



猫颅脑火器性伤早期软脑膜血管管径及血流量变化

火器性颅脑损伤(CMW)是战伤中最严重的一种损伤,占全身各部战伤的14%~17%,仅次于四肢伤而居第二位,所致死亡率居第一位[1]。脑微循环对保证脑的正常生理功能具有十分重要的作用,微循环障碍是颅脑创伤后脑水肿的重要影响因素[2][3]。本实验研究采用猫制作CMW模型,应用IBM微循环图像分析仪直接观察软脑膜微血管的管径、血流速度及血流量动态变化,旨在阐明CMW后早期脑微循环变化,探讨减轻CMW早期对脑组织损害的有效途径。

1 材料和方法

1.1 实验材料

第一军医大学动物实验中心提供12只杂种成年猫,雄雌不限,质量(2.2±0.3) kg,实验前禁食过夜,自由饮水。B5-8气枪由广东恩平气枪厂制造,子弹质量(0.60±0.02) g,直径2 mm,校准并测速,子弹出枪口速度为(60.0±1.8) m/s,气枪各项性能稳定。每次实验前临时配制人工脑脊液,保持39℃,测定pH 7.20~7.40、氧分压(10.3±0.3) kPa、二氧化碳分压(5.7±0.1) kPa、渗透压(308.2±2.8) mmol/L。

1.2 仪器设备

落射光微循环显微镜(梧州光学仪器厂)、显微摄像录相机和IBM386微循环图像分析仪、彩色图像监测仪(MOD CM-1821E,日立电器公司)、血流速度测定仪(MOD-102B)、微血管管径测定仪(MOD IV-550,日本生理和医学设备有限公司)、彩色图像打印机(MOD UP-180EPM,日本松下电器公司)、恒温灌流器(美国PHERNOMX公司)。

1.3 模型的制作和软脑膜微血管的观察

按照Carey等[4]和Shahid等[5]的方法,动物称质量、麻醉后,作气管切开术,插入“Y”形玻璃导管,股动脉插管(PE90)连接生理记录仪。动物取半俯卧位,头部固定于立体定向柜架上。去除右额窦前壁,保留后壁,作为弹道入口处。行显微手术显示左侧大脑侧裂上回及外侧裂回处软脑膜。将已备好的人工脑脊液通过恒温灌流器持续滴注于脑表面使其形成一层“液膜”。安置落射光微循环显微镜和显微摄像录相机及图像分析仪,可清楚地观察到由多根微血管组成的微血管网及其血液流动[6][7]。

1.4 指标测定及方法

用多导生理记录仪记录动物的心率和血压,平均动脉压(MABP)=舒张压+1/3脉压差。同时根据腹式呼吸频率记录呼吸次数。选择直径小于50 μm的微血管,连续动态测定其管径(D)、中轴血流速度(Vc1),微血管血流量(Q)可以按公式 $Q=(Vc1/1.6)/(\pi D^2/4)$ 计算得出[8]。

1.5 病理光镜标本

动物静脉注入空气处死后,开颅取出猫脑。经常规处理、切片、HE和Nissl染色后低倍及高倍光镜观察。

1.6 统计学处理

采用配伍组设计的方差分析,两两比较用SNK法。

2 结果

2.1 生命体征的变化(表1)

表 1 CMW 前后平均动脉压 (MABP)、心率 (HR)和呼吸 (R)的变化 ($n=12, \bar{x} \pm s$)

Tab.1 Changes of the mean arterial blood pressure (MABP), heart rate (HR) and respiration (R) after craniocerebral missile wound (CMW) in cats ($n=12, Mean \pm SD$)

Index	10 min Before CMW	After CMW						
		5 min	20 min	45 min	90 min	2 h	3 h	5 h
MABP (mmHg)	90±9	98±5*	95±9	91±6	85±6	75±6*	74±9*	73±9*
HR (/min)	130±18	115±22*	130±19	127±18	124±16	121±18	119±20	116±15
R (/min)	25±8	13±8*	13±9*	13±8*	15±8*	14±9*	15±8*	14±9*

* $P < 0.05$ vs 10 min before CMW

CMW后5 min时MABP出现短暂性升高($P < 0.05$), 20~90 min缓慢恢复至伤前水平, 但是2~5 h却呈逐渐下降趋势($P < 0.05$); 心率(HR)在CMW后5 min明显降低($P < 0.05$), 20 min~5 h期间逐渐好转, 与损伤前比较并无差异; 呼吸(R)在CMW后变化最为显著, 伤后立即出现呼吸缓慢, 5~45 min期间呼吸频率最低($P < 0.05$), 90 min~5 h稍微增加。

2.2 软脑膜微细动脉的变化(表2)

表 2 CMW 前后软脑膜微血管管径、血流速度和血流量的变化 ($n=12, \bar{x} \pm s$)

Tab.2 Changes in the caliber (D), velocity (V) and blood flow (Q) of the pial microvessels after CMW in cats ($n=12, Mean \pm SD$)

Index	10 min Before CMW	After CMW						
		5 min	20 min	45 min	90 min	2 h	3 h	5 h
Da (μm)	41±4	81±5*	75±9*	117±7*	125±10*	108±7	105±5	104±5
Va (mm/s)	7±3	80±6*	74±6*	95±4	97±4	98±5	97±2	97±5
Qa (nl)	6±3	53±5*	44±7*	105±5	149±7*	117±5*	110±4	105±4
Dv (μm)	36±8	106±11	110±18	118±13	113±20	108±18	110±19	109±21
Vv (mm/s)	2±0	77±3*	71±5*	86±5*	96±4	93±4*	89±4*	87±3*
Qv (nl)	1±0	87±5*	89±3*	115±4*	120±4*	105±3	110±5*	96±5

* $P < 0.05$ vs 10 min before CMW (100%). Da, Va and Qa are the caliber, velocity and blood flow of the arterioles, respectively, and Dv, Vv and Qv those of the venules

CMW后立即出现细动脉明显痉挛性收缩、狭窄, 血流速度缓慢, 部分破裂出血, 毛细血管闭塞。Da在5、20 min时分别为伤前水平的81%和75% ($P < 0.05$); 45 min后为伤前直径的117% ($P < 0.05$), 而90 min达最大值, 为125% ($P < 0.05$); 2~5 h逐渐恢复至伤前水平。Va在伤后5 min仅为伤前80% ($P < 0.05$), 20 min时为74% ($P < 0.05$), 45 min~5 h期间虽然仍未完全恢复至伤前水平, 但并无统计学差异。Qa在5 min时为伤前53% ($P < 0.05$), 20 min时仅为伤前44% ($P < 0.05$), 45 min后血流量逐渐增加并超出伤前水平, 90 min、2 h时分别为伤前149%和117% ($P < 0.05$), 3 h、5 h时分别为110%和105%, 但与伤前比较无差异。伤后45 min部分细动脉有无复流和微血栓形成现象, 动静脉短路大量开放。

2.3 细静脉的变化

CMW后2~3 min时便开始舒张, 5 min~5 h期间Dv均高于伤前水平, 但无统计学差异($P > 0.05$); Vv在伤后也立即降低, 5 min时为伤前流速的77%, 20 min时仅为71%, 45 min时为86% ($P < 0.05$), 90 min时稍微恢复为96%, 但2~5 h期间又逐渐减少 ($P < 0.05$); Qv在5、20 min时为伤前87%和89% ($P < 0.05$), 45、90 min却升高至115%和120% ($P < 0.05$), 2 h时恢复接近于伤前水平, 3 h时复又升高至110% ($P < 0.05$), 5 h时因受Vv降低的影响而降至96%。

2.4 脑组织病理学改变

CMW后原发伤灶区可见广泛性脑挫裂伤, 蛛网膜下腔出血, 微血管破裂或闭塞; 神经细胞肿胀或死亡; 核周尼氏体溶解、消失, 胞质着色灰暗, 胞核偏居一侧。分别距原发伤道区3~4 cm取左侧半球和脑干组织, 显示微血管区周围间隙增大,

点状出血，神经细胞和胶质细胞肿胀，尼氏体变淡、减少。

3 讨论

3.1 脑微循环活体观察的研究方法

早期的研究工作表明，软脑膜血管网的变化是脑内血管床反应的一部分。据Shapiro等[9]的实测结果，管径小于100 μ m的软膜血管的管径、流速、流态等指标的动态变化可反应脑微循环的状态变化。因此，目前多采用软脑膜血管的活体观察来研究脑微循环的动态变化。随着Forbes[10]于1928年首次应用颅骨开窗法对脑微血管进行研究之后，此技术得到越来越广泛的应用，并在实践中不断得到完善。比较了开放颅骨窗和密闭颅骨窗小室的优缺点后，Navari[11]推荐最初由Shapiro等使用的连续脑脊液滴注法。经测定脑脊液，pH可长久保持于7.34，并且可以调节人工脑脊液流量使颅内压维持于正常范围。本实验采用开放颅骨窗技术并用恒温灌流器连续滴注人工脑脊液，取得了满意效果。在预实验过程中，发现伤侧脑组织在枪伤后立即肿胀，甚至突出于颅骨窗外，软脑膜血管几乎都闭塞，实验工作根本无法正常进行。因此，我们选用了未受伤侧进行观测，根据与原发伤道的距离和病理组织学特征，其部位正好位于挫伤区和震荡区。开放颅骨窗法简单易行，但颅内环境易受外界因素影响，仍不宜作长时间的观察研究。我们应用了先进的微循环图像分析仪，直接观察测量CMW后5 h内微血管的动态变化，使实验结果更加可靠。

3.2 CMW后微循环障碍

本实验的微循环障碍存在着三种形式，即低灌注、无复流和再灌注。CMW急早期出现微血管收缩、血流量减少的原因在于：(1)机械性刺激直接引起微血管收缩；(2)微血管自动调节；(3)神经及其递质调节：软脑膜动脉外层和大部分血管平滑肌层存在着去甲肾上腺素能神经纤维和肽能神经末梢，CMW后由于应激反应，交感-肾上腺素髓质系统兴奋，儿茶酚胺大量释放，激活微血管壁上的 α 受体，引起微血管剧烈收缩，血流量减少。由于细动脉中交感缩血管神经纤维密度大， α 受体分布多，收缩性反应较细静脉强烈。

CMW后45 min微血管舒张、血流量急剧增加的原因与以下因素有关：缺血缺氧乳酸堆积、血管平滑肌细胞膜功能紊乱、内啡肽释放增加、超氧化物存在[12]、谷氨酸浓度明显升高[13]、一氧化氮产生增加[14]等。由于血流的再灌注，更加剧了神经细胞的损伤。CMW后部分微血管存在着无复流现象，这是由于血管内皮细胞肿胀和红细胞、血小板聚集或微血栓形成导致血管狭窄、堵塞所致；动静脉短路开放后血液直接由细动脉进入细静脉，这虽然是微循环在CMW后的应激反应，具有调理血液循环的作用，但它属于非营养性通道，大量开放后也能导致周围区域脑组织的缺血缺氧。CMW急早期(45 min前)微血管低灌注和急后期(45 min后)缺血再灌注、无复流都可使脑组织受到损害。

3.3 CMW后循环、呼吸系统和脑组织病理学的变化

CMW后最明显的全身反应是心血管和呼吸系统正常生理功能受到影响。许多研究者都想将一些指标(如MABP、脑脊液、心率、呼吸等)作为动物能否存活的预测指标。Crockard等[15]认为这些指标单个分析不能作出有效判断，他们应用多元线性回归方程，指出MABP和脑脊液综合分析较为有效；同时也认为伤后30 min时的脑脊液、MABP可作为生存的预测指标，并且时间点的选择也接近于临床实际情况。出现循环和呼吸系统变化的原因，是由于CMW对脑干间接损伤效应。Allen[16]在猴的CMW研究中发现，伤道周围数毫米处脑组织有广泛性蛛网膜下腔出血和挫裂伤，并有少许细小骨折碎片和脑室内出血，光镜下显示出室管膜细胞纤毛上有红细胞，有些伴有室管膜破坏和室管膜下出血。本实验的病理组织学结果显示，原发伤道区广泛性蛛网膜下腔出血，微血管破裂，挫伤区及震荡区微血管周围间隙扩大，神经细胞中Nissl体减少，胶质细胞肿胀，说明CMW后脑组织受到严重的原发和继发性损伤。

致谢：本研究得到了第一军医大学基础部全军休克微循环重点实验室赵克森教授和黄绪亮高级技师的帮助，在此表示感谢。

参考文献：

- [1] 刘荫秋, 王正国, 马玉媛. 创伤弹道学[M]. 北京: 人民军医出版社, 1991. 261-2.
- [2] Martin NA, Patwardhan RV, Alexander MT, et al. Characterization of cerebral hemodynamic phases following severe head trauma: hypoperfusion, hyperemia, and vasospasm[J]. J Neurosurg, 1997, 87(1): 9-19.
- [3] Glenn TC, Kelly DF, Boscardin WJ, et al. Energy dysfunction as a predictor of outcome after moderate or severe head injury: indices of oxygen, glucose, and lactate metabolism[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2003, 23(10): 1239-50.
- [4] Carey ME, Sarna GS, Farrell JB, et al. Experimental missile wound to the brain[J]. J Neurosurg, 1989, 71(5): 754-64.
- [5] Shahid MS, Hatle L, Mansour H, et al. Echocardiographic and Doppler study of patients with heatstroke and heat exhaustion[J]. Int J Card Imaging, 1999, 15(4): 279-85.

- [6] Soblosky JS, Rogers NL, Adams JA, et al. Central and peripheral biogenic amine effects of brain missile wounding and increased intracranial pressure[J]. *J Neurosurg*, 1992, 76(1): 119-26.
- [7] Soblosky JS, Colgin LL, Parrish CM, et al. Procedure for the sample preparation and handling for the determination of amino acids, monoamines and metabolites from microdissected brain regions of the rat[J]. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 1998, 712(1-2): 31-41.
- [8] Dudar TE, Jain RK. Microcirculatory flow changes during tissue growth[J]. *Microvas Res*, 1983, 25(1): 1-21.
- [9] Shapiro HM, Stromberg DD, Lee DR, et al. Dynamic pressures in the pial arterial microcirculation[J]. *Am J Physiol*, 1971, 221(1): 279-83.
- [10] Forbes HS. Study of blood vessels on cortex of living mammalian brain; description of technique[J]. *Anat Rec*, 1954, 120(1): 309-15.
- [11] Navari RM, Wei EP, Kontos HA, et al. Comparison of the open skull and cranial window preparations in the study of the cerebral microcirculation[J]. *Microvas Res*, 1978, 16(3): 304-15.
- [12] Suehiro E, Ueda Y, Wei EP, et al. Posttraumatic hypothermia followed by slow rewarming protects the cerebral microcirculation[J]. *J Neurotrauma*, 2003, 20(4): 381-90.
- [13] Altura BN, Gebrewold A. Inhibitor of nuclear factor- κ B activation attenuates venular constriction, leukocyte rolling-adhesion and microvessel rupture induced by ethanol in intact rat brain microcirculation: relation to ethanol-induced brain injury[J]. *Neurosci Lett*, 2002, 334(1): 21-4.
- [14] Yang ZW, Gebrewold A, Nowakowski M, et al. Mg(2+)-induced endothelium-dependent relaxation of blood vessels and blood pressure lowering: role of NO[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2000, 278(3): R628-39.
- [15] Crockard HA, Brown FD, Johns LM, et al. An experimental cerebral missile injury model in primates[J]. *J Neurosurg*, 1977, 46(6): 776-83.
- [16] Allen IV, Maynard RL, Cooper GK, et al. Experimental penetrating head injury: Some aspects of light microscopical and ultrastructural abnormalities[J]. *Acta Neurochir*, 1983, 32(Suppl): 99-104.

参考文献:

- [1] 刘荫秋, 王正国, 马玉媛. 创伤弹道学[M]. 北京: 人民军医出版社, 1991. 261-2.
- [2] Martin NA, Patwardhan RV, Alexander MT, et al. Characterization of cerebral hemodynamic phases following severe head trauma: hypoperfusion, hyperemia, and vasospasm[J]. *J Neurosurg*, 1997, 87(1): 9-19.
- [3] Glenn TC, Kelly DF, Boscardin WJ, et al. Energy dysfunction as a predictor of outcome after moderate or severe head injury: indices of oxygen, glucose, and lactate metabolism[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2003, 23(10): 1239-50.
- [4] Carey ME, Sarna GS, Farrell JB, et al. Experimental missile wound to the brain[J]. *J Neurosurg*, 1989, 71(5): 754-64.
- [5] Shahid MS, Hatle L, Mansour H, et al. Echocardiographic and Doppler study of patients with heatstroke and heat exhaustion[J]. *Int J Card Imaging*, 1999, 15(4): 279-85.
- [6] Soblosky JS, Rogers NL, Adams JA, et al. Central and peripheral biogenic amine effects of brain missile wounding and increased intracranial pressure[J]. *J Neurosurg*, 1992, 76(1): 119-26.
- [7] Soblosky JS, Colgin LL, Parrish CM, et al. Procedure for the sample preparation and handling for the determination of amino acids, monoamines and metabolites from microdissected brain regions of the rat[J]. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 1998, 712(1-2): 31-41.
- [8] Dudar TE, Jain RK. Microcirculatory flow changes during tissue growth[J]. *Microvas Res*, 1983, 25(1): 1-21.
- [9] Shapiro HM, Stromberg DD, Lee DR, et al. Dynamic pressures in the pial arterial microcirculation[J]. *Am J Physiol*, 1971, 221(1): 279-83.
- [10] Forbes HS. Study of blood vessels on cortex of living mammalian brain; description of technique[J]. *Anat Rec*, 1954, 120(1): 309-15.
- [11] Navari RM, Wei EP, Kontos HA, et al. Comparison of the open skull and cranial window

preparations in the study of the cerebral microcirculation[J]. *Microvas Res*, 1978, 16(3): 304-15.

[12] Suehiro E, Ueda Y, Wei EP, et al. Posttraumatic hypothermia followed by slow rewarming protects the cerebral microcirculation[J]. *J Neurotrauma*, 2003, 20(4): 381-90.

[13] Altura BN, Gebrewold A. Inhibitor of nuclear factor- κ B activation attenuates venular constriction, leukocyte rolling-adhesion and microvessel rupture induced by ethanol in intact rat brain microcirculation: relation to ethanol-induced brain injury[J]. *Neurosci Lett*, 2002, 334(1): 21-4.

[14] Yang ZW, Gebrewold A, Nowakowski M, et al. Mg(2+)-induced endothelium-dependent relaxation of blood vessels and blood pressure lowering: role of NO[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2000, 278(3): R628-39.

[15] Crockard HA, Brown FD, Johns LM, et al. An experimental cerebral missile injury model in primates[J]. *J Neurosurg*, 1977, 46(6): 776-83.

[16] Allen IV, Maynard RL, Cooper GK, et al. Experimental penetrating head injury: Some aspects of light microscopical and ultrastructural abnormalities[J]. *Acta Neurochir*, 1983, 32(Suppl): 99-104.

[回结果列表](#)