

## 脑干诱发电位对重症急性胰腺炎大鼠脑损伤的诊断作用

彭波<sup>1)</sup>, 仵正<sup>2)</sup>, 沙焕臣<sup>2)</sup>, 马清涌<sup>2)</sup>, 罗显华<sup>2)</sup>, 张翠<sup>2)</sup>

(1) 西安交通大学医学院第一附属医院急诊科; 2) 肝胆外科, 陕西 西安 710061)

**[摘要]** **目的** 探讨脑干诱发电位对重症急性胰腺炎 (severe acute pancreatiti, SAP) 大鼠脑损伤的诊断作用. **方法** 60 只成年雄性 SD 大鼠随机分为假手术 (sham operation, SO) 组和重症急性胰腺炎 (SAP) 组. 两组均于制模后 3、6、12 h 测量脑干诱发电位变化; 透射电镜观察脑组织超微结构的变化; 免疫组化和 Western Blot 检测脑组织 Bax、bcl-2 和 caspase-3 蛋白表达. **结果** 与 SO 组比较, SAP 组各时间点脑干诱发电位均呈下降趋势 ( $P < 0.05$ ); 透射电镜结果显示 SAP 组出现明显脑组织损伤变化; SO 组 Bax、caspase-3 蛋白表达显著低于 SAP 组 ( $P < 0.05$ ), bcl-2 蛋白表达明显高于 SAP 组. **结论** 脑干诱发电位对大鼠脑损伤早期诊断灵敏, 其结果与大鼠脑损伤程度表现出一致性, 可能成为胰性脑病的重要临床诊断指标.

**[关键词]** 重症急性胰腺炎; 脑干诱发电位; 胰性脑病

**[中图分类号]** R657.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095 - 610X (2013) 11 - 0009 - 03

## The Diagnostic Effect of Brainstem Evoked Potential for Pancreatic Encephalopathy in Rats with Severe Acute Pancreatitis

PENG Bo<sup>1)</sup>, WU Zheng<sup>2)</sup>, SHA Huan - chen<sup>2)</sup>, MA Qing - yong<sup>2)</sup>, LUO Xian - hua<sup>2)</sup>, ZHANG Cui<sup>2)</sup>

(1) Dept. of Emergency; 2) Dept. of Hepatobiliary Surgery, The First Affiliated Hospital, Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an Shanxi 710061, China)

**[Abstract]** **Objective** The aim of this study is to demonstrate the diagnostic effect of brainstem evoked potential for pancreatic encephalopathy in rats with severe acute pancreatitis. **Methods** Sixty male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into two equal groups: a sham-operated (SO) group and a severe acute pancreatitis (SAP) group. Each group was evaluated at 3, 6, and 12 h during the experiment. To detect the brain stem evoked potential change at different time points. The ultrastructure of brain tissue was observed by transmission electron microscope (TEM). The expressions of the apoptosis-related proteins Bcl-2, Bax and caspase-3 were observed using immunohistochemical and Western Blot technique. **Results** In SAP group, congestion, edema, inflammatory cell infiltration, mitochondrial swelling and cell apoptosis were apparent. Compared with SO group, the brain stem evoked potential in severe acute pancreatitis group was obviously reduced in SAP group. Compared with SAP group, the expressions of Bcl-2 have increased, whereas the expressions of Bax and caspase-3 have decreased in SO group significantly ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Brain stem evoked potential is a sensitive method in detection of rat brain damage. The results showed that the consistency and the damage degree of rats may be important clinical diagnostic index of pancreatic encephalopathy.

**[Key words]** Severe acute pancreatitis; Brainstem evoked potential; Pancreatic encephalopathy

---

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目 (430772746); 陕西省科技攻关资助项目 (2012k16-08)

**[作者简介]** 彭波 (1958~), 男, 陕西长安市人, 医学学士, 副教授, 主要从事危重医学相关研究工作.

**[通讯作者]** 沙焕臣. E-mail: shahuanchen.229@stu.xjtu.edu.cn

胰性脑病 (pancreatic encephalopathy, PE) 是重症急性胰腺炎 (severe acute pancreatitis, SAP) 发病过程中严重并发症之一。尽管随着重症医学的不断发展, SAP 死亡率呈现逐渐下降的趋势。但亦今为止, SAP 患者一旦并发 PE, 其死亡率仍维持在 46% ~ 60% 之间<sup>[1]</sup>。由此可见, PE 仍然是 SAP 患者致死性严重并发症之一。而对于 PE 的早期诊断及治疗则是影响 SAP 患者预后的关键因素。但目前仍没有针对 PE 特异性诊断方法, 现阶段对于 PE 的主要诊断依据仍然是在胰腺炎发病过程中出现中枢神经系统的症状和体征<sup>[1,2]</sup>。因此, 寻找诊断 PE 特异性诊断方法, 将有助于 PE 的早期诊断和治疗, 最大程度降低 PE 患者的病死率。

脑干听觉诱发电位 (brain auditory evoked potentials, BAEP) 是一种公认的检测脑组织损伤的灵敏指标<sup>[3,4]</sup>。已经被广泛应用于新生儿缺氧、缺血性脑病以及外科颅脑损伤的诊断及预后评估。但是, 目前为止还没有将 BAEP 应用于 PE 诊断的相关报道。本研究通过动物实验, 首次将 BAEP 应用于大鼠 PE 的早期诊断, 以期为临床 PE 的早期诊断提供简单、安全、快捷、灵敏的诊断方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

健康成年雄性 SD 大鼠 60 只, 体质量 250 ~ 300 g, 购自西安交通大学医学院实验动物中心; 牛磺胆酸钠, 购自美国 Sigma 公司; Bax、Bcl-2 和 caspase-3 检测试剂盒, 购自晶美生物工程有限公司; 透射电镜, 由日本东芝公司提供; 诱发电位仪, 购自日本光电公司。

### 1.2 实验动物与模型制作方法

60 只成年雄性健康 SD 大鼠, 随机分为假手术 (SO) 组和重症急性胰腺炎模型 (SAP) 组, 每组分为 3、6 和 12 h 3 个时间点, 每组 10 只。实验动物禁食 12 h, 禁水 4 h, 25 g/L 戊巴比妥钠 (1.2 mg/kg) 腹腔注射麻醉。动脉夹夹闭胰胆管近端和远端, 40 g/L 牛磺胆酸钠 (1 mL/kg) 经胰胆管逆行注射, 保持 1 min 后拔出穿刺针, 取出动脉夹。SO 组仅于开腹翻动十二指肠后缝合腹壁。大鼠分别在制模后 3、6 和 12 h 行脑干诱发电位检测后剖杀取材。BAEP 的测量方法: 使用诱发电位仪记录 BAEP 波群, 测量各波峰潜伏期 (peak latency, PL)。左侧单耳刺激, 对侧耳道用无菌棉球堵塞, 测量记录重复 3 次。无损皮下定位针安放电极, 其中引导电极置于颅顶正中皮下, 参考电极

置于下颌皮下, 接地电极置于尾根部皮下。测量引导参数: 滤波频带 100 ~ 3 000 Hz; 扫描时间为 10 ms; 叠加次数为 256 次; 采用 60 dB 声强度的短声刺激, 刺激频率为 10 Hz<sup>[5]</sup>。

### 1.3 脑组织病理学观察

脑组织以 40 g/L 多聚甲醛固定后, 常规石蜡包埋切片, 留作免疫组化和 HE 染色。取 0.5 cm<sup>3</sup> 新鲜脑组织至于液氮冷冻保存留作 Western Blot 检测。另取脑组织 1 mm<sup>3</sup> 以 25 g/L 戊二醛 4℃ 固定 8 h, 梯度酒精脱水, 环氧树脂 Epon812 浸透, LKB-V 型超薄切片机进行超薄切片 (50 ~ 70 nm), 电镜下观察脑组织超微结构改变。

### 1.4 脑组织 Bax、bcl-2 和 caspase-3 免疫组化和 Western Blot 检测

应用晶美生物工程有限公司提供的蛋白检测试剂盒检测脑组织中 Bax、bcl-2 和 caspase-3 蛋白表达情况, 详细步骤严格按照试剂盒说明书进行操作。

### 1.5 统计学处理

应用 SPSS 进行数据分析, 组内比较用单因素方差分析, 结果用均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 大鼠胰腺和脑组织病理学改变

SO 组无明显病理学改变。SAP 组肉眼可见胰腺大片状坏死, 胰周及网膜点状皂化斑, 大量血性腹水; 光学显微镜下可见胰腺实质大片状出血、坏死及炎性细胞浸润, 提示 SAP 模型复制成功。SO 组脑组织结构均无明显异常。SAP 组可见神经元细胞明显肿胀, 细胞核溶解, 线粒体明显肿胀, 胞质内细胞器结构破坏, 神经纤维脱髓鞘样改变, 小血管管壁完整性破坏, 脑血管周围水中明显, 脑实质内可见灶状出血。

### 2.2 脑干诱发电位变化

不同时间点各组大鼠 BAEP I 至 V 渡的波峰出现时间从 SO 组到 SAP 组逐渐延长, 即自 SO 组至 SAP 组各波 PL 逐渐延长 ( $P < 0.05$ ), 见表 1。2 组大鼠在 12 h 时间点 BAEP 波形。

### 2.3 脑组织 Bax、bcl-2 和 caspase-3 免疫组化检测结果

SO 组大鼠脑组织中凋亡抑制蛋白 bcl-2 呈高水平表达, 与之相反, 凋亡调控蛋白 Bax 和 caspase-3 呈低水平表达; 与 SO 组比较, SAP 组各时间点 bcl-2 蛋白表达均明显降低, 而 Bax 和 cas-

pase-3 蛋白表达则明显升高 ( $P < 0.05$ ) .

#### 2.4 脑组织 Bax、bcl-2 和 caspase-3 Western Blot 检测结果

SO 组 Bax、Bcl-2、caspase-3 均成较低水平表

达. SAP 组各时间点 Bax 和 caspase-3 表达明显高于 SO 组, Bcl-2 蛋白表达明显低于 SO 组 ( $P < 0.05$ ) .

表 1 各组大鼠 12 h 脑干诱发电位波峰潜伏期检测结果 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 1 The results of peak latency of brainstem evoked potential at 12 h time point ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	I 波	II 波	III 波	IV 波	V 波
SO 组	10	1.34 ± 0.21	3.23 ± 0.25	4.52 ± 0.17	5.24 ± 0.17	6.27 ± 0.20
SAP 组	10	2.23 ± 0.24*	4.57 ± 0.21*	6.07 ± 0.23*	7.05 ± 0.19*	8.12 ± 0.26*

与 SO 组比较, \* $P < 0.05$ .

### 3 讨论

PE 的发病机制复杂, 亦今为止关于 PE 发病机制仍没有统一的认识<sup>[9]</sup>. 目前仍普遍认为它是一个多因素综合作用的结果, 包括胰酶自身激活、炎症因子和氧自由基过渡释放、血流动力学改变和微循环障碍、低氧血症、细菌和真菌感染、水电解质紊乱和维生素 B1 缺乏等综合性因素<sup>[7]</sup>.

不管导致 PE 的原因是什么, 对于本病的早期发现和早期介入治疗, 是提高 SAP 治愈率、降低病死的关键环节. 然而, 由于临床缺乏 PE 特异性诊断指标, 加之 SAP 疾病本身临床表现的复杂性, 使得临床医生很难对 PE 作出及时、准确的诊断. 因此, 积极探索 PE 特异性诊断指标, 对早期进行相关治疗, 降低 PE 病死率起到了至关重要的作用.

BAEP 是指发放短声刺激 10 ms 内记录到的一组振幅强弱不等的连续波群, 一般由 5 个稳定波组成. 按国际惯例使用罗马数字 I ~ V 表示, 其中 I、III、V 波最稳定, 尤其是 V 最为稳定<sup>[9]</sup>. 目前的研究已证实 BAEP 的 5 个波群均具有其特定的神经发生源, 可敏感的反映外周听神经和脑干的功能活动情况. 当脑组织受损时, 主要表现为 I、III、V 波峰期延长或缺失, 且与脑组织损伤的程度呈正相关. BAEP 对脑组织损伤的诊断具有简单、灵敏、特异性强、客观性强、稳定性好等优势. 它可敏感地反映脑干的功能活动情况, 是一种较准确的客观测方法. 因此, 目前已经被广泛应用于新生儿缺血、缺氧性脑病以及颅脑损伤的诊断, 并且成为判断颅脑损伤预后的主要检测方法之一<sup>[9]</sup>.

本实验研究结果显示, 随着大鼠 PE 模型的成功建立, SAP 组 BAEP 异常率明显高于 SO 组, 主

要表现为 I、III、V 波峰潜伏期、波间期较正常值明显延长, 并且波幅出现成分缺失或低波幅. 这种趋势随着 SAP 模型建立时间延长而更趋于明显. 这些异常变化与笔者通过透射电镜、脑组织病理检测以及脑组织凋亡调控蛋白的检测结果基本一致, 提示 BAEP 不仅对脑损伤诊断灵敏, 更与脑损伤程度呈正相关性. 这些结果与文献中报道的结果一致. 随着研究的不断深入和诊断标准的不断完善, BAEP 极可能成为临床 PE 诊断的客观指标.

#### [参考文献]

- [1] 彭波, 沙焕臣, 马清涌. 白藜芦醇对大鼠重症急性胰腺炎脑损伤的保护作用[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2010, 31(4):490-492.
- [2] 张建平, 倪家连. 胰性脑病诊治研究进展[J]. 医学综述, 2011, 23(5):439-441.
- [3] 朱沂, 包国庆, 孙娟, 等. 大鼠脑桥、中脑电损伤后脑干听觉诱发电位的敏感性研究[J]. 中华神经外科杂志, 2011, 27(6):571-575.
- [4] 殷颖, 刘凡杰, 殷镜海. 脑储备能力评测平台的成分分析[J]. 生物医学工程研究, 2013, 32(1):49-50.
- [5] 曾志, 周卓妍, 宋燕燕, 等. 促红细胞生成素对新生大鼠缺氧缺血性脑损伤的保护作用[J]. 暨南大学学报(医学版), 2011, 32(2):155-159.
- [6] 江少娜. 胰性脑病的研究现状[J]. 实用心脑血管病杂志, 2012, 20(2):373-375.
- [7] 彭波, 沙焕臣, 马清涌. 白藜芦醇对大鼠重症急性胰腺炎脑损伤的保护作用[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2010, 31(4):490-492.
- [8] 莫玲燕. 小儿听觉电生理测试的临床应用简述[J]. 听力学及言语疾病杂志, 2009, 17(5):416-417.
- [9] 林存国, 耿荣娟. 新生儿缺氧缺血性脑病预后评估进展[J]. 医学综述, 2011, 17(10):1052-1054.

(2013-10-14 收稿)