

· 实验研究 ·

亚低温对新生猪缺氧缺血脑损伤 振幅整合脑电图变化的影响

汪吉梅, 刘登礼, 邵肖梅

(复旦大学儿科医院新生儿科 上海 200032)

[摘要] 目的 研究亚低温对新生猪缺氧缺血性脑损伤(HIBD)振幅整合脑电图变化的影响,旨在用振幅整合脑电图这种无创性的检查方法判断亚低温的疗效。方法 34头5~7d的新生猪随机分为四组:常温正常组($n=7$)、低温正常组($n=9$)、缺氧缺血(HI)常温组($n=9$)和HI低温组($n=9$)。采用双侧颈总动脉阻断和机械通气吸入6%的氧气制备HIBD模型。HI后2h,低温组采用选择性头部亚低温治疗(维持鼻咽温度 $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$,肛温 $36.0^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$)。常温组维持肛温在 39°C 左右。采用脑功能监测仪连续监测HI及亚低温后不同时间振幅整合脑电图振幅波谱带的变化,分析aEEG各种波形出现的比例。结果 正常新生猪aEEG表现为连续正常电压(CNV),HI 24h后HI常温组连续低电压(CLV)、爆发-抑制(BS)、平台(FT)比例较缺血前明显增高($P<0.05$),亚低温治疗组CLV、BS、FT比例增高的程度小于HI常温组($P<0.05$),HI后6d亚低温治疗组恢复至CNV的比例大于HI常温组($P<0.05$)。结论 亚低温可明显降低HI后严重aEEG异常波形(CLV, BS和FT)出现的比例,证实亚低温有神经保护作用。 [中国当代儿科杂志, 2005, 7(2): 159-162]

[关键词] 亚低温;振幅整合脑电图;缺氧缺血,脑;猪,新生

[中图分类号] R-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2005)02-0159-04

Influence of mild hypothermia treatment on amplitude integrated electroencephalogram in newborn pigs with hypoxic-ischemic brain damage

Ji-Mei WANG, Deng-Li LIU, Xiao-Mei SHAO. Department of Neonatology, Children's Hospital of Fudan University, Shanghai 200032, China (Shao X-M, Email: shao_xiaomei@yahoo.com.cn)

Abstract: Objective This study examined the effect of mild hypothermia on amplitude integrated electroencephalogram (aEEG) recordings in neonatal pigs with hypoxic-ischemic brain damage (HIBD) and investigated the role of aEEG in the assessment of the effect of mild hypothermia on HIBD. **Methods** Thirty-four 5-day-old piglets were randomly divided into four groups: a Normal control group (normal temperature, $n=7$), a Hypothermic-control group ($n=9$), a Normothermic hypoxic-ischemic (HI) group ($n=9$) and a Hypothermia-treated HI group ($n=9$). HIBD was induced by a temporary occlusion of both carotid arteries, followed by mechanical ventilation with low concentration of oxygen ($\text{FiO}_2=0.06$) for 30 minutes. The nasopharyngeal and rectal temperature maintained at $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ and $36.0^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ respectively by head cooling in the two hypothermia-treated groups. The aEEG was recorded before HI and 15 mins, 2 hrs, 12 hrs, 24 hrs, 48 hrs, 72 hrs and 6 days after HI. **Results** The normal piglets presented with continuous normal voltage (CNV). The incidence of abnormal waves reflecting the severity of brain damage, continuous low voltage (CLV), burst-suppression (BS) and flat tracing (FT), significantly increased 24 hrs after HI. The incidence of three abnormal waves in the Hypothermia-treated HI group was significantly lower than that in the normothermic HI group. A significant difference was also observed in the incidence of CNV between the two groups 6 days after HI. **Conclusions** The incidence of CLV, BS and FT recorded by aEEG decreased significantly after mild hypothermia treatment, suggesting that mild hypothermia has a neuroprotective effect against HIBD. [Chin J Contemp Pediatr, 2005, 7(2): 159-162]

Key words: Hypothermia; Amplitude integrated electroencephalogram; Hypoxia-ischemia, brain; Pig, newborn

围产期缺氧缺血性脑损伤(hypoxic-ischemic brain damage, HIBD)是围产期窒息后引起的最常见

和最严重的并发症,临床上缺乏安全有效的治疗措施,仍以对症治疗为主。亚低温治疗是采用人工诱

[收稿日期] 2005-01-08; [修回日期] 2005-02-14

[基金项目] 教育部211工程Ⅱ期学科建设基金资助项目。

[作者简介] 汪吉梅(1967-)女,在读博士研究生,主治医师,主攻方向:新生儿脑损伤脑电生理变化研究。

[通讯作者] 邵肖梅,复旦大学儿科医院新生儿科,邮编 200032。

导方法将体温下降 $2 \sim 6^{\circ}\text{C}$, 以达到治疗目的, 是 HIBD 最有前途的治疗措施之一^[1]。振幅整合脑电图 (amplitude integrated electroencephalogram, aEEG) 即脑功能监测 (cerebral function monitor, CFM) 是简单化的单频道的脑电监测, 是一种简便、有效的神经功能评价方法, 对神经系统损伤预后有很高的预测价值。本实验旨在研究 aEEG 在 HIBD 时的变化, 并探讨其与脑损伤时程的关系以及亚低温对其的影响。

1 材料与方法

1.1 HIBD 模型的制备及实验分组

HIBD 模型的制备根据 LeBlanc 等^[2]方法进行改良: 5~7 天的新生猪 34 头, 体重为 2.35 ± 0.18 kg, 随机分为四组: 常温正常组 (C-N, $n = 7$)、低温正常组 (C-H, $n = 9$)、缺氧缺血常温组 (HI, $n = 9$)、缺氧缺血低温组 (HI-H, $n = 9$)。麻醉后, 采用同步间歇性强迫换气 (synchronized intermittent mandatory ventilation, SIMV) 方式进行机械通气; 分离双侧颈总动脉供缺血用。操作完成稳定 1 h, 机械通气吸入 6% 的氧气, 同时阻断双侧颈总动脉血供 30 min。缺氧缺血 (hypoxic-ischemic, HI) 后调节吸入氧浓度为 40%, 放开双侧颈总动脉恢复灌注。

1.2 亚低温实施及温度检测

HI 后, 低温组采用半导体循环水降温仪开始头部亚低温治疗。维持鼻咽温度为 $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 。持续 24 h, 肛温维持在 $36.0^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 。停止头部降温后, 自然复温。常温组不进行亚低温治疗, 维持肛温在 39°C 左右之间 (新生猪正常体温为 $38.5^{\circ}\text{C} \sim$

39.5°C), 各组均采用常规基础及对症治疗, 维持正常通气、循环血压及内环境稳定。

1.3 aEEG 描记及评判标准

采用脑功能监测仪 (Lectromed Cerebral Function Monitor CFM 5022 Lectromed, UK Ltd.) 进行描记。电极安放位置: 双顶骨 (相当于 10/20 国际电极安放法电极位置的 P3 和 P4 处), 参考电极放置距头顶中央 25 mm 额中线上。脑电信号以半对数形式从 0-100 μV 输出在热敏感纸上, 纸速为 6 cm/h, 电阻小于 5 k Ω , 描记出的图形表现为以振幅形式出现的波谱带 (单位为 μV)。分别记录 HI 前和 HI 后 15 min、2 h、12 h、24 h、48 h、72 h、6 d 以及停低温后即刻、24 h、48 h、5 d 时 aEEG 参数的变化。每次描记至少 2 h。根据 Hellstrom-Westas 等^[3]研究我们将猪的 aEEG 结果也描述为 6 种状态: (1) 连续正常电压 (continuous normal voltage, CNV): 连续电活动, 电压为 10~25 μV , 因动物均是在睡眠状态下描记, 故无睡眠-清醒周期存在; (2) 不连续正常电压 (discontinuous normal voltage, DNV): 背景活动不连续, 但电压大于 10 μV ; (3) 连续低电压 (continuous low voltage, CLV): 连续背景活动, 电压为小于等于 10 μV ; (4) 爆发-抑制 (burst-suppression, BS): 不连续的背景形式, 间歇期电压低, 间有高幅爆发; (5) 平台 (flat tracing, FT): 小于 5 μV 的极低电压; (6) 惊厥活动 (epileptic activity, EA): 惊厥活动时电压突然增高伴有电活动带变窄, 随后短暂抑制。CNV 代表一种正常的脑功能状态, DNV 是脑功能轻度抑制的表现, 而 CLV、BS 则是重度脑损伤的标志, FT 是极重度脑损伤的标志。(见图 1)

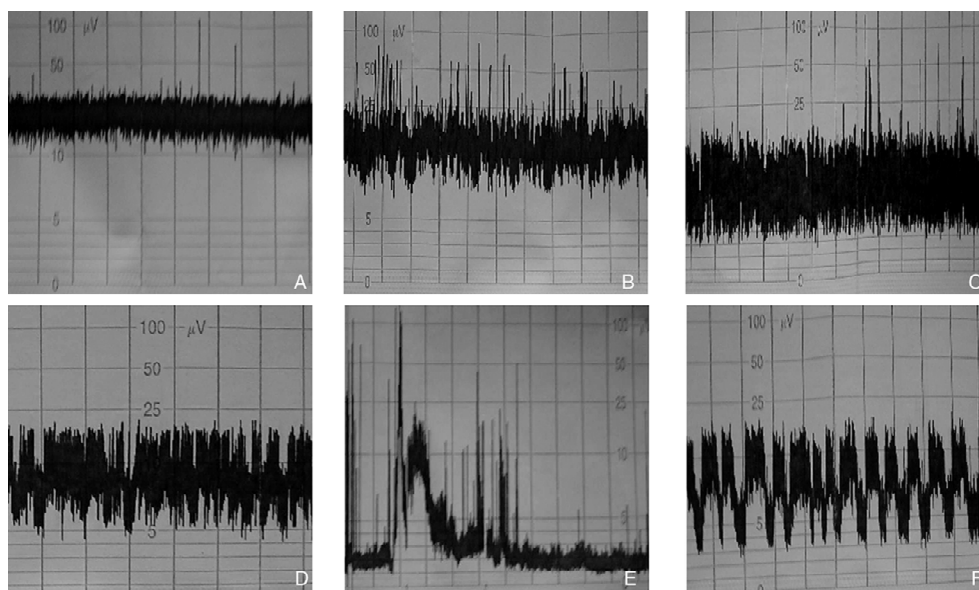


图1 新生猪振幅整合脑电图 aEEG 波形

A 连续正常电压 (CNV), B 不连续正常电压 (DNV), C 连续低电压 (CLV), D 爆发抑制 (BS), E 平台 (FT), F 惊厥活动 (EA)。

1.4 统计学处理

采用 SPSS11.0 软件进行统计学处理,所有数据以阳性例数 (%) 表示,运用 Fisher 精确检验, $P < 0.05$ 说明差别在统计学上具有显著性意义。

2 结果

2.1 缺氧缺血新生猪神经功能损害评估

HI 2 ~ 5 min 小猪皮肤灰白,大部分猪开始烦躁,约 15 min 左右开始处于昏睡、昏迷状态。终止 HI 后大约 2 h,小猪开始对刺激出现反应,自主呼吸逐渐规律。HI 组 24 h 小猪又出现明显神经抑制:活动极少、皮肤灰白,呼吸表浅等。而低温组 24 h 及以后时间小猪反应尚好,皮肤较红、呼吸较规则。

2.2 aEEG 脑电生理变化

2.2.1 低温对正常新生猪 aEEG 的影响 本研究发 现正常低温组低温 24 h (低温时) aEEG 出现 DNV 的比例明显增多,与常温正常组相比有显著性差异 ($P = 0.034$),但未出现 CLV、BS 和 FT,表明低温时脑功能处于轻度抑制状态。体温恢复后脑功能亦恢复正常。见表 1。

2.2.2 HI 对新生猪 aEEG 的影响 HI 后 15 min 出现 CLV、BS 和 FT 的比例明显增多,HI 后 2 h 基本恢复至 HI 前状态,但到 HI 24 h 至 48 h 出现 BS、FT 等异常 aEEG 波形的比例又明显增加,与常温正常组相比 $P < 0.05$ (P 分别为 0.034 和 0.041),表明 HI 使脑组织发生严重损伤。见表 2。

表 1 正常低温组不同时程 aEEG 波形出现阳性例数及所占百分比的变化 n (%)

	常温正常组 (C-N) (n = 7)					低温正常组 (C-H) (n = 9)				
	CNV	DNV	CLV	BS	FT	CNV	DNV	CLV	BS	FT
pre-HI	7(100)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	9(100)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
HI 15 min	7(100)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	9(100)	0(0)	2(22)	4(44)	3(33)
HI 2 h	7(100)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	9(100)	0(0)	0(0)	1(11)	0(0)
HI 12 h	7(100)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	-	-	-	-	-
HI 24 h	7(100)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(22)	5(56) ^a	2(22)	0(0)	0(0)
HI 48 h	7(100)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	8(89)	1(11)	0(0)	0(0)	0(0)
HI 72 h	7(100)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	9(100)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
HI 6 d	7(100)	1(14)	0(0)	0(0)	0(0)	9(100)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)

a 代表 C-H 组与 C-N 组比 $P < 0.05$

表 2 HI 组不同时程 aEEG 波形出现阳性例数及所占百分比的变化 n (%)

	常温正常组 (C-N) (n = 7)					缺氧缺血常温组 (HI) (n = 9)				
	CNV	DNV	CLV	BS	FT	CNV	DNV	CLV	BS	FT
pre-HI	7(100)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	9(100)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
HI 15 min	7(100)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0) ^a	0(0)	2(22)	4(44)	3(33)
HI 2 h	7(100)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	6(67)	2(22)	0(0)	1(11)	0(0)
HI 12 h	7(100)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0) ^a	0(0)	2(22)	4(44)	3(33)
HI 24 h	7(100)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0) ^a	0(0)	1(11)	4(44)	4(44) ^a
HI 48 h	7(100)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0) ^a	0(0)	1(11)	5(56) ^a	3(33)
HI 72 h	7(100)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0) ^a	0(0)	2(22)	4(44)	3(33)
HI 6 d	7(100)	1(14)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0) ^a	0(0)	3(33)	4(44)	2(22)

a 代表 HI 组与 C-N 组比 $P < 0.05$

2.2.3 HI 后选择性头部亚低温治疗对新生猪 aEEG 的影响 亚低温治疗组 24 h 出现 FT 比例和 48 h 出现 BS 比例明显少于缺氧缺血常温组 (P 分别为 0.041 和 0.025),说明亚低温对损伤的神经

细胞有明显保护作用,而且选择性头部亚低温治疗组 72 h 后出现 DNV 比例增高 ($P = 0.000$),6 d 时 CNV 出现比例明显增高 ($P = 0.041$),是脑功能恢复的表现。见表 3。

表3 亚低温组不同时期 aEEG 波形出现阳性例数及所占百分比的变化

n(%)

	缺氧缺血常温组(HI)(n = 9)					缺氧缺血低温组(HI-H)(n = 9)				
	CNV	DNV	CLV	BS	FT	CNV	DNV	CLV	BS	FT
pre-HI	9(100)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	9(100)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
HI 15 min	0(0)	0(0)	2(22)	4(44)	3(33)	0(0)	0(0)	0(0)	6(67)	3(33)
HI 2 h	6(67)	2(22)	0(0)	1(11)	0(0)	7(78)	2(22)	0(0)	0(0)	0(0)
HI 12 h	0(0)	0(0)	2(22)	4(44)	3(33)	-	-	-	-	-
HI 24 h	0(0)	0(0)	1(11)	4(44)	4(44)	0(0)	2(22)	6(67)	1(11)	0(0) ^a
HI 48 h	0(0)	0(0)	1(11)	5(56)	3(33)	0(0)	3(33)	6(67) ^a	0(0) ^a	0(0)
HI 72 h	0(0)	0(0)	2(22)	4(44)	3(33)	0(0)	9(100) ^a	0(0)	0(0) ^a	0(0)
HI 6 d	0(0)	0(0)	3(33)	4(44)	2(22.2)	4(44) ^a	5(56) ^a	0(0)	0(0) ^a	0(0)

a 代表 HI 组与 HI-H 组比 $P < 0.05$

3 讨论

神经电生理监测作为一种无创伤的检测手段,能直接地反映神经细胞功能状态,因此我们选用神经电生理监测的方法来评价亚低温对 HIBD 的疗效。aEEG 在窒息及 HIE 等缺氧缺血性病变预后判定方面有着明显的优越性,同时可判定治疗效果^[4]。aEEG 在 HIBD 早期诊断和预后判断中的价值已经被许多研究所证实^[5,6]。

本实验显示正常低温组低温 24 h(低温时)aEEG 出现 DNV 的比例明显增多,但在体温正常后脑功能很快恢复,表明亚低温对正常新生猪脑功能仅有轻度抑制作用,不产生器质性的脑损伤表现。研究发现低温可使脑电发生改变,它可使神经传导功能受抑制,突触传递效率减低,从而产生因低温而致的脑功能轻度抑制表现。

HI 15 min aEEG 表现严重抑制状态(CLV、BS 和 FT),HI 2 h 大多数都恢复,12 h 后又出现抑制表现,24 h 达高峰,脑电图抑制最明显,是脑细胞受损的表现。Williams^[7]等采用磁共振波谱(MRS)分析新生动物 HI 后的脑能量代谢,发现复苏后脑细胞能量代谢即刻恢复,维持相当平稳一定时间后,约在 HI 后 9~24 h 后继发能量衰竭。本研究中脑电变化规律与脑代谢二次能量衰竭的演变时间同步,故推测 aEEG 的异常变化系脑能量代谢变化所致。

王来栓^[8]等研究表明亚低温可明显改善 HIBD 后的线粒体功能,延迟能量衰竭对线粒体的损伤,并显著减少 HIBD 后凋亡的发生率,而发挥脑保护作用。我们的 aEEG 研究表明低温治疗组 24 h 后出现严重脑损伤状态(CLV、BS 和 FT)的比例明显减少,证实了亚低温的脑保护作用。由于 BS、FT 是反应神经元的抑制过程,HI 后神经元受损而表现为这些

aEEG 异常波形出现的比例增多。尤以 24 h 抑制最为明显,之后有所恢复,低温组与常温组相比 aEEG 的异常波形恢复较快,48 h 后重度异常 aEEG 波形(爆发-抑制和平台)的比例明显减少,而正常和轻度异常 aEEG 波形(CNV 和 DNV)出现的比例逐渐增多,反映了低温治疗后的神经功能的逐渐增强,而脑电生理的改善也是临床症状改善的一种反映。

[参考文献]

- [1] Battin MR, Penrice J, Gunn TR, Gunn AJ. Treatment of term infants with head cooling and mild systemic hypothermia (35.0 degrees C and 34.5 degrees C) after perinatal asphyxia [J]. *Pediatrics*, 2003, 111(2): 244-251.
- [2] LeBlanc MH, Qian XB, Cai ZW. The effect of glucose during ischemia on brain ATP, lactate and glutamate in piglets [J]. *Biol Neonate*, 1997, 72(1): 243-254.
- [3] Hellstrom-Westas L, Rosen I, Svenningsen NW. Predictive value of early continuous amplitude integrated EEG recordings on outcome after severe birth asphyxia in full term infants [J]. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 1995, 72(1): F34-F38.
- [4] Groenendaal F, Rademaker CM, Toet MC, de Vries LS. Effects of magnesium sulphate on amplitude-integrated continuous EEG in asphyxiated term neonates [J]. *Acta Paediatr*, 2002, 91(10): 1073-1077.
- [5] Toet MC, van der Meij W, de Vries LS, Uiterwaal CS, van Huffelen KC. Comparison between simultaneously recorded amplitude integrated electroencephalogram (cerebral function monitor) and standard electroencephalogram in neonates [J]. *Pediatrics*, 2002, 109(5): 772-779.
- [6] Azzopardi D, Robertson NJ, Cowan FM, Rutherford MA, Rampling M, Edwards AD. Pilot study of treatment with whole body hypothermia for neonatal encephalopathy [J]. *Pediatrics*, 2000, 106(4): 684-694.
- [7] Williams GD, Dardzinski BJ, Buckalew AR, Smith MB. Modest hypothermia preserves cerebral energy metabolism during hypoxia-ischemia and correlates with brain damage: a 31P nuclear magnetic resonance study in unanesthetized neonatal rats [J]. *Pediatr Res*, 1997, 42(5): 700-708.
- [8] 王来栓,于力君,张旭东,邵肖梅. 亚低温对新生大鼠缺氧缺血脑损伤线粒体功能及凋亡的影响 [J]. *复旦学报(医学版)*, 2003, 30(2): 95-98.

(本文编辑:王霞)