

• 基础研究 •

不同液体复苏对颅脑外伤并发急性失血性休克大鼠脑保护作用比较

梅弘勋¹, 张绍东², 王恩真¹, 万虹²

[摘要] 目的 比较不同种类液体复苏对大鼠颅脑外伤并发急性失血性休克模型的局部脑血流(rCBF)、脑水肿和血脑屏障(BBB)的影响。方法 SD大鼠 60 只随机分为 5 组:①假手术组(I 组);②脑外伤+休克组(II 组);③生理盐水组(III 组);④10%羟乙基淀粉(HES)组(IV 组);⑤小容量高晶体-高胶体渗透压混合液(HHS, 7.5% NaCl 与 10% HES 按 1:1 混合)(V 组)。记录外伤、休克和复苏前后平均动脉压(MAP)和 rCBF 的变化,测定复苏后 3 h 脑组织含水量以及脑组织伊文思蓝(EB)含量。结果 在复苏后即刻,III、IV、V 组 MAP 和 rCBF 均恢复正常,分别在 15 min、30 min 和 45 min 后开始下降,至 120 min 时,V 组显著高于 III、IV 组($P < 0.05$)。复苏后 3 h, V 组脑组织含水量双侧正常,III 组双侧均显著高于 I、V 组($P < 0.05$);II、III 组损伤侧脑组织 EB 含量显著高于 IV、V 组($P < 0.05$)。结论 小容量 HHS 复苏能够有效、持久地恢复颅脑外伤并发失血性休克大鼠的 MAP 和 rCBF,减轻脑水肿,改善 BBB。NS 恢复 MAP 和 rCBF 的时间较短,加重脑水肿和 BBB 破坏。10% HES 的作用介于小容量 HHS 和 NS 之间。

[关键词] 脑外伤;失血性休克;复苏;脑水肿;脑血流;血脑屏障;大鼠

Effects of Fluid Resuscitation on Cerebral Protection in A Rat Model of Traumatic Head Injury Complicated with Hemorrhagic Shock MEI Hong-xun, ZHANG Shao-dong, WANG En-zhen, et al. Department of Anesthesiology, Beijing Tiantan Hospital, Capital University of Medical Sciences, Beijing 100050, China

[Abstract] Objective To compare the effects of normal saline (NS), 10% hydroxyethyl starch (HES) and hypertonic hyperoncotic solution (HHS, 7.5% NaCl/10% HES) on regional cerebral blood flow (rCBF), brain edema and blood-brain barrier (BBB) in a rat model of traumatic head injury (THI) complicate with hemorrhagic shock. Methods 60 SD rats were randomized into 5 groups: sham group ($n=12$), model group ($n=12$), NS group ($n=12$), HES group ($n=12$) and HHS group ($n=12$). rCBF and mean arterial pressure (MAP) were determined before and after THI, hemorrhagic shock and resuscitation. Cerebral water content and Evans Blue (EB) content were assessed 3 h after resuscitation. Results MAP and rCBF were restored to baseline values immediately after resuscitation in all resuscitated group and began to decrease 15 min, 30 min or 45 min later, respectively ($P < 0.05$). 3 h after resuscitation, the brain water content was higher in NS group than those in sham or HHS group ($P < 0.05$). EB contents of injured hemispheres were higher in model and NS group than those in HES or HHS group ($P < 0.05$). Conclusion Small-volume resuscitation with HHS can restore MAP and rCBF, decrease brain edema and improve BBB in a rat model of THI complicate with hemorrhagic shock.

[Key words] brain trauma; hemorrhagic shock; resuscitation; brain edema; cerebral blood flow; blood-brain barrier; rat

中图分类号:R651.1 文献标识码:A 文章编号:1006-9771(2006)05-0396-03

[本文著录格式] 梅弘勋,张绍东,王恩真,等.不同液体复苏对颅脑外伤并发急性失血性休克大鼠脑保护作用比较[J].中国康复理论与实践,2006,12(5):396-398.

对颅脑外伤并发急性失血性休克的复苏选择何种液体最理想一直有争议^[1],不恰当的液体复苏可能会导致继发性脑损伤而提高死亡率。本研究观察生理盐水(normal saline, NS)、10%羟乙基淀粉(hydroxyethyl starch, HES)和小容量高晶体-高胶体渗透压混合液(hypertonic hyperoncotic solution, HHS)复苏对大鼠颅脑外伤并发急性失血性休克模型局部脑血流(regional cerebral blood flow, rCBF)、脑水肿和血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)的影响,为临床上颅脑外伤并发休克患者的液体治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 健康成年雄性 SD 大鼠 60 只,体重 300~350 g,随机分为 5 组,每组 12 只:I 组:假手术组;II 组:模型组;III 组:NS 组;IV 组:HES 组;V 组:HHS(7.5% NaCl 与 10% HES 按 1:1 混合)组。

1.2 模型制作 所有动物均于实验当日晨禁食。

10%水合氯醛按 4 ml/kg 腹腔注射,麻醉满意后,分离双侧股动脉和右侧股静脉并置管,分别用于监测直接平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)、休克时放血以及复苏时补液的通路。在左顶部前囟后 4.5 mm,矢状缝左 3.5 mm 用牙钻开一个 2×3 mm 的矩形骨窗,硬脑膜保持完整。

上述步骤完毕稳定 30 min 后,将除 I 组外的动物固定于立体定位仪上。按照 Feeney 改良法^[2],用重 20 g 砝码自 40 cm 高处垂直自由落下,撞击预置于顶部硬膜外的立柱体(深度 2.5 mm),致左侧顶部脑挫裂伤。将动物从立体定位仪上取下,按照 Wiggers 改良法^[3]经股动脉急性放血,使 MAP 降至 40 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa),维持此血压 1 h;当 MAP>40 mmHg 时,继续放血,当 MAP<40 mmHg 时,则经股静脉输入部分失血。

1.3 液体复苏 III~V 组在休克 1 h 后开始复苏:III 组经股静脉输入 3 倍于放血量的 NS;IV 组输入等于放血量的 10% HES;V 组按 4 ml/kg 输入预先配好的 HES。实验中保持室温 22℃,用台灯照射大鼠保持直肠温度 36.8℃~37.2℃。

1.4 rCBF 的监测 每组随机选取 8 只动物,在左额

作者单位:1.首都医科大学附属北京天坛医院麻醉科,北京市 100050;2.北京市神经外科研究所,北京市 100050。作者简介:梅弘勋(1972-),女,江苏泰兴市人,博士,主治医师,主要研究方向:围手术期的脑保护。

部距中线和冠状缝均为 2 mm 处钻一个直径为 1.5 mm 的圆孔,小心去除硬脑膜,露出大脑皮层表面。用 Periflux 5010 型激光多普勒血流仪(瑞典 Perimed 公司)PE-420 型纤维探头垂直对准皮层表面,并用牙托粉与颅骨妥善固定,连续监测 rCBF。Ⅲ~Ⅴ组于外伤前(基础值),外伤后 10 min,外伤+休克后 60 min,复苏后即刻、15 min、30 min、45 min、60 min、90 min 和 120 min,另二组在相对应的时间点,记录 MAP 和 rCBF。rCBF 记录为基础值的百分比。

1.5 脑组织含水量的测定 采用称重法。每组随机选取 6 只动物,Ⅰ组在手术操作后 4 h,Ⅱ组在休克后 4 h,Ⅲ~Ⅴ组在复苏后 3 h 处死动物,立即取双侧背外侧皮层组织,称湿重(精确到 0.1 mg)后,置于 100 ℃ 恒温烘箱 48 h 后再称干重。

组织含水量 = (湿重 - 干重) / 湿重 × 100 %

1.6 BBB 通透性的测定 采用脑组织伊文思蓝(Evens Blue,EB)含量的测定。每组随机选取 6 只动物,Ⅰ组在手术操作后 3 h,Ⅱ组在休克后 3 h,Ⅲ~Ⅴ组在复苏后 2 h,经股静脉注入含 2 %EB 的生理盐水 4 ml/kg,1 h 后开胸,通过左心室灌注生理盐水,灌注压为 110 mmHg,直到右心房流出的液体无色为止。断头取脑,取双侧背外侧新皮层,称重(精确到 0.1 mg)后置入 50 %三氯乙酸溶液中,匀浆,10000 r/min 离心 20 min,取上清液,按 1 : 3 的比例用乙醇稀释。荧光分光光度计测定荧光强度(激发波长 620 nm,发射波长 680

nm)。用倍比稀释法制作标准曲线,根据标准曲线,求出脑组织中 EB 的含量。

1.7 统计学方法 所有数据用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,组内比较采用双因素方差分析, $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 MAP 在复苏后即刻,Ⅲ~Ⅴ组的 MAP 上升至基础值水平,分别在复苏后 15 min、30 min、45 min 开始下降,至 120 min 时Ⅳ、Ⅴ组的 MAP 水平高于Ⅱ、Ⅲ组($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 rCBF 外伤后 10 min,rCBF 减少($P < 0.05$);在复苏后即刻,各复苏组 rCBF 可增加至基础值水平,分别在复苏后 15 min、30 min 和 45 min 开始减少,至 120 min 时,Ⅴ组的 rCBF 水平高于Ⅱ~Ⅳ组($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 脑组织含水量 Ⅴ组双侧脑组织含水量恢复正常,Ⅲ组双侧脑组织含水量均高于Ⅰ、Ⅳ组($P < 0.05$);Ⅱ~Ⅳ组损伤侧脑组织含水量高于健侧($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 脑组织 EB 含量 Ⅱ~Ⅴ组损伤侧脑组织 EB 含量高于健侧($P < 0.05$);在损伤侧脑组织,Ⅱ~Ⅴ组 EB 含量均高于Ⅰ组($P < 0.05$);其中Ⅱ、Ⅲ组高于Ⅳ、Ⅴ组($P < 0.05$);在健侧脑组织,各组间比较无显著性差异($P > 0.05$)。见表 4。

表 1 各组 MAP 的变化 (mmHg)

时间	Ⅰ组	Ⅱ组	Ⅲ组	Ⅳ组	Ⅴ组
手术前	74.13 ± 11.12	76.94 ± 13.06	78.75 ± 10.33	79.25 ± 7.66	76.75 ± 7.36
外伤后 10 min	74.38 ± 12.08	73.44 ± 11.08	76.81 ± 9.61	78.25 ± 9.82	73.06 ± 7.11
休克后 60 min	73.25 ± 13.91	40.31 ± 0.70 ^a	39.94 ± 0.85 ^{a,b}	40.13 ± 1.31 ^{a,b}	40.31 ± 1.25 ^{a,b}
复苏后即刻	68.38 ± 11.45	44.69 ± 3.46 ^a	77.00 ± 10.52	74.81 ± 8.60	73.31 ± 6.67
复苏后 15 min	68.75 ± 11.85	45.44 ± 6.81 ^a	60.56 ± 6.20 ^{a,c}	76.88 ± 7.45	78.63 ± 6.53
复苏后 30 min	70.63 ± 6.00	46.94 ± 7.58 ^a	55.44 ± 7.35 ^{a,c}	67.94 ± 7.89 ^{a,c}	73.44 ± 5.05
复苏后 45 min	67.88 ± 6.79	40.31 ± 6.70 ^a	55.06 ± 6.75 ^{a,c}	63.00 ± 10.33 ^{a,c}	69.44 ± 6.91 ^{a,c}
复苏后 60 min	63.63 ± 6.37	45.56 ± 9.13 ^a	51.19 ± 7.25 ^{a,c}	59.25 ± 8.89 ^{a,c}	66.06 ± 6.82 ^{a,c}
复苏后 90 min	64.88 ± 9.26	44.25 ± 9.04 ^a	48.81 ± 4.10 ^{a,c}	59.13 ± 8.62 ^{a,c}	63.63 ± 5.33 ^{a,c}
复苏后 120 min	60.88 ± 9.72	43.63 ± 8.76 ^a	46.62 ± 3.93 ^{a,c}	55.56 ± 7.19 ^{a,c}	58.94 ± 4.49 ^{a,c}

注:a:与基础值比较, $P < 0.05$;b:与组内其他时段比较, $P < 0.05$;c:与复苏后即刻比较, $P < 0.05$ 。

表 2 各组 rCBF 的变化 (%)

时间	Ⅰ组	Ⅱ组	Ⅲ组	Ⅳ组	Ⅴ组
外伤后 10 min	99.88 ± 6.42	60.63 ± 8.05 ^a	59.25 ± 7.92 ^a	65.22 ± 6.12 ^a	60.53 ± 5.96 ^a
休克后 60 min	98.13 ± 10.67	50.25 ± 8.39 ^a	48.38 ± 6.58 ^a	52.02 ± 8.13 ^a	54.10 ± 9.42 ^a
复苏后即刻	98.00 ± 10.23	50.63 ± 7.29 ^a	92.38 ± 13.9 ^b	94.78 ± 14.82 ^b	99.00 ± 15.87 ^b
复苏后 15 min	96.11 ± 12.31	52.00 ± 7.19 ^a	68.13 ± 9.11 ^{a,b,c}	86.75 ± 10.88 ^{a,b}	95.63 ± 12.59 ^b
复苏后 30 min	94.25 ± 12.77	53.37 ± 9.69 ^a	57.38 ± 8.01 ^{a,c}	73.66 ± 14.87 ^{a,b,c}	87.24 ± 13.70 ^b
复苏后 45 min	97.20 ± 10.65	51.63 ± 9.33 ^a	54.86 ± 7.40 ^{a,c}	69.88 ± 10.89 ^{a,b,c}	76.88 ± 11.34 ^{a,b,c}
复苏后 60 min	93.08 ± 8.23	50.50 ± 9.94 ^a	51.88 ± 8.25 ^{a,c}	66.46 ± 11.85 ^{a,b,c}	70.38 ± 11.50 ^{a,b,c}
复苏后 90 min	92.25 ± 6.89	45.88 ± 8.51 ^a	48.38 ± 7.98 ^{a,c}	59.75 ± 9.24 ^{a,c}	66.75 ± 9.45 ^{a,c}
复苏后 120 min	96.21 ± 8.70	44.5 ± 6.72 ^a	46.38 ± 7.53 ^{a,c}	48.96 ± 7.29 ^{a,c}	59.57 ± 7.88 ^{a,c}

注:a:与基础值(100 %)比较, $P < 0.05$;b:与休克后 30 min 比较, $P < 0.05$;c:与复苏后即刻比较, $P < 0.05$ 。

表 3 各组脑组织含水量 (%)

组别	损伤侧皮层	健侧皮层
Ⅰ组	79.31 ± 0.64	79.01 ± 0.49
Ⅱ组	80.28 ± 0.63 ^{a,b,c}	79.53 ± 0.42 ^b
Ⅲ组	80.41 ± 0.43 ^{a,b,c}	79.69 ± 0.51 ^{a,b}
Ⅳ组	79.77 ± 0.80 ^{b,c}	78.92 ± 0.42
Ⅴ组	78.48 ± 0.59	78.41 ± 0.55

注:a:与Ⅰ组比较, $P < 0.05$;b:与Ⅴ组比较, $P < 0.05$;c:损伤侧皮层与健侧比较, $P < 0.05$ 。

表 4 各组脑组织 EB 含量 (ng/mg)

组别	损伤侧皮层	健侧皮层
Ⅰ组	9.570 ± 1.174	8.598 ± 0.971
Ⅱ组	13.751 ± 1.255 ^a	8.054 ± 0.849
Ⅲ组	14.824 ± 0.851 ^a	8.976 ± 1.013
Ⅳ组	11.936 ± 1.597 ^{a,b}	8.448 ± 0.837
Ⅴ组	11.814 ± 1.280 ^{a,b}	7.412 ± 1.094

注:a:与Ⅰ组比较, $P < 0.05$;b:与Ⅱ、Ⅲ组比较, $P < 0.05$ 。

3 讨论

急性颅脑损伤患者常常因合并其他器官损伤而并发失血性休克。据统计,严重脑外伤患者中约有 15%~35% 存在低血压^[5]。即使血压暂时轻度降低(收缩压较基础值降低 10%~29%),也会导致继发性脑损伤而增加死亡率^[6]。

对颅脑损伤并发失血性休克的复苏选择何种液体最理想一直有争议^[11]。复苏的目的是尽早恢复脑和全身的灌注。在颅脑损伤并发失血性休克的情况下,由于有效循环血容量严重不足,使心输出量显著减少,微循环障碍,使脑组织缺血缺氧加重^[7],导致继发性脑缺血损伤;但大量输液有加重脑水肿,升高颅内压(intracranial pressure, ICP)的危险。显然,最好的复苏液体应为小容量就可有效恢复脑和全身血流动力学,而不影响 ICP 和脑水肿。因此,对于颅脑外伤并发失血性休克使用小容量 HHS 早期复苏备受推崇^[8]。

由于 HHS 中高渗晶体成分的作用,仅需较小剂量就可明显升高血浆渗透压,使组织间液和细胞内液在渗透梯度的作用下转移至血管内,迅速增加有效循环血容量,恢复脑和全身的血流动力学,并维持稳定;而 HHS 中的胶体成分可延长重新分布的液体在血管内滞留的时间。因此, HHS 可迅速恢复循环血容量、减轻脑水肿并改善组织氧供^[9]。本研究结果提示,与 NS 和 HES 复苏比较,小容量 HHS 复苏恢复 MAP 和 rCBF 的时间最长,至观察期末, MAP 和 rCBF 均高于另两组,脑水肿和 BBB 损伤程度也较轻,提示对颅脑损伤并发急性失血性休克的治疗效果最好。

失血性休克传统的液体复苏是用 3~4 倍失血量的等渗晶体液,这会明显升高血管内静水压,降低血浆胶体渗透压,使血管内的水分很快即向组织扩散,加重脑水肿^[10],不利于神经功能恢复。本研究结果也显示与 HES 和 HHS 复苏比较,大量 NS 复苏,恢复 MAP 和 rCBF 的时间最短,脑水肿和 BBB 损伤程度最重,提示对颅脑损伤并发急性失血性休克的治疗效果最差。

10% HES 为高渗胶体液,可按 1.4:1 替代丢失的血容量,从而恢复有效循环血容量,改善微循环,且维持时间较长。但是, HES 的副作用也不容忽视。已有许多研究报道了 HES 对凝血功能^[11]和网状内皮系统^[12]的影响。本研究的结果提示,10% HES 复苏对颅脑损伤并发急性失血性休克的治疗效果明显好于 NS 复苏,但比小容量 HHS 的作用稍差。

脑水肿主要包括血管源性脑水肿、细胞毒性脑水肿和间质性脑水肿。本研究所采用的颅脑损伤模型可以复制人的撞击伤和加速性闭合性颅脑损伤。休克模型可致全脑缺血损伤,液体复苏又可致缺血再灌注损伤,因此,常出现 BBB 破坏伴血管源性和细胞毒性脑水肿^[13]。损伤侧脑组织以 BBB 被破坏所致的血管源性脑水肿为主,而健侧脑组织则以细胞代谢障碍所致的细胞毒性脑水肿为主。因此,脑水肿的程度和 BBB

被破坏的程度并不平行,这与本研究结果相符。一般认为, HHS 需要完好的 BBB 来发挥渗透作用,当 BBB 被破坏, HHS 可能会漏出血管,进入脑组织,甚至会加重脑水肿。因此, HHS 主要减轻健侧脑水肿,而对损伤侧脑水肿作用小。但是,本研究结果表明, HHS 对双侧脑水肿都能明显减轻,这可能是由于损伤侧被破坏的 BBB 比较局限,同时, HHS 明显改善了微循环障碍和脑组织氧供,减轻了继发性脑损伤,从而阻止了 BBB 的进一步破坏,所以对损伤侧脑水肿也能明显减轻。

多数研究认为,动物模型在损伤后早期就有 BBB 被破坏^[8],伤后 4 h 损伤最重。而临床上颅脑损伤所致 BBB 被破坏的时间过程与动物模型不同。Todd 等发现,人在脑外伤后 3~10 d, BBB 开始被破坏^[14]。Bullock 等发现,大多数 BBB 损伤见于伤后 2 d 的损伤周围组织^[15]。由于人在颅脑损伤的早期 BBB 相对完整,所以早期小容量 HHS 复苏的效果可能比动物模型的效果还要好。

[参考文献]

- [1] Zornow MH, Prough DS. Fluid management in patients with traumatic brain injury[J]. New Horizons, 1995, 3: 488-492.
- [2] Feeney DM, Boyeson MG, Linn RT, et al. Responses to cortical injury: Methodology and local effects of contusion in the rat[J]. Brain Res, 1981, 21: 67-76.
- [3] 刘俊杰, 赵俊. 现代麻醉学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1997: 1523-1524.
- [4] Feldman Z, Gurevitch B, Artru AA, et al. Neurologic outcome with hemorrhagic hypotension after closed head trauma in rats: effect of early versus delayed conservative fluid therapy[J]. J Trauma, 1997, 43: 667-672.
- [5] Chesnut RM, Marshall LF, Klauber MR, et al. The role of secondary brain injury in determining outcome from severe head injury[J]. J Trauma, 1993, 34: 216-222.
- [6] Shackford SR. Effect of small-volume resuscitation on intracranial pressure and related cerebral variables[J]. J Trauma, 1997, 42(5): S42-S58.
- [7] Hosomi N, Tsuda Y, Ichihara SI, et al. Duration threshold of induced hypertension on cerebral blood flow, energy metabolism and edema after transient forebrain ischemia in gerbils[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 1996, 16(6): 1224-1231.
- [8] Kreimeier U, Messmer K. Small-volume resuscitation: from experimental evidence to clinical routine. Advantages and disadvantages of hypertonic solutions[J]. Acta Anaesthesiol Scand, 2002, 46(6): 625-638.
- [9] 袁世英, 李杰, 姚尚龙, 等. 高晶体-高胶体渗透压混合液对失血性休克大鼠脑血流及脑组织含水量的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2001, 21: 740-742.
- [10] Drummond JC, Patel PM, Cole DJ, et al. The effects of the reduction of colloid oncotic pressure, with and without reduction of osmolality, on post-traumatic cerebral edema[J]. Anesthesiology, 1998, 88(4): 993-1002.
- [11] Franz A, Braunlich P, Gamsjäger T, et al. The effects of hydroxyethyl starches of varying molecular weights on platelet function[J]. Anesth Analg, 2001, 92: 1402-1407.
- [12] Van Rejen EA, Ward JJ, Little RA. Effects of colloidal resuscitation fluids on reticuloendothelial function and resistance to infection after hemorrhage[J]. Clin Diagn Lab Immunol, 1998, 5: 543-549.
- [13] Unterberg AW, Stroop R, Thomale UW, et al. Characterisation of brain edema following "controlled cortical impact injury"[J]. Acta Neurochir Suppl(Wien), 1997, 70: 106-108.
- [14] Todd NV, Graham DI. Blood-brain barrier damage in traumatic brain contusions[J]. Acta Neurochir Suppl(Wien), 1990, 51: 296-299.
- [15] Bullock R, Statham P, Patterson J, et al. The time course of vasogenic oedema after focal human head injury-evidence from SPECT mapping of blood brain barrier defects[J]. Acta Neurochir Suppl(Wien), 1990, 51: 286-288.

(收稿日期: 2006-03-29)