

·论著·

尼莫地平 and 氯胺酮对缺血再灌注兔脑血流及代谢的影响

钱素云,樊寻梅,何颜霞,沈惠青,尹河华

(首都医科大学附属北京儿童医院急救中心,北京 100045)

[摘要] 目的 观察尼莫地平 and 氯胺酮对全脑缺血再灌注兔脑血流及代谢的影响。方法 制作兔全脑缺血再灌注模型,随机分为缺血组、尼莫地平组和氯胺酮组,假手术组为对照组。结果 缺血组于再灌注 2, 6, 24 h 内大脑中动脉平均血流速度(Vm)分别为(14.50 ±3.25), (14.13 ±2.96), (14.31 ±2.96) cm/s,明显低于缺血前[(23.44 ±3.13) cm/s]及同时点其它3组($P < 0.05$),其它3组缺血或假手术前后及3组之间大脑中动脉Vm无明显差异。与缺血或假手术前比较,4组缺血再灌注后血乳酸值均明显增高($P < 0.05$)。缺血组和尼莫地平组再灌注后血乳酸和动静脉氧压差(AVDO₂)明显高于缺血前和同时时间点的假手术组和氯胺酮组($P < 0.05$)。尼莫地平组血压、心率在再灌注 2 h, 6 h 明显低于缺血前及其它3组($P < 0.05$)。结论 尼莫地平 and 氯胺酮均可增加脑血流,氯胺酮同时可减低血乳酸和 AVDO₂,提示小剂量氯胺酮有一定脑保护作用。该实验尼莫地平未能改善脑代谢及预后,可能与其心血管抑制副作用有关。 [中国当代儿科杂志,2003, 5(3): 214 - 218]

[关键词] 脑缺血;再灌注损伤;尼莫地平;氯胺酮;脑保护

[中图分类号] R-332 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2003)03-0214-05

Effects of Nimodipin and Ketamine on Cerebral Blood Flow and Metabolism in Rabbits with Cerebral Ischemic Reperfusion

Sur Yun QIAN, Xun Mei FAN, Yan Xia HE, Hui Qing SHEN, He Hua YIN. Intensive Care Unit, Beijing Children's Hospital Affiliated to Capital University of Medical Science, Beijing 100045, China (Email: suqian@hotmail.com)

Abstract: **Objective** To study the effects of nimodipin and ketamine on cerebral blood flow and metabolism in rabbits with global ischemic reperfusion. **Methods** The model of global cerebral ischemic reperfusion was established in rabbits. The ischemic rabbits were randomly assigned into an ischemic group, a nimodipin-treatment group and a ketamine-treatment group (n=8 each). Eight shamoperated rabbits were served as the nonischemic controls. **Results**

The mean flow velocities (Vm) [(14.50 ±3.25), (14.13 ±2.96) and (14.31 ±2.96) cm/s] of right middle cerebral artery (MCA) in the ischemic group at 2 h, 6 h and 24 h of reperfusion were significantly decreased compared with that of pre-ischemia [(23.44 ±3.13) cm/s] and those of the control group, nimodipin-treatment group and ketamine-treatment group ($P < 0.05$). There was no significant difference in the Vm between before and after operation in the control group, nimodipin-treatment group and ketamine-treatment group; no significant difference was noted among the three groups. Compared with the indexes before operation, the plasma lactic acids in all four groups at 2 h, 6 h and 24 h after ischemic reperfusion were significantly increased ($P < 0.05$). The plasma lactic acid level and arteriovenous oxygen differences (AVDO₂) were higher in both the ischemic and nimodipin-treatment groups than those in the nonischemic control and ketamine-treatment groups after reperfusion ($P < 0.05$). The mean blood pressure and heart rate decreased in the nimodipin group at 2 h and 6 h after reperfusion compared with those of before administrating nimodipin and those of the other three groups ($P < 0.05$). **Conclusions** Both nimodipin and ketamine could improve cerebral blood flow velocity of rabbits. Ketamine could decrease plasma lactic acid level and AVDO₂, indicating ketamine may have protective effects on brain of rabbits with ischemic reperfusion. Nimodipin failed to improve

[收稿日期] 2002-07-25; [修回日期] 2003-01-25

[基金项目] 北京市科技新星计划资金资助(基金号:952872900)

[作者简介] 钱素云(1962-),女,硕士,在读博士,副主任医师。主攻方向:小儿急救。

[通讯作者] 钱素云,北京南礼士路56号,北京儿童医院急救中心,邮编:100045。

the cerebral metabolism might be the consequence of its effects of restraining the function of cardiovascular system.

[Chin J Contemp Pediatr, 2003, 5(3) : 214 - 218]

Key words : Cerebral ischemia ; Reperfusion damage ; Nimodipin ; Ketamine ; Brain protection

缺血再灌注损伤的发生机制与细胞内钙超载密切相关^[1]。本实验模拟临床过程,观察尼莫地平 and 氯胺酮两种不同类型的钙通道阻滞剂对全脑缺血再灌注免脑血流及代谢的影响,探讨两种药物脑保护作用的效果及其临床应用价值。

1 材料和方法

1.1 实验动物和分组

由首都医科大学动物实验室提供体重 2.2 ~ 2.7 kg 的健康新西兰兔 32 只,雌雄不限,随机分假手术组、脑缺血组、尼莫地平组和氯胺酮组,每组动物均为 8 只。

1.2 脑缺血再灌注模型制作

将兔用 20 % 乌拉坦 0.8 ~ 1.0 g/kg 静脉注射麻醉,每 2 ~ 4 h 用 1/10 量维持。仰卧位固定,经口气管插管,接 Sechrist 呼吸机行控制性机械通气。右顶部颅骨开窗直径约 0.8 cm,保持硬脑膜完整,用以放置经颅多普勒超声(TCD)探头监测脑血流。颈部正中切口,分离双侧颈总动脉及椎动脉,用动脉夹夹闭上述动脉 30 min 后放开,以制作全脑缺血再灌注模型,TCD 呈现大脑中动脉(MCA)血流消失为模型成功的标志。假手术组只分离血管而不夹闭。

1.3 给药方式

各组均于缺血再灌注 30 min 开始给药。尼莫地平(德国 Bayer 公司)溶于生理盐水中,首剂 10 μg/kg,20 min 静脉注入,维持量每分钟 1 μg/kg,共 6 h。氯胺酮(上海第一制药厂)溶于同样液体中,首剂 20 mg/kg,30 min 静脉注入,维持量每小时 10 mg/kg,共 6 h。假手术组和脑缺血组同量生理盐水注入。实验中用 1/2 张液体按每小时 6 ~ 10 ml/kg 维持输液以保证血压和电解质稳定。通过调节呼吸机参数和应用碳酸氢钠维持 pH,PaO₂ 和 Pa-

CO₂ 在正常范围。

1.4 监测指标

使用 Madigen 500 TCD 仪,5 MHz 脉冲探头置于右侧骨窗,超声束略偏外侧,取样深度 1.5 ~ 2.0 cm,可清晰探测到右侧 MCA 血流频谱。以平均血流速度(V_m)为观测指标。

经股动脉放置动脉导管,用压力换能器 P23 Gould-statham Oxnard CA 接 Siemens 404 多功能监护仪,持续监测平均动脉压、心率、呼吸和肛温,并抽取动脉血气、血乳酸标本。由颈静脉取血 0.2 ml 测静脉血气。物理方法保温,维持肛温 37.5 ~ 38.5。应用 AVL-993 型血气分析仪测定动、静脉血气。

以血乳酸和动静脉氧压差(AVDO₂)为代谢观察指标。使用美国 BeckmanCX9 测定血乳酸,以麻醉前安静状态测定值为基础值。按理论公式计算,AVDO₂ = HB × 1.34 × Sat(A - V)/100 + 0.003 × PO₂(A - V),其中 HB 指血红蛋白,Sat(A - V)为动脉与颈内静脉血氧饱和度之差,PO₂(A - V)为动脉与颈内静脉血氧分压之差。

分别于脑缺血前基础状态、缺血再灌注 2,6,24 h 测定并记录上述指标。

1.5 统计处理

使用 SPSS 软件,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间及不同时间点之间各参数对比采用单因素方差分析,其中两两比较用 Student-Newman-Keuls 法。

2 结果

2.1 缺血前一般情况

各组兔缺血或假手术前基础状态时体重、心率、平均动脉压、V_m、血乳酸、AVDO₂ 比较均无显著性差异(P > 0.05)。见表 1。

表 1 手术前各组生理参数比较

Table 1 Comparison of the physiological indexes before operation in the four groups (n = 8, $\bar{x} \pm s$)

组别	体重 (kg)	心率 (次/min)	MAP (mmHg)	V _m (cm/s)	血乳酸 (mg/dl)	AVDO ₂ (Vol %)	肛温 ()
假手术组	2.4 ±0.11	256 ±18	112 ±11	23.89 ±2.84	2.94 ±0.41	1.68 ±0.44	37.9 ±0.5
脑缺血组	2.3 ±0.18	261 ±15	110 ±8	23.44 ±3.13	2.81 ±0.43	1.77 ±0.37	38.1 ±0.6
尼莫地平组	2.4 ±0.18	252 ±18	111 ±11	22.48 ±2.20	3.00 ±0.39	1.55 ±0.33	37.8 ±0.7
氯胺酮组	2.4 ±0.15	262 ±17	108 ±9	24.25 ±4.06	2.92 ±0.46	1.79 ±0.49	38.1 ±0.5

2.2 脑血流动力学变化

缺血组于再灌注 2,6,24 h 所测 V_m 均明显低于缺血前及同时间点假手术组、尼莫地平组和氯胺酮组,均 $P < 0.01$,再灌注后 3 个时间点之间比较

差异无显著性($P > 0.05$)。尼莫地平、氯胺酮和假手术组缺血或假手术前后及 3 组之间 V_m 无明显差异($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 脑缺血前后 MCA V_m 动态变化
Table 2 Changes of V_m of MCA before and after ischemia in the four groups (n = 8, $\bar{x} \pm s$, cm/s)

组别	手术前	再灌注 2 h	再灌注 6 h	再灌注 24 h
假手术组	23.89 ±2.84	23.90 ±3.78	24.80 ±3.57	24.03 ±3.11
缺血组	23.44 ±3.13	14.50 ±3.25 ^{a,b}	14.13 ±2.96 ^{a,b}	14.31 ±2.96 ^{a,b}
尼莫地平组	22.48 ±2.20	25.06 ±4.04	23.78 ±4.79	23.10 ±5.07
氯胺酮组	24.25 ±4.06	25.43 ±4.09	24.65 ±3.42	25.14 ±3.59

注:a 与假手术组、尼莫地平、氯胺酮组比较均 $P < 0.05$;b 与手术前比较 $P < 0.05$

2.3 代谢变化

2.3.1 乳酸变化 与手术前比较,各组缺血再灌注后 3 个时间点的血乳酸值均明显增高($P < 0.05$)。缺血组和尼莫地平组再灌注后血乳酸值明显高于假

手术组和氯胺酮组($P < 0.05$),假手术组和氯氨酮组之间无显著差异($P > 0.05$)。缺血组以再灌注 2 h 和 6 h 最高。见表 3。

表 3 脑缺血前后血乳酸对比
Table 3 Comparison of lactic acids before and after ischemia in the four groups (n = 8, $\bar{x} \pm s$, mg/dl)

组别	手术前	再灌注 2 h	再灌注 6 h	再灌注 24 h
假手术组	2.94 ±0.41	5.00 ±0.62 ^b	5.05 ±0.75 ^b	4.34 ±0.69 ^b
脑缺血组	2.81 ±0.43	9.9 ±0.90 ^{a,b}	9.88 ±0.78 ^{a,b}	8.58 ±0.72 ^{a,b}
尼莫地平组	3.00 ±0.39	11. ±1.80 ^{a,b}	12.1 ±1.16 ^{a,b}	8.82 ±1.27 ^{a,b}
氯胺酮组	2.92 ±0.46	5.84 ±0.78 ^b	5.68 ±0.44 ^b	5.11 ±0.78 ^b

注:a 与假手术组、氯胺酮组比较 $P < 0.05$;b 与手术前比较 $P < 0.05$

2.3.2 AVDO₂ 变化 缺血组和尼莫地平组于缺血再灌注 2,6,24 h AVDO₂ 明显高于缺血前和同时间点假手术组及氯胺酮组($P < 0.05$),以再灌注 2 h AVDO₂ 最高,但与 6 h 和 24 h 比较差异无显著性

($P > 0.05$)。氯胺酮组再灌注 2 h AVDO₂ 有所增高,与缺血前比较差异有显著性($P < 0.05$),再灌注 24 h 基本恢复至缺血前水平;假手术组脑缺血前后 AVDO₂ 差异无显著性($P > 0.05$)。见表 4。

表 4 脑缺血前后 AVDO₂ 对比
Table 4 Comparison of AVDO₂ before and after ischemia in the four groups (n = 8, $\bar{x} \pm s$, Vol/ %)

组别	手术前	再灌注 2 h	再灌注 6 h	再灌注 24 h
假手术组	1.68 ±0.44	2.02 ±0.90	1.95 ±0.53	1.76 ±0.57
脑缺血组	1.77 ±0.37	4.21 ±1.15 ^{a,b}	3.63 ±0.72 ^{a,b}	3.65 ±0.46 ^{a,b}
尼莫地平组	1.55 ±0.33	4.12 ±0.80 ^{a,b}	4.02 ±0.72 ^{a,b}	3.56 ±0.61 ^{a,b}
氯胺酮组	1.79 ±0.49	2.43 ±0.44 ^b	2.23 ±0.62	1.83 ±0.31

注:a 与假手术组、氯胺酮组比较 $P < 0.05$;b 与手术前比较 $P < 0.05$

2.4 心血管功能

尼莫地平组再灌注后 2 h 和 6 h 的血压明显低

于缺血前及同时间点其它 3 组($P < 0.05$),以再灌注 2 h 降低最明显,再灌注 24 h 血压回升;心率于再灌

注后 2 h,6 h 和 24 h 均低于缺血前及同时间点其它 3 组($P < 0.05$)。其它 3 组脑缺血前后血压、心率无显著变化($P > 0.05$)。2 只兔在用药后 30 min ~ 6 h 因血压下降、心率减慢、心律失常死亡。见表 5。

表 5 脑缺血前后血压、心率对比
Table 5 Comparison of MAP and heart rate before and after ischemia in the four groups (n = 8, $\bar{x} \pm s$)

组别	缺血前		再灌注 2 h		再灌注 6 h		再灌注 24 h	
	血压(mmHg)	心率(次/min)	血压(mmHg)	心率(次/min)	血压(mmHg)	心率(次/min)	血压(mmHg)	心率(次/min)
假手术组	112.25 ± 11.02	230.50 ± 10.06	111.75 ± 7.09	238.88 ± 20.62	113.50 ± 8.86	242.13 ± 14.67	113.00 ± 9.91	236.38 ± 5.93
脑缺血组	109.88 ± 8.13	229.38 ± 12.31	111.50 ± 7.60	228.75 ± 13.99	114.50 ± 7.10	228.75 ± 8.92	113.38 ± 5.34	225.88 ± 9.58
尼莫地平组	111.00 ± 10.76	227.80 ± 13.80	87.29 ± 11.10 ^{a,b,c}	186.86 ± 16.03 ^{a,b,c}	94.50 ± 5.32 ^{a,b,c}	191.33 ± 8.85 ^{a,b,c}	103.33 ± 4.89	202.50 ± 7.53 ^{a,b,c}
氯胺酮组	108.00 ± 8.80	234.25 ± 11.59	105.88 ± 5.33	234.88 ± 14.66	106.13 ± 5.77	233.63 ± 12.55	108.13 ± 7.08	236.75 ± 12.41

注:a与假手术组、脑缺血组比较均 $P < 0.05$;b与缺血前比较 $P < 0.05$; c与氯胺酮组比较 $P < 0.05$

3 讨论

兔四血管夹阻断法是一种对血压影响较小的全脑缺血再灌注模型^[2]。TCD 可以无创动态监测颅底大血管血流动力学变化,脑血流速度减低是反映脑缺血较敏感的指标^[3]。本实验结果显示:兔脑缺血 30 min 获再灌注后,Vm 在 24 h 内明显减低,提示脑血管呈低灌注状态,其发生原因主要系因双侧脑供血动脉阻断后,葡萄糖无氧酵解所产生的乳酸、丙酮酸等代谢产物大量堆积,引起脑实质中毒,脑血管周围胶质细胞肿胀所致。细胞内钙超载,过量钙离子进入血管平滑肌细胞引起脑血管痉挛也是血流低灌注的原因之一。

乳酸是葡萄糖无氧代谢的毒性产物,它可降低脑组织 pH 值,加速细胞破坏和细胞膜离子泵失活。本实验中各组兔手术后血乳酸均较术前增高,与禁食、应激、手术打击等因素有关。缺血组术后血乳酸明显高于假手术组,说明缺血缺氧及之后的脑血流低灌注是导致血乳酸增高的主要原因。

AVDO₂ 是评价脑代谢和脑血流之间平衡关系的一个常用指标。当脑血流低于脑代谢需要时 AVDO₂ 增大^[4]。本研究显示缺血再灌注 24 h 内 AVDO₂ 增大,说明脑代谢需要和脑血流供应之间严重失衡。因此,脑缺血早期治疗的重点应以改善脑供血、降低脑代谢为主。低灌注期间采用过度通气降颅压可能会进一步加重脑缺血。

尼莫地平属电压依赖性钙通道阻滞剂,通过阻断 L - 型钙通道、抑制钙离子跨膜内流,具有扩张血管、减缓 ATP 耗竭及抑制血小板聚集和血栓形成的作用。其脂溶性强,可有效通过血脑屏障,选择性扩张脑血管,增加缺血区血流量。有报道^[5,6]尼莫地

平能对抗犬缺血 20 min 所致的脑组织低血流灌注,在脑缺血前或缺血后应用该药均能较好地改善再灌注期供血,促进神经功能恢复。国内也有报道缺血前腹腔注射尼莫地平可减低脑缺血鼠 IL-8 释放,减轻脑细胞超微结构破坏,并减缓脑缺血鼠脑神经元胞浆内游离钙升高。但也有不同实验结果^[7],近年来,尼莫地平的临床应用多数未能取得理想的效果^[8]。本实验于缺血再灌注 30 min 后给药,更能模拟临床过程。结果显示,尼莫地平虽能增加缺血后脑血流,但不能改善脑代谢和预后,甚至预后比缺血对照组更差,这一矛盾结果可能与其心血管抑制副作用有关。尼莫地平用药后血压明显降低,心率减慢,2 例出现心律失常死亡。停药后血压、心率回升,但仍低于用药前。说明本组所用尼莫地平剂量对兔有明显心血管抑制作用。故有关尼莫地平用药方法和剂量尚有待进一步探讨,其脑保护作用目前亦不能定论。

氯胺酮是临床常用的镇痛镇静剂,同时也是一种受体操控性钙通道阻滞剂,为兴奋性氨基酸 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体非竞争性拮抗剂。氯胺酮与 NMDA 受体的蛋白结合位点结合后,可减少 NMDA 受体介导的钙离子内流。有报道^[9,10]氯胺酮不仅可以改善脑供血,还可以增加缺血组织的能量储存,促使氨基酸合成,抑制中性粒细胞介导的炎症反应,降低脑缺血期外周儿茶酚胺的过度释放,减轻应激性激素和 TNF 介导的高代谢反应等,说明氯胺酮的脑保护作用是通过多种途径完成的。本实验中,氯胺酮组动物缺血再灌注 24 h 内脑血流明显增加,其脑血管扩张作用与尼莫地平相似,并同时有降低血乳酸和 AVDO₂ 作用,其改善代谢的作用明显优于尼莫地平。用药期间无明显血压、心率变化,提示该剂量氯胺酮有一定脑保护作用。因氯胺酮在增加脑血流的同时也有潜在增加脑代谢和颅内压的副作用

用,摸索合适的用药剂量和把握用药时机十分重要。

[参 考 文 献]

[1] Small DL, Morleg P, Buchan AM. Biology of ischemic cerebral cell death [M]. Progress in cardiovascular disease, 1999, 42(3): 185 - 207.

[2] 韩哲生,曹美鸿. 颅内压与颅内压增高 [M]. 兰州:甘肃科学技术出版社,1993, 310 - 311.

[3] 杨吉生,丁里,沈达炜,等. 与 SPECT 比较评价 TCD 对脑缺血的诊断意义 [J]. 中华核医学杂志,1998, 18(2): 106 - 107.

[4] Beckstead JE, Tweed WA, Lee J. Cerebral blood flow and metabolism in man following cardiac arrest [J]. Stroke, 1978, 9(6): 569 - 573.

[5] 刘峰,于有亮,孙淑娟,等. 尼卡地平与氯胺酮对大鼠脑缺血再

灌注损伤的影响 [J]. 中华麻醉学杂志,1999, 19(6): 379.

[6] 曹权. 尼莫地平对脑复苏影响的实验研究 [J]. 南京医科大学学报,1999, 19(2): 99 - 100.

[7] Vibulsresth S, Dietrich WD, Busto R, et al. Failure of nimodipine to prevent ischemic neuronal damage in rats [J]. Stroke, 1987, 18(1): 210 - 216.

[8] Devuyt G, Bogousslavsky. Clinical trial update: neuroprotection against acute ischemic stroke [J]. Current Opinion In Neurology, 1999, 12(1): 73 - 79.

[9] 周青山,黄海波,余金甫,等. 氯胺酮对不完全性脑缺血的保护作用 [J]. 中华麻醉学杂志,1997, 17(2): 106 - 108.

[10] Hoffman WE, Pelliqrino D, Werner C, et al. Ketamine decrease plasma catecholamines and improves outcome from incomplete cerebral ischemia in rats [J]. Anesthesiology, 1992, 76(5): 755 - 762.

(本文编辑:俞燕)

(上接第 213 页)

抑制 PKC 活性可减少 c-fos mRNA 水平。Soh 等^[7]采用基因突变功能分析的方法,对 PKC 家族成员对 c-fos 表达的作用进行了分析,结果发现:PKC α , PKC ϵ 对 c-fos 基因表达的信号传递起决定作用,而 PKC δ , PKC θ 则不参与此信号传递过程。本研究发现 HIE 时第二信使变化与 c-fos 表达基本一致,但 PKC 活性降低持续时间更长。表明 HIE 时谷氨酸 - MND A 受体激活后,IP₃ 释放增加,钙通道开放,PKC 激活等第二信使改变可能是 c-fos 基因表达的前提条件。除此之外,持续长久的 PKC 激活状态所致的细胞能量储存耗竭、酶类磷酸化与非磷酸化失衡是导致细胞受损或死亡另一重要因素。

[参 考 文 献]

[1] Aronoski J, Waxham MN, Grotta JC, et al. Neuronal protection and preservation of calcium/calmodulin - dependent protein kinase II and PKC activity by dextrophan treatment in global ischemia [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 1993, 13(2): 550 - 557.

[2] Katsura K, Kurihara J, Siesjo BK, et al. Acidosis enhance translocation of PKC but not Ca²⁺/calmodulin - dependent protein kinase II to cell membranes during complete cerebral ischemia [J]. Brain Res, 1999, 849(1 - 2): 119 - 127.

[3] Mork AC, Zhang GH, Martinez JR. Modulation of Ca²⁺ mobilization by PKC in rat submandibular acinar cells [J]. J Cell Biochem, 1999, 72(1): 47 - 55.

[4] Nagata E, Tanaka K, Suzuki S, et al. Selective inhibition of inositol_{1,4,5} - trisphosphgate - induced Ca²⁺ release in the CA1 region of the hippocampus in the ischemic gerbil [J]. Neuroscience, 1999, 93(3): 995 - 1001.

[5] Oorschot DE, Black MJ, Rangi F, et al. Is fos protein expressed by dying striatal neurons after hypoxic - ischemic brain injury [J] Exp Neurol, 2000, 161(1): 227 - 233.

[6] Tron PO, Hinman LE, Unger GM, et al. A wound - induced [Ca²⁺]_i increase and its transcriptional activation of immediate early genes is important in the regulation of motility [J]. Exp cell Res, 1999, 246(2): 319 - 326.

[7] Soh JW, Lee EH, Prywes R, et al. Noval roles of specific isoforms of PKC in activation of the c-fos serum response element [J]. Mol Cell Biol, 1999, 19(2): 1313 - 1324.

(本文编辑:俞燕)