

七氟烷后处理对大鼠脑缺血再灌注损伤保护作用的研究

毛艺锟 王士雷 吴秀云 赵芹 李瑜

(青岛大学附属医院麻醉科, 山东 青岛 266555)

[摘要] 目的 探讨七氟烷后处理对大鼠脑缺血再灌注(I/R)损伤的保护作用及其机制。方法 选择 SPF 级成年健康雄性 SD 大鼠 80 只,随机分为假手术组(S组)、脑缺血再灌注组(I/R组)、脑 I/R+七氟烷后处理组(ISP组)、脑 I/R+七氟烷后处理+核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)抑制剂组(ISPB组),每组 20 只。除 S 组外,其余组大鼠均用线栓法闭塞大脑中动脉 2 h 并再灌注 24 h 的方法制备脑 I/R 损伤大鼠模型(S组大鼠只在大脑中动脉下穿线不结扎)。ISP 组大鼠于再灌注即刻吸入 3%七氟烷 30 min,ISPB 组在缺血前 30 min 腹腔注射 Nrf2 抑制剂鸦胆子苦醇(2 mg/kg),其余处理同 ISP 组。建模成功后通过神经功能评分评估各组大鼠神经功能损害程度。随后获取大鼠左心室血及脑组织病理切片,以 2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)染色测定各组大鼠脑梗死体积百分比,采用酶联免疫吸附试验检测大鼠血清中炎症因子白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和氧化应激相关因子丙二醛(MDA)及超氧化物歧化酶(SOD)水平,采用免疫印迹实验检测大鼠脑组织中凋亡相关蛋白 B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2 相关蛋白(Bax)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)及 Nrf2 信号通路相关蛋白 Nrf2 和血红素加氧酶 1(HO-1)表达,采用免疫荧光实验检测大鼠脑组织细胞核内外 Nrf2 表达。**结果** 与 I/R 组相比,ISP 组大鼠神经功能缺损评分、脑梗死体积百分比,以及血清 IL-1 β 、TNF- α 、MDA 水平和脑组织总蛋白 Bax、Caspase-3 水平均下降($t=5.76\sim 18.39, P<0.05$);血清中 SOD 水平及脑组织总蛋白 Nrf2、HO-1、Bcl-2 水平均升高($t=5.73\sim 14.08, P<0.05$),Nrf2 免疫荧光强度增强。与 ISP 组相比,ISPB 组神经功能缺损评分、脑梗死体积百分比,以及血清中 IL-1 β 、TNF- α 、MDA 水平和脑组织总蛋白 Bax、Caspase-3 水平均升高($t=3.06\sim 8.19, P<0.05$);血清中 SOD 水平和脑组织总蛋白 Nrf2、HO-1、Bcl-2 水平均下降($t=2.67\sim 9.01, P<0.05$),Nrf2 免疫荧光强度减弱。**结论** 七氟烷后处理可以通过激活 Nrf2 信号通路抑制氧化应激、炎症反应和细胞凋亡,减轻大鼠脑 I/R 损伤。

[关键词] 七氟烷;缺血后处理;脑缺血;再灌注损伤;NF-E2 相关因子 2;信号传导;大鼠, *Sprague-Dawley*

[中图分类号] R619.9;R743.31

[文献标志码] A

Protective effect of sevoflurane postconditioning against cerebral ischemia/reperfusion injury in rats

MAO Yikun, WANG Shilei, WU Xiuyun, ZHAO Qin, LI Yu (Department of Anesthesiology, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266555, China)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the protective effect of sevoflurane postconditioning against cerebral ischemia/reperfusion (I/R) injury in rats and its mechanism of action. **Methods** A total of 80 specific pathogen-free healthy adult male *Sprague-Dawley* rats were selected and randomly divided into sham-operation group (S group), cerebral I/R group (I/R group), cerebral I/R+sevoflurane postconditioning group (ISP group), and cerebral I/R+sevoflurane postconditioning+nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) inhibitor group (ISPB group), with 20 rats in each group. All rats except those in the S group were used to establish a rat model of cerebral I/R injury using the suture method for occlusion of the middle cerebral artery for 2 h, followed by reperfusion for 24 h, and for the rats in the S group, threading was performed below the middle cerebral artery without ligation. The rats in the ISP group were given inhalation of 3% sevoflurane immediately after reperfusion for 30 min, and those in the ISPB group were given intraperitoneal injection of the Nrf2 inhibitor brusatol (2 mg/kg) at 30 min before ischemia in addition to the treatment in the ISP group. After successful modeling, neurological deficit score was used to evaluate the degree of neurological impairment. Left ventricular blood samples and pathological sections of brain tissue were obtained, and 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride staining was used to determine the percentage of cerebral infarct volume; enzyme-linked immunosorbent assay was used to measure the serum levels of inflammatory factors (interleukin-1 β [IL-1 β] and tumor necrosis factor- α [TNF- α]) and oxidative stress-related factors (malondialdehyde [MDA] and superoxide dismutase [SOD]); Western blotting was used to measure the expression of apoptosis-related proteins (B-cell lymphoma-2 [Bcl-2], Bcl-2 related x [Bax], and Caspase-3) and Nrf2 signaling pathway-related proteins (Nrf2 and heme oxygenase-1 [HO-1]) in brain tissue; immunofluorescence assay was used to measure the expression of Nrf2 inside and outside the nucleus of brain tissue cells. **Results** Compared with the I/R group, the

ISP group had significant reductions in neurological deficit score, the percentage of cerebral infarct volume, the serum levels of IL-1 β , TNF- α , and MDA, and the levels of Bax and Caspase-3 in brain tis-

[收稿日期] 2024-01-27; **[修订日期]** 2024-02-28

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81771415)

[通讯作者] 李瑜, Email: qyfyly@163.com

sue ($t=5.76-18.39, P<0.05$) and significant increases in the serum level of SOD and the levels of Nrf2, HO-1, and Bcl-2 in brain tissue ($t=5.73-14.08, P<0.05$), as well as a significant increase in Nrf2 immunofluorescence intensity. Compared with the ISP group, the ISPB group had significant increases in neurological deficit score, the percentage of cerebral infarct volume, the serum levels of IL-1 β , TNF- α , and MDA, and the levels of Bax and Caspase-3 in brain tissue ($t=3.06-8.19, P<0.05$) and significant reductions in the serum level of SOD and the levels of Nrf2, HO-1, and Bcl-2 in brain tissue ($t=2.67-9.01, P<0.05$), as well as a reduction in Nrf2 immunofluorescence intensity. **Conclusion** Sevoflurane postconditioning can inhibit oxidative stress, inflammatory response, and cell apoptosis by activating the Nrf2 signaling pathway, thereby alleviating cerebral I/R injury in rats.

[KEY WORDS] Sevoflurane; Ischemic postconditioning; Brain ischemia; Reperfusion injury; NF-E2-related factor 2; Signal transduction; Rats, *Sprague-Dawley*

脑缺血再灌注(I/R)损伤大多发生在大脑主要动脉闭塞的情况下,缺血后血管再通往往会给机体造成更大损害。大量实验均采用大脑中动脉闭塞(MCAO)模型来研究脑 I/R 的机制^[1]。当前,缺血性脑卒中在临床中的发生率和致残率仍较高,其病理损伤所涉及的分子机制复杂多样,例如炎症反应、细胞自噬、线粒体自噬、氧化应激、内质网应激、钙超载、血脑屏障破坏等^[2-3],因此临床上目前缺少针对脑 I/R 损伤的有效治疗方案。

核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)是碱性亮氨酸拉链蛋白家族的成员之一,也是维持组织和细胞动态平衡的重要防御因子。有研究表明在脑 I/R 损伤等中枢神经系统急性损伤的病理过程中,Nrf2 发挥了重要的神经保护作用,其中包括抑制氧化应激反应,减轻炎症反应,抑制细胞凋亡等^[4]。既往有研究证实,脑组织中 Nrf2 的上调可一定程度改善缺血后脑神经损伤^[5]。七氟烷作为吸入麻醉剂,因其起效快、诱导平稳等优点,在临床得到广泛应用。许多研究表明 I/R 开始时对缺血组织进行七氟烷处理(即七氟烷后处理)具有抑制活性氧的过度释放、抑制氧化应激平衡失调、减轻炎症反应、防止细胞内钙超载、减少神经元凋亡和稳定神经细胞膜等神经保护作用^[6-7],但七氟烷保护作用的具体机制尚未完全清楚。本研究拟通过建立大鼠 MCAO 模型,探讨七氟烷对大鼠脑 I/R 损伤的保护作用及其机制。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

SPF 级成年健康雄性 SD 大鼠 80 只(体质量 230~250 g)购自济南朋悦实验动物繁育有限公司,鸦胆子苦醇购自北京索莱宝科技有限公司,2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)染色液购自上海源叶生物科技有限公司,血清超氧化物歧化酶(SOD)及丙二醛(MDA)ELISA 试剂盒购江苏苏酶科生物科技有限公司,肿瘤坏死因子- α (TNF- α)及白细胞介素-1 β (IL-1 β)的 ELISA 试剂盒购自武汉爱博泰克生物

科技有限公司,B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)购自英国 Abcam 公司,Nrf2 及 Bcl-2 相关蛋白(Bax)购自武汉三鹰生物技术有限公司,半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)购买自北京博奥森生物技术有限公司, β -actin 购自武汉伊莱瑞特生物科技有限公司。

1.2 分组与处理

将大鼠饲养在 SPF 动物房中,12 h/12 h 昼夜环境,温度控制在(22 \pm 2) $^{\circ}$ C,可以自由获取水和食物。按简单随机分组将大鼠分为假手术组(S 组)、脑 I/R 组(I/R 组)、脑 I/R+七氟烷后处理组(ISP 组)、脑 I/R+七氟烷后处理+Nrf2 抑制剂组(ISPB 组),每组 20 只。

将各组大鼠禁食 12 h,麻醉后仰卧位固定,常规暴露并分离大鼠的右侧颈总动脉、颈外动脉和颈内动脉。动脉夹夹闭颈外动脉,结扎颈总动脉和颈内动脉,间隔为 1 cm 左右。I/R、ISP 及 ISPB 组大鼠于两结扎点中间动脉段上剪一小口,将备好的线栓插入至大脑中动脉起始处,线栓插入深度为 17~18 mm,S 组大鼠结扎中间不做处理,结扎消毒后缝合各组大鼠组织皮肤。MCAO 2 h 后将线栓拔出,使头端退到颈总动脉,即可恢复血流再灌注,大鼠出现偏瘫症状视为造模成功。ISP 组大鼠再灌注开始时暴露于 3%七氟烷 30 min,ISPB 组大鼠 MCAO 前 30 min 腹腔注射 Nrf2 信号通路抑制剂鸦胆子苦醇(溶于 1 mL 生理盐水中)2 mg/kg,再灌注开始时暴露于 3%七氟烷 30 min。

1.3 神经功能缺损评分

再灌注 24 h 后,每组中随机选取 4 只大鼠,参照 Zea-longa 评分标准^[8]评估神经功能缺损情况。

1.4 脑梗死体积百分比测定

再灌注 24 h 后麻醉各组大鼠,左心室采血(每只 3~5 mL),置于离心机中以 3 500 r/min 离心 15 min,取上清液保存备用;随后使用 PBS 对大鼠进行心脏灌注,待大鼠肺和口唇黏膜等由红润变为苍白,心脏和肝脏等由深红变为浅红时结束灌注,冰上断头取脑备用。每组随机选取 3 只大鼠的脑组

组织,置于-20℃冰箱冷冻 30 min 后,由前向后间隔 2 mm 进行冠状切片,共切 5 片。将切片置于 2% TTC 染色液中,37℃下避光孵育 30 min,切片变色后将其置于 4%多聚甲醛中固定并拍照。用 Image J 软件计算每层的梗死体积,并计算脑梗死体积百分比。脑梗死体积百分比(%)=梗塞体积/(梗塞体积+非梗塞体积)×100%。

1.5 酶联免疫吸附试验检测大鼠血清中氧化应激相关因子 SOD、MDA 以及炎症因子 TNF-α、IL-1β 水平

每组随机采集 4 只大鼠的血清,按照 ELISA 试剂盒按照说明书要求测定各组大鼠血清中 SOD、MDA、TNF-α 及 IL-1β 水平。

1.6 免疫印迹法检测脑组织中 Nrf2、HO-1、Bcl-2、Bax、Caspase-3 表达

每组随机选取 4 只大鼠脑组织,切片后选取梗死部位,加入含蛋白酶抑制剂的组织裂解液将脑组织裂解,并提取脑梗死区域总蛋白。使用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度,上样 30 μg 蛋白,80 V 下于凝胶中电泳 30 min,待蛋白到达分离胶后,调整为 120 V 下于凝胶中电泳 60 min;通过湿转法按 290 mA、120 min 将蛋白转至 PVDF 膜,用含体积分数 0.05 脱脂奶粉的 TBST 缓冲液于室温封闭 2 h,洗膜后分别加入 Nrf2(1:5 000)、Bax(1:15 000)、Bcl-2(1:2 000)及 Caspase-3(1:1 000)一抗,4℃下孵育过夜;次日加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔多克隆抗体(1:5 000)或者抗鼠多克隆抗体(1:5 000)室温孵育 1.5 h,条带上滴加 ECL 化学发光液置于凝胶成像仪显影。用 Image J 软件测定蛋白条带灰度值,以目的蛋白条带灰度值和内参 β-actin(1:1 000)条带灰度值比值代表各目的蛋白的相对表达水平。

1.7 免疫荧光实验检测脑组织中 Nrf2 表达

每组随机选取 4 只大鼠脑组织,在冠状平面由前向后以 4 μm 厚切片,石蜡包埋并脱水,用 EDTA 抗原修复缓冲液将脱水后的组织切片进行抗原修复;再用体积分数 0.10 的驴血清封闭 30 min,甩干封闭液后加入 Nrf2 一抗(1:500),4℃下孵育过夜;洗涤之后再加入 Cy3 标记山羊抗兔二抗(1:300),避光室温孵育 1 h;再加入 DAPI 染液,避光室温下孵育 10 min,甩干后封片,将切片置于荧光显微镜下观察并采集图像。

1.8 统计学方法

采用 GraphPad Prism 8.0 软件对数据进行统

计学分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 Tukey 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 四组大鼠神经功能缺损评分和脑梗死体积百分比比较

S 组、I/R 组、ISP 组及 ISPB 组大鼠的神经功能缺损评分分别为 0、(3.70±0.61)、(1.10±0.10)、(2.43±0.49)分,以上四组脑梗死体积百分比分别为 0、(33.44±2.55)%、(12.50±0.88)%和(24.47±2.67)%。I/R 组大鼠神经功能缺损评分及脑梗死体积百分比均显著高于 S 组及 ISP 组($F = 49.67$ 、 176.20 , $t = 7.31 \sim 22.74$, $P < 0.05$),ISP 组神经功能缺损评分以及脑梗死体积百分比显著低于 ISPB 组($t = 4.59$ 、 7.37 , $P < 0.05$)。见图 1。

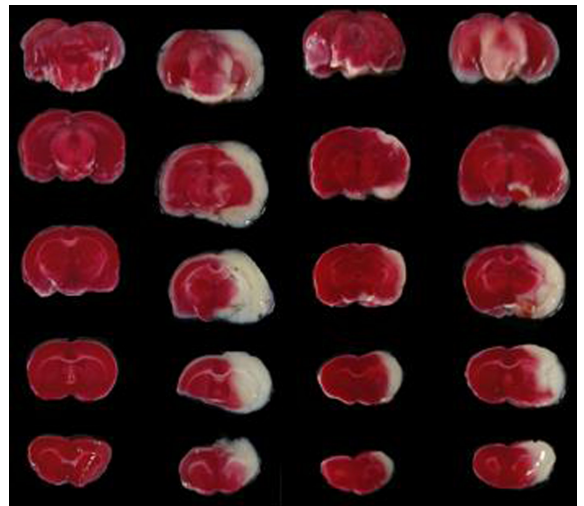


图 1 四组大鼠脑梗死区域染色结果

2.2 四组大鼠血清中 IL-1β、TNF-α、MDA、SOD 水平比较

I/R 组大鼠血清中 IL-1β、TNF-α 和 MDA 水平显著高于 S、ISP 组($F = 60.58 \sim 126.70$, $t = 6.16 \sim 28.74$, $P < 0.05$),SOD 水平显著低于 S、ISP 组($F = 208.00$, $t = 14.08$ 、 21.90 , $P < 0.05$);ISP 组 IL-1β、TNF-α 和 MDA 水平显著低于 ISPB 组($t = 3.06 \sim 8.19$, $P < 0.05$),SOD 水平则显著高于 ISPB 组($t = 7.79$, $P < 0.05$)。见表 1。

2.3 四组大鼠脑组织中 Bax、Bcl-2、Caspase-3、Nrf2、HO-1 蛋白水平比较

I/R 组大鼠脑组织中 Bax、Caspase-3 蛋白的水平显著高于 S、ISP 组($F = 26.05$ 、 31.95 , $t = 5.44 \sim 12.19$, $P < 0.05$),Bcl-2、Nrf2、HO-1 蛋白水平低于

S 组、ISP 组 ($F = 23.55 \sim 65.14, t = 5.73 \sim 11.43, P < 0.05$); ISP 组 Bax、Caspase-3 蛋白水平显著低于 ISPB 组 ($t = 3.06, 3.41, P < 0.05$), Bcl-2、Nrf2、HO-1 蛋白水平显著高于 ISPB 组 ($t = 2.67 \sim 9.01, P < 0.05$)。见表 2、图 2。

表 1 四组大鼠血清中 IL-1 β 、TNF- α 、MDA、SOD 水平比较 ($n = 4, \bar{x} \pm s$)

组别	IL-1 β ($\rho/\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)	TNF- α ($\rho/\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)	MDA ($c/\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	SOD ($z/\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)
S 组	127.20 \pm 2.90	182.40 \pm 1.50	8.10 \pm 0.33	88.15 \pm 0.50
I/R 组	181.30 \pm 1.50	207.10 \pm 2.02	10.27 \pm 0.05	80.72 \pm 0.31
ISP 组	146.40 \pm 9.72	191.20 \pm 1.05	9.01 \pm 0.11	84.55 \pm 0.35
ISPB 组	165.70 \pm 2.05	202.00 \pm 2.02	9.48 \pm 0.02	82.27 \pm 0.36

表 2 四组大鼠脑组织中 Bax、Bcl-2、Caspase-3、Nrf2 以及 HO-1 蛋白水平比较 ($n = 4, \bar{x} \pm s$)

组别	Bax	Bcl-2	Caspase-3	Nrf2	HO-1
S 组	0.53 \pm 0.06	1.20 \pm 0.05	0.66 \pm 0.03	0.89 \pm 0.06	1.18 \pm 0.07
I/R 组	1.00 \pm 0.08	0.76 \pm 0.05	1.15 \pm 0.06	0.48 \pm 0.04	0.68 \pm 0.05
ISP 组	0.66 \pm 0.07	1.05 \pm 0.05	0.82 \pm 0.08	0.77 \pm 0.03	1.04 \pm 0.10
ISPB 组	0.86 \pm 0.08	0.90 \pm 0.03	1.02 \pm 0.08	0.59 \pm 0.01	0.84 \pm 0.09

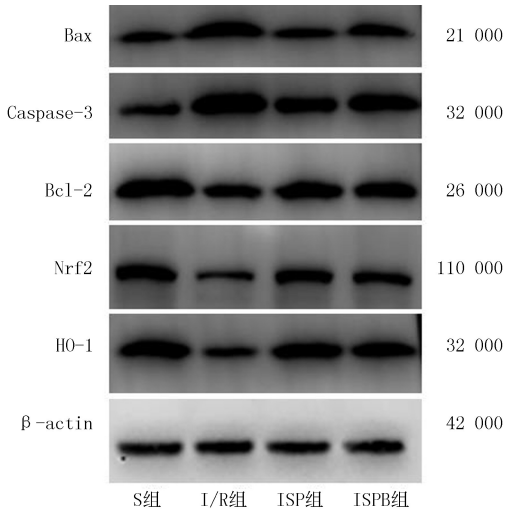


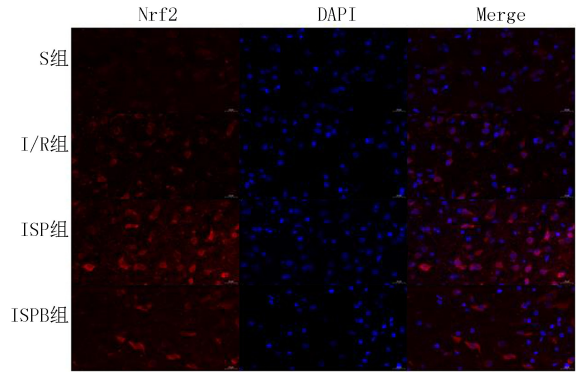
图 2 四组大鼠脑组织中 Bax、Caspase-3、Bcl-2、Nrf2、HO-1 蛋白表达水平

2.4 四组大鼠脑组织中 Nrf2 表达的比较

免疫荧光实验检测结果显示,ISP 组大鼠脑组织中 Nrf2 免疫荧光强度高于 S、ISP 及 ISPB 组。见图 3。

3 讨 论

脑 I/R 损伤会造成机体一系列应激反应,如氧化应激平衡失调、炎症反应发生、细胞出现凋亡和自噬等。既往研究表明,I/R 模型造模前 30 min 腹腔注射 Nrf2 抑制剂鸦胆子苦醇会减少脑组织中 Nrf2



蓝色表示细胞核,红色表示 Nrf2,50 倍

图 3 四组大鼠脑组织中 Nrf2 免疫荧光染色结果

的表达^[9],本课题组前期的预实验也得出了同样结论,因此本研究参考以上结论设置了 ISPB 组。本研究结果显示,与 ISP 组相比,ISPB 组大鼠的神经功能缺损评分增加,脑梗死体积百分比增加,血清中 MDA、IL-1 β 以及 TNF- α 水平均升高,SOD 水平降低,脑组织总蛋白 Bax、Caspase-3 水平升高,Bcl-2、Nrf2 和 HO-1 水平降低,脑组织 Nrf2 免疫荧光强度下降,提示七氟烷后处理可以通过激活 Nrf2 信号通路,从而抑制氧化应激、炎症反应和细胞凋亡,减轻大鼠脑 I/R 损伤。

正常情况下,机体内活性氧(ROS)的生成与细胞抗氧化机制相平衡。当暴露于有害刺激时,ROS 会大量生成而打破平衡,导致氧化应激平衡失调。氧化应激通过多种不同途径参与脑缺血损伤,破坏细胞结构,损害细胞正常功能,进而导致细胞坏死和凋亡。抗氧化系统的激活是机体对各类氧化损伤的反应机制,以减少氧化应激带来的损害。SOD 和谷胱甘肽等通过维持细胞和组织的氧化还原平衡发挥抗氧化作用^[10]。SOD 和 MDA 是衡量氧化应激反应的两个重要的指标,SOD 能够清除体内的氧自由基,MDA 则是衡量膜脂过氧化程度的常用指标之一^[8]。ROS 能够导致细胞膜脂质的过氧化,生成 MDA,进而加重血脑屏障等结构的损伤^[11]。脑 I/R 损伤可以引起炎症级联反应,包括氧化应激、免疫细胞浸润和炎症因子产生等。被激活的免疫细胞中促炎 M1 表型小胶质细胞能够释放 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等炎症因子,加剧脑损伤^[12-13]。作为碱性亮氨酸家族成员之一,Nrf2 可结合抗氧化反应元件激活转录因子(如 HO-1 等),募集炎症细胞促进抗炎过程,Nrf2 的上调能够抑制 TNF- α 和 IL-1 β 等炎症因子的过度产生,并遏制慢性炎症性疾病进程。Nrf2 也参与细胞及组织氧化还原平衡的调节过程,Nrf2 能够激活多种抗氧化蛋白的表达,减少 ROS 导致的

细胞损伤^[14]。有研究表明,脑 I/R 损伤后,Nrf2 被激活,一系列抗氧化基因开始转录,HO-1 等表达增加^[15]。HO-1 可催化氧化性血红素分解代谢的关键步骤^[16],增强脑组织对缺血导致氧化损伤的耐受程度^[17]。既往研究表明,Nrf2 和 HO-1 的表达能够抑制细胞炎症反应,在脑 I/R 过程中发挥神经保护作用^[18]。本研究中,与 I/R 组相比,ISP 组大鼠血清中 MDA 水平下降,SOD 水平上升,血清中 IL-1 β 和 TNF- α 水平下降,脑组织总蛋白 Nrf2 和 HO-1 水平上升,脑组织 Nrf2 免疫荧光强度增强,表明在脑 I/R 损伤过程中,七氟烷后处理激活了大鼠 Nrf2 信号通路,减弱了 I/R 导致的炎症反应,并在一定程度上抑制了氧化应激反应。

I/R 过程可通过细胞凋亡导致细胞死亡,而细胞凋亡则导致缺血组织产生大量炎症反应^[19]。细胞凋亡分为内源性和外源性两种途径,其中外源性途径是指在病理条件下,细胞膜表面被激活的死亡配体与受体结合诱发的一系列级联反应。脑 I/R 损伤引起的炎症反应和氧化应激能够激活巨噬细胞,巨噬细胞分泌 TNF- α ,其与细胞表面 Toll 样受体结合后,激活 Caspase-8,Caspase-8 进一步激活 Caspase-3,引发外源性细胞凋亡^[20]。细胞内部的多种因素如 DNA 损伤、存活因子缺少或内质网应激等均可引起内源性凋亡,促凋亡蛋白 Bax 和抗凋亡蛋白 Bcl-2 是内源性凋亡途径中的关键蛋白,其平衡在 I/R 诱导的细胞凋亡中起关键作用^[21]。Nrf2 信号通路可通过抑制细胞凋亡在 I/R 过程中起到脑保护作用,Nrf2 可诱导抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达并且抑制 Bax 易位至线粒体,从而降低细胞色素 c 的释放。另外,Nrf2 受体的依赖性激活能够通过抑制 Caspase-3 的激活而减少脑缺血造成的细胞凋亡。本研究结果显示,ISP 组较 I/R 组大鼠脑组织总蛋白 Bax、Caspase-3 水平下降,Bcl-2 水平上升,表明七氟烷后处理抑制了 I/R 诱导的神经细胞凋亡。

综上所述,七氟烷后处理可以通过激活 Nrf2 信号通路抑制氧化应激反应、炎症反应和细胞凋亡,减轻大鼠脑 I/R 损伤。

伦理批准和动物权利声明:本研究涉及的所有动物实验均已通过青岛大学附属医院实验动物福利伦理委员会的审核批准(文件号 AH-QU-MAL20220218)。所有实验过程均遵照《实验动物管理与使用指南》的条例进行。

作者声明:毛艺锶、王士雷、李瑜参与了研究设计;毛艺锶、王士雷、吴秀云、赵芹、李瑜参与了论文的写作和修改。所有作者均阅读并同意发表该论文,且均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] PARK Y H, PARK H P, KIM E, et al. The antioxidant effect of preischemic dexmedetomidine in a rat model: Increased expression of Nrf2/HO-1 via the PKC pathway[J]. *Braz J Anesthesiol*, 2023,73(2):177-185.
- [2] HITOMI E, SIMPKINS A N, LUBY M, et al. Blood-ocular barrier disruption in patients with acute stroke[J]. *Neurology*, 2018,90(11):e915-e923.
- [3] FAN Y Y, HU W W, NAN F, et al. Postconditioning-induced neuroprotection, mechanisms and applications in cerebral ischemia[J]. *Neurochem Int*, 2017,107:43-56.
- [4] YUAN Q H, YUAN Y, ZHENG Y, et al. Anti-cerebral ischemia reperfusion injury of polysaccharides: A review of the mechanisms[J]. *Biomed Pharmacother*, 2021,137:111303.
- [5] WANG L, ZHANG X, XIONG X, et al. Nrf2 regulates oxidative stress and its role in cerebral ischemic stroke[J]. *Antioxidants*, 2022,11(12):2377-2377.
- [6] WANG H L, LI P Y, XU N, et al. Paradigms and mechanisms of inhalational anesthetics mediated neuroprotection against cerebral ischemic stroke[J]. *Med Gas Res*, 2016,6(4):194-205.
- [7] YANG T, SUN Y, ZHANG F. Anti-oxidative aspect of inhaled anesthetic gases against acute brain injury[J]. *Med Gas Res*, 2016,6(4):223-226.
- [8] SINGH L, SINGH A P, BHATTI R. Mechanistic interplay of various mediators involved in mediating the neuroprotective effect of daphnetin[J]. *Pharmacol Rep*, 2021,73(5):1220-1229.
- [9] JIANG S, DENG C, LV J J, et al. Nrf2 weaves an elaborate network of neuroprotection against stroke[J]. *Mol Neurobiol*, 2017,54(2):1440-1455.
- [10] SHANG S J, SUN F Q, ZHU Y L, et al. Sevoflurane preconditioning improves neuroinflammation in cerebral ischemia/reperfusion induced rats through ROS-NLRP3 pathway[J]. *Neurosci Lett*, 2023,801:137164.
- [11] LI L, PENG L, ZHU J, et al. DJ-1 alleviates oxidative stress injury by activating the Nrf2 pathway in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 2021,41(5):679-686.
- [12] DING Y, CHEN M C, WANG M M, et al. Posttreatment with 11-keto- β -boswellic acid ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury: Nrf2/HO-1 pathway as a potential mechanism[J]. *Mol Neurobiol*, 2015,52(3):1430-1439.
- [13] SUN Y, YANG X, XU L J, et al. The role of Nrf2 in relieving cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *Curr Neuropharmacol*, 2023,21(6):1405-1420.
- [14] PARK H R, LEE H, LEE J J, et al. Protective effects of *spatholobi caulis* extract on neuronal damage and focal ischemic stroke/reperfusion injury[J]. *Mol Neurobiol*, 2018,55(6):4650-4666.

估,均无法作为金标准取代 CAG 法。本研究的局限性在于选取样本时未将冠脉不同分支的狭窄进行细化,也没有比较各种方法对不同分支狭窄程度的评估,后续应增大样本量,对上述变量进行比较。

伦理批准和知情同意:本研究涉及的所有试验均已通过青岛大学附属医院医学伦理委员会的审核批准(文件号 QYFYWZLL27620)。所有试验过程均遵照《人体医学研究的伦理准则》的条例进行。受试对象或其亲属已经签署知情同意书。

作者声明:张稟评、梁洋洋、徐凤磊、钟鑫、李志明参与了研究设计;张稟评、刘顺利、李志明参与了论文的写作和修改。所有作者均阅读并同意发表该论文,且均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

[1] ZHAO D, LIU J, WANG M, et al. Epidemiology of cardiovascular disease in China: Current features and implications [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2019,16(4):203-212.

[2] The Writing Committee of the Report on Cardiovascular Health Diseases in China. 《中国心血管健康与疾病报告 2022》要点解读[J]. *中国心血管杂志*, 2023,28(4):297-312.

[3] 陈静娜,李静静. 64 排螺旋 CT 冠状动脉成像在冠状动脉狭窄诊断中的价值分析[J]. *医学影像学杂志*, 2017,27(12):2414-2417.

[4] 申太忠,谢灵争,李宝,等. CTA 检查判断冠脉管腔狭窄程度受斑块性质影响的研究[J]. *中外医学研究*, 2022,20(7):71-74.

[5] 游德淑. 冠状动脉 CT 血管成像在冠状动脉功能性狭窄中的研究进展[J]. *实用放射学杂志*, 2023,39(2):321-324.

[6] 尹伟,王敏杰,徐瑞敏,等. 基于人工智能的辅助运动校正算法对 CCTA 图像质量的影响[J]. *放射学实践*, 2022,37(8):1035-1041.

[7] 史黎炜,邱英鹏,顾柏洋,等. 冠状动脉 CT 血管成像人工智能辅助诊断技术的成本分析[J]. *医学信息学杂志*, 2023,44(10):22-27.

[8] KANG D, DEY D, SLOMKA P J, et al. Structured learning algorithm for detection of nonobstructive and obstructive coronary plaque lesions from computed tomography angiography

[J]. *J Med Imaging*, 2015,2(1):014003.

[9] 门婷婷,龚瑞阳,刘娇,等. 基于人工智能的成像技术在冠心病诊断中的应用[J]. *中国实验诊断学*, 2023,27(8):999-1002.

[10] 唐春香,张龙江. 积极推进人工智能心血管 CT 成像的研发和应用[J]. *国际医学放射学杂志*, 2021,44(5):501-503.

[11] 杨阳,刁楠,黄增发,等. CAD-RADS 在冠心病诊断中的应用:人工智能与人工方法的对照研究[J]. *放射学实践*, 2022,37(4):413-418.

[12] 刘春雨,谢媛,苏晓芹,等. 基于人工智能的冠状动脉 CT 血管成像检测阻塞性冠状动脉狭窄效能的研究[J]. *国际医学放射学杂志*, 2021,44(5):516-522.

[13] 中国医师协会放射医师分会. 冠状动脉 CT 血管成像斑块分析和应用中国专家建议[J]. *中华放射学杂志*, 2022,56(6):595-607.

[14] 韩莎莎,程留慧,张卉,等. 人工智能冠状动脉 CT 血管成像在评估冠状动脉狭窄中的应用价值[J]. *临床放射学杂志*, 2024,43(3):456-460.

[15] LEIPSIC J, ABBARA S, ACHENBACH S, et al. SCCT guidelines for the interpretation and reporting of coronary CT angiography: A report of the Society of Cardiovascular Computed Tomography Guidelines Committee [J]. *J Cardiovasc Comput Tomogr*, 2014,8(5):342-358.

[16] 李晓燕,张国明,孙钢,等. 320 排动态容积 CT 与冠脉造影狭窄程度判断差异的因素探讨[J]. *中华医学杂志*, 2013,93(31):2496-2498.

[17] 中华放射学杂志心脏冠状动脉多排 CT 临床应用协作组. 心脏冠状动脉多排 CT 临床应用专家共识[J]. *中华放射学杂志*, 2011,45(1):9-17.

[18] LIU K, HSIEH C, ZHUANG N, et al. Current utilization of cardiac computed tomography in mainland China: A national survey[J]. *J Cardiovasc Comput Tomogr*, 2016,10(1):76-81.

[19] 张晓浩,刘军波,范丽娟. 人工智能技术应用于冠状动脉 CTA 图像后处理的可行性[J]. *放射学实践*, 2021,36(8):994-999.

[20] 周立娟,方向明. CCTA 技术对冠状动脉狭窄及其钙化斑块的评估[J]. *国际医学放射学杂志*, 2021,44(1):58-62.

(本文编辑 范睿心 厉建强)

(上接第 129 页)

[15] SINGH S, NAGALAKSHMI D, SHARMA K K, et al. Natural antioxidants for neuroinflammatory disorders and possible involvement of Nrf2 pathway: A review[J]. *Heliyon*, 2021,7(2):e06216.

[16] JURCAU A, SIMION A. Neuroinflammation in cerebral ischemia and ischemia/reperfusion injuries: From pathophysiology to therapeutic strategies[J]. *Int J Mol Sci*, 2021,23(1):14.

[17] LOU J, CAO G X, LI R R, et al. β -caryophyllene attenuates focal cerebral ischemia-reperfusion injury by Nrf2/HO-1 pathway in rats[J]. *Neurochem Res*, 2016,41(6):1291-1304.

[18] CHEN W W, TENG X, DING H M, et al. Nrf2 protects against cerebral ischemia-reperfusion injury by suppressing

programmed necrosis and inflammatory signaling pathways [J]. *Ann Transl Med*, 2022,10(6):285.

[19] LIU H, JING X B, DONG A Q, et al. Overexpression of TIMP3 protects against cardiac ischemia/reperfusion injury by inhibiting myocardial apoptosis through ROS/mapks pathway [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017,44(3):1011-1023.

[20] SAHA S, BUTTARI B, PANIERI E, et al. An overview of Nrf2 signaling pathway and its role in inflammation[J]. *Molecules*, 2020,25(22):5474.

[21] XU Q, CHEUNG R T F. Melatonin mitigates type 1 diabetes-aggravated cerebral ischemia-reperfusion injury through anti-inflammatory and anti-apoptotic effects [J]. *Brain Behav*, 2023,13(9):e3118.

(本文编辑 范睿心 厉建强)