

# 超氧化物歧化酶在缺血前和缺血后丙泊酚联合运用防治脊髓缺血再灌注损伤中的相对作用研究

杨云朝 余奇劲 陈娟 陶红

**【摘要】 目的** 探讨超氧化物歧化酶(SOD)在缺血前和缺血后丙泊酚联合应用保护兔脊髓缺血再灌注损伤(SCIRI)中的相对作用。**方法** 60只日本大白兔采取随机数字表双盲均分为三组:假手术组(S组)、缺血再灌注组(I/R组)、丙泊酚保护组(P组)。S组只行手术操作,不阻断主动脉;I/R组和P组采取主动脉阻断40 min成功建立SCIRI损伤模型;P组于主动脉阻断前10 min和再灌注即刻分别以微量泵持续静脉泵注丙泊酚(30 mg/kg溶于30 ml生理盐水,输注速度3 ml/min),其余两组在相同时间点则以相同的容量、速度泵注生理盐水。三组动物分别于术后2 h、1 d、2 d、3 d、5 d、7 d行后肢神经功能评分,并于术后1 d、2 d、3 d、5 d、7 d均处死4只动物,取脊髓组织,检测脊髓组织SOD1、SOD2活性和病理学评判。**结果** (1)同一时间点(2 h、1 d、2 d、3 d)三组动物后肢神经功能评分和脊髓组织病理切片分级两两比较,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$ )。(2)三组动物SOD1活性组内比较:I/R组术后第1天,SOD1活性显著增强( $P < 0.05$ );S组和P组组内比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。三组动物组间比较:术后第1天,与S组比较,I/R组和P组SOD1活性均显著增强(均 $P < 0.05$ );第2天、第3天,与S组比较,P组SOD1活性仍显著增强( $P < 0.05$ );第5天,与I/R组比较,P组SOD1活性仍然升高( $P < 0.05$ )。(3)三组动物SOD2活性组间比较,术后第1天、第2天、第3天、第5天、第7天,与S组比较,I/R组SOD2活性均显著降低( $P < 0.05$ )。**结论** 缺血前和缺血后丙泊酚联合应用可以保护兔SCIRI,保护作用机制可能是丙泊酚通过其内源性抗氧化作用,提高了脊髓组织中SOD1的活性,而与脊髓组织中SOD2活性的表达无直接相关性。

**【关键词】** 脊髓; 再灌注损伤; 二异丙酚; 超氧化物歧化酶

**Relative effect of superoxide dismutase in combined application of propofol preconditioning and postconditioning on spinal cord ischemia-reperfusion injury** YANG Yun-zhao, YU Qi-jin, CHEN Juan, TAO Hong. Department of Anaesthesiology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China

Corresponding author: YU Qi-jin, Email: yqj2566@sina.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the relative effect of superoxide dismutase (SOD) in combined application of propofol preconditioning and postconditioning on spinal cord injury induced by ischemia-reperfusion in a rabbit model. **Methods** Sixty Japanese rabbits were randomly divided into 3 groups: sham-operation group (group S); ischemia-reperfusion group (group I/R); ischemia-reperfusion group with propofol treatment (group P). Group S only dealt with surgical operation but no aortic cross-clamp, while spinal cord ischemia was induced by infra-renal aortic cross-clamp for 40 minutes in group I/R and group P and established the SCIRI injury model successfully. Propofol was intravenously infused at 30 mg/kg in 30 ml 0.9% sodium chloride at the speed of 3 ml/min in group P for two times, once at 10 minutes before aortic clamping and once at the onset of reperfusion. Other two groups were managed with the same capacity of 0.9% sodium chloride at the same time. Neurological functions were evaluated at 2 h, 1 d, 2 d, 3 d, 5 d, 7 d after operated. Every 4 animals were killed at 1st, 3rd, 5th, 7th day after management. The spinal cord tissues were eviscerated and we detect the bioactivity of its SOD1, SOD2 and carry out evaluation mean of pathological slices. **Results** (1) The differences were statistically significant in neurological function scores and evaluation of pathological slices ( $P < 0.01$ ). (2) Within each group of animals, the bioactivity of SOD1 aggrandized observably in group I/R ( $P < 0.05$ ), while it was unchangeable in group S and group P ( $P > 0.05$ ). Compared with

group S, the bioactivity of SOD1 increased significantly in group I/R and group P ( $P < 0.05$ ) at 1d, which sustained in group P at 2 d and 3 d after operation. Meanwhile, the bioactivity of SOD1 increased significantly in group P at 5 d after operation compared with group I/R ( $P < 0.05$ ). (3) The bioactivity of SOD2 of group I/R decreased significantly compared with group S ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** Combined application of propofol preconditioning and postconditioning show potently protective effects against the spinal cord ischemia reperfusion injury in the rabbit model. The mechanisms may be that propofol increases the bioactivity of SOD 1 in the spinal cord tissue, and there is no correlation directly with the bioactivity of SOD2.

**[Key words]** Spinal cord; Reperfusion injury; Propofol; Superoxide dismutase

在胸、腹主动脉阻断手术中,脊髓缺血再灌注损伤(spinal cord ischemia reperfusion injury, SCIRI)是一种严重的并发症。既往研究表明,这类手术 SCIRI 的发生率为 2.7% ~ 13.8%<sup>[1-2]</sup>。针对这一现象的发生,临床上已经采取多种预防方法,但效果仍不够理想。为寻找对 SCIRI 更为有效的防治方法,我们前期进行的部分实验研究证实,缺血前和缺血后丙泊酚联合应用可有效保护兔 SCIRI,但作用机制未完全清楚<sup>[3]</sup>。本实验利用兔 SCIRI 模型,进一步探讨超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)在缺血前和缺血后丙泊酚联合应用防治 SCIRI 中的作用。

### 材料与方 法

1. 实验动物分组:本实验由武汉大学人民医院动物研究机构审查委员会批准,按实验室动物维护、使用的指导建议和要求处理动物。实验共纳入 60 只日本大耳白兔,由武汉大学实验动物研究所提供(动物批号:SCXK2008-003),体重 2.0 ~ 2.5 kg,雌雄不拘,由实验人员采取随机数字表均分为三组:假手术组(S组)、缺血再灌注组(I/R组)和丙泊酚保护组(P组);每组动物分别于术后 1 d、2 d、3 d、5 d、7 d 处死动物,每个时间点均处死动物 4 只。

2. SCIRI 模型的建立:静脉留置针(型号:22 G)行耳缘静脉穿刺,注入 3%戊巴比妥钠 2 ml(300 mg 溶于 10 ml 生理盐水),经气管插管接 DH140B 型动物呼吸机(浙江医疗仪器厂,浙江)控制呼吸,频率控制 30 次/min,呼吸比 1.5 : 1, PaCO<sub>2</sub> 维持在 4.67 ~ 6.00 kPa。经耳缘静脉输注林格液 10 ml · kg<sup>-1</sup> · h<sup>-1</sup>, 间断静脉注射 3%戊巴比妥钠(0.5 ml/kg)和维库溴铵(0.5 mg/kg)维持麻醉。肝素化(3 mg/kg)后经右侧股动脉插管接 LIFESCOPE 9 型生理仪(日本光学有限公司,日本)连续监测股动脉压和心电图,保持血流动力学稳定。加热垫维持直肠体温在 38 °C。I/R 组和 P 组通过阻断主动脉创建 SCIRI 模型<sup>[3]</sup>:沿左肋边缘下的竖脊肌旁纵行切开皮肤,分离裸露腹主动脉,于左肾动脉下 1 cm 水平以小直径弹性硅胶管阻断腹主动脉血流,使其动脉搏动消失,远端平均动脉压为 0 mm Hg,阻

断 40 min 后分别于再灌注后第 1 天、第 2 天、第 3 天、第 5 天、第 7 天处死动物,成功建立 SCIRI 模型。假手术组行腹主动脉分离,放置弹性硅胶管,不阻断其血流。

3. 丙泊酚干预方法:P 组于主动脉阻断前 10 min 和再灌注即刻分别以微量泵(英国 Graseby 公司)持续静脉输注丙泊酚(30 mg/kg 溶于 30 ml 生理盐水,输注速度 3 ml/min)(商品名:得普利麻;产品批号:JC843);而假手术组和缺血再灌注组在相应时间点则用微量泵以相同速度输注 30 ml 生理盐水。所有动物在手术操作完毕缝合包扎并肌肉注射青霉素 40 万 U,待动物清醒后拔出气管导管,再归笼饲养观察。

4. 后肢神经功能评分:所有动物由一位未参与实验分组的课题组人员对兔后肢功能进行评分。分别在术后 2 h 及归笼后第 1 天、第 2 天、第 3 天、第 5 天、第 7 天于处死前 30 min 进行评分一次。评分采用改良 Tarlov 脊髓损伤评分标准<sup>[4]</sup>:0 分,下肢无运动,不能负重;1 分,下肢轻微运动,但不能负重;2 分,下肢运动良好,能负重,但不能站立;3 分,能站立,但不能正常行走;4 分,完全恢复,行走正常。

5. 实验标本的采集与保存:所有日本大耳白兔分别于术后第 1 天、第 2 天、第 3 天、第 5 天、第 7 天运动功能评分结束后,采取股动脉放血处死,迅速剥去背部皮毛,定位 L2 ~ 6 椎体,并用剪刀取 L2 ~ 6 水平段脊椎,于冰器皿上取出脊髓组织,用刀片切去两端损伤段脊髓,保留 L3 ~ 4、L4 ~ 5 水平段脊髓组织,用三蒸水清洗去污、保存。脊髓组织标本的保存:(1) L3 ~ 4 水平段脊髓迅速置入 5 ml 冻存管,液氮下冷冻,再转 -80 °C 冰箱冻存;(2) L4 ~ 5 水平段脊髓于 50 ml 装有 4%多聚甲醛溶液固定,于 4 °C 冰箱存放。

6. 脊髓组织标本 SOD 活性检测方法:取所有兔 L3 ~ 4 段脊髓新鲜组织 100 mg 用 1 × PBS 洗去血污。剪成小块放入组织研磨器(匀浆管)中,加入 1 ml 1 × PBS 制成匀浆,然后置于 -20 °C 过夜;经过反复冻融 2 次处理破坏细胞膜后,将组织匀浆于 2 ~ 8 °C 5000 × g 离心 5 min;取适量上清液立即进行实验,用 SOD1 ELISA 试剂盒(武汉华美,CSB-EL022397RB)和 SOD2 ELISA 试

剂盒(武汉华美,CSB-EL022398RB)进行检测。

SOD1的ELISA检测步骤:(1)试剂盒加样:分别设标准品孔、待测样本孔,每孔分别加标准品或待测样本100  $\mu\text{l}$ ,混匀后于37  $^{\circ}\text{C}$ 温育2 h;(2)弃去液体、甩干,每孔加生物素标记抗体液100  $\mu\text{l}$ ,覆上新的板贴,37  $^{\circ}\text{C}$ 温育1 h;(3)弃去孔内液体、甩干,洗板3次;每次加辣根过氧化物酶标记亲和素工作液100  $\mu\text{l}$ ,37  $^{\circ}\text{C}$ 孕育1 h;(4)弃去孔内液体、甩干,再用200  $\mu\text{l}$ /孔辣根过氧化物酶浸泡2 min、甩干,重复5次;(5)依序每孔加底物溶液90  $\mu\text{l}$ ,37  $^{\circ}\text{C}$ 避光显色15~30 min;再依序每孔加终止溶液50  $\mu\text{l}$ ,终止反应;(6)反应终止后5 min内用酶标仪在波长450 nm测量各孔光密度(OD)值。再根据SOD1的ELISA试剂盒说明书以标准品的浓度为纵坐标(对数坐标),OD值为横坐标(对数坐标),在对数坐标上绘出标准曲线(图1);再用标准品的浓度与OD值计算出标准曲线的回归方程式 $y = 191.95x^2 - 71.364x + 14.92$ ,线性回归常数 $R^2 = 0.9987$ ,最后将所测OD值代入标准曲线方程式,得出相应的结果,即所测标本的浓度(单位:ng/ml)。

SOD2的ELISA检测步骤:(1)将酶标板取出,设一个空白对照孔、不加任何液体;每个标准点依次各设两孔,每孔加入相应标准品50  $\mu\text{l}$ ,其余每个检测孔直接加待测标本50  $\mu\text{l}$ ;(2)每孔加入酶结合物工作液50  $\mu\text{l}$ ,混匀,置37  $^{\circ}\text{C}$ 温育40 min;(3)手工洗板、弃去空孔内液体,重复5次后拍干;(4)每孔加底物溶液90  $\mu\text{l}$ ,振荡混匀,37  $^{\circ}\text{C}$ 避光显色20 min,每孔加终止液50  $\mu\text{l}$ ;(5)用酶标仪取波长450 nm测量各孔OD值。再根据SOD2的ELISA试剂盒说明书以标准品的浓度为纵坐标(对数坐标),OD值为横坐标(对数坐标),在对数坐标上绘出标准曲线(图2);再用标准品的浓度与OD值计算出标准曲线的回归方程式 $y = 1339.8x^2 + 458.7x + 43.28$ ,线性回归常数 $R^2 = 0.9963$ ,最后将所测OD值代入标准曲线方程式,得出相应的结果,即所测标本的浓度(单位:pg/ml)。

7. 脊髓组织病理切片的制作与病理学分级:所有兔L4~5水平段脊髓组织于4%多聚甲醛浸泡固定24~48 h,然后分别于不同浓度的乙醇(75%、85%、90%、95%、100%)脱水,再透明(无水乙醇二甲苯、二甲苯I、二甲苯II),浸蜡包埋;取横断面厚度为4  $\mu\text{m}$ 进行切片,用载玻片捞起后放进60  $^{\circ}\text{C}$ 烘箱烘烤,每个标本烘烤2张片子;再按苏木素-伊红(HE)着色方法,对烤片进行染色。制作切片一共120张,均由对实验动物分组不知情的同一位病理医师在光学显微镜下(光镜倍数:400倍)按Naslund等<sup>[5]</sup>的分级标准对脊髓

病理切片进行分级:I级,正常脊髓或神经元有少量胞质内颗粒变性或空泡形成;II级,中等程度核浓染神经元与正常神经细胞相间,缺血性神经元可见胞质内尼氏体丢失、小胶质细胞增多及核浓缩;III级:大量神经元细胞皱缩,核溶解,髓鞘肿胀坏死,并可见大量小胶质细胞。

8. 统计学分析:采用SPSS 17.0统计学软件进行数据分析;所有计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,SOD1、SOD2组内和同一时间点(1 d、2 d、3 d、5 d、7 d)不同组间比较均采用重复方差分析;所有计数资料(运动功能评分分级和脊髓组织病理学切片分级)采用非参数秩和检验。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 结 果

1. 后肢神经功能评分:由于术后第1天、第2天、第3天、第5天、第7天均处死4只动物,故每组动物在第2天至第7天评分时间点,每组动物只数递减4只(表1)。S组所有兔在各个时间点均未发生截瘫;I/R组19只兔发生完全性截瘫,仅1只兔子后肢可轻微活动;然而P组在缺血再灌注后2 h,只有1只兔发生截瘫,3只表现出不同程度的损伤,其余均未发生截瘫,而在术后第1天有2只兔发生迟发型截瘫,术后第2天有1只兔发生迟发型截瘫,术后第3天剩余兔后肢功能基本稳定。分别于同一时间点(2 h、1 d、2 d、3 d)三组动物后肢功能评分分级,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ );同一时间点三组动物后肢功能评分分级两两比较,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ );与I/R组比较,P组表现出明显的保护效应( $P < 0.01$ )。

2. 脊髓组织SOD1、SOD2活性:脊髓组织SOD1活性检测:三组动物SOD1活性组内比较,I/R组中,与第1天比较,第2天至第7天SOD1活性均显著降低( $P < 0.05$ ),但第3天至第7天SOD1活性相对稳定;S组和P组组内比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。

三组动物SOD1活性不同时间点组间比较(表2):(1)术后第1天,与S组比较,I/R组、P组SOD1活性明显增强( $P < 0.05$ );(2)术后第2天、第3天,与S组比较,P组SOD1活性均升高( $P < 0.05$ );(3)术后第5天,与I/R组比较,P组SOD1活性仍增强( $P < 0.05$ );但第7天后,P组SOD1逐渐恢复正常,与S组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

脊髓组织SOD2活性检测(表3):同一时间点不同组间比较,术后第1天、第2天、第3天、第5天、第7天,与S组比较,I/R组SOD2活性均显著降低( $P < 0.05$ ),而三组组内前后比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。

**表2** 三组动物脊髓组织 SOD1 活性比较(ng/ml,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	1 d(n=4)	2 d(n=4)	3 d(n=4)	5 d(n=4)	7 d(n=4)
S 组	8.61 ± 0.09	8.64 ± 0.07	8.68 ± 0.04	8.60 ± 0.05	8.70 ± 0.08
I/R 组	10.32 ± 0.66 <sup>c</sup>	8.88 ± 0.39 <sup>a</sup>	8.30 ± 0.18 <sup>ab</sup>	8.29 ± 0.16 <sup>ab</sup>	8.31 ± 0.12 <sup>ab</sup>
P 组	9.66 ± 1.69 <sup>c</sup>	9.50 ± 0.60 <sup>c</sup>	8.95 ± 0.60 <sup>c</sup>	9.49 ± 1.11 <sup>d</sup>	8.92 ± 0.84

注:组内比较:与第1天比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ;与第2天比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。组间比较:与S组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ ;与I/R组比较,<sup>d</sup> $P < 0.05$

**表3** 三组动物脊髓组织 SOD2 活性比较(pg/ml,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	1 d(n=4)	2 d(n=4)	3 d(n=4)	5 d(n=4)	7 d(n=4)
S 组	62.22 ± 1.24	61.90 ± 1.73	61.63 ± 0.90	61.86 ± 1.32	61.97 ± 1.23
I/R 组	58.54 ± 0.92 <sup>a</sup>	58.12 ± 1.05 <sup>a</sup>	57.86 ± 0.92 <sup>a</sup>	58.47 ± 2.10 <sup>a</sup>	58.84 ± 0.93 <sup>a</sup>
P 组	61.05 ± 3.29	64.14 ± 4.30	62.86 ± 1.67	62.76 ± 1.41	61.60 ± 1.85

注:与S组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$

**表1** 三组动物后肢功能评分分级比较(只)

组别	时间点	评分				
		0	1	2	3	4
S 组	2 h	0	0	0	0	20
	1 d	0	0	0	0	20
	2 d	0	0	0	0	16
	3 d	0	0	0	0	12
	5 d	0	0	0	0	8
	7 d	0	0	0	0	4
	I/R 组	2 h <sup>a</sup>	19	1	0	0
1 d <sup>a</sup>		19	1	0	0	0
2 d <sup>a</sup>		15	1	0	0	0
3 d <sup>a</sup>		11	1	0	0	0
5 d		7	1	0	0	0
7 d		4	0	0	0	0
P 组		2 h <sup>ab</sup>	1	0	2	1
	1 d <sup>ab</sup>	3	2	1	1	13
	2 d <sup>ab</sup>	3	1	0	1	11
	3 d <sup>ab</sup>	2	1	0	1	8
	5 d	1	1	0	0	6
	7 d	1	0	0	0	3

注:同一时间点组间比较:与S组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ;与I/R组比较,<sup>b</sup> $P < 0.01$

3. 脊髓组织病理形态学:脊髓组织病理形态学改变:(1)S组术后第1天至第7天脊髓组织神经元结构清晰,轮廓完整、胞质饱满、胞核正常(图3)。(2)I/R组术后第1天脊髓组织部分神经元固缩、核溶解、尼氏体明显减少、胶质颗粒形成(图4A);I/R组术后第2天神元结构严重破坏、胞核大量溶解、胶质颗粒逐渐增多(图4B);I/R组术后第3天至第7天,神经元胞核逐渐完全溶解,尼氏体完全消失、散存在大量胶质颗粒

(图4C~4E)。(3)P组术后第1天、第2天部分脊髓神经元轻度萎缩,尼氏体清晰、少许空泡形成,组织损伤明显减轻(图5A,5B);P组第3天至第7天脊髓神经元形态结构清晰,基本接近于正常组织(图5C~5E)。

病理学分级(表4):三组动物病理学切片 Naslund 分级,S组40张切片被评为I级;I/R组36张切片被评为III级,4张切片被评为II级;P组30张切片被评为I级,8张切片被评为II级,2张切片被评为III级,三组间两两比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。

**表4** 三组动物病理切片 Naslund 分级比较(张)

组别	切片数	I 级	II 级	III 级
S 组	40	40	0	0
I/R 组 <sup>a</sup>	40	0	4	36
P 组 <sup>ab</sup>	40	30	8	2

注:与S组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与I/R组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$

## 讨 论

SCIRI 是一种受多因素、多因子共同作用所导致的神经病理性损伤<sup>[6-8]</sup>。研究表明,缺血再灌注期间活性氧自由基的大量产生,SOD 活性降低或机体抗氧化能力相对不足,导致线粒体功能紊乱、组织细胞损伤<sup>[9]</sup>。在中枢神经系统缺血再灌注损伤中,神经细胞凋亡或损伤同样与 SOD 和机体抗氧化能力的下降密切相关<sup>[10-11]</sup>。

我们先前的实验表明:缺血前和缺血后丙泊酚联合应用能有效防治兔 SCIRI,其中保护组与缺血再灌注组相比,脊髓组织中 SOD 活性显著升高,丙二醛水平显著降低,故我们推测丙泊酚保护 SCIRI 可能是通过其内源性抗氧化作用,提高 SOD 的活性,清除再灌注所产生的大量活性氧自由基,从而起到一定保护作用<sup>[3]</sup>。

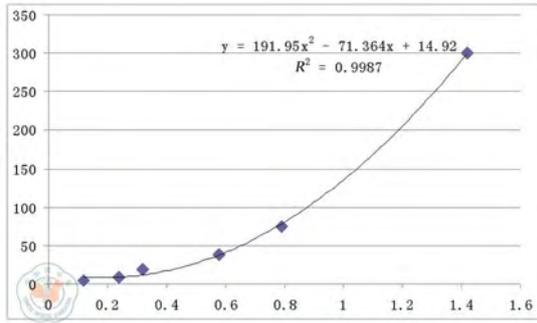


图1 SOD1待测物浓度与OD值关系曲线

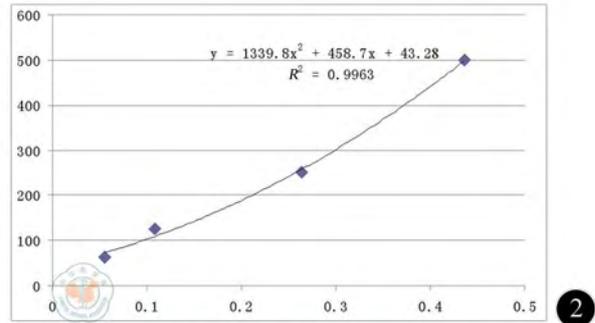


图2 SOD2待测物浓度与OD值关系曲线

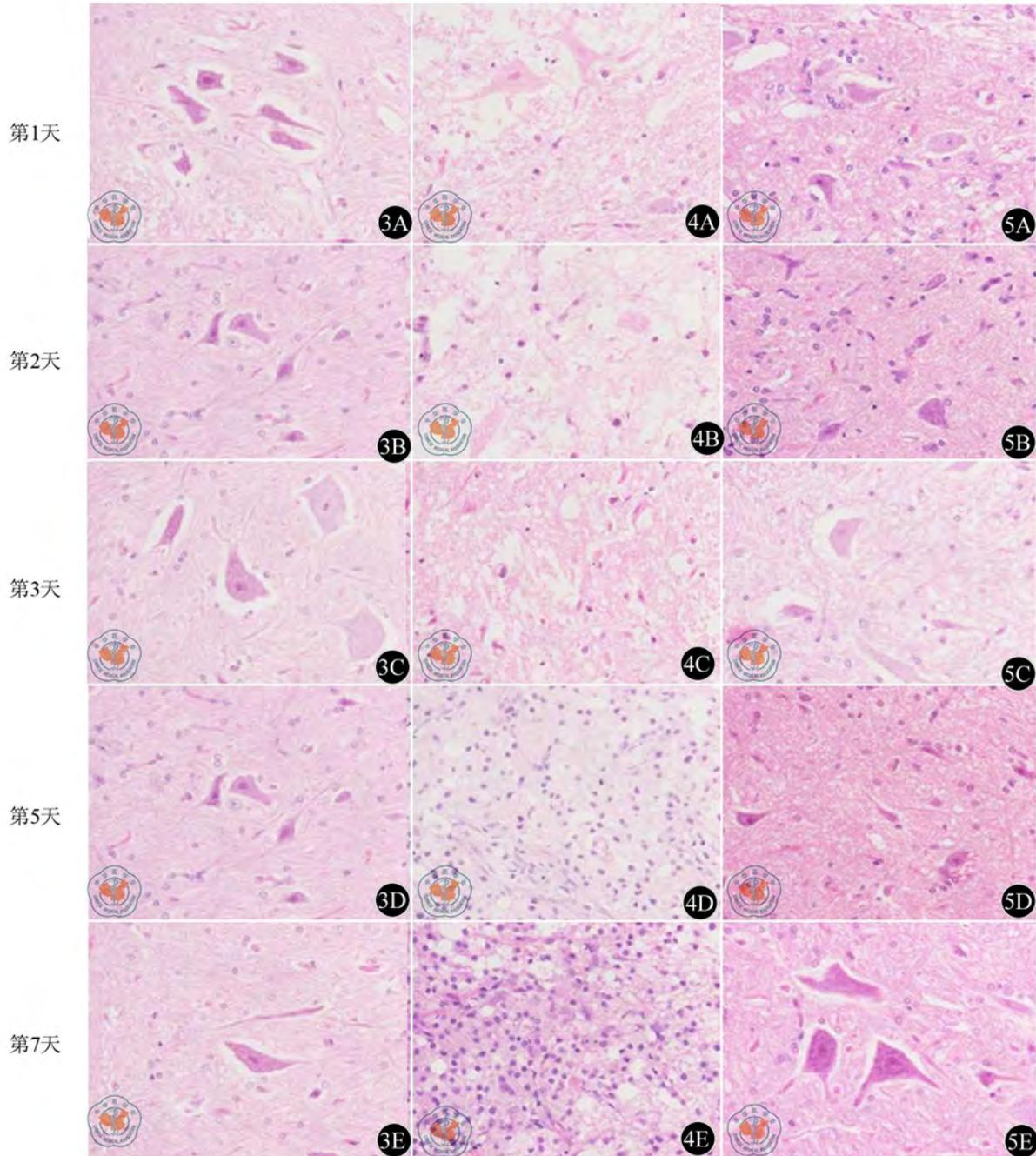


图3~5 三组术后各时点脊髓组织病理学切片 (HE × 400), 图3: S组; 图4: I/R组; 图5: P组

SOD 能特异性催化机体内活性氧自由基发生歧化反应,使之最终转变成无毒的氧化物或氧气;在中枢神

神经系统(central nervous system, CNS)神经元内SOD主要为两类,即SOD1(位于细胞质或线粒体间隙)和SOD2(位于线粒体内)。在CNS疾病中,SOD1主要参与缺血再灌注损伤、肌萎缩侧索硬化症、帕金森病、老年痴呆症等疾病的调控,是清除活性氧自由基的主要场所;SOD2是神经元细胞抗氧化反应的第一道防线,可调节线粒体功能,参与缺血再灌注损伤、癫痫等疾病的调控<sup>[12-14]</sup>。Sasaki等<sup>[14]</sup>利用大鼠脑缺血再灌注模型采取化学荧光检测法研究报道,结果发现线粒体SOD2含量约占细胞质SOD1含量的18%。Yan等<sup>[15]</sup>应用沙鼠短暂脑部缺血再灌注研究报道,对其海马CA1区锥体神经细胞进行免疫反应检测发现,成年沙鼠SOD1、SOD2的含量在48 h均有高度的表达,之后15 d内维持一个相对减少的稳定状态。由于CNS脑和脊髓共同组成,故我们需要判断脊髓组织缺血再灌注后SOD1、SOD2的表达变化情况与脑组织缺血再灌注的表达变化情况是否一致,以及丙泊酚干预对它们表达变化的作用。

本次实验通过对兔后肢功能评分和脊髓组织病理学切片HE染色进一步验证了缺血前和缺血后丙泊酚联合应用可有效防治兔脊髓缺血再灌注损伤;并通过检测兔脊髓新鲜组织标本SOD1、SOD2活性,判断其在丙泊酚保护SCIRI中作用。我们检测实验动物脊髓组织中SOD1、SOD2活性结果表明:(1)在I/R组中,第1天SOD1活性的表达显著提高,组间或组内比较差异均有统计学意义,这可能与缺血再灌注机体急性氧化应激有关;第2天至第7天逐渐降低,可能原因与SCIRI有关。(2)不同时间点P组与S组比较,P组SOD1活性则明显升高,说明丙泊酚可能通过其内源性的抗氧化作用,增强了SOD1的活性。(3)同一时间点组间比较,与S组比较,I/R组SOD2活性显著降低,这可能与脊髓缺血再灌注活性氧自由基过多、神经细胞内钙超载、局部电解质紊乱等原因造成线粒体损伤或凋亡,进而引起SOD2活性的下降有关<sup>[16]</sup>;而与S组相比,P组SOD2的活性无显著变化,提示丙泊酚干预对SOD2活性调节无明显作用,说明丙泊酚保护兔脊髓缺血再灌注损伤可能与SOD2没有直接的相关性。本研究分析结果与Yan等报道脑组织在缺血再灌注损伤中SOD1、SOD2的表达变化情况基本一致,也证实了丙泊酚干预在SCIRI中对SOD1、SOD2活性的影响;然而,在我们的实验中SOD2活性表达约只占SOD1活性的1%,与Sasaki等报道在脑组织中约占18%相差甚远,分析其原因:(1)在CNS脑和脊髓SOD2占SOD1的比例可能有所不同;(2)我们所采用的免疫学检测方法不同,可

能导致结果出现了较大的误差;(3)我们所选用的动物种类不同(Sasaki等所选研究动物为小鼠),以致实验结果存在一定差异。

综上所述,缺血前和缺血后丙泊酚联合应用可以保护兔SCIRI,保护作用机制可能是丙泊酚通过其内源性抗氧化作用,提高了脊髓组织中SOD1的活性,而与脊髓组织中SOD2活性的表达无直接相关性。

#### 参 考 文 献

- [1] Conrad MF, Crawford RS et al. Thoracoabdominal aneurysm repair: a 20-year perspective. *Ann Thorac Surg*, 2007, 83: 856-861.
- [2] Drinkwater SL, Goebells A, Haydar A, et al. The incidence of spinal cord ischaemia following thoracic and thoracoabdominal aortic endovascular intervention. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2010, 40: 729-735.
- [3] 余奇劲, 杨洁, 陈娟. 缺血前和缺血后联合应用丙泊酚对兔脊髓缺血再灌注损伤的保护作用[J/CD]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2011, 5: 5955-5959.
- [4] Tarlov IM. Acute spinal cord compression paralysis. *J Neurosurg*, 1972, 6: 10-20.
- [5] Naslund TC, Hollier LH, Money SR, et al. Histopathological classification of spinal cord. *Ann Surg*, 1992, 215: 409-415.
- [6] Yang Q, Dong H, Deng J, et al. Sevoflurane preconditioning induces neuroprotection through reactive oxygen species-mediated up-regulation of antioxidant enzymes in rats. *Anesthesia and analgesia*, 2011, 112: 931-937.
- [7] 余奇劲, 陈娟, 杨洁. 脊髓缺血再灌注损伤时血清和脊髓组织中Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Cu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>的动态变化及其意义[J/CD]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2011, 5: 7232-7237.
- [8] Liu SJ, Zukin RS. Ca<sup>2+</sup>-permeable AMPA receptors in synaptic plasticity and neuronal death. *Trends Neurosci*, 2007, 30: 126-134.
- [9] Ryter SW, Choi AM. Regulation of Autophagy in Oxygen-Dependent Cellular Stress. *Curr Pharm Des*, 2012.
- [10] Zhao ST, Huang XT, Zhang C, et al. Humanin protects cortical neurons from ischemia and reperfusion injury by the increased activity of superoxide dismutase. *Neurochem Res*, 2012, 37: 153-160.
- [11] Wang ZF, Zhong L, Li YS. The protective effects of Shenfu injection on the global cerebral ischemia/reperfusion injury of rats. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi*, 2012, 28: 462-465.
- [12] Araki T, Nagano S, Tateno M, et al. Misfolded SOD1 forms high-density molecular complexes with synaptic molecules in mutant SOD1-linked familial amyotrophic lateral sclerosis cases. *J Neurol Sci*, 2012, 314: 92-96.
- [13] Oh SS, Sullivan KA, Wilkinson JE, et al. Neurodegeneration and early lethality in superoxide dismutase 2-deficient mice: a comprehensive analysis of the central and peripheral nervous systems. *Neuroscience*, 2012, 212: 201-213.
- [14] Sasaki T, Shimizu T, Koyama T, et al. Superoxide dismutase deficiency enhances superoxide levels in brain tissues during oxygenation and hypoxia-reoxygenation. *J Neurosci Res*, 2011, 89: 601-610.
- [15] Yan BC, Park JH, Lee CH, et al. Increases of antioxidants are related to more delayed neuronal death in the hippocampal CA1 region of the young gerbil induced by transient cerebral ischemia. *Brain Res*, 2011, 1425: 142-154.
- [16] Loor G, Kondapalli J, Iwase H, et al. Mitochondrial oxidant stress triggers cell death in simulated ischemia-reperfusion. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1813: 1382-1394.

(收稿日期: 2012-11-28)

(本文编辑: 吴莹)