DOI:10.16016/j.1000-5404.1995.03.015



# 兔脑局部缺血后脑组织ATP酶活性及SEP、TCD改变

林 建 邵淑琴 (第三军医大学附属西南医院神经内科)重庆,630038

**提 要** 建立兔脑MCAO局部脑缺血实验模型。用生化方法分别测定$Na^+$,$K^+$-ATP酶和$Ca^{2+}$,$Mg^{2+}$-ATP酶活性。并行体感诱发电位(SEP)及经颅多普勒超声检查(TCD)。结果发现:脑缺血早期$Na^+$,$K^+$-ATP酶活性迅速下降,$Ca^{2+}$,$Mg^{2+}$-ATP酶略有下降。SEP的$N_1$波、$P_2$波的潜伏期明显延长。TCD检查中,MCAO侧不能测出波形,而对侧平均流速(Vm)显著增快,再通后MCA波型立刻恢复。

**关键词** 脑缺血;$Na^+$,$K^+$-ATP酶;$Ca^{2+}$,$Mg^{2+}$-ATP酶;SEP;TCD

**中图法分类号** R743.31

脑缺血后的生化、电生理改变已有一些报道,但结合多普勒超声(TCD)观察阻塞血管的血流动力学改变尚未见报告。本实验利用兔可再灌流的大脑中动脉栓塞(MCAO)模型,测定了脑组织$Na^+$,$K^+$-ATP酶及$Ca^{2+}$,$Mg^{2+}$-ATP酶的活性,并观察了体感诱发电位(SEP)和TCD的改变。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

成年白色家兔48只,体重2.5~3.0 kg,雌雄不拘,随机分为8组:假手术组、栓塞6 h、24 h、4 d、8 d及再通4 d、8 d、正常对照组。每组动物分配为6只。

### 1.2 MCAO模型

脑局部缺血模型按作者报告的方法复制[1]。

### 1.3 脑匀浆制作

活体开颅取兔双例大脑顶叶皮质及皮质下白质0.2 g,加入匀浆介质,用内切式组织匀浆器在低温下离心15 min,制成0.5%的匀浆液。

### 1.4 ATP酶活性测定

按Robinson方法进行操作。以每小时分解1 mg组织蛋白产生的pi含量表示,蛋白测定参照Lomry法,酶单位为μmol pi/mg·pro/h。

### 1.5 SEP

用日本光电公司生产的MEB-5100型诱发电位仪记录。兔用25%乌拉坦800 mg/kg静脉麻醉后侧卧放置,环境温度为20~25℃,每只检查两次,以求结果稳定。

### 1.6 TCD

用美国Meda Sonics公司制作的脑血流多普勒诊断仪(CDS)MP-1P型。兔直立蹲位,角膜用1.5%丁卡因表面麻醉,探头放置于眼球表面,探头方向为两眼球连线向后向下15°,可记录到齿形回波为大脑中动脉(MCA)波。

### 1.7 统计学处理

实验所得数据经处理后用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,用$t$检验进行显著性检验。

## 2 结果

### 2.1 $Na^+$,$K^+$-ATP酶及$Ca^{2+}$,$Mg^{2+}$-ATP酶活性变化

术后兔脑组织$Na^+$,$K^+$-ATP酶活性迅速下降。术后6 h由术前的10.81 μmol pi·mg pro$^{-1}$·h$^{-1}$降至6.56,以后在5~6 μmol pi·mg pro$^{-1}$·h$^{-1}$水平,维持到术后8 d,再通组与栓塞组酶活性无明显差异。假手术组酶活性较术前略有下降,但无明显差异(表1)。$Ca^{2+}$,$Mg^{2+}$-ATP酶从术前14.85 μmol pi·mg pro$^{-1}$·$^{-1}$降至13.47,与栓塞后各组比较无显著差异(表1)。

### 2.2 SEP结果

兔MCAO后SEP的$N_1$、$P_2$波潜伏期明显延长(表2)。

**表1 各时相点脑组织$Na^+$,$K^+$-ATP酶与$Ca^{2+}$,$Mg^{2+}$-ATP酶活性变化(μmol pi·mg pro$^{-1}$·h$^{-1}$)**

**Tab 1 Change of $Na^+$,$K^+$-ATPase Activites and $Ca^{2+}$, $Mg^{2+}$-ATP asr Activites in Rabbits Brain (μmol pi·mg pro$^{-1}$·h$^{-1}$)**

| Group | Before occlusion | After occlusion | | | | After reperfusion | | Control |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 6 h | 24 h | 4 d | 8 d | 4 d | 8 d | |
| $Na^+$,$K^+$-ATPase | 10.81±0.83 | 6.56±0.78※ | 6.33±0.92※ | 5.38±0.44※ | 5.47±1.02※ | 5.84±0.52※ | 5.94±0.61※ | 10.05±0.76 |
| $Ca^{2+}$,$Mg^{2+}$-ATPase | 14.85±1.12 | 13.47±1.27 | 13.81±0.94 | 13.17±1.11 | 13.05±1.46 | 13.60±1.41 | 13.96±1.38 | 14.70±1.16 |

$n=6$, ※: $P<0.01$ *vs* control

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

**表2　各时相点 $N_1$，$P_2$ 波潜伏期变化(ms)**

**Tab 2　Change of Latencies of N1，P2 Wave in Rabbits (ms)**

| Groups | Before occlusion | Affter occlusion | | | | After reperfusion | | controt |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 6 h | 24 h | 4 d | 8 d | 4 d | 8 d | |
| $N_1$ | 7.50±0.11 | 10.04±0.44△ | 10.57±0.66△ | 9.90±0.41△ | 9.97±0.23△ | 10.07±0.23△○ | 9.13±0.31△○ | 7.60±0.16 |
| $P_2$ | 10.30±0.74 | 14.15±0.79△ | 14.34±0.81△ | 14.20±0.83△ | 13.80±0.71△ | 14.02±0.85△○ | 12.20±0.63△○ | 10.07±0.72 |

$n=6$，△：$P<0.01$　*vs* control；○：$P<0.05$　*vs* occlusion

## 2.3　TCD 结果

正常兔 MCA 平均流速33.16±2.76 cm/s，MCAO 后患侧(右)不能测出波型，而对侧流速在术后明显增快。24 h 达高峰，以后缓慢下降，再通后右侧 MCA 波型立即恢复流速逐步向正常值回升(表3)。

**表3　各时相点 MCA 平均流速变化(cm/s)**

**Tab 3　Change off Mean Velocity of MCA (cm/s)**

| Groups | Site | Before occlusion | After occlusion | | After reperfusion | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 6 h | 24 h | 4 d | 8 d |
| Occlusion | Left | 32.17±3.52 | 42.38±4.77△ | 46.72±5.31△ | 41.03±4.17△ | 41.33±4.71△ |
| | Right | 33.81±3.17 | | | | |
| Reperfusion | Left | 33.75±3.83 | 41.66±4.37△ | 45.03±4.18△ | 41.98±4.62△ | 36.78±5.35 |
| | Right | 32.80±4.02 | | | 27.73±4.66 | 30.15±4.72 |

$n=6$，△：$P<0.01$　*vs* control

## 3　讨论

脑缺血时，细胞线粒体受累致使 ATP 产生不足，能量减少，酶活性下降，脑内 $Na^+$ 滞留，导致脑细胞内水肿。本组 MCAO 后 $Na^+$，$K^+$-ATP 酶活性于缺血6 h 后明显下降，提示 $Na^+$，$K^+$-ATP 酶参与了早期脑水肿的发生。脑组织 $Na^+$，$K^+$-ATP 酶。主要来源于脑微血管内皮细胞(CMV)和突触膜(SPM)[2]。CMV 的 $Na^+$，$K^+$-ATP 酶的作用是单向将血中 $Na^+$ 转运至脑间质内。当脑缺血后，此酶活性上升，造成脑缺血灶周围的脑细胞外 $Na^+$、$H_2O$ 增加，形成细胞外水肿。在同时期内，由于细胞内 $Ca^{2+}$ 超载，SPM 的 $Na^+$，$K^+$-ATP 酶活性下降，细胞外 $Na^+$ 大量进入细胞内。在缺血早期能量消耗后，大量 EAA 释放并激活 N-甲基-D-天门冬氨酸(NMDA)受体，$Na^+$，$Ca^{2+}$ 流入细胞内，致使细胞间液中的水进入细胞内造成继发细胞毒性水肿。提示 MCAO 早期脑水肿的发生是来源不同的 $Na^+$，$K^+$-ATP 酶共同起着促进脑水肿的作用[3,4]。

实验中发现脑组织 $Ca^{2+}$，$Mg^{2+}$-ATP 酶活性术后和再通后虽有所降低，但与术前相差不显著。国内卞留贯[2]等人报告脑微血管 $Ca^{2+}$，$Mg^{2+}$-ATP 酶于缺血后降低，与其对照组相比相差显著，并认为随缺血时间的延长，自由基递增对酶的活性起抑制作用。由上述结果看出，脑组织匀浆与脑微血管在同一缺血时相里 ATP 酶活性降低程度不相一致，可能与 SOD、自由基、鸦片肽等因素对 ATP 酶活性影响有关。

SEP 反映的是刺激点到皮层上行传导及感觉运动皮层的电生理活动状态。临床应用中，以中央后回为发生源的 $N_1$ 波和以中央前回为发生源的 $P_2$ 波最为重要[5]。本组 SEP 改变在缺血6 h 已出现 $N_1$ 与 $P_2$ 波潜伏期明显延长，此后在低水平上缓慢加重，至缺血8 d 方有所恢复。与脑组织中 ATP 酶活性降低相一致。说明在 MCAO 后6 h 由于脑能量代谢障碍的发生发展，出现了脑细胞电生理活动的改变。

TCD 检查由 Aaslia 在1982年首先报告，并逐渐应用临床[6]。但应用动物试验者少见。MCAO 后栓塞侧测不出波型，证实了栓塞的可靠性。于再通后波型立即恢复，而 Vm 并非立即增高到术前水平。而是先低于术前水平然后再逐渐回升。可能与动静脉短路的开放后受到控制有关。随着毛细血管的增加和再通，MCA 的 Vm 也有所增快。但对侧明显增快，24 h 达高峰，系“脑内盗血”现象。

## 参考文献

1 林　建，邵淑琴. 栓塞法制作 MCA—O 模型. 第三军医大学

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

学报,1993;2:163
2 卞留贯,张天锡,赵卫国.脑缺血后脑微血管ATP酶活性变化.中国神经精神病学杂志,1994;4:204
3 张天锡,卞留贯,赵卫国.兔脑缺血后脑微血管和突触膜$Na^+$、$K^+$-ATP酶活性变化.中风与神经疾病杂志,1994;2:65
4 Shigeno T, Asano T, Mima T et al. Efect of enhanced capilary activity on the BBB during focal cerebral ischemia in rats. Strokke,1989;20:1260
5 潘映辐.临床诱发电位学.北京:人民卫生出版社,1988:141~147
6 Aaslid KK, Langer R. Acetazolamide stimulation test in patients withunilateral interal internal carotid aktery obstructions using transcranial Doppler Snd [99]Te spect. Neurol Res,1982;14:135

(收稿:1994-11-03;修回:1995-04-30)

# Changes of ATPase activity, somatosensory evoked potentials and transcranial Doppler sonographs after middle cerebral artery occlusion in rabbits

Lin Jian, Shao Shuqing (Department of Neurology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

**Abstract** The activities of $Na^+$ and $K^+$-ATPase and $Ca^{++}$ and $Mg^{++}$-ATPase and the changes of somatosensory evoked potentials (SEP) and transcranial Doppler sonographs (TDS) were studied on a rabbit model of middle cerebral artery occlusion (MCA-O). It was found that $Na^+$ and $K^+$-ATPase activity was decreased immediately but no significant reduction of $Ca^{++}$ and $Mg^{++}$-ATPase activity was observed. The latency of $N_1$ and $P_2$ waves was significantly prolonged and TDS showed no ipsilateral wave after MCA-O and the mean velocity of blood flow in the contralateral MCA was inncreased. After reperfusion, the wave of the preocluded artery was restored.

**Key words** animal model; somatosensory evoked potential; transcranial Doppler sonography; ATPase

(上接219页)

生。分析其原因:有人认为,局部麻醉药对中枢神经影响较小[1],一般不会出现精神症状。所以局麻药利多卡因引起之说可能性极小。而麻醉性镇痛药可引起神经兴奋现象[2]。据此观点,我们认为:麻醉性镇痛药哌替啶由于其用量及病人个体差异的不同,有可能引起或诱发精神症状。由于未见此类报告尚难定论。在此应提请麻醉专业人员警惕,预防因此造成事故。

**关键词** 麻醉,硬膜外;哌替啶;精神症状

**中图法分类号** R614.42

## 参考文献

1 谢惠民,范正祥,刘林宝等.合理用药.北京:人民卫生出版社,1981:236~237
2 《临床麻醉学》编写组.临床麻醉学.天津:天津科学技术出版社,1992:101~113

(收稿:1994-09-14;修回:1995-05-12)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net