

· 论 著 ·

头部重点低温脱水综合疗法脑复苏机制的研究 (对激动性氨基酸变化的影响)

段满林* 李德馨* 徐建国*

摘要 为检测头部重点低温脱水综合疗法(SHCDCT)能否消除激动性氨基酸神经毒性,观察了完全性脑缺血(四血管式,30分钟)后再灌注30、180和360分钟($n=8$)时颞叶组织中谷氨酸(Glu)、门冬氨酸(Asp)含水量和葡萄糖等的变化,比较了头部重点低温(SHC,28℃,体表降温法)、甘露醇脱水和SHCDCT三种治疗对这些变化的影响。发现与未缺血动物相比,再灌注后Asp、Glu和含水量升高($P<0.01$),葡萄糖减少($P<0.01$),SHC和SHCDCT显著抑制这些变化($P<0.01$),促进它们尽快恢复到未缺血水平。结果提示:再灌注后尽早实施SHCDCT仍能有效缓解激动性氨基酸神经毒性,这可能是SHCDCT脑复苏机制之一。

关键词 缺血再灌注损伤 神经毒性 氨基酸 头部重点低温脱水综合疗法

激动性氨基酸(EAA)过度释放,可能通过突触后钠内流后细胞内水肿等多种途径损伤神经元,是脑缺血再灌注损伤的主要内源性因子^[1,2]。头部重点低温脱水综合疗法(SHCDCT)为临床上行之有效的脑复苏措施^[3,4]。本研究通过观察SHCDCT能否影响完全性缺血后再灌注时颞叶组织中谷氨酸(Glu)、门冬氨酸(Asp)和部分后续效应,探讨其可能机制,加深对其脑复苏效应的认识。

材 料 与 方 法

新西兰兔104只,雌雄不限,体重1.8~2.5kg,月龄3~4月,实验前禁食12小时。动物采用静脉复合麻醉(1%异戊巴比妥6ml/kg、辅芬太尼10μg/kg、潘库溴铵0.1mg/kg),气管切开后机械通气,保持 $PaO_2>13kPa$, $PaCO_2$ 4~6.7kPa。

脑缺血方法为兔“四血管”式模型^[5],再灌注期间通过输血、无糖液体和1mg/500ml的去甲肾上腺素维持平均动脉压在基础值7.3kPa左右。

兔随机分为四组(表1)。单纯头部重点低温(SHC)组降温与再灌注一同开始,采用头部冰帽和流动冰水浴的体表降温法,均去净头毛

辅用冬眠合剂。甘露醇脱水(MD)组在再灌注后约1分钟开始脱水(甘露醇1g/kg,每3小时一次)。SHCDCT为SHC和MD的联合应用,降温和脱水时间不变。

表1 实验动物分组

组别	对照组 (I组)				SHC组 (II组)			MD组 (III组)			SHCDCT组 (IV组)		
亚组	0	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
缺血时间(min)	0	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
再灌注时间(min)	0	30	180	360	30	180	360	30	180	360	30	180	360
动物数(只)	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8

将细热敏电极置脑实质中测脑温。不降温动物维持脑温38℃、肛温37℃;降温者脑温降至28℃(30分钟左右)、肛温不低于34℃。温度由实验台下特制热交换器调控。

动物处死后,0℃环境取颞叶皮层50mg,置-150℃液氮贮存,分级超速离心制备去膜脑匀浆(PMS)^[6]。余下的颞叶组织去净硬膜、吸干残血和脑表面液体,精确称重后置120℃烤至恒重,按Elliot公式计算含水量。PMS中Glu和Asp采用液相色谱法测定(标本预处理中注意沸水浴充分变性蛋白,乙醚抽提洗净脑磷脂和其它脂类);PMS中葡萄糖(G)和磷酸肌酸

解放军后勤部卫生部八五攻关资助课题

* 南京军区南京总医院麻醉科 210002

激酶(CPK)测定方法分别为氧化酶电极法和改良的 Olieve 氏法。统计采用未配对资料的 t 检验法,全部工作均在计算机上完成。

结 果

与未缺血对照相比,缺血 30 分钟后再灌注 30、180 和 360 分钟 Glu 均升高($P<0.01$),再灌注 30 分钟升高最明显,为对照的 2.08 倍。三组治疗均使其水平显著下降($P<0.01$),于 360 分钟回到未缺血水平,以 SHCDCT 最为有效。Asp 在再灌注 30 和 180 分钟显著升高($P<0.01$),最高值为对照的 1.38 倍,SHC 和 SHCDCT 治疗明显抑制此升高($P<0.01$),180 分钟时回到未缺血水平,MD 无影响(表 2、3)。

含水量在再灌注 30 和 180 分钟显著高于未缺血水平($P<0.01$),分别净增 3.0%和 3.4%,与 Glu 变化正相关($r=0.932, P<0.01$)。三组治疗均显著减少含水量的升高($P<0.01$),同样以 SHCDCT 最为有效(表 4)。

G 在再灌注后递减,依次减少 1.84、3.78

和 4.43,显著低于对照水平($P<0.01$),SHC 和 SHCDCT 显著抑制此变化($P<0.01$),MD 无影响(表 5)。

CPK 活力在再灌注后显著升高($P<0.01$),SHC 和 SHCDCT 抑制此升高($P<0.01$),MD 无影响(表 6)。

讨 论

缺血再灌注后 EAA 大量释放和积聚,可损伤神经元,甚至导致发生凝固性坏死^[1,2]。实验观察到再灌注后 Glu 和 Asp 增多,和颞叶含水量升高,脑静脉血中 CPK 活化等,支持 EAA 参与完全性缺血后神经元的再灌注损伤^[1,2]。两种氨基酸升高的程度、持续时间等与文献报道的差异,可能与动物种类、缺血程度和时间、取材部位、计量方法、标本预处理等多种因素有关。

缺血前和缺血中实施低温确能减少 EAA 释放,可保护和保存神经元功能。再灌注后采用低温能否有效是本课题研究目的,实验观察到

表 2 脑组织 PMS 中 Glu 的变化 [$\mu\text{mol}/\text{mg}(\text{prot})$] ($\bar{x}\pm s, n=8$), 下同)

组别/亚组	0	1	2	3
I	0.6002 $\pm$ 0.083	1.2478 $\pm$ 0.1144 $\Delta\Delta$	1.1377 $\pm$ 0.0779 $\Delta\Delta$	0.9097 $\pm$ 0.0057 $\Delta\Delta$
II		0.559 $\pm$ 0.0631 $\Delta\Delta$	0.9037 $\pm$ 0.0884 $\Delta\Delta$	0.5551 $\pm$ 0.0381 $\Delta\Delta$
III		1.0411 $\pm$ 0.0635 $\Delta\Delta$	0.8880 $\pm$ 0.0471 $\Delta\Delta$	0.5784 $\pm$ 0.0907 $\Delta\Delta$
IV		0.8918 $\pm$ 0.0433 $\Delta\Delta$	0.8931 $\pm$ 0.591 $\Delta\Delta$	0.6156 $\pm$ 0.0647 $\Delta\Delta$

Δ 与 0 亚组比较, $\Delta\Delta$ 与 I 组对应比较, $\Delta\Delta\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta\Delta\Delta P<0.01$, 下同

表 3 脑组织 PMS 中 ASP 的变化 [$\mu\text{mol}/\text{mg}(\text{prot})$]

组别/亚组	0	1	2	3
I	0.7189 $\pm$ 0.0488	0.9947 $\pm$ 0.0439 $\Delta\Delta$	0.8675 $\pm$ 0.0492 $\Delta\Delta$	0.6557 $\pm$ 0.0601
II		0.8528 $\pm$ 0.0399 $\Delta\Delta$	0.6494 $\pm$ 0.0466 $\Delta\Delta$	0.6461 $\pm$ 0.1124
III		0.9479 $\pm$ 0.1066	0.8419 $\pm$ 0.0778	0.6424 $\pm$ 0.0443
IV		0.8557 $\pm$ 0.0549 $\Delta\Delta$	0.6713 $\pm$ 0.0427 $\Delta\Delta$	0.6004 $\pm$ 0.0172

表 4 颞区脑含水量的变化 (%)

组别/亚组	0	1	2	3
I	78.0088 $\pm$ 0.8075	81.0162 $\pm$ 0.5680 $\Delta\Delta$	81.4450 $\pm$ 0.6508 $\Delta\Delta$	78.8213 $\pm$ 0.6271
II		79.7516 $\pm$ 0.5434 Δ	79.7622 $\pm$ 0.3047 $\Delta\Delta$	78.6472 $\pm$ 0.4819
III		78.0965 $\pm$ 0.3439 $\Delta\Delta$	78.0965 $\pm$ 0.3721 $\Delta\Delta$	78.0484 $\pm$ 0.5385
IV		78.6622 $\pm$ 0.4713 $\Delta\Delta$	79.5502 $\pm$ 0.6232 $\Delta\Delta$	78.7836 $\pm$ 0.5789

表 5 PMS 中 G 含量的变化[mg/g(湿重)]

组别/亚组	0	1	2	3
I	8.3756±0.9202	6.5332±0.5712▲▲	4.5973±0.7047▲▲	3.9409±0.3594▲▲
Ⅰ		8.3259±0.8434**	8.6116±0.8833**	8.4710±0.3752**
Ⅱ		6.2795±0.6270	4.0288±0.5528	4.2285±0.5660
Ⅳ		9.2028±0.9706**	8.2208±1.4411**	8.2392±0.5440**

表 6 CPK 活力的变化[U/mg(prot)]

组别/亚组	0	1	2	3
I	12.56±2.04	24.81±3.07▲▲	45.34±1.44▲▲	32.16±4.25▲▲
Ⅰ		10.29±1.58**	13.11±2.33**	14.44±1.39**
Ⅱ		23.96±2.53	43.48±2.90	28.88±3.67
Ⅳ		9.70±0.44**	12.06±2.16**	15.19±1.75**

SHC 和 SHCDCT 均能有效地抑制 EAA 的升高,促进它们尽快恢复到未缺血水平,提示 SHCDCT 通过抑制 EAA 升高来促进神经元修复。SHCDCT 为 SHC 和 MD 的联合应用,作用强度未大于两者之和,提示两者无协同作用,其中以 SHC 为主。低温抑制 EAA 升高可能与以下因素有关:(1)温度下降时神经递质的合成、释放和再摄取度影响的程度不一;(2)能量代谢改善后,促进 ATP 酶活力恢复,再摄取增加;(3)和通过稳定细胞膜,促进膜功能的恢复;(4)间接减少细胞内游离钙升高^[7]。

EAA 升高后可通过持续兴奋突触后膜上受体,开放 Na⁺通道,进而导致细胞内水肿,损伤神经元^[8]。再灌注后颞叶含水量升高,且与 Glu 变化正相关,提示缺血再灌注损伤也有这种机制。三组治疗均减轻含水量升高,其中 MD 主要通过渗透效应,作用快且明显,SHC 则可能通过减少 EAA,作用慢而持久。这支持应用 SHCDCT,达到稳定地阻止水肿的发展,为神经元修复提供一个“宽松”的环境,显然是有益的^[4]。

葡萄糖进行性减少提示高代谢状态,这与 EAA 升高部分相关。高代谢主要与儿茶酚胺和甲状腺激素分泌紊乱有关。SHCDCT 减少葡萄糖消耗,有助于神经元达到“新”的能量平衡状态,促进其修复^[9]。

脑静脉血中 CPK 活化提示脑细胞受损的

程度,与细胞内钙升高有关^[1,4]。SHC 和 SHCDCT 均阻止 CPK 的活化,促使其恢复到未缺血水平。提示 SHCDCT 减轻了脑组织的再灌注损伤,通过抑制 EAA 升高,减少细胞内钙增多和稳定细胞膜等则是其作用途径之一。

本结果提示,再灌注后尽早采用 SHCDCT,不但仍能有效地抑制 EAA 升高,而且可多途径地防治其后续的细胞内水肿、高代谢状态和胞浆酶活化与泄漏等,较全面地消除了激动性神经毒性,进而减轻再灌注损伤,这可能是其脑复苏效应的主要途径之一。

参 考 文 献

- Krause SG, White CB, Aust DS, et al. Brain cell death following ischemia and reperfusion: a proposed biochemical sequence. Crit Care Med, 1988, 16: 714.
- Bullock R, Kurada Y, Teasdale MG, et al. Prevention of post-traumatic excitotoxic brain damage with NMDA antagonist drugs: A new strategy for nineties. Acta Neurochi, 1992, 55(suppl): 49.
- 李德馨, 黎介寿. 触电死亡的复苏(两例成功的报告). 解放军医学杂志, 1964, 1: 12.
- Li Dexin. Selective head colling-dehydration combined therapy for brain resuscitation. 4rd Japanese-Chinese clinical anesthesiology conference. Fukucka, Japan Nov., 1993.
- Ryzard P. The influence of prostacyclin on the recovery of bioelectric cerebral activity after complete ischemia. Acta Neurol Scand, 1986, 73: 44.
- Palmer CG. Classification of ischemic induced damage to

- Na⁺, K⁺ ATPase in gerbil forebrain. *Neuropharmacology*, 1985, 24: 509.
- 7 段满林, 李德馨, 徐建国, 等. 头部重点低温对再灌注脑水肿的影响. *解放军医学杂志*, 1995, 20(4): 281.
- 8 Hossman AK. The pathophysiology of experimental brain edema. *Neurosurg Rev*. 1989, 12: 263.
- 9 段满林, 李德馨, 张利东. 头部重点低温脱水综合疗法脑复苏机制的研究(对再灌注脑高代谢的影响). *中华麻醉学杂志*, 1994, 14(4): 264.
- 10 Vaagenos P. Brain enzyme levels in CSF after cardiac arrest. *J Cere Blood and Metab*, 1988, 8: 262.

(收稿: 1994-04-4 修回: 1994-07-18)

ABSTRACT

Experimental study of mechanism of selective head cooling-dehydration combined therapy for brain resuscitation: effects on levels of excitatory amino acids. Duan Manlin, Li Dexin, Xiu Jianguo. Department of Anesthesiology, Nanjing General Hospital, Nanjing 210002.

In order to assess the effects of selective head cooling-dehydration combined therapy (SHCDCT) on the excitotoxicities of excitatory amino acids (EAA), one hundred and four New Zealand rabbits, aged 3 to 4 months, served as the experimental subjects. Eight of them acted as the normal control (group I), and after having underwent the complete cerebral ischemia for 30 mins, which was induced by tying off the branchiocephalic trunk, the left subclavicular artery and both internal thoracic arteries, the 96 subjects left were divided randomly into four groups: group II, III, IV and V. The brains of the subjects in each of these later four groups were reperfused respectively for 30, 180 and 360 mins. The subjects in group II were regarded as model control, in group III received the intravenous injection of mannitol 1.6g · kg⁻¹ every three hours at one minute following the reperfusion, in group IV were given the intravenous lytic cocktail to be adjunct to the head surface cooling at the same time as the reperfusion, and in group V were treated with the combination of the above both ways. After the required procedures were completed, the samples of temporal cerebral tissues were taken, in which the amounts of aspartic acid (ASP) and glutamic acid (GLU) were determined with liquid chromatography, the water content was calculated by the Elliot equation, and the glucose level and the activity of creatine phosphokinase enzyme (CPK) were measured with biochemical methods. As compared with the normal control levels in group I, the amounts of GLU, ASP and water and the activity of CPK increased markedly, and the glucose content decreased significantly in group II ($P < 0.05$). In comparison with the model control levels in group II, the amounts of GLU and water decreased drastically in group III, IV and V ($P < 0.05$), the levels of ASP and the activity of CPK reduced remarkably, but one of glucose rose obviously in group IV and V ($P < 0.05$), and the three levels kept statistically stable in group III. The degrees of the improvements of all above parameters were higher in group V than those in group IV. It is suggested that SHCDCT may be effective for the cerebral resuscitation by attenuating the excitotoxicities of excitatory amino acids.

Key words Ischemia/reperfusion Aspartic acid Glutamic acid Selective head cooling-dehydration combined therapy

手指探触引导经口插管法的改进

刘文东* 陈金良* 崔 骥* 赵 颖*

我们应用改进的手指探触引导插管法, 对 3 例插管困难患者进行了临床应用, 效果满意, 现报告如下。

操作方法 (1) 将患者置于气管插管位置, 术者立于头侧; 利用管芯将导管弯成鱼钩状, 并在前端涂少量润滑剂; (2) 术者掌心向上, 以左手中、示指自左口角进入口腔抵达舌根, 探及会厌上缘, 并可在会厌内上探及声门, 如中指长度不够, 探及会厌上缘即可; (3) 术者右手持管插入口腔, 导管前端达中指尖端后, 中指尖端调整导管前端与声门的位置, 对准后右手推进导管进入声门。如无法对准声门可将导管前端托向会厌内上, 右手持力送管。如仍无法成功, 中指尖端向上、左、右调整导管探入。通常 1~2 次即可成功。本组一次成功 2 例,

2 次成功 1 例; (4) 因术者中、示指位于导管前下, 即使不能进入声门, 亦很难误入食管。

适应证: 此方法可适应于现场急救及临床麻醉的气管插管, 同时亦可用于部分困难气管插管。如为清醒患者或慢诱导插管者, 应充分进行口、咽、喉头及气管粘膜麻醉, 并需助手以开口器置于口腔右侧上、下齿之间, 以防咬伤手指或咬瘪导管。

体会 (1) 操作简便易行; (2) 减少了机械损伤的机会; (3) 如手指能触及声门可一次插管成功; (4) 无误入食管之嫌, 但术者中指要有一定的长度。

(收稿: 1995-04-04 修回: 1995-08-23)

* 解放军第二六〇医院麻醉科, 石家庄 050041