

探究不同浓度七氟醚对七氟醚缺血后处理大鼠的脑保护作用

郝 畅¹, 骆岳峰¹, 宋恺颖², 林冰纯¹

¹深圳市前海蛇口自贸区医院, 麻醉与围手术期医学科, 广东 深圳

²深圳市宝安区妇幼保健院, 麻醉科, 广东 深圳

收稿日期: 2023年7月21日; 录用日期: 2023年8月14日; 发布日期: 2023年8月21日

摘 要

目的: 探究不同浓度七氟醚对七氟醚缺血后处理大鼠的脑保护作用。方法: 选取SPF级成年雄性Wistar大鼠, 动物被随机分成5组。假手术组、对照组、0.5 MAC组、1.0 MAC组、1.5 MAC组, 使用改良的Pulsinelli四血管闭塞法建立脑缺血模型, 使用Zea-Longa评分标准进行评分, 于再灌注24 h对各组大鼠进行神经功能缺损评分, 评分完成后将大鼠(每组8只)以10%水合氯醛腹腔注射麻醉, 断头取脑, 测量梗死区域大小。结果: 神经功能缺陷评分结果与假手术组比较, 其他各组24 h缺损功能评分增加($P = 0.05$), 与对照组比较, 1.0 MAC和1.5 MAC组24 h神经缺损功能评分减轻($P < 0.05$), 与0.5 MAC组比较, 1.0 MAC和1.5 MAC神经功能缺损评分减轻, 1.5 MAC组优于1.0 MAC组($P > 0.05$)。脑梗死面积测量结果1.0 MAC和1.5 MAC七氟醚的后处理明显减少了梗死面积, 1.0 MAC组的梗死面积为31.2%, 1.5 MAC组为27.6%, 远小于对照组的梗死面积45.2%, 0.5 MAC组的梗死面积为41.5%, 与对照组相比梗死面积差距不大。结论: 七氟醚对其缺血后处理的大鼠有一定的脑保护作用, 且其保护程度与七氟醚浓度存在一定相关性。

关键词

七氟醚, 改良的Pulsinelli四血管闭塞法, 缺血后处理, 大鼠, 脑保护

To Explore Brain Protection Effect of Different Concentration of Sevoflurane on Sevoflurane Ischemic Postconditioning in Rats

Chang Hao¹, Yuefeng Luo¹, Kaiying Song², Bingchun Lin¹

¹Department of Anesthesia and Perioperative Medicine, Shenzhen Qianhai Shekou Free Trade Zone Hospital, Shenzhen Guangdong

²Department of Anesthesia, Shenzhen Baoan District Maternal and Child Health Hospital, Shenzhen Guangdong

文章引用: 郝畅, 骆岳峰, 宋恺颖, 林冰纯. 探究不同浓度七氟醚对七氟醚缺血后处理大鼠的脑保护作用[J]. 临床医学进展, 2023, 13(8): 13303-13308. DOI: 10.12677/acm.2023.1381859

Abstract

Objective: To investigate the protective effect of sevoflurane at different concentrations on the brain of rats treated with sevoflurane ischemia. **Methods:** Adult male Wistar rats with SPF grade were selected and randomly divided into 5 groups. In sham operation group, control group, 0.5 MAC group, 1.0 MAC group and 1.5 MAC group, the cerebral ischemia model was established using the modified Pulsinelli four-vessel occlusion method, and the scores were performed using the Zea-Longa scoring standard. The neurological impairment scores were performed for each group at 24 h after reperfusion. After the score was completed, the rats (8 in each group) were anesthetized by intraperitoneal injection of 10% chloral hydrate, and the brains were removed by decapitation to measure the infarct area size. **Result:** Compared with sham operation group, 24 h defective function score increased in other groups ($P = 0.05$); compared with contrast group, 24 h defective function score decreased in 1.0 MAC and 1.5 MAC groups ($P < 0.05$); compared with 0.5 MAC group, 24 h defective function score decreased in 1.0 MAC and 1.5 MAC groups. The neurological impairment scores of 1.0 MAC and 1.5 MAC were reduced, and the 1.5 MAC group was better than the 1.0 MAC group ($P > 0.05$). The results showed that post-treatment with 1.0 MAC and 1.5 MAC sevoflurane significantly reduced the infarct size. The infarct size of the 1.0 MAC group was 31.2%, and that of the 1.5 MAC group was 27.6%, which was much smaller than that of the control group (45.2%). The infarct size of 0.5 MAC group was 41.5%, which was not much different from that of control group. **Conclusion:** Sevoflurane can protect the brain of ischemic rats, and the degree of protection is related to the concentration of sevoflurane.

Keywords

Sevoflurane, Improved Pulsinelli Four Vascular Occlusion Method, Ischemic Postconditioning, Rats, Brain Protection

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

围术期急性脑缺血是非心脏血管手术的患者致残和致死的重要根源[1], 它的发生率逐年增加[2], 围术期发生的脑卒中比非术中发生的脑卒中致死率更高, 预后也更差[3], 在非心脏和神经外科手术中, 围术期脑卒中发生后 30 d 内的死亡率明显增加[4]; 对于有脑卒中病史的患者, 围术期再次发生脑卒中的死亡率可达 60% [5]。对围术期脑卒中, 不能及时发现和治疗可能加重患者的不良预后[6]。围术期隐匿性脑卒中增加住院期间谵妄风险和术后 1 年有症状的脑卒中或短暂性脑缺血发作的风险, 加重远期认知功能损害[7]。目前缺血性脑卒中约占脑卒中亚型的 85%, 我国每年死于缺血性脑卒中的人口约为 160 万[8]。所以, 围术期发脑缺血的发生对患者的影响巨大。而相对于其他组织, 大脑对缺血缺氧耐受力明显较差, 而当脑缺血发生以后即使进行再灌注, 也还是有可能会发生神经元功能障碍。在临床工作中, 缺血后再灌注的情况常有发生, 如颈动脉狭窄内膜剥脱术后、脑外科手术中血管吻合术后、治疗缺血性脑卒中时在溶栓等治疗过程中也很大可能会引发缺血后再灌注损伤。大量动物实验证实脑发生缺血后会引神经细胞坏死或凋亡, 从而引起脑功能障碍, 给社会、家庭及患者带来巨大的精神痛苦和经济负担, 已成为

制约一些手术和治疗措施开展的难题[9]。大量研究证实麻醉药如吸入性麻醉药如七氟醚预处理对缺血脏器具有保护作用[10]，而针对改良的 Pulsinelli 四血管闭塞法缺血后处理的脑缺血模型大鼠不同浓度七氟醚的脑保护效果缺乏相关研究，本次实验将用 SPF 级成年雄性 Wistar 大鼠制作脑缺血模型，以探寻七氟醚缺血后处理不同浓度七氟醚对大鼠的脑保护作用的差异。

2. 材料与方法

2.1. 实验动物模型制备及分组

实验动物：SPF 级成年雄性 Wistar 大鼠(180 ± 20 克)，由中山大学实验动物中心提供。建立改良的 Pulsinelli 四血管闭塞法前脑缺血模型：为恒定大鼠血糖水平，先将成年大鼠禁食 12 h，缺血前一天烧灼阻断双侧椎动脉，第二天夹闭颈总动脉 15 分钟后松开，恢复脑血供。因低体温对于脑缺血也有一定的保护作用，为降低缺血后低体温对脑保护的影响，实验期间将保持体温和脑温在约 37℃。

动物被随机分成 5 组。1) 假手术组：动物经过同样的手术过程，但不夹闭颈总动脉，15 分钟后给予大鼠吸入 1.0 MAC 七氟醚 30 分钟；2) 对照组：夹闭颈总动脉 15 分钟后，在再灌注开始时给予大鼠吸入 O230 分钟；3) 0.5 MAC 组：夹闭颈总动脉 15 分钟后，在再灌注开始时给予大鼠吸入 0.5 MAC 七氟醚 30 分钟；4) 1.0 MAC 组：夹闭颈总动脉 15 分钟后，在再灌注开始时给予大鼠吸入 1.0 MAC 七氟醚 30 分钟；5) 1.5 MAC 组：夹闭颈总动脉 15 分钟后，在再灌注开始时给予大鼠吸入 1.5 MAC 七氟醚 30 分钟。

2.2. 实验方法

参照 Zea-Longa 等评分标准，于再灌注 24 h 对各组大鼠进行神经功能缺损评分。无神经功能缺损症状 0 分：不能充分伸展左侧前爪 1 分：向左侧转圈 2 分：向左侧倾倒 3 分：不能自发行走，意识丧失 4 分。1~3 分留用，0 分和 4 分者根据排除标准排除，进行神经功能缺陷评分。

评分完成后将大鼠用水合氯醛(10%)注射入腹腔进行麻醉后断头取脑，将大鼠脑组织放入-20℃冰箱中，冷冻半小时后，将脑组织切片，每片厚度约为 2 mm，将脑片放入 2%氯化三苯基四氮唑(2,3,5-triphenyltetrazolium chloride, TTC)中，放入 37℃水浴中，进行染色，半小时后用 10%甲醛溶液进行固定。将脑片染色好后，发生梗死的区域为白色，正常区域为红色。测量梗死区域大小以评估实验结果。

2.3. 统计学检验

应用 SPSS 20.0 统计软件进行分析，正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{X} \pm s$)表示，组间比较采用单因素方差分析(ANOVA)，不符合正态分布用秩和检验，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. 神经功能缺陷评分

对照组可见明显的行走时左侧转圈现象。与假手术组比较，其余四组的 24 h 神经缺损功能评分明显增加($P = 0.05$)，与对照组相比较，1.0 MAC 和 1.5 MAC 组的 24 h 神经缺损功能评分减轻($P < 0.05$)，与 0.5 MAC 组比较，1.0 MAC 和 1.5 MAC 神经功能缺损有所改善，1.5 MAC 组的评分好于 1.0 MAC 组($P > 0.05$)。见表 1。

3.2. 脑梗死面积测量

1.0 MAC 和 1.5 MAC 七氟烷的后处理明显减少了梗死面积，1.0 MAC 组的脑梗死面积测量结果是 31.2%，1.5 MAC 组的脑梗死面积测量结果是 27.6%，明显小于对照组的脑梗死面积 45.2%，而 0.5 MAC 组的脑梗死面积结果是 41.5%，与对照组的的结果相差不大(见图 1)。

Table 1. Neurological function score of rats in each group
表 1. 各组大鼠神经功能评分表

分组	神经功能缺陷评分
空白组	0
对照组	2.753 ± 0.332 ^a
0.5 MAC 组	2.241 ± 0.312 ^{ab}
1.0 MAC 组	1.759 ± 0.451 ^{abc}
1.5 MAC 组	1.002 ± 0.000 ^{abcd}

注：表中与空白组比较，^a $P < 0.05$ ；与对照组比较， $P < 0.05$ ，与 0.5 MAC 组比较， $P < 0.05$ ；与 1.0 MAC 组比较， $P < 0.05$ 。

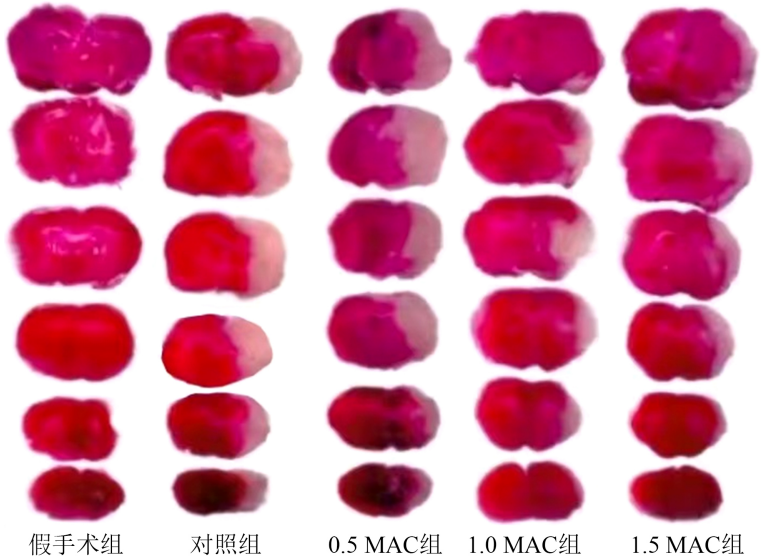


Figure 1. Comparison of cerebral infarction area in different groups of rats
图 1. 不同组别大鼠脑梗死面积对照

4. 结论

七氟醚对其缺血后处理的大鼠有一定的脑保护保用，且其保护程度与七氟醚浓度存在一定相关性。

5. 讨论

围术期脑缺血被认为是一项严重的并发症，也是非心脏血管手术的患者致残和致死的重要根源，脑组织对缺血缺氧耐受力差，脑缺血后即使再灌注也很容易引起神经元功能障碍[11]，动物实验已经证实脑发生缺血后会引引起神经细胞坏死或凋亡[12]。脑水肿、细胞凋亡和炎症反应是脑缺血/再灌注损伤主要病理表现[13][14]，这些因素导致脑损伤预后较差[15]，从而引起脑功能障碍。大量研究证实麻醉药如吸入性麻醉药如七氟醚预处理对缺血脏器具有保护作用[16]。对于已发生缺血的脏器，麻醉药后处理的方式可以减轻脏器在再灌注时带来的损伤，特别是吸入麻醉药，如异氟醚、七氟醚、地氟醚等，可以通过一系列细胞机制和扩张脑血管来减少脑缺血的组织损伤和抗氧化而起到脑保护作用[17]，研究证明，麻醉性镇痛药可减轻脑缺血缺氧性损伤[18]。吸入性麻醉药在某些临床状态，如局灶性脑缺血/缺氧时有神经保护

作用[19], 具体机制尚不清楚。吸入性麻醉药和脏器缺血再灌注事件在发生的时间序贯性上和临床应用的把握度上都具有其独特的优势, 因而成为目前最为关注也最具潜力的脏器保护方式。预处理只有在脑缺血发生可预测时, 才具有临床可行性。事实上, 大多数脑损伤是不可预测的。本研究通过建立改良的 Pulsinelli 四血管闭塞法前脑缺血模型, 夹闭颈总动脉 15 分钟后, 在再灌注开始时给予大鼠吸入不同 MAC 七氟醚后通过对实验大鼠进行神经功能缺陷评分及测量脑梗死面积, 通过脑缺血再灌注后进行干预, 证实七氟醚对脑缺血再灌注损伤的有一定的保护作用, 且其保护程度与七氟醚浓度存在一定相关性, 这可以为围术期脑缺血预防及治疗寻找理论依据及实践基础, 将有利于围术期严重并发症——脑缺血的预防和治理。

参考文献

- [1] Khormaei, S., Do, H.T., Mayr, Y., Gialdini, G., Kamel, H., Lyman, S. and Cross, M.B. (2018) Risk of Ischemic Stroke after Perioperative Atrial Fibrillation in Total Knee and Hip Arthroplasty Patients. *The Journal of Arthroplasty*, **33**, 3016-3019. <https://doi.org/10.1016/j.arth.2018.04.009>
- [2] Smilowitz, N.R., Gupta, N., Ramakrishna, H., et al. (2017) Perioperative Major Adverse Cardiovascular and Cerebrovascular Events Associated with Non-Cardiac Surgery. *JAMA Cardiology*, **2**, 181-187. <https://doi.org/10.1001/jamacardio.2016.4792>
- [3] Vlisides, P.E., Moore, L.E., Whalin, M.K., et al. (2020) Perioperative Care of Patients at High Risk for Stroke during or after Non-Cardiac, Non-Neurological Surgery: 2020 Guidelines from the Society for Neuroscience in Anesthesiology and Critical Care. *Journal of Neurosurgical Anesthesiology*, **32**, 210-226. <https://doi.org/10.1097/ANA.0000000000000686>
- [4] Mashour, G.A., Shanks, A.M. and Kheterpal, S. (2011) Perioperative Stroke and Associated Mortality after Noncardiac, Nonneurologic Surgery. *Anesthesiology*, **114**, 1289-1296. <https://doi.org/10.1097/ANA.0000000000000686>
- [5] Bateman, B.T., Schumacher, H.C., Wang, S., et al. (2009) Perioperative Acute Ischemic Stroke in Noncardiac and Nonvascular Surgery: Incidence Risk Factors and Outcomes. *Anesthesiology*, **110**, 231-238. <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e318194b5ff>
- [6] Vlisides, P. and Mashour, G.A. (2016) Perioperative Stroke. *The Canadian Journal of Anesthesia*, **63**, 193-204. <https://doi.org/10.1007/s12630-015-0494-9>
- [7] NeuroVISION Investigators (2019) Perioperative Covert Stroke in Patients Undergoing Non-Cardiac Surgery (NeuroVISION): A Prospective Cohort Study. *The Lancet*, **394**, 1022-1029. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)31795-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)31795-7)
- [8] He, J.T., Li, H.G., Li, G.F., et al. (2019) Hyperoside Protects against Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury by Alleviating Oxidative Stress, Inflammation and Apoptosis in Rats. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, **333**, 798-806. <https://doi.org/10.1080/13102818.2019.1620633>
- [9] Ng, P.Y., Ng, A.K., Subramaniam, B., Burns, S.M., Herisson, F., Timm, F.P., Med, C., Rudolph, M.I., Med, C., Scheffenbichler, F., Med, C., Friedrich, S., Med, C., Houle, T.T., Bhatt, D.L. and Eikermann, M. (2018) Association of Preoperatively Diagnosed Patent Foramen Ovale with Perioperative Ischemic Stroke. *JAMA*, **319**, 452-462. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.21899>
- [10] Roxana, P.M., Bogdan, P., Gheorghita, I., Cristina, C.L., Maria, P.A., Irina, S.R., Adelina, V. and Leon, Z. (2022) Cardioprotective Mechanisms of Interrupted Anesthetic Preconditioning with Sevoflurane in the Setting of Ischemia/Reperfusion Injury in Rats. *Journal of Applied Sciences*, **12**, 1476-1476. <https://doi.org/10.3390/app12031476>
- [11] Enzmann, G., Kargaran, S. and Engelhardt, B. (2018) Ischemia-Reperfusion Injury in Stroke: Impact of the Brain Barriers and Brain Immune Privilege on Neutrophil Function. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*, **11**, 2-13. <https://doi.org/10.1177/1756286418794184>
- [12] Yu, F., Tong, L.-J. and Cai, D.-S. (2020) Sevoflurane Inhibits Neuronal Apoptosis and Expressions of HIF-1 and HSP70 in Brain Tissues of Rats with Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, **24**, 5082-5090
- [13] 李平, 余婧萍, 陈易璇, 刘晓丹, 成绍武, 宋祯彦. 脑缺血再灌注损伤对大鼠大脑皮质 EPL 区和海马 CA1 区神经元损伤病理形态的影响[J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(3): 1488-1492.
- [14] 陈勇, 范军朝, 庞红利, 彭莉, 王莹. 七氟醚后处理对脑缺血/再灌注损伤大鼠的脑保护作用及对 ROS/TXNIP/NLRP3 通路的影响[J]. 国际麻醉学与复苏杂志, 2021, 42(1): 8-14.
- [15] 陈立英, 廖仁昊, 苏立凯, 李晓芳, 王敬. 脑缺血预处理联合大黄素甲醚对大鼠脑缺血再灌注后炎症反应影响的

- 临床观察[J]. 北京医学, 2007, 29(9): 566-567.
- [16] 张玲. 七氟醚预处理对脏器保护作用的研究进展[J]. 湖北民族学院学报(医学版), 2015, 32(2): 61-63.
- [17] 牛佳媛, 赵平. 吸入麻醉药对新生儿缺血缺氧性脑损伤保护作用的研究进展[J]. 国际儿科学杂志, 2018, 45(9): 671-674.
- [18] 赵晓艳, 李洁霏, 韩松, 李俊发, 李天佐. 吗啡延迟预处理对小鼠缺血性脑损伤的影响及经典型蛋白激酶 C 在其中的作用[J]. 中华麻醉学杂志, 2013, 33(4): 490-492.
- [19] 晋菲菲, 刘家仁, 戚思华. 挥发性麻醉剂对脑神经影响的研究进展[J]. 毒理学杂志, 2020, 34(1): 71-76.