

程亮亮,田毅,谭义文,等. 基于 MAPK 信号通路七氟醚分娩镇痛对新生鼠缺氧的改善作用研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(5): 53-58.

Cheng LL, Tian Y, Tan YW, et al. Effect of sevoflurane analgesia on the mitogen-activated protein kinase signaling pathway during hypoxia in neonatal rats [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(5): 53-58.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2021.05.009

## 基于 MAPK 信号通路七氟醚分娩镇痛对新生鼠缺氧的改善作用研究

程亮亮,田毅\*,谭义文,李美霞

(中南大学湘雅医学院附属海口医院麻醉与疼痛医学科,海口 570208)

**【摘要】目的** 探讨基于丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路七氟醚分娩镇痛对新生鼠缺氧的改善作用。**方法** 模型组、七氟醚组孕鼠建立分娩窒息模型,模型组给予50%体积分数的氧气,七氟醚组给予体积分数50%的氧气和2.5%七氟醚;自然分娩组自然分娩。评估新生子鼠学习记忆能力,检测血清超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)水平、脑组织海马CA1区尼氏小体数目及脑组织MAPK、B细胞淋巴瘤-2基因(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)、半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)mRNA和蛋白表达量。**结果** 与模型组比较,七氟醚组新生子鼠目标象限停留时间延长,穿越平台次数增多,血清SOD升高,MDA降低,海马CA1区尼氏小体数目增多,脑组织Bcl-2 mRNA和蛋白表达量及Bcl-2/Bax升高,MAPK、Bax、Caspase-3 mRNA和蛋白表达量降低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** 七氟醚分娩镇痛可有效改善新生鼠缺氧缺血脑损伤状况,可能通过抑制MAPK信号通路,进而抑制海马神经元损伤,发挥脑保护作用。

**【关键词】** 七氟醚;分娩镇痛;新生鼠;缺氧;丝裂原活化蛋白激酶

**【中图分类号】** R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2021)05-0053-06

## Effect of sevoflurane analgesia on the mitogen-activated protein kinase signaling pathway during hypoxia in neonatal rats

CHENG Liangliang, TIAN Yi\*, TAN Yiwen, LI Meixia

(Department of Anesthesiology and Pain Medicine, Affiliated Haikou Hospital of Xiangya School of Medicine, Central South University, Haikou 570208, China)

**【Abstract】 Objective** To examine the effect of sevoflurane analgesia during hypoxia in neonatal rats on the mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway. **Methods** In the model group and sevoflurane group, pregnant rats were administered birth asphyxia models. The model group was administered 50% oxygen by volume, while the sevoflurane group was administered 50% oxygen and 2.5% sevoflurane. The natural delivery group gave birth spontaneously. The learning and memory abilities of newborn offspring were assessed. Serum superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) levels, and number of Nissl bodies in the CA1 area of the hippocampus in brain tissue were examined. Brain tissue MAPK, B-cell lymphoma-2 gene (Bcl-2), Bcl-2 related X protein (Bax), and cysteine protease-3 (caspase-3) mRNA and protein expression were also examined. **Results** Compared with the model group, newborn

**【基金项目】** 国家自然科学基金(81660195)。

**【作者简介】** 程亮亮(1983—),女,本科,主治医师,研究方向:心血管系统麻醉。E-mail: x245iao@163.com

**【通信作者】** 田毅(1975—),女,博士,主任医师,研究方向:心血管系统麻醉。E-mail: 13876826960@126.com

offspring in the sevoflurane group showed a longer residence time in the target quadrant, increased number of crossing platforms, increased serum SOD, decreased MDA, increased number of Nissl bodies in the hippocampal CA1 area, and increased expression of Bcl-2 mRNA and protein in brain tissue. Expression of MAPK, Bax, and caspase-3 mRNA and protein was decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** Sevoflurane labor analgesia can effectively improve hypoxic-ischemic brain damage in neonatal rats. It may play a protective role in the brain by inhibiting the MAPK signaling pathway and in turn inhibiting hippocampal neuron damage.

**【Keywords】** sevoflurane; labor analgesia; neonatal rat hypoxia; mitogen-activated protein kinase

围生期缺氧缺血性脑病是临床常见病,是导致新生儿急性或慢性神经功能损伤的重要原因。据调查,我国约 20% 新生儿死亡是由于分娩窒息造成的,30% 左右新生儿窒息导致听力障碍、脑瘫等永久性神经功能障碍,给患儿家庭造成巨大影响<sup>[1]</sup>。目前,临床中对围生期缺氧缺血的治疗多以亚低温结合其他方法的对症治疗,但效果不甚理想<sup>[2]</sup>,因此,寻找有效的防治方法对降低该病发病率、减轻神经功能损伤有重要临床意义。七氟醚属于临床新型麻醉药,广泛用于儿科麻醉镇痛、麻醉诱导和术中维持<sup>[3-4]</sup>。近年来研究发现,七氟醚预处理可有效减轻中枢神经损伤,对新生大鼠缺氧缺血性脑病具有脑保护作用<sup>[5]</sup>,但关于七氟醚分娩镇痛对新生鼠缺氧的改善作用及调控通路仍需要进一步探讨。本研究采用前列腺素诱导分娩窒息模型,给予七氟醚吸入处理进行分娩镇痛,观察七氟醚对新生子鼠缺氧的影响,并进一步探讨其调控机制,为临床新生儿缺氧缺血性脑病的防治提供理论基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

SPF 级发情期 SD 大鼠 12 只,均 8 周龄,其中雄性 4 只,体重 250~270 g,雌性 8 只,体重 180~220 g,购自广东省医学实验动物中心[SCXK(粤)2018-0002],饲养于海南省药物安全性评价研究中心[SYXK(琼)2016-0013]。饲养于 22℃~25℃,50%~60% 湿度,12 h 明暗交替环境,自由进食和饮水。动物实验通过海南省药物安全性评价研究中心动物伦理委员会批准(2018-020),实验过程严格遵循动物使用的 3R 原则给予人道主义关怀。

### 1.2 主要试剂与仪器

七氟醚(北京迈瑞达科技有限公司);Revert Aid™ 第一链 cDNA Synthesis 试剂盒(美国 Thermo 公司);超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所);尼氏染色试剂盒(北

京索莱宝科技有限公司);兔抗大鼠 MAPK、B 细胞淋巴瘤-2 基因(B-cellymphoma-2, Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)、半胱氨酸蛋白酶-3(cysteine protease-3, Caspase-3)单抗(一抗)、辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗(美国 Abcam 公司);RM2235 徕卡切片仪(德国 Leica Biosystems 公司);7500 Fast 实时荧光定量 PCR 仪(美国 Applied Biosystems 公司);ChemiDoc XRS 化学发光成像分析系统(美国 Bio-rad 公司)。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 模型制备及分组

以雄性:雌性 1:2 合笼饲养,阴道涂片法确认雌鼠妊娠第 1 天<sup>[6-7]</sup>,选取 6 只妊娠雌鼠入组,随机分为自然分娩组、模型组和七氟醚组,各 2 只。模型组、七氟醚组大鼠妊娠第 21 天静脉注射 5 mg/kg 前列腺素诱发分娩窒息,待大鼠宫缩开始时,模型组给予 50% 体积分数的氧气,七氟醚组持续给予 50% 体积分数的氧气和体积分数 2.5% 七氟醚;自然分娩组大鼠不干预自然分娩。3 组各娩出 12 只子鼠,其中模型组娩出 1 只死鼠,予以剔除,自然分娩组、模型组和七氟醚组分别纳入 12、11、12 只新生子鼠。

#### 1.3.2 Morris 水迷宫实验

出生后 14 d 各组新生子鼠进行 Morris 水迷宫实验:水迷宫水温控制在 20℃~24℃,水池分为 4 个象限,并在第三象限放置直径 12 cm 的安全平台,没于水下 1.5 cm,水池中加入二氧化硅制成白色乳液将安全平台隐蔽,每象限标记 1 个人水点;出生后 14~18 d 定位巡航实验:随机选取 1 个人水点,将新生子鼠面壁轻放入水,60 s 内登陆安全平台则拿出新生子鼠擦干水分,放置保温箱,若 60 s 内未找到则人工引导其登陆安全平台,并停留 15 s;30 min 后顺时针继续其他象限入水,每天 4 次。出生后 19 d 进行空间探索实验:撤去安全平台,随机选择入水象限,记录 60 s 内的游泳轨迹,软件分析大鼠在目标象限(第三象限)停留时间及穿越目标象限内安全平台的次数。

### 1.3.3 血清 SOD、MDA 水平检测

Morris 水迷宫实验结束后,眼眶静脉丛采血 2 mL,静置后分层,3 000 r/min 离心 8 min,离心半径 10 cm,取上层血清,采用试剂盒检测血清 SOD、MDA 水平,按照试剂盒说明书步骤操作。

### 1.3.4 脑组织海马 CA1 区尼氏染色

静脉采血后,断头处死各组新生子鼠,冰上取左侧海马区脑组织,放入体积分数 10% 中性甲醛中固定 48 h,进行常规石蜡包埋、切片(厚度 7  $\mu$ m),石蜡切片脱腊入水,加入甲基紫染色液,室温染色 20 min,蒸馏水彻底冲洗,切片乙醇梯度脱水(70%  $\rightarrow$  80%  $\rightarrow$  90%  $\rightarrow$  95%  $\rightarrow$  100%),转入分色液 4~8 s,然后浸入无水乙醇中 2 min(2 次),二甲苯透明 3 min(2 次),中性树胶封片,于光学显微镜下观察并计数海马 CA1 区尼氏小体数目,以神经元细胞内呈蓝色均匀斑块状为阳性细胞。

### 1.3.5 MAPK、Bax、Bcl-2、Caspase-3 mRNA 表达量检测

断头处死各组新生子鼠,冰上取右侧海马区脑组织 75 mg,应用 TRIzol 试剂提取组织中的总 RNA,采用 Revert Aid™ 第一链 cDNA Synthesis 试剂盒逆转录获得 cDNA,然后 SYBR Green I 实时 PCR 试剂盒进行扩增,扩增条件设置为:94℃ 预变性 2 min; 94℃ 20 s, 58℃ 45 s, 72℃ 60 s, 重复 40 循环。以  $\beta$ -actin 为内参对照,计算 MAPK、Bax、Bcl-2、Caspase-3 相对表达强度( $2^{-\Delta\Delta CT}$ )。引物序列:MAPK: F: 5'-ACTGTGCCATGCTGATCG-3', R: 5'-CTGATGCTGAGCTGATGC-3'; Bax: F: 5'-AGCGACTGAGCGATGCTG-3', R: 5'-ATGCGTTGATAGCTGAGA-3'; Bcl-2: F: 5'-CTGATGAACTGATAGCCTGGG-3', R: 5'-CTGATGCTGGCTGAGATGCTG-3'; Caspase-3: F: 5'-CTGATGCTGAACTGCATGC-3', R: 5'-CTGAGTGCCTGACTGCTGA-3';  $\beta$ -actin: F: 5'-TAGCTCTGCTGGATGCTACTA-3', R: 5'-CTAGTCGTGATGCTGATGTGA-3'。

### 1.3.6 MAPK、Bax、Bcl-2、Caspase-3 蛋白表达量检测

取右侧海马区脑组织 50 mg,加入 0.5 mL 组织裂解液于冰上裂解 25 min,4℃ 预冷离心机 12000 r/min 离心 18 min,离心半径 12 cm,取上清液进行 BCA 蛋白定量,取 20  $\mu$ g 蛋白与 80  $\mu$ g 上样缓冲液混匀,沸水浴 10 min,常温 12000 r/min 离心 15 min,离心半径 12 cm,进行 SDS-PAGE 电泳分离,转至硝酸纤维素膜上(200 mA, 90 min),TBST 洗涤 5 min $\times$

3 次;加入封闭液封闭 2.5 h,按照一抗说明书加入稀释一抗[MAPK(1:200),Bax(1:500),Bcl-2、Caspase-3(1:300)],4℃ 摇床孵育约 12 h,TBST 洗涤 3 次;加入 HRP 标记的二抗稀释液(1:5000),室温孵育 2.5 h,TBST 洗涤 3 次,于暗室中进行显影、曝光;应用凝胶成像系统进行图片采集,使用 Image J 图像分析软件进行灰度值分析,计算 MAPK、Bax、Bcl-2、Caspase-3 蛋白与内参  $\beta$ -actin 灰度值比值,计算 Bcl-2/Bax。

## 1.4 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件分析,计量资料均以平均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,多样本比较采用单因素方差分析,两样本比较采用 SNK-*q* 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠分娩情况观察

自然分娩组、模型组、七氟醚组分别纳入 12、11、12 只新生子鼠;自然分娩组 12 只新生子鼠精神正常,反应迅速,均能够正常吮吸母乳;模型组 11 只新生子鼠精神萎靡不振,反应迟钝,吮吸母乳减少;七氟醚组 12 只新生子鼠精神、反应及吮吸母乳量均有所改善。

### 2.2 各组新生子鼠目标象限停留时间、穿越平台次数比较

目标象限停留时间、穿越平台次数组间比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );模型组及七氟醚组目标象限停留时间短于自然分娩组,穿越平台次数少于自然分娩组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );七氟醚组目标象限停留时间长于模型组,穿越平台次数多于模型组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

### 2.3 各组新生子鼠血清 SOD、MDA 水平比较

新生子鼠血清 SOD、MDA 水平组间比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );模型组及七氟醚组新生子鼠血清 SOD 水平低于自然分娩组,血清 MDA 水平高于自然分娩组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );七氟醚组新生子鼠血清 SOD 水平高于模型组,血清 MDA 水平低于模型组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 2。

### 2.4 各组新生子鼠脑组织海马 CA1 区尼氏小体数目比较

尼氏染色显示,自然分娩组新生子鼠海马神经

元及尼氏小体丰富,椎体细胞层排列有序;模型组海马神经元数目减少,浅染,尼氏小体丢失,椎体细胞层排列紊乱,七氟醚组上述改变均缓解。自然分娩组、模型组及七氟醚组新生子鼠海马 CA1 区尼氏小体数目分别为每平方毫米(213.20±16.17)个、每平方毫米(67.00±8.90)个、每平方毫米(153.20±12.24)个,组间比较差异有统计学意义( $F = 317.531, P < 0.001$ );模型组及七氟醚组新生子鼠海马 CA1 区尼氏小体数目均少于自然分娩组( $t = 371.531, 10.249, P < 0.001$ ),七氟醚组新生子鼠海马 CA1 区尼氏小体数目多于模型组( $t = 19.157, P < 0.001$ )。见图 1。

## 2.5 各组新生子鼠脑组织 MAPK、Bax、Bcl-2、Caspase-3 mRNA 相对表达量比较

新生子鼠脑组织 MAPK、Bax、Bcl-2、Caspase-3 mRNA 相对表达量组间比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );模型组及七氟醚组新生子鼠脑组织 Bcl-2 mRNA 相对表达量低于自然分娩组,脑组织 MAPK、Bax、Caspase-3 mRNA 相对表达量高于自然分娩组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );七氟醚组新生子鼠脑组织 Bcl-2 mRNA 相对表达量高于模型组,脑组织 MAPK、Bax、Caspase-3 mRNA 相对表达量低于模型组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 3。

## 2.6 各组新生子鼠脑组织 MAPK、Bax、Bcl-2、Caspase-3 蛋白相对表达量比较

脑组织 MAPK、Bax、Bcl-2、Caspase-3 蛋白相对表达量及 Bcl-2/Bax 组间比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );模型组及七氟醚组脑组织 Bcl-2 蛋白相对表达量及 Bcl-2/Bax 低于自然分娩组,脑组织 MAPK、Bax、Caspase-3 蛋白相对表达量高于自然分娩组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );七氟醚组脑组织 Bcl-2 蛋白相对表达量及 Bcl-2/Bax 高于模型组,脑组织 MAPK、Bax、Caspase-3 蛋白相对表达量低于模型组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 4,图 2。

## 3 讨论

围生期胎儿由于大脑尚未发育完全,神经细胞对缺氧敏感性更高,导致的损害更大,可能引起不可逆性神经功能障碍<sup>[8]</sup>。分娩过程易导致围生儿缺氧,其发生机制尚未完全明确,有研究认为,产妇分娩时神经内分泌水平异常改变,机体儿茶酚胺水

平骤然升高,可能引起子宫、胎盘血流量骤减,从而易导致胎儿缺氧<sup>[9]</sup>;此外,分娩疼痛可导致产妇过度紧张和呼吸性碱中毒,母体血红蛋白释放氧气能力下降,加重胎盘缺氧情况<sup>[10]</sup>。因此,分娩镇痛对缓解产妇紧张、提升胎盘血流量并降低胎儿缺氧风险十分重要。

表 1 各组新生子鼠目标象限停留时间、穿越平台次数比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of target quadrant dwell time and number of times of crossing the platform of newborn rats in each group

组别 Groups	<i>n</i>	目标象限 停留时间(s) Target quadrant stay time	穿越平台 次数(次) Number of platform crossings(Times)
自然分娩组 Natural childbirth	12	41.10±3.85	7.24±0.67
模型组 Model	11	20.38±3.06 <sup>a</sup>	2.70±0.40 <sup>a</sup>
七氟醚组 Sevoflurane	12	36.44±3.44 <sup>ab</sup>	4.42±0.55 <sup>ab</sup>
<i>F</i>	-	110.894	197.232
<i>P</i>	-	<0.001	<0.001

注:与自然分娩组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

Note. Compared with the natural delivery group, <sup>a</sup> $P < 0.05$ . Compared with the model group, <sup>b</sup> $P < 0.05$ .

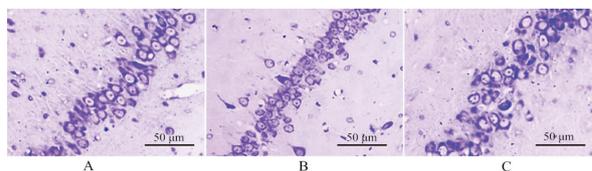
表 2 各组新生子鼠血清 SOD、MDA 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of serum SOD and MDA levels of newborn rats in each group

组别 Groups	<i>n</i>	SOD (U/mg prot)	MDA (nmol/mg prot)
自然分娩组 Natural childbirth	12	510.24±49.22	3.51±0.46
模型组 Model	11	348.50±40.38 <sup>a</sup>	4.77±0.52 <sup>a</sup>
七氟醚组 Sevoflurane	12	422.78±45.16 <sup>ab</sup>	4.02±0.50 <sup>ab</sup>
<i>F</i>	-	36.934	18.873
<i>P</i>	-	<0.001	<0.001

注:与自然分娩组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

Note. Compared with the natural delivery group, <sup>a</sup> $P < 0.05$ . Compared with the model group, <sup>b</sup> $P < 0.05$ .



注:A:自然分娩组;B:模型组;C:七氟醚组。

图 1 脑组织海马 CA1 区尼氏染色

Note. A, Natural delivery group. B, Model group. C, Sevoflurane group.

Figure 1 Nissl staining of the hippocampal CA1 area of brain tissue

**表 3** 各组新生子鼠脑组织 MAPK、Bax、Bcl-2、Caspase-3 mRNA 相对表达量比较( $\bar{x}\pm s$ )

**Table 3** Comparison of the relative expressions of MAPK, Bax, Bcl-2 and Caspase-3 mRNA in the brain tissue of newborn rats

组别 Groups	n	MAPK	Bax	Bcl-2	Caspase-3
自然分娩组 Natural childbirth	12	0.85±0.10	0.95±0.11	1.03±0.09	0.65±0.08
模型组 Model	11	1.63±0.14 <sup>a</sup>	1.84±0.15 <sup>a</sup>	0.26±0.04 <sup>a</sup>	1.39±0.11 <sup>a</sup>
七氟醚组 Sevoflurane	12	1.24±0.15 <sup>ab</sup>	1.30±0.16 <sup>ab</sup>	0.63±0.08 <sup>ab</sup>	0.93±0.10 <sup>ab</sup>
F	-	101.000	114.831	310.945	169.122
P	-	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与自然分娩组比较,<sup>a</sup>P<0.05;与模型组比较,<sup>b</sup>P<0.05。

Note. Compared with the natural delivery group, <sup>a</sup>P<0.05. Compared with the model group, <sup>b</sup>P<0.05.

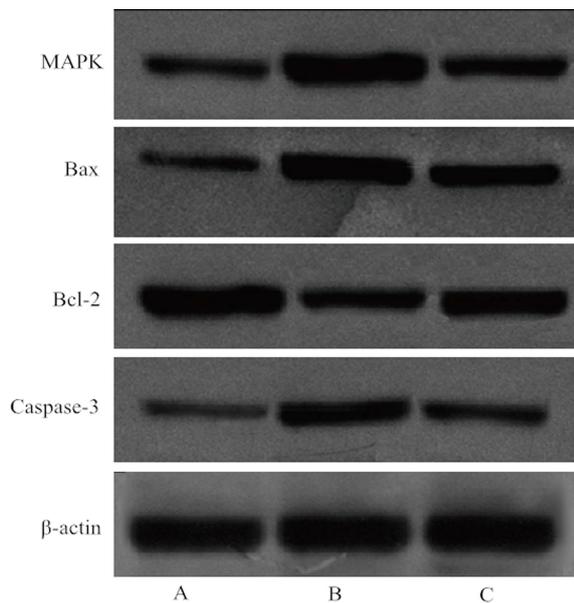
**表 4** 各组新生子鼠脑组织 MAPK、Bax、Bcl-2、Caspase-3 蛋白相对表达量比较( $\bar{x}\pm s$ )

**Table 4** Comparison of the relative expressions of MAPK, Bax, Bcl-2 and Caspase-3 proteins in the brain tissue of newborn rats

组别 Groups	n	MAPK	Bax	Bcl-2	Bcl-2/Bax	Caspase-3
自然分娩组 Natural childbirth	12	0.54±0.06	0.40±0.05	1.26±0.10	3.15±0.10	0.31±0.04
模型组 Model	11	1.13±0.10 <sup>a</sup>	0.94±0.07 <sup>a</sup>	0.61±0.07 <sup>a</sup>	0.65±0.07	0.80±0.07 <sup>a</sup>
七氟醚组 Sevoflurane	12	0.82±0.09 <sup>ab</sup>	0.65±0.06 <sup>ab</sup>	0.88±0.09 <sup>ab</sup>	1.35±0.09	0.52±0.05 <sup>ab</sup>
F	-	139.769	230.707	158.805	204.190	235.093
P	-	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与自然分娩组比较,<sup>a</sup>P<0.05;与模型组比较,<sup>b</sup>P<0.05。

Note. Compared with the natural delivery group, <sup>a</sup>P<0.05. Compared with the model group, <sup>b</sup>P<0.05.



注:A:自然分娩组;B:模型组;C:七氟醚组。

**图 2** 蛋白免疫印迹图

Note. A, Natural delivery group. B, Model group. C, Sevoflurane group.

**Figure 2** Immunoblotting pictures of protein

临床调查显示,分娩期宫缩过强、产程延长等因素均可引起急性胎儿窘迫,进而导致新生儿缺氧缺血脑损伤发生风险升高<sup>[11-12]</sup>。分娩疼痛作为重

要的应激源,可能引起产妇宫缩过强、产程延长,七氟醚是近年来新型吸入麻醉、镇痛剂,吸收和清除较为迅速,且神经系统不良反应少<sup>[13]</sup>。分娩期间应用七氟醚全麻,有助于缓解子宫过度收缩,缩短产程,从而降低胎儿缺氧缺血脑损伤风险,间接发挥胎儿脑保护作用<sup>[14]</sup>。SOD 是机体重要的抗氧化酶,具有清除自由基阻断氧化损伤的作用;MDA 属于脂质过氧化产物,反映机体氧化损伤水平。本研究发现,与自然分娩组比较,模型组新生子鼠目标象限停留时间缩短,穿越平台次数、海马 CA1 区尼氏小体数目均减少,血清 SOD 水平降低,MDA 水平升高,说明孕鼠分娩窒息可导致新生鼠学习记忆能力下降、海马神经元损伤及氧化应激损伤;应用体积分数 2.5%七氟醚处理后,结果显示新生子鼠目标象限停留时间延长,穿越平台次数、海马 CA1 区尼氏小体数目均增多,血清 SOD 水平升高,MDA 水平降低,提示七氟醚可有效改善新生鼠学习记忆能力,分析原因可能为七氟醚通过减轻分娩疼痛造成的胎鼠供血不足,从而有效缓解海马神经元损伤及氧化应激损伤。

神经元细胞损伤过程涉及多条信号通路,MAPK 信号是其中重要的通路之一<sup>[15-16]</sup>。研究发现,缺氧缺血脑损伤后,MAPK 被过度激活,可通过

刺激下游 Bcl-2、Bax 及 Caspase-3 线粒体相关凋亡通路,进而使神经元细胞凋亡通路激活<sup>[17]</sup>。李恒杰等<sup>[18]</sup>研究表明,七氟醚可通过激活心脏骤停大鼠脑组织中 Bcl-2 表达,抑制 Bax 的表达,上调 Bcl-2/Bax,从而意识海马神经元凋亡,发挥脑保护作用,与本研究结果相似。本研究中,与自然分娩组比较,模型组新生子鼠脑组织 Bcl-2 mRNA 和蛋白相对表达量及 Bcl-2/Bax 降低,MAPK、Bax、Caspase-3 mRNA 和蛋白相对表达量升高,说明孕鼠分娩窒息可导致新生鼠 MAPK 信号通路激活;应用七氟醚干预后,新生子鼠脑组织 Bcl-2 mRNA 和蛋白相对表达量及 Bcl-2/Bax 升高,MAPK、Bax、Caspase-3 mRNA 和蛋白相对表达量降低,提示七氟醚可有效抑制 MAPK 信号通路及其下游凋亡相关基因和蛋白的表达,从而发挥新生鼠缺氧脑保护作用。

综上所述,七氟醚分娩镇痛可有效改善新生鼠缺氧缺血脑损伤状况,可能通过抑制 MAPK 信号通路,从而抑制海马神经元损伤发挥脑保护作用,为临床中七氟醚分娩镇痛改善预防新生儿缺氧缺血脑损伤提供理论基础。

#### 参考文献:

- [ 1 ] 邹蓉,母得志. 新生儿缺氧缺血性脑病能量衰竭的防治 [J]. 中国当代儿科杂志, 2016, 18(9): 915-920.
- [ 2 ] Laptook AR, Shankaran S, Tyson JE, et al. Effect of therapeutic hypothermia initiated after 6 hours of age on death or disability among newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy: a randomized clinical trial [J]. JAMA, 2017, 318(16): 1550-1560.
- [ 3 ] Ryu KH, Kim JA, Ko DC, et al. Desflurane reduces intraoperative remifentanyl requirements more than sevoflurane: comparison using surgical pleth index-guided analgesia [J]. Br J Anaesth, 2018, 121(5): 1115-1122.
- [ 4 ] 祝瑜,高鸿,田磊,等. 右美托咪定滴鼻对患儿七氟醚全麻苏醒期躁动的影响:meta 分析 [J]. 中华麻醉学杂志, 2018, 38(9): 1045-1048.
- [ 5 ] Xie SN, Ye H, Li JF, et al. Sevoflurane neurotoxicity in neonatal rats is related to an increase in the GABAAR $\alpha$ 1/GABAAR $\alpha$ 2 ratio [J]. J Neurosci Res, 2017, 95(12): 2367-2375.
- [ 6 ] 孟馨,李元涛,胡薇,等. 七氟醚分娩镇痛对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠脑组织中 c-fos 表达的影响 [J]. 新乡医学院学报, 2017, 34(1): 26-28.
- [ 7 ] 周光兴. 医学实验动物学 [M]. 复旦大学出版社, 2012: 65-66.
- [ 8 ] Mendler MR, Mendler I, Hassan MA, et al. Predictive value of thompson-score for long-term neurological and cognitive outcome in term newborns with perinatal asphyxia and hypoxic-ischemic encephalopathy undergoing controlled hypothermia treatment [J]. Neonatology, 2018, 114(4): 341-347.
- [ 9 ] Asl BMH, Vatanchi A, Golmakan N, et al. Relationship between behavioral indices of pain during labor pain with pain intensity and duration of delivery [J]. Electron Physician, 2018, 10(1): 6240-6248.
- [ 10 ] 蒋玲玲,陈丽平,鲁晓燕,等. 母体缺氧诱导因子-1 $\alpha$  水平及胎盘血流变化与胎儿生长受限的相关性 [J]. 检验医学与临床, 2018, 15(12): 1707-1710, 1715.
- [ 11 ] Kuppens SM, Smailbegovic I, Houterman S, et al. Fetal heart rate abnormalities during and after external cephalic version: Which fetuses are at risk and how are they delivered? [J]. BMC Pregnancy Childbirth, 2017, 17(1): 363.
- [ 12 ] 于子芮,刘春阳,方心,等. 宫内窘迫新生儿发生缺氧缺血性脑病的危险因素分析 [J]. 中国现代医学杂志, 2019, 29(14): 69-72.
- [ 13 ] Ramos Ramos V, Mesa Suárez P, Santotoribio JD, et al. Neuroprotective effect of sevoflurane in general anaesthesia. Efecto neuroprotector del sevoflurano en anestesia general [J]. Med Clin (Barc), 2017, 148(4): 158-160.
- [ 14 ] Lépiz ML, Sayre R, Sawant O, et al. Maternal and fetal effects of dexmedetomidine infusion in pregnant ewes anesthetized with sevoflurane [J]. Am J Vet Res, 2017, 78(11): 1255-1263.
- [ 15 ] Qian D, Li L, Rong Y, et al. Blocking Notch signal pathway suppresses the activation of neurotoxic A1 astrocytes after spinal cord injury [J]. Cell Cycle, 2019, 18(21): 3010-3029.
- [ 16 ] Lan X, Zhang X, Zhou GP, et al. Electroacupuncture reduces apoptotic index and inhibits p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathway in the hippocampus of rats with cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. Neural Regen Res, 2017, 12(3): 409-416.
- [ 17 ] Zhao T, Fu Y, Sun H, et al. Ligustrazine suppresses neuron apoptosis via the Bax/Bcl-2 and caspase-3 pathway in PC12 cells and in rats with vascular dementia [J]. IUBMB Life, 2018, 70(1): 60-70.
- [ 18 ] 李恒杰,毛慧,南勇,等. 七氟醚通过调节 Bax 和 Bak 表达减轻心脏骤停大鼠脑损伤的实验研究 [J]. 中华急诊医学杂志, 2019, 28(5): 579-583.

[ 收稿日期 ] 2020-07-08