

七氟烷和异氟烷对肝脏缺血再灌注损伤的影响

王旭东¹, 卢雅立¹, 王 飞², 李艳萍²

(中山大学 1. 肿瘤防治中心麻醉科, 广东 广州 510060; 2. 附属第二医院麻醉科, 广东 广州 510120)

摘 要:【目的】探讨七氟烷和异氟烷预处理对大鼠肝脏缺血再灌注损伤(I/R)的保护作用及机制。【方法】96 只 SD 大鼠随机分为假手术对照组(Sham)、肝脏缺血再灌注组(IR)、七氟烷预处理(Sev)和异氟烷预处理(Iso),于肝脏缺血 30 min,再灌注 30 min、120 min 测各组大鼠血清中谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)的含量以及肝脏组织中谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)含量和超氧化物歧化酶(SOD)活性。【结果】肝脏缺血再灌注后 IR、Sev 和 Iso 组血清 ALT、AST 和 LDH 含量均显著升高,肝组织 SOD 和 GSH 显著降低,而 MDA 明显升高,和 Sham 组相比有显著差异($P < 0.01$);Sev、Iso 组和 IR 组比较,ALT、AST、LDH 和 MDA 降低,而 SOD 和 GSH 显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),其中 Sev 组比 Iso 组效果更为明显($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。【结论】七氟烷和异氟烷对肝脏缺血再灌注损伤有一定的保护作用,这可能与抑制氧自由基生成,减少脂质过氧化有关。

关键词:七氟烷;异氟烷;肝脏;再灌注损伤

中图分类号:R322.47

文献标识码:A

文章编号:1672-3554(2008)01-0030-04

Effect of Sevoflurane and Isoflurane on Liver against Ischemia-reperfusion Injury in Rats

WANG Xu-dong¹, LUYa-li¹, WANG Fei², LI Yan-ping²

(1. Department of Anesthesiology, Cancer Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510060, China;

2. Department of Anesthesiology, The Second Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the protective effect of sevoflurane and isoflurane on the liver against ischemia-reperfusion injury and the mechanisms involved. 【Methods】Ninety-six SD rats were randomly divided into four groups: sham-operation group (Sham), ischemia-reperfusion group (IR), sevoflurane group (Sev) and isoflurane group (Iso). Serum levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and lactate dehydrogenase (LDH) were determined after ischemia-reperfusion. Superoxide dismutase (SOD) activities, glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) content in liver were measured. 【Result】The activities of serum ALT, AST, and LDH in IR, Sev, and Iso groups were significantly higher than that in Sham group ($P < 0.01$) after ischemia-reperfusion. Compared with those in Sham group, SOD activities, GSH content in liver degraded and meanwhile the content of MDA increased in IR, Sev, and Iso groups after ischemia-reperfusion ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The activities of ALT, AST, LDH and the content of MDA were lower than those in IR group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Meanwhile the SOD activities and GSH content in liver were higher than those in IR group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). 【Conclusion】Both sevoflurane and isoflurane can protect liver from ischemia and reperfusion injury. The protective mechanisms maybe related to reduce the release of oxyradical and inhibiting the lipid peroxidation.

Key words: sevoflurane; isoflurane; liver; reperfusion injury

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2008,29(1):30-33]

收稿日期:2007-06-22

基金项目:广东省科委科研基金资助项目(2005B30301001);广东省医学科学技术研究基金(A2005249)

作者简介:王旭东(1966-),男,广东湛江人,副主任医师,硕士生导师;李艳萍,通讯作者,副主任医师,硕士生导师. E-mail: mzkwx@yahoo.

com.cn

肝缺血再灌注损伤 (hepatic ischemia and reperfusion injury, HIRI) 是临床上广泛关注的问题。肝切除、肝外伤、出血性休克和肝移植等均可引起 HIRI^[1];在血管外科中,动脉转流也会引起 HIRI^[2]。肝缺血再灌注直接影响到疾病的预后、手术成功率和病人存活率。因此,研究 HIRI 作用的机制及如何减轻 HIRI,具有重要的临床意义。有研究发现吸入性麻醉药在 HIRI 上可能具有保护作用^[3,4],本实验拟采用大体大鼠肝脏缺血再灌注模型,研究七氟烷和异氟烷预处理对 HIRI 的影响及其可能机制,为临床研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 研究对象

健康 SD 雄性大鼠 96 只,体质量 200~250 g,购自广东医学院动物实验中心。随机分为 4 组:假手术对照(Sham 组),缺血再灌注模型组(IR 组),七氟烷预处理(Sev 组),异氟烷预处理(Iso 组),每组 24 只。

1.2 肝脏缺血再灌注模型制作及用药

大鼠术前 8 h 禁食,自由饮水。在无菌条件下进行实验操作。IR 组、Iso 组、Sev 组大鼠腹腔注射 1 g/L 戊巴比妥 50 mg/kg 麻醉,上腹正中切口进腹,分离肝脏周围韧带,暴露肝门,用无损伤血管夹分别阻断左、中、右叶肝蒂(约占全肝 95%),夹闭门静脉和肝动脉枝,阻断左、中及右叶肝脏血流,造成受累肝叶完全缺血,保留尾状叶(约占全肝 5%)血供,作为门静脉血液回流通道,以防肠道淤血。阻断 30 min 后开放动脉夹,恢复肝脏灌注,制成 HIRI 模型。Sham 组仅切开腹腔,不分离阻断肝蒂。药物组在阻断肝蒂前用药。Iso 组 I/R 前吸入体积分数 1.5%异氟烷(Abbott 公司,英国),维持 30min;Sev 组 I/R 前吸入体积分数 2%七氟烷(Abbott 公司,英国),维持 30 min。两组进行预处理后洗脱 10 min。

1.3 标本采集及检测方法

分别于阻断肝蒂后 30 min、再灌注后 30 min、120 min 各时点取材,每时点 8 只,大鼠打开腹腔,经心脏采血 3 mL,血液离心取血清,以日本产 Olympus AU2700 型全自动生化分析仪,测定血清中丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartame

aminotransferase, AST)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)浓度。采血后迅速取出肝脏,4℃生理盐水洗去血污,滤纸吸净水份,然后切取肝组织 100 g 制成 10%的匀浆液,采用 TBA 比色法测定丙二醛(malondialdehyde, MDA);黄嘌呤氧化酶法测定超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD);二硫代二硝基苯甲酸法测定谷胱甘肽(glutathione, GSH)。操作步骤参照试剂盒说明(试剂盒均购自南京建成生物研究所)。

1.4 统计学处理

采用 SPSS11.0 统计软件,所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

结果表明(表 1),缺血 30 min 和再灌注 30 min、120 min 后,IR 组的血清 ALT、AST 和 LDH 的含量均明显高于 Sham 组($P < 0.01$),表明缺血再灌注使大鼠的肝组织受到损害;Sev 组和 Iso 组各个时点的 ALT、AST 和 LDH 的水平虽然仍明显高于 Sham($P < 0.01$),但和 IR 组相比,各酶的水

表 1 大鼠血清中 ALT、AST、LDH 含量的变化
Table 1 The changes of ALT, AST, and LDH in rat serum (U/L, $\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Groups	Time		
	Ischemia 30 min	Reperfusion 30 min	Reperfusion 120 min
ALT	Sham	46 ± 5	46 ± 7
	IR	98 ± 7 ¹⁾	237 ± 36 ¹⁾
	Sev	89 ± 5 ^{1),3)}	153 ± 21 ^{1),3)}
	Iso	92 ± 7 ^{1),2)}	191 ± 33 ^{1),3),5)}
AST	Sham	58 ± 6	57 ± 9
	IR	137 ± 12 ¹⁾	325 ± 46 ¹⁾
	Sev	87 ± 6 ^{1),3)}	212 ± 191 ^{1),3)}
	Iso	95 ± 7 ^{1),3),4)}	253 ± 25 ^{1),3),5)}
LDH	Sham	612 ± 79	613 ± 79
	IR	944 ± 104 ¹⁾	1863 ± 166 ¹⁾
	Sev	794 ± 89 ^{1),3)}	1367 ± 173 ^{1),3)}
	Iso	813 ± 81 ^{1),3)}	1537 ± 143 ^{1),3),4)}

ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartame aminotransferase; LDH: lactate dehydrogenase

1) Compared with sham group $P < 0.01$; 2) Compared with IR group $P < 0.05$; 3) Compared with IR group $P < 0.01$; 4) Compared with Sev group $P < 0.05$; 5) Compared with Sev group $P < 0.01$

平均有不同程度的下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。Sev 组和 Iso 组在缺血 30 min 时的 ALT 和 LDH 的含量没有明显差别,但 Sev 组的 AST 含量比 Iso 组的低 ($P < 0.05$),而在再灌注 30 min 和 120 min 时,Iso 组的 ALT、AST 和 LDH 的含量均高于 Sev 组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

IR 组、Sev 组、Iso 组与 Sham 组比较,SOD 活性和 GSH 含量明显下降 ($P < 0.01$); Sev 组和 Iso 组与 IR 组相应时点比较 SOD 活性和 GSH 含量均上升 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 而 Sev 组 SOD 活性上升比 Iso 组明显 ($P < 0.05$),但 GSH 含量两组无明显差别。IR 组、Sev 组、Iso 组的 MDA 含量在各时间点与 Sham 组比均明显升高 ($P < 0.01$); Sev 组和 Iso 组 MDA 含量明显相应低于 IR 组,差异显著 ($P < 0.01$); 而 Sev 组的 MDA 含量则明显低于 Iso 组 ($P < 0.05$, 见表 2)

表 2 大鼠肝组织中 SOD、MDA、GSH 的变化 ($\bar{x} \pm s, n=8$)
Table 2 Changes of SOD, MDA, and GSH in the hepatic tissue of rat during HIRI ($\bar{x} \pm s, n=8$)

	Groups	Time		
		Ischemia 30 min	Reperfusion 30 min	Reperfusion 120 min
SOD (NU/mg)	Sham	104 ± 12	106 ± 11	105 ± 13
	IR	81 ± 6 ¹⁾	74 ± 10 ¹⁾	70 ± 10 ¹⁾
	Sev	93 ± 7 ^{1),2)}	91 ± 22 ^{1),2)}	88 ± 26 ^{1),2)}
	Iso	93 ± 10 ^{1),2)}	84 ± 7 ^{1),2),3)}	85 ± 18 ^{1),2)}
MDA (nmol/mg)	Sham	2.0 ± 0.2	2.0 ± 0.2	1.9 ± 0.4
	IR	2.7 ± 0.5 ¹⁾	4.0 ± 0.1 ¹⁾	4.1 ± 0.7 ¹⁾
	Sev	2.3 ± 0.5 ^{1),2)}	2.6 ± 0.3 ^{1),2)}	2.6 ± 0.6 ^{1),2)}
	Iso	2.6 ± 0.2 ^{1),2)}	3.0 ± 0.2 ^{1),2),3)}	3.1 ± 0.9 ^{1),2),3)}
GSH (mg/mg)	Sham	75 ± 8	77 ± 10	76 ± 9
	IR	54 ± 6 ¹⁾	48 ± 8 ¹⁾	43 ± 10 ¹⁾
	Sev	65 ± 6 ^{1),2)}	65 ± 9 ^{1),2)}	60 ± 7 ^{1),2)}
	Iso	65 ± 10 ^{1),2)}	62 ± 9 ^{1),2)}	58 ± 9 ^{1),2)}

SOD: superoxide dismutase; MDA: malondialdehyde; GSH: glutathione

1) Compared with sham group $P < 0.01$; 2) Compared with IR group $P < 0.01$; 3) Compared with Sev group $P < 0.05$

3 讨 论

最近研究^[5]显示在使用异氟烷等吸入性麻醉药麻醉后,肝脏缺血再灌注损伤减轻,体现在各肝细胞酶指标明显下降,提示吸入性麻醉药可能具

有保护性作用。我们实验结果表明,IR 组 ALT、AST 和 LDH 水平明显高于 Sham 组,表明随着肝缺血再灌注的发生,肝细胞功能受到严重损害; Sev 和 Iso 组的 ALT、AST 和 LDH 水平虽仍高于 Sham 组,但和 IR 组相比明显下降。结果提示七氟烷和异氟烷对缺血再灌注的肝细胞有一定的保护作用,而七氟烷的保护作用比异氟烷更为明显。

HIRI 的发生机制复杂,受多种因素的共同影响,现认为主要通过钙离子超载、氧自由基、肝枯否细胞释放细胞因子、血管内皮细胞释放内皮素和一氧化氮等导致肝细胞坏死,肝功能损害^[6-8]。肝缺血再灌注时,机体可通过多种途径产生大量氧自由基,导致肝细胞损伤。肝缺血与再灌注时氧自由基主要来源于黄嘌呤氧化酶体系、中性粒细胞的呼吸爆发、线粒体细胞色素氧化酶系统功能失调,电子传递功能障碍产生大量氧自由基^[9],还可以来自缺血时的花生四烯酸的代谢及儿茶酚胺的自发氧化。此外缺血使内源性抗氧化剂如超氧化物歧化酶失活或耗尽,超氧化物的清除减少^[10,11]。大量的氧自由基氧化膜磷脂中的多双键不饱和脂肪酸,引发脂质过氧化反应,破坏细胞膜,加速钙内流,持续细胞 Ca^{2+} 超载又损伤肝细胞膜,形成恶性循环,终致细胞死亡^[12]。SOD 和 GSH 对机体的氧化与抗氧化平衡起着至关重要的作用,两者能清除超氧阴离子自由基并保护细胞免受损伤。SOD 活力的高低和 GSH 量的多少间接反应了机体清除氧自由基的能力。MDA 则是自由基攻击生物膜引发脂质过氧化反应的产物,组织含量可反映脂质过氧化的程度,间接反映出细胞受自由基攻击和损伤的程度。

我们实验结果表明,IR 组各个时限点 SOD 活力、GSH 含量较对照组均明显下降,MDA 含量均显著升高。表明体内氧化系统被激活,抗氧化系统受抑制,氧自由基大量生成而清除减少,体内氧自由基水平急剧升高,从而引发一定程度的脂质过氧化反应,以致肝细胞损伤。而 Sev、Iso 组和 IR 组比较肝组织 SOD 活力、GSH 含量升高,而 MDA 则显著降低,表明异氟烷和七氟烷预处理后,在降低自由基的含量和维持组织超氧化物歧化酶活力方面起了重要作用,减少了缺血再灌注时氧自由基对肝脏的损伤,对肝组织起了一定的保护作用。而其中七氟烷的作用比异氟烷略为明显。

综上所述,异氟烷和七氟烷预处理对于 HIRI

有一定的保护作用,这可能是由于异氟烷和七氟烷能增加肝脏再灌注后肝组织 SOD 活性及 GSH 含量,降低 MDA 含量,既减少了氧自由基生成,又增强对氧自由基清除的双重抗脂质过氧化作用,从而减轻肝缺血再灌注的损伤。异氟烷和七氟烷预处理对于 HIRI 的保护作用,对于临床上的肝脏部分切除、肝脏移植等手术的麻醉有一定的指导意义。

参考文献:

- [1] 赖东明,刘璐,李文滨,等. siRNA 对小鼠肝缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. 中山医科大学学报, 2004, 25(4):322-325.
- [2] 邓美海,区庆嘉,刘超,等. 主动脉转流对内脏缺血再灌注损伤的影响 [J]. 中山医科大学学报, 1999, 20(4):267-271.
- [3] Ishida H, Kadota Y, Sameshima T, et al. Comparison between sevoflurane and isoflurane anesthesia in pig hepatic ischemia-reperfusion injury [J]. J Anesth, 2002, 16(1):44-50.
- [4] 张健,叶敏,彭章龙,等. 安氟烷和异氟烷对肝脏缺血/再灌注损害的影响 [J]. 中华麻醉学杂志, 2000, 20(4):223-225.
- [5] 黄施伟,李士通,王莹恬,等. 异氟烷预处理对大鼠肝窦内皮缺血再灌注损伤的影响 [J]. 中华麻醉学杂志, 2007, 27(4):347-351.
- [6] Ko SH, Yu CW, Lee SK, et al. Propofol attenuates ischemia in the isolated rat heart [J]. Anesth Analg, 1997, 85(2):719-724.
- [7] Hines IN, Kawachi S, Harada H, et al. Role of nitric oxide in liver ischemia and reperfusion injury [J]. Mol Cell Biochem, 2002, 234(1):229-237.
- [8] Teoh NC, Farrell GC. Hepatic ischemia reperfusion injury: pathogenic mechanisms and basis for hepatoprotection [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2003, 18(8):891-902.
- [9] Morioka D, Kubota T, Sekido H, et al. Prostaglandin E1 improved the function of transplanted fatty liver in a rat reduced-size-liver transplantation model under conditions of permissible cold preservation [J]. Liver Transpl, 2003, 9(1):79-86.
- [10] Shah V, Kamath PS. Nitric oxide in liver transplantation: Pathobiology and clinical implications [J]. Liver Transpl, 2003, 9(1):1-11.
- [11] Mizunuma K, Ohdan H, Tashiro H, et al. ROCK inhibitor Y-27632 prevents primary graft non-function caused by warm ischemia/reperfusion in rat liver transplantation [J]. Transpl Int, 2002, 15(2):623-629.
- [12] Pretto EA. Reperfusion injury of the liver [J]. Transplant Proc, 1991, 23(6):1912-1921.

(编辑 张恩健)

(上接第 29 页 from page 29)

- 山大学学报:医学科学版, 2007, 28(2):192-195.
- [6] 王朝晖,王伟铭,周同,等. P-选择素基因单核苷酸多态性与 IgA 肾病的相关性 [J]. 中华内科杂志, 2006, 45(7):559-564.
- [7] Chaudhury PR, Wu B, King G, et al. Adhesion molecule interactions in human glomerulonephritis: importance of the tubulointerstitium [J]. Kidney Int, 1996, 49(3):127-134.
- [8] 周同,李晓,郝翠兰,等. 黏附分子 P 选择素在人类肾小球疾病中的表达及其意义 [J]. 中华肾脏病杂志, 1998, 14(6):155-158.
- [9] 周同,孙桂芝,李晓,等. P-选择素与树突状细胞在 IgA 肾病肾小管间质病变中变化的临床意义 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2004, 24(10):764.
- [10] 张燕,王威. CD44 在 IgA 肾病中的表达及临床意义 [J]. 山东医药, 2004, 44(10):14-16.
- [11] Muthukumar T, Fernando ME, Jayakumar M. Prognostic factors in immunoglobulin-A nephropathy [J]. J Assoc Physicians India, 2002, 50(2):1354-1359.
- [12] Ajiro A, Uchida K. Significance of interstitial lesions in IgA nephropathy: a quantitative evaluation of the interstitial area using an image analyzer for color extraction [J]. Nippon Jinzo Gakkai Shi, 2003, 45(6):84-87.
- [13] Naruse T, Yuzawa Y, Akahori T, et al. P-selectin-dependent macrophage migration into the tubulointerstitium in unilateral ureteral obstruction [J]. Kidney Int, 2002, 62(7):94-98.
- [14] Florquin S, Nunziata R, Claessen N, et al. CD44 expression in IgA nephropathy [J]. Am J Kidney Dis, 2002, 39(2):407-414.
- [15] Kozek-Langenecker SA, Spiss CK, Michalek-Sauberer A, et al. Effect of prostacyclin on platelets, polymorphonuclear cells, and heterotypic cell aggregation during hemofiltration [J]. Crit Care Med, 2003, 31(3):864-868.

(编辑 张恩健)