

较假手术组  $6\ 639 \pm 719$  明显减少 ( $P < 0.01$ )。亚低温组再灌注 60 min 时,纹状体多巴胺含量为  $5\ 292 \pm 1\ 347$  明显高于常温组 ( $P < 0.01$ )。

### 3 讨论

Takagi 等<sup>[4]</sup>在 Wistar 大鼠一侧颈总动脉注射微球体造成广泛性脑梗塞发现,纹状体内多巴胺的含量减少且纹状体有明显的梗死灶形成,而在脑缺血前耗竭多巴胺可减轻脑缺血性损伤,这提示脑缺血后纹状体多巴胺含量的改变与脑缺血再灌注损伤有关。实验发现沙土鼠常温全脑缺血 10 min 后,纹状体多巴胺的含量明显减少,而亚低温治疗可使纹状体内多巴胺含量下降程度减小,提示亚低温可减少脑缺血再灌注期间纹状体多巴胺的释放,这可能为减轻脑缺血再灌注损伤的机制之一。

Ahn 等<sup>[1]</sup>应用脑内微透析技术研究发现,沙土鼠 10 min 全脑缺血后脑细胞外液中多巴胺水平升高从脑缺血 3~4 min 后开始,20 min 左右达高峰,然后逐渐下降。过一段时间后脑细胞外液中多巴胺水平再次升高,约在 40 min 左右达第二次高峰然后逐渐下降,但在其后较长的一段时间内,脑细胞外液多巴胺水平平均高于基础值。在正常情况下,纹状体释放的多巴胺主要由纹状体重吸收,但这一重吸收过程需消耗 ATP。脑缺血后多巴胺水平升高是在缺血后 3~4 min,正好与脑缺血后 ATP 耗竭时间吻合,所以 Sam 等认为脑缺血后 ATP 耗竭是导致第一次多巴胺高峰形成的原因。在再灌注期间细胞外

多巴胺水平再次升高,可能与脑缺血导致细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  水平增高,激发脂质过氧化致细胞膜,贮存多巴胺的囊泡膜损伤,导致多巴胺大量释放所致<sup>[5]</sup>。实验发现,常温再灌注 60 min 时 ATP 已恢复至缺血前的 64%,但多巴胺的含量为缺血前的 52%,亚低温组 ATP 恢复至缺血前的 89%,但多巴胺为脑缺血前的 79%,因此脑缺血后纹状体多巴胺释放的机制难以用 ATP 耗竭来解释。从时间上看亚低温减轻脑缺血再灌注后多巴胺释放也应属于脑缺血期间多巴胺释放的第二阶段,这提示亚低温可能通过减少细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  超载而减少纹状体多巴胺的释放。

### 参 考 文 献

- 1 Ahn S, Blaha C, Alkire M, et al. Bishasic striatal dopamine release during transient ischemia and reperfusion in gerbils. *Stroke*, 1991, 22(5):674
- 2 谢 荣. 麻醉学. 第 3 版. 北京:科学出版社, 1994. 389
- 3 Sutton L N, Clark B J, Norword, et al. Global cerebral ischemia in piglets under conditions of mild and deep hypothermia. *Stroke*, 1991, 22(7):1567
- 4 Takagi N, Tsuru H, Yamamura M, et al. Changes in striatal dopamine metabolism after microsphere embolism in rats. *Stroke*, 1995, 20(6):1101
- 5 Shirotani T, Shima K, Chigasaki H, et al. In vivo studies of extracellular metabolites in the striatum after distal middle cerebral artery occlusion in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Stroke*, 1995, 26(5):878

(收稿:1998-04-05 修回:1998-08-25)

(本文编辑:程春开)

## 亚低温对脑缺血后延迟性神经元坏死的影响

许鹏程 陈 群 曾因明 范建伟 段世明

(附属医院麻醉科) (江苏省麻醉学重点实验室)

**摘要** 目的 研究亚低温对脑缺血后海马神经元迟发性坏死的影响。方法 沙鼠全脑缺血再灌注模型,脑缺血时间 10 min。分假手术组、常温组、亚低温组。亚低温持续时间 6 h,在缺血后第 7 d 时处死动物进行海马 CA1 区锥体细胞计数。结果 常温脑缺血 10 min,7 d 后海马 CA1 区锥体细胞几乎完全消失,亚低温治疗可明显减少脑缺血后海马 CA1 区锥体细胞的死亡数 ( $P < 0.05$ )。结论 亚低温可减少脑缺血后延迟性神经元坏死的数目。

**关键词** 脑缺血 亚低温 延迟性神经元坏死

**分类号** R364.12

### THE EFFECT OF MILD HYPOTHERMIA ON DELAYED NEURONAL DEATH FOLLOWING CEREBRAL ISCHEMIA

Xu Pengcheng, Chen Qun, Zeng Yinming, et al.

(Jiangsu Province Key Laboratory of Anesthesiology, Affiliated Hospital of  
Xuzhou Medical College, Xuzhou, Jiangsu 221002, China)

**ABSTRACT Objective** To investigate the protective effect of mild hypothermia (32 °C) on hippocampal neurons against delayed death after ischemia. **methods** Global brain ischemic model was produced by clamping both common carotid arteries for 10 min in gerbils. Reperfusion was continued for 6h in the 3 experimental group: sham-operation, normothermia and mild hypothermia. By the end of the 7th postischemic day, the animals were sacrificed to count the pyramidal cells in the CA1 region of the hippocampus. **Results** The number of dead pyramidal cells in CA1 region was much less in the hypothermic group than in the control and normothermic groups ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Postischemic mild hypothermia reduces the degree of delayed neuronal death after cerebral ischemia.

**KEY WORDS** Ischemia cerebral Hypothermia Delayed neuronal death

许多研究报告,亚低温可促进脑缺血后能量代谢的恢复,减少细胞内  $Ca^{2+}$  超载和氧自由基的产生,减轻脑缺血再灌注损伤。但关于亚低温对延迟性神经元死亡的作用目前意见还不一致<sup>[1]</sup>。本实验从病理学的角度研究亚低温对延迟性神经元坏死的影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 动物 沙土鼠体重 50~60 g,由浙江医科大学实验动物中心提供。分为假手术组、常温组、亚低温组,每组 6 只。假手术组仅游离颈总动脉不予结扎,所有动物缺血期间脑温均维持 37 °C。再灌注期间假手术组和常温组维持脑温 37 °C,亚低温维持脑温 32 °C 持续 6 h 后让脑温自行回升至 37 °C。

1.1.2 设备 HXD-I 型多功能监测仪,由黑龙江华翔科技开发公司生产, Spectramed 温度监测仪(美国)。

### 1.2 方法

1.2.1 动物缺血再灌注模型和脑电监测 沙土鼠双侧颈总动脉阻断缺血再灌注模型<sup>[2]</sup>。动物麻醉应用腹腔注射戊巴比妥钠 45 mg/kg。本实验以脑电呈等电位作为脑缺血的标志。脑电极用自凝牙托粉固定于前囟后 2 mm 处,中线旁 2 mm 处,参考电极置于中线。脑电信号输入 HXD-1 型多功能脑电监测仪,自动进行脑电分析处理。

1.2.2 脑温监测和维持 监测鼓膜温度来反映脑温<sup>[3]</sup>。实验时将漂浮导管头端的热敏电阻剥出,插入沙鼠耳内监测鼓膜温度。为便于温度控制,将沙鼠整个置于流动空气浴箱中,应用灯泡加热或冰块降温的方法控制沙鼠脑温于预定温度。

1.2.3 病理检查 在手术后第 7 d 沙鼠再次戊巴比妥钠麻醉后进行福尔马林灌注固定。首先经主动

脉灌注生理盐水 20 ml,继以 4% 福尔马林 100 ml,然后断头取脑并在 4% 福尔马林中浸泡 72 h,再石蜡包埋切片,HE 染色。切片位置在囟门后 1.7 mm 处。在高倍镜下(40×10)应用显微网格计数器计数海马 CA1 区内、中和外侧区域(100 $\mu$ m×100 $\mu$ m)内细胞膜和核膜完整、核仁清楚的锥体细胞数目。结果以各治疗组计数的海马 CA1 区锥体细胞占假手术组海马 CA1 区锥体细胞数的百分数表示<sup>[1]</sup>。

1.2.4 数据处理 数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,用  $F$  检验判断进行统计学分析。

## 2 结果

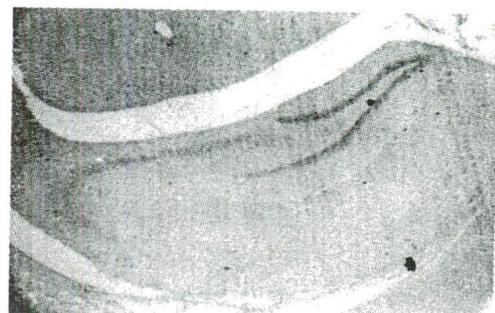
2.1 EEG 的变化 所有沙鼠在阻断双侧颈总动脉后,EEG 均在 1 min 内呈等电位。松夹再灌注后 EEG 逐渐恢复,但慢波所占比率明显增加。各治疗组 60 min 后 EEG 恢复接近缺血前水平,常温组 EEG 慢波比率仍高于缺血前。

2.2 病理检查 常温缺血 10 min 可使海马 CA1 区锥体细胞大部死亡,亚低温组明显减少海马 CA1 区锥体细胞死亡的数目( $P < 0.05$ )(见表 1 和图 1)。

表 1 各组海马 CA<sub>1</sub> 区锥体细胞计数( $\bar{x} \pm s$ , %,  $n = 6$ )

组别	内侧	中间	外侧
常温	3±2	4±3	7±4
亚低温	63±16*	74±14*	83±19*

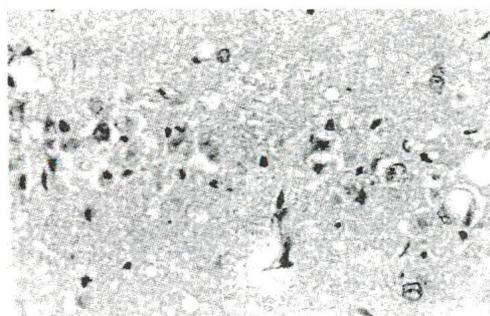
\* 与常温组相比  $P < 0.01$



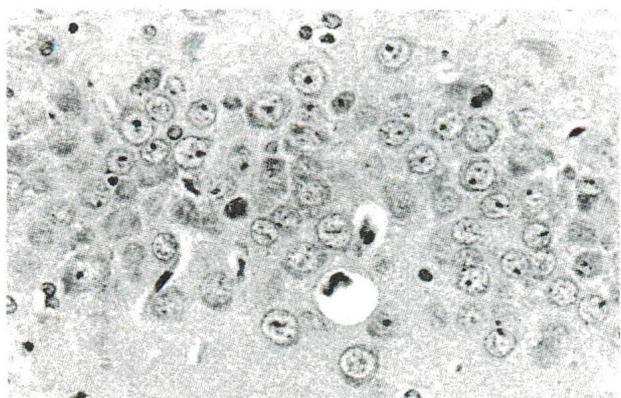
a



b



c



d

图1 亚低温对脑缺血后延迟性海马CA1区神经元坏死的影响  
a:脑缺血后常温组海马CA1区锥体细胞消失(4×100,H-E染色);b:脑缺血后亚低温组,可见海马CA1区锥体细胞颗粒(4×100,H-E染色);c:脑缺血后常温组,海马,可见大量锥体细胞凝固性坏死及少量完整细胞(4×100,H-E染色);d:脑缺血后亚低温组,海马,可见锥体细胞完整,核仁清晰(40×100,H-E染色)

### 3 讨论

EEG<sup>[4]</sup>是反映大脑皮层功能活动的最直接指

标,它与脑血流量存在密切的关系。当大脑皮层血流严重减少时,脑细胞电活动爆发性抑制,EEG呈等电位(isoelectric)。因此,脑电的变化能敏感地反应脑血流状态。本实验中,所有沙鼠在夹闭双侧颈总动脉后,EEG均在1min内成等电位,在再灌注后EEG逐渐恢复,说明本实验所用脑缺血模型是成功的。

海马CA1区的锥体细胞对缺血缺氧最为敏感,即使短暂的全脑缺血(3.5min)也能引起大量的锥体细胞死亡,因此,海马CA1区锥体细胞死亡的数目常作为判断脑缺血损伤严重程度的敏感指标。因为这些细胞的死亡一般在术后2~4d才开始,7d左右逐渐完善,故称其为延迟性神经元死亡(delayed neuronal death,DND)。本实验选择沙鼠脑缺血7d后处死进行病理检查也是基于此原因<sup>[5]</sup>。

实验发现沙鼠全脑缺血10min后,海马CA1区有大量锥体细胞迟发性死亡,低温治疗可明显减少海马CA1区锥体细胞的死亡数目,提示脑缺血后亚低温治疗能减少延迟性神经元坏死。Shuaib等<sup>[6]</sup>曾报道,脑缺血后亚低温不能减少延迟性神经元死亡的数目,分析其原因,主要在于脑缺血后亚低温持续的时间不同。Shaib等亚低温持续时间为2h,其减轻延迟性神经元死亡的作用不明显,但Suzanne<sup>[1]</sup>等应用12h的亚低温发现有明显的减轻延迟性神经元死亡的作用,我们研究发现脑缺血后持续6h的亚低温也能明显减少延迟性神经元死亡的数目,这些资料均表明,脑缺血后亚低温持续时间的长短直接影响亚低温的疗效。

### 参 考 文 献

- 1 Nurse S, Corbett D. Direct measurement of brain temperature during and after intraschemic hypothermia: Correlation with behavioral, physiological, and histological endpoints. *J Neurosci*, 1994, 14(12): 7726
- 2 俞国平, 方敏, 陈慧珍, 等. 蒙古沙土鼠完全脑缺血模型的研究. *微循环学杂志*, 1997, 7(3): 21
- 3 谢荣. *麻醉学*. 第3版. 北京: 科学出版社, 1994. 389~400
- 4 Faught E. Current role of electroencephalography in cerebral ischemia. *Stroke*, 1993, 24(4): 609
- 5 Frederick C, Dale C. Delayed postischemic hypothermia: a six month survival study using behavioral and histological assessments of neuroprotection. *J Neurosci*, 1995, 15(11): 7250
- 6 Shuaib A, Waqar T, Wishart T, et al. Post-ischemic therapy with CGS-19755 (alone or in combination with hypothermia) in gerbils. *Neuroscience Letters*, 1995, 191(1): 87

(收稿: 1998-04-13 修回: 1998-08-20)

(本文编辑: 程春开)