

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.11.011

甘露醇对心脏骤停模型大鼠心肺复苏后脑水肿及大脑中动脉血流的影响*

罗志中¹, 王鑫¹, 冯凯^{2△}

(1. 河北省唐山市人民医院, 河北 唐山 063000; 2. 华北理工大学附属医院, 河北 唐山 063000)

摘要:目的 探讨甘露醇对心脏骤停模型大鼠心肺复苏后脑水肿的治疗作用。方法 选取雄性 Wistar 大鼠 60 只, 随机分为假手术组(A 组), 模型组(B 组), 甘露醇(0.5 g/kg)6 h 组(C₁ 组)、12 h 组(C₂ 组)、18 h 组(C₃ 组)、24 h 组(C₄ 组), 各 10 只。除 A 组外, 所有大鼠均构建窒息性心脏骤停模型, C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组、C₄ 组大鼠均于窒息性心脏骤停模型成功后缓慢静脉注射 0.5 g/kg 甘露醇 5~10 min, 且每隔 6 h 给药 1 次, 即 C₁ 组给药 2 次, C₂ 组给药 3 次, C₃ 组给药 4 次, C₄ 组给药 5 次; A 组、B 组大鼠不予任何药物。采用称重法测定大鼠脑含水量, 采用氧分压检测仪检测大鼠大脑中动脉血流速率(VMCA), 对大鼠神经功能进行评分, 制作苏木精-伊红染色切片于显微镜下观察大鼠脑结构病理变化情况。结果 A 组大鼠脑组织细胞结构完整、排列整齐, 未见出血及炎性浸润; B 组大鼠细胞排列松散, 且部分细胞呈点状坏死, 细胞边界不清, 大量炎性细胞浸润, 出血和水肿明显; C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组、C₄ 组大鼠脑组织出血、水肿面积和点状坏死数量随给药次数逐渐减少。与 A 组比较, B 组大鼠脑含水量和神经功能评分均显著升高, VMCA 显著降低($P < 0.05$); 与 B 组比较, C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组、C₄ 组大鼠脑含水量和神经功能评分均显著降低, VMCA 均显著加快, 且随给药次数的增加脑含水量和神经功能评分逐渐降低, VMCA 逐渐升高($P < 0.05$)。结论 甘露醇可通过增加 VMCA、改善大脑水肿, 起到保护心肺复苏后大鼠大脑的作用。

关键词:甘露醇; 心脏骤停; 心肺复苏; 脑水肿; 大脑中动脉血流速率; 大鼠

中图分类号: R965; R972

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2021)11-0040-04

Effect of Mannitol on Cerebral Edema and Blood Flow Velocity of Middle Cerebral Artery After Cardiopulmonary Resuscitation in Model Rats with Cardiac Arrest

LUO Zhizhong¹, WANG Xin¹, FENG Kai²

(1. Tangshan People's Hospital, Tangshan, Hebei, China 063000; 2. Affiliated Hospital of North China University of Technology, Tangshan, Hebei, China 063000)

Abstract: Objective To investigate the effect of mannitol in the treatment of cerebral edema after cardiopulmonary resuscitation in model rats with cardiac arrest. **Methods** A total of 60 male Wistar rats were selected and randomly divided into the sham operation group (group A), model group (group B), and mannitol (0.5 g/kg) 6 h group (group C₁), 12 h group (group C₂), 18 h group (group C₃), 24 h group (group C₄), 10 rats in each group. Except the rats in group A, the models of asphyxial cardiac arrest were established in rats in the other groups. After successful resuscitation of asphyxial cardiac arrest, rats in groups C₁, C₂, C₃ and C₄ were slowly injected with 0.5 g/kg mannitol for 5-10 min, and injected once every 6 h, that is, the rats in group C₁ were given twice, the rats in group C₂ were given three times, the rats in group C₃ were given four times, and the rats in group C₄ were given five times. Rats in group A and group B were not given any drugs. The brain water content was measured by the gravimetric method, and the blood flow velocity of middle cerebral artery (VMCA) was measured by the skin itch pressure detector. The neurological function of rats was scored. Hematoxylin-eosin (HE) staining sections of brain tissue were made to observe the pathological changes of brain tissue's structure through microscope. **Results** In group A, the structure of brain tissue cells was complete and orderly arranged, without bleeding and inflammatory infiltration. In group B, the cells were loosely arranged, and some cells were punctate necrosis, the cell boundary was unclear, and a large number of inflammatory cells infiltrated, hemorrhage and edema were obvious. In groups C₁, C₂, C₃ and C₄, the hemorrhage, edema and punctate necrosis of brain tissue in rats decreased with the increase of administration times. Compared with those in the group A, the brain water content and neurological function score were significantly increased, while the VMCA was significantly decreased in the group B ($P < 0.05$). Compared with those in group B, the brain water content and nerve function scores were significantly decreased, while the VMCA increased significantly with the increase of administration times in groups C₁, C₂, C₃ and C₄ ($P < 0.05$). **Conclusion** Mannitol can protect the brain of rats after cardiopulmonary resuscitation by increasing VMCA and improving cerebral edema.

Key words: mannitol; cardiac arrest; cardiopulmonary resuscitation; brain edema; blood flow of middle cerebral artery; rats

心脏骤停严重威胁人类生命健康^[1]。美国和加拿大 一项多中心前瞻性研究显示, 院内心脏骤停患者即使在

*基金项目: 河北省医学科学研究重点课题计划项目[20180784]。

第一作者: 罗志中, 男, 大学本科, 副主任医师, 研究方向为心肺复苏脑保护, (电子信箱)1205856280@qq.com。

△通信作者: 冯凯, 男, 硕士, 主治医师, 研究方向为心肺复苏脑保护, (电子信箱)fk15075557434@126.com。

自主循环恢复后,死亡率仍高达 55% ~ 71%^[2]。心脏骤停自主循环恢复后的临床表现、病理生理统称为心脏骤停后综合征^[3],包括脑损伤、心肌功能障碍、全身性缺血再灌注损伤和持续诱发性病变^[4],是造成患者死亡的主要原因。心脏骤停后,可导致神经功能障碍、昏迷甚至死亡,其原因为缺血引起的大量神经细胞受损^[5]。院外患者发生心脏骤停后,即使被活着送至重症监护病房(ICU),但患者随后死于脑损伤的概率也高达 68%。院内患者发生心脏骤停的死亡率也有 23%^[6]。渗透性脱水药物甘露醇具有预防脑疝形成、减轻脑水肿、降低颅内压等作用,广泛用于治疗急性期脑水肿^[7]。有研究报道,甘露醇治疗脑出血疗效较好,可有效降低脑水肿风险,改善患者的神经功能^[8]。因此,本研究中构建了大鼠心脏骤停模型,观察 24 h 内分次给予甘露醇对大鼠复苏后脑水肿及大脑中动脉血流的影响。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与动物

仪器:SAR-830AP 型小动物呼吸机(美国 CWE 有限公司);DMT620M 型有创动脉监测仪(美国 Thermo Fisher 公司);BX53 型显微镜(日本奥林巴斯公司)。

试剂:肾上腺素(美国 Sigma 公司,纯度为 99.99%,批号为 20165487);甘露醇(批号为 30215497),维库溴铵(批号为 11024587),纯度均为 99.99%,均购自南京建成生物工程研究所。

动物:成年清洁级雄性 Wistar 大鼠 60 只,体质量为 250 ~ 300 g,购自重庆医科大学实验动物中心,动物生产许可证号为 SCXK(渝)2018-0003,动物使用许可证号为 SYXK(渝)2018-0027,动物质量合格证号为 10425712。试验期间所有大鼠均饲养于清洁级动物房内(温度为 18 ~ 25 ℃,相对湿度为 60% ~ 70%),动物自由取食、饮水,光照/黑暗交替(12 h/12 h)。本研究符合动物伦理学要求。

1.2 动物建模、分组及给药

采用随机数字表法将 60 只 Wistar 大鼠分为假手术组(A 组),模型组(B 组),甘露醇(0.5 g/kg)6 h 组(C₁组)、12 h 组(C₂组)、18 h 组(C₃组)、24 h 组(C₄组),每组 10 只^[9]。试验前至少禁食不禁饮 12 h,参考文献[10]的方法制作改良后的窒息性心脏骤停模型。将大鼠固定于手术板上,监测平均动脉压(MAP)及心率(HR),行气管插管,连接 SAR-830AP 型小动物呼吸机,根据大鼠胸廓起伏及呼吸是否抵抗调节通气频率,经右股静脉输注乳酸钠林格液 0.01 mL/(g·h),股动脉接换能器监测动脉压及 HR 稳定 10 min,于窒息前 5 min 静脉注射维库溴铵 0.1 mg/kg,使大鼠呼吸肌处于无力状态,同时给予肝素 500 U/kg 抗凝,待大鼠无自主呼吸后夹闭气

管导管,直至心电图和有创动脉监测仪示心电机械分离或心电活动消失,且 MAP < 20 mmHg(1 mmHg = 0.133 kPa),8 min 后行心肺复苏,首先经右股静脉插管注入与大鼠体质量相关量的复苏液(肾上腺素 40 μg/kg),同时松开夹闭的气道,行机械辅助通气,并行胸外按压(按压频率 200 次/分,按压深度为胸廓前后径的 1/3),动脉波形恢复、且 MAP > 40 mmHg 为按压有效,自主循环恢复(MAP > 60 mmHg,HR > 250 次/分)为复苏成功,1 h 后结扎动静脉,缝合皮肤,拔出气管插管,完成建模。C₁组、C₂组、C₃组、C₄组大鼠建模成功后即缓慢静脉注射 0.5 g/kg 甘露醇 5 ~ 10 min,且每隔 6 h 给药 1 次,即 C₁组给药 2 次,C₂组给药 3 次,C₃组给药 4 次,C₄组给药 5 次;A 组大鼠只进行麻醉和气管插管、股动脉置管,不予夹闭气管及心肺复苏;B 组大鼠不予任何药物。

1.3 观察指标检测

大脑含水量:各组大鼠在末次给药后 45 min,分别以称重法测定左侧及右侧大脑半球前 1/2 部(视交叉前)的大脑含水量。脑含水量(%) = (湿重 - 干重)/湿重 × 100%。

大脑中动脉血流速率(VMCA):试验末期,采用皮氧分压检测仪检测大鼠 VMCA,连续检测 1 h,并做好记录。

神经功能评分:建模 24 h 后,对大鼠进行神经功能评分^[11],根据分值判断其神经功能受损情况。分值越高表明受损越严重。

脑组织病理结构:试验末期,处死大鼠,取大鼠脑组织,生理盐水漂洗后置甲醛水溶液中固定,48 h 后取部分脑组织制作苏木精-伊红(HE)染色切片,显微镜下观察大鼠大脑结构病理变化情况。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 23.0 统计学软件分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 描述,采用单因素方差分析,多重比较采用 SNK-q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

与 A 组比较,B 组大鼠大脑含水量和神经功能评分均显著升高,VMCA 显著减慢($P < 0.05$);与 B 组比较,C₁组、C₂组、C₃组、C₄组大鼠大脑含水量和神经功能评分均显著降低,VMCA 均显著加快($P < 0.05$)。详见表 1。

A 组大鼠脑组织细胞结构完整、排列整齐,未见出血及炎性细胞浸润;B 组大鼠脑组织细胞排列松散,且部分细胞呈点状坏死,细胞边界不清,大量炎性细胞浸润,出血和水肿明显,C₁组、C₂组、C₃组、C₄组大鼠脑组织出血、水肿面积和点状坏死数量随给药次数的增加而逐渐减少。详见图 1。

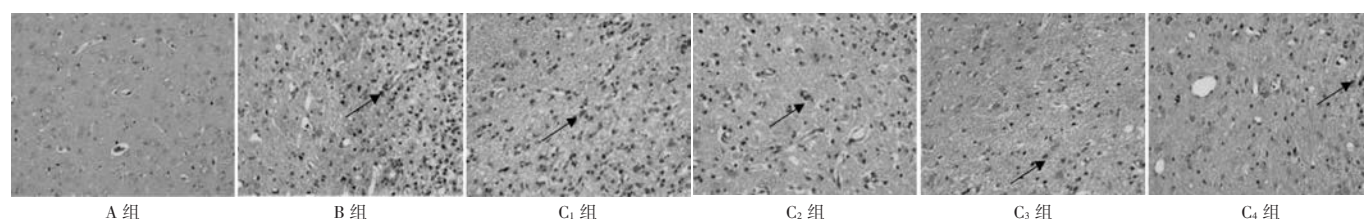


图1 各组大鼠脑组织病理结果(HE染色, ×200)

Fig. 1 Pathological changes of brain tissue in rats in each group(HE staining, ×200)

表1 各组大鼠脑含水量、动脉血流、神经功能评分比较
($\bar{X} \pm s$, $n = 10$)

Tab. 1 Comparison of brain water content, VMCA and nerve function scores of rats in each group($\bar{X} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量(g/kg)	脑含水量(%)	大脑中动脉血流速率(cm/s)	神经功能评分(分)
A组		67.92 ± 0.23	257.92 ± 11.23	5.12 ± 0.73
B组		72.43 ± 0.29 ^a	172.03 ± 10.29 ^a	15.83 ± 0.89 ^a
C ₁ 组	1.0	71.79 ± 0.24 ^b	187.99 ± 11.14 ^b	13.19 ± 0.94 ^b
C ₂ 组	1.5	71.26 ± 0.24 ^{bc}	204.56 ± 12.74 ^{bc}	11.56 ± 0.79 ^{bc}
C ₃ 组	2.0	71.04 ± 0.21 ^{bcd}	221.07 ± 12.55 ^{bcd}	9.22 ± 0.95 ^{bcd}
C ₄ 组	2.5	69.38 ± 0.23 ^{bcd}	239.77 ± 11.93 ^{bcd}	7.87 ± 0.93 ^{bcd}

注:与A组比较,^a $P < 0.05$;与B组比较,^b $P < 0.05$;与C₁组比较,^c $P < 0.05$;与C₂组比较,^d $P < 0.05$;与C₃组比较,^e $P < 0.05$ 。

Note: Compared with those in group A, ^a $P < 0.05$; compared with those in group B, ^b $P < 0.05$; compared with those in group C₁, ^c $P < 0.05$; compared with those in group C₂, ^d $P < 0.05$; compared with those in group C₃, ^e $P < 0.05$ 。

3 讨论

心脏骤停后引起脑损伤的机制非常复杂^[12],可能是心脏骤停后,导致大脑缺血、缺氧,引起神经功能受损,其损伤机制包括兴奋性氨基酸积累、氧自由基损伤、细胞内酸中毒等一系列反应^[13]。通常在心脏骤停后4~6 min内发生,且其对中枢神经系统的损伤可持续数小时甚至数日^[14]。脑水肿是心脏骤停后的常见症状,当患者发生脑水肿后,颅内压升高,导致进入大脑的血流量降低,脑细胞供血不足,从而引起部分脑死亡发生缺血性坏死^[15]。本研究中构建大鼠心脏骤停模型后,大鼠VMCA显著降低,且病理结果显示,脑组织水肿和坏死明显,表明心脏骤停后大鼠脑组织供血不足,引起细胞缺氧坏死,从而出现水肿和坏死等症状。颅内水肿发生后,颅内压增高,血液流入颅内,导致损伤加重。因此,发生心脏骤停后,及时降低颅内压,恢复大脑供血,对于降低大脑损伤具有重要意义。

脑水肿发生早期,水肿扩大发生率较高,过早使用甘露醇可能会导致组织间液向血浆转移,导致水肿加重,因此多在心脏骤停6 h后使用甘露醇治疗^[16-17]。本研究中,每6 h对大鼠尾部进行1次甘露醇静脉注射,发现各剂量大鼠脑损伤均得到缓解,坏死细胞和水肿区域均显著减少,大鼠脑组织含水量和神经功能评分均显著降低,表明大鼠水肿减轻,其神经功能趋向于正常。本

研究结果显示,给予甘露醇治疗后,大鼠VMCA显著加快,大脑供血恢复,防止了损伤的加重。每隔6 h对大鼠多次给药,效果较好,即在24 h内分5次给药,可有效降低大鼠脑水肿面积和恢复大鼠神经功能,加快大鼠VMCA,恢复其脑供血。提示24 h内多次给药的方式可能有助于大鼠脑损伤的治疗。

综上所述,甘露醇对大鼠心脏骤停后引起的脑水肿具有明显治疗作用,可有效恢复神经功能,其可能是通过降低颅内压、恢复大脑供血来发挥对大脑的保护作用。

参考文献

- [1] SANDRONI C, PARNIA S, NOLAN JP. Cerebral oximetry in cardiac arrest: a potential role but with limitations[J]. Intensive Care Med, 2019, 45(6): 904-906.
- [2] OFOMA UR, BASNET S, BERGER A, et al. Trends in Survival After In-Hospital Cardiac Arrest During Nights and Weekends[J]. J Am Coll Cardiol, 2018, 71(4): 402-411.
- [3] PATTERSON T, PERKINS A, PERKINS GD, et al. Rationale and design of: A Randomized trial of Expedited transfer to a cardiac arrest center for non-ST elevation out-of-hospital cardiac arrest: The ARREST randomized controlled trial[J]. Am Heart J, 2018, 204: 92-101.
- [4] NEE J, JÖRRES A, KRANNICH A, et al. Elimination of glutamate using CRRT for 72h in patients with post-cardiac arrest syndrome: A randomized clinical pilot trial[J]. Resuscitation, 2019, 144: 54-59.
- [5] LIU HQ, YU Z, LI Y, et al. Novel Modification of Potassium Chloride Induced Cardiac Arrest Model for Aged Mice[J]. Aging Dis, 2018, 9(1): 31-39.
- [6] DE JONG A, ROLLE A, MOLINARI N, et al. Cardiac Arrest and Mortality Related to Intubation Procedure in Critically Ill Adult Patients[J]. Crit Care Med, 2018, 46(4): 532-539.
- [7] LI HT, MA H, YANG B, et al. Automatic Evaluation of Mannitol Dehydration Treatments on Controlling Intracranial Pressure Using Electrical Impedance Tomography[J]. IEEE Sensors J, 2020, 20(9): 4832-4839.
- [8] REN HH, LU H. Dynamic features of brain edema in rat models of traumatic brain injury[J]. Neuroreport, 2019, 30(9): 605-611.
- [9] 张运, 王莉莉, 唐涛, 等. 甘露醇不同时间给药联合醒脑静对实验性脑出血大鼠灶周水肿的影响[J]. 中风与神经疾病杂志, 2018, 35(10): 868-872.