

异氟烷预处理或后处理对大鼠局灶性脑缺血 / 再灌注损伤的影响

李国福 贾佳 符加红 汪海源 吉凯强 臧彬

【摘要】 目的 探讨异氟烷预处理或后处理对大鼠局灶性脑缺血 / 再灌注(I/R)时炎症因子、脂质过氧化等相关指标的影响。方法 将 32 只 SD 大鼠按随机数字表法分为对照组、模型组、异氟烷预处理组及异氟烷后处理组 4 组, 每组 8 只。对照组不给予异氟烷与脑缺血处理; 模型组大鼠接受 90 min 右侧大脑中动脉闭塞(MCAO); 异氟烷预处理组大鼠在 MCAO 前 24 h 给予 2% 异氟烷 30 min; 异氟烷后处理组大鼠在 MCAO 后, 于再灌注开始时给予 2% 异氟烷 60 min。操作结束 24 h 后取心脏血, 检测血清炎症因子白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 含量及脂质过氧化相关指标丙二醛(MDA) 含量和超氧化物歧化酶(SOD) 活性。采用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR) 和蛋白质免疫印迹试验(Western Blot) 检测右侧脑组织基质金属蛋白酶(MMP-2、MMP-9) 及紧密连接蛋白闭合蛋白 5(Claudin-5)、咬合蛋白(Occludin) 的 mRNA 和蛋白表达。结果 与对照组相比, 模型组大鼠血清 IL-1 β (ng/L)、TNF- α (ng/L) 及 MDA(μ mol/L) 含量均显著增加, SOD(U/L) 活性则显著下降 (IL-1 β : 76.81 \pm 11.14 比 52.43 \pm 8.86, TNF- α : 64.93 \pm 10.81 比 33.64 \pm 7.94, MDA: 8.63 \pm 1.42 比 4.14 \pm 0.98, SOD: 0.95 \pm 0.21 比 2.36 \pm 0.80, 均 $P < 0.05$)。与模型组比较, 经异氟烷预处理或后处理后, 大鼠血清 IL-1 β 、TNF- α 及 MDA 含量显著下降, SOD 活性则显著回升 (IL-1 β : 54.37 \pm 9.06、56.82 \pm 8.67 比 76.81 \pm 11.14, TNF- α : 43.72 \pm 6.16、39.49 \pm 9.34 比 64.93 \pm 10.81, MDA: 5.65 \pm 0.83、5.82 \pm 0.78 比 8.63 \pm 1.42, SOD: 1.64 \pm 0.47、1.71 \pm 0.52 比 0.95 \pm 0.21, 均 $P < 0.05$)。同时, I/R 可导致受损脑组织 MMP 表达升高, 紧密连接蛋白表达降低; 与模型组比较, 经过异氟烷预处理或后处理后, 大鼠受损脑组织中 MMP-2 与 MMP-9 的 mRNA 及蛋白表达均明显下降 (MMP-2 mRNA: 1.25 \pm 0.08、1.32 \pm 0.12 比 2.48 \pm 0.26, MMP-2 蛋白: 1.56 \pm 0.09、1.50 \pm 0.08 比 2.12 \pm 0.11; MMP-9 mRNA: 1.26 \pm 0.13、1.20 \pm 0.12 比 2.74 \pm 0.28, MMP-9 蛋白: 1.53 \pm 0.04、1.51 \pm 0.05 比 2.23 \pm 0.09, 均 $P < 0.05$)。而 Claudin-5 和 Occludin 的 mRNA 及蛋白表达均显著回升 (Claudin-5 mRNA: 0.40 \pm 0.08、0.38 \pm 0.06 比 0.28 \pm 0.03, Claudin-5 蛋白: 0.80 \pm 0.06、0.81 \pm 0.07 比 0.39 \pm 0.02; Occludin mRNA: 0.54 \pm 0.07、0.50 \pm 0.08 比 0.26 \pm 0.06, Occludin 蛋白: 0.64 \pm 0.06、0.69 \pm 0.05 比 0.49 \pm 0.02, 均 $P < 0.05$)。结论 异氟烷预处理或后处理均可缓解 I/R 引起的血清中炎症因子分泌及脂质过氧化程度, 并可降低大脑组织中 MMP 对紧密连接蛋白的蛋白水解活性, 减少紧密连接蛋白的缺失, 从而减轻 I/R 损伤。

【关键词】 异氟烷; 预处理; 后处理; 缺血 / 再灌注损伤, 脑

The effects of preconditioning and postconditioning with isoflurane on focal cerebral ischemi/reperfusion injury in rats Li Guofu, Jia Jia, Fu Jiahong, Wang Haiyuan, Ji Kaiqiang, Zang Bin. Department of Critical Care Medicine, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning, China
Corresponding author: Li Guofu, Email: ligf@sj-hospital.org

【Abstract】 Objective To investigate the effects of preconditioning and postconditioning with isoflurane on pro-inflammatory cytokines and lipid peroxidation in focal cerebral ischemic/reperfusion (I/R) injury in rats. **Methods** Thirty-two Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into four groups: control group, model group, isoflurane preconditioning group and isoflurane postconditioning group, with 8 rats in each group. Rats in control group did not receive any challenge. In rats of model group right middle cerebral artery occlusion (MCAO) was conducted for 90 minutes. Rats in isoflurane preconditioning group received 2% isoflurane exposure for 30 minutes 24 hours before MCAO for 90 minutes. Rats in isoflurane postconditioning group were given 60-minute 2% isoflurane exposure after reperfusion of right MCAO. Twenty-four hours after the procedure, all rats were anesthetized with isoflurane, and blood sample taken from the heart was centrifuged, and the pro-inflammatory cytokines, including interleukin-1 β (IL-1 β) and tumor necrosis factor- α (TNF- α), and lipid peroxidation products such as malonaldehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) were determined. The mRNA and protein expression levels of matrix metalloproteinase (MMP-2, MMP-9), tight junction protein Claudin-5 and Occludin were determined by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western Blot. **Results** Compared with control group, serum

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.06.013

基金项目: 辽宁省科技厅科学技术计划项目(2010225034)

作者单位: 110004 辽宁沈阳, 中国医科大学附属盛京医院重症医学科

通信作者: 李国福, Email: ligf@sj-hospital.org

levels of IL-1 β (ng/L), TNF- α (ng/L) and MDA (μ mol/L) were elevated and activity of SOD (U/L) decreased in rats of model group (IL-1 β : 76.81 \pm 11.14 vs. 52.43 \pm 8.86, TNF- α : 64.93 \pm 10.81 vs. 33.64 \pm 7.94, MDA: 8.63 \pm 1.42 vs. 4.14 \pm 0.98, SOD: 0.95 \pm 0.21 vs. 2.36 \pm 0.80, all $P < 0.05$). After isoflurane preconditioning and postconditioning, compared with model group, the levels of IL-1 β , TNF- α and MDA were lowered, while activity of SOD was increased (IL-1 β : 54.37 \pm 9.06, 56.82 \pm 8.67 vs. 76.81 \pm 11.14, TNF- α : 43.72 \pm 6.16, 39.49 \pm 9.34 vs. 64.93 \pm 10.81, MDA: 5.65 \pm 0.83, 5.82 \pm 0.78 vs. 8.63 \pm 1.42, SOD: 1.64 \pm 0.47, 1.71 \pm 0.52 vs. 0.95 \pm 0.21, all $P < 0.05$). Focal cerebral I/R injury could lead to an increased expression of MMP accompanied with a decreased expression of tight junction protein. Compared with model group, after isoflurane preconditioning and postconditioning, it was found that there were decreased mRNA and protein expression of MMP-2 and MMP-9 (MMP-2 mRNA: 1.25 \pm 0.08, 1.32 \pm 0.12 vs. 2.48 \pm 0.26, MMP-2 protein: 1.56 \pm 0.09, 1.50 \pm 0.08 vs. 2.12 \pm 0.11; MMP-9 mRNA: 1.26 \pm 0.13, 1.20 \pm 0.12 vs. 2.74 \pm 0.28, MMP-9 protein: 1.53 \pm 0.04, 1.51 \pm 0.05 vs. 2.23 \pm 0.09, all $P < 0.05$) and increased levels of Claudin-5 and Occludin (Claudin-5 mRNA: 0.40 \pm 0.08, 0.38 \pm 0.06 vs. 0.28 \pm 0.03, Claudin-5 protein: 0.80 \pm 0.06, 0.81 \pm 0.07 vs. 0.39 \pm 0.02; Occludin mRNA: 0.54 \pm 0.07, 0.50 \pm 0.08 vs. 0.26 \pm 0.06, Occludin protein: 0.64 \pm 0.06, 0.69 \pm 0.05 vs. 0.49 \pm 0.02, all $P < 0.05$). **Conclusion** Preconditioning and postconditioning with isoflurane can lower the levels of pro-inflammatory cytokines and the degree of lipid peroxidation, and lower the hydrolytic activity of MMP to the tight junction protein in cerebral tissue, thereby decrease the loss of tight junction protein and alleviate I/R injury.

[Key words] Isoflurane; Preconditioning; Postconditioning; Cerebral ischemia/reperfusion injury

脑缺血/再灌注(I/R)损伤是神经系统的常见多发病,主要表现为脑出血、脑血栓、短暂性脑缺血发作等,甚至对神经系统造成不可逆的损伤。研究发现,采用挥发性麻醉剂异氟烷、七氟烷和地氟烷进行后处理可对 I/R 后神经细胞产生保护作用^[1],但挥发性麻醉剂对 I/R 后脑组织炎症反应的影响尚不清楚。本研究拟建立大鼠大脑中动脉闭塞(MCAO)模型,观察异氟烷预处理或后处理对大鼠缺血后细胞炎症反应的影响,并探讨其可能的保护机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组: 清洁级健康雄性 SD 大鼠 32 只[由中国医科大学附属盛京医院动物实验中心提供,动物合格证号:SCXK(京)2009-0004],体质量(281 \pm 34) g。按随机数字表法分为对照组、模型组、异氟烷预处理组和异氟烷后处理组 4 组,每组 8 只。对照组不给予异氟烷与脑缺血处理;模型组右侧 MCAO 90 min;异氟烷预处理组在 MCAO 前 24 h 给予 2%异氟烷 30 min;异氟烷后处理组于右侧 MCAO 后,再灌注开始时给予 2%异氟烷 60 min。

1.2 模型建立: 采用改良方法^[2]复制大鼠 MCAO 模型。异氟烷麻醉大鼠,气管插管,用纯氧和 2%异氟烷(由美国 Baxter 公司提供,产品批号 GG522)进行机械通气。将带有圆头的 3-0 尼龙单丝缝合线通过右侧颈内动脉置入颅内直到有阻力感,右侧颈总动脉不结扎,当缝线到达位置后停止异氟烷麻醉,90 min 后用异氟烷再次麻醉大鼠,取出尼龙线。模型组和异氟烷预处理组制模后使大鼠立即苏醒;异氟烷后处理组于 MCAO 后通过气管插管继续使用 2%异氟烷麻醉 60 min。

本实验动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.3 检测指标和方法

1.3.1 血清中白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、丙二醛(MDA)含量和超氧化物歧化酶(SOD)活性检测: 心脏取血后,离心取血清,按照试剂盒说明书进行炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 含量及脂质过氧化相关指标 MDA 含量和 SOD 活性检测。

1.3.2 实时逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测脑组织基质金属蛋白酶(MMP-2、MMP-9)、闭合蛋白 5(Claudin-5)和咬合蛋白(Occludin)的 mRNA 表达: 应用 TRIzol 提取脑组织总 RNA,紫外分光光度计测定总 RNA 的浓度和纯度;逆转录合成 cDNA,反应总体积 20 μ L。实验所用引物由上海生工生物工程公司合成。PCR 反应体系:cDNA 模板 1 μ L, 10 μ mol/L 上下游引物各 0.5 μ L,扩增反应预混系统(SYBR GREEN mastermix)10 μ L,用 ddH₂O 补足至 20 μ L。反应条件:95 $^{\circ}$ C 10 s,60 $^{\circ}$ C 20 s,72 $^{\circ}$ C 30 s,40 个扩增循环。选取 β -肌动蛋白(β -actin)作为内参照,根据荧光定量分析仪得到的数据,利用 2^{- $\Delta\Delta$} 法分析各指标 mRNA 表达。

1.3.3 蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测脑组织 MMP-2、MMP-9、Claudin-5 和 Occludin 的蛋白表达: 提取总蛋白,离心取上清液,用 BCA 法进行蛋白定量,十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),取聚偏二氟乙烯(PVDF)膜处理后,放在含一抗 MMP-2 (1:1 000)、MMP-9 (1:2 000)、Claudin-5 (1:1 000)、Occludin (1:500)的封闭液中,4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。经相关处理后将膜放在含辣根过氧化物酶标记的二抗(1:4 000)中,37 $^{\circ}$ C 孵育 2 h。电化学发光(ECL),凝胶成像系统采集图像。采用 Gel-Pro Analyzer 4.0 软件进行灰度分析,以各蛋白与内参

β -actin 的灰度值比值作为相对表达量进行统计。

1.4 统计学处理:用 SPSS 18.0 软件进行数据处理。符合正态分布的计量数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用单因素方差分析,进行 SNK-*q* 检验以进行 post hoc 分析;不符合正态分布的数据进行秩和的单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠血清 IL-1 β 、TNF- α 比较(表 1):模型组血清 IL-1 β 和 TNF- α 含量较对照组明显增加(均 $P < 0.05$);经异氟烷预处理或后处理后,血清炎症因子含量较模型组明显下降(均 $P < 0.05$)。

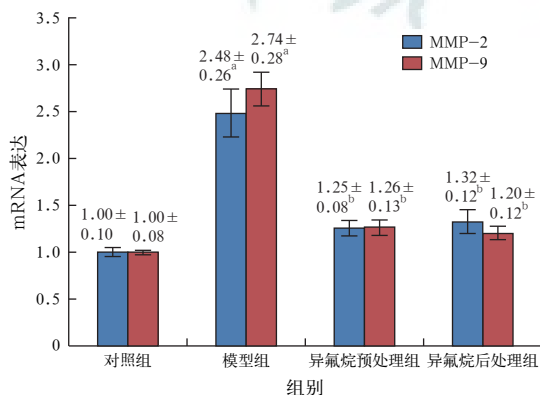
表 1 异氟烷预处理或后处理对 MCAO 大鼠血清 IL-1 β 、TNF- α 、MDA 含量及 SOD 活性的影响($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 动物数(只) | IL-1 β (ng/L) | TNF- α (ng/L) | MDA(μ mol/L) | SOD(U/L) |
|------|--------|--------------------------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 对照组 | 8 | 52.43 \pm 8.86 | 33.64 \pm 7.94 | 4.14 \pm 0.98 | 2.36 \pm 0.80 |
| 模型组 | 8 | 76.81 \pm 11.14 ^a | 64.93 \pm 10.81 ^a | 8.63 \pm 1.42 ^a | 0.95 \pm 0.21 ^a |
| 预处理组 | 8 | 54.37 \pm 9.06 ^b | 43.72 \pm 6.16 ^b | 5.65 \pm 0.83 ^b | 1.64 \pm 0.47 ^b |
| 后处理组 | 8 | 56.82 \pm 8.67 ^b | 39.49 \pm 9.34 ^b | 5.82 \pm 0.78 ^b | 1.71 \pm 0.52 ^b |

注:MCAO 为大脑中动脉闭塞,IL-1 β 为白细胞介素-1 β ,TNF- α 为肿瘤坏死因子- α ,MDA 为丙二醛,SOD 为超氧化物歧化酶;与对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$

2.2 各组大鼠血清 MDA、SOD 比较(表 1):与对照组比较,模型组血清 MDA 含量显著增加,SOD 活性明显下降(均 $P < 0.05$),说明 I/R 导致了脂质过氧化损伤。与模型组相比,经异氟烷预处理或后处理后,血清 MDA 含量明显降低,SOD 活性出现回升(均 $P < 0.05$),说明异氟烷预处理或后处理可减轻脑 I/R 引发的损伤作用。

2.3 各组大鼠脑组织 MMP-2、MMP-9、Claudin-5、Occludin 的 mRNA 表达(图 1):与对照组比较,模型

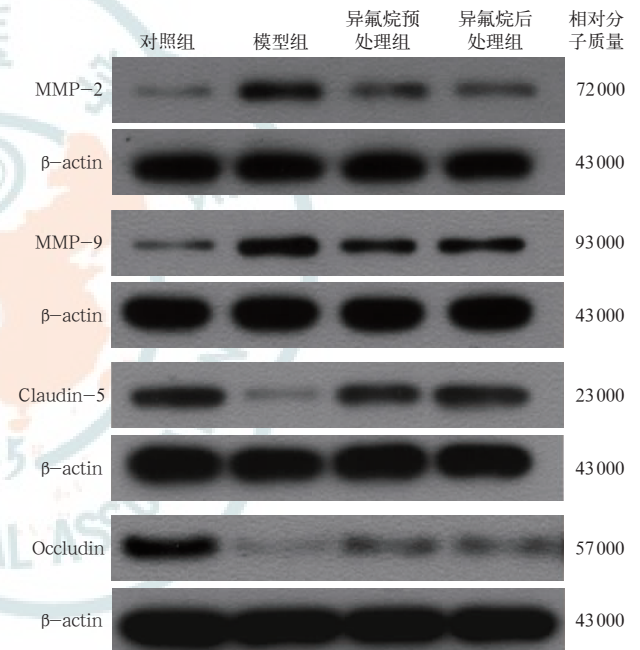


注:MCAO 为大脑中动脉闭塞,MMP-2、-9 为基质金属蛋白酶 2 和 9,Claudin-5 为闭合蛋白 5,Occludin 为咬合蛋白;与对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$

图 1 异氟烷预处理或后处理对 MCAO 大鼠脑组织 MMP-2、MMP-9、Claudin-5 和 Occludin mRNA 表达的影响

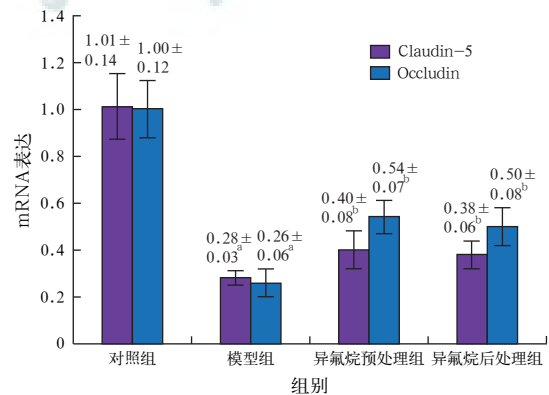
组脑组织 MMP-2、MMP-9 的 mRNA 表达显著升高,Claudin-5、Occludin 的 mRNA 表达显著下降(均 $P < 0.05$)。与模型组相比,经异氟烷预处理或后处理后脑组织 MMP-2、MMP-9 的 mRNA 表达明显下降,Claudin-5、Occludin 的 mRNA 表达有所回升(均 $P < 0.05$)。

2.4 各组大鼠脑组织 MMP-2、MMP-9、Claudin-5、Occludin 的蛋白表达(图 2;表 2):异氟烷预处理或后处理可明显减少 I/R 所致的 MMP-2、MMP-9 蛋白表达升高和 Claudin-5、Occludin 蛋白表达降低(均 $P < 0.05$)。



MCAO 为大脑中动脉闭塞,MMP-2、-9 为基质金属蛋白酶 2 和 9;Claudin-5 为闭合蛋白 5,Occludin 为咬合蛋白, β -actin 为 β -肌动蛋白

图 2 蛋白质免疫印迹试验检测各组 MCAO 大鼠脑组织 MMP-2、MMP-9、Claudin-5 和 Occludin 的蛋白表达



注:MCAO 为大脑中动脉闭塞,MMP-2、-9 为基质金属蛋白酶 2 和 9,Claudin-5 为闭合蛋白 5,Occludin 为咬合蛋白;与对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$

表 2 异氟烷预处理或后处理对 MCAO 大鼠脑组织 MMP-2、MMP-9、Claudin-5 和 Occludin 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 动物数 (只) | MMP-2 蛋白 | MMP-9 蛋白 | Claudin-5 蛋白 | Occludin 蛋白 |
|------|------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 对照组 | 8 | 1.00 ± 0.04 | 1.00 ± 0.05 | 1.00 ± 0.08 | 1.00 ± 0.07 |
| 模型组 | 8 | 2.12 ± 0.11 ^a | 2.23 ± 0.09 ^a | 0.39 ± 0.02 ^a | 0.49 ± 0.02 ^a |
| 预处理组 | 8 | 1.56 ± 0.09 ^b | 1.53 ± 0.04 ^b | 0.80 ± 0.06 ^b | 0.64 ± 0.06 ^b |
| 后处理组 | 8 | 1.50 ± 0.08 ^b | 1.51 ± 0.05 ^b | 0.81 ± 0.07 ^b | 0.69 ± 0.05 ^b |

注: MCAO 为大脑中动脉闭塞, MMP-2、-9 为基质金属蛋白酶 2 和 9, Claudin-5 为闭合蛋白 5, Occludin 为咬合蛋白; 与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与模型组比较, ^b $P < 0.05$

3 讨论

人口老龄化使缺血性脑血管疾病罹患率逐年上升, 由此导致的致死率及致残率给社会和家庭造成严重威胁。最新的脑梗死治疗指南中要求, 出现症状的 4.5 h 内可进行溶栓治疗, 但溶栓造成的 I/R 损伤又可引起二次损伤^[3]。而在重症监护病房(ICU), 经常会遇到严重低血压、休克甚至心搏骤停的患者, 虽经全力救治患者得以存活, 有时亦有不同程度的意识恢复, 但随之又会出现再度的意识障碍, 使患者成为植物人或遗留精神及智力障碍。如果多器官功能受累, 最终会导致多器官功能障碍综合征(MODS)而死亡。究其原因, 脑 I/R 损伤所起作用很大。深入研究脑 I/R 损伤的机制, 对降低患者病死率及伤残率社会意义重大。

目前, 基于 I/R 损伤的机制研究, 许多学者关注在兴奋性神经毒性、钙离子超载、炎症反应及脂质过氧化损伤等方面。其中炎症反应和脂质过氧化损伤是脑 I/R 损伤的主要机制之一^[4]。

TNF- α 和 IL-1 β 是重要的炎症介质, 在中枢神经系统中, 主要由小胶质细胞和星形胶质细胞等分泌。正常生理条件下, TNF- α 和 IL-1 β 对机体的内环境稳定和生长发育等具有重要作用; 而在病理状态下, TNF- α 和 IL-1 β 的异常表达及由此诱使各种炎症因子“瀑布式”释放, 导致过度炎症反应的发生, 加重组织细胞损伤^[5]。IL-1 β 是炎症应答过程中重要的调节因子之一, 脑缺血时 IL-1 β 与其他分子相互作用可间接加重缺氧性脑损伤^[6], 如通过 MMP 加重脑损伤^[7]。TNF- α 是一种促炎因子, 可通过增加一氧化氮(NO)的毒性^[8-9]、促进 N-甲基-D-天冬氨酸受体激活及钙超载损伤的级联反应^[10]、诱导合成急性反应期蛋白^[11]等加重炎症性脑损伤。

MDA 是氧自由基与生物膜不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应的代谢产物, 其含量的变化间接地反映了组织中氧自由基含量的变化。因此, 通过测定

MDA 含量可以估计脑组织中氧自由基水平和脂质过氧化反应的强弱^[12]。SOD 通过歧化的方式清除超氧阴离子自由基, 是机体内的主要抗氧化酶之一, 对人体的氧化与抗氧化平衡起着至关重要的作用。SOD 活性降低提示存在自由基损伤, 所以 SOD 的活性可反映机体清除氧自由基的能力^[13]。

MMP 是分解细胞外基质(ECM)中最重要的蛋白酶。研究显示, 脑 I/R 后出现 MMP 尤其是 MMP-9 及 MMP-2 活性增加, 可降解 ECM, 破坏血脑屏障, 改变血管通透性, 参与血管源性脑水肿^[14-15]。

预处理及后处理方法在器官 I/R 损伤方面的保护作用得到了许多实验证实, 尤其是后处理方法更适用于临床, 因而得到了更多学者的青睐。Rehmi 和 Singh^[16]将小鼠双侧颈动脉夹闭 10 min 制备脑 I/R 模型, 继以缺血后处理的方法给予干预(夹闭双侧颈动脉 10 s、放开 10 s, 如此 3 个循环), 24 h 后进行神经功能评分, 结果发现后处理对 24 h 后小鼠的神经功能有明显的改善作用。Zhao 等^[17]在犬的在体 I/R 模型中, 于缺血 1 h 结束后分别给予 30 s 的缺血和再灌注 3 个循环, 然后进行较长时间的再灌注, 发现可明显缩小心肌梗死面积。Zhao 等^[18]应用大鼠大脑中动脉永久性闭塞加双侧颈总动脉临时性夹闭制备脑梗死模型, 利用缺血后处理的方法进行干预, 发现脑梗死体积可减少 17% ~ 80%。然而通过机械阻断来实现后处理本身也会对组织造成一定的损伤, 这样的后处理方法临床应用起来也不方便。

为了更加适用于临床, 许多学者开始致力于药物预处理及后处理的研究: 即通过药物激发或模拟机体自身内源性保护物质而呈现保护作用, 这样以药物替代缺血刺激, 克服了缺血损伤的弊端, 在临床上更具有实用价值。近来研究表明, 吸入麻醉药如异氟烷和七氟烷等均可对 I/R 损伤的组织产生保护作用^[19-23]。Wise-Faberowski 等^[24]于 2001 年首次报道异氟烷处理可减少氧糖剥夺导致的神经细胞凋亡。本课题组前期研究报道了挥发性麻醉剂后处理对神经细胞 I/R 损伤有保护作用^[25]。Krolikowski 等^[26]在兔在体心肌 I/R 模型中观察到, 于再灌注前 3 min 至再灌注后 2 min 时间内吸入挥发性麻醉药异氟烷, 可减小心肌梗死面积。亦有一些学者正在致力于某些静脉药品如丙泊酚等预处理及后处理对重要器官功能的保护作用^[27-29]。

本研究对脑 I/R 后大脑的炎症反应等进行了探讨。脑缺血后, 脑巨噬细胞, 诸如小胶质细胞、外周血白细胞的浸润产生炎症反应。这些细胞释放的细胞

因子及其他细胞毒素如蛋白酶和自由基等可对脑细胞造成损害,抑制这种炎症反应可以减轻神经元损伤。脑 I/R 损伤是许多疾病的基本病理生理机制,近些年来,预处理和后处理被认为是两种最具前景的减轻大脑缺血损伤的干预措施。已有研究表明,异氟烷预处理可减轻脑 I/R 损伤^[20-21];同时,异氟醚预处理可以通过抑制 Toll 样受体 4-髓样分化抗原 88 (TLR4-MyD88)信号通路,减轻炎症反应,从而减轻大鼠局灶性脑 I/R 损伤^[30]。本研究结果表明,与对照组比较,模型组大鼠血清 IL-1 β 、TNF- α 和 MDA 含量明显升高,而 SOD 活性明显下降;经异氟烷预处理与后处理后,炎症因子水平存在下降趋势,脂质过氧化损伤也有所缓解,同时可降低 I/R 导致的 MMP-2、MMP-9 表达升高和 Claudin-5、Occludin 表达降低,说明异氟烷预处理或后处理可能通过减少 MMP-2 和 MMP-9 的蛋白合成,抑制其对紧密连接蛋白 Claudin-5 和 Occludin 的蛋白水解活性,减少紧密连接蛋白的缺失,从而保护血脑屏障,减轻 I/R 损伤。

参考文献

- [1] Lin D, Li G, Zuo Z. Volatile anesthetic post-treatment induces protection via inhibition of glycogen synthase kinase 3 β in human neuron-like cells[J]. *Neuroscience*, 2011, 179:73-79.
- [2] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1):84-91.
- [3] Jauch EC, Saver JL, Adams HP Jr, et al. Guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association[J]. *Stroke*, 2013, 44(3):870-947.
- [4] Acalovschi D, Wiest T, Hartmann M, et al. Multiple levels of regulation of the interleukin-6 system in stroke [J]. *Stroke*, 2003, 34(8):1864-1869.
- [5] 李建生,高剑峰,周友龙,等.老年脑缺血/再灌注大鼠炎症级联反应变化及其意义 [J]. *中国危重病急救医学*, 2006, 18(5):278-281.
- [6] Di Loreto S, Maccarone R, Corvetti L, et al. Differential modulation of interleukin-6 expression by interleukin-1beta in neuronal and glial cultures[J]. *Eur Cytokine Netw*, 2003, 14(2):97-102.
- [7] Vecil GG, Larsen PH, Corley SM, et al. Interleukin-1 is a key regulator of matrix metalloproteinase-9 expression in human neurons in culture and following mouse brain trauma in vivo[J]. *J Neurosci Res*, 2000, 61(2):212-224.
- [8] Lin JY, Seguin R, Keller K, et al. Tumor Necrosis Factor Alpha Augments Nitric Oxide-Dependent Macrophage Cytotoxicity against *Entamoeba histolytica* by Enhanced Expression of the Nitric Oxide Synthase Gene[J]. *Infect Immun*, 1994, 62(5):1534-1541.
- [9] 李芹,刘煜敏,周绍霞.脂联素对脑缺血再灌注损伤大鼠的神经保护作用[J]. *中华神经科杂志*, 2013, 46(11):755-759.
- [10] Jander S, Schroeter M, Stoll G. Role of NMDA receptor signaling in the regulation of inflammatory gene expression after focal brain ischemia[J]. *J Neuroimmunol*, 2000, 109(2):181-187.
- [11] 李亚宝,米志宽.新生儿缺血缺氧性脑病白细胞介素-6和肿瘤坏死因子- α 水平变化及与脑损伤关系的研究 [J]. *中国现代儿科学杂志*, 2007, 4(2):105-107.
- [12] Tissier R, Waintraub X, Couvreur N, et al. Pharmacological postconditioning with the phytoestrogen genistein [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2007, 42(1):79-87.
- [13] 罗凤芹,周青山,刘先义,等.异丙酚对脊髓缺血再灌注损伤大鼠脊髓细胞凋亡的影响 [J]. *中华麻醉学杂志*, 2006, 26(4):372-375.
- [14] Fujimura M, Gasche Y, Morita-Fujimura Y, et al. Early appearance of activated matrix metalloproteinase-9 and blood-brain barrier disruption in mice after focal cerebral ischemia and reperfusion[J]. *Brain Res*, 1999, 842(1):92-100.
- [15] 周进,张朝东,王军. MMP-2 及 MMP-9 在缺血性脑损伤中的表达及意义[J]. *中国临床康复*, 2002, 6(21):3178-3179.
- [16] Rehni AK, Singh N. Role of phosphoinositide 3-kinase in ischemic postconditioning-induced attenuation of cerebral ischemia-evoked behavioral deficits in mice[J]. *Pharmacol Rep*, 2007, 59(2):192-198.
- [17] Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003, 285(2):H579-588.
- [18] Zhao H, Sapolsky RM, Steinberg GK. Interrupting reperfusion as a stroke therapy: ischemic postconditioning reduces infarct size after focal ischemia in rats[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2006, 26(9):1114-1121.
- [19] Lee JJ, Li L, Jung HH, et al. Postconditioning with isoflurane reduced ischemia-induced brain injury in rats[J]. *Anesthesiology*, 2008, 108(6):1055-1062.
- [20] Wang Q, Chen Q, Ding Q, et al. Sevoflurane postconditioning attenuates spinal cord reperfusion injury through free radicals-mediated up-regulation of antioxidant enzymes in rabbits[J]. *J Surg Res*, 2011, 169(2):292-300.
- [21] Xiong L, Zheng Y, Wu M, et al. Preconditioning with isoflurane produces dose-dependent neuroprotection via activation of adenosine triphosphate-regulated potassium channels after focal cerebral ischemia in rats [J]. *Anesth Analg*, 2003, 96(1):233-237.
- [22] Kapinya KJ, Prass K, Dirnagl U. Isoflurane induced prolonged protection against cerebral ischemia in mice: a redox sensitive mechanism? [J]. *Neuroreport*, 2002, 13(11):1431-1435.
- [23] 章放香,赵倩,张竞超,等.异氟醚后处理对大鼠脑缺血再灌注损伤的影响[J]. *中华麻醉学杂志*, 2013, 33(8):993-996.
- [24] Wise-Faberowski L, Raizada MK, Summers C. Oxygen and glucose deprivation-induced neuronal apoptosis is attenuated by halothane and isoflurane[J]. *Anesth Analg*, 2001, 93(5):1281-1287.
- [25] 李国福,符加红,赵阳.挥发性麻醉剂后处理对 SH-SY5Y 神经细胞缺血再灌注损伤的影响 [J]. *中国现代医学杂志*, 2011, 21(35):4367-4370.
- [26] Krolkowski JG, Bienengraeber M, Weihrauch D, et al. Inhibition of mitochondrial permeability transition enhances isoflurane-induced cardioprotection during early reperfusion: the role of mitochondrial KATP channels [J]. *Anesth Analg*, 2005, 101(6):1590-1596.
- [27] 周晓峰,黄丁丁,王迪芬,等.丙泊酚预处理对谷氨酸损伤大鼠脑组织的保护作用研究 [J]. *中国危重病急救医学*, 2012, 24(12):750-753.
- [28] 宋曦,王迪芬,姚娜,等.依达拉奉联合异丙酚后处理对鼠脑离体脑皮层细胞缺血/再灌注损伤保护作用的研究 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2013, 20(1):30-34.
- [29] 李国福,佟欣,栾婷,等.异丙酚后处理对急性肺损伤大鼠肺组织 Toll 样受体 4 表达的影响 [J]. *中国危重病急救医学*, 2012, 24(10):620-623.
- [30] 肖志彬,高昌俊,唐晓旭,等.异氟醚预处理对大鼠局灶性脑缺血再灌注时 TLR4 和 MyD88 表达的影响 [J]. *中华麻醉学杂志*, 2010, 30(9):1102-1104.

(收稿日期:2014-03-03)

(本文编辑:李银平)