维普资讯 http://www.cqvip.com

论 著 文章编号:0253-3626(2008)05-0600-04

不同温度体外循环对兔皮层超微结构和体感皮层诱发电位的影响

马建军,闵 苏,张光新,魏 珂

(重庆医科大学附属第一医院麻醉科,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨不同温度体外循环(Cardiopulmonary bypass,CPB)对兔体感皮层诱发电位(Somatosensory cortical evoked potential,SCEP)和皮层神经元超微结构的影响。方法:成年新西兰白兔 30 只,雌雄不拘,体重(2.2 ± 0.5)kg,随机分成 3 组(n=10),常温组(A 组,维持 CPB 温度 36℃ ~ 37℃)、浅低温组(B 组,维持 CPB 温度 32℃ ~ 34℃)和深低温组(C 组,维持 CPB 温度 26℃ ~ 28℃)。维持 Hct 在 20% ~ 25%,建立开胸体外循环模型,转流量逐渐增加至 160ml/min;转流 2h 后,经坐骨神经刺激,记录体感皮层诱发电位;经颈动脉灌注固定液,取顶叶皮层组织行电镜检查。结果:C 组潜伏期高于 B 组,B 组潜伏期高于 A 组,A、B、C 3 组间两两相比,P<0.01 差异有统计学意义;C 组体感皮层诱发电位的波幅值最低,A、B、C 3 组间波幅值两两相比,P<0.01 差异有统计学意义;大脑皮层神经元细胞核肿胀,异染色质凝聚增多,核基质电子密度降低,核周间隙扩大,胞质肿胀。损伤程度 3 组间区别不明显。结论:体外循环温度越低对大脑皮层神经细胞体感皮层诱发电位的潜伏期和波幅抑制越明显;深低温体外循环对皮层神经元超微结构保护作用不显著。

【关键词】心肺转流术;温度;体感皮层诱发电位;超微结构

【中国图书分类法分类号】R654.1 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-10-26

The effects of the cardiopulmonary bypass temperature on somatosensory cortical evoked potential and super microstructure of cortex in rabbit

MA Jian-jun, et al

(*Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: The objective of this study is to detect the effects of normothermic, mild hypothermic, hypothermic cardiopulmonary bypass(CPB) on somatosensory cortical evoked potential(SCEP) and super microstructure of cortex in rabbits. *Methods*: Thirty new zealand white rabbits, randomly allocated into three groups; group A: normothermia CPB(36℃ ~ 37℃); group B: mild hypothermia CPB(32℃ ~ 34℃); group C: hypothermia CPB(26℃ ~ 28℃); Made the open-heart CPB model, maintaining HCT 20% ~ 25%, the duration of CPB is 2 hours; Stimulating from ischiadic nerve, recording SSEP by the time of the end of CPB, The animals were then killed and the cortex were removed for electro microscopic examination. *Results*: The latency of group C is longer than group B, the latency of group B is longer than the group A, compare between each group (P<0.01), the diffrency is significant; The amplitude of group C is lowest, compare between each group(P<0.01), the diffrency is significant. the super microstructure of neuron and fiber after CPB has no obvious difference among the three group: the nucleus and the cytoplast of the neuron in cortex is swollen, and the heterochromatin of chromatin in nucleus is agglomerated, the perinuclear space is enlarged slightly, the electron density of the nuclear matrix is degraded. *Conclusions*: the lower CPB temperature, the more inhibitions on the function of cortical neuron; the hypothermia CPB has no obvious protection on the super microstructure of cortex in rabbit.

【Key words】 Cardiopulmonary Bypass; Temperature; Somatosensory Cortical Evoked Potential; Super microstructure

SCEP 在脑血管和低温手术中被用作评价神经功能[1-3],是研究大脑皮层机能活动的主要指标。CPB 脑损伤是体外循环的严重并发症之一,如何在体外循环中进行脑功能的监测是近年来研究的热点。学术界长期以来就存在体外循环温度对术后神

作者介绍:马建军(1976-),男,住院医师,硕士,研究方向:体外循环与心肌保护。

通讯作者:闵 苏,女,主任医师,E-mail:minsu89011068@yahoo.com.cn。

维普资讯 http://www.cqvip.com

经功能结局影响的争论。本研究拟观测不同温度体外循环条件下兔体感皮层诱发电位和皮层神经元超微结构的变化，探讨不同温度体外循环对脑损伤的影响。

1 材料与方法

1.1 动物分组与准备

30 只新西兰大白兔(重庆医科大学实验动物中心提供，本实验经重庆医科大学实验动物伦理委员会同意)，雌雄不拘，体重(2.2±0.5)kg。随机分为 3 组：A 组(体外循环温度：36℃～37℃)、B 组(体外循环温度：32℃～34℃)、C 组(体外循环温度：26℃～28℃)。实验前禁食 4h，禁水 2h；颈前区及胸前区脱毛。

1.2 建立体外循环模型

1.2.1 预充液与膜肺处理 预充液配制：4%琥珀酰明胶注射液 20～30ml/kg，复方氯化钠注射液 25～30ml/kg，5%碳酸氢钠 5～8ml/kg，25%硫酸镁 0.5ml/kg，地塞米松 0.5mg/kg，速尿 2mg，20%甘露醇 4～5ml/kg。预期预充后红细胞压积为 20%～25%；体外循环机为 GD-771 血泵(广州东方红医疗器械厂)，膜肺(D901 lillpuel DIDECO 公司 意大利)及管道用生理盐水反复冲洗干净，再用肝素生理盐水冲洗 3 次备用。

1.2.2 CPB 模型 3.5%戊巴比妥钠(30～35mg/kg)腹腔注射麻醉，仰卧固定于小动物手术台，面罩吸氧 1L/min。7 号头皮针经耳缘静脉建立静脉通道，气管切开插管(3.5 号气管导管)。连接小动物呼吸机(TKR-200A 型，特力麻醉呼吸设备公司 南昌)辅助呼吸，潮气量 22～25ml/kg，呼吸频率 45～50 次。暴露右侧颈内静脉，插入 4mm 静脉引流管至右心房(深度 6～8cm)，向颅内方向插入引流管(深度 2～3cm)采集颈内静脉血液；胸骨正中切口，游离右锁骨下动脉和左侧颈总动脉，主动脉根部套 7 号丝线作阻断带。经耳缘静脉全身肝素化后(肝素钠注射液 700IU/kg)，由左侧颈总动脉插入内径 1mm 的输液管道至主动脉根部，并超过主动脉根部的阻断带。经右锁骨下动脉插入磨钝的 16 号注射器针头作为动脉插管，右房插入 4mm 内径的引流管。分别连接已经预充好的体外循环管道，建立体外循环(转流量逐渐增加至 160ml/min)。同时通过变温水箱降温，A 组：连接恒温水箱(HX-10555 恒温循环器，北京四环科学仪器厂)维持 36℃～37℃，B 组：用变温水箱(HYP 10-200 变温水箱，Gambro 公司 瑞典)降温至 32℃～34℃，C 组：变温水箱加 40%酒精全身水浴降温至 26℃～28℃。当鼓膜温降到低于 30℃ 时，缓慢阻断主动脉，同时通过主动脉根部插管缓慢灌注 St.Thomas Ⅱ 型心脏停搏液(15～20ml/kg)。在主动脉阻断 30min 时，再灌注半量心脏停搏液；所有降温过程均在 30min 内完成。转流 30min 后追加 1/3 初始剂量的 3.5%戊巴比妥钠和肝素钠注射液，总转流时间 2h。转流过程中，维持平均动脉压(MAP)55～75mmHg (1mmHg=0.133kPa)。

1.3 体感皮层体感诱发电位的监测

1.3.1 动物的固定、暴露大脑皮层 在头顶部切开皮肤，用温热生理盐水纱布擦净额、顶骨骨膜，用牙科钻在一侧颅骨上开 4mm×8mm 骨窗(冠状缝前 3mm～冠状缝后 5mm，矢状缝旁 4mm，见图 1)。手术过程中勿伤硬脑膜，如有出血用骨蜡或明胶海绵止血。手术完后用温热生理盐水棉花覆盖在骨窗上。

1.3.2 分离对侧坐骨神经，安置保护刺激电极。

1.3.3 固定兔头部，安放引导电极 将头部固定在立体定位仪上，以冠状缝和矢状缝交点处为零点，并记下位置(AP1mm，LR1.5mm)，然后以零点作为基准，安放引导电极在矢状缝旁 3mm 处的硬脑膜上。无关电极和接地电极放在头皮切口边缘处。

1.3.4 记录体感皮层体感诱发电位 打开生物机能实验系统(BL-410，泰盟科技有限责任公司，成都)，用单触发刺激坐骨神经(3V、0.1ms、1Hz)；依次前后移动引导电极，每次 1mm (同样亦做左右移动)探测出坐骨神经－皮层诱发电位的分布区域，观察显示器波形变化，在最大反应中心处记录体感皮层诱发电位。

1.4 指标观测与标本采集

使用 BL-410 生物机能实验系统对记录到的体感皮层诱发电位进行计算机叠加，并测量其潜伏期和主反应波幅；4%戊二醛、1%OsO_4(四氧化锇)经颈动脉灌流固定，在已开骨窗处取皮层组织，常规包埋，超薄切片厚度60nm，醋酸双氧铀和枸橼酸铅双重电子染色，H-7500(Hitachi，日本)透射电镜观察。

1.5 统计学处理

应用 SAS 9.0 统计软件进行统计学分析，计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示，采用单因素方差分析，$P<0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组体感皮层诱发电位的潜伏期和波幅的比较

体外循环温度越低体感皮层诱发电位的潜伏期越长，C 组潜伏期高于 B 组，B 组潜伏期高于 A 组，A、B、C 3 组间两两相比，$P<0.01$ 差异有统计学意义；C 组体感皮层诱发电位的波幅值最低，说明深低温体外循环对大脑皮层神经元的抑制强于浅低温和常温体外循环：A、B、C3 组间两两相比，$P<0.01$ 差异有统计学意义。见表 1。

2.2 神经元超微结构改变

3 组均出现神经细胞核周水肿，核周间隙增宽，核基质电子密度降低，核内染色质溶解和边缘化；胞质肿胀，胞质内空泡化和细胞器密度减少；线粒

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 1 3 组体感皮层诱发电位的潜伏期(Latency)和波幅(Amplitude)比较(n=30,$\bar{x} \pm s$)

分组	潜伏期(ms)	波幅(-mv)
A	4.0 ± 0.0714*	0.558 ± 0.0319#
B	4.6 ± 0.6992*	0.429 ± 0.0507#
C	5.9 ± 0.8756*	0.361 ± 0.0551#

A、B、C 3 组组间两两相比,*P<0.01;A、B、C 3 组组间两两相比,#P<0.01

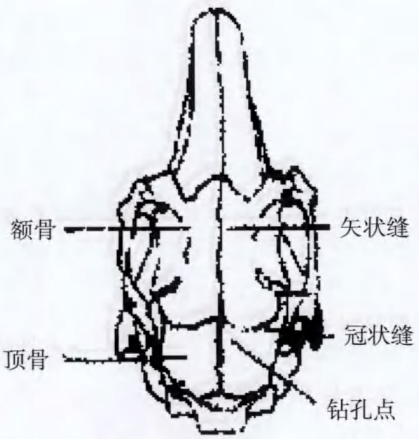


图 1 记录家兔大脑皮层诱发电位钻孔位点

体肿胀和空泡化,嵴稀疏、溶解消失;内质网增宽。神经纤维均未见明显异常。3 组间损伤程度无明显区别。见图 2。

3 讨 论

自 Bigelow 等 1950 年首次提出低温适于心脏手术来,低温一直作为心脏外科和 CPB 的基础。但是近年来学者们对低温在 CPB 中对大脑提供的保护开始产生质疑;目前认为,低温与常温 CPB 各有利弊。常温 CPB 的优势有:(1)更短的复温时间缩短了 CPB 的持续过程[4,5]。(2)避免了长时间复温时期发生的大脑温度过高[6,7]。(3)能够维持接近正常的体温。(4)允许 CPB 后早期拔除气管导管[5]。(5)减少术后出血[8,9]。(6)心脏正常节律恢复快[10]。低温 CPB 的缺点有:(1)削弱的凝血功能增加了出血[8]。(2)延长复温时间[4,5,11]。(3)复温期间存在脑温过高的危险[12]。(4)由于复温不完善和体温变化术后寒战[13]。大量研究表明:轻度低温(降低 1℃ ~ 3℃)即可能开始对大脑缺血的结局产生十分深刻的影响。而降温至 28℃ ~ 30℃ 并无更多的益处。

新西兰大白兔具有完整的脑 Willis 血管环与人类的脑血管结构类似。CPB 期间 Hb 能维持在 7g/ml 以上,HCT 在 20% 以上,与临床经常使用的中低温 CPB 所应用的 CPB 管理方法相同。最大程度地模拟了临床 CPB,提高了实验的可信度。

大脑皮层诱发电位是在皮层上某一局限区域引出的形式较为固定的电位变化,其主反应为一先正后负的电位变化,波幅较大,是大锥体细胞的综合电位[14];诱发电位经常出现于自发脑电波的背景上,较难分辨,本实验中实验动物在持续麻醉状态中,减少了自发脑电的干扰;同时采用计算机叠加

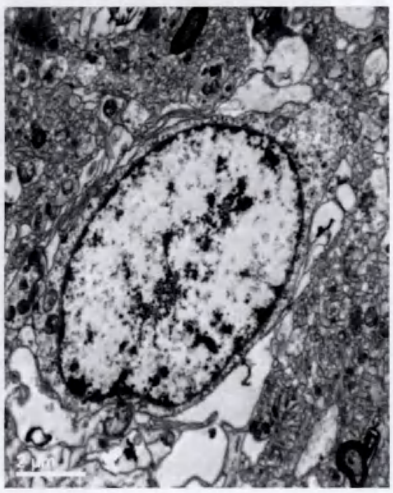


图 2-1 A 组电镜下顶叶皮层病理学结果 (EM × 8 000)

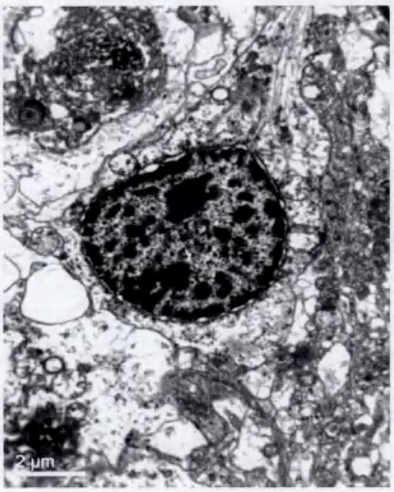


图 2-2 B 组电镜下顶叶皮层病理学结果 (EM × 8 000)

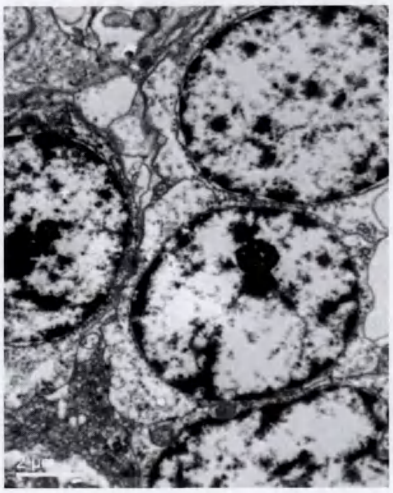


图 2-3 C 组电镜下顶叶皮层病理学结果 (EM × 8 000)

图 2 3 组神经元超微结构

维普资讯 http://www.cqvip.com

技术使诱发电位突现出来。

Hindman 等[15]研究发现,在 CPB 与非 CPB 条件下体感皮层诱发电位的潜伏期和波幅并没有区别,但他是在同一温度体外循环条件下完成的实验。并不能说明不同温度 CPB 对 SEEP 的影响。我们的结果与 Eva Kottenberg-Assenmacher 等[16]的结果部分一致,单独低温可以延长 SEEP 的潜伏期。潜伏期的长短取决于刺激的部位离皮层的距离、神经纤维的传导速度和所经过的突触数目等因素,因为神经系统对缺血非常敏感,在 CPB 条件下,神经系统由于能量缺乏,突触的活动减弱,从而使神经系统的反应性减弱,出现功能下降和神经纤维的传导速度减慢;有研究表明[17,18],体感皮层诱发电位波幅可以反映大脑皮层灰质神经元的电活动,而潜伏期则反映大脑皮层白质神经元纤维的传导功能状态。

试验结果提示随着体外循环温度的降低体感皮层诱发电位的潜伏期逐渐延长,而波幅逐渐减小,说明体外循环温度越低对大脑体感皮层神经细胞的电活动抑制越明显。

我们观察体外循环对大脑神经元超微结构的影响主要表现为:核周间隙增宽,核基质电子密度降低,核内染色质溶解和边缘化;胞质肿胀,胞质内空泡化和细胞器密度减少;线粒体肿胀和空泡化,嵴稀疏、溶解消失;内质网增宽。神经纤维均未见明显异常。常温、浅低温、深低温体外循环对神经元的影响在超微结构上并没有明显的区别。

综上所述,我们认为:(1)体外循环温度越低对大脑皮层神经细胞体感皮层诱发电位的抑制越明显。(2)CPB 条件下,不论是浅低温还是深低温对兔大脑皮层神经元超微结构的保护作用与常温 CPB 相比并没有显示明显的优势。

参 考 文 献

[1] Buchthal A, Belopavlovic M, Mooij JJA. Evoked potential monitoring and temporary clipping in cerebral aneurysm surgery[J]. Acta Neurochir, 1988; 93(1-2): 28-36.

[2] Russ W, Sticher J, Scheld H, et al. Effects of hypothermia on somatosensory evoked responses in man[J]. Br J Anesth, 1987; 59(12): 1484-1491.

[3] Markand ON, Warren CH, Moorthy SS, et al. Monitoring of multimodality evoked potentials during open heart surgery under hypothermia [J]. Electroenceph Clin Neurophysiol, 1984; 59(6): 432-440.

[4] Plourde G, Leduc AS, Morin JE, et al. Temperature during cardiopulmonary bypass surgery does not influence postoperative cognitive function: a prospective randomized trial[J]. Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, 1997; 114(1): 123-128.

[5] Toonz M, Mihaljevic T, Pasic M, et al. The warm versus cold perfusion controversy: a clinical comparative study[J]. European Journal of Cardiothoracic Surgery, 1993; 7(12): 623-627.

[6] Mangano CM. Optimal temperature management during cardiopulmonary bypass: warm, cold, or tepid[J]? Seminars of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia, 1998; 2(3): 283-293.

[7] Cook DJ. Changing temperature management for cardiopulmonary bypass[J]. Anesthesia and Analgesia, 1999; 88(6): 1254-1271.

[8] Boldt J, Knothe C, Zickmann B, et al. The effect of warm heart surgery on postoperative bleeding[J]. Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, 1992; 103(6): 1155-1162.

[9] Birdi I, Regragui I, Izzat MB, et al. Influence of normothermic systemic perfusion during coronary artery bypass operations: a randomized prospective study[J]. Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, 1999; 7(3): 369-374.

[10] Flack JE, Hafer J, Engelman RM, et al. Effect of normothermic blood cardioplegia on postoperative conduction abnormalities and supraventricular arrhythmias[J]. Circulation, 1992; 86(5 Suppl): Ⅱ385-392.

[11] Engelman RM, Pleet AB, Hicks R, et al. Is there a relationship between systemic perfusion temperature during coronary artery bypass grafting and extent of intraoperative ischemic central nervous system injury[J]. Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, 2000; 119(2): 230-232.

[12] Cook DJ, Orszulak TA, Daly RC, et al. Cerebral hyperthermia during cardiopulmonary bypass in adults[J]. Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, 1996; 111(1): 672-676.

[13] Rajek A, Lenhardt R, Sessler DI, et al. Tissue heat content and distribution during and after cardiopulmonary bypass at 31℃ and 27℃[J]. Anesthesiology, 1998; 88(6): 1511-1518.

[14] 姚 泰, 主编. 生理学[M]. 第 6 版. 北京. 人民卫生出版社. 2003. 326.

[15] Hindman, Bradley J. Dexter, et al. Recovery of evoked potential amplitude after cerebral arterial air embolism in the rabbit: a comparison of the effect of cardiopulmonary bypass with normal circulation[J]. Anesthesiology, 1998; 88(3): 696-707.

[16] Kottenberg-Assenmacher E, Armbruster W, Bornfeld N, et al. Hypothermia does not alter somatosensory evoked potential amplitude and global cerebral oxygen extraction during marked sodium nitroprusside-induced arterial hypotension[J]. Anesthesiology, 2003; 98(5): 1112-1118.

[17] 赵 毅, 高玉红, 耿稚萍. 实验性缺血再灌流体感诱发电位变化的研究[J]. 临床脑电学杂志, 1999; 6(2): 102.

[18] Schmitz B, Bottiger BW, Hossm ann KA. Functional activation of cerebral blood flow after cardiac arrest in rat[J]. Cereb Blood Flow Metab, 1997; 17(11): 1202-1209.

(责任编辑: 谭乐勤)