

## 石杉碱甲对老年患者全麻苏醒期脑内胆碱酯酶和乙酰胆碱的影响

王刚<sup>1</sup>, 张双全<sup>2</sup>, 詹鸿<sup>2</sup> (<sup>1</sup>广东省人民医院麻醉科, 广东广州 510080; <sup>2</sup>广州医学院附属第三医院麻醉科, 广东广州 510150)

**摘要:**目的 研究石杉碱甲对老年患者全麻苏醒期脑内胆碱酯酶和乙酰胆碱的影响。方法 30名拟接受全身麻醉复合连续腰麻的老年手术病人随机分为两组, 每组 15 例。I 组于手术结束前 30 min 静脉注射石杉碱甲 2 ml 计 0.3 mg; II 组空白对照, 静脉注射生理盐水 2 ml。两组病人均在蛛网膜下腔置管完成、手术结束后 5 h 两个时点抽取脑脊液 1.5 ml, 测定脑脊液胆碱酯酶活力及乙酰胆碱含量。结果 各组术后 5 h 脑脊液乙酰胆碱含量均低于全麻前 ( $P < 0.01$ ), 组间比较石杉碱甲组明显高于对照组 ( $P < 0.01$ )。石杉碱甲组病人术后 5 h 脑脊液胆碱酯酶活力低于全麻前 ( $P < 0.01$ ); 组间比较石杉碱甲组术后 5 h 脑脊液胆碱酯酶活性低于对照组 ( $P < 0.01$ )。结论 石杉碱甲可以抑制老年患者全麻苏醒期脑内胆碱酯酶活性, 增加脑内乙酰胆碱含量, 促进胆碱能神经功能的恢复。

**关键词:** 石杉碱甲; 全身麻醉; 脑脊液; 乙酰胆碱; 胆碱酯酶

中图分类号: R614 文献标识码: A 文章编号: 1673-4254(2006)11-1660-03

## Effect of huperzine A on cerebral cholinesterase and acetylcholine in elderly patients during recovery from general anesthesia

WANG Gang<sup>1</sup>, ZHANG Shuang-quan<sup>2</sup>, ZHAN Hong<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Anesthesia, People's Hospital of Guangdong Province, Guangzhou 510080, China; <sup>2</sup>Department of Anesthesia, Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical College, Guangzhou 510150, China

**Abstract: Objective** To observe the effect of huperzine A on cerebral cholinergic system in elderly patients during recovery from general anesthesia. **Methods** Thirty elderly patients undergoing elective surgery under general anesthesia were randomized in a double-blind manner into group I ( $n=15$ ) to receive huperzine A (0.3 mg/2 ml) and group II ( $n=15$ ) with normal saline (2 ml) given intravenously. Huperzine A or normal saline was administered 30 min before completion of the operation, and acetylcholine (ACh) concentration in the cerebral spinal fluid (CSF) of the patients was determined using high-performance liquid chromatography with electrochemical detector (HPLC-ECD) and the activity of cholinesterase inhibitors (ChE) evaluated with automatic biochemistry analyzer before general anesthesia induction (T1) and 5 h after operation completion (T2). **Results** In both the groups, ACh concentration in the CSF were lower at T2 than that at T1 ( $P < 0.01$ ), and at T2, CSF ACh concentration was significantly higher in group I than in group II ( $P < 0.01$ ); in group I, the activity of CSF ChE at T2 was lower than that at T1 ( $P < 0.01$ ), and also lower than at T2 in group II ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** Huperzine A can inhibit cholinesterase to increase ACh, which has a positive effect on cerebral cholinergic system in elderly patients during recovery from general anesthesia.

**Key words:** huperzine A; general anesthesia; cerebrospinal fluid; acetylcholine; cholinesterase

最新研究发现,胆碱能神经递质功能抑制或减退可能是全麻苏醒期认知功能障碍的最终共同通道<sup>[1-2]</sup>, 本项目拟研究围术期中枢性胆碱酯酶抑制剂 (cholinesterase inhibitors, CEI) 对老年患者全麻苏醒期胆碱能神经的影响。

### 1 对象和方法

#### 1.1 研究对象

30 例择期下腹部或下肢手术患者, 年龄 65~75

岁, ASA II-III 级, 术前无支气管哮喘、机械性肠梗阻、癫痫、心绞痛及心动过缓, 无神经精神系统疾病史, 无服用抗精神药物、镇静药、麻醉性镇痛药物史, 无酗酒史; 排除术中发生严重的系统或器官功能衰竭需要抢救的病人; 器官功能不全导致苏醒延迟或不能脱离呼吸机拔管的病人; 术后 1 周仍有严重精神状态改变且 CT 检查大脑有明显器质性改变患者。30 例患者随机分为两组: 石杉碱甲组和对照组, 每组 15 例。

#### 1.2 麻醉方法

所有病人采用连续腰麻复合全身麻醉: 常规术前准备, 术前 30 min 肌肉注射阿托品 0.5 mg; 入手术室后, 行 L<sub>3-4</sub> 穿刺蛛网膜下腔置管 2 cm, 给予 0.75% 罗哌卡因 1 ml; 常规以咪唑安定、芬太尼、万可松、异丙

收稿日期: 2006-03-25

基金项目: 广州市卫生局科研课题 (2004A 016)

Sponsored by Public Health Bureau of Guangzhou (2004A 016)

作者简介: 王刚 (1971-), 男, 副主任医师, 研究方向为麻醉药理

酚快诱导经口气管插管,术中以芬太尼、万可松、异丙酚维持麻醉,其中异丙酚靶控血药浓度  $2 \mu\text{g/ml}$ ;术毕送入麻醉恢复室。手术结束时蛛网膜下腔给予  $0.05\%$  罗哌卡因  $2 \text{ ml}$  镇痛。石杉碱甲组于手术结束前  $30 \text{ min}$  静脉注射石杉碱甲  $0.3 \text{ mg}$  计  $2 \text{ ml}$  (浙江万邦药业有限公司);空白对照静脉注射生理盐水  $2 \text{ ml}$ 。两组病人均在蛛网膜下腔置管完成、给药后  $5 \text{ h}$  抽取脑脊液  $1.5 \text{ ml}$  低温保存。

### 1.3 脑脊液胆碱酯酶 (ChE) 活性测定(丁酰硫代胆碱法)

原理: 硫代丁酰胆碱在 ChE 的作用下生成丁酸和硫代胆碱, 硫代胆碱再与 5,5-二硫代-2-硝基苯甲酸反应生成 5-巯基-2-硝基苯甲酸, 通过在  $405\sim 410 \text{ nm}$  波长处测定 5-巯基-2-硝基苯甲酸的颜色增加速率, 计算样本中 ChE 的活性。取脑脊液  $0.5 \text{ ml}$ , 采用全自动生化分析仪(Beckman, 美国)测定脑脊液 ChE 活性, ChE 试剂盒由宁波慈城试剂公司提供。

### 1.4 脑脊液乙酰胆碱(Ach)含量测定

原理: 通过 Ach 和胆碱氧化酶 (choline oxidase, Cho) 的酶学反应, 把 Ach、胆碱 转变成过氧化氢, 然后运用高效液相色谱电化学检测方法, (HPLC-ECD) 对过氧化氢进行测定, 最后计算 Ach 含量<sup>[3]</sup>。

脑脊液  $1.5 \text{ ml}$ , 置于放有  $0.5 \mu\text{mol}$  毒扁豆碱的试管中, 贮存于  $-80^\circ\text{C}$  冰箱。实验时以脑脊液  $1 \text{ ml}$  和 3-庚酮  $1 \text{ ml}$  混合, 室温下振荡  $10 \text{ min}$ ,  $4^\circ\text{C}$  以下离心 ( $1500\times g$ )  $20 \text{ min}$ 。抽取上清液, 以  $500 \mu\text{l}$  分装, 并加入  $0.5 \text{ ml}$  的  $0.4 \text{ mol/L}$  盐酸, 再次  $4^\circ\text{C}$  下离心 ( $1500\times g$ )  $10 \text{ min}$ , 吸取上层有机层, 弃去。之后冻干酸液层, 溶于  $100 \mu\text{l}$  蒸馏水, 以  $80 \mu\text{l}$  注入 Waters 高效液相色谱仪(室温, 电位  $300 \text{ mV}$ , 流速  $1.2 \text{ ml/min}$ )。样本中 Ach 和胆碱经分析柱分离后在含有乙酰胆碱酯酶 (acetylcholinesterase, AchE) 和 Cho 的酶固定柱中 Ach 被 AchE 水解成胆碱 和乙酸, 水解产生的胆碱和样本中原有的胆碱 先后被 Cho 氧化生成过氧化氢。过氧化氢在检测池由 Coulbchem II 型 5200A 电化学检测器 (ESA Bedford MA, USA) 检测。其中 Ach 盐酸盐、胆碱 盐酸盐均购自 Sigma 公司, AchE 和 Cho 的酶固定柱购自 Eicom 公司。

### 1.5 统计学处理

应用 SPSS11.0 统计软件, 实验数据采用均数 $\pm$ 标准差表示, 采用 *t* 检验。

## 2 结果

### 2.1 一般资料

两组患者年龄、性别构成、手术种类构成、手术时间、麻醉药物用量无显著差异。

### 2.2 脑脊液 Ach、ChE 活力变化

两组病人全麻前脑脊液 Ach 含量无差异(表 1)。各组术后  $5 \text{ h}$  脑脊液 Ach 含量均低于全麻前 ( $P<0.01$ ), 组间比较石杉碱甲组明显高于对照组 ( $P<0.01$ )。石杉碱甲组病人术后  $5 \text{ h}$  脑脊液 ChE 活力低于全麻前 ( $P<0.01$ ), 组间比较石杉碱甲组术后  $5 \text{ h}$  脑脊液 ChE 活力低于对照组 ( $P<0.01$ )。

表 1 脑脊液 Ach 含量和 ChE 活力变化

Tab.1 Concentrations of Ach and activity of ChE in the cerebral spinal fluid ( $n=15$ , Mean $\pm$ SD)

Group	Ach (nmol/L)		ChE ( $\mu\text{g/L}$ )	
	Pre-anaesthesia	5 h after operation	Pre-anaesthesia	5 h after operation
Huperzine A	44.6 $\pm$ 10.31	34.2 $\pm$ 8.63* <sup>#</sup>	112.2 $\pm$ 18.71	83.2 $\pm$ 8.63* <sup>#</sup>
Control	41.1 $\pm$ 6.25	23.0 $\pm$ 9.47*	120.3 $\pm$ 21.66	118.4 $\pm$ 17.09

\* $P<0.01$  vs pre-anaesthesia; <sup>#</sup> $P<0.01$  vs control group

## 3 讨论

Ach 是维持高级神经功能的重要递质, 与记忆、思维和智能密切相关。脑组织 Ach 下降反映了胆碱能系统的总体损害和 Ach 代谢损伤增加。尽管脑脊液中 Ach 含量较脑组织内低, 但两者有显著的正相关性。脑脊液中 Ach 含量的变化是一个外周标志物, 能灵敏、准确地反映脑内胆碱能神经功能的变化<sup>[3,4]</sup>。由于临床上不可能通过脑组织活检来诊断胆碱能系统功能, 因此通过检测脑脊液中 Ach 的含量间接了解胆碱能系统的总体情况。本项研究中, 两组患者全麻苏醒期脑脊液的 Ach 含量较全身麻醉前有明显下降。由于标本取样的限制, 我们尚无法获得全身麻醉期间 Ach 的具体变化过程, 但至少可以说明全身麻醉药物可导致中枢胆碱能递质含量的减少。

ChE 是一类特殊的丝氨酸水解酶类, 为肝脏合成, 主要存在于神经元和神经-肌肉的接头处。中枢神经内的 ChE 又可分为 AchE 和丁酰胆碱酯酶 (butyrylcholinesterase, BuChE)。AchE 主要功能是在胆碱能神经元突触处快速水解神经递质 Ach, 从而终止胆碱能神经的信号传递。许多证据显示, AchE 与胆碱能神经元末梢在大脑皮质中的分布具有一致性: 大鼠纹状体内的 AchE 强阳性细胞就是胆碱能神经元; 海马区 AchE 阳性的纤维末梢就是胆碱能神经元末梢。近年来脑脊液中 AchE 的测定主要被用于痴呆患者、脑梗死患者的辅助诊断研究中, 并认为 AchE 可反映中枢神经系统中胆碱能神经元的功能状态, 在痴呆、脑梗死等病理条件下, 其活性均显著下降。由于 BuChE 较为稳定、不受 CEI 影响, 故我们通过测定脑脊液中

ChE的总量(AChE+BuChE)以间接了解AChE的变化情况。连续腰麻可行蛛网膜下腔镇痛,效果确切、完善,可排除由于疼痛造成的精神烦躁、不安,使对患者全麻苏醒期认知功能的评价更加准确。通过蛛网膜下腔导管分次抽取脑脊液简便、易行,总量不超过3ml并不会造成头痛等并发症。人体脑脊液流动较慢,4~6h循环一次。基于此我们只进行了全麻前、麻醉苏醒后两次采样,并把第2次采样放在给药后5h。本研究显示,对照组中患者全麻苏醒期脑脊液的ACh含量较全身麻醉前有明显下降,而AChE活性并无明显差异。这也证实全麻药物并不干扰脑内AChE活性,而是通过减少神经突触ACh的释放来影响中枢胆碱能神经的功能。

石杉碱甲是从蛇足石杉中分离到的一种新型石松类生物碱有效单体,是一种高选择性、可逆性的CEI,具有较高的治疗指数和较长的作用时间,已被国际上列为第2代的乙酰胆碱酯酶抑制剂之一<sup>[5]</sup>。史红等<sup>[6]</sup>通过跳台法、Y型电迷宫法等行为药理学实验和东莨菪碱记忆障碍小鼠模型,证实石杉碱甲可抑制脑内AChE活性,明显改善东莨菪碱小鼠的记忆障碍。本研究在给药后5h观察,发现石杉碱甲组患者脑脊液AChE活力降低。

ACh是脑内广泛分布的重要神经递质,主要参与记忆与认知功能。老年人的皮层胆碱能神经网络密度降低,在非病理性老化人群中都不同程度存在脑中

ACh生成和释放的减少,因此全麻苏醒期谵妄好发于老年患者。本研究中,ACh含量显著增加,显示石杉碱甲通过抑制脑内ChE活力,使ACh的分解代谢受到显著抑制,全麻苏醒期脑内ACh含量增加。尽管如此,中枢性胆碱酯酶抑制是否具有改善全麻苏醒期认知功能、预防老年患者发生谵妄的作用,则有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Rasmussen LS, Moller JT. Central nervous system dysfunction after anesthesia in the geriatric patient [J]. *Anesthesiology*, 2002, 96 (6): 1351-7.
- [2] Hanning CD, Blokland A, Johnson M, et al. Effects of repeated anaesthesia on central cholinergic function in the rat cerebral cortex [J]. *Eur J Anaesthesiol*, 2003, 20 (2): 93-7.
- [3] Matsumoto M, Togashi H, Yoshikawa M, et al. Significant correlation between cerebrospinal fluid and brain levels of norepinephrine, serotonin and acetylcholine in anesthetized rats [J]. *Life Sci*, 1991, 48 (8): 823-9.
- [4] 贾建平, 贾健民, 周卫东, 等. 阿尔茨海默病和血管性痴呆患者脑脊液中乙酰胆碱和胆碱检测及其临床意义 [J]. *中华神经科杂志*, 2002, 35 (3): 168-70.
- [5] 章海燕, 唐希灿. 石杉碱甲: 具有治疗神经退行性疾病的前景药物 [J]. *上海医药*, 2003, 24 (3): 112-20.
- [6] 史红, 叶金翠, 钱伯初, 等. 石杉碱甲透皮控释制剂督脉经穴给药改善东莨菪碱小鼠记忆障碍作用及机理初探 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2002, 7 (6): 489-92.

(上接 1659 页)

生羊水栓塞症状或血液动力学改变尚未见文献报道<sup>[1,2]</sup>。有学者在孕妇血循环中发现羊水成分,而并未引起羊水栓塞<sup>[8]</sup>。因此,人类羊水栓塞的发生可能也存在个体差异。因此,羊水进入血循环后,是否发生羊水栓塞可能与特异性体质相关。在同一实验中,用同一方法观察两种动物羊水注入是否发生羊水栓塞,目前文献报道的仅见Steiner等<sup>[9]</sup>报道了1篇。他们给兔和狗灌注羊水出现了羊水栓塞症状,结果未出现种属差异性。我们选用的是山羊和猕猴,结果出现了明显的种属差异性。因此,结合国内外有关羊水栓塞的实验观察结果,我们可以推出羊水栓塞的发生存在一定的种属和个体差异,同时也说明猕猴不适合做羊水栓塞的动物模型。

参考文献:

- [1] Stolte L, Kessel HV, Seelen J, et al. Failure to produce the syndrome of amniotic fluid embolism by infusion of amniotic fluid and meconium into monkeys [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1967, 98: 694-7.

- [2] Adamsons K, Mueller-Huebach E, Myers RE. The innocuousness of amniotic fluid infusion in the pregnant rhesus monkey [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1971, 109: 977-84.
- [3] Moore J, Baldissari MR. Amniotic fluid embolism [J]. *Crit Care Med*, 2005, 33 (10 Suppl): S279-85.
- [4] Meyer JR. Embolia pulmonar amnio caseosa [J]. *Brasil Med*, 1926, 2: 301-3.
- [5] Halmagyi DF, Stazceki B, Shearn RP. Experimental amniotic fluid embolism: mechanism and treatment [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1962, 84: 251-6.
- [6] Reis RL, Pierre WS, Behrendt DM. Hemodynamic effects of amniotic fluid embolism [J]. *Surg Gynecol Obstet*, 1969, 129: 45-8.
- [7] Hankins GDV, Snyder RR, Clark SL, et al. A cute hemodynamic and respiratory effects of amniotic fluid embolism in the pregnant goat model [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1993, 168: 1113-30.
- [8] Clark SL. New concepts of amniotic fluid embolism: a review [J]. *Obstet Gynecol Surv*, 1990, 45 (6): 360-8.
- [9] Steiner PE, Lushbaugh CC. Maternal pulmonary embolism by amniotic fluid. As a cause of obstetric shock and unexpected deaths in obstetrics [J]. *JAMA*, 1986, 255: 2187-203.

(责任编辑:陈望忠)