

异氟醚和七氟醚对新生大鼠皮质凋亡以及 Akt 和 Bcl-xl/Bad 表达的不同影响

李玉娟^{1*}, 柳垂亮², 王 飞¹, 陈伟强¹, 张 静¹, 彭书峻¹

(1.中山大学孙逸仙纪念医院麻醉科,广东广州 510120;2.广东省中医院麻醉科,广东广州 510120)

摘要:【目的】研究相同麻醉深度的异氟醚和七氟醚对新生大鼠皮质神经细胞凋亡以及 Akt 和 Bcl-xl/Bad 蛋白表达的影响。【方法】5 窝出生后 7 d(P7)的新生大鼠,每窝取 11 只(总共 55 只),每窝随机分为异氟醚组(I 组)4 只,七氟醚组(S 组)4 只和对照组(C 组)3 只。各组分别吸入 1.1%异氟醚或 1.8%七氟醚或空气 4h,在麻醉结束时每窝每组各取一只幼鼠经心脏穿刺抽血检测血气和血糖的变化($n = 5$);在麻醉结束后 2 h 每窝每组各取 1 只幼鼠灌注取脑,免疫组织化学法检测顶叶皮质区(PC)Caspase-3 表达($n = 5$);另外,C 组在麻醉处理 0 h,I 组和 S 组分别在麻醉 2 h,4 h 每窝各取一只幼鼠取新鲜脑皮质,Western blot 检测磷酸化 Akt,以及 Akt,Bcl-xl 和 Bad 表达的变化($n = 5$)。组间资料的比较采用单因素方差分析。【结果】I 组 Caspase-3 阳性细胞数为 (27.12 ± 5.22) 个/ mm^2 ,较对照组 [(3.15 ± 0.59) 个/ mm^2] 增加 751.11% ($P < 0.001$),比 S 组 [(9.05 ± 1.76) 个/ mm^2] 增加 199.67% ($P < 0.01$);S 组 Caspase-3 表达与对照组比较差异无统计学意义。I 组磷酸化 Akt 表达在麻醉 2 h 较对照组降低 66.31% ($P < 0.01$),4 h 呈回升趋势;S 组在 2 h 和 4 h 与对照组无统计学差异。I 组 Bad 表达在麻醉 2 h 较对照组增加 162.2% ($P < 0.05$),S 组 Bad 表达在 2 h 和 4 h 与对照组差异均无统计学意义。I 组和 S 组在 2 h 和 4 h Bcl-xl 表达与对照组差异均无统计学意义。I 组 Bcl-xl/Bad 比值在麻醉 2 h 较对照组降低 42.85% ($P < 0.01$),S 组在 2 h 和 4 h 与对照组无统计学差异。【结论】0.5MAC 异氟醚比七氟醚诱导更多新生大鼠大脑皮质神经细胞凋亡,异氟醚抑制 Akt 磷酸化并降低 Bad 表达,下调 Bcl-xl/Bad 比值可能是其诱导神经细胞凋亡的机制之一;七氟醚不会影响 Akt 磷酸化和 Bcl-xl/Bad 比值。

关键词: 异氟醚; 七氟醚; 脑; 原癌基因蛋白质 c - Akt 蛋白; Bcl 相关死亡蛋白

中图分类号:R729 文献标志码: A 文章编号: 1672-3554(2011)03-0291-06

Different Effects of Isoflurane and Sevoflurane on Apoptosis of Cortical Neuron and Expression of Akt and Bcl-xl/ Bad in Neonatal Rats

LI Yu-juan^{1*}, LIU Chui-liang², WANG Fei¹, CHENG Wei-qiang¹, ZHANG Jing¹, PENG Shu-lin¹

(1.Department of Anesthesiology, Sun Yat-sen Memory Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China;

2. Department of Anesthesiology, The Traditional Chinese Medicine Hospital, Guangzhou 510120, China)

Abstract:【Objective】 To investigate the effects of isoflurane and sevoflurane at the same depth of anesthesia on apoptosis of neuron in the parietal cortex and the expression of Akt and Bcl-xl/Bad proteins of cortex in neonatal rats. 【Methods】 Five litters of neonatal rats at postnatal day 7, eleven rats in each litter, (altogether fifty-five rats) were involved in this study. Rats in each litter were assigned randomly into three groups: 4 rats in isoflurane group (I group), 4 rats in sevoflurane group (S group) and 3 rats in control group (C group). The rats in I group, S group, or C group were separately exposed to 1.1% isoflurane or 1.8% sevoflurane (equivalent to 0.5 MAC for neonatal rats) or air for 4 h. One neonatal rat in each group each litter was punctured though heart at the end of anesthesia and blood was get to measure its pH and blood glucose ($n = 5$). One neonatal rat in each litter was perfused at 2 h after isoflurane or sevoflurane exposure and their brain were embedded by paraffin. Caspase-3 positive expression in the parietal cortex of brain were detected by immunohistochemistry staining ($n = 5$). Besides, the fresh cortex were dissected at 0 h in C group and at 2 h, 4 h in I group and S group, phospho-Akt, Akt, Bcl-xl, and Bad protein expression were detected by Western blot ($n = 5$). One way

收稿日期:2010-11-08

基金项目:国家青年自然科学基金(30700787/C03030301);广东省自然科学基金(8151040701000062)

作者简介:李玉娟,硕士,副主任医师,研究方向:麻醉药与神经发育,E-mail:yujuan_04@yahoo.com.cn. * 通信作者:李玉娟

ANOVA were used for data analysis among groups.【Result】 The numbers of caspase-3 positive cells in the parietal cortex in I group were (27.12 ± 5.22) per mm^2 , which increased by 751.11% when compared with C group [(3.15 ± 0.59) per mm^2 , $P < 0.001$] and increased by 199.67% when compared with S group [(9.05 ± 1.76) per mm^2 , $P < 0.01$], but there were no significant difference between C group and S group. The expression of phospho-Akt protein in the cortex decreased by 66.31% ($P < 0.01$) at 2 h and recovered at 4 h in I group when compared with C group, while there were no significant difference at 2 h and 4 h between S group and C group. The expression of Bad protein in the cortex increased by 162.2% ($P < 0.05$) at 2 h in I group when compared with C group, there were no significant difference at 2 h and 4 h between S group and C group. There was no significant difference of expression of Bcl-xl among I group, S group and C group. The ratio of Bcl-xl/Bad of cortex decreased by 42.85% ($P < 0.01$) at 2 h in I group when compared with C group, while there were no significant difference between S group and C group.【Conclusion】 0.5 MAC isoflurane induced more cells to develop apoptosis in parietal cortex brain in the neonatal rats at postnatal day 7 than 0.5 MAC sevoflurane. Isoflurane inhibited Akt phosphorylation and increased Bad expression, decreased the ratio of Bcl-xl/Bad, which may be one of the mechanisms of that isoflurane induced apoptosis. While sevoflurane did not significantly inhibit Akt phosphorylation and decrease the ratio of Bcl-xl/Bad.

Key words: isoflurane; sevoflurane; brain; proto-oncogene proteins c-akt; bcl-associated death protein

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2011, 32(3):291-296]

近年来国内外有多篇文章报道异氟醚能诱导突触发育高峰期的动物脑神经细胞凋亡增加^[1-6], 其机制尚未完全明确。而同属于吸入麻醉药的七氟醚更常用于小儿麻醉的诱导和维持, 是否也具有相同的神经毒性? 目前虽然有文献报道七氟醚神经毒性, 但是结论并不一致^[7-9], 并且将七氟醚和异氟醚同时进行比较的动物研究极少。我们前期细胞试验发现同等麻醉深度的七氟醚比异氟醚对神经细胞的毒性更小^[10], 因此本研究拟在新生幼鼠的动物实验中进一步比较七氟醚和异氟醚的神经毒性。Akt 即蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB), 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。激活的 Akt 能使底物的丝氨酸或苏氨酸残基磷酸化而起到抗凋亡和保护细胞的作用。Akt 主要通过 PI3K 激活, 激活的 Akt 可通过作用于 Bad、Caspase 9 等底物或下游因子抑制细胞凋亡^[11]。Bcl-xl 和 Bad 是原癌基因蛋白 Bcl-2 家族的成员, Bcl-xl 是主要的抗凋亡分子, 而 Bad 起着促进细胞凋亡的作用, 两者表达的平衡对细胞是否发生凋亡起着重要的调节作用。PI3K 依赖性的 Akt 的激活可以使 Bad 的 Ser136/Ser112 残基磷酸化, 减少功能性 Bad 表达, 通过上调 Bcl-xl/Bad 比值, 而抑制细胞凋亡^[12]。异氟醚和七氟醚是否对磷酸化 Akt 以及 Bcl-xl/Bad 的表达存在不同影响? 目前尚未见报道。本研究通过给 P7 新生大鼠吸入相同麻醉深度的异氟醚和七氟醚, 检测鼠脑皮质凋亡和磷酸化 Akt, Bcl-xl, Bad 蛋白表达变化来探讨异氟醚和七氟醚对 P7 新生大鼠脑发育影响的差异以及其机制。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂

麻醉气体检测仪(美国欧米达公司), Olympus IX70 倒置显微镜(日本奥林巴斯公司), 血糖仪(美国拜尔公司), 异氟醚(批号 8670828, 美国雅培制药有限公司), 七氟醚(批号, 美国百特医疗用品有限公司)。兔抗大鼠磷酸化 Akt 单克隆抗体 (ser473), 兔抗大鼠 Akt 单克隆抗体(美国 Cell Signal 生物技术公司); 兔抗大鼠 Bcl-xl 多克隆抗体, 兔抗大鼠 Bad 多克隆抗体, β -actin 单克隆抗体(碧云天生物技术公司)。羊抗兔二抗(武汉博士德公司)

1.2 动物及分组

5 窝出生后 7 d(P7) 的新生大鼠(由广东省动物中心提供), 每窝取 11 只, 总共 55 只。每窝随机分为异氟醚组(I 组)4 只, 七氟醚组(S 组)4 只和对照组(C 组)3 只。在麻醉 4 h 时每窝每组取一只幼鼠经左心室心脏穿刺抽血($n = 5$); 在麻醉结束后 2 h 每窝每组各取 1 只进心脏灌注, 取脑组织制作石蜡切片, 免疫组织化学法检测皮质 PC 区 Caspase-3 表达($n = 5$); 另外, 每窝对照组在麻醉处理 0h, 异氟醚组和七氟醚组分别在麻醉 2 h, 4 h 取新鲜脑皮质, Western blot 检测磷酸化 Akt、Akt、Bcl-xl 以及 Bad 蛋白表达的变化($n = 5$)。

1.3 麻醉处理

新生大鼠放置于一密闭麻醉箱中, 该麻醉箱

放置于预设温度为 35℃ 的水浴箱中。麻醉箱进气口与装有异氟醚或七氟醚气体挥发罐的麻醉机连接,出气口接延长管置于通风厨。I 组使用 1.1% 的异氟醚处理 4 h, S 组使用 1.8% 的七氟醚处理 4 h, C 组暴露于空气中 4 h。麻醉气体由压缩空气输送通过该麻醉箱,使用麻醉气体监测仪监测新生大鼠呼气末的麻醉气体浓度,氧气和二氧化碳浓度。

1.4 生理指标监测

在麻醉过程中每隔 30 min 监测幼鼠肤色,记录呼吸频率,在麻醉 4 h 时每窝每组取一只幼鼠经左心室心脏穿刺抽血行血气分析和血糖检测($n = 5$)。

1.5 组织准备

对照组在麻醉处理 0 h, I 组和 S 组分别在麻醉 2、4 h 每窝取 1 只幼鼠,断头取脑,冰上分离脑皮质,液氮速冻后转移至 -80℃ 保存,组织用来做 Western blot 分析。在麻醉结束后 2 h 每窝每组取 1 只幼鼠,经心脏灌注 40 g/L 多聚甲醛固定液 15 min 后取脑。脑组织在同样的灌注液中 4℃ 后固定 48 h 后梯度脱水,石蜡包埋,经冠状平面切取 5 μm 连续石蜡切片,参照幼鼠脑解剖图谱,每只幼鼠选择 3 个的海马平面的切片进行免疫组化染色。

1.6 免疫组化法检测细胞凋亡

组织切片通过梯度酒精脱蜡、水化、抗原修复,30 mL/L H_2O_2 液室温孵育 5 min 以去除内源性过氧化物酶活性。100 mL/L 正常羊血清封闭液室温封闭 1 h, 1:100 Caspase-3 抗体 4℃ 孵育过夜,羊抗兔二抗(1:200,武汉博士德公司)室温孵育 1h, DAB 显色,苏木素复染。使用 IP lab 7.0 和 Olympus IX70 倒置显微镜获得大脑皮质 PC 区 200X 图像,两个人分别计数 Caspase-3 阳性细胞数,并计算单位面积的阳性细胞数的均值。

1.7 Western Blot 法检测蛋白表达

新鲜冰冻的脑皮质匀浆后提取蛋白,根据其蛋白浓度(BAC 法测定),各样本等量蛋白 100 g/L SDS-DEPG 电泳,转膜,1:500 磷酸化 Akt 单克隆抗体,1:1 000 Akt 单克隆抗体,1:1 000 兔抗大鼠 Bcl-xl 多克隆抗体以及 1:1 000 兔抗大鼠 Bad 多克隆抗体 4℃ 孵育过夜,1:1 000 二抗室温孵育 2 h,使用 ECL(Amersham 公司)进行胶片显影。

1.8 统计学处理

计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,以 Graphpad Prism4 统计软件分析,组间资料的比较采用单因素方差分析。若有差异有统计学意义,采用 Tukey's 检验进一步对各组进行比较。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 生理指标检测

I 组和 S 组幼鼠在麻醉处理过程中呼吸均匀,肤色红润,无一例出现呼吸抑制。各组 PH 值均在正常范围无统计学差异(C 组 7.39 ± 0.55 , I 组 7.37 ± 0.89 , S 组 7.38 ± 0.78)。各组均无低血糖发生, C 组为 (4.56 ± 0.53) mmol/L, I 组为 (8.08 ± 0.76) mmol/L, S 组为 (5.46 ± 0.33) mmol/L。三组间血糖差异有统计学意义($P < 0.001$, $F = 10.89$)。I 组比 C 组和 S 组血糖明显增加($P < 0.001$; $P < 0.01$), S 组与 C 组血糖差异无统计学意义。

2.2 大脑皮质 Caspase-3 表达的变化

免疫组化染色显示 3 组大脑皮质 PC 区 Caspase-3 阳性表达有明显差异($P < 0.001$, $F = 13.06$)。I 组 Caspase-3 阳性细胞数为 (27.12 ± 5.22) 个/ mm^2 , 较对照组 [(3.15 ± 0.59) 个/ mm^2] 增加 751.11% ($P < 0.001$), 比 S 组 [(9.05 ± 1.76) 个/ mm^2] 增加 199.67% ($P < 0.01$); S 组 Caspase-3 表达与对照组比较差异无统计学意义(图 1)。

2.3 磷酸化 Akt 表达的变化

三组各时点磷酸化 Akt 的表达变化差异有统计学意义($P < 0.05$, $F = 4.36$)。I 组磷酸化 Akt 在麻醉 2 h 较对照组降低 66.31% ($P < 0.05$), 4 h 呈回升趋势; S 组在 2 h 和 4 h 与对照组差异无统计学意义(图 2)。提示异氟醚抑制磷酸化 Akt 表达, 而七氟醚没有明显抑制磷酸化 Akt 表达。

2.4 Bcl-xl/Bad 比值的变化

三组各时点 Bcl-xl 表达的变化差异有统计学意义($P < 0.01$, $F = 4.74$)。主要是 I 组 4 h 比 S 组 4 h Bcl-xl 表达增加($P < 0.05$), 而 I 组和 S 组在 2 h 和 4 h Bcl-xl 表达与对照组差异均无统计学意义。三组各时点 Bad 表达的变化差异有统计学意义($P < 0.001$, $F = 7.86$), I 组 Bad 表达在麻醉 2 h 较对照组增加 162.2% ($P < 0.05$), 比 S 组 2 h 表达显著增加($P < 0.05$); I 组 4 h Bad 表达仍高于对照组, 但无统计学差异, 比 S 组 4 h 明显增加($P < 0.01$);

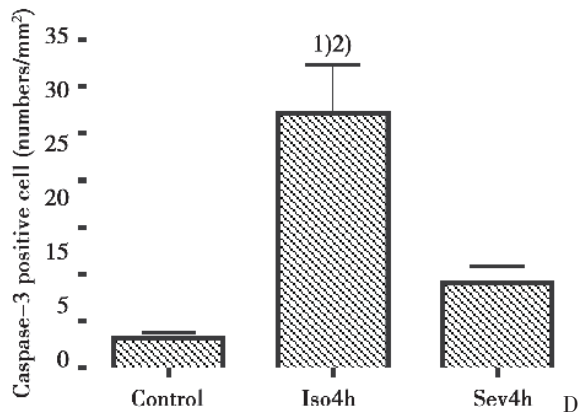
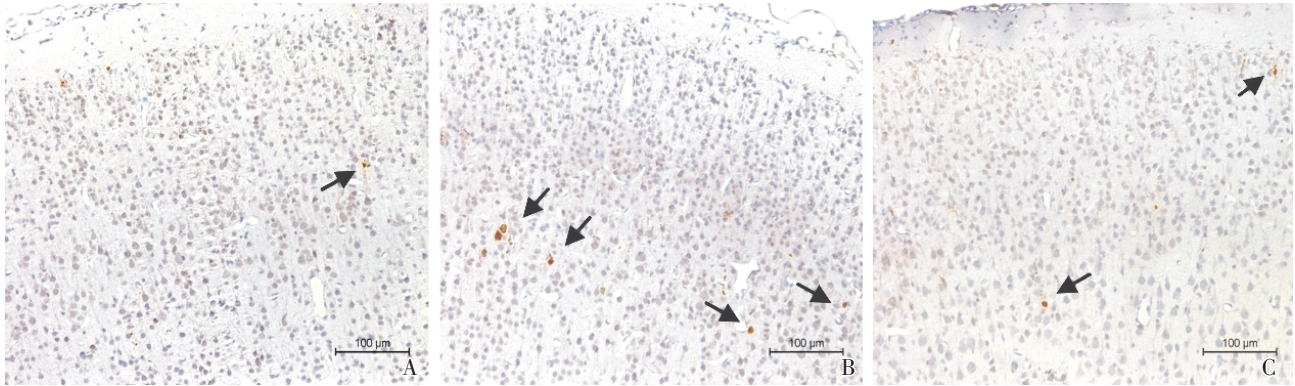


图 1 免疫组化染色检测 顶叶 皮质区 Caspase-3 阳性细胞表达

Fig.1 Caspase-3 positive cell expression in Parietal Cortex was detected by immunohistochemistry staining

A: control group; B: isoflurane group; C: sevoflurane group. Isoflurane induced more expression of caspase-3 positive cells than sevoflurane. Arrows indicate caspase-3 positive cells. Scale bar 100 μm. D: Number of caspase-3 positive cell per mm² were analyzed using one way ANOV (*n* = 5). Iso is isoflurane, sev is sevoflurane. 1) *P* < 0.001 compared with Control group, 2) *P* < 0.01 compared with S group

S组 Bad 表达在 2 h 和 4 h 与对照组差异均无统计学意义。三组各时点 Bcl-xl/Bad 比值的变化差异有统计学意义 (*P* < 0.001, *F* = 12.59), I 组 Bcl-xl/Bad 比值在麻醉 2 h 较对照组降低 42.8% (*P* < 0.05), 并且比 S 组 2 h 降低 (*P* < 0.01); I 组 4 h Bcl-xl/Bad 比值与对照组无统计学差异, 但比 S 组 4 h 降低 (*P* < 0.05); S 组在 2 h 和 4 h 与对照组差异无统计学意义 (图 3)。结果提示异氟醚能增加 Bad 表达, 而对 Bcl-xl 表达影响不大, 从而降低 Bcl-xl/Bad 比值, 而七氟醚没有明显影响 Bcl-xl 和 Bad 的表达。

3 讨 论

脑突触发育的高峰期在啮齿类为出生后 2 周^[13], 人类为妊娠晚期至出生后 3 岁。本研究选择 P7 的新生大鼠作为研究对象, 脑发育阶段相当于人类成熟的新生儿期。在预试验中我们使用 1.5% 异氟醚麻醉新生大鼠 1 h, 新生鼠出现明显的呼吸抑制, 而 1.1% 异氟醚和 1.8% 七氟醚麻醉新生幼鼠 4 h, 新生鼠的没有出现呼吸抑制, 血气检测在正

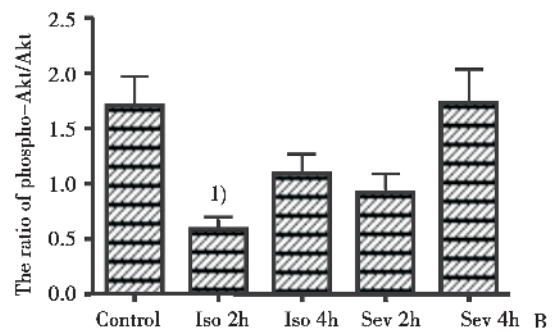
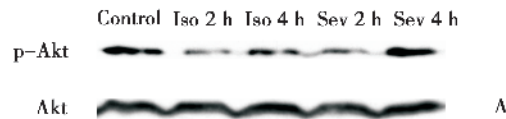


图 2 Western Blot 分析 0.5MAC 异氟醚和七氟醚麻醉新生大鼠 2 h 和 4 h 大脑皮质磷酸化 Akt 的变化

Fig.2 Expression of Phospho-Akt protein of neonatal rats cortex at 2 h and 4 h when exposure to 0.5MAC isoflurane or sevoflurane were detected by Western blot

A: Expression of Phospho-Akt and total Akt were detected by Western blot; B: The ratio of Phospho-Akt to total Akt, analysis by one way ANOV. Iso is isoflurane, sev is sevoflurane. 1) *P* < 0.05 compared with control group

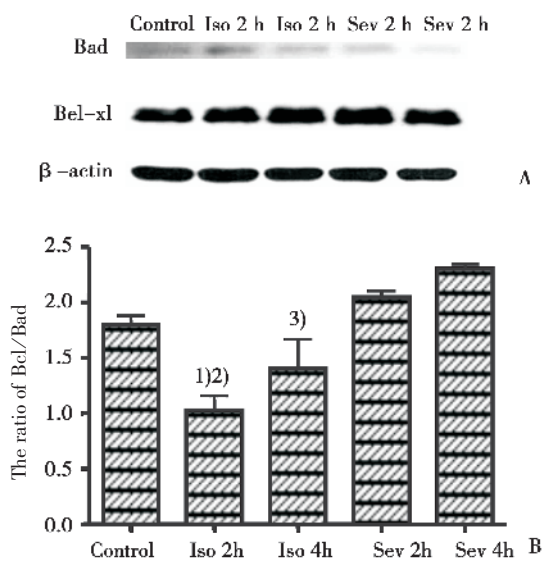


图3 Western Blot 分析 0.5MAC 异氟醚和七氟醚麻醉新生大鼠 2 h 和 4 h Bcl-xl/Bad 表达的变化

Fig.3 Expression of Bad and Bcl-xl protein of neonatal rats cortex at 2h and 4h when exposure to 0.5 MAC isofluren or sevoflurane were detected by Western blot

A: Expression of Bad and Bcl-xl protein were detected by Western blot; B: Ratio of Bcl-xl to Bad, analysis by one way ANOV. Iso means isoflurane, sev means sevoflurane. 1) $P < 0.05$ vs control group. 2) $P < 0.01$ vs Sev 2 h, 3) $P < 0.05$ vs sev 4 h

常范围内, 各组均无低血糖发生, 而且异氟醚组的血糖高于其他两组。根据 Orliaguet 等^[14]的研究, 1.1%异氟醚和 1.8%七氟醚的麻醉深度在 P7 新生大鼠相当于 0.5MAC。本研究使用该麻醉浓度既排除了呼吸抑制和低血糖等生理性干扰对细胞凋亡和蛋白表达结果的影响, 又可以达到一个亚麻醉浓度。

在脑发育的过程中, 神经细胞会发生自发性凋亡, 这与其突触的建立和脑功能的发育有关。但多项研究报道在脑突触形成的高峰期, 麻醉药能影响脑发育, 0.75%或更高浓度的异氟醚可诱导 P7 新生大鼠脑区出现大量神经细胞凋亡, 并且会导致成年期学习记忆功能减退^[1-6]。在凋亡的检测指标中, Caspase-3 是早期凋亡检测常用的指标之一。我们前期研究使用 PC12 细胞和原代培养的皮质神经元模型发现, 吸入麻醉药异氟醚比七氟醚细胞毒性更大, 诱导更多的 Caspase-3 和 Caspase-9 表达^[10], 提示七氟醚的神经毒性小于异氟醚。本研究进一步在整体动物模型中研究发现 0.5MAC 异氟醚诱导鼠脑皮质 Caspase-3 表达增加大于 7

倍, 而七氟醚诱导 Caspase-3 表达增加只有 1.5 倍, 且与对照组比较无统计学差异, 进一步证实七氟醚对脑组织的毒性小于异氟醚。这与最近 Liang G 等^[7]研究结果一致, 他们发现七氟醚诱导神经细胞凋亡的程度比异氟醚要小, 但是两种药物都不会影响大鼠青少年期的空间学习能力。Zhang 等^[8]研究发现 1.7%七氟醚麻醉 2 h 可诱导 P7 天的小鼠脑皮质神经元 Caspase-3 表达增加, 但增加的程度也只有 3 倍左右, 远小于异氟醚的影响。而 Bercker 等^[9]使用更高浓度 3% ~ 5%七氟醚麻醉 P6 天的 Wister 新生大鼠 6 h, Caspase-3 表达与对照组无明显差异, 这些都说明七氟醚的神经毒性比异氟醚小, 与我们的研究结果一致。

异氟醚和七氟醚诱导神经细胞凋亡的差异性机制目前研究尚未完全明确。有研究证实异氟醚与咪唑安定和氧化亚氮联合使用能激活内源性线粒体通路和外源性通路诱导凋亡^[2], 或者通过激活 BDNF 通路诱导凋亡^[3]。我们前期细胞研究发现异氟醚能通过激活内质网 IP₃ 受体诱导内质网钙离子释放而导致更高的细胞浆钙离子浓度^[15], 而且异氟醚显著降低 Bcl-2/Bax 比值^[10], 干扰线粒体稳态而诱导凋亡。但七氟醚对胞浆钙离子浓度和 Bcl-2/Bax 比值影响不大。

本研究在整体动物实验中发现异氟醚能抑制大脑皮质磷酸化 Akt 表达, 诱导 Bad 表达显著增加, 下调 Bcl-xl/Bad 比值。异氟醚对磷酸化 Akt 的抑制在麻醉 2 h 时最明显, 而 Lu 等^[3]报道的 Akt 在异氟醚麻醉 4 h 时抑制最明显, 主要是由于使用的模型不相同, 我们使用的是 1.1%的异氟醚麻醉, 而 Lu 等使用的是 0.75%异氟醚与氧化亚氮, 咪唑安定联合麻醉。但是相同的是随着麻醉时间的延长, Akt 的抑制作用逐渐减弱。Bad 的改变与磷酸化 Akt 呈负相关, 在异氟醚麻醉 2 h 时 Bad 表达增加最明显。这与 Akt-Bad 的信号通路是一致的, 异氟醚可能通过抑制磷酸化 Akt 而抑制 Bad 磷酸化, 从而使功能状态的 Bad 表达增加。各组 Bcl-xl 的变化均不大, 提示异氟醚可能主要通过上调 Bad 表达来影响其 Bad/bcl-xl 比值。由于 Bad 的上游信号通路还包括 MAPK 途径 ERK、P90 S6K、PKA 等, 是否其他通路也参与了 Bad 表达的增加, 还需要进一步的研究证明。本研究发现七氟醚没有明显抑制磷酸化 Akt 表达, 而且七氟醚没有诱导 Bad 表达增加和下调 Bcl-xl/Bad 比值, 这

可能是七氟醚没有诱导明显神经细胞凋亡的原因之一。

本研究也存在一定的局限性,没有检测磷酸化 Bad 的表达以进一步说明 Akt 与 Bad 的关系,没有 Bad 抑制剂进一步阐明异氟醚引起的凋亡与 Akt-Bad 通路的关系,是否有其他信号通路参与 Bad 表达的增加? 他们与 Akt 的关系如何? 在后续的研究中将继续完善。

总之,本研究通过给 P7 新生大鼠 0.5MAC 的异氟醚和七氟醚 4 h,发现异氟醚可以显著增加脑皮质神经细胞凋亡,而七氟醚增加神经细胞凋亡的程度不明显。异氟醚能抑制鼠脑皮质 Akt 磷酸化,增加 Bad 蛋白表达,下调 Bcl-xl/Bad 比值,这可能是其诱导神经细胞凋亡的机制之一,而七氟醚不会抑制 Akt 磷酸化和下调 Bcl-xl/Bad 比值。研究提示七氟醚的神经毒性作用小于异氟醚,在小儿手术中使用可能更加安全。

参考文献:

- [1] 蒯建科,姚立农,于代华,等. 异氟醚对新生大鼠认知功能的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2006, 26(8): 717-719.
- [2] Yon JH, Daniel JJ, Carter LB, et al. Anesthesia induces neuronal cell death in the developing rat brain via the intrinsic and extrinsic apoptotic pathways [J]. Neuroscience, 2005, 135(3): 815-827.
- [3] Lu LX, Yon JH, Carter LB, et al. General anesthesia activates BDNF-dependent neuroapoptosis in the developing rat brain [J]. Apoptosis, 2006, 11(9): 1603-1615.
- [4] Johnson SA, Young C, Olney JW. Isoflurane-induced Neuroapoptosis in the Developing Brain of Nonhypoglycemic Mice [J]. J Nuero Anesth, 2008, 20(1): 21-28.
- [5] Zou X, Sadovova N, Patterson TA, et al. The effects of L-carnitine on the combination of inhalation anesthetic-induced developmental neuronal apoptosis in the rat frontal cortex [J]. Neuroscience, 2008, 151(4): 1053-1065.
- [6] Rizzi S, Carter L, Ori C, et al. Clinical Anesthesia Causes Permanent Damage to the Fetal Guinea Pig Brain [J]. Brain Pathology, 2008, 18(2): 198-210.
- [7] Liang G, Ward C, Peng J, et al. Isoflurane causes greater neurodegeneration than an equivalent exposure of sevoflurane in the developing brain of neonatal mice [J]. Anesthesiology, 2010, 112(6): 1325-1334.
- [8] Zhang X, Xue Z, Sun A. Subclinical concentration of sevoflurane potentiates neuronal apoptosis in the developing C57BL/6 mouse brain [J]. Neurosci Lett, 2008, 447(2-3): 109-114.
- [9] Bercker S, Bert B, Bittigau P, et al. Neurodegeneration in newborn rats following propofol and sevoflurane anesthesia [J]. Neurotox Res, 2009, 16(2): 140-147.
- [10] Wei H, Kang B, Wei W, et al. Isoflurane and Sevoflurane Affect Cell Survival and Bcl-2/Bax Ratio Differently [J]. Brain Research, 2005, 1037(1-2): 139-147.
- [11] Henshall DC, Araki T, Schindler CK, et al. Activation of bcl-2 associated death protein and counter-response of Akt within cell populations during seizure-induced neuronal death [J]. Neurosci, 2002, 22(19): 8458-8465.
- [12] Hayakawa J, Ohmichi M, Kurachi H, et al. Inhibition of BAD phosphorylation either at serine 112 via extracellular signal-regulated protein kinase cascade or at serine 136 via Akt cascade sensitizes human ovarian cancer cells to cisplatin [J]. Cancer Res, 2000, 60(21): 5988-5994.
- [13] Dobbing J, Sands J. Comparative aspects of the brain growth spurt [J]. Early Hum Dev, 1979, 3(1): 79-83.
- [14] Orliaguet G, Vivien B, Langeron O, et al. Minimum alveolar concentration of volatile anesthetics in rats during postnatal maturation [J]. Anesthesiology, 2001, 95(3): 734-739.
- [15] Liang G, Wang Q, Li Y, et al. A presenilin-1 mutation renders neurons vulnerable to isoflurane toxicity [J]. Anesth Analg, 2008, 106(2): 492-500.

(编辑 徐杰)