

· 基础研究 ·

亚低温治疗急性脑梗死不同复温速率的比较

王杨 李承晏

【摘要】目的 比较亚低温治疗急性脑梗死时,不同复温速率对局灶性脑缺血大鼠颅内压、脑梗死体积及脑组织含水量的影响。**方法** 采用改良线栓法制备大鼠大脑中动脉闭塞(MCAO)模型,手术后即时诱导亚低温(33.5℃),持续24h后开始复温。将32只SD大鼠随机分为1℃/h复温组、0.5℃/h复温组、0.2℃/h复温组和0.1℃/h复温组。复温过程中监测颅内压,复温结束后比较各组脑梗死体积和脑组织含水量。**结果** 刚开始复温(33.5℃)时,4组大鼠颅内压间差异无统计学意义($P>0.05$)。肛温上升到34.5℃时,1℃/h复温组颅内压高于其它3组,差异有统计学意义($P<0.05$)。肛温升至35.5℃时,0.5℃/h复温组也显著高于0.2℃/h复温组和0.1℃/h复温组,差异有统计学意义($P<0.05$)。复温结束(36.5℃)后,4组颅内压都显著升高,与复温前相比差异有统计学意义($P<0.05$)。1℃/h复温组和0.5℃/h复温组大鼠脑梗死体积及脑组织含水量都明显高于0.2℃/h复温组和0.1℃/h复温组,差异有统计学意义($P<0.05$)。0.2℃/h复温组和0.1℃/h复温组间差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 复温过快可引起颅内压上升过快,以致脑梗死体积和脑组织含水量增加。复温过程中应控制复温速率,以0.2℃/h的速率复温最佳。

【关键词】 脑缺血; 亚低温; 复温; 大鼠

The effects of re-warming rates of mild hypothermia on rats with ischemic stroke WANG Yang, LI Cheng-yan. Department of Neurology, Renmin Hospital, Wuhan University, Wuhan 430060, China
Corresponding author: LI Cheng-yan, Email: lcy@medmail.com.cn

【Abstract】Objective To evaluate the effects of different re-warming rates (RWR) of mild hypothermia (MH) on intracranial pressure (ICP), infarct size (IS) and tissue water content (TWC) in rats with acute cerebral ischemia (ACI). **Methods** Thirty-two SD rats were randomly divided into 4 groups with different re-warming rates (1℃/h, 0.5℃/h, 0.2℃/h and 0.1℃/h, respectively). The middle cerebral artery occlusion (MCAO) models were established by using the intra-luminal filament technique. Then all the animals were treated with MH (33.5℃) for 24 h. The ICP, IS and TWC were measured during or after treatment. **Results** At the beginning of treatment, there was no significant difference with regard to ICP among the four groups ($P>0.05$). When rectal temperature (RT) of rats rose to 34.5℃, ICP in 1℃/h group was obviously higher than that in the other three groups ($P<0.05$). When RT rose to 35.5℃, ICP in 1℃/h and 0.5℃/h groups was obviously higher than that in 0.2℃/h and 0.1℃/h groups ($P<0.05$). At the end of treatment, ICP in four groups were increased obviously ($P<0.05$). After re-warming, IS and TWC in 1℃/h and 0.5℃/h groups were much higher than those in 0.2℃/h and 0.1℃/h groups ($P<0.05$). **Conclusion** Fast re-warming may increase intracranial pressure as well as infarct size and tissue water content quickly. The re-warming rate should be controlled for the good effects of MH, and 0.2℃/h may be the best re-warming rate.

【Key words】 Cerebral ischemia; Hypothermia; Re-warming; Rats

亚低温治疗脑卒中的时间窗、诱导时间、目标温度、持续时间、亚低温的方式及其脑保护作用的机制已有一些报道^[1-3],但有关复温研究的报道较少。复温过程直接影响亚低温的疗效,复温过程的死亡率是降温过程的2倍^[4]。复温时易出现血小板减少(70%)、心动过缓(62%)和肺炎(48%)等并发症,最严重的是颅内压升高^[5]。为深入了解复温过程对亚低温治疗急

性脑梗死的影响,我们比较了不同复温速率下局灶性脑缺血大鼠的颅内压、脑梗死体积及脑组织含水量,现报道如下。

材料与方法

一、动物造模

雄性清洁级SD大鼠32只,体重为180~200g,购自武汉大学医学院实验动物中心。采用改良线栓法制备大鼠大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlu-

作者单位:430060 武汉,武汉大学人民医院神经内科
通讯作者:李承晏,Email:lcy@medmail.com.cn

sion, MCAO) 模型^[6]。腹腔注射 10% 水合氯醛 (3 ml/kg 体重) 麻醉后, 颈部正中切口, 钝性分离皮下筋膜和肌肉, 暴露右侧颈总动脉, 分离与其伴行的迷走神经, 在颈总动脉分叉近端 0.5 cm 处结扎该动脉, 结扎处远端丝线打活结备用。用微小动脉夹夹闭活结远端颈总动脉, 用眼科剪在结扎处上方剪一小切口, 将黑色 4/0 尼龙线 (邮购自上海申丁实业有限公司, 用电烙铁加热线栓头端, 使其成为光滑的球面) 插入切口, 向上推至动脉夹处, 扎紧备用线, 松开动脉夹。将线栓送至颈总动脉分叉处时, 用动脉夹夹闭颈外动脉侧, 调整线栓方向使其插入颈内动脉, 顺行向上送入大脑中动脉起始部, 遇阻力时停止, 保证插入线栓长 (1.7 ± 0.2) cm。

二、亚低温处理方法

将数字式温度计 (VICTOR DM6801A) 探头徐徐插入大鼠肛门 5 cm, 用胶布固定于尾巴上持续监测大鼠肛温。手术后立即将大鼠置于冰瓶制造的低温环境中, 使其腹部紧贴冰瓶, 打开电扇诱导亚低温。在 15 min 内使其肛温降至 33.5℃, 必要时喷洒酒精。持续 24 h 后开始复温。

三、复温方法及分组

将大鼠置于 60 W 台灯下进行复温, 调节台灯功率控制复温速率, 采用电吹风加速复温。32 只大鼠随机分为 1℃/h 复温组、0.5℃/h 复温组、0.2℃/h 复温组和 0.1℃/h 复温组, 每组 8 只。各组大鼠在肛温达 36.5℃ 时停止复温。

四、神经功能评定

待大鼠术后清醒, 参照 Longa 等^[6]的 5 分制评分标准对其进行神经功能评定: 0 分, 无神经功能缺损; 1 分, 轻度神经功能缺损 (不能完全伸展对侧前爪); 2 分, 中度神经功能缺损 (向对侧转圈); 3 分, 严重神经功能缺损 (向对侧倾倒); 4 分, 昏迷、意识不清。本实验将 0 分大鼠剔除。

五、颅内压测量方法

大鼠麻醉后, 将其头部固定于立体定向仪 (江湾-II 型) 上, 沿头皮正中略偏右纵向切开皮肤, 暴露颅骨, 在前囟后 3.6 mm、矢状缝右旁开 5.0 mm 处钻一骨孔。将套管针接于数字压力测量仪探头, 垂直固定在立体定向仪操纵臂上, 用注射器使其内部充满生理盐水, 记下此时数字压力测量仪的读数。将套管针头垂直插入骨孔, 穿过硬脑膜后, 再进针 4.0 mm 插入侧脑室^[7]。用缝线将套管针固定在大鼠头皮上, 拔出针芯, 此时读数与进入颅骨骨孔前读数之差即为颅内压 (mmH₂O)。在大鼠肛温为 33.5℃、34.5℃、35.5℃ 和 36.5℃ 4 个温度点记录大鼠颅内压值。

六、脑梗死体积的测定

复温结束后, 过量水合氯醛腹腔注射麻醉, 断头取脑后立即置于 -20℃ 冰箱里速冻 20 min, 再进行冠状位切片 (保留小脑), 每片厚 2 mm, 立即置入 2% 苯四氮唑 (triphenyltetrazolium chloride, TTC) 磷酸缓冲液中, 40℃ 避光温育 20 min, 10 min 时翻一次面。梗死区不着色, 正常脑组织染成玫瑰红色^[8]。将脑片及未染色的小脑浸泡在 4% 的多聚甲醛中固定 24 h。将每组脑片排列整齐后, 用数码相机拍照保存。每张脑片采用图像处理软件 Image J 进行分析计算, 梗死面积叠加计算脑梗死体积。计算公式: 脑梗死体积 = (手术对侧大脑半球的体积 - 手术侧未梗死部分的体积) / 手术对侧大脑半球的体积 $\times 100\%$ ^[9]。

七、脑组织含水量的测定

脑组织取出后, 吸干表面血迹, 用精密分析天平先称其湿重。测完脑梗死体积后, 将所有脑片及小脑放于 160℃ 电烤箱内烘烤 24 h 后称其干重。计算公式: 脑组织含水量 = (湿重 - 干重) / 湿重 $\times 100\%$ ^[10]。

八、统计学分析

采用 SPSS 11.5 进行数据分析。实验结果以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 4 组间差别的显著性检验采用单因素方差分析, 均数间两两比较采用 q 检验。组内不同时间点的比较采用随机区组设计的方差分析。

结 果

一、手术后各组大鼠神经功能评分

1℃/h 复温组、0.5℃/h 复温组、0.2℃/h 复温组及 0.1℃/h 复温组大鼠术后神经功能评分依次为 (2.34 ± 1.57) 分, (2.15 ± 1.66) 分, (2.29 ± 1.43) 分, (2.28 ± 1.07) 分。4 组大鼠间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

二、复温过程中颅内压的监测

开始复温 (33.5℃) 时, 4 组大鼠颅内压间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。随着肛温上升, 4 组颅内压都逐渐升高。肛温上升到 34.5℃ 时, 1℃/h 复温组颅内压逐渐高于其他 3 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 其余 3 组颅内压间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。肛温上升到 35.5℃ 时, 0.5℃/h 复温组和 1℃/h 复温组颅内压均显著高于其他 2 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 其余 2 组颅内压间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。肛温上升至 36.5℃ 时, 4 组大鼠颅内压都显著升高, 与复温前相比, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 但 0.2℃/h 复温组和 0.1℃/h 复温组颅内压值明显低于 0.5℃/h 复温组和 1℃/h 复温组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 后 2 组颅内压间差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1。

表 1 复温过程中各组颅内压的变化 (mmH₂O, $\bar{x} \pm s$)

组 别	n	33.5℃	34.5℃	35.5℃	36.5℃
1℃/h 复温组	8	45.21 ± 8.30	87.84 ± 12.41 ^a	142.72 ± 19.73 ^a	227.14 ± 31.48 ^{ab}
0.5℃/h 复温组	8	43.28 ± 9.12	79.25 ± 19.85	131.18 ± 21.06 ^a	202.98 ± 47.81 ^{ab}
0.2℃/h 复温组	8	48.03 ± 9.85	58.97 ± 16.48	67.69 ± 18.87	91.37 ± 28.37 ^b
0.1℃/h 复温组	8	46.09 ± 7.84	56.86 ± 19.49	64.90 ± 14.59	85.42 ± 15.40 ^b

注:在相同温度时与其它组比较,^a $P < 0.05$;与复温前比较,^b $P < 0.05$

三、脑梗死体积和脑组织含水量的比较

1℃/h 复温组和 0.5℃/h 复温组脑梗死体积及脑组织含水量都明显高于 0.2℃/h 复温组和 0.1℃/h 复温组 ($P < 0.05$), 1℃/h 复温组脑梗死体积和脑组织含水量高于 0.5℃/h 复温组 ($P < 0.05$), 0.2℃/h 复温组和 0.1℃/h 复温组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2。

表 2 复温结束后各组脑梗死体积和组织含水量的比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组 别	n	脑梗死体积	脑组织含水量
1℃/h 复温组	8	29.18 ± 2.65 ^{ab}	82.20 ± 1.64 ^{ab}
0.5℃/h 复温组	8	26.09 ± 2.09 ^a	80.95 ± 1.56 ^a
0.2℃/h 复温组	8	20.49 ± 2.04	77.20 ± 1.17
0.1℃/h 复温组	8	18.83 ± 2.36	76.87 ± 1.52

注:与 0.2℃/h 复温组和 0.1℃/h 复温组比较,^a $P < 0.05$;与 0.5℃/h 复温组比较,^b $P < 0.05$

讨 论

在临床上,亚低温治疗结束后多采用自然复温,将患者置于 25 ~ 28℃ 室温中,停用冰帽、降温毯等物理降温设施让体温自然升高。有人主张平均每 4 h 升高 1℃,至少在 12 h 以上使患者体温缓慢回升至 37 ~ 38℃^[11]。还有人提议采用控制性缓慢复温,即每天复温 0.5℃ 到 1.0℃^[12]。Feigin 等^[2]认为以 0.2℃/h 的速率复温到 36.6℃ 为最佳。复温过快可引起外周血管收缩能力下降以致心血管不稳定,也可出现反跳性高热而抵消亚低温的疗效。复温过快易出现多种并发症,其中最严重的并发症是颅内压反跳性增高,有些患者会死于复温过程中的严重脑水肿。复温过慢会影响患者早期肢体锻炼,还易出现压疮、下肢深静脉血栓形成和肺部感染等并发症。

本实验设置了 4 组复温速率来观察颅内压、脑梗死体积以及脑组织含水量的变化。随着肛温升高,颅内压逐渐上升,越接近正常体温,颅内压升高越明显。复温结束时,4 组大鼠颅内压都显著高于开始复温时 ($P < 0.05$), 0.2℃/h 复温组和 0.1℃/h 复温组颅内压显著低于 1℃/h 复温组和 0.5℃/h 复温组 ($P < 0.05$)。说明在复温过程中,颅内压不可避免地会随

肛温上升而逐渐升高,复温速度越快,颅内压升高越快,而减慢复温速度能延缓颅内压的升高。

低温能抑制神经细胞的代谢、降低细胞耗氧量及延缓高能磷酸盐的下降,从而减轻神经细胞水肿,降低颅内压。在复温过程中,由于体温逐渐上升,神经细胞的代谢水平逐渐恢复,而梗死区的血管却没有完全再通,血流也没有完全恢复,其缺血状态并没有得到根本的改善。梗死区低水平的血流量无法满足逐渐增加的脑代谢,从而加剧了神经细胞水肿,引起颅内压反跳性升高。

复温结束后,1℃/h 复温组和 0.5℃/h 复温组脑梗死体积及脑组织含水量都显著高于 0.2℃/h 复温组和 0.1℃/h 复温组 ($P < 0.05$), 1℃/h 复温组脑梗死体积和脑组织含水量高于 0.5℃/h 复温组 ($P < 0.05$)。说明控制复温速率能延缓复温过程中颅内压的快速升高,从而减轻脑水肿,缩小脑梗死体积。0.2℃/h 复温组和 0.1℃/h 复温组的颅内压、脑梗死体积和脑组织含水量均无统计学差异。然而复温过慢,会影响患者早期肢体锻炼,出现压疮、下肢深静脉血栓形成和肺部感染等并发症,0.1℃/h 复温组复温速率比 0.2℃/h 复温组慢,因此我们认为以 0.2℃/h 的速率复温最佳。

参 考 文 献

- [1] Olsen TS, Weber UJ, Kammersgaard LP. Therapeutic hypothermia for acute stroke. Lancet Neurol, 2003, 2:410-416.
- [2] Feigin V, Anderson N, Gunn A, et al. The emerging role of therapeutic hypothermia in acute stroke. Lancet Neurol, 2003, 2:529.
- [3] Clifton GL. Is keeping cool still hot? An update on hypothermia in brain injury. Curr Opin Crit Care, 2004, 10:116-119.
- [4] Su J, Qiou YM, Chen ZH, et al. Feasibility and safety of moderate hypothermia after acute ischemic stroke. Int J Dev Neuroscience, 2003, 21:353-356.
- [5] 陈洁,李承晏. 亚低温治疗急性脑梗死的复温方式比较. 卒中与神经疾病, 2004, 12:368-370.
- [6] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. Stroke, 1989, 20:84-87.
- [7] 包新民,舒斯云. 大鼠脑立体定向图谱. 北京:人民卫生出版社, 1991: 30-35.
- [8] Martz D, Rayos G, Schielke GP, et al. Allopurinol and dimethylthiourea reduce brain infarction following middle cerebral artery occlusion in rats. Stroke, 1989, 20: 488-492.
- [9] 彭英,徐少锋,王玲,等. 手性丁基苯酚对暂时性局部脑缺血大鼠脑梗死体积的影响. 中国新药杂志, 2005, 14:420-423.
- [10] 刘传玉,周素荣,李承晏,等. 亚低温联合升压对大鼠局灶性缺血再灌注后血脑屏障、脑组织含水量含量的影响. 山东医药, 2005, 45:22.
- [11] 王德生,张守信. 亚低温脑保护. 北京:科学出版社, 2002:51-337.
- [12] 只达石. 亚低温脑保护研究的发展和现状. 现代神经疾病杂志, 2002, 2: 133-135.

(修回日期:2006-05-22)

(本文编辑:松 明)