用,也已被广泛应用^[1]。七叶莲花醇提物对大鼠胸膜炎具有显著的抑制作用^[2]。目前国内外七叶莲

花醇提物对BPV所致中枢及心脏毒性影响的研究较少。该研究以大鼠抽搐发作开始反映BPV所致中枢毒性,通过比较3种不同剂量七叶莲花醇提物预先给药组与生理盐水预处理组大鼠发生抽搐、室性心律失常和心跳停止时BPV的用量,出现抽搐时各组大鼠血气分析情况,术后qRT-PCR测定的各组间N-甲基-D天冬氨酸受体(N-methyl D-aspartate receptor, NMDAR)1亚基与2B亚基表达水平比较情况,探讨七叶莲花醇提物是否能够在BPV中毒的救治中发挥作用。

1 材料与方法

1.1 动物与分组 60只10周龄健康雄性成年SD大鼠,体质量200~350g,清洁级,购自南通大学实验动物中心,动物许可证号:SCXK(苏)2018-0001,分为4组($n = 15$)。

1.2 药品、给药方式及主要试剂 取七叶莲花以60%乙醇溶液渗漉提取,减压浓缩成浸膏,由南京欧际医药科技服务有限公司提取制备,试验时给大鼠灌胃给药。盐酸BPV(上海aladdin, B129864),用微量注射泵经股静脉泵入。qRT-PCR主要试剂:TRIpure Reagent(北京Aidlab, 272026AX); one-ScriptTM cDNA Synthesis Kit(加拿大abm, G234); EvaGreen Express 2×qPCR MasterMix-ROX(加拿大abm, MasterMix-ER)。

1.3 实验步骤 所有大鼠禁食不禁水12h后进行灌胃处理,每天1次,连续3d。对照组(D组)灌注生理盐水,另外3组分别灌注七叶莲花醇提物2、4、8g/kg(S1、S2、S3组)。先行水合氯醛(10%)腹腔注射,并维持大鼠持续的纯氧吸氧状态,待麻醉生效后,选取SD大鼠右侧腹股沟,备皮消毒,在股动脉搏动最强及内侧股静脉处穿刺并置入套管,分别连接换能器动态测定大鼠平均动脉血压(mean arterial pressure, MAP)。此外,所有大鼠经股静脉匀速泵注0.5% BPV 2 mg/(kg·min)。用银针分别刺入大鼠双上肢与左下肢,连接模拟导联心电图,主要监测给药过程中心电图的变化。运用新生儿氧饱和度探头监测大鼠给药过程中血氧饱和度 SpO_2 的变

2019-10-14 接收

基金项目: 贵州省科技计划项目(编号:黔科合LH字[2017]7154号)

作者单位:¹ 贵州中医药大学第一附属医院麻醉科, 贵阳 550002

² 贵州医科大学附属医院麻醉科, 贵阳 550001

作者简介: 祝劲松,男,副主任医师,责任作者, E-mail: 29268079@qq.com

化。大鼠静脉泵注 BPV 2 mg/(kg·min) 可作为诱发全身毒性实验模型。观察记录大鼠出现抽搐、心律失常(以心室除极期 QRS 波延长为标准)和心跳停止时(从开始输注 BPV 的时刻计时),BPV 的用量。在大鼠出现抽搐时采动脉血行血气分析,并测定 SpO_2 。参照大鼠脑解剖图谱,采用无齿镊完整取出鼠的大脑,从取出的鼠大脑中分离出海马,用组织剪将边缘不整齐部分剪去,将其修剪成 0.3 cm³ 大小的组织块,进行 qRT-PCR 检测。具体方法步骤参照 abm 试剂盒说明书。引物信息如下:

基因	正向引物(5'-3')	反向引物(5'-3')
β -Actin	TGCTATGTTGCCCTAGACTTCG	GTTGCCATAGAGCTCTTACGG
NMDAR1	GATAGAAAGAGCTGCTAGAGC	CCAGGCTGGAGGTGATAGCC
NMDAR2B	ACCAATAAGCCAGTGGTGTTC	CACAGGCTTGGACTGGTTC

1.4 统计学处理 采用 SPSS 23 统计学软件进行分析,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验,单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 BPV 的用量 大鼠局部麻醉中毒出现抽搐、心律失常和心跳停止时,S1、S2 和 S3 组的局麻药用量大于 D 组,S2 组和 S3 组的用量也大于 S1,差异有统计学意义($P < 0.05$)。S2 组和 S3 组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。大鼠出现抽搐时, $F = 96.673$;心率失常时, $F = 194.671$;心跳停止时的 $F = 99.544$ 。见表 1。

2.2 MAP 和心率(heart rate HR)变化 与泵注

表 1 4 组大鼠出现中毒反应时局麻药用量的比较(mg/kg $n = 15 \bar{x} \pm s$)

组别	抽搐时	心率失常时	心跳停止时
D	6.4 ± 0.5	8.9 ± 0.8	20.8 ± 1.1
S1	9.7 ± 1.6**	11.8 ± 1.5**	28.9 ± 3.2**
S2	14.6 ± 1.9**△△	16.9 ± 1.5**△△	35.9 ± 3.7**△△
S3	16.6 ± 2.6**△△▲	18.4 ± 0.8**△△▲▲	38.2 ± 3.5**△△

与 D 组比较: ** $P < 0.01$; 与 S1 组比较: △△ $P < 0.01$; 与 S3 组比较: ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$

BPV 前比,大鼠出现抽搐及心率失常时的 MAP 显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),HR 有所降低。心律失常时 MAP 较抽搐时呈现轻微程度降低。S1、S2、S3 组大鼠心率失常时与泵注 BPV 前相比,MAP 及 HR 差异有统计学意义($P < 0.05$)。统计学分析大鼠出现抽搐时的 MAP 差异, $F = 84.761$;出现心率失常时的 MAP 差异, $F = 32.869$;大鼠出现心率失常时的 HR 差异, $F = 5.194$ 。见表 2。

2.3 各组大鼠 pH、PaCO₂、PaO₂、SaO₂、SpO₂ 分析结果 S1、S2 和 S3 组大鼠抽搐时 PaCO₂ 均高于 D 组,且 S3 组与 D 组相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。S1、S2、S3 组大鼠泵注 BPV 前及抽搐时的 pH、PaO₂、SaO₂、SpO₂ 与 D 组相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。各組间 pH、PaO₂、SaO₂、SpO₂ 的差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3。

2.4 心脏组织病理检查 D 组大鼠可见炎细胞浸润,间质充血或出血明显。S1、S2、S3 组大鼠间质炎细胞浸润较 D 组明显减轻,间质轻微充血或轻微出血。各组大鼠心肌细胞均无明显变性、坏死。4 组大鼠心脏组织 HE 切片病理检查见图 1。

表 2 4 组大鼠不同时间点 MAP 及 HR 的变化($n = 15 \bar{x} \pm s$)

组别	MAP(kPa)			HR(次/min)		
	泵注前	抽搐时	心率失常时	泵注前	抽搐时	心率失常时
D	13.7 ± 0.4	19.6 ± 0.2**	18.2 ± 0.3**	294 ± 25	240 ± 36**	155 ± 38**
S1	13.8 ± 0.4	19.8 ± 0.4**	17.9 ± 0.3**	282 ± 27	262 ± 36	203 ± 33**
S2	13.7 ± 0.3	18.8 ± 0.3**	17.7 ± 0.5**	292 ± 30	277 ± 38	188 ± 35**
S3	13.6 ± 0.3	17.8 ± 0.4**	16.9 ± 0.4**	289 ± 34	266 ± 37	197 ± 39**

与泵注 BPV 前比较: ** $P < 0.01$

表 3 4 组大鼠 pH、PaCO₂、PaO₂、SaO₂、SpO₂ 分析结果比较($n = 15 \bar{x} \pm s$)

组别	pH		PaCO ₂ (kPa)		PaO ₂ (kPa)		SaO ₂ (%)		SpO ₂ (%)	
	泵注前	抽搐时	泵注前	抽搐时	泵注前	抽搐时	泵注前	抽搐时	泵注前	抽搐时
D	7.38 ± 0.04	7.28 ± 0.06	5.59 ± 0.68	7.32 ± 1.83	25.6 ± 4.3	15.8 ± 4.6	96.9 ± 0.5	94.7 ± 0.9	95.9 ± 0.6	93.7 ± 0.8
S1	7.36 ± 0.05	7.32 ± 0.10	5.58 ± 0.72	8.71 ± 2.22	26.0 ± 4.4	18.6 ± 4.2	97.1 ± 0.8	94.3 ± 1.2	96.1 ± 0.5	94.0 ± 0.9
S2	7.35 ± 0.04	7.30 ± 0.08	5.49 ± 0.96	8.64 ± 2.31	26.5 ± 4.7	17.8 ± 4.0	97.3 ± 0.7	93.8 ± 1.5	96.3 ± 1.4	93.5 ± 1.2
S3	7.37 ± 0.05	7.32 ± 0.07	5.43 ± 1.30	8.93 ± 2.10*	25.9 ± 5.0	18.3 ± 5.4	96.6 ± 1.0	94.0 ± 1.0	95.6 ± 0.7	93.3 ± 1.0

与 D 组比较: * $P < 0.05$

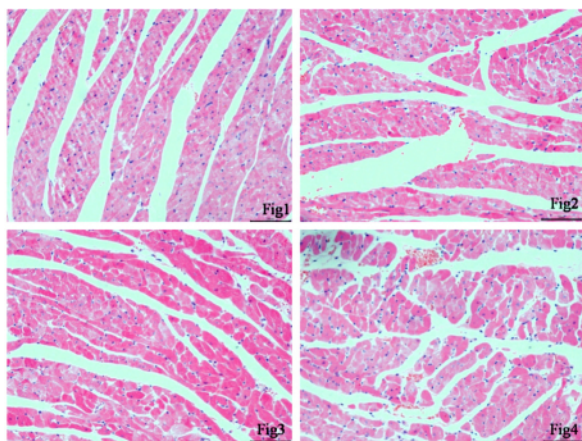
图1 四组大鼠心脏组织 HE 切片 $\times 200$

Fig1、Fig2、Fig3、Fig4: D 组、S1 组、S2 组、S3 组大鼠的心脏组织 HE 切片病理检查图

2.5 qRT-PCR 测定 NMDAR 1 亚基与 2B 亚基

S1、S2、S3 组大鼠 NMDAR 1 亚基与 2B 亚基相对表达量均较 D 组大鼠相比降低, D 组最高, 且 S1、S2、S3 组表达量依次降低。S1、S2、S3 组 NMDAR 1 亚基与 D 组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。S2、S3 组 NMDAR 2B 亚基与 D 组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。S1 组 NMDAR 2B 亚基与 D 组相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。统计学分析结果: A 图 $F = 19.106$; B 图 $F = 5.332$ 。见图 2。

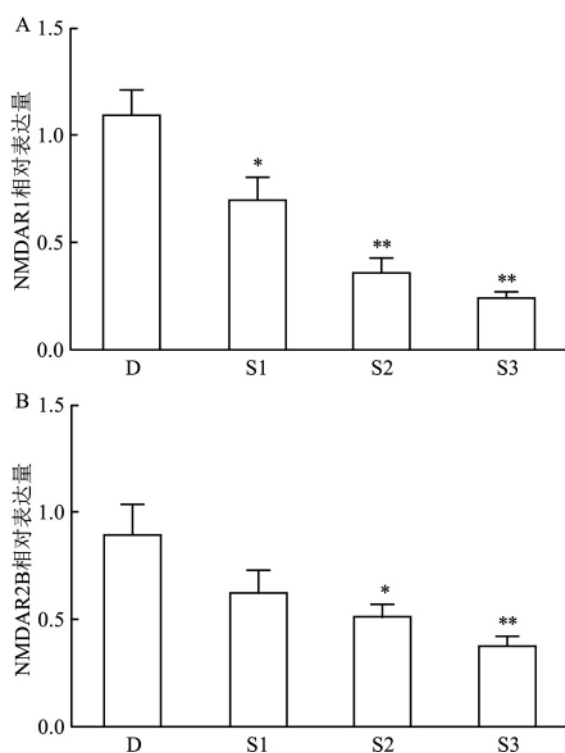


图2 4组大鼠 NMDAR 1 亚基与 2B 亚基的表达

A、B: 4 组大鼠 NMDA 受体 1 亚基与 2B 亚基的相对表达量; 与 D 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3 讨论

BPV 快速静脉注射可产生严重中枢神经和心脏毒性反应, 复苏困难, 病死率高, 因其可抑制心肌电传导而导致心律失常^[3]。钾离子通道开放剂, 钙通道阻滞剂等药物经常用于防治 BPV 引起的心脏毒性作用, 但起效慢^[4]。据报道^[5], 预注右美托咪定可以降低 BPV 的急性中枢神经系统毒性; 脂肪乳预先给药能减弱 BPV 所致鼠神经系统和心脏毒性的影响^[6]; 生脉注射液, 一种被广泛用于心源性休克患者临床治疗的中药注射剂, 对 BPV 所致大鼠的心脏毒性有一定的预防作用^[7-8]。本研究以等效麻醉剂量模拟麻醉过程中局麻药系统毒性, 观察 3 种不同剂量七叶莲花醇提取物预先给药对 BPV 致大鼠中枢神经系统和心脏毒性反应的影响。结果显示, 七叶莲花醇提取物预先给药延长了大鼠出现抽搐、室性心律失常和心跳停止的时间, 提高了大鼠抽搐、心律失常和心跳停止时 BPV 的剂量。初步呈现出预防 BPV 毒性的作用。而且结果比较显示 2、4、8 g/kg 的七叶莲花醇提取物解救中枢中毒效果逐渐增强。血气分析结果显示: 各组大鼠抽搐时与泵注 BPV 前相比, pH、PaO₂、SaO₂、SpO₂ 值均有所降低, 而动脉血二氧化碳分压 PaCO₂ 值有明显升高。大鼠泵注 BPV 出现抽搐时 MAP 升高, HR 降低, 与相关研究^[5-9] 结果类似。心脏组织 HE 切片病理检查显示 D、S1、S2、S3 组大鼠间质可见炎细胞浸润, 间质充血或出血明显, 表明 BPV 致使大鼠心脏毒性的发生。NMDAR 1 亚基与 2B 亚基是反应中枢神经系统是否受损的重要指标, 海马是学习记忆的关键脑区, NMDAR 活化构成了学习记忆的基础, 其数量和组成异常会严重损害认知功能, S1、S2、S3 组大鼠 NMDAR 1 亚基与 2B 亚基相对表达量均较 D 组大鼠相比均降低, 且 3 组表达量依次降低。该研究表明七叶莲花醇提取物预先给药可通过减轻兴奋性氨基酸毒性而减轻 BPV 对大鼠的中枢毒性, 这与布美他尼 (30 mg/kg) 在大鼠缺血早期可以减少海马 CA1 区 NMDAR1 的表达, 减少兴奋性氨基酸与受体结合, 从而减少兴奋性氨基酸毒性结果相似^[10]。而七叶莲花醇提取物是否通过减轻兴奋性氨基酸毒性而减轻 BPV 对大鼠的中枢毒性有待进一步证实。

参考文献

- [1] 孙爱静, 徐先祥, 黄晓东, 等. 七叶莲花抗炎镇痛作用及机制研究[J]. 中药材, 2014, 37(2): 311-5.

- [2] 孙爱静, 庞素秋, 徐先祥, 等. 七叶莲醇提取物对胸膜炎模型大鼠的影响[J]. 中药材, 2015, 38(3): 595 - 7.
- [3] 杨典平. 局部麻醉药的临床应用及其不良反应研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘 2015, 15(59): 30 - 1.
- [4] 赵 欣. 地佐辛联合局部麻醉药在臂丛阻滞麻醉中的应用[J]. 中外健康文摘 2012, 12(12): 147 - 8.
- [5] 盛亚菲, 马加海. 预注右美托咪定对布比卡因致大鼠中枢神经系统毒性的影响[J]. 潍坊医学院学报, 2014, 36(5): 360 - 2.
- [6] 薛诚诚, 武 毅, 王 芳, 等. 脂肪乳解救布比卡因致大鼠中枢神经系统毒性的研究[J]. 宁夏医科大学学报, 2016, 38(10): 1149 - 51, 1160.
- [7] 谭 萍, 石毅琼, 谢 圆, 等. 穴位注射生脉注射液对布比卡因所致大鼠心脏毒性的影响[J]. 内科, 2017, 12(1): 14 - 6.
- [8] 刘 璇, 李 正, 华生瑜, 等. 生脉注射液抗大鼠心肌缺血再灌注损伤的药理学研究[J]. 中成药 2015, 37(2): 251 - 5.
- [9] Aumeier C, Kasdorf B, Gruber M, et al. Lipid emulsion pretreatment has different effects on mepivacaine and bupivacaine cardiac toxicity in an isolated rat heart model[J]. Br J Anaesth 2014, 112(4): 735 - 41.
- [10] 刘 洁, 阮 林, 伍志坤, 等. 布美他尼对大鼠局灶性脑缺血再灌注后脑水肿及海马 CA1 区 NMDA 受体 1 型表达的影响[J]. 广东医学 2014, 35(19): 2983 - 5.

Effects of ethanol extract from *Schefflera arboricola* Hayata flower pretreatment on toxicity of bupivacaine in rats

Zhu Jingsong, Zhang Yang, Liu Lei, et al

(Dept of Anesthesiology, The First Affiliated Hospital of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002)

Abstract Objective To investigate the effects of three different doses of ethanol extracts from *Schefflera arboricola* Hayata flower on central and cardiac toxicity induced by bupivacaine in rats. **Methods** Sixty 10-week-old male SD rats were randomly divided into four groups, 15 in each group. After fasting for 12 h, all rats were given intragastric administration once a day for 3 consecutive days. The control group (group D) was oral administrated with normal saline, and the other three groups were oral administrated with ethanol extract of *Schefflera arboricola* Hayata flower 2 g (group S1), 4 g (group S2) and 8 g (group S3) per kilogram rat, respectively. Then all rats were intravenous pumped with 0.5% bupivacaine 2 mg/(kg • min). The dosage of bupivacaine was recorded when convulsion, ventricular arrhythmia and cardiac arrest occurred. The blood gas analysis of rats in each group was executed when convulsion occurred. Heart tissue HE section pathological examination was executed. The expression of NMDA receptor 1 and 2B subunits in hippocampus of rats in each group was measured by qRT-PCR. **Results** The dosage of bupivacaine in group S1, S2 and S3 was higher than that in group D when convulsion, arrhythmias and cardiac arrest occurred, and the dosage of bupivacaine in group S2 and group S3 was also higher than that in group S1. The differences were both statistically significant ($P < 0.05$). Blood gas analysis showed that PaCO₂ of rats in group S1, S2 and S3 was higher than that of rats in group D during convulsion, and the difference between group S3 and group D was statistically significant ($P < 0.05$). Histological examination of HE section showed that inflammatory cells infiltrated, interstitial congestion or hemorrhage was obvious in group D. Inflammatory cells infiltration in group S1, S2 and S3 was significantly less than that in group D, and interstitial congestion or hemorrhage was slight. The expression levels of NMDA receptor 1 subunit and 2B subunit in group S1, S2 and S3 were lower than those in group D by qRT-PCR analysis, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The central and cardiac toxicity in rats induced by bupivacaine could be alleviated by pre-administration of the ethanol extract of *Schefflera arboricola* Hayata flower.

Key words extract of *Schefflera arboricola* Hayata flower; bupivacaine; toxicity