

局麻药的神经阻滞作用与 pH 值的关系研究

王 茹 彭余楠 张 锋 赵 娟 杜长江 李 丹 张 洋 戴体俊

摘 要 **目的** 比较不同 pH 值的普鲁卡因和布比卡因溶液对蟾蜍坐骨神经动作电位的幅度、传导速度和腓肠肌收缩力的影响。**方法** 制备 120 条蟾蜍坐骨神经腓肠肌标本,分别用 pH 值为 3、4、5、6、7、8 的普鲁卡因和布比卡因溶液浸润,测定浸润前后动作电位的幅度、传导速度和腓肠肌收缩力。**结果** pH 值为 6 的普鲁卡因和 pH 值为 7 的布比卡因溶液对蟾蜍坐骨神经动作电位的幅度、传导速度和腓肠肌收缩力影响最大。**结论** 不同 pH 值的局麻药对蟾蜍坐骨神经的阻滞作用不同。

关键词 pH 值 局麻药 动作电位 腓肠肌收缩力

Study of Relationship between the Nerve Block Effect of Local Anesthetics and the pH. Wang Ru, Peng Yunan, Zhang Feng, Zhao Juan, Du Changjiang, Li Dan, Zhang Yang, Dai Tijun. Class 2, Grade 2006, School of Anesthesia, Xuzhou Medical College, Jiangsu 221002, China

Abstract Objective To compare the influence of procaine and bupivacaine under different pH on amplitude and propagation velocity of action potential of toad sciatic nerve and gastrocnemius contraction. **Methods** Sciatic - gastrocnemius was treated with procaine and bupivacaine hydrochlorida with pH of 3, 4, 5, 6, 7, 8, respectively. The amplitude and propagation velocity of action potential and gastrocnemius contraction were recorded before and after being treated by procaine and bupivacaine. **Results** The amplitude and the propagation velocity of action potential of toad sciatic nerve and gastrocnemius contraction changed significantly when procaine in pH of 6 and bupivacaine in pH of 7. **Conclusion** The nerve block roles of local anesthetics were different under different pH conditions.

Key words pH; Local anesthetics; Action potential; Gastrocnemius contraction

普鲁卡因为一种酯类麻醉药,临床上主要用于浸润麻醉,也用于静脉麻醉,还可用于腰麻及纠正四肢血管舒缩功能障碍,为我国传统用药保留品种^[1]。布比卡因为一种酰胺类麻醉药,弥散广,阻滞作用明显,应用较为广泛。普鲁卡因和布比卡因溶液为弱碱性,pH 值及温度是影响其水解的主要因素,继而影响其麻醉作用^[2]。临床上酸中毒病人局麻药作用较差,局麻药也常用于封闭法治疗某些损伤和炎症,炎症坏死部位由于酸性物质增多影响治疗效果,本实验通过观察不同 pH 值的普鲁卡因和布比卡因溶液对坐骨神经动作电位的幅度和传导速度以及腓肠肌收缩力的影响,得出其发挥最大作用时的 pH 值。

材料与方法

1. 实验动物:清洁健康蟾蜍,体重 55 ~ 65g,由徐州医学院

实验动物中心提供。

2. 药品:盐酸普鲁卡因注射液(0.04g/2ml,安阳市化学制药厂,批号:2007110015),盐酸布比卡因注射液(5ml:37.5mg,山东华鲁制药有限公司,批号:0904011),按照 SOP 标准配置的任氏液。

3. 仪器:BL-420 生物功能实验系统(成都泰盟科技有限责任公司生产),神经屏蔽盒(六合泉水教学实验器材厂生产),PHS-3C 型精密 pH 计(上海精密科学仪器有限公司)。

4. 方法:(1)制备不同 pH 值的普鲁卡因和布比卡因溶液:利用盐酸、NaHCO₃,盐酸普鲁卡因注射液,盐酸布比卡因注射液,pH 计分别配制 pH 值为 8、7、6、5、4、3,的普鲁卡因和布比卡因溶液。(2)制备蟾蜍坐骨神经-腓肠肌标本:制备脊髓蟾蜍,用镊子剥皮后去除内脏及上部体躯,去尾骨,分离坐骨神经至腓肠肌,在腓肠肌肌腱下穿线并用结线扎紧,游离腓肠肌,分离股骨,提起腓肠肌上的扎线,保留 2/3 股骨并剪断股骨。制备标本的过程中应尽量减少神经损伤,确保神经标本的兴奋性。(3)动作电位幅度、传导速度和腓肠肌收缩力的测定:将制备的离体坐骨神经-腓肠肌标本分为 12 组,每组 10 根,其中 6 组为布比卡因组,另 6 组为普鲁卡因组,先置于任氏液中浸泡 30min 使其兴奋性稳定,将坐骨神经-腓肠肌标本固定在肌槽上,并将坐骨神经搭在刺激电极上,刺激的输出线与肌槽刺激电极连接。将张力换能器用双凹夹固定于铁支台上,其换能器的输出线插入计算机的信号输入插口。将

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30872432,30471657,39970715);江苏省自然科学基金资助项目(BK 200143)

作者单位:221002 徐州医学院麻醉学 2006 级 2 班(王茹、彭余楠、张锋、赵娟);徐州医学院临床 2006 级(杜长江、李丹);徐州医学院麻醉生理学教研室(张洋);徐州医学院麻醉药理学教研室(戴体俊)

通讯作者:戴体俊,电子信箱:daitijun@163.com

腓肠肌跟腱结扎线的一端与张力换能器的簧片相连,调节好扎线的张力,不可过松或过紧,以使肌肉自然拉平为宜(保证肌肉一旦收缩,即可牵动张力传感器的应变梁)。调节刺激强度为 0.2 ~ 1V、波宽 2ms、延时 1ms、频率 50Hz(该刺激参数下动作电位的波形较稳定和标准^[3]),观察生物信号的显示,记录结果,实验过程中应经常给标本滴加任氏液,防止标本干燥。将浸润不同 pH 的普鲁卡因和布比卡因溶液的小棉条缠绕坐骨神经,2min 后,再次记录动作电位波形和腓肠肌收缩波形,比较浸润前后波形变化情况。

5. 统计学处理:实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据分析采用 SPSS16.0 统计软件,多组间比较采用方差分析,两组间比较采用 q 检验,检验标准 $\alpha = 0.01$ 。

结 果

在刺激参数,温度恒定的情况下,普鲁卡因溶液 pH 值 3 ~ 6,布比卡因溶液 pH 值 3 ~ 7 时,神经干复合动作电位幅度变化率逐渐增大(图 1),传导速度变化率逐渐增大(图 2),腓肠肌收缩力变化率逐渐增大(图 3),这一结果提示阻滞效果逐渐加强。普鲁卡因溶液 pH 值 6 ~ 8,布比卡因溶液 pH 值 7 ~ 8 时,神经干复合动作电位的变化率逐渐减小(图 1),传导速度的变化率逐渐减小(图 2),腓肠肌收缩力的变化率逐渐减小(图 3),即阻滞效果逐渐减弱。

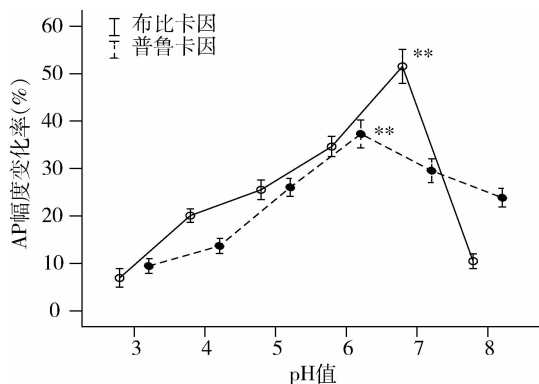


图 1 不同 pH 条件下,动作电位 (AP) 幅度变化率 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

** 与其他组相比, $P < 0.01$

讨 论

局麻药分子在溶液中存在两种形式:未解离的碱基和解离的阳离子,二者在阻滞神经传导功能的过程中都是必要的,碱基具有脂溶性,能透过神经鞘膜或神经膜而进入细胞内接近钠通道内口的特定定位点,阳离子能与带负电的膜内受体相结合,使钠通道关闭,阻滞钠离子内流,从而阻滞神经传导功能,阳离子与碱基的比例取决于局麻药本身的 pKa 与其周围的 pH 值^[4]。实验结果表明, pH 值为 6 的普鲁卡因溶液和

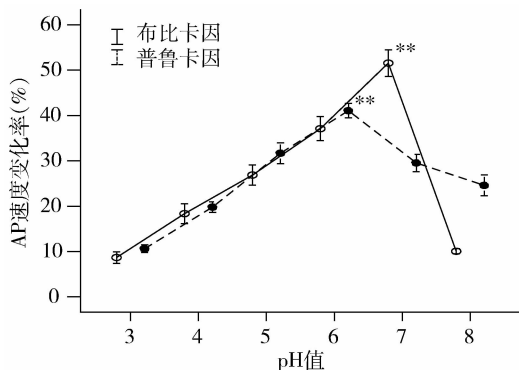


图 2 不同 pH 条件下,动作电位 (AP) 速度变化率 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

** 与其他组相比, $P < 0.01$

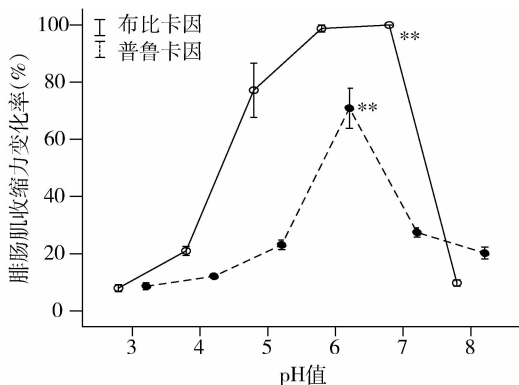


图 3 不同 pH 条件下,腓肠肌收缩力变化率 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

** 与其他组相比, $P < 0.01$

pH 值为 7 的布比卡因溶液对动作电位和腓肠肌收缩力的阻滞效果最好。这可能是因为随着 pH 值的增大,溶液中碱基的浓度逐渐增加,穿过细胞膜的碱基逐渐增加进而作用于钠通道内口的特定定位点,进入细胞内的碱基解离为阳离子抑制钠通道,阻断钠离子内流,动作电位被抑制的程度逐渐增大。溶液中加入碳酸氢钠, PaCO_2 升高, CO_2 扩散至细胞内,细胞内的 pH 降低,麻醉效果增强。当 pH 值为 7 和 8 时,普鲁卡因的阻滞程度逐渐减小,这一方面,可能因为普鲁卡因化学结构中含有酯基,偏碱性能促进其水解,易水解成对氨基苯甲酸 (pamion benzoic, PABA),使得麻醉作用降低, pH 值为 8 时,酰胺类局麻药布比卡因的阻滞程度也有所降低,这可能因为布比卡因在该 pH 条件下会析出部分碱基结晶,进而影响麻醉效果^[5-7]。另一方面,可能因为大量的碱基进入细胞内,短时间内未来得及解离,只有部分阳离子作用于膜内受体,所以对动作电位的阻滞效果有所降低,至

于长时间的阻滞效果,有待进一步探讨。

目前临床上为维持局麻药的稳定性和水溶性,均采用盐酸制剂。有文献报道,适当碱化盐酸利多卡因溶液,可明显缩短起效时间,增强阻滞作用,延长作用时间^[8-10]。实验结果证明适当碱化盐酸普鲁卡因和布比卡因溶液可以增强短时间内的阻滞作用。临床上麻醉中毒病人或者封闭法治疗损伤或炎症病人可以考虑适当碱化局麻药,以提高麻醉效果。

参考文献

- 1 胡克勤, 聂浩鸿. 配制盐酸普鲁卡因注射液时调节 pH 值法的探讨[J]. 贵州医药, 2008, 32(5): 466-477
- 2 刘子良, 仇传新. 高 pH 盐酸普鲁卡因溶液用于硬膜外阻滞的效果观察[J]. 临床麻醉学, 1990, 6(2): 72-73
- 3 蒋信伟, 周洁, 孙红, 等. 刺激参数对蟾蜍坐骨神经干动作电位的影响[J]. 徐州医学院学报, 2006, 26(6): 507-509
- 4 戴体俊. 麻醉药理学[M]. 2 版, 北京: 人民卫生出版社, 2005: 88-89

- 5 魏世超, 汪秋兰, 张南, 等. 高效液相色谱法同时测定盐酸普鲁卡因注射液中盐酸普鲁卡因含量及对氨基苯甲酸限量[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(8): 1249-1251
- 6 贾首时. 反相高效液相法测定普鲁卡因肾上腺素注射液中盐酸普鲁卡因含量及其杂质对氨基苯甲酸限量[J]. 黑龙江医药, 2007, 20(2): 95-96
- 7 曲成业. 常用局麻药添加碳酸氢钠的后变化[J]. 国外医学·麻醉学与复苏手册, 1996, 17(5): 316
- 8 王建波, 催存德, 李平, 等. 不同浓度和 pH 利多卡因对蛙离体坐骨神经复合动作电位的影响[J]. 临床麻醉学杂志, 1997, 13(6): 333-334
- 9 张文杰. 碱性利多卡因用于硬膜外阻滞的比较观察[J]. 中华麻醉学杂志, 1991, 11(1): 49
- 10 Difazio CA, Carron H, Grosslight KP, *et al.* Comparison of Ph-adjusted lidocaine solutions for epidural anesthesia[J]. Anesth Anesth, 1986, 65: 760-764

(收稿: 2010-05-10)

人 ST3Gal I 基因真核表达载体的构建与表达

崔红霞 岳丽玲 刘吉成

摘要 目的 构建增强型绿色荧光蛋白为报告基因的 pEGFP-N1-ST3Gal I 真核表达载体, 分析其在人乳腺癌细胞系 MCF-7 中的表达, 筛选稳转细胞株, 为进一步研究乳腺癌细胞膜连 $\alpha 2, 3$ 唾液酸与转移潜能调控提供细胞模型。**方法** 采用 RT-PCR 扩增 ST3Gal I 全长基因片段, 克隆至 pEGFP-N1 载体进行测序分析, 用脂质体将重组真核表达载体 pEGFP-N1-ST3Gal I 转染人乳腺癌细胞 MCF-7 中, 经荧光显微镜观察及 RT-PCR 检测 hST3Gal I 的表达, G418 抗性筛选稳转细胞株。**结果** 成功构建了真核表达载体 pEGFP-N1-ST3Gal I, 体外转染 MCF-7 细胞后, 荧光显微镜下可见绿色荧光蛋白的表达, 半定量 RT-PCR 检出高水平表达的 hST3Gal I, 获得稳转细胞株。**结论** 成功构建了增强型绿色荧光蛋白为报告基因的 hST3Gal I 真核表达载体, 并在 MCF-7 中稳定表达, 为进一步研究乳腺癌细胞膜连 $\alpha 2, 3$ 唾液酸水平增高与其侵袭和转移潜能的调控提供实验基础。

关键词 $\alpha 2, 3$ 唾液酸转移酶 I 增强型绿色荧光蛋白 转染 表达

Construction and Expression of hST3Gal I Eukaryotic Expression Vector in Human Breast Carcinoma Cells. Cui Hongxia, Yue Liling, Liu Jicheng. Medicine and Drug Research Institute, Qiqihar Medical University, Heilongjiang 161006, China

Abstract Objective To construct the human ST3Gal I ($\alpha 2, 3$ sialyltransferase) eukaryotic expression vector and analyze its expression in MCF-7 cells. **Methods** The human ST3Gal I cDNA was obtained and amplified by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). Then the hST3Gal I gene was incorporation into pEGFP-N1 plasmid. The recombinant vector pEGFP-N1-ST3Gal I was identified and transfected into MCF-7 cells. A stably transfected cell line was established using G418 resistance selection. The expression of hST3Gal I was observed under a fluorescence microscope and examined by semi-quantitative RT-PCR. **Results** The recombinant plasmid pEGFP-N1-ST3Gal I was successfully constructed. After it being transfected into MCF-7 cells, green fluorescence could be observed. Results of semi-quantitative RT-PCR analysis displayed that the level of hST3Gal I mRNA was significantly increased in MCF-7 cells. **Conclusion** The hST3Gal I eukaryotic expression vector pEGFP-N1-ST3Gal I that can ex-

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30772751)

作者单位: 161006 黑龙江省齐齐哈尔医学院药物研究所(崔红霞、岳丽玲、刘吉成); 150040 哈尔滨, 黑龙江中医药大学(崔红霞)

通讯作者: 刘吉成, 电子信箱: qyblu@126.com