顾英花,刘昕,李艳,等. 适用于蛛网膜下腔阻滞相关研究的背侧入路腰交感神经解剖新模型［J］. 中国比较医学杂志, 2025, 35(3): 100-108.
Gu YH, Liu X, Li Y, et al. A novel anatomical model of the lumbar sympathetic nerve for subarachnoid-related studies via a dorsal approach［J］. Chin J Comp Med, 2025, 35(3): 100-108.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2025.03.010

适用于蛛网膜下腔阻滞相关研究的背侧入路腰交感神经解剖新模型

顾英花[1],刘　昕[1],李　艳[1],刘文勋[2],马维义[2],叶青山[2*]

(1.宁夏医科大学第三临床医学院,银川　750000;2.宁夏回族自治区人民医院麻醉科,银川　750000)

【摘要】　目的　通过背侧入路建立损伤较小且适用于蛛网膜下腔阻滞相关研究的交感神经解剖和监测新模型。**方法**　利用 SD 大鼠建立传统腹侧入路模型以及背侧入路新模型,观察两种模型成模时间。通过蛛网膜下腔注射布比卡因观察血压(blood pressure, BP)、心率(heart rate, HR)、腰交感神经变化百分比(percentage change in lumbar sympathetic nerve electrical activity, LSNA change%)、去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)、一氧化氮(nitric oxide, NO)的含量评估新模型的稳定性。**结果**　(1)建立新模型:与传统腹侧入路(VA)组的模型方法相比,背侧入路(DA)组解剖新模型成模时间更短($P<0.0001$)。(2)评估新模型:与盐水(NS)组相比,蛛网膜下腔注射布比卡因后 5 min(T_2)和 10 min(T_3)时平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)和收缩压(systolic blood pressure, SBP)降低($P<0.05$);LSNA change%变化显著($P<0.05$);注射布比卡因 10 min(T_3)时 NE 的浓度降低($P<0.05$)。**结论**　构建了适用于蛛网膜下腔相关研究的背侧入路腰交感神经解剖新模型;并成功用于蛛网膜下腔阻滞麻醉对腰交感神经活动影响的研究。

【关键词】　腰交感神经;模型;蛛网膜下腔阻滞
【中图分类号】R-33　　**【文献标识码】**A　　**【文章编号】**1671-7856 (2025) 03-0100-09

A novel anatomical model of the lumbar sympathetic nerve for subarachnoid-related studies via a dorsal approach

GU Yinghua[1], LIU Xin[1], LI Yan[1], LIU Wenxun[2], MA Weiyi[2], YE Qingshan[2*]
(1. Third Clinical School of Medicine, Ningxia Medical University, Yinchuan 750000, China.
2. Department of Anesthesiology, Ningxia Hui Autonomous Region People's Hospital, Yinchuan 750000)

【Abstract】　Objective　The study attempted to establish a less invasive model for dissecting and monitoring the sympathetic nerve in rats via a dorsal approach for subarachnoid block-related studies. **Methods**　A traditional abdominal approach model and a new dorsal approach model were established in SD rats, and the modeling time of the two models was observed. The stability of the new model was evaluated by measuring blood pressure(BP), heart rate (HR), percentage change in lumbar sympathetic nerve activity(LSNA change%), norepinephrine (NE), and nitric

[**基金项目**]宁夏回族自治区重点研发计划项目(2022BEG03114)。
[**作者简介**]顾英花(1995—),女,在读博士研究生,住院医师,研究方向:椎管内麻醉。E-mail:1305801763@qq.com
[**通信作者**]叶青山(1964—),男,博士,主任医师,研究方向:危重症医学。E-mail:yeqingshan@hotmail.com

oxide (NO) content after subarachnoid injection of bupivacaine. **Results** (1) Building a new model: the time required to create new models for the dorsal approach (DA) group was shorter than that for the traditional abdominal approach (VA) group, as shown by the result ($P<0.0001$). (2) Evaluation of the new model: compared with the NS group, the MAP and SBP were lower at T_2 (5 min after injection of bupivacaine into the subarachnoid space) and T_3 (10 min) ($P<0.05$); the LSNA change% was significantly different ($P<0.05$); the concentration of NE was lower at T_3 ($P<0.05$). **Conclusions** The study presents a novel lumbar sympathetic anatomy model using the dorsal approach for subarachnoid-related investigations, which was effectively employed to examine the impact of subarachnoid block anesthesia on lumbar sympathetic nerve activity.

【Keywords】 lumbar sympathetic nerve; model; subarachnoid block

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

蛛网膜下腔阻滞技术简单,镇痛效果好且具有较低的并发症发生概率,被广泛应用于肛门会阴部以及下肢手术患者的临床麻醉。目前蛛网膜下腔阻滞技术不仅仅用于临床麻醉,还用于术后镇痛,癌性和非癌性的急慢性疼痛治疗等[1]。但很快人们也认识到常用于蛛网膜下腔的局部麻醉药存在神经毒性、寒战、低血压等不良反应和作用时间短的限制。后来,研究者对蛛网膜下腔局部麻醉药,尤其是应用广泛的阿片类药物添加佐剂,可缩短起效时间,延长镇痛时间,减少局部麻醉药物剂量从而减少其所带来的潜在毒性和不良反应[2]。众所周知,蛛网膜下腔局部麻醉药物一个重要的副作用为阻断交感神经从而引起血压(blood pressure, BP)的降低[3]。有研究也表明蛛网膜下腔给予阿片类药物芬太尼可能发挥局部麻醉效应从而影响交感神经介导心血管反应[4]。而任何原因导致的低 BP 甚至是短暂的低 BP 都会增加患者术后心肌损伤和 30 d 死亡率[5]。局部麻醉药物与阿片类药物联合应用时是否会增强交感神经阻滞导致 BP 进一步降低,目前大量研究只是通过观察 BP 和心率(heart rate, HR)等交感神经间接指标在临床上进行了研究[6],未在动物水平直接监测交感神经电活动变化,直接观察两药联合对交感神经电活动的影响。因此,当局部麻醉药物联合阿片类药物等佐剂进行蛛网膜下腔阻滞麻醉时,研究这些佐剂对交感神经电活动的直接影响将为药物配伍的使用提供理论支持。

目前,腹部正中线入路是解剖腰交感神经和监测电活动的传统方法。按照以往研究,先俯卧位下行干预措施即进行蛛网膜下腔阻滞后,再仰卧位建立腹部入路交感神经解剖和电活动监测[7],但实验主要目的是观察药物蛛网膜下腔给药即刻后的神经电活动变化,先进行蛛网膜下腔阻滞后,再建立腰交感神经监测模型,会缺失给药后到建立腰交感监测模型这一段时间的数据。而如果先建立腹部腰交感神经监测模型,后俯卧位进行蛛网膜下腔阻滞时,电极会由于重力,牵拉腰交感神经,导致 BP 极度下降[7],在未开始研究前就失败。因此,迫切需要探索一种适用于蛛网膜下腔阻滞相关研究的解剖腰交感神经和监测电活动的新模型。建立标准化蛛网膜下腔阻滞相关研究的交感神经解剖和监测模型可以快速推进蛛网膜下腔局麻药物和阿片类药物等相关佐剂对机体病理生理机制的研究。对于推动蛛网膜下腔阻滞技术的发展具有重要意义。

本研究旨在利用大鼠通过背侧入路(dorsal approaches, DA)建立快速和损伤较小且可重复的蛛网膜下腔阻滞相关的交感神经解剖和监测模型。通过观察成模时间,组织结构的破坏性,及布比卡因对新模型的影响,来评估蛛网膜下腔阻滞相关研究的交感神经新模型的有效性。

1　材料和方法

1.1　实验动物

8 周龄,SPF 级 SD 雄性大鼠 34 只,体质量 260~320 g。动物购自浙江维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(浙)2022-0001],饲养于宁夏医科大学动物实验中心[SYXK(宁)2020-0001]。本实验已通过宁夏医科大学动物实验中心伦理审查(IACUC-NYLAC-2023-039)。SD 大鼠在温度 21~25 ℃、湿度 50%的环境中饲养,12/12 h 昼夜循环,自由饮水和摄食。严格遵循实验动物使用的 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

盐酸布比卡因注射液(H34020931)购自安徽长江药业有限公司;去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(E-EL-0047c)和一氧化氮(nitric oxide, NO)比色法测试盒(E-BC-K135-M)均购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司;α-氰基丙烯酸乙酯(7085-85-0)购自上海康达化工新材料股份有限公司。

生物信号采集处理系统(MD 3000-D)购自安徽正华生物仪器设备有限公司;一次性无菌针灸针(222068)购自苏州医疗用品厂有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 剂量换算

蛛网膜下腔药物剂量根据人与动物间体表面积比值法计算(表 1),盐酸布比卡因注射液(37.5 mg/5 mL)人体常用剂量为 15 mg,换算为大鼠剂量为 15 mg×0.018 = 0.27 mg,0.27÷7.5 = 36 μL,给予剂量 40 μL (0.75%)。

将 SD 大鼠根据数字表法在动物模型构建时随机分为腹侧入路(ventral approaches,VA)组和背侧入路(dorsal approaches,DA)组;在模型评估时分为盐水(NS)组和布比卡因(B)组。

1.3.2 动物模型构建

大鼠腹腔注射 1%戊巴比妥钠 30 mg/kg 麻醉。根据相关文献[8],建立传统腹部正中路线解剖腰交感神经并监测 LSNA。大鼠仰卧位,剔除腹部毛发,碘伏杀菌,沿正中路线做一中线腹部切口,在用棉签回缩肠道后,肾动脉处为 L2 神经节标志,在肾动脉与髂腰动脉之间为 L3~L4 水平腰交感神经,将腹主动脉和腔静脉轻轻拉开,露出左腰神经。左交感神经干位于主动脉下方的腰大肌上。

建立 DA 解剖腰交感神经新模型并监测 LSNA。大鼠俯卧位,剔除腰部毛发,触及两侧髂结节与脊柱的交点位置为大鼠 L5~L6 棘突间隙,向上触摸 L3~L4 间隙,在 L3~L4 间隙之间为起始点画约 45°的斜线。背部碘伏杀菌,沿着斜线切开皮肤,皮下组织,可见腹外斜肌和臀浅肌。沿着两肌肉缝隙向头侧方向切约 2 cm 的斜切口,分离肌肉、筋膜,进入腹腔,可见腹膜后脂肪组织,撑开器撑开肌肉,并沿着脂肪组织找到腹膜与腰背肌潜在间隙,用棉签轻轻分离结缔组织,交感神经干位于腰大肌上。

用玻璃分针将左侧约 3 mm 的交感神经与结缔组织仔细分离。将一块防水防湿实验室封口膜置于分离出的离体神经下,两自制电极放置在交感神经干和封口膜之间,且垂直于神经,封口膜折叠将电极包裹,第三电极尖端放置切口皮肤,作为接地电极,用 α-氰基丙烯酸乙酯将电极固定于皮肤。大鼠俯卧位固定于鼠板,电极另一端连接生物信号采集处理系统。确定其为交感神经的一个特征是出现与脉搏或 BP 同步的神经爆发。注意事项:应尽量避免神经拉伸,从而影响血液流动;应避免电极导线的“下面”与周围组织的接触;应吸去电极和神经周围的所有液体。记录两种方法成模时间,成模时间定义为从解剖交感神经到电极放置完成的过程。

1.3.3 模型评估

监测心电图、BP 和腰交感神经电活动(lumbar sympathetic nerve electrical activity,LSNA)。采集完基础 LSNA 后进行蛛网膜下腔注射。监测蛛网膜下腔注射 0(T_1)、5(T_2)、10(T_3)、20(T_4)、30(T_5)和 60(T_6)min 时 BP、收缩压(systolic blood pressure, SBP)、舒张压(diastolic blood pressur, DBP)、平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)

表 1 人与动物蛛网膜下腔药物剂量换算

Table 1 Subarachnoid drug dose conversion between humans and animals

药物 Agents	人体剂量/mg Human dose	体表面积比值 Body surface area ratio	大鼠剂量/μL Rat dose	注射剂量/μL Injection dose
布比卡因 Bupivacaine	15	0.018	36	40
生理盐水 NS	–	–	–	40

和 HR 以及 T_1、T_2、T_3 和 T_4 时原始腰交感神经电活动(raw lumbar sympathetic nerve electrical activity,Raw LSNA)和积分腰交感神经电活动(integrated lumbar sympathetic nerve electrical activity,Integrated LSNA)。采集蛛网膜下腔注射后 10(T_3)和 20(T_4)min 时的股动脉处的血样标本各 1 mL,并置于冰上保存;然后以 5000 r/min,4 ℃离心 10 min,保留上清液,置于-80 ℃低温冰箱中保存,用于检测 NE 和 NO。在整个过程结束时,使用过量戊巴比妥钠(>200 mg/kg)处死大鼠。

1.3.4　监测 LSNA

经生物信号采集处理系统放大,滤波 100~1000 Hz,带宽 10。用 MedLab 数据分析处理系统记录 Raw LSNA(μV,间隔 1 s)和 Integrated LSNA(积分周期 8 ms)。LSNA 积分噪音(Integrated noise)水平设置为 Integrated LSNA 1 s 段中的最低值。LSNA 积分值减去噪音值即为实际 LSNA 积分值(实际 Integrated LSNA)。以实验过程中实际 Integrated LSNA 变化的百分率(LSNA change%)评价 LSNA。

公式:实际 Integrated LSNA = Integrated LSNA - Integrated noise; LSNA change% = 给药后 Integrated LSNA-给药前 Integrated LSNA/给药前 Integrated LSNA

1.3.5　监测心电图和 BP

大鼠股动脉血管穿刺置管并监测大鼠动脉 BP。将大鼠置于保温垫子,37 ℃保温。剔除腹股沟区毛发,并使用碘伏杀菌。用眼科剪沿股动脉纵向剪开大鼠右侧股动脉处的皮肤,剪开此处皮肤就可清楚地见到股动脉、股静脉和神经。正确分离股动脉,并充分暴露后,再用蚊式钳配合弯小镊子钝性分离动脉,分离出 2 cm 左右长的股动脉,结扎所分离股动脉的远心端。静脉套管针(黄色)穿刺,成功后接生物 BP 传感器并连接于生物信号采集处理系统。使用常规标准Ⅱ导联记录心电图,用针示电极插入大鼠右上肢和双下肢,连接生物信号采集处理系统监测 HR。记录蛛网膜下腔注射药物后不同时间点 SBP、DBP、MAP 和 HR。

1.3.6　蛛网膜下腔注射步骤

剔除背部毛发,触及两侧髂结节与脊柱的交点位置为大鼠 L5~L6 棘突间隙。腹部垫 10 mL 注射器,使穿刺点高于背部,左手拇指和中指置于大鼠 L5~L6 棘突间隙两侧,并向外绷紧皮肤,以食指定位,右手持微量注射器从间隙垂直缓慢进针,出现甩尾动作时助手按压大鼠一侧颈静脉部位,注射器回抽有脑脊液后注药 10 μL,注药时又出现甩尾动作,即可判断蛛网膜下腔穿刺成功[9],剩余药物注射完毕。

1.3.7　ELISA 检测 NE

采用 ELISA 试剂盒检测 NE 的表达。分别设定标准孔、空白孔和样本孔。标准孔加入 50 μL 倍比稀释的标准品,空白孔加入 50 μL 标准品/样本稀释液,其余孔加入 50 μL 待测样本。每孔立即加入配好的生物素化抗体工作液 50 μL。给酶标板覆膜,37 ℃孵育 45 min。在洁净的吸水纸上拍干孔内液体。每孔加洗涤液 350 μL,浸泡 1 min,吸去或甩掉酶标板内的液体,拍干。重复洗板步骤 3 次。每孔加酶结合物工作液 100 μL,酶标板加上覆膜,37 ℃温育 30 min。甩尽孔内液体,洗板 5 次。每孔加底物溶液 TMB 90 μL,酶标板加上覆膜,37 ℃避光孵育 15 min 左右。每孔加终止液 50 μL,终止反应。最用酶标仪在 450 nm 波长测量各孔的光密度(OD 值)。

1.3.8　硝酸还原酶法测定 NO

采用 NO 比色法测试测定 NO 的表达。孵育反应:先取 100 μL 不同浓度标准品加入至相应 1.5 mL EP 标准管中。再取 100 μL 血清加入至相应 1.5 mL Ep 测定管中。向各管中加入 60 μL 的酶工作液,混匀,37 ℃避光孵育 60 min。孵育完成后,向上述各管中加入 20 μL 的试剂 3,后向各管中加入 10 μL 的试剂 4,混匀,静置 5 min,5000 r/min,离心 10 min,取上清待显色。显色反应:向酶标板各标准孔和各测定孔中加入 50 μL 显色工作液,取 120 μL 孵育反应后标准管上清加入标准孔中,取 120 μL 孵育反应后测定管上清加入测定孔,振板 5 s,室温静置 5 min,酶标仪于 530 nm 处测定各孔 OD 值。根据公式计算 NO 浓度。

1.4　统计学方法

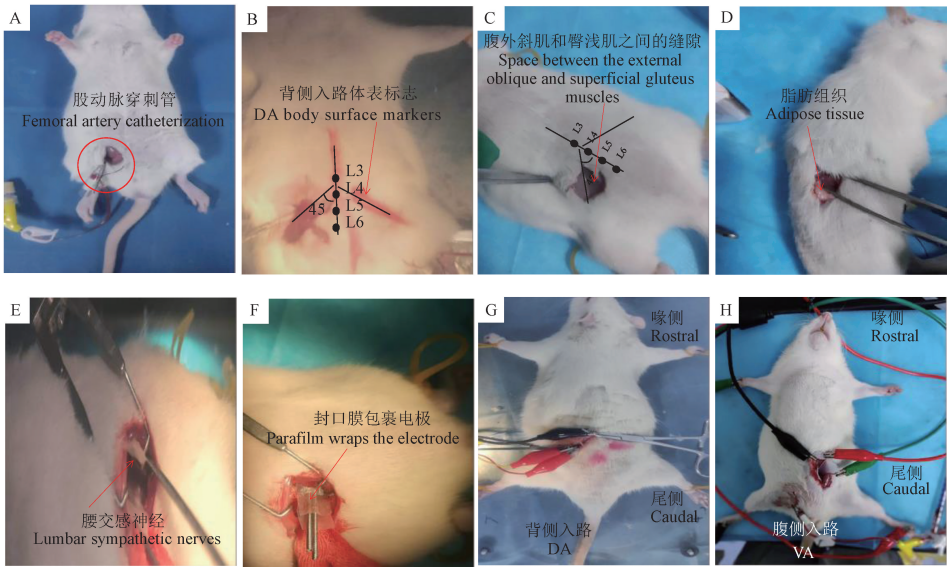
采用 SPSS 软件 version 25.0 和 GraphPad Prism version 9.4.1 进行统计分析。对于正态分布的连续变量采用 t 检验,对于不符合变量采用

非参数 Mann-WhitneyU 检验。两组及不同时间点各指标比较采用重复测量方差分析,当差异有统计学意义时,使用 Tukey 事后分析评估特定的差异。符合正态分布的连续变量以平均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,不符合的以中位数(四分位数)[M(IQR)]表示。所有的统计检验均采用双侧检验,$P<0.05$ 被认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DA 腰交感神经解剖模型的构建

成功构建了 DA 腰交感神经解剖新模型。同时进行传统 VA 腰交感神经的解剖(图 1)。放置自制电极监测 DA 腰交感神经解剖新模型的 LSNA(图 2)。

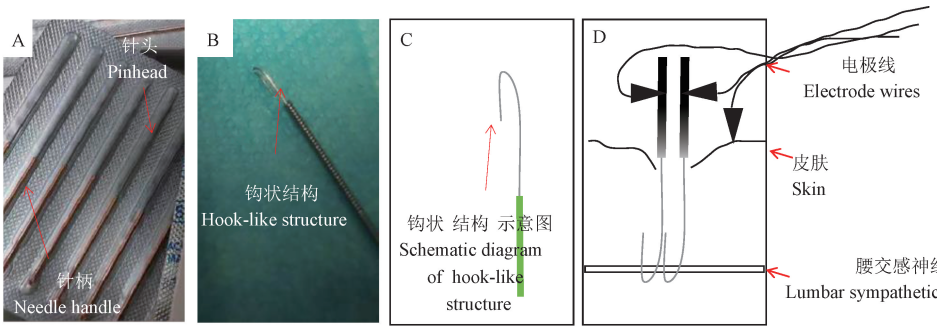


注:A:股动脉穿刺管,监测有创 BP;B:DA 体表标志,红色为大鼠体表线,黑色为指示线;C:腹外斜肌和臀浅肌之间的缝隙;D:腹膜后脂肪组织;E:封口膜上白色线条为腰交感神经;F:放置电极,监测 LSNA;G:背侧入路组腰交感神经监测模型;H:腹侧入路组腰交感神经监测模型。

图 1 背侧入路组和腹侧入路组腰交感神经监测模型

Note. A, Femoral artery catheterization to monitor invasive BP. B, DA body surface markers, red for the rat body surface line and black for the indicator line. C, Gap between the external oblique muscles of the abdomen and the superficial gluteus. D, Retroperitoneal adipose tissue. E. White line on the sealing film is the lumbar sympathetic nerve. F, Place electrodes to monitor LSNA. G, Lumbar sympathetic nerve monitoring model for DA group. H, Lumbar sympathetic nerve monitoring model for VA group.

Figure 1 DA and VA lumbar sympathetic nerve monitoring model



注:A:一次性针灸针实物图;B:将一次性针灸针弯曲成电极钩针实物图;C:电极针示意图;D:放置电极监测 LSNA 示意图。

图 2 自制电极

Note. A, Physical picture of disposable acupuncture needle. B, Disposable acupuncture needle was bent into a physical diagram of the hook-like structure of the electrode. C, Schematic diagram of the hook-like structure of the electrode. D, Schematic diagram of placing electrodes to monitor the electrical activity of the lumbar sympathetic nerve.

Figure 2 Homemade electrode

2.2　各模型成模时间

与传统腹部正中线入路解剖腰交感神经的腹侧入路组解剖模型成模时间(25.13±2.642) min 相比,建立的背侧入路组腰交感神经解剖模型成模时间更短,为(15.63±1.847) min (P<0.0001)(图 3)。

2.3　解剖模型的评估

2.3.1　模型的评估

DA 腰交感神经解剖模型的探索主要用于解决关于蛛网膜下腔药物与交感神经相关研究的交感神经监测问题。蛛网膜下腔麻醉最常用的局麻药物为布比卡因,其公认的降压作用与阻断交感神经相关,本研究采用蛛网膜下腔注射布比卡因和盐水,观察 DA LSNA 的变化,记录不同时间点时 SBP、DBP、MAP、HR、LSNA change%、NE 和 NO,以评价新模型的稳定性。

2.3.2　血流动力学检测结果

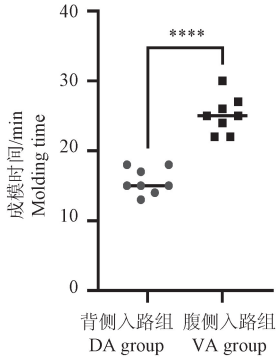
蛛网膜下腔注射布比卡因后 BP 降低,HR 无明显变化(图 4)。两组血流动力学基线值无差异,T_6 时趋于相似。虽然蛛网膜下腔注射盐水与蛛网膜下腔注射布比卡因相比各时间点血流动力学无统计学意义,但与蛛网膜下腔注射盐水相比,蛛网膜下腔注射布比卡因血流动力学波动较大。与基线值比较(T_1),蛛网膜下腔注射布比卡因后 T_2 和 T_3 时 MAP 和 SBP 降低(P<0.05),其他时间点的 MAP 和 SBP 以及任何时间点的 DBP 和 HR 无差异性(P>0.05)。

2.3.3　LSNA 检测结果

蛛网膜下腔注射布比卡因后,LSNA 被抑制。与盐水组相比,在蛛网膜下腔注射布比卡因后 T_2 和 T_3 时 LSNA change% 显著(图 5,P<0.05),在 T_4 时 LSNA change%无明显变化(图 5,P>0.05)。

2.3.4　NE 和 NO 的检测结果

蛛网膜下腔注射布比卡因后,NE 浓度降低(图 6),但不影响 NO 表达。与盐水组相比,蛛网膜下腔注射布比卡因后 T_3 时 NE 的浓度降低(P<0.05),T_4 时 NE 和 NO 浓度无变化。

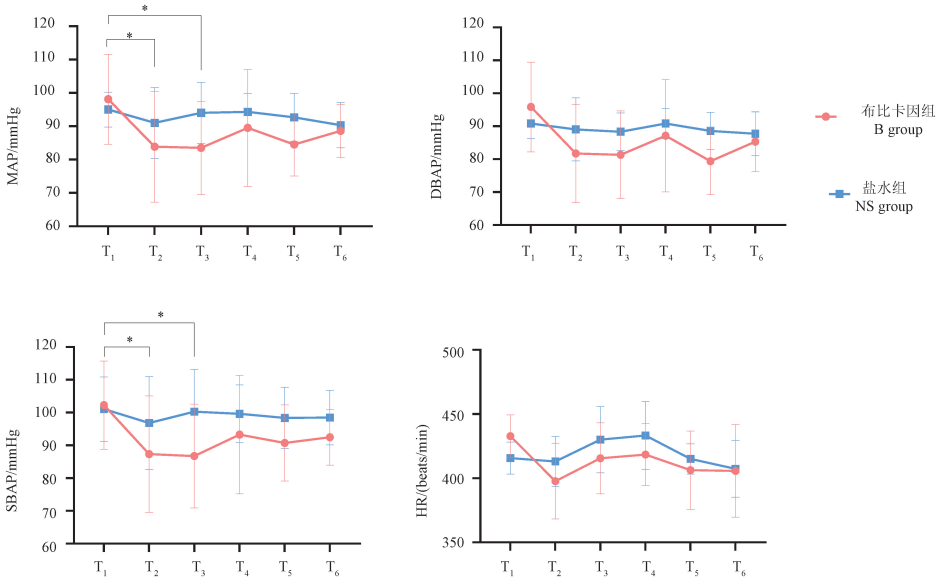


注:与背侧入路组相比, **** P<0.0001。

图 3　腹侧入路组和背侧入路组成模时间($\bar{x}\pm s$, n=8)

Note. Compared with DA group, **** P<0.0001.

Figure 3　Molding time for both ventral and dorsal approaches group($\bar{x}\pm s$, n=8)

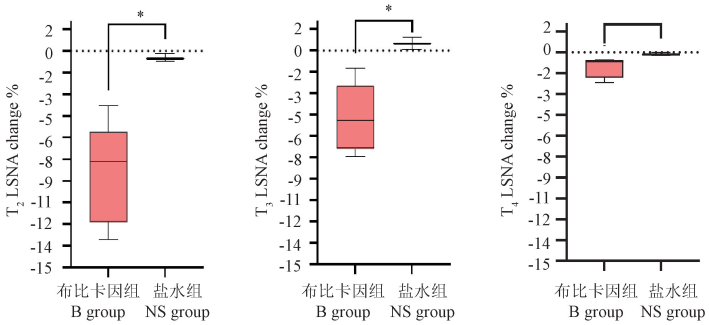


注:在布比卡因组中,与 T_1 相比, * P<0.05。

图 4　蛛网膜下腔注射药物后血流动力学变化($\bar{x}\pm s$, n=8)

Note. In B group, Compared with T_1, * P<0.05.

Figure 4　Hemodynamic changes after subarachnoid drug injection($\bar{x}\pm s$, n=8)

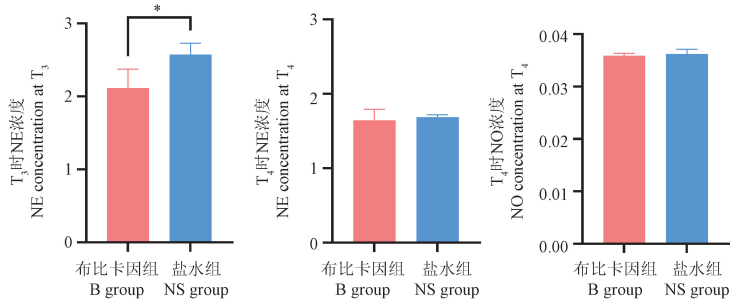


注:与盐水组相比,* $P<0.05$。

图 5 蛛网膜下腔注射药物后 LSNA change%(M(IQR),$n=3$)

Note. Compared with NS group, * $P<0.05$.

Figure 5 LSNA change% after subarachnoid injection(M(IQR),$n=3$)



注:与盐水组相比,* $P<0.05$。

图 6 蛛网膜下腔注射药物后 NE 和 NO 的浓度($\bar{x}\pm s$,$n=3$)

Note. Compared with NS group, * $P<0.05$.

Figure 6 Concentrations of NE and NO after subarachnoid injection($\bar{x}\pm s$,$n=3$)

3 讨论

本研究通过建立 DA 解剖腰交感神经的新模型并进行 LSNA 监测,发现新模型与传统模型相比,成模时间短,损伤小。大鼠鞘内给予布比卡因后评估新模型监测腰交感神经的稳定性,发现蛛网膜下腔给予布比卡因后腰交感活动抑制,血中 NE 浓度降低,同时出现 BP 降低,提示成功建立了 DA 解剖腰交感神经的新模型并用于蛛网膜下腔注射对 LSNA 的相关研究。

大鼠两侧腰交感神经干嵌于腹膜后间隙的结缔组织中,位于脊柱前方,主动脉和腔静脉后方,其中 L2 交感神经节靠近肾动脉,作为识别 L2 交感神经节的标志[10]。实验中选择暴露 L3~L4 水平的腰交感神经监测电活动,原因是此位置远离肾可减少对肾的影响。另外,还发现肾动脉和髂腰动脉之间可作为解剖 L3~L4 水平腰交感神经的标志。腰交感神经纤细,些许的张力可造成其断裂,本研究结果也证实了这一点。在实验过程中,还发现传统的腹部入路腰交感神经由于肠道长时间回缩,电极柄对肠道产生的压力,极易造成肠道缺血水肿,而且电极与腹主动脉存在空间上的垂直,同时在解剖过程中为寻找腰交感神经会分离后腹膜,当仰卧位变换为俯卧位进行蛛网膜下腔注射时,由于操作会使电极存在轻微移动问题,加上缺少了后腹膜的保护作用,极易对临近的腹主动脉造成损害。另外,在腹部入路解剖腰交感神经过程中,交感神经位于腹主动脉下方,在寻找交感神经时,难免会过度牵拉腹主动脉,造成血流动力学波动。相比于传统的腹部入路解剖腰交感神经和电活动监测,本实验新建立的 DA 腰交感神经解剖方法,由于解剖层次相对简单,成模时间较短,且不存在体位变化的问题,即交感神经监测模型完成后,直接进行蛛网膜下腔阻滞,完成后即刻可监测腰交感神经的变化,避免由于先建立蛛网膜下阻滞后再建立腰交感监测模型带来的数据收集不完整的问题。更重要的是 DA 时交感神经电极与腹主动脉在空间上平行且有后腹膜阻隔,不易破坏腹主动脉[11]。许多实验研究某药物或心血管中枢对 BP 的作用机

理时同时监测腰交感神经和肾交感神经,目前关于肾交感神经的解剖主要聚焦在背侧腹膜后入路,而腰交感神经的解剖模型集中在腹部正中入路[12-14]。YOSHIMOTO 等[13]通过腹部入路解剖腰交感神经和背侧腹膜后入路解剖肾交感神经,研究延髓头端腹外侧区显微注射药物被激活后腰交感神经和肾交感神经电活动的变化。还有研究者利用脊髓显微注射技术刺激 A5 区观察 BP 升高与腰交感神经和肾交感神经活动的关系[14]。但这些实验存在的一个很明显的问题是,在延髓头端腹外侧区显微注射和脊髓显微注射时都需要俯卧位下特殊体位进行,而腹部入路解剖腰交感神经需要仰卧位进行,背侧腹膜后入路又需要俯卧位进行,但这些实验没有提及翻转体位以及电极线重力对交感神经监测的干扰。当然,还可以在体内植入具有电遥测仪控制的双极电极,利用无线电遥技术进行长期或清醒电活动记录[15],而不受电极线的困扰,但这对于人员技术和相关设备要求较高,不具有普适性。本研究建立的 DA 解剖腰交感神经和监测电活动的模型同样适用于同时观察肾交感和腰交感电活动的模型,因为肾交感解剖为 DA,我们所建立的腰交感神经解剖模型也为 DA,这样可以防止频繁变换体位带来的损伤。当然,每个实验都有自己的研究指标重点,比如有些实验不研究给予干预措施后即刻的腰交感神经变化,重点在于观察 BP 升高与腰交感神经相关性高还是肾交感神经相关性高[12],这种情况下,无论是建立传统的腹部入路腰交感神经监测模型,还是应用我们所建立的新的 DA 腰交感神经监测模型都没有影响。

目前评估交感神经系统功能的方法包括测量血浆、尿液和组织中儿茶酚胺的含量;阻断神经节传递或外周肾上腺素能受体;神经横断或器官去神经支配;光谱分析;交感神经电活动(sympathetic nerve activity,SNA)的直接记录以及血流动力学的变化等[16]。本研究测量血浆中去甲肾上腺素含量、血流动力学变化和交感神经的电活动来评估蛛网膜下腔布比卡因对 DA 解剖腰交感神经新模型的稳定性,发现蛛网膜下腔注射布比卡因后平均动脉压和收缩压在 5~10 min 内下降,这与以往的论文报道一致[17]。由于蛛网膜下腔布比卡因的起效时间大约为 5~8 min,BP 的下降时间也与布比卡因的起效时间相似。很多研究也报道蛛网膜下腔布比卡因对 HR 无明显影响[18],本实验中蛛网膜下腔注射布比卡因和盐水后,两组 HR 也无差异,但两组 HR 均有下降趋势,这可能归因于腹腔戊巴比妥钠麻醉的作用。交感神经的活动评价通常用 SNA 变化百分比(SNA change%)描述,SNA change%代表不同时间点药物引起的交感神经电活动的抑制或激活作用[7]。本研究结果表明,蛛网膜下腔给予布比卡因后,在 5~10 min 时 LSNA change%为负值,表示交感神经电活动被抑制,这与 BP 下降的结果一致,也符合蛛网膜下腔布比卡因阻滞交感神经的经典机制。另外一个常用的评估交感神经的儿茶酚胺指标为 NE。中枢兴奋传递到外周交感神经节或肾上腺髓质中的交感节后神经元后,交感神经末梢和肾上腺髓质释放 NE 介导血管舒缩张力,进而调节自主神经功能[19]。在本实验中也发现,与盐水组相比,蛛网膜下腔给予布比卡因后 10 min,NE 下降,20 min 时 NE 无明显变化,这也与 BP 和 LSNA change %的变化相同。值得一提的是,机体受到应激刺激时会启动调节神经内分泌调节系统,即应激系统,其通过下丘脑-垂体-肾上腺(the hypothalamic-pituitary-adrenal axis,HPA)轴和蓝斑(locus coeruleus, LC)-自主神经系统(autonomic nervous system,ANS)之间的相互作用被激活,激活之后同样也会引起交感神经末梢和肾上腺髓质释放 NE[20]。蛛网膜下腔布比卡因减少 NE 的释放,也可能是与对照组腹腔麻醉相比,布比卡因组大鼠机体处于腹腔麻醉和蛛网膜下腔麻醉的深度镇静状态,面对相关操作的应激较少有关。NO 是重要的血管舒张因子[21],有研究观察到布比卡因通过增加 NO 的释放扩张离体的主动脉血管[22]。但本研究表明蛛网膜下腔布比卡因似乎不影响血中 NO 的含量。

本实验也存在局限性,第一,由于血样本量较少,本实验没有评估 10 min 时 NO 的含量。当然我们检测了 20 min 时 NO 的含量,能说明布比卡因蛛网膜下腔给药后 20 min 可能影响 NE 而似乎对 NO 无影响。第二,一般关于交感神经电活动的研究都使用异氟烷麻醉,异氟烷对交感神经影响较小[7]。由于本实验室条件限制,使用戊巴比妥钠腹腔麻醉大鼠,结果可能混杂戊巴比妥钠对交感神经电活动的影响因素。第三,性别对于腰交感电活动的影响也有差别[23],未来应研究本新模型在雌性和雄性大鼠中的使用有无差别。

综上所述,本实验构建了适用于蛛网膜下腔注射相关研究的 DA 腰交感神经解剖新模型,发

现布比卡因蛛网膜下腔注射时该模型大鼠不仅出现 BP 和 NE 的降低,还表现出交感神经电活动的抑制,提示成功诱导了 DA 腰交感神经解剖新模型。这将为研究蛛网膜下腔注射相关药物的作用机制提供一种新的腰交感神经解剖模型。

参考文献:

[1] BALAVENKATASUBRAMANIAN, SENTHILKUMAR, KUMAR V. Current indications for spinal anesthesia-a narrative review [J]. Best Pract Res Clin Anaesthesiol, 2023, 37(2): 89-99.

[2] SCHWARTZ R H, HERNANDEZ S, NOOR N, et al. A comprehensive review of the use of alpha 2 agonists in spinal anesthetics [J]. Pain Physician, 2022, 25(2): E193-E201.

[3] PAN H L, SONG H K, EISENACH J C. Effects of intrathecal neostigmine, bupivacaine, and their combination on sympathetic nerve activity in rats [J]. Anesthesiology, 1998, 88(2): 481-486.

[4] BARBOSA T C, VIANNA L C, FERNANDES I A, et al. Intrathecal fentanyl abolishes the exaggerated blood pressure response to cycling in hypertensive men [J]. J Physiol, 2016, 594(3): 715-725.

[5] SESSLER D I, BLOOMSTONE J A, ARONSON S, et al. Perioperative Quality Initiative consensus statement on intraoperative blood pressure, risk and outcomes for elective surgery [J]. Br J Anaesth, 2019, 122(5): 563-574.

[6] MASSOTH C, TÖPEL L, WENK M. Hypotension after spinal anesthesia for cesarean section: how to approach the iatrogenic sympathectomy [J]. Curr Opin Anaesthesiol, 2020, 33(3): 291-298.

[7] STOCKER S D, MUNTZEL M S. Recording sympathetic nerve activity chronically in rats: surgery techniques, assessment of nerve activity, and quantification [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2013, 305(10): H1407-1416.

[8] HOTTA H, IIMURA K, WATANABE N, et al. Sympathetic modulation of hindlimb muscle contractility is altered in aged rats [J]. Sci Rep, 2023, 13(1): 7504.

[9] 陈烨, 陈彦青, 李德龙. 大鼠鞘内注射方法的改进与验证 [J]. 福建医科大学学报, 2009, 43(2): 155.
CHEN Y, CHEN Y Q, LI D L. Improvement and verification of the method of intrathecal injection for rats [J]. J Fujian Med Univ, 2009, 43(2): 155.

[10] MIAO F J, KINNMAN E, JÄNIG W, et al. Variation in the anatomy of the lumbar sympathetic chain in the rat [J]. J Auton Nerv Syst, 1995, 56(1/2): 115-118.

[11] BEVERIDGE T S, FOURNIER D E, GROH A M R, et al. The anatomy of the infrarenal lumbar splanchnic nerves in human cadavers: implications for retroperitoneal nerve-sparing surgery [J]. J Anat, 2018, 232(1): 124-133.

[12] MUELLER P J, MISCHEL N A, SCISLO T J. Differential activation of adrenal, renal, and lumbar sympathetic nerves following stimulation of the rostral ventrolateral medulla of the rat [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2011, 300(5): R1230-1240.

[13] YOSHIMOTO M, ONISHI Y, MINEYAMA N, et al. Renal and lumbar sympathetic nerve activity during development of hypertension in dahl salt-sensitive rats [J]. Hypertension, 2019, 74(4): 888-895.

[14] SOUZA G M P R, STORNETTA D S, VITALI A J, et al. Chemogenetic activation of noradrenergic A5 neurons increases blood pressure and visceral sympathetic activity in adult rats [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2022, 323(4): R512-R531.

[15] BURKE S L, LAMBERT E, HEAD G A. New approaches to quantifying sympathetic nerve activity [J]. Curr Hypertens Rep, 2011, 13(3): 249-257.

[16] 王春乐, 陈炜, 唐晓鸿. 交感神经功能的评价方法 [J]. 中华高血压杂志, 2014, 22(9): 888-891.
WANG C L, CHEN W, TANG X H. Evaluation method of sympathetic nerve function [J]. Chin J Hypertens, 2014, 22(9): 888-891.

[17] WANG H, GAO Q, XU R, et al. The efficacy of ropivacaine and bupivacaine in the Caesarean section and the effect on the vital signs and the hemodynamics of the lying-in women [J]. Saudi J Biol Sci, 2019, 26(8): 1991-1994.

[18] VIVES R, FERNANDEZ-GALINSKI D, GORDO F, et al. Effects of bupivacaine or levobupivacaine on cerebral oxygenation during spinal anesthesia in elderly patients undergoing orthopedic surgery for hip fracture: a randomized controlled trial [J]. BMC Anesthesiol, 2019, 19(1): 17.

[19] SPRINGER M G, KULLMANN P H, HORN J P. Virtual leak channels modulate firing dynamics and synaptic integration in rat sympathetic neurons: implications for ganglionic transmission *in vivo* [J]. J Physiol, 2015, 593(4): 803-823.

[20] KAZAKOU P, NICOLAIDES N C, CHROUSOS G P. Basic concepts and hormonal regulators of the stress system [J]. Horm Res Paediatr, 2023, 96(1): 8-16.

[21] YANG Z L, ZHAO Q, HE Q. Editorial: Nitric oxide in plants [J]. Nitric Oxide, 2017, 68: 1-4.

[22] CHOI Y S, JEONG Y S, OK S H, et al. The direct effect of levobupivacaine in isolated rat aorta involves lipoxygenase pathway activation and endothelial nitric oxide release [J]. Anesth Analg, 2010, 110(2): 341-349.

[23] DELALIO L J, STOCKER S D. Impact of anesthesia and sex on sympathetic efferent and hemodynamic responses to renal chemo- and mechanosensitive stimuli [J]. J Neurophysiol, 2021, 126(2): 668-679.

〔收稿日期〕2024-06-09