DOI:10.16016/j.1000-5404.1994.01.020

急性代谢性酸中毒时乙酰唑胺对脑脊液酸碱调节作用

金发光 钱桂生 黄桂君 赵自强 (第三军医大学新桥医院呼吸中心) 630037

提 要 本文通过复制犬急性血碳酸正常性代谢性酸中毒动物模型,动态观察动脉血和脑脊液(CSF)酸碱变量。结果发现:Ⅰ组(脑室注射乙酰唑胺)$[HCO_3^-]_{CSF}$下降值同动脉血相似。Ⅱ组(脑室注射等量生理盐水)$[HCO_3^-]_{CSF}$以最小值下降。在两组$[HCO_3^-]_a$下降值相似情况下,6 h水平Ⅰ组$\triangle[HCO_3^-]_{CSF}$(11.4mmol/L)>Ⅱ组$\triangle[HCO_3^-]_{CSF}$(1.6mmol/L,$P<0.01$)。说明乙酰唑胺能减少CSF HCO_3^-的形成,CSF HCO_3^-的形成与PCO_2和碳酸酐酶活性密切相关。HCO_3^-形成时产生的H^+部分由脑NH_3缓冲。

关键词 脑脊髓液;酸碱调节;脉络丛;酸中毒

中图法分类号 R589.6

在血碳酸正常性代谢性酸中毒时,脑脊液(CSF)$[HCO_3^-]$能相对的保持在正常范围内[1],其原因可能是:(1)HCO_3^-在中枢神经系统(CNS)主动合成;(2)HCO_3^-从CSF到血浆的通透性降低;(3)二者同时存在[2]。本文通过复制犬血碳酸正常性代谢性酸中毒动物模型,脑室注射碳酸酐酶(CA)抑制剂——乙酰唑胺,动态观察动脉血和CSF酸碱变量。其目的是为了说明CSF HCO_3^-形成的机理与$P_{CSF}CO_2$和CA活性密切相关,CNS HCO_3^-的主动合成是维持$[HCO_3^-]_{CSF}$的决定因素。

1 材料与方法

1.1 动物及分组

10条经检疫和适应供研究用的杂种犬(12~15 kg),雌雄不拘。随机分为2组,然后调整每组数目相等($n=5$)。Ⅰ组:血碳酸正常性代谢性酸中毒脑室注射乙酰唑胺;Ⅱ组:血碳酸正常性代谢性酸中毒脑室注射等量生理盐水。

1.2 动物模型

犬麻醉用3%戊巴比妥钠(30 mg/kg,i·v),肌肉麻痹用琥珀酰胆碱(25 mg/kg,i·v),后在实验过程中根据需要追加。气管插管,通气使用SC-2型定容呼吸机,调整$PaCO_2$为5.1±0.267 kPa。防止肺不张间歇高压通气(2.94 kPa,1次/20 min)。左股动脉分离插管供测动脉压和采集CSF标本。左前肢静脉分离插管供输液和注入药物。犬头固定在立体定向仪上,18号硬膜外针枕骨下经皮穿刺入枕骨下池供采集CSF标本和注入药物。整个实验过程中犬直肠温度维持在38±0.5℃。

在取得正常对照的动脉血和CSF标样本后,Ⅰ组注入枕骨下池乙酰唑胺生理盐水溶液约2.5 ml(50 mg/kg);Ⅱ组注入枕骨下池等量生理盐水。注射液使用前用5% CO_2气体平衡,再用0.1 nmol/L HCl调制pH为7.320后缓慢注入,注入后30 min后静脉快速输入0.2 nmol/L HCl溶液(50 ml/kg),1 h内使$[HCO_3^-]_a$下降到12±2 mmol/L。

1.3 取材和检测方法

1.3.1 动脉血和CSF酸碱变量测定:两组犬分别在正常对照时间、酸输入后1、3、6 h严格隔绝空气各取动脉血2 ml和CSF 1 ml,立即用IL-1303型全自动血气分析仪在38℃经两次校正后检测动脉血和CSF酸碱变量。

1.3.2 脑NH_3含量测定:脑的处理及脑NH_3测定用Kazemi方法[3]进行改良。简述如下:每条犬实验结束后,在脑血供应正常时迅速除去脑盖,暴露脑组织,后在延髓水平切断,迅速分离左右大脑半球、小脑、脑干,放入预先冰冷的0.15 mol/L NaCl溶液中(-10℃),冲洗脑表面残留血液,称重,在冰浴下以6000r/min匀浆40 s,匀浆液立即进行低温离心20 min(15 000×g,4℃),吸取上清液,用钠氏试剂显色法测定。单位为μg/100 g,用(μg/100 g)×0.5872=(μmol/kg)换算成国际单位。

1.4 统计学处理

组内同对照值均数比较采用配对t检验。两组间均数比较采用未配对t检验。值用$\bar{x}\pm s$表示,$P<0.05$认为相差显著。

2 结果

2.1 两组犬动脉血酸碱变量值(见表1)

表1显示两组酸碱变量在6h实验过程中比较无明显差异($P>0.05$),输酸后1h两组动脉血$[HCO_3^-]$均下降到12±2 mmol/L。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表1　两组动脉血酸碱变量值($\bar{x}\pm s$)

Tab 1　Arterial blood acid-base variables in group Ⅰ (acetazolamide) and group Ⅱ (control)($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

Time (h)	Group Ⅰ			Group Ⅱ		
	pH	PCO_2 (kPa)	HCO_3^- (mmol/L)	pH	PCO_2 (kPa)	HCO_3^- (mmol/L)
Control (−0.5)	7.444±0.011	4.9321±0.1333	24.5±0.7	7.448±0.017	4.9321±0.1333	24.1±0.3
1	7.175±0.043※	5.0654±0.2666	13.5±1.3※	7.146±0.026※	4.9321±0.1333	12.3±0.8※
3	7.133±0.078※	5.0654±0.2666	12.4±0.9※	7.114±0.022※	4.9321±0.1333	11.6±0.5※
6	7.110±0.024※	5.1987±0.1333	12.0±0.9※	7.100±0.019※	5.0654±0.1999	11.5±0.6※

※ $P<0.01$, compared with −0.5 h in same group.

2.2　两组犬 CSF 酸碱变量值(见表2)

表2显示两组 CSF pH、HCO_3^- 在酸输入后1、3、6 h 组间比较相差非常显著($P<0.01$)。

Ⅰ组 pH_{CSF} 6 h 平均下降了0.29 u，同Ⅰ组 pHa 6 h 平均下降值0.334 u 接近。Ⅱ组 pH_{CSF} 6 h 平均下降了0.08 u，同Ⅱ组 pHa 6 h 平均下降值0.348 u 相差甚远。Ⅰ组ΔpH_{CSF}＞Ⅱ组ΔpH_{CSF}($P<0.01$)。

Ⅰ组$[HCO_3]_{CSF}$ 6 h 平均下降了11.4 mmol/L，同Ⅰ组$[HCO_3]_a$ 6 h 水平下降值12.5 mmol/L 接近。Ⅱ组$[HCO_3^-]_{CSF}$ 6 h 平均下降了1.6 mmol/L，明显小于Ⅱ组$[HCO_3^-]_a$ 6 h 平均下降值12.6mmol/L。Ⅰ组$\Delta[HCO_3]_{CSF}$＞Ⅱ组$\Delta[HCO_3^-]_{CSF}$($P<0.01$)。

表2　两组 CSF 酸碱变量值($\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Cerebrospinal fluid acid-base variables in group Ⅰ (acetazolamide) and group Ⅱ (control)($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

Time (h)	Group Ⅰ			Group Ⅱ		
	pH	PCO_2 (kPa)	HCO_3^- (mmol/L)	pH	PCO_2 (kPa)	HCO_3^- (mmol/L)
Control(−0.5)	7.328±0.023	6.3984±0.2397	24.2±1.4	7.340±0.020	6.1318±0.3728	23.6±0.5
1	7.132±0.022※+	6.5317±0.0933	15.8±0.9※+	7.300±0.020	6.3984±0.3599	22.9±0.8
3	7.100±0.014※+	6.3984±0.1199	14.3±0.3※+	7.280±0.020	6.5317±0.3599	22.5±0.2
6	7.038±0.025※+	6.5317±0.1866	12.8±0.5※+	7.260±0.030	6.6650±0.5999	22.0±0.7

※ $P<0.01$, compared with −0.5 h in same group; + $P<0.01$, compared with group Ⅱ in same time.

2.3　两组犬脑 NH_3 含量(见表3)

表3显示6h水平Ⅰ组脑 NH_3 含量较Ⅱ组明显降低($P<0.01$)。Ⅰ组脑 NH_3 含量同 Hasan[4] 的报告值相似。

表3　两组脑 NH_3 含量值($\bar{x}\pm s$)

Tab 3　Brain ammonia content in group Ⅰ (acetazolamide) and group Ⅱ (control)($\bar{x}\pm s$)

Time (h)	Group Ⅰ	Group Ⅱ
	μmol/kg	μmol/kg
6	381.7±64.6+	645.9±93.9

+ $P<0.01$, compared with group Ⅱ in 6 h.

3　讨论

脑室内注射乙酰唑胺，既不影响 CO_2 在血液中的运输，也不影响肾脏 HCO_3^- 内环境的稳定，同 Javaheri 等人[5]双肾蒂结扎静脉内注射乙酰唑胺的方法相比既简单，又可靠。乙酰唑胺能减少 CSF 的分泌[6]，是否同时减少 CSF HCO_3 的合成和分泌，本研究结果说明了这个问题。在两组 $PaCO_2$ 和 $P_{CSF}CO_2$ 保持正常的情况下，Ⅰ组由于脑室注射了乙酰唑胺，$[HCO_3]_{CSF}$ 6 h 下降了11.4 mmol/L。Ⅱ组脑室注射盐水对照 $[HCO_3]_{CSF}$ 6 h 仅下降了1.6 mmol/L。两组比较相差非常显著($P<0.01$)。说明乙酰唑胺有抑制 CNS HCO_3 的形成和加重酸中毒的作用，同时说明 HCO_3 从 CSF 进入血浆是正常存在的，CNS 主动合成的 HCO_3^- 是维持$[HCO_3^-]_{CSF}$的决定因素。

通过本实验我们认为 CNS HCO_3^- 合成的机理同在肾小管上皮细胞内 HCO_3^- 合成机理相似。肾小管上皮细胞内含有丰富的 CA，在 CA 的作用下 $CO_2+H_2O \overset{CA}{\rightleftharpoons} H_2CO_3 \rightleftharpoons H^- + HCO_3^-$。这个反应是众所周知的，同样的机理用来解释我们对 CSF 的研究。在 CNS 细胞内(脉络丛上皮细胞、脑细胞、神经胶质细胞及脑毛细血管内皮细胞)同肾小管上皮细胞一样含有丰富的

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

碳酸酐酶，CNS 细胞通过 CO_2 水化作用不断产生大量 HCO_3^-，随之分泌进入 CSF，补充 CSF 外移的 HCO_3 和缓冲 CSF 酸中毒。Ⅰ组 $[HCO_3^-]_{CSF}$ 和 pH 相对维持在正常范围或以最小值下降是以说明这个机理的存在。

本实验的另一个发现是Ⅰ组脑 NH_3 含量明显下降。说明在 CSF HCO_3^- 形成过程中与脑 NH_3 含量密切相关。在呼吸性酸中毒时，Freidel 等人[7]已经证明伴随 CSF HCO_3^- 增加的同时，脑 NH_3 含量随之增加。NH_3 的来源不完全清楚，可能是从谷氨酸、谷氨酰胺和 α-酮戊二酸或其它氨基酸产生而来[8]。NH_3 的增加可以缓冲经 CO_2 水化作用产生的 H^+（$H^+ + NH_3 \longrightarrow NH_4^+$），从而加速 CNS HCO_3^- 的形成。

在临床实际中的代谢性酸中毒病人，大多由于外周化学感受器受到 H^+ 刺激，引起呼吸中枢兴奋，呼吸加深加快，$PaCO_2$ 下降，$P_{CSF}CO_2$ 随之下降，CO_2 水化作用减弱，HCO_3^- 合成减少，CSF 对酸中毒的缓冲能力减弱。另外，对于代谢性酸中毒病人如果应用乙酰唑胺就会抑制 CNS CA 活性，同样减少 CSF HCO_3 的形成，加重 CSF 酸中毒。所以提示临床医师在实际工作中应尽快纠酸，减慢呼吸频率，维持 $PaCO_2$ 在正常范围，对于纠正 CSF 代谢性酸中毒是十分重要的。同时应禁止使用 CA 抑制剂类药物。

参考文献

1 Javaheri S, Kazemi H, Naroell EA. Role of PCO_2 as determination CSF HCO_3 in metabolic acidosis. Respir Physiol, 1979,36:155

2 Bledsoe SW, Eng DY, Hornbein TF. Evidence of active regulation of cerebrospinal fluid acid-base balance. J Appl Physiol,1981,51:369

3 Kazemi H, Mithoefer JC. CO_2 dissociation curve of dog brain. Am J Physiol,1963,205:598

4 Hasan FM, Kazemi H. Dual contribution theory of regulation of CSF HCO_3^- in respiratory acidosis. J Appl Physiol, 1976,40:559

5 Javaheri S, James K, Clay D, et al. Cerebrospinal fluid ions in metabolic acidosis: effects of acetazolamide. J Appl Physiol,1986,61:633

6 Welch K. Secretion of cerebrospinal fluid by choroid plexus of the rabbit. Am J Physiol,1963,205:617

7 Freidel JF, Javaheri S. Bumetanide and cerebrospinal fluid acid-base variables during acute CO_2 elevation. Respir Physiol,1990,79:91

8 Javaheri S. Acetazolamide and cerebrospinal fluid ions in dogs with normal acid-base balance. Respir Physiol,1987, 69:257

（收稿：1993-06-17；修回：1993-12-27）

Study of the role of acetazolamide in CSF acid-base regulation in acute metabolic acidosis

Jin Faguang, Qian Guisheng, Huang Guijun, Zhao Ziqiang (Department of Respiratory Disease, Xinqiao Hospital, Third Military Medical College, Chongqing, 630037)

Abstract The variables of acid and base in the arterial blood and cerebrospinal fluid were measured in 2 groups of dogs (5 dogs in each group) with acute isocapnic metabolic acidosis. The dogs of the experimental group received an injection of acetazolamide into the cerebral ventricle and those of the control received euqal volume of saline. It was found that HCO_3 was decreased by 1.6 mmol/L in the control in the 6th hour after injection while it was decreased by 11.4 mmol/L in experimental group; the difference was significant between the 2 groups ($P<0.01$).

It is belived that the formation of HCO_3 in CSF in closely related to PCO_2 and the activity of cabonic anhydrase. Since acetazolamide is an inhibitor of carbonic anhydrase, HCO_3 is decreased after the administration of acetazolamide. The H^+ formed is likely buffered with the increase of cerebral ammonia.

Key words cerebrospinal fluid; acid-base equilitzium; choroid plexus; acidosis

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net