

· 论 著 ·

## 不同异氟醚全凭吸入法麻醉大鼠安全性与实用性比较

李 鹏, 易 斌, 陶国才<sup>△</sup>

(第三军医大学西南医院麻醉科, 重庆 400038)

**摘要:**目的 比较不同异氟醚吸入麻醉方法对大鼠麻醉的安全性、稳定性及可操作性。方法 将 4 月龄 SD 大鼠 60 只随机分为 3 组, 分别通过吸入箱麻醉(A 组)、不插管面罩麻醉(B 组)、气管插管吸入麻醉(C 组)5 h, 进行吸入麻醉药浓度可控性、大鼠生命体征、术中及术后死亡率比较。结果 麻醉 2 h A 组大鼠死亡率为 15%, 处理结束时共死亡 6 只, 并且麻醉箱内麻醉药气体浓度波动明显, 目标浓度难以维持。B 组与 C 组异氟醚吸入浓度恒定, 维持平稳。B 组麻醉 3 h 内未出现大鼠呼吸抑制及死亡, 麻醉结束时死亡率为 20%。处理结束后 1 d C 组死亡 2 只, 术后 7 d C 组共死亡 3 只, A、B 组无大鼠死亡, 麻醉后死亡率 C 组高于 A、B 组。结论 异氟醚面罩及气管插管吸入麻醉能保证准确、平稳的麻醉药吸入浓度; 大鼠异氟醚吸入麻醉 3 h 内行面罩吸入是简便安全的, 同时减少术后死亡率; 长于 3 h 的吸入麻醉最好进行气管插管, 但同时也会使术后死亡风险增高。

关键词: 大鼠; 异氟醚; 吸入麻醉

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2010.20.007

中图分类号: R614.21; R971.2

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)20-2715-02

## Comparison of security and practicality in rats which accept different means of isoflurane inhalation anesthesia

LI Peng, YI Bin, TAO Guo-cai<sup>△</sup>

(Department of Anesthesiology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

**Abstract: Objective** To compare the difference in security, stability and operability of isoflurane inhalation anesthesia in rats.

**Methods** Sixty rats were randomly divided into three groups with 20 rats in each group. Rats in each group respectively accepted isoflurane inhalation anesthesia through inhalation anesthesia box, non-intubation anesthesia mask, and endotracheal intubation anesthesia for 5 h. The concentration of inhaled anesthetics, rat vital signs, the intraoperative and postoperative mortality were compared. **Results** In the group box, there were three rats dead when anesthetized for 2 h, and six dead when anesthesia at the end. Compared with the other two groups, the concentration of isoflurane significantly fluctuated and difficult to maintain effectively in the box group. In the anesthesia mask group, there were no rats dead after 3 h anesthesia but four dead when at the end of anesthesia. One day after anesthesia to a week, there were three rats dead in endotracheal intubation group and without any rat dead in the other two groups. **Conclusion** The isoflurane anesthesia using mask inhalation and tracheal intubation can guarantee accurate and stable concentrations of inhaled anesthetics. It is simple and secure for rats accepting inhalation for 3 h with inhalation mask, while reducing the postoperative mortality; It is better for using endotracheal intubation if the inhalation anesthesia is longer than 3 h, but it also would increase the risk of postoperative death.

**Key words:** rats; isoflurane; inhalation anesthesia

术后认知功能障碍(postoperative cognitive dysfunction, POCD)发生机制是科研热点之一, 有不少研究报道了异氟醚对动物认知功能的影响<sup>[1-3]</sup>, 在对大鼠作为对象的多个研究中, 采用了多种方法进行异氟醚麻醉<sup>[4-5]</sup>, 较常用的是麻醉吸入箱, 而不同处理方法的安全性、可操作性及稳定性仍有待于研究。本研究小组在前期也进行了异氟醚对大鼠认知功能影响的系列研究, 并采用多种方法对大鼠进行异氟醚麻醉, 同时比较了不同方法的安全性及可操作性, 旨在为今后对大鼠异氟醚吸入麻醉方法的选择及使用奠定研究基础, 现报道如下。

**1 材料与方**

**1.1 实验动物分组** SD 雄性大鼠 60 只, 体质量 300~350 g, 随机分为 3 组, 每组各 20 只。A 组采用麻醉吸入箱麻醉, B 组采用不插管面罩维持麻醉, C 组采用经口气管插管维持麻醉。

**1.2 动物麻醉诱导及维持** 麻醉诱导均采用自制透明麻醉吸入箱(用透明玻璃制成 50 cm×40 cm×40 cm 大小)实施, 麻醉箱一侧孔接 Drager Fabius 型麻醉机(Drager 公司, 德国), 一侧孔接 solar8000M 型多功能监测仪(GE 公司, 美国)监测流出气

体中麻醉气体浓度。打开异氟醚挥发罐, 新鲜气体流量为 0.5 L/min, 异氟醚挥发浓度为 3%, 待异氟醚浓度达到 1.5%~2% 时, 将大鼠放入麻醉箱, 约 5 min 后大鼠意识消失, A 组大鼠继续在麻醉箱中接受麻醉维持, 挥发罐预设浓度为 1.5%; B 组大鼠被迅速移入预充含有 1.5% 异氟醚空气混合气体的自制大鼠麻醉面罩内接受麻醉; C 组按参考文献[6]的方法给予气管插管, 用镊子轻夹大鼠舌头牵向右侧, 用棉签作为开口器暴露声门, 并同时用冷光源照射颈部皮肤, 待声门充分显露后用 14G 静脉套管针插入气道, 并接动物呼吸机控制呼吸, 继续采用 1.5% 异氟醚维持麻醉, solar8000M 监护仪监测呼气末 CO<sub>2</sub> 及异氟醚吸入浓度。呼吸机参数: 潮气量 3~5 mL, 吸呼比 1:1.5, 频率 80 次/分。麻醉过程中监测各组大鼠血氧饱和度、心率、肛温, 并连续监测异氟醚吸入浓度, 记录麻醉过程中每小时及术后 1~7 d 大鼠死亡数。

**1.3 统计学方法** 采用 SPSS13.0 统计软件进行数据分析处理。数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用单因素方差分析(one-way ANOVA)以及 Post Hoc Tests 多重比较检验(multiple compari-

<sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: tgctsc@mail.tmmu.com.cn.

sons)法,死亡率比较采用行 X 列表资料的  $\chi^2$  检验。

## 2 结果

**2.1 血氧饱和度、心率及体温比较** 麻醉过程中 A 组共有 8 只大鼠血氧饱和度下降;B 组有 6 只缺氧,其中 4 只发生在麻醉 3 h 以后;C 组有 2 只血氧饱和度下降,给予增加潮气量及改变体位后均改善。各组心率及体温监测结果组间比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

**2.2 异氟醚吸入浓度比较** A 组箱内实际浓度与设定浓度差异较大,实际吸入浓度较低,波动明显;B 组相对稳定,波动差异较小;C 组最为恒定,见图 1。

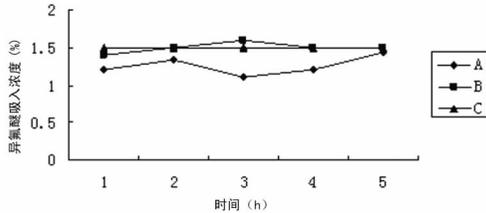


图 1 3 组不同时间点异氟醚吸入浓度

**2.3 麻醉中及麻醉后死亡率比较** A 组大鼠在麻醉 2 h 死亡 3 只,麻醉结束共死亡 6 只;B 组 4 只大鼠分别于麻醉 3 h 后相继死亡,而 A、B 两组麻醉后均未发生死亡;C 组麻醉过程中未发生死亡,麻醉结束后 7 d 内共死亡 3 只,见表 1。

表 1 各组大鼠麻醉时及麻醉后死亡率比较[n(%)]

| 组别  | n  | 1 h | 2 h       | 3 h     | 5 h       | 1 d       | 7 d     |
|-----|----|-----|-----------|---------|-----------|-----------|---------|
| A 组 | 20 | 0   | 3(15.0)** | 1(5.0)* | 2(10.0)   | 0         | 0       |
| B 组 | 20 | 0   | 0         | 0       | 4(20.0)** | 0         | 0       |
| C 组 | 20 | 0   | 0         | 0       | 0         | 2(10.0)** | 1(5.0)* |

组内不同时间点比较,\* : $P<0.05$ ,\*\* : $P<0.01$ 。

## 3 讨论

异氟醚是目前临床常用麻醉药,随着近年来吸入麻醉药对术后认知功能影响报道的增多<sup>[7]</sup>,在动物模型中研究异氟醚对认知功能影响的机制也越来越多。异氟醚属于卤代烷类麻醉药,这种小分子吸入麻醉药属于疏水小分子,能够与蛋白质的“腔隙结构”结合,而影响蛋白的结构和功能<sup>[8]</sup>。有研究证实异氟醚能促进  $\beta$ -淀粉样蛋白(A $\beta$ )分泌量增加,并且加速 A $\beta$ 寡聚形成难溶的、有毒的蛋白微粒<sup>[9-10]</sup>,这为研究手术麻醉后认知功能障碍疾病的发病机制指出了新的方向。在异氟醚对动物认知影响研究中,大鼠是主要的研究对象之一,如何选择一种简便、有效而又安全的麻醉方法对大鼠进行处理显得尤为重要,因此本研究小组采用了目前研究常用的几种异氟醚全凭吸入方法对大鼠麻醉并进行比较,为以后研究中实验处理方法的选择奠定研究基础。

麻醉吸入箱一般为玻璃箱体,四周封闭。在麻醉时大鼠置于其中,通过新鲜气体携带麻醉药物而将动物麻醉,大鼠一般在箱内吸入麻醉药几分钟后就能达到麻醉效果,避免了其他麻醉方法对动物进行束缚或注射而致动物的应激反应,麻醉诱导过程比较平稳,然而由于麻醉箱本身构造原因以至于在进行生命体征监测及其他处理操作时又显现出其缺点,例如麻醉过程中为保证有效麻醉浓度而不能打开箱体进行监护或手术处理。尽管进行了严密的密封加固,由于吸入箱容积较大和密闭性相对较差导致了麻醉气体浓度的不稳定性,很难达到预定实验条件。在本实验中也发现通过对大鼠的间接观察,动物发生呼吸

抑制及监护脱落时不能及时排除和发现险情而导致动物死亡,同时麻醉箱气体浓度稳定性维持也是一个棘手问题。将动物进行麻醉箱平稳诱导后置入麻醉吸入面罩吸入麻醉维持也比较方便实用,由于吸入面罩相对容积小,当新鲜气体流量足够时能保证吸入麻醉药浓度的稳定,在本实验中也得到了验证,同时由于只有动物头部密封在面罩内,在进行麻醉监测及手术操作等方面有着明显的优势。本研究中发现动物在接受 3 h 麻醉中并未出现呼吸抑制等情况,但随着麻醉时间的延长动物出现缺氧现象,并且在实验 3 h 后死亡 4 只大鼠。为保证处理因素的单一,大鼠在麻醉前均未应用抗胆碱药物,可能是由于麻醉时间延长动物呼吸道分泌物增多而出现了窒息死亡。通过对大鼠进行直视下气管插管控制呼吸,保证了动物在麻醉过程中呼吸道的畅通,而大大降低了缺氧及死亡率,并且麻醉药吸入浓度也最为恒定。然而作为一种有创性操作,在插管过程中容易导致不可避免的喉部刺激及气管黏膜水肿,容易导致拔管后气道水肿窒息或分泌物阻塞气道而导致动物死亡。本研究发现,虽然动物在麻醉过程中由于气管插管保证了动物的有效通气,但术后还是发生了 3 例死亡,不能排除上述操作损伤原因所致,同时气管插管又要求熟练的操作经验及一些特殊器材的制备,也给操作带来一定难度。

综上所述,麻醉吸入箱麻醉是一种比较平稳简便的麻醉方法,可以作为动物吸入麻醉诱导及短时间麻醉;而不插管面罩吸入麻醉能维持有效的麻醉药吸入浓度,同时方便其他监护及手术处理等操作,在 3 h 的麻醉期限内是安全有效的;而气管插管吸入麻醉有利于控制气道,降低动物麻醉中发生呼吸抑制的风险,适用于较长时间的麻醉,但不可避免的是增加了动物术后的死亡率。3 种全凭吸入异氟醚麻醉方法各有利弊,在进行研究时可根据自身实验设计的差异选择 1 种或结合使用以保证有效的麻醉效果和实验动物的安全性。

## 参考文献:

- [1] Bianchi SL, Tran T, Liu C, et al. Brain and behavior changes in 12-month-old Tg2576 and nontransgenic mice exposed to anesthetics[J]. *Neurobiol Aging*, 2008, 29(7): 1002.
- [2] 蒯建科,柴伟,孙绪德,等. 异氟醚对新生大鼠认知功能和突触素表达的影响[J]. *中国医师杂志*, 2007, 9(5): 608.
- [3] 狄美琴,肖胜华,连庆泉. 异氟醚对老龄大鼠空间记忆影响的模型研究[J]. *实用医学杂志*, 2009, 25(5): 695.
- [4] Culley DJ, Baxter M, Yukhananov R, et al. The memory effects of general anesthetics persist for weeks in young and aged rats[J]. *Anesth Analg*, 2003, 96(4): 1004.
- [5] 陈满红,段开明,欧阳文. 异氟醚对老龄和成年大鼠海马 synaptotagmin- I 蛋白质的影响[J]. *临床麻醉学杂志*, 2008, 24(12): 1060.
- [6] 王寿平,陈晓彤,苗利萍,等. 异氟醚全凭吸入诱导下经口气管插管法在大鼠模型制作中的应用[J]. *岭南急诊医学杂志*, 2008, 13(4): 241.
- [7] 张雪蓉,伍湘伊. 异氟烷与七氟烷麻醉对老年患者术后早期认知功能的影响[J]. *新疆医科大学学报*, 2009, 32(9): 1331.
- [8] Solt K, Johansson JS, Raines DE. Kinetics of anesthetic-induced conformational transitions in a four-alpha-helix bundle protein[J]. *Biochemistry*, 2006, (下转第 2718 页)

### 3 讨 论

COPD 是一种以气流受限为特征的疾病,其中央及外周气道、肺实质和肺的血管系统存在肺泡巨噬细胞、T 淋巴细胞(尤其是 CD8<sup>+</sup>)和中性粒细胞的增多<sup>[3]</sup>。激活的炎症细胞释放多种介质,包括白三烯 B<sub>4</sub>、IL-8、TNF- $\alpha$  和其他介质。TNF- $\alpha$  是一种由单核巨噬细胞引起的具有广泛生物学活性的可溶性蛋白质细胞因子<sup>[4]</sup>。正常情况下,TNF- $\alpha$  在机体内的浓度较低,若升高明显,提示机体内发生炎症反应,严重者出现器官的损害甚至多系统衰竭<sup>[5]</sup>。其机制可能是:TNF- $\alpha$  可促进中性粒细胞颗粒伴蛋白水解酶释放和呼吸爆发,能诱导血管内皮细胞表达黏附分子促进炎症细胞的浸润与活化,并可刺激炎症介质合成;同时可引起 IL-8、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子分泌增加,引起气道上皮细胞受损脱落,从而导致气道结构破坏;还可通过刺激 B 细胞的增殖和 IgG 分泌,增加微血管壁的通透性,诱导中性粒细胞趋化和局部浸润,激活中性粒细胞及内皮细胞表面黏附受体,致肺损伤<sup>[6]</sup>。

NAC 为含巯基化合物,容易进入细胞内,是谷胱甘肽(GSH)的前体<sup>[7]</sup>,可增加细胞内 GSH 的含量,补充细胞内防御缓冲体系中还原型巯基库,可通过减少 TNF- $\alpha$  而减轻炎症反应。有研究表明<sup>[8-9]</sup>,NAC 治疗能使血 GSH 显著升高,减少急性发作次数,缓解和(或)抑制 COPD 患者肺功能的下降,延缓疾病的发展。国内多组研究显示 TNF- $\alpha$  含量的测定可作为早期鉴别细菌性或非细菌感染的实验依据<sup>[10-11]</sup>。张德雄等<sup>[12]</sup>研究显示 TNF- $\alpha$  含量和机体感染时病情危重程度密切相关。常规治疗能使 COPD 患者 IL-2 明显升高,TNF- $\alpha$  明显降低,改善肺的通气功能,认为 TNF- $\alpha$  在 COPD 患者急性期的炎症反应过程中,是造成气道慢性炎症和导致肺功能下降的因素之一<sup>[13]</sup>。本研究结果显示观察组治疗后血清 TNF- $\alpha$  含量显著降低,而对照组治疗前、后血清 TNF- $\alpha$  含量的差异均无统计学意义,表明 NAC 能降低 COPD 缓解期患者 TNF- $\alpha$  含量,减轻气道的炎症反应。

An 等<sup>[14]</sup>研究显示 TNF- $\alpha$  可诱导气道黏液细胞化生和分泌过多,破坏气道清除功能(杯状细胞代替纤毛细胞),出现气道黏液高分泌。本实验结果显示观察组治疗后的痰量评分较治疗前显著下降,提示 NAC 可通过降低 TNF- $\alpha$  含量而减轻 COPD 患者气道炎症反应及气道高分泌状态;慢性右心功能不全时,血 TNF- $\alpha$  含量增高,NAC 可以改善心功能<sup>[15]</sup>,考虑与 NAC 抑制 TNF- $\alpha$  等炎症介质分泌而减轻对心肌的影响有关。对照组治疗后 TNF- $\alpha$  含量及痰液评分也较治疗前有一定程度下降,考虑为常规治疗,如吸氧、支气管扩张药物等改善了 COPD 患者的缺氧状态,而缺氧改善可致巨噬细胞系产生 TNF- $\alpha$  减少。

#### 参考文献:

[1] 刘升明,王小平,王大礼,等. 广东部分地区慢性阻塞性肺

(上接第 2716 页)

45(5):1435.

[9] Xie Z, Dong Y, Maeda U, et al. The common inhalation anesthetic isoflurane induces apoptosis and increases amyloid beta protein levels[J]. *Anesthesiology*, 2006, 104(5): 988.

疾病发病状况调查[J]. *中华医学杂志*, 2005, 85(11): 747.

[2] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2007, 30(1):8.

[3] MacNee W. Oxidants and COPD[J]. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*, 2005, 4(6):627.

[4] 孙昕,段力,单丽丽. 乳癌患者血清 TNF- $\alpha$  和 IL-6 水平观察及临床意义[J]. *安徽医药*, 2001, 5(2):118.

[5] Meager A. Cytokine regulation of cellular adhesion molecule expression in inflammation[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 1999, 10(1):27.

[6] Yang J, Hooper WC, Phillips DJ, et al. Regulation of proinflammatory cytokines in human lung epithelial cells infected with *Mycoplasma pneumoniae*[J]. *Infect Immun*, 2002, 70(7):3649.

[7] 代心平. N-乙酰半胱氨酸药理与保健作用研究[J]. *海南医学*, 2004, 15(10):121.

[8] Isik B, Isik RS, Ceylan A, et al. Trace elements and oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Saudi Med J*, 2005, 26(12):1882.

[9] De Benedetto F, Aceto A, Dragani B, et al. Long-term oral N-acetylcysteine reduces exhaled hydrogen peroxide in stable COPD[J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2005, 18(1):41.

[10] 张鹏,宋学茹. 肺炎患儿 TNF- $\alpha$ 、G-CSF 和 sIL-2R 检测及临床意义[J]. *天津医药*, 1998, 26(5):271.

[11] 宋福玲,杨年. 肺炎患儿血清肿瘤坏死因子测定[J]. *实用儿科临床杂志*, 1996, 11(2):100.

[12] 张德雄,邱术桐,林东龙,等. 小儿肺炎及合并心力衰竭血清 TNF- $\alpha$  水平测定[J]. *中国初级卫生保健*, 2005, 19(8): 85.

[13] 李琛,唐小飞,赵洪茹. 老年慢阻肺患者治疗前后细胞因子及肺功能变化的观察[J]. *中国实用医药*, 2010, 5(9): 70.

[14] An S, Hishikawa Y, Liu J, et al. Lung injury after ischemia-reperfusion of small intestine in rats involves apoptosis of type II alveolar epithelial cells mediated by TNF- $\alpha$  and activation of Bid pathway[J]. *Apoptosis*, 2007, 12(11):1989.

[15] 马利,杨艳,姚尚龙,等. 乙酰半胱氨酸对糖尿病大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响[J]. *重庆医学*, 2007, 36(1): 50.

(收稿日期:2010-05-02 修回日期:2010-06-11)

[10] Mandal P, Pettegrew JW, McKeag DW, et al. Alzheimer's disease: halothane induces A $\beta$  peptide to oligomeric form—solution NMR studies [J]. *Neurochem Res*, 2006, 31(7):883.

(收稿日期:2010-01-18 修回日期:2010-03-09)