

· 论著 ·

羟乙基淀粉对脑缺血/再灌注大鼠颅内压及血浆胶体渗透压的影响

蒋鑫 陈纯波 方明 江稳强 朱高峰 曾红科

【摘要】 目的 探讨羟乙基淀粉对脑缺血/再灌注(I/R)大鼠血浆胶体渗透压(COP)的调节作用及其对颅内压(ICP)的影响。方法 采用随机对照动物实验研究方法,将 24 只雄性 SD 大鼠分为假手术组、模型组和羟乙基淀粉组,每组 8 只。采用大脑中动脉闭塞法(MCAO)建立脑 I/R 动物模型,于缺血 2 h 后再灌注,再灌注开始时尾静脉泵入羟乙基淀粉 130/0.4 氯化钠注射液 $206 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。于术后 0、2、6、12、18、24 h 分别测定 ICP 和 COP;术后 24 h 测量右侧大脑半球含水量,用免疫组化法观察神经元凋亡情况。结果 模型组和羟乙基淀粉组术后 2 h ICP(mm Hg, $1 \text{ mm Hg}=0.133 \text{ kPa}$)即显著高于假手术组(11.50 ± 1.43 、 12.48 ± 0.75 比 7.95 ± 0.92 , 均 $P < 0.05$),之后随时间延长,两组 ICP 逐渐升高,至 24 h 达峰值(22.76 ± 0.72 、 23.32 ± 0.98 比 8.15 ± 1.09 , 均 $P < 0.05$);但羟乙基淀粉组与模型组各时间点比较均无差异。羟乙基淀粉组术后各时间点 COP(mm Hg)显著高于模型组和假手术组,于术后 6 h 达高峰(13.49 ± 0.50 比 12.04 ± 0.47 、 12.00 ± 0.39 , 均 $P < 0.01$);模型组与假手术组各时间点比较均无差异。羟乙基淀粉组和模型组脑组织含水量、神经元凋亡率均显著高于假手术组[脑组织含水量:(80.16 ± 0.44)%、(80.59 ± 0.67)% 比 (78.72 ± 0.52)%;神经元凋亡率:(44.27 ± 7.86)%、(42.82 ± 7.82)% 比 (3.26 ± 0.00)%, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$];但羟乙基淀粉组与模型组比较差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。结论 羟乙基淀粉可以有效提高 COP,但尚不能证实提高 COP 是否能够降低 ICP、减轻脑水肿。

【关键词】 羟乙基淀粉; 缺血/再灌注损伤; 脑; 胶体渗透压; 颅内压; 脑水肿

Effect of hydroxyethyl starch on intracranial pressure and plasma colloid osmotic pressure in rats with cerebral ischemia/reperfusion injury JIANG Xin*, CHEN Chun-bo, FANG Ming, JIANG Wen-qiang, ZHU Gao-feng, ZENG Hong-ke. * The South Medical University, Guangzhou 500180, Guangdong, China Corresponding author: ZENG Hong-ke, Critical Care Medicinal Department, Guangdong Provincial People's Hospital, Guangzhou 510080, Guangdong, China, Email: zenghongke@vip.163.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the regulatory effect of hydroxyethyl starch on colloidal osmotic pressure (COP), and its effect on intracranial pressure (ICP) in rats with cerebral ischemia/reperfusion (I/R) injury. **Methods** Twenty-four male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into sham operation group, model group and the hydroxyethyl starch group, each $n=8$. Cerebral I/R model was reproduced by middle cerebral artery occlusion (MCAO), followed by reperfusion after ischemia for 2 hours. Rats in hydroxyethyl starch group received hydroxyethyl starch $130/0.4 \text{ } 206 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ via tail vein at the beginning of reperfusion. ICP and COP were evaluated at 0, 2, 6, 12, 18, 24 hours after the surgery. The rats were sacrificed by decapitation. The water content of the right hemisphere was measured at 24 hours after the surgery, and the ratio of apoptosis of neurons was observed by immunohistochemical method. **Results** Two hours after surgery the ICP (mm Hg, $1 \text{ mm Hg}=0.133 \text{ kPa}$) of model group and hydroxyethyl starch group was significantly increased compared with sham operation group (11.50 ± 1.43 , 12.48 ± 0.75 vs. 7.95 ± 0.92 , both $P < 0.05$). With prolongation of time, the ICP gradually increased and reached the peak at 24 hours (22.76 ± 0.72 , 23.32 ± 0.98 vs. 8.15 ± 1.09 , both $P < 0.05$). But there was no significant difference in ICP in the hydroxyethyl starch group compared with that of the model group at all time points. The COP (mm Hg) of hydroxyethyl starch group was significantly higher than the model group and sham operation group at each time point, and peaked at 6 hours after surgery (13.49 ± 0.50 vs. 12.04 ± 0.47 , 12.00 ± 0.39 , both $P < 0.01$). There was no significant difference in COP between the model group and the sham operation group at all time points. The brain water content, neuronal apoptosis of hydroxyethyl starch group and model group was significantly higher than sham operation group [brain water content: (80.16 ± 0.44)%, (80.59 ± 0.67)% vs. (78.72 ± 0.52)%; neuronal apoptosis: (44.27 ± 7.86)%, (42.82 ± 7.82)% vs. (3.26 ± 0.00)%, $P < 0.05$ or $P < 0.01$], but there was no significant difference between the hydroxyethyl starch group and model group (both $P > 0.05$). **Conclusion** Intravenous injection of hydroxyethyl starch $130/0.4$ can increase the plasma COP, but it can not significantly reduce ICP and brain water content, and it also can not improve the neuronal apoptosis.

【Key words】 Hydroxyethyl starch; Cerebral ischemia/reperfusion injury; Colloid osmotic pressure; Intracranial pressure; Cerebral edema

缺血性脑卒中早期出现颅内压(ICP)升高的处理最常使用的方法是脱水疗法,即通过提高血管内外渗透压差达到脱水目的;代表药物有甘露醇、白蛋白和高渗盐水等,其中白蛋白争议较大^[1],但是作用机制尚不明确。研究人员认为,白蛋白的输入可以改善梗死后 24 h 的神经评分,推测其机制可能是通过提高血浆胶体渗透压(COP)、扩容并使血糖和血细胞比容(HCT)明显降低,产生血液稀释,从而减轻脑水肿^[2-4]。那么,如果此推论成立的话,是否只要把 COP 提高到一定水平就能降低 ICP、减轻脑水肿呢?临床上除了可以使用白蛋白等天然胶体提高 COP 外,羟乙基淀粉作为一种人工合成胶体,具备白蛋白不具备的优点,即廉价、无血液疾病传播风险等。虽然 Lyden 等^[5]和 Sakaki 等^[6]认为羟乙基淀粉对改善实验性局灶脑梗死有益,但是否可以用于提高脑缺血颅内高压患者 COP 来降低 ICP 还不得而知。本研究中拟采用脑缺血/再灌注(I/R)大鼠模型,观察应用羟乙基淀粉 130/0.4 氯化钠注射液对 ICP 和 COP 等的影响。

1 材料与方 法

1.1 实验动物及分组:24 只 6~8 周成年 SD 雄性大鼠,体重 230~250 g,由中山大学实验动物中心提供,动物合格证号:0074269。按随机数字表法分为假手术组、模型组和羟乙基淀粉组,每组 8 只。

1.2 动物模型制作及处理:采用大脑中动脉闭塞法(MCAO)制备大鼠脑 I/R 模型,并进行动物模型评分(Zea Longa 评分标准)^[7],评分 1~3 分的动物符合实验要求入组。羟乙基淀粉组于再灌注开始经鼠尾静脉泵入羟乙基淀粉 130/0.4 氯化钠注射液 206 ml·kg⁻¹·d⁻¹,模型组不给予任何处理。假手术组除不插线栓外,其余操作与模型组相同。动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.3 检测指标及方法:①术后 0、2、6、12、18 和 24 h 测定 ICP 和 COP。②术后 24 h,各组随机选取 4 只大鼠,快速断头取右侧大脑半球,称湿、干重,并计算脑含水量[(湿重-干重)/湿重×100%]。③每组另取 4 只大鼠处死后快速断头取右侧大脑半球,冠状面切片,采用神经元特异核蛋白标记 4,6-二氨基

2-苯基吲哚染色(DAPI 染色)和原位末端缺刻标记法(TUNEL)3,3'-二氨基联苯胺(DAB)显色,观察脑组织神经元凋亡情况。免疫荧光图中蓝色为 DAPI 染色核,红色为神经元特异核蛋白;TUNEL 图中棕色斑块为凋亡小体,蓝色为正常细胞核。显微镜(×400)下在梗死灶周围随机取 6 个视野,观测凋亡细胞数量,并计算凋亡率(凋亡细胞数/总细胞数×100%)。

1.4 统计学处理:应用 SPSS 13.0 统计软件处理。服从正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示;单因素组间比较采用 one-way ANOVA 方差分析,方差齐时组间多重比较采用 LSD 分析,方差不齐时组间多重比较采用 Dunnett T3 分析; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠的 Zea Longa 评分(表 1):羟乙基淀粉组(Zea Longa 评分)与模型组比较差异无统计学意义($P=0.733$),说明各组动物之间有可比性。

表 1 羟乙基淀粉对脑缺血/再灌注损伤大鼠 Zea Longa 评分、脑含水量及神经元凋亡率的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	Zea Longa 评分(分)	脑含水量(%)	神经元凋亡率(%)
假手术组	0.00±0.00(8)	78.72±0.52(4)	3.26±0.00(4)
模型组	1.75±0.71(8) ^a	80.59±0.67(4) ^b	42.82±7.82(4) ^a
羟乙基淀粉组	1.79±0.80(8) ^a	80.16±0.44(4) ^b	44.27±7.86(4) ^a

注:与假手术组比较,^a $P<0.01$,^b $P<0.05$;括号内为动物数

2.2 各组 ICP 变化(表 2):术后 0 h 各组间 ICP 无明显差异(均 $P>0.05$)。羟乙基淀粉组和模型组术后 2 h ICP 即显著高于假手术组,并随时间延长 ICP 逐渐升高,至 24 h 达高峰(均 $P<0.05$),但两组间各时间点 ICP 无明显差异(均 $P>0.05$)。

2.3 各组 COP 变化(表 2):术后 0 h 各组间 COP 比较均无明显差异(均 $P>0.05$)。羟乙基淀粉组术后各时间点 COP 均显著高于模型组和假手术组(均 $P<0.01$),于术后 6 h 达高峰。模型组与假手术组各时间点 COP 均无明显差异(均 $P>0.05$)。

2.4 脑含水量(表 1):羟乙基淀粉组脑含水量与模型组比较差异无统计学意义($P>0.05$),但两组均显著高于假手术组(均 $P<0.05$)。

2.5 神经元凋亡情况(彩色插图 1;表 1):模型组和羟乙基淀粉组均可见数量不等、散在的凋亡神经元,假手术组凋亡细胞极罕见。羟乙基淀粉组神经元凋亡率与模型组无明显差异($P>0.05$),但两组均显著高于假手术组(均 $P<0.01$)。

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2011.03.012

基金项目:广东省自然科学基金面上项目(8151008004000010)

作者单位:500180 广东广州,南方医科大学研究生学院(蒋鑫、朱高峰),广东省人民医院危急重症医学部(陈纯波、方明、江稳强、曾红科)

通信作者:曾红科,Email:zenghongke@vip.163.com

表 2 羟乙基淀粉对脑缺血/再灌注损伤大鼠术后 ICP 和 COP 变化的影响(̄x±s)

组别	动物数	ICP(mm Hg)					
		术后 0 h	术后 2 h	术后 6 h	术后 12 h	术后 18 h	术后 24 h
假手术组	8	7.60±0.79	7.95±0.92	7.69±0.77	7.35±0.56	7.51±0.75	8.15±1.09
模型组	8	7.16±0.68	11.50±1.43 ^a	13.59±1.24 ^a	15.74±1.04 ^a	17.25±1.99 ^a	22.76±0.72 ^a
羟乙基淀粉组	8	7.42±0.85	12.48±0.75 ^a	14.60±1.03 ^a	17.04±0.88 ^a	19.44±0.84 ^a	23.32±0.98 ^a

组别	动物数	COP(mm Hg)					
		术后 0 h	术后 2 h	术后 6 h	术后 12 h	术后 18 h	术后 24 h
假手术组	8	12.28±0.51	12.31±0.52	12.00±0.39	12.24±0.82	12.30±0.47	12.15±0.84
模型组	8	11.96±0.23	11.99±0.33	12.04±0.47	12.06±0.42	12.08±0.26	11.91±0.15
羟乙基淀粉组	8	12.15±0.48	13.14±0.58 ^{bc}	13.49±0.50 ^{bc}	12.90±0.54 ^{bc}	12.85±0.43 ^{bc}	12.69±0.45 ^{bc}

注:ICP:颅内压,COP:血浆胶体渗透压,与假手术组比较,^aP<0.05,^bP<0.01,与模型组比较,^cP<0.01;1 mm Hg=0.133 kPa

3 讨论

血浆渗透压包括血浆晶体渗透压和 COP。COP 是生成组织液的有效滤过压中的重要组成部分,是使组织间液从毛细血管静脉端渗回血管内的主要力量。目前对调控 COP 是否可以降低 ICP 从而减轻脑水肿尚有争议。Stevens 等^[8]通过数学模型研究认为,COP 每下降 1 mm Hg,ICP 上升 0.37 mm Hg。外伤性脑损伤患者盐水或白蛋白液体复苏研究(SAFE 研究)表明,白蛋白可增加重度颅脑损伤患者的病死率,中度颅脑损伤患者用白蛋白与生理盐水治疗后病死率无明显差异^[9]。羟乙基淀粉具有良好的扩容作用,且对凝血功能无明显影响^[10-11]。羟乙基淀粉对休克、感染等所致血流动力学不稳定具有较好作用^[12-13]。Kaplan 等^[14]认为,羟乙基淀粉可降低缺氧后脑循环白细胞黏附和血管损伤。

本研究显示,给大鼠应用临床剂量的羟乙基淀粉粉可有效提高 COP,但未观察到降低 ICP 和减轻脑水肿的作用,分析其原因和机制可能是:①单纯提高 COP 不一定能降低 ICP。②应用羟乙基淀粉的剂量虽然能显著提高 COP,但尚未达到能够降低 ICP 的程度。本实验中设计羟乙基淀粉用量折算成人用量为 40 ml·kg⁻¹·d⁻¹,已超过厂家推荐的每日临床极量(33 ml·kg⁻¹·d⁻¹),但是否进一步提高用量能够降低 ICP 尚待研究。③未观察到羟乙基淀粉组脑神经元凋亡情况与模型组有明显区别。

综上,羟乙基淀粉可有效提高 COP,但不能证实提高 COP 能够降低 ICP、减轻脑水肿。COP 与 ICP 间是否存在量效关系、COP 的调控安全范围、调控 COP 是否可以降低 ICP 以减轻脑水肿等问题,尚待更深入研究。

参考文献

[1] 刘步珍, 焉传祝. 人血白蛋白在治疗大面积脑梗死中的应用. 神经疾病与精神卫生, 2008, 8: 58-60.

[2] Belayev L, Busto R, Zhao W, et al. Effect of delayed albumin hemodilution on infarction volume and brain edema after transient middle cerebral artery occlusion in rats. J Neurosurg, 1997, 87: 595-601.

[3] Matsui T, Sinyama H, Asano T. Beneficial effect of prolonged administration of albumin on ischemic cerebral edema and infarction after occlusion of middle cerebral artery in rats. Neurosurgery, 1993, 33: 293-300.

[4] Gürkan F, Haspolat K, Yaramis A, et al. Beneficial effect of human albumin on neonatal cerebral edema. Am J Ther, 2001, 8: 253-254.

[5] Lyden PD, Alving LI, Zivin JA, et al. Hemodilution with low-molecular-weight hydroxyethyl starch after experimental focal cerebral ischemia in rabbits. Stroke, 1988, 19: 223-227.

[6] Sakaki T, Mokry M, Kleinert R, et al. Hydroxyethyl-starch in transient experimental focal cerebral ischemia. Acta Neurochir (Wien), 1991, 108: 134-139.

[7] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. Stroke, 1989, 20: 84-91.

[8] Stevens SA, Lakin WD, Penar PL. Modeling steady-state intracranial pressures in supine, head-down tilt and microgravity conditions. Aviat Space Environ Med, 2005, 76: 329-338.

[9] Myburgh J, Cooper DJ, Finfer S, et al. Saline or albumin for fluid resuscitation in patients with traumatic brain injury. N Engl J Med, 2007, 357: 874-884.

[10] Grmec S, Strnad M, Cander D, et al. A treatment protocol including vasopressin and hydroxyethyl starch solution is associated with increased rate of return of spontaneous circulation in blunt trauma patients with pulseless electrical activity. Int J Emerg Med, 2008, 1: 311-316.

[11] 李凤臻, 韩力, 管清秀. 羟乙基淀粉注射液对失血性休克患者凝血功能的影响. 山东医药, 2008, 48: 76-77.

[12] 杨毅, 邱海波, 刘松桥, 等. 羟乙基淀粉和林格液对感染性休克犬内脏器官灌注的影响. 中国危重病急救医学, 2005, 17: 743-746.

[13] 赵志斌, 陈莹, 高新跃, 等. 羟乙基淀粉对失血性休克血管反应性的影响. 中国危重病急救医学, 2006, 18: 551-553.

[14] Kaplan SS, Park TS, Gonzales ER, et al. Hydroxyethyl starch reduces leukocyte adherence and vascular injury in the newborn pig cerebral circulation after asphyxia. Stroke, 2000, 31: 2218-2223.

(收稿日期: 2011-02-11)
(本文编辑: 李银平)

膜攻击复合物C5b-9对创伤失血性休克大鼠肝损害的影响研究

(正文见 158 页)

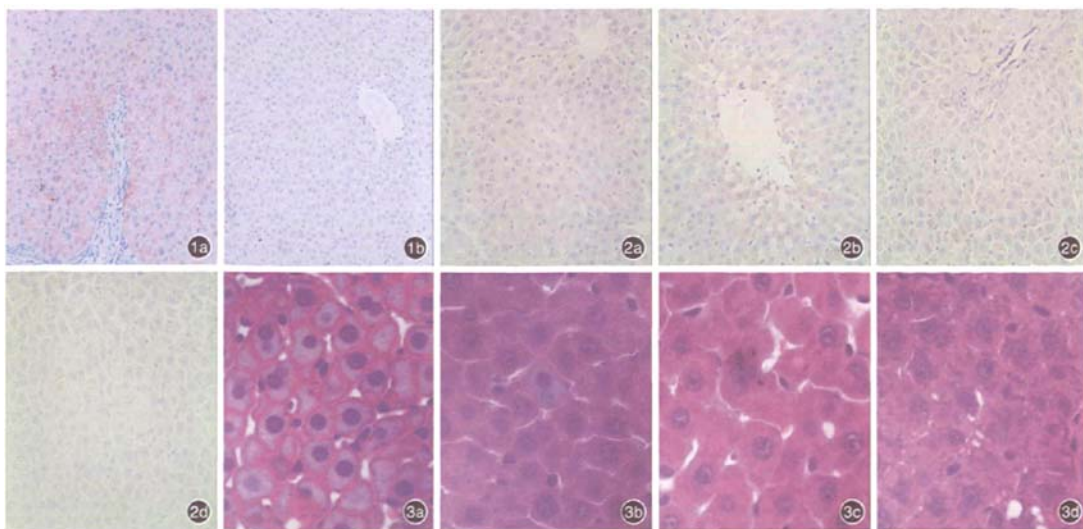


图1 光镜下观察创伤失血性休克大鼠制模后肝脏膜攻击复合物C5b-9阳性表达 细胞质中棕染部分为阳性细胞,模型3h组(a)肝脏门管区有大量C5b-9阳性细胞沉积,模型24h组(b)中央静脉周围的散在肝实质细胞呈淡棕染色 免疫组化 $\times 10$
图2 光镜下观察创伤失血性休克大鼠制模后肝脏细胞凋亡情况 呈棕染的细胞为凋亡细胞,模型1h组(a)有少量凋亡细胞,个别细胞呈淡棕染色,模型3h组(b)凋亡细胞明显增多,主要出现在小叶中央静脉周围的肝实质细胞,沿肝索分布,模型6h组(c)凋亡细胞散在分布于门静脉周围的肝实质细胞,模型24h组(d)个别细胞呈淡棕染色 TUNEL $\times 200$
图3 光镜下观察创伤失血性休克大鼠制模后肝组织病理改变 模型1h组(a)肝细胞索清晰、结构完整,出现细胞水肿,模型3h组(b)肝细胞结构完整性破坏,包膜破裂,细胞间隙可见炎性细胞浸润,仍可见个别肝细胞水肿,模型6h组(c)肝细胞结构完整性破坏,包膜破裂,细胞融合,核膜尚完整,模型24h组(d)肝细胞索、肝窦结构消失,肝细胞结构完整性破坏,包膜破裂,细胞融合成片,细胞核碎裂,炎性细胞浸润增多 HE $\times 400$

羟乙基淀粉对脑缺血/再灌注大鼠颅内压及血浆胶体渗透压影响

(正文见 166 页)

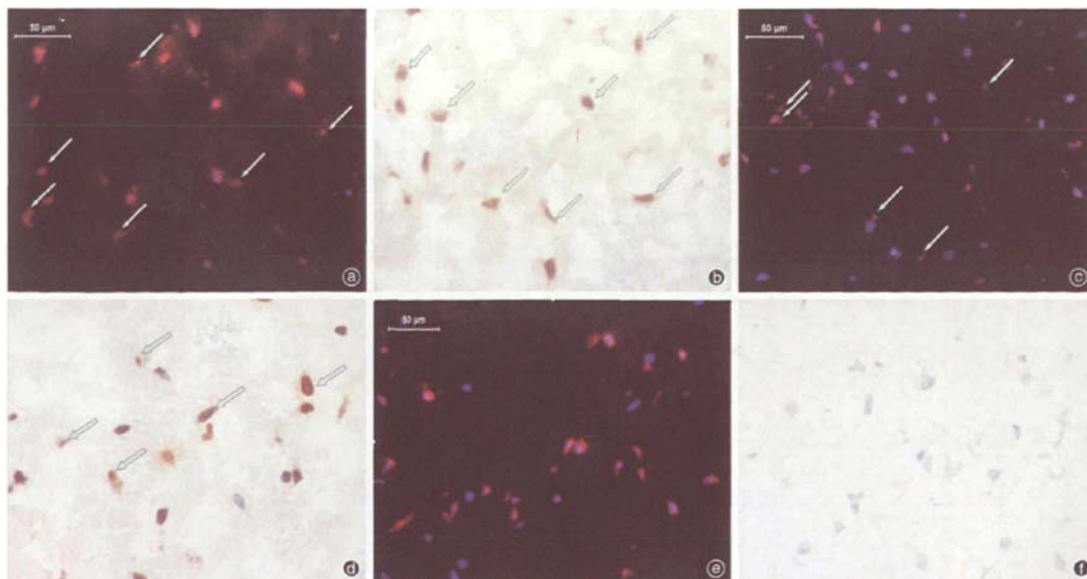
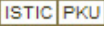


图1 光镜下观察羟乙基淀粉对脑缺血/再灌注大鼠神经元凋亡的影响 羟乙基淀粉组(a、b)可见数量不等、散在的凋亡神经元,免疫荧光4,6-二氨基-2-苯基吲哚染色(DAPI染色)可见凋亡神经元细胞核呈蓝色,红色为神经元特异核蛋白,箭头所指为凋亡后DAPI染色黯淡,崩解的神经元细胞核(a, $\times 400$);原位末端缺刻标记法(TUNEL)染色可见较多神经元细胞内存在凋亡小体(棕色斑块),蓝色为神经元特异核蛋白标记的神经元细胞核(b, $\times 400$)。模型组(c为DAPI染色,d为TUNEL染色, $\times 400$)与羟乙基淀粉组(a、b)凋亡情况类似,假手术组(e为DAPI染色,f为TUNEL染色, $\times 400$)凋亡细胞极为罕见

影响

作者: 蒋鑫, 陈纯波, 方明, 江稳强, 朱高峰, 曾红科, JIANG Xin, CHEN Chun-bo, FANG Ming, JIANG Wen-qiang, ZHU Gao-feng, ZENG Hong-ke
作者单位: 蒋鑫,朱高峰,JIANG Xin,ZHU Gao-feng(南方医科大学研究生学院,广东广州,500180),陈纯波,方明,江稳强,曾红科,CHEN Chun-bo,FANG Ming,JIANG Wen-qiang,ZENG Hong-ke(广东省人民医院急危重症医学部)
刊名: 中国危重病急救医学 
英文刊名: CHINESE CRITICAL CARE MEDICINE
年,卷(期): 2011,23(3)

参考文献(14条)

1. 刘步珍,焉传祝.人血白蛋白在治疗大面积脑梗死中的应用.神经疾病与精神卫生,2008,8:58-60.
2. Belayev L, Busto R, Zhao W, et al. Effect of delayed albumin hemodilution on infarction volume and brain edema after transient middle cerebral artery occlusion in rats. J Neurosurg, 1997, 87:595-601.
3. Matsui T, Sinyama H, Asano T. Beneficial effect of prolonged administration of albumin on ischemic cerebral edema and infarction after occlusion of middle cerebral artery in rats. Neurosurgery, 1993, 33: 293-300.
4. Gürkan F, Haspolat K, Yaramis A, et al. Beneficial effect of human albumin on neonatal cerebral edema. Am J Ther, 2001, 8:253-254.
5. Lyden PD, Alving LI, Zivin JA, et al. Hemodilution with low-molecular-weight hydroxyethyl starch after experimental focal cerebral ischemia in rabbits. Stroke, 1988, 19: 223-227.
6. Sakaki T, Mokry M, Kleinert R, et al. Hydroxyethyl-starch in transient experimental focal cerebral ischemia. Acta Neurochir (Wien), 1991, 108 : 134-139.
7. Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. Stroke, 1989, 20:84-91.
8. Stevens SA, Lakin WD, Penar PL. Modeling steady-state intracranial pressures in supine, head-down tilt and microgravity conditions. Aviat Space Environ Med, 2005, 76 : 329-338.
9. Myburgh J, Cooper DJ, Finfer S, et al. Saline or albumin for fluid resuscitation in patients with traumatic brain injury. N Engl J Med, 2007, 357:874-884.
10. Grmec S, Strnad M, Cander D, et al. A treatment protocol including vasopressin and hydroxyethyl starch solution is associated with increased rate of return of spontaneous circulation in blunt trauma patients with pulseless electrical activity. Int J Emerg Med, 2008, 1 : 311-316.
11. 李凤臻, 韩力, 管清秀. 羟乙基淀粉注射液对失血性休克患者凝血功能的影响. 山东医药, 2008, 48:76-77.
12. 杨毅, 邱海波, 刘松桥, 等. 羟乙基淀粉和林格液对感染性休克犬内脏器官灌注的影响. 中国危重病急救医学, 2005, 17:743-746.
13. 赵志斌, 陈莹, 高新跃, 等. 羟乙基淀粉对失血性休克血管反应性的影响. 中国危重病急救医学, 2006, 18 : 551-553.
14. Kaplan SS, Park TS, Gonzales ER, et al. Hydroxyethyl starch reduces leukocyte adherence and vascular injury in the newborn pig cerebral circulation after asphyxia. Stroke, 2000, 31 : 2218-2223.

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zgwzbjyx201103012.aspx