

盐酸右美托咪定对老年大鼠术后认知功能及 P2X7 受体表达的影响

朱 婧,宋宇龙,张世平,李 鑫,朱利娟*

(陕西省人民医院 麻醉科,陕西 西安 710068)

摘要:目的:观察盐酸右美托咪定对术后大鼠认知功能和海马区炎症反应的影响,探讨P2X7受体在其中的作用机制。方法:成年雄性SD大鼠60只,随机分为3组:对照组(A组,n=20)、手术组(B组,n=20)、右美组(C组,n=20),B组和C组大鼠在腹腔注射2%戊巴比妥钠(50mg/kg)后施行脾切除术,A组大鼠仅仅开腹后关腹缝合,不进行脾切除术。C组在手术前进行尾静脉穿刺,于麻醉后经尾静脉给予右美托咪定初始剂量10μg/kg(超过10min),随后以10μg/kg/h的速度输注;B组尾静脉穿刺后输注同等体积的生理盐水。手术结束后2wk,在各组存活大鼠中随机选取10只大鼠行Morris水迷宫实验观察认知功能的变化,使用酶联免疫吸附(ELISA)法检测大鼠海马组织中IL-1β、TNF-α浓度,Western blot法检测海马组织中P2X7的表达。结果:与A组相比,B组大鼠找到水下平台的潜伏期明显延长,空间探索实验中跨越原平台次数明显减少,海马区IL-1β、TNF-α含量增高,P2X7表达明显上调,差异具有统计学意义(P<0.05);与B组相比,C组大鼠找到水下平台的潜伏期明显延长,跨越原平台次数明显减少,海马区IL-1β、TNF-α含量增高,P2X7表达明显上调,差异具有统计学意义(P<0.05);A组与C组大鼠相比,各项指标差异无统计学意义(P>0.05)。结论:盐酸右美托咪定可改善手术后引起的认知功能障碍,可能与盐酸右美托咪定抑制P2X7受体活性,降低海马区炎症反应有关。

关键词: 盐酸右美托咪定;P2X7受体;认知功能

中图分类号: R9

文献标识码: B

文章编号: 2095-512X(2020)03-0300-04

术后认知功能障碍(post operative cognitive dysfunction, POCD)是一种易发生于老年病人的常见术后并发症,发病机制不明,缺乏合理有效的治疗手段^[1,2]。研究显示,老年动物容易发生术后认知功能障碍,其机制可能与诱发海马区小胶质细胞激活,使炎症因子释放有关^[3]。盐酸右美托咪定(dexmedetomidine, Dex)是α2肾上腺素能受体激动剂,有镇静、镇痛、神经保护作用^[4],被广泛应用于临床。神经保护作用的机制可能与减轻海马区的炎症反应、减少神经元细胞的凋亡有关。本研究拟在探索Dex用于防治术后认知功能障碍的作用机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料

健康的老年SD雄性大鼠(SPF级)60只,许可证号:SCXK(陕)08-004,月龄18mo,体重800~1000g,

购自西安交通大学医学部动物实验中心,经过西安交通大学医学部动物实验中心管理委员会批准。使用CHISS统计学软件将造模成功的糖尿病大鼠随机分为3组:对照组(A组,n=20)、手术组(B组,n=20)、右美组(C组,n=20)。

1.2 麻醉方法

各组大鼠在腹腔注射2%戊巴比妥钠(50mg/kg)麻醉后施行脾切除术,手术切口处备皮、碘伏消毒,沿左肋下缘1cm处皮肤做一横向长度约为2cm的切口,沿皮下组织逐层钝性分离,最终进入腹腔,游离结扎脾脏相关血管并离断,切除脾脏,确认无出血后关腹,用碘伏消毒伤口,手术全程保证无菌。A组大鼠不切除脾脏,开腹操作同其他两组。C组大鼠在手术前使用25G静脉输液针进行尾静脉穿刺,10min内泵注负荷剂量的右美托咪定10μg/kg,然后持续泵注10μg/kg/h;B组大鼠则用同样方法输注同等体积的生理盐水。手术结束后,在存活大鼠中每

收稿日期:2020-02-13;修回日期:2020-04-15

基金项目:陕西省自然科学基金(2018JM721)

作者简介:朱婧(1986-),女,陕西省人民医院麻醉科主治医师,医学硕士。

通讯作者:朱利娟,副主任医师,E-mail:413401682@qq.com 陕西省人民医院麻醉科,710068

组随机选取10只进行行为学检测。

1.3 行为学检测

术后2wk进行Mirror水迷宫实验,实验分为两部分。定位航行实验:正式实验前,对大鼠进行适应训练,上午和下午各两次,每次训练时长为2min,24h后开始正式实验。Mirror水迷宫为一圆形水池,等分为4个象限,任选一象限正中放置平台,正式实验的具体方法是连续5d对大鼠进行定位航行训练,每天上午和下午的固定时间点各进行两次训练,每次间隔120s,在不同象限将大鼠面向池壁放入水中,记录大鼠的逃避潜伏期,即从入水到上平台的时间。若60s内大鼠找不到平台,引导其找到平台并持续10s,潜伏期记录为60s。4次逃避潜伏期的平均值为当天的逃避潜伏期。空间探索实验:定位航行实验结束后拆除平台,在同一入水点将大鼠面向池壁放入水中,记录大鼠在60s内跨过原平台相应位置的次数,并且计算大鼠在目标象限区域内游泳时间所占游泳总时间的百分比。

1.4 观察指标

行为学测试结束后,沿颅骨矢状缝和冠状缝用止血钳去除两侧顶骨和顶间骨,然后用眼科镊由后向前剥离覆盖在海马组织上的大脑皮层,两侧依次进行,最后用眼科镊去除海马毗邻的神经组织直至海马完全暴露为止,取出后将海马匀浆离心提取上清液,使用ELISA法检测TNF- α 、IL-1 β 的含量,Western blot法检测海马组织中P2X7的表达。

2 统计学分析

采用SPSS 22.0软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,均数比较采用方差分析,组间比较采用单因素方差分析,组内比较采用重复测量设计的方差分析, $P < 0.05$ 为差异存在统计学意义。

3 结果

3.1 水迷宫试验测试结果

本研究中,相对于A组大鼠,B组大鼠在水迷宫定位航行训练中,找到水下平台的潜伏期明显延长,空间探索实验中跨越原平台次数明显减少($P < 0.05$),相对于B组大鼠,C组大鼠在水迷宫定位航行训练中,找到水下平台的潜伏期明显缩短,空间探索实验中跨越原平台次数明显增多($P < 0.05$)(见图1,2)。

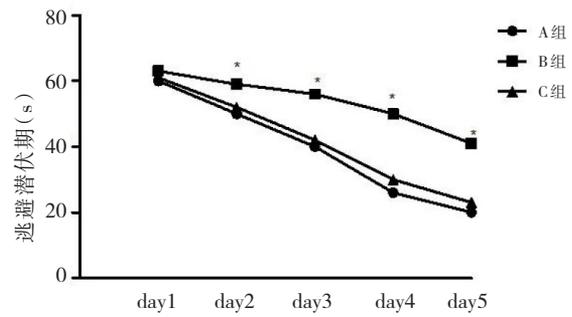


图1 三组大鼠逃避潜伏期的比较

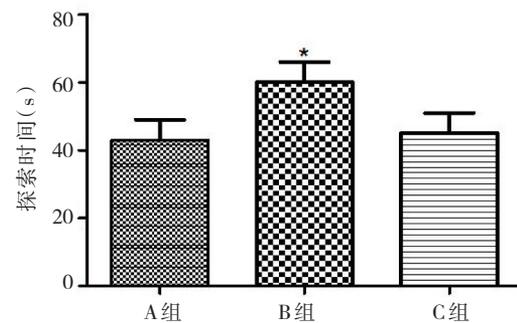


图2 三组大鼠探索时间的比较

与A组、C组比较, $P < 0.05$

3.2 海马区TNF- α 、IL-1 β 含量的变化

相对于A组大鼠,B组大鼠海马区TNF- α 、IL-1 β 含量明显增高($P < 0.05$),相对于B组大鼠,C组大鼠海马区TNF- α 、IL-1 β 含量明显降低($P < 0.05$)。A组与C组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)(见表1)。

表1 三组大鼠海马区TNF- α 、IL-1 β 含量的比较($S, \bar{x} \pm s$)

组别	TNF- α (ng/mg)	IL-1 β (ng/mg)
A组	269 \pm 0.35	461 \pm 0.55
B组	401 \pm 0.23*	502 \pm 0.39*
C组	271 \pm 0.75	458 \pm 0.85

注:与A组、C组比较 * $P < 0.05$

3.3 海马区P2X7蛋白的变化

相对于A组大鼠,B组大鼠海马区P2X7蛋白的含量明显增高($P < 0.05$),相对于B组大鼠,C组大鼠海马区P2X7蛋白的含量明显降低($P < 0.05$);A组与C组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)(见图3,4)。

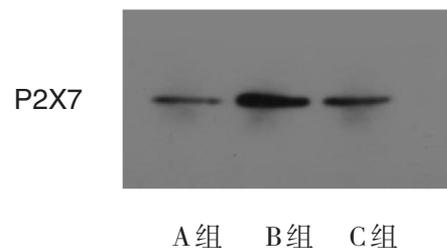


图3 三组大鼠海马区P2X7蛋白的表达

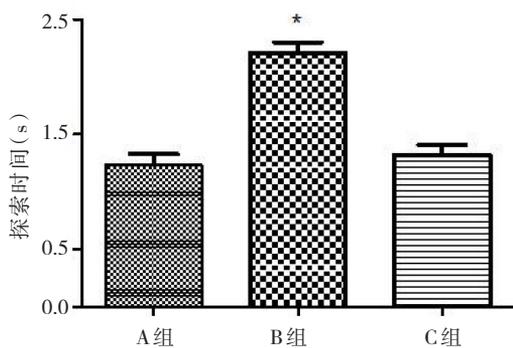


图4 三组大鼠海马区P2X7蛋白的表达(S, $\bar{x} \pm s$)
与A组、C组比较 $P < 0.05$

4 讨论

本研究观察到使用盐酸右美托咪定后大鼠术后认知功能障碍得到了改善,并伴随海马组织中P2X7受体水平的降低,炎症因子水平的降低,我们推测盐酸右美托咪定可以改善大鼠术后认知功能,并且与下调P2X7受体表达,降低海马区的炎症反应有关。

手术后引起的认知功能障碍,常表现为空间学习记忆能力减退^[5,6]。本研究中,B组大鼠在水迷宫定位航行训练中,找到水下平台的潜伏期明显延长,空间探索实验中跨越原平台次数明显减少,说明脾切除术后发生了认知功能障碍。Dex是一种 $\alpha 2$ 肾上腺素能受体激动剂,主要用于围手术期的镇痛、镇静,同时具有神经保护作用^[7],神经保护作用可能与降低化学性低氧引起的神经系统损伤有关^[8],张小宁^[9]研究指出盐酸右美托咪定可以减轻谷氨酸介导神经系统的毒性反应、减少神经元凋亡等。虽然有许多研究表明Dex具有神经保护作用,但是机制不明。在本研究中,Morris水迷宫实验在术后2wk进行,排除了疼痛刺激对行为学实验的干扰。实验结果显示,右美组大鼠腹腔注射Dex后逃避潜伏时间延长和探索时间缩短,表明使用Dex后可有效预防大鼠术后的空间学习记忆障碍。

炎症反应是导致神经损伤的常见原因之一,也常被认为是导致术后认知功能障碍的促发因素^[10]。可能的机制是炎症因子IL-1 β 、TNF- α 等促进毒性物质释放、使神经元发生形态改变、引起功能障碍^[11],海马区的神经细胞相对脑内其他区域更容易受损,而海马区域和学习记忆密切相关^[12],因此,海马区受损,会引起学习记忆能力的缺失。在本研究中,与A组相比,B组海马区IL-1 β 、TNF- α 含量明显增高,C组大鼠使用盐酸右美托咪定后IL-1 β 、

TNF- α 含量降低,与文献报道结果一致。

P2X7受体在体内多组织、多部位表达,P2X7受体是以ATP为配体的非选择性阳离子门控通道,在大鼠星形胶质细胞及小胶质细胞高表达,介导胶质细胞和神经元通讯过程,P2X7受体被激活后介导Na⁺和Ca²⁺内流,调控炎症因子释放,进一步调控下游信号通路^[13],并且与中枢神经系统疾病的病理生理过程密切相关^[14,15]。研究发现,P2X7受体阻断剂BBG能够使P2X7受体失活,从而抑制炎症反应。本研究结果显示,与B组相比,C组大鼠使用Dex后海马区P2X7受体表达明显下调,说明P2X7受体与认知功能障碍之间存在明显的相关性。炎症反应引起认知功能损伤的机制是手术应激导致大量的ATP产生,ATP激活小胶质细胞上的P2X7受体,启动炎症反应,导致神经细胞损伤有关。Dex可能通过下调脑组织P2X7的表达,减轻神经炎症反应,减轻神经细胞损伤,从而改善了认知功能,此过程中涉及的具体分子信号转导通路尚不清楚,有待进一步研究。

综上所述,P2X7受体参与了大鼠认知功能障碍的形成,P2X7引起的炎症反应可能是发生POCD的原因,给予右美托咪定可改善大鼠的术后认知功能,其作用可能与下调P2X7受体有关。

参考文献

- [1]梁冰,董铁立.不同剂量丙泊酚对2型糖尿病大鼠认知功能的影响[J].临床麻醉学杂志,2019;33(9):904-908
- [2]滕培兰,贾敏,李斌海等.海马RhoA-ROCK2通路在老年小鼠术后认知功能障碍中的作用[J].临床麻醉学杂志,2018;34(6):574-578
- [3]Stefka Gyoneva.Inflammatory reaction after traumatic brain injury: Therapeutic potential of targeting cell-cell communication by chemokines[J].Trends in Pharmacological Sciences, 2015;36(7):471-480
- [4]Singh S, Singh A. Dexmedetomidine induced catecholamine suppression in pheochromocytoma[J].J Nat Sci Biol Med, 2014;5(1):182-183
- [5]Benhamou D, Brouquet A.Postoperative cerebral dysfunction in the elderly:Diagnosis and prophylaxis [J].J Visc Surg, 2016;153(6):27-32
- [6]Cibelli M, Fidalgo A R, Terrando N. Role of interleukin-1beta in postoperative cognitive dysfunction [J].Ann Neurol, 2010;68(3):360-368
- [7]Deiner S, Luo Xiaodong, et al. Intraoperative Infusion of Dexmedetomidine for Prevention of Postoperative Delirium and

- Cognitive Dysfunction in Elderly Patients Undergoing Major Elective Noncardiac Surgery: A Randomized Clinical Trial [J]. *JAMA Surg*, 2017;20:15-17
- [8] Hwang W, Lee J, Park J, et al. Dexmedetomidine versus remifentanyl in postoperative pain control after spinal surgery: a randomized controlled study[J]. *BMC Anesthesiol*, 2015;15:21
- [9] 张小宁. 右美托咪定对渥曼青霉素引起的海马 CA1 区神经元凋亡的影响[J]. *广东医学*, 2012;3(7):912-914
- [10] Alali AS. Economic Evaluations in the Diagnosis and Management of Traumatic Brain Injury: A Systematic Review and Analysis of Quality. [J]. *Value in Health*, 2015;18(5):721-734
- [11] Skaper SD, Facci L, Giusti P. Neuroinflammation, microglia and mast cells in the pathophysiology of neurocognitive disorders: a review[J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2014; 13(10):1654-1666
- [12] Bridge DJ, Voss JL. Hippocampal binding of novel information with dominant memory traces can support both memory stability and change[J]. *J Neurosci*, 2014;34(6):2203-2213
- [13] Rodrigues JQ, et al. Differential regulation of a trial contraction by P2-purinoceptors in normotensive and spontaneously hypertensive rats [J]. *Hypertens Res*, 2014; 37(3):210-219
- [14] Sperlagh B, Illes P. P2X7 receptor: an emerging target in central nervous system diseases [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2014;35:537-547
- [15] Bartlett R, Stokes L, Sluyter R. The P2X7 receptor channel: recent developments and the use of P2X7 antagonists in models of disease [J]. *Pharmacol Rev*, 2014;66:638-675

(上接第 291 页)

的作用,可能与 AMPK/mTOR 通路和氧化应激有关。本研究为鼻咽癌的治疗提供新的思路,还有待进一步深入研究和探讨。

参考文献

- [1] Kato S, Liberona M F, Cerda-Infante J, et al. Simvastatin interferes with cancer 'stem-cell' plasticity reducing metastasis in ovarian cancer[J]. *ENDOCRINE-RELATED CANCER*, 2018;25(10):821-836
- [2] Kou X, Jiang X, Liu H, et al. Simvastatin functions as a heat shock protein 90 inhibitor against triple-negative breast cancer. [J]. *Cancer science*, 2018
- [3] Karimi B, Ashrafi M, Shomali T, et al. Therapeutic effect of simvastatin on DMBA-induced breast cancer in mice. [J]. *Fundamental & clinical pharmacology*, 2018
- [4] Chen Y, Shih H, Lin Y, et al. Simvastatin Sensitizes Radio resistant Prostate Cancer Cells by Compromising DNA Double-Strand Break Repair[J]. *FRONTIERS IN PHARMACOLOGY*, 2018,9
- [5] Chen M, Cheng A, Lee M, et al. Simvastatin induces G(1) arrest by up-regulating GSK3 and down-regulating CDK4/cyclin D1 and CDK2/cyclin E1 in human primary colorectal cancer cells[J]. *JOURNAL OF CELLULAR PHYSIOLOGY*, 2018;233(6):4618-4625
- [6] Wang S, Ho H J, Lin J, et al. Simvastatin-induced cell cycle arrest through inhibition of STAT3/SKP2 axis and activation of AMPK to promote p27 and p21 accumulation in hepatocellular carcinoma cells[J]. *CELL DEATH & DISEASE*, 2017, 8(10):1654-1666
- [7] Castellanos-Esparza Y C, Wu S, Huang L, et al. Synergistic promoting effects of pentoxifylline and simvastatin on the apoptosis of triple-negative MDA-MB-231 breast cancer cells[J]. *INTERNATIONAL JOURNAL OF ONCOLOGY*, 2018;52(4):1246-1254
- [8] Lian B S X, Lo K, Khoo A S, et al. SIMVASTATIN EXERT OPPOSING ANTI-PROLIFERATIVE EFFECT ON NASOPHARYNGEAL CARCINOMA CELL LINES HK1 AND C666-1[J]. *Malaysian Applied Biology*, 2018;47(3):169-174
- [9] Sekine Y, Nakayama H, Miyazawa Y, et al. Simvastatin in combination with meclofenamic acid inhibits the proliferation and migration of human prostate cancer PC-3 cells via an AKR1C3 mechanism[J]. *ONCOLOGY LETTERS*, 2018;15(3):3167-3172
- [10] Karagkounis G, Devecchio J, Ferrandon S, et al. Simvastatin enhances radiation sensitivity of colorectal cancer cells[J]. *SURGICAL ENDOSCOPY AND OTHER INTERVENTIONAL TECHNIQUES*, 2018;32(3):1533-1539
- [11] Jin Y, Xu K, Chen Q, et al. Simvastatin inhibits the development of radioresistant esophageal cancer cells by increasing the radiosensitivity and reversing EMT process via the PTEN-PI3K/AKT pathway[J]. *EXPERIMENTAL CELL RESEARCH*, 2018;362(2):362-369
- [12] Seah S, Wang T, Lee S C. A distinct role of RhoB in simvastatin-induced cytotoxicity in breast cancer cells[J]. *CANCER RESEARCH*, 2017, 7713
- [13] 郭阆廷,熊丽娇,陈丽. 二甲双胍对体外培养人乳腺癌细胞 MCF-7 的抑制作用研究[J]. *赣南医学院学报*, 2018;(08):749-752