

血液稀释对局部脑缺血大鼠 脑血流及脑梗死的影响

首都医科大学附属北京天坛医院麻醉科 梅弘勋 王恩真
北京市神经外科研究所生化室 翟 晶 张 辉 张家瑾

提要: 为探讨中度急性等容血液稀释 (ANHD) 对大鼠局部脑缺血模型的脑血流和脑梗死面积的影响, 将 Wistar 脑缺血模型大鼠随机分为对照组 ($n=8$) 和 ANHD 组 ($n=8$), 于缺血前和缺血 120 min 内, 用激光多普勒血流仪连续测定缺血周边皮质的局部脑血流 (LCBF) 变化, 缺血后 24 h 测定脑梗死面积。结果显示 2 组在脑缺血后 LCBF 均显著下降 ($P<0.01$)。ANHD 组下降的幅度显著小于对照组 ($P<0.01$), 并且缺血 24 h 后的脑梗死面积也显著小于对照组 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。提示中度 ANHD 可增加大鼠局部脑缺血模型的缺血周边区的 LCBF, 缩小脑梗死面积, 在脑缺血情况下具有脑保护作用。

关键词: 血液稀释; 脑缺血; 脑血流; 脑梗死

中图分类号: R743.31

血液稀释是血液保护的主要措施之一, 可有效减少手术出血, 减少输血量, 已在临床广泛应用^[1]。1999 年 12 月至 2000 年 1 月, 我们对脑缺血模型大鼠进行分组对照观察, 研究了中度急性等容血液稀释对脑缺血大鼠的局部脑血流和脑梗死面积的影响。

1 材料和方法

健康成年雄性 Wistar 大鼠 16 只, 体质量 300~350 g (由中国医学科学院动物中心提供的二级动物)。按抽签法随机分为对照组 ($n=8$) 和急性等容血液稀释 (ANHD, $n=8$) 组, 2 组动物的性别和体质量无差异 ($P>0.05$)。

麻醉前 10 min 腹腔注射 0.05 $\mu\text{g/g}$ 阿托品。腹腔注射 10% 水合氯醛 400 $\mu\text{g/g}$ 麻醉后, 分离双侧股动脉并置管, 一侧供监测动脉血压, 另一侧供血液稀释时放血及采动脉血检测血气及血常规用。分离单侧股静脉并置管, 供血液稀释时输液及术中维持输液用。左顶部切口, 于前囟后侧 1 mm, 左侧 2.1 mm 处钻一直径为 1 mm 的圆孔, 供监测局部脑血流用, 此处为脑缺血周边区^[2]。右侧卧位, 于左耳与左眼连线 1/2 处行纵行切口, 切断颞肌, 断除颞弓, 在显微镜下小心剪开颞下颌关节囊, 牵开下颌支, 在卵

圆孔前方开一 2 mm \times 3 mm 骨窗, 暴露左大脑中动脉^[3]。此过程约 45 min 完成。实验中保持室温 22 $^{\circ}\text{C}$ 。以台灯照射大鼠保持直肠温度 36.8~37.1 $^{\circ}\text{C}$ 。手术操作完毕, 检测动脉血气及血常规, 记录基础值。

ANHD 组根据基础红细胞比容 (Hct) 值计算放血量。放血量 = 体质量 \times 7.4% \times (放血前 Hct - 目标 Hct) \times 2 / (放血前 Hct + 目标 Hct), 其中目标 Hct 为 0.30。ANHD 的实施: 经股动脉放血, 同时经股静脉输入等量血定安, 放血速度以维持血压、心率不变为准。约 15 min 内达到目标 Hct。血液稀释后稳定 15 min。用双极电凝烧闭左大脑中动脉, 烧闭后为防止再通, 用显微剪刀将其剪断。烧闭范围从嗅束上方 1 mm 至下方 1 mm。对照组暴露左大脑中动脉后烧闭, 造成脑缺血。

局部脑血流 (local cerebral blood flow, LCBF) 监测: 将激光多普勒血流仪 (美国 VASAMEDICS 公司) 针式探头垂直对准左顶部圆孔, 探头距脑组织 0.5 mm, 连续监测 LCBF。记录缺血时和缺血后 5、10、15 min 时 LCBF, 以后每 15 min 记录 1 次至 120 min, 并计算各时间点 LCBF 占基础值的百分比 (LCBF%)。缺血 2 h 后拔除血管内置管, 缝合伤口。完全清醒后放回饲养笼中饲养。

缺血 24 h 后,腹腔注射 10 %水合氯醛 400 $\mu\text{g/g}$ 麻醉,断头法处死动物,3 min 内迅速取脑,置于 - 20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中冷冻 10 min 后于视交叉水平切成 2 mm 厚脑片,置于 2 %红四氮唑 (2,3,5-triphenyl-tetrazolium chloride, TTC,美国 Sigma 公司)溶液中染色,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 30 min。染色后将组织置于 10 %甲醛中保存,于 5 d 内拍照留用,用图像分析软件(中科院空海公司,Champion-500w 图文报告管理系统)计算脑梗死面积。分别计算梗死面积占缺血半球面积百分比(I),梗死皮质占半球总皮质面积的百分比(Ic),梗死皮质下面积占半球总皮质下面积的百分比(Is),为消除脑水肿使缺血半球涨大变形所造成的误差,根据 Swanson 等介绍的方法计算^[4],即 $Ic/\% = 100 \times (Sc - S1) / Sc$,其中 Sc 为对侧半球皮质面积,S1 为缺血侧正常皮

质面积。

监测指标:平均动脉压(MAP)、HR、直肠温度、 $p(\text{CO}_2)$ 、 $p(\text{O}_2)$ 、pH、氧饱和度(SaO_2)、氧浓度 $c(\text{O}_2)$ 、Hb、Hct,脑缺血周围区 LCBF:分别于缺血前(基础值)、缺血即刻(0)、5、10、15、30、45、60、75、90、105、120 min 连续监测 LCBF,记算 LCBF 变化的百分比。其中 $c(\text{O}_2) = 1.34 \times \text{Hb} \times \text{SaO}_2 + 0.003 \times p(\text{O}_2)$ 。

统计分析:采用 SPSS 8.0 软件,用单因素方差分析和 t 检验进行统计。

2 结果

2 组动物生化指标的比较及血液稀释后的变化见表 1。由表 1 可见,对照组与 ANHD 组的基础值间无显著性差异,表明 2 组间有可比

表 1 对照组和 ANHD 组动物生化指标的比较和血液稀释后的变化

检测项目	对照组	ANHD 组	
		基础值	ANHD 后
MAP/ kPa	12.67 \pm 1.33	12.38 \pm 0.88	12.32 \pm 1.47
HR/ (次 $\cdot \text{min}^{-1}$)	421.5 \pm 30.1	405.5 \pm 31.5	410.37 \pm 30.30
(Hb)/ (g $\cdot \text{L}^{-1}$)	150.9 \pm 10.7	152.1 \pm 10.4	99.5 \pm 11.9 **
Hct	0.47 \pm 0.04	0.47 \pm 0.03	0.31 \pm 0.04 **
pH	7.38 \pm 0.02	7.38 \pm 0.02	7.39 \pm 0.01
$p(\text{CO}_2)$ / kPa	5.40 \pm 0.48	5.62 \pm 0.41	5.47 \pm 0.33
$p(\text{O}_2)$ / kPa	12.87 \pm 0.61	13.02 \pm 0.51	12.98 \pm 0.38
SaO_2	0.97 \pm 0.02	0.98 \pm 0.04	0.97 \pm 0.02
$c(\text{O}_2)$ / (mmol $\cdot \text{L}^{-1}$)	8.85 \pm 0.65	8.89 \pm 0.57	5.91 \pm 0.74 **

2 组均 $n=8$; ** 与对照组和 ANHD 前比较 $P<0.01$

性。而 ANHD 后,Hb、Hct 和 $c(\text{O}_2)$ 与基础值和对照组比较均有非常显著性差异 ($P<0.01$)。

2 组脑缺血前后 LCBF 的变化见图 1。

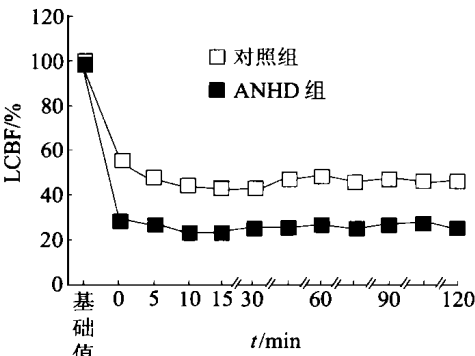


图 1 2 组脑缺血前后 LCBF 的变化

由图 1 可见,在脑缺血后,对照组和 ANHD 组的缺血周边区的 LCBF 均有非常显著下降 ($P<0.01$),并且随着时间的延长无明显变化。组间比较,ANHD 组的 LCBF 下降幅度在各个时间点均比对照组显著减小 ($P<0.01$)。

TTC 染色后 2 组脑梗死面积的比较见表 2。由表 2 可见,ANHD 组梗死皮质和皮质下面积均比对照组明显缩小,具有显著性差异 ($P<0.05$, $P<0.01$),说明血液稀释对脑缺血具有脑保护作用。

表 2 对照组和 ANHD 组 I、Ic、Is 的比较 %

组别	I	Ic	Is
对照组	51.19 \pm 6.15	51.62 \pm 8.84	49.59 \pm 4.53
ANHD 组	40.01 \pm 4.19 **	39.62 \pm 11.11 *	39.58 \pm 8.96 *

2 组均 $n=8$;与对照组比较 * $P<0.05$, ** $P<0.01$

3 讨论

大量动物实验表明,在一定范围内血液稀释后,随着 Hct 的降低,CBF 逐渐增加^[5~8]。血液稀释时 CBF 增加的确切机制还不明确,目前的观点认为,这是由血氧含量与血液黏度降低共同作用的结果^[7,8]。利用胶体液血液稀释可缩小动物局部脑缺血模型的脑梗死面积^[9~11]。Yanaka 等认为^[10],血液稀释脑保护作用的最佳时机是缺血后 3 h;而缺血 6 h 后再进行血液稀释不但无益,反而有害。Lee 等认为当 Hct 被稀释至 0.30 时,具有最佳的脑保护作用^[11]。Cole 等认为,当 Hct 0.30 时,CBF 增加的好处就会大于血氧含量下降的缺点^[12],并且血液稀释改善脑微循环^[13],增进组织氧合,脑氧供并无减少,反而增加^[11]。所以用血液稀释治疗脑缺血仅限于中度血液稀释。本研究亦采用中度血液稀释,使 Hct 从 0.48 ± 0.03 降低至 0.31 ± 0.04 后,虽然血液携氧能力降低, $c(O_2)$ 从 $(8.89 \pm 0.57) \text{ mmol/L}$ 降低至 $(5.91 \pm 0.74) \text{ mmol/L}$,但是 CBF 增加,脑氧供并无减少,反而增加。阻塞大脑中动脉造成局部脑缺血 24 h 后,脑梗死面积从 $(51.19 \pm 6.15) \%$ 下降至 $(40.01 \pm 4.19) \%$,与国外报道一致,进一步证实了血液稀释的脑保护作用。

本研究采用激光多普勒血流仪可连续、实时监测 LCBF,但不能测出 LCBF 血流量的绝对值^[14],只能测出其相对变化值,因而不能比较 2 组的 LCBF 基础值。大鼠脑缺血后,ANHD 组与对照组的 LCBF 分别下降至基础值的 $(55.77 \pm 13.57) \%$ 和 $(28.50 \pm 8.29) \%$,ANHD 组的下降幅度明显低于对照组,所以,脑缺血后 ANHD 组的 LCBF 仍然大于对照组。故在本研究中,脑缺血后 2 组的脑氧供均下降,但 ANHD 组的下降幅度明显小于对照组,其脑缺血周边区的脑氧供大于对照组,使脑缺血损伤降低,脑梗死面积缩小。Korosue 等也发现血液稀释可增加兔脑缺血模型的脑缺血区与非脑缺血区的 CBF^[15],与本研究结果相似。

本研究采用 TTC 染色方法取代传统的 HE 染色方法来检测脑梗死面积,是因为 TTC 染色法可以防止在 HE 染色制备切片时,因为组织收缩而影响梗死面积检测结果^[2]。而且 HE 染色法繁琐,费用高,耗时长。本研究在大鼠脑缺血后 24 h 取材,是因为在这个时间用 TTC 染色观察脑梗死面积最稳定,最精确^[2]。

综上所述,中度急性等容血液稀释可以增大大鼠局部脑缺血模型的缺血周边皮质的局部脑血流,缩小脑梗死面积,在脑缺血情况下,具有脑保护作用。

参 考 文 献

- 1 邓硕曾. 血液保护与血液麻醉. 国外医学输血及血液学分册, 1998, 21: 213 ~ 217
- 2 Kittaka M K, Giannotta S L, Zelman V, et al. Attenuation of brain injury and reduction of neuron-specific enolase by nicardipine in systemic circulation following focal ischemia and reperfusion in a rat model. J Neurosurg, 1997, 87: 731 ~ 737
- 3 Bederson J B, Pitts L H, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion: Evaluation of the model and development of a neurologic examination. Stroke, 1986, 17: 472 ~ 476
- 4 Swanson R A, Morton M T, Tsao W G, et al. A semiautomated method for measuring brain infarct volume. J Cereb Blood Flow Metab, 1990, 10: 290 ~ 293
- 5 Tu Y K, Liu H M. Effects of isovolemic hemodilution on hemodynamics, cerebral perfusion, and cerebral vascular reactivity. Stroke, 1996, 27: 441 ~ 445
- 6 Toiyama Y, Brian J E J, Todd M M. Cerebral blood flow during hemodilution and hypoxia in rats: Role of ATP-sensitive potassium channels. Stroke, 1999, 30: 1942 ~ 1948
- 7 Toiyama Y, Jansen K, Brian J E J, et al. Hemodilution, cerebral O_2 delivery, and cerebral blood flow: A study using hyperbaric oxygenation.

- Am J Physiol, 1999, 276: H1190 ~ H1196
- 8 Cole D J, Drummond J C, Patel P M, et al. Effects of viscosity and oxygen content on cerebral blood flow in ischemic and normal rat brain. J Neuro Sci, 1994, 124: 15 ~ 20
- 9 Korosue K, Heros R C, Ogilvy C S, et al. Comparison of crystalloids and colloids for hemodilution in a model of focal cerebral ischemia. J Neurosurg, 1990, 73: 576 ~ 584
- 10 Yanaka K, Camarata P J, Spellman S R, et al. Optimal timing of hemodilution for brain protection in a canine model of focal cerebral ischemia. Stroke, 1996, 27: 906 ~ 912
- 11 Lee S H, Heros R C, Mullan J C, et al. Optimum degree of hemodilution for brain protection in a canine model of focal cerebral ischemia. J Neurosurg, 1994, 80: 469 ~ 475
- 12 Cole D J, Schell R M, Drummond J C, et al. Focal cerebral ischemia in rats: Effects of hypervolemic hemodilution with dextran cross-linked hemoglobin versus albumin on brain injury and edema. Anesthesiology, 1993, 78: 335 ~ 342
- 13 Hudetz A G, Wood J D, Biswal B B, et al. Effect of hemodilution on RBC velocity, supply rate, and hematocrit in the cerebral capillary network. J Appl Physiol, 1999, 87: 505 ~ 509
- 14 常鹏飞, 王忠诚, 栾国明. 激光多普勒血流测量及其在神经外科的应用. 国外医学脑血管病分册, 1996, 4: 95 ~ 97
- 15 Korosue K, Heros R C. Mechanism of cerebral flow augmentation by hemodilution in rabbits. Stroke, 1992, 23: 1487 ~ 1493

Effects of Hemodilution on Cerebral Blood Flow and Infarction Size in Rat Model of Focal Cerebral Ischemia

Mei Hongxun, Wang Enzhen

Department of Anesthesia, Beijing Tiantan Hospital,

Affiliate of Capital University of Medical Sciences

Zhai Jing, Zhang Hui, Zhang Jiajin

Department of Biochemistry, Beijing Neurosurgical Institute

Abstract: In order to assess the effects of moderate acute normovolemic hemodilution (ANHD) on cerebral blood flow and infarction size in a rat model of focal cerebral ischemia, sixteen Wistar rats were randomly assigned into two groups: control group ($n = 8$) and ANHD group ($n = 8$). The Hct of the animals in ANHD group was reduced to 30.7%. Cortical local cerebral blood flow (LCBF) was monitored in both groups before and during the 120 min occlusion of the left middle cerebral artery with laser Doppler flowmetry. The infarction size of each brain was determined at 24 h after ischemia. LCBF significantly decreased in both groups ($P < 0.01$). The decreasing degree of the ANHD group was significantly lower than that of the control group ($P < 0.01$), and its cerebral infarction size was significantly smaller than that of the control group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The results indicate that moderate ANHD increases cortical LCBF and decreases cerebral infarction size in a rat model of focal ischemia. It has a protective effect on cerebral ischemia.

Key words: hemodilution; cerebral ischemia; cerebral blood flow; cerebral infarction