

星状神经节阻滞对家兔脑缺血再灌注时氧自由基损伤的保护作用

彭全民¹ 高金贵^{1,2} 张满和¹

摘要 目的:研究星状神经节阻滞(SGB)对脑缺血再灌注家兔脑组织超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)以及含水率的影响,以探讨其对氧自由基损伤的作用机制。**方法:**选择 SGB 模型有效的家兔 32 只,随机分为 4 组(n=8):假手术组(Sham 组)、空白对照组(I/R 组)、生理盐水对照组(NS 组)和 SGB 组。SGB 组再灌注开始时从兔颈部导管注入 0.25%丁哌卡因 0.5ml/h 至再灌注 12h 时。NS 组则注入 NS 0.5ml/h。I/R 组不用任何药。各组于再灌注 12h 时断头取脑制成 10%脑组织匀浆,检测 SOD 活性、MDA 含量。**结果:**与 Sham 组比较,I/R 组、NS 组 SOD 活性均明显降低($P<0.01$),MDA 含量明显增加($P<0.01$),脑组织含水率增加($P<0.05$),而 I/R 组与 NS 组比较差异无显著性意义;与 I/R 组、NS 组比较,SGB 组 SOD 活性显著升高而 MDA 含量明显降低($P<0.01$),脑组织含水率下降($P<0.05$)。**结论:**SGB 可明显减轻脑水肿,提高脑组织内源性 SOD 生物活性,降低 MDA 含量,具有明显的抗氧自由基损伤作用,并因此而起到抗脑缺血再灌注损伤的作用。

关键词 神经阻滞;星状神经节;脑缺血;自由基损伤;超氧化物歧化酶

中图分类号:R493, R614, R743.3 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2007)-04-0313-03

Protective effects of satellite ganglion block against oxygen free radical damage in rabbits with cerebral ischemia-reperfusion/PENG Quanmin, GAO Jingui, ZHANG Manhe/Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2007,22(4): 313-315

Abstract Objective:To observe the effects of satellite ganglion block (SGB) on SOD,MDA and water content of brain tissue in rabbits following cerebral ischemia-reperfusion (CIR) and to investigate the possible mechanism of action of SGB against the oxygen free radical injury.**Method:**Thirty two healthy rabbits were randomly divided into 4 groups: sham group,blank control (I/R) group,NS group and SGB group. In SGB group right stellate ganglion was blocked at the beginning of reperfusion by 0.25% bupivacaine, at a rate of 0.5ml/h until 12h after reperfusion. In NS control group,0.5ml normal saline (NS) was used instead of bupivacaine at the same volume. **Result:**Compared with sham group,SOD activity significantly decreased ($P<0.01$) while MDA content and water content increased ($P<0.05$ or 0.01) in brain tissues in I/R and NS groups. There was no significant difference in each index between I/R and NS groups. However,SOD activity significantly increased($P<0.01$) while MDA content and water content significantly decreased($P<0.05$ or 0.01) in SGB group as compared to in I/R and NS groups,and there was no significant difference in each index between the right and left brain tissues in SGB group. **Conclusion:**SGB can effectively increase endogenous SOD activity and decrease MDA content in rabbits brain tissue and alleviate hydrocephalus. This study indicates that SGB can attenuate the oxygen free radical injury in brain tissue with CIR.

Author's address Department of Anesthesiology,Second Affiliated Hospital, School of Medicine, Zhejiang University,Hangzhou, 030009

Key words nerve block; satellite ganglion; cerebral ischemia; free radical injury; superoxide dismutase

研究表明,氧自由基损伤是脑缺血再灌注损伤(cerebral ischemia and reperfusion injury,CIRI)的重要作用机制之一^[1]。采用有效的治疗方法,并预防在治疗中可能发生的再灌注损伤,是国内外医学界所需解决的重要课题^[2]。星状神经节阻滞(stellate ganglion block,SGB)是临床广泛应用的一种自主神经干预的治疗措施,并取得较好的疗效;有研究报道 SGB 对 CIRI 具有防治作用^[3],但 SGB 在脑缺血再灌注(cerebral ischemia and reperfusion,CIR)期间是否对氧自由基含量的变化产生影响尚未报道,本研究

拟通过测定 CIR 家兔脑组织含水率、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)及丙二醛(malondialdehyde,MDA)含量等变化,并观察脑组织病理学变化,旨在观察 SGB 对上述变化的影响,以探讨其对

1 河北医科大学第二医院麻醉科,石家庄市,050000

2 通讯作者:高金贵(河北医科大学第二医院麻醉科,石家庄市,050000)

作者简介:彭全民,男,麻醉学硕士,医师(现工作单位:浙江大学医学院附属第二医院麻醉科,杭州市,030009)

收稿日期:2006-06-05

CIRI 的防治作用及其机制,为其临床研究与应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物的准备

5月龄健康新西兰白兔,体重2.5—3.0kg,雌雄不拘(河北医科大学第二医院动物实验中心),适应性饲养1周后开始实验。自耳缘静脉注射15mg/kg氯胺酮麻醉动物,仰卧固定,保留自主呼吸。在无菌操作下右侧星状神经节旁置入并固定一硬膜外导管,使其一端开口于其附近,另一端从颈部背后穿出(备给药用)。动物完全苏醒后自导管注入0.25%丁哌卡因0.5ml,观察双侧眼征等变化,若阻滞侧出现霍纳综合征,即上睑下垂、眼裂缩小、瞳孔缩小、耳廓充血等则证明SGB成功、有效。术后3d抗生素预防感染,观察1周;观察期间若出现导管堵塞或脱落、伤口感染、发热或其他疾病者则弃之不用。

1.2 实验分组

选择经以上处理恢复健康的家兔32只,随机分为4组(n=8):假手术组(Sham组)、空白对照组(I/R组)、生理盐水对照组(NS组)和SGB组。

CIR模型的建立:参照文献4建立家兔CIR模型。①SGB组:耳缘静脉注射3%戊巴比妥钠30mg/kg麻醉动物,行气管插管(小儿气管导管,ID=3.0—3.5),并保留自主呼吸。经颈正中切口分离双侧颈总动脉及右侧颈外动脉,由右侧颈外动脉至颈内颈外动脉分叉处用套管针穿刺接含肝素的短细连接管(备抽血用),用无损伤小动脉夹夹闭双侧颈总动脉的同时从右颈外动脉抽血即为脑缺血开始,抽血速度以颈总动脉瘪陷又能抽出血液为准,约为2.5—4ml/min,同时将抽出的血液从耳缘静脉回输。持续抽血(全脑缺血)20min时,结扎右颈外动脉,去除小动脉夹即为再灌注开始,此时即从兔颈部导管中注入0.5%丁哌卡因0.5ml行SGB,并用微量泵输注0.25%丁哌卡因0.5ml/h至再灌注12h时;缝合切口。②NS组:从导管中只输注生理盐水0.5ml,持续量0.25ml/h,其余处理同SGB组。③I/R组:不用任何药物,其余处理同SGB组。④Sham组:不夹闭颈总动脉,不抽血,导管中不用任何药物,其余处理同SGB组。

1.3 检测指标及方法

各组于再灌注12h或相应时间点冰面上快速断头取右大脑额叶约200mg(SGB组取左右侧对称部位脑组织),立即加入冷生理盐水中,在微型匀浆器中研磨制成10%的脑组织匀浆,4℃ 4000r/min离心

15min,取上清液-20℃以下存放待测。另取相同部位大脑皮质测定其组织含水量。检测脑组织SOD活性、MDA含量以及大脑皮质含水率;用黄嘌呤氧化酶法测定脑组织匀浆SOD的活性,用硫代巴比妥酸法(TPA法)测定MDA含量,脑组织蛋白含量用考马斯亮蓝法测定,具体操作按说明书进行(试剂盒由南京建成生物工程有限公司提供);按Elliott公式[(湿重-干重)/湿重×100%]计算大脑皮质含水率。另各组按编排法取一只家兔额叶脑组织,做HE染色病理学检查,并送河北医科大学电镜实验中心电镜观察脑神经元细胞超微结构变化。

1.4 统计学分析

采用SAS 6.12统计软件进行统计分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析及 q 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

脑组织SOD活性、MDA含量及大脑皮质含水率的变化:与Sham组比较,I/R组、NS组脑组织SOD活性均明显降低($P < 0.01$),MDA含量显著增加($P < 0.01$),大脑皮质含水率增加($P < 0.01$);与I/R组、NS组比较,SGB组SOD活性显著升高($P < 0.01$),MDA含量明显降低($P < 0.01$),大脑皮质含水率均下降($P < 0.05$),而SGB组左右侧脑组织SOD活性、MDA含量及含水率之间比较差异均无显著性意义($P > 0.05$)。见表1。

表1 四组家兔脑组织SOD活性、MDA含量以及含水率变化的比较 (n=8, $\bar{x} \pm s$)

组别	SOD(U/mg prot)	MDA(nmol/mg prot)	含水率(%)
Sham组	610.1±92.5	0.54±0.13	76.2±2.4
I/R组	451.3±58.1 ^①	1.15±0.27 ^①	81.5±1.3 ^③
NS组	434.5±43.6 ^①	1.20±0.49 ^①	82.0±2.2 ^③
SGB组(右侧)	570.6±86.0 ^②	0.74±0.26 ^②	77.6±0.5
SGB组(左侧)	567.2±86.8 ^②	0.65±0.19 ^②	78.1±1.0

①与Sham组比较 $P < 0.01$, ②与I/R组、NS组比较 $P < 0.01$, ③与Sham组、SGB组比较 $P < 0.05$

病理学变化(HE染色):Sham组脑神经细胞基本正常,神经元细胞核形态正常,呈三角形或椭圆形(图1,见前置彩色插页10);I/R、NS组脑神经细胞水肿非常明显,神经元排列紊乱,细胞核固缩变形,形态不规则,变性神经元较多,有细胞坏死征,血管周围间隙增宽(图2—3,见前置彩色插页10);SGB组双侧脑神经细胞水肿均明显减轻,形态基本接近正常,未见细胞坏死征(图4—5,见前置彩色插页10)。

细胞超微结构变化:Sham组脑神经细胞基本正常(图6,见前置彩色插页10);I/R组及NS组脑神

神经元细胞超微结构均发生中重度异常改变: 细胞质高度水肿, 线粒体明显肿胀, 空泡样变, 内质网显著扩张, 粗面内质网脱颗粒现象严重(图 7—8, 见前置彩色插页 10); SGB 组脑神经元细胞受损程度明显减轻, 细胞质基本无水肿, 线粒体轻度肿胀, 内质网轻微扩张(图 9—10, 见前置彩色插页 10)。

3 讨论

本实验参照文献 4 建立 CIR 模型, 即阻断双侧颈总动脉的同时从右颈外动脉抽血, 并将抽出的血从静脉回输。一方面, 血液的回输有利于保持全身循环的稳定, 避免了因血流动力学的剧烈变化而造成对实验的影响; 另一方面, 该模型只阻断了 Willis 环上大脑前、中、后动脉的血供, 而保留基底动脉和部分椎动脉分支对脑桥、脑干、延髓的血供, 从而大大减少了因呼吸和循环的改变而带来的实验干扰。本实验动物能保留较好的自主呼吸, 也说明了这一点。

研究表明, CIRI 可引起缺血区及其周围脑细胞坏死和凋亡, 其发生机制复杂, 现已证实氧自由基损伤是 CIRI 的作用机制之一^[1]。正常生理状况下, 机体内自由基的生成与消除处于动态平衡; 缺血缺氧后, 主要在再灌注期氧自由基显著增加, 内源性自由基清除剂如 SOD、GSH-Px 等减少, 大量生成的自由基可使膜脂质发生脂质过氧化反应, 产生大量的脂质过氧化产物如丙二醛等, 一方面, 氧自由基可直接破坏神经细胞、胶质细胞的膜磷脂结构, 对蛋白质、DNA 也有损伤作用^[5], 损伤脑血管内皮细胞, 导致血脑屏障的破坏; 另一方面, MDA 可与蛋白质交联, 使膜泵受损, 膜通透性增加, 使 Ca^{2+} 进入细胞内增加, 形成 Ca^{2+} 超载^[6], 造成脑水肿和神经细胞损伤。

本研究结果表明, 与 Sham 组相比, I/R 组及 NS 组家兔脑组织 SOD 活性明显降低, 而 MDA 含量显著增高, 这与再灌注损伤有关理论一致。史路等^[7]发现单独使用 SGB 也可抑制脑梗死患者的自由基反应和自由基清除酶的消耗, 提示 SGB 在脑梗死治疗中具有抗自由基损伤的作用。本研究中 SGB 组家兔在再灌注期均存在霍纳氏综合征, 而 NS 组无一例出现, 其脑组织 SOD 活性、MDA 含量及含水率与 I/R 组的变化一致, 而在 SGB 组发现 SGB 可以明显地减轻脑水肿, 提高脑组织中自由基清除剂 SOD 的活性, 抑制脂质过氧化反应, 具有明显的抗氧自由基损伤作用。病理检查结果也显示 SGB 组脑神经元细胞受损程度明显减轻, 说明 SGB 具有一定的脑神经保护作用; 此外, 本研究发现单侧 SGB 对于双侧脑组织 SOD 活性和 MDA 含量及含水率的影响差异无显

著性意义, 提示 SGB 抗氧自由基损伤作用具有单侧星状神经节阻滞的双侧效应。SGB 在 CIR 期间的抗自由基损伤的作用可能涉及以下机制: ①SGB 可使脑血管扩张, 血流速度加快, 由于血流增加, 血管切应力也相应增加, 切应力可以调节 SOD-mRNA 的表达, 加强对氧自由基的清除^[8]; ②再灌注后, 脑缺血时产生的有害物质, 如兴奋性氨基酸或有害代谢产物(包括脂质过氧化产物)排出的速度加快, 细胞内 Ca^{2+} 超载程度减轻; ③SGB 阻断其所支配的脑内交感神经, 使局部脑血管儿茶酚胺类物质释放减少^[9], 儿茶酚胺类物质所介导的自由基的毒性作用减弱。如缺血后大量释放的 DA 可自动氧化产生 H_2O_2 , 是缺血后自由基产生的来源之一^[10]; ④SGB 具有一定抗炎作用, 减轻中性粒细胞激活后释放氧自由基^[11]。

此外, 观察期间发现 SGB 组家兔恢复比对照组快, 主要表现为: 意识恢复较快, 恢复肢体站立尤其是前肢站立的时间提前, 饮水与进食时间也提前。这些改变也反映了 SGB 可有效地保护缺血的脑神经细胞, 能够改善预后。

参考文献

- [1] White BC, Sullivan JM, deGracia DJ, et al. Brain ischemia and reperfusion: molecular mechanisms of neuronal injury[J]. J Neurol Sci, 2001, 179(1-2):1-3.
- [2] Hu X, Wester P, Brannstrom T, et al. Progressive and reproducible focal cortical ischemia with or without late spontaneous reperfusion generated by a ring-shaped, laser-driven photothrombotic lesion in rats [J]. Brain Res Brain Res Protol, 2001, 7(1):76-85.
- [3] 全守波, 王清秀, 刘菊英, 等. 星状神经节阻滞对全脑缺血再灌注损伤家兔血清白介素 6 含量的影响[J]. 贵阳医学院学报, 2003, 22(6):321-323.
- [4] 花放, 丁晓惠, 刘文瑞, 等. 颈动脉负压分流法制作大鼠全脑缺血再灌注模型[J]. 中国实验动物学报, 2001, 9(1):33.
- [5] Liu PK, Hsu CY, Dizdaroğlu M, et al. Damage, repair, and mutagenesis in nuclear genes after mouse forebrain ischemia-reperfusion[J]. J Neurosci, 1996, 16(21):6795-6806.
- [6] Salhna E, Parlakpinar H, Turkoz Y, et al. Protective effects of melatonin on myocardial ischemia/reperfusion induced infarct size and oxidative changes[J]. Physiol Res, 2005, 54(5):491-495.
- [7] 史路, 裴劼, 张朝民, 等. 星状神经节阻滞伍用 ILIB 疗法对脑血栓病人血浆 SOD、CAT、GPx、LPO 指标变化的研究[J]. 中国老年学杂志, 2000, 3(2):74-76.
- [8] Inoue N, Ramadamy S, Fukai T, et al. Shear stress modulates expression of Cu/Zn superoxide dismutase in human aortic endothelial cells[J]. Circ Res, 1996, 79(1):32-36.
- [9] Nitahara K, Dan K. Blood flow velocity changes in carotid and vertebral arteries with stellate ganglion block: measurement by magnetic resonance imaging using a direct bolus tracking method[J]. Reg Anesth Pain Med, 1998, 23(6):600-604.
- [10] Hou XY, Zhang GY. Mechanisms underlying dopaminergic neurotoxicity in ischemic cerebral damage[J]. Sheng Li Ke Xue Jin Zhan, 1999, 30(4):315-320.
- [11] Matsuo Y, Kihara T, Ikeda M, et al. Role of neutrophils in radical production during ischemia and reperfusion of the rat brain: effect of neutrophil depletion on extracellular ascorbyl radical formation [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 1995, 15(6):941-947.