

右美托咪定改善术后早期认知功能障碍的研究

胡雅娟, 胡格吉胡*

(内蒙古医科大学附属医院 麻醉科, 内蒙古 呼和浩特 010050)

摘要:目的:探究右美托咪定对创伤大鼠术后早期认知功能的影响。方法:建立手术创伤手术模型,并进行水迷宫实验,将界定为术后认知功能障碍(Postoperative cognitive dysfunction, POCD)的50只大鼠进行随机分组,即生理盐水对照组(对照组)、右美托咪定组(DEX组)。术后3天、7天分别进行Morris水迷宫实验测试大鼠定位航行和空间探索能力,并在药物或生理盐水干预结束后72小时从各组分别随机抓取3只大鼠,取海马组织,通过Western blot测定相关蛋白表达情况。结果:术后第3天、第7天DEX组大鼠潜伏期时长较对照组明显降低,平台穿越次数较对照组明显上升,两组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。术后3天,DEX组与对照组比较,IBAI、 β -actin蛋白的表达水平明显降低($P < 0.05$)。结论:右美托咪定可以明显改善大鼠术后的认知功能。

关键词:右美托咪定;认知功能;手术创伤;大鼠

中图分类号: R97

文献标识码: B

文章编号: 2095-512X(2021)06-0629-04

随着外科手术操作技术的日益提高,接受外科手术的患者越来越多,与此同时,麻醉药物对中枢神经系统的影响也备受关注。有研究^[1]显示麻醉药物在产生麻醉的同时对神经元具有一定的毒性,并产生一系列中枢神经系统并发症,增加患者住院时间,产生并发症,从而增加患者经济负担。术后认知功能障碍(postoperative cognitive dysfunction, POCD)作为术后主要的并发症,是指手术干预后新出现的认知能力下降,临床常见表现为认知水平降低、精神错乱、记忆力下降、语言能力受损、情感焦虑等。根据发生的时间划分为早期和长期认知能力下降,前者为术后7天内发生的POCD;后者为术后持续3个月以上出现的POCD。POCD发病机制目前尚未明了,有学者^[2,3]认为中枢炎症反应是其中枢环节,因此如何发挥抗炎效应进行脑保护是改善POCD的主要切入点。

右美托咪定(dexmedetomidine, DEX)作为一种选择性高的 α_2 受体激动剂,本身具有镇静、镇痛、抗焦虑作用,目前在临床得到广泛应用。围术期的镇静和镇痛可以使用右美托咪定,大量资料通过多中心、大样本临床研究证实右美托咪定对POCD有确切的疗效^[4,5]。本研究建立动物模型,旨在证实右美托咪定能够改善大鼠手术后的认知功能,进而探究右美托咪定改善POCD的机制,为其临床应用提供

科学依据。

1 资料与方法

1.1 动物手术模型制备

SD大鼠经腹腔注射40 mg/kg戊巴比妥钠进行麻醉,确认麻醉成功后实施剖腹探查术,常规完成备皮,使用4.5%~5.5%碘伏消毒切口2遍,铺无菌洞巾,于大鼠上腹部正中部位作大约3 cm长的一个纵行切口,逐层解剖进入腹腔后行剖腹探查术,依次探查大鼠的肝脏、脾、胃和肠道等脏器,手术探查时间大约为30 min。剖腹探查手术严格遵循无菌原则,手术操作过程避免副损伤,生理盐水清洗腹腔,同时腹腔注射青霉素防止感染,充分止血。术中大鼠体温保持在恒定的状态,术毕苏醒后再将大鼠放回饲养笼内。

1.2 实验分组和干预措施

从术前3天开始,每天对所有大鼠进行Morris水迷宫适应性训练。将大鼠麻醉后进行剖腹探查术,术后24 h对大鼠进行Morris水迷宫实验测试,包括定位航行实验和空间探索实验。将定位航行实验中60 s找不到平台的大鼠标记为POCD大鼠。纳入本研究的50只大鼠进行数字随机分组,其中生理盐水对照组25只(对照组)、右美托咪定组

收稿日期: 2021-10-14; 修回日期: 2021-12-01

作者简介: 胡雅娟(1981-),女,内蒙古医科大学附属医院麻醉科副主任医师。

通信作者: 胡格吉胡,主任医师, E-mail: huyajuan_2008@126.com 内蒙古医科大学附属医院麻醉科,010050

25 只(DEX 组)。

干预措施:DEX 组大鼠经腹腔注射 DEX 25 μg/kg, 对照组则经腹腔注射等量的生理盐水。

1.3 观察指标

1.3.1 Morris 水迷宫测试 Morris 水迷宫测试系统主要由摄像机、监视器、广角变焦镜头、图像采集卡及 motanaly 软件等记录显示系统组成。将水迷宫平台放在西南象限(第三象限)正中距池壁 22 cm 处,迷宫中放置牛奶液面高于安全平台 1 cm,水温 (22 ± 0.5) °C, 室温 25 °C, 训练期间保持环境安静,迷宫外的参照物不变。

1.3.2 定位航行测试 通过定位航行测试大鼠的学习记忆能力。在术前 3 天每天对受试大鼠进行训练,从固定相对的两个象限入水点依次加以训练,将受试大鼠放入水中且面向池壁,记录入水大鼠的逃避潜伏期(从入水开始,计算找到安全平台的时间)。在剖腹探查术后 3 天、7 天对大鼠进行定位航行实验。

1.3.3 空间探索能力 大鼠对平台空间位置的记忆力可以反映空间探索能力。术前进行适应性测试,3 天后去掉测试平台,从固定的象限入水点将大鼠放入水中并面向池壁,记录大鼠 120 s 内穿过原平台位置的次数和在原平台象限即第四象限探索时间(探索时间)作为空间记忆成绩。干预结束后 3 天、7 天分别对各组大鼠进行空间探索实验,记录探索时间。

1.4 Western Blot

右美托咪定或生理盐水干预结束后 72 h,从各组分别随机抓取 3 只大鼠,取海马组织加入适量蛋白裂解液,将组织置于 4 °C, 15000 r/min 离心 15 min 后取上清液,取 25 μL,利用 BCA 法进行蛋白浓度测定。随后将样本加入点泳凝胶(5%浓缩胶,12%分离胶)中,在 60 V, 40 mA 条件下电泳 2.5 h,随后将目标蛋白转膜至 PVDF 膜中,之后用 5%脱脂奶粉封闭 PVDF 膜 2 h, TBST 洗 3 次, 5 min/次,随后加入一抗抗体,4 °C 环境下孵育过夜, TBST 洗 2 次, 5 min/次,加入辣根过氧化物酶标记二抗 IgG 后室温孵育 50 min, TBST 洗 3 次, 5 min/次。将滤膜置于 ECL 显色液中反应 1 min, 计算机扫描图像,并由生物图像分析系统进行分析处理。

1.5 统计分析

数据应用 SPSS 22.0 统计学软件进行统计分析。经正态检验后,将正态分布的计量资料以均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,偏态分布的计量资料则采用中位数表示,计量资料数据组间比较采用 *t* 检验,

重复测量资料采用单因素方差分析。计数资料以频数表示,组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法加以分析。检验水准为 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 Morris 水迷宫测试结果

术后 3 天两组大鼠水迷宫实验结果比较,DEX 组有更多的大鼠能径直游往平台,定向能力明显强于对照组(见图 1)。

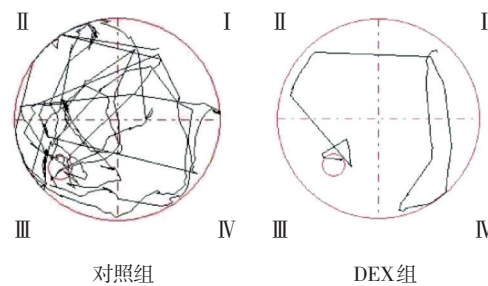


图 1 Morris 水迷宫轨迹图

2.1.1 定位航行实验结果 术后第 3 天、第 7 天 DEX 组大鼠潜伏期时长较对照组的潜伏期明显降低,两组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (见表 1)。

表 1 两组大鼠术后水迷宫潜伏期时长的比较 ($\bar{x} \pm s$)

	DEX 组	对照组	<i>P</i>
术后 3 天	33.5 ± 2.1	44.2 ± 3.9	< 0.01
术后 7 天	25.2 ± 1.9	35.9 ± 2.4	< 0.01
<i>P</i>	< 0.01	< 0.01	

2.1.2 空间探索实验结果 术后第 3 天、第 7 天 DEX 组大鼠平台穿越次数较对照组明显上升,两组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 组内不同时点比较,术后 7 天大鼠平台穿越次数比术后 3 天明显上升 ($P < 0.05$) (见表 2)。

表 2 两组大鼠术后水迷宫测试平台穿越次数的比较 ($\bar{x} \pm s$)

	DEX 组	对照组	<i>P</i>
术后 3 天	3.1 ± 0.7	1.8 ± 0.5	< 0.01
术后 7 天	3.7 ± 0.6	2.7 ± 0.6	< 0.01
<i>P</i>	< 0.05	< 0.05	

2.2 DEX 对大鼠海马相关蛋白的作用

与对照组比较,DEX 组 IBA1、 β -actin 蛋白的表达水平明显降低(见图 2)。

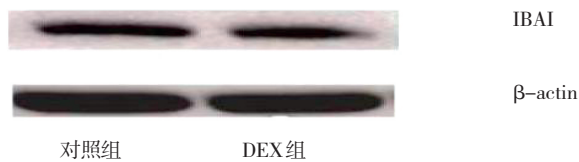


图2 Western blot结果图

3 讨论

麻醉和手术创伤诱发的中枢神经功能减退可引起POCD。记忆受损是POCD的核心症状。记忆的形成是一个时间依赖性过程,记忆形成必须经过时间强化,研究表明记忆的强化常常从记忆训练结束开始,后续可持续数小时^[9],本研究在术前对受试大鼠进行了3天的水迷宫训练,形成了一定的记忆基础。

近年来实验研究重点主要侧重于对中枢神经系统炎症通路激活后蛋白表达以及炎症对中枢神经的损伤的研究^[7]。此外,手术创伤引起POCD也是中枢神经损伤的重要表现。海马区是负责学习记忆的主要部位,也是神经细胞最容易受损的部位,小胶质细胞内的核转录因子NF-κB,是多种信号传导途径的关键性转录因子,调控多种靶基因(细胞因子、转录因子及氧化应激相关酶等)的表达^[8]。NF-κB平时存在于神经元细胞和神经胶质细胞内,处于非活性状态,受多种因素刺激活化后,可发生磷酸化,解离后转位入核,参与调节多种靶基因,活化小胶质细胞,激活其下游的炎症因子信号通路,参与POCD的发生与进展^[7]。POCD的发生发展与中枢神经系统小胶质细胞的异常活化有关,NF-κB-MMP-9信号通路是介导小胶质细胞异常活化的重要通路,本研究通过Western blot测试了蛋白表达,提示右美托咪定通过降低大鼠海马相关蛋白IBA1、β-actin的表达,从而影响NF-κB-MMP-9信号通路的表达,进一步起到积极防治术后认知功能障碍的作用。

右美托咪定具有镇静、辅助镇痛、抗焦虑作用,临床证实还具有抗炎、抗交感以及较轻的呼吸抑制的作用。有相关研究比较行髋关节手术的患者术中应用右美托咪定或丙泊酚辅助镇静对术后认知功能的影响,研究结果发现应用右美托咪定的患者术后早期发生认知功能障碍的发病率更低,术后能早期下床完成恢复功能训练,加速康复,且出院时间更早,从而得出相关结论,即老年患者行髋关节置换手术,应用右美托咪定能加速改善患者的短

期康复效果^[9]。也有相关研究观察右美托咪定对患者主观睡眠质量的影响,结果显示右美托咪定能缩短重症监护室的治疗时间,增加术后早期出院率,且未增加术后不良事件的发生^[10]。另有研究显示,术中应用七氟烷的患者,在麻醉恢复期会导致认知功能下降,具体发生机制可能与手术创伤应激、机体炎症、免疫功能障碍、麻醉深度等有关,而在应用七氟醚的基础上联合使用右美托咪定,可减少麻醉药七氟醚的用量,并且能降低术后认知功能障碍的发生率^[11]。儿科患者行扁桃体切除术后最常见的不良事件是POCD,临床特征以意识受损和思维模式紊乱为主^[12]。有研究观察到,扁桃体切除患儿应用右美托咪定,术后早期认知功能障碍患儿的血浆皮质醇水平发生了改变,且相关性分析结果表明,皮质醇水平与认知功能障碍风险呈负相关^[13]。因此,研究结论认为右美托咪定的应用可降低患儿术后认知功能障碍的发生。Li等^[14]的临床研究发现,通过比较应用不同剂量的右美托咪定,患者POCD的发生率存在差异,剂量大的右美托咪定组POCD发生率明显低于剂量低的右美托咪定组,说明右美托咪定临床抗炎及脑保护作用与剂量存在相关性。水迷宫实验是动物实验中评估POCD的主要方法。

在动物实验方面,有研究人员^[15]建立POCD小鼠模型,结果显示右美托咪定可降低小鼠海马内炎症因子的表达,包括IL-1β、TNF-α及细胞凋亡相关因子caspase-3,同时右美托咪定可减少相关蛋白的沉积,包括β淀粉样蛋白(Aβ)、tau蛋白,行为学测试结果显示右美托咪定能明显改善小鼠术后的认知功能,从而提示海马内炎症反应与神经细胞的凋亡可促进POCD的发生,加以证实右美托咪定对脑细胞有保护作用,且能降低神经炎症反应^[16]。本研究分别给予手术创伤模型大鼠腹腔注射右美托咪定和生理盐水加以比较,可以从水迷宫实验中看出右美托咪定明显改善POCD。然而由于经费有限,本研究未完成相关炎症因子的测定和POCD关联性较强的β淀粉样蛋白(Aβ)、tau蛋白的检测,后续研究中可以进一步完成。综上所述,右美托咪定可以明显改善大鼠术后的认知功能,但具体机制仍需要加以研究。

参考文献

- [1]王以新,苏艾中,刘再英.术后认知功能障碍研究进展[J].中华临床医师杂志(电子版),2016;10(12):1795-1799

(下转第638页)

- T2DM patients with fracture and promotes the apoptosis of osteoblast cells in vitro in the presence of high glucose[J]. Cytokine, 2016;**80**(3): 35–42
- [22]Li J, Xu J, Qin XH, et al. Acute pancreatic beta cell apoptosis by IL-1 β is responsible for postburn hyperglycemia: Evidence from humans and mice[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2019;**1865**(2): 275–284
- [23]Liu CX, Feng X, Li Q, et al. Adiponectin, TNF- α and inflammatory cytokines and risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis[J]. Cytokine, 2016;**86**(6):100–109
- [24]Bi X, Ai HL, Wu QM, et al. Insulin Resistance Is Associated with Interleukin 1 β (IL-1 β) in Non-Diabetic Hemodialysis Patients[J]. Med Sci Monit, 2018;**24**(2): 897–902
- [25]Liuni Federico Maria, Rugiero Clelia, Feola Maurizio, et al. Impaired healing of fragility fractures in type 2 diabetes: clinical and radiographic assessments and serum cytokine levels[J]. Aging Clin Exp Res, 2015;**10**(27): 37–44
- [26]Monroy A, Kamath S, Chavez AO, et al. Impaired regulation of the TNF- α converting enzyme/tissue inhibitor of metalloproteinase 3 proteolytic system in skeletal muscle of obese type 2 diabetic patients: a new mechanism of insulin resistance in humans[J]. Diabetologia, 2009;**52**(10): 2169–2181
- [27]Singh K, Agrawal NK, Gupta SK, et al. Increased expression of TLR9 associated with pro-inflammatory S100A8 and IL-8 in diabetic wounds could lead to unresolved inflammation in type 2 diabetes mellitus (T2DM) cases with impaired wound healing[J]. J Diabetes Complications, 2016;**30**(1): 99–108

(上接第 631 页)

- [2]张真真, 苏帆, 纪木火, 等. 术后认知功能障碍生物标记物的研究进展[J]. 临床麻醉学杂志, 2016;**32**(06):616–620
- [3]周阳, 王军, 郭向阳. 术后认知功能障碍发病机制的研究进展[J]. 中国微创外科杂志, 2015;**15**(07):658–662
- [4]Zhou XY, Liu J, Xu ZP, et al. Dexmedetomidine ameliorates postoperative cognitive dysfunction by inhibiting Toll-like receptor 4 signaling in aged rats[J]. Kaohsiung J Med Sci. 2020 Sep;**36**(9):721–731
- [5]郭荣春, 谢力. 盐酸右美托咪啶对老年腹腔镜手术病人术后疼痛及早期认知功能的影响[J]. 蚌埠医学院学报, 2017;**42**(04):450–453
- [6]Du X, Song F, Zhang X, et al. Protective efficacy of combined use of parecoxib and dexmedetomidine on postoperative hyperalgesia and early cognitive dysfunction after laparoscopic cholecystectomy for elderly patients[J]. Acta Cir Bras. 2019;**34**(9): e201900905
- [7]Liu C, Zha X, Liu H, et al. Ampelopsin alleviates sevoflurane-induced cognitive dysfunction by mediating NF- κ B pathway in aged rats[J]. Genes Genomics. 2020;**42**(4):361–369
- [8]李伟, 薛荣亮. 氧化应激反应对老年患者炎症反应及术后认知功能障碍的影响[J]. 山西医科大学学报, 2011;**42**(12): 986–989
- [9]Wang WX, Wu Q, Liang SS, et al. Dexmedetomidine promotes the recovery of neurogenesis in aged mouse with postoperative cognitive dysfunction[J]. Neurosci Lett, 2018, 677: 110–116
- [10]Su X, Meng ZT, Wu XH, et al. Dexmedetomidine for prevention of delirium in elderly patients after non-cardiac surgery: A randomised, double-blind, placebo-controlled trial[J]. Lancet, 2016;**388**(10054):1893–1902
- [11]Li Y, Chen D, Wang H, et al. Intravenous versus volatile anesthetic effects on postoperative cognition in elderly patients undergoing laparoscopic abdominal surgery[J]. Anesthesiology. 2021;**134**(3):381–394
- [12]Hart JA, Glickman SR. Phytomedicines for helicobacter pylori, garlic for hypertension, intraoperative acupuncture for tonsillectomy, omega-3 fatty acids for cognitive decline, qigong for COPD[J]. Explore(NY), 2016;**12**(2): 141–145
- [13]Chen N, Chen X, Xie J, et al. Dexmedetomidine protects aged rats from postoperative cognitive dysfunction by alleviating hippocampal inflammation[J]. Mol Med Rep. 2019;**20**(3): 2119–2126
- [14]Li Z, Li H, Yao S, et al. Effects of dexmedetomidine doses on postoperative cognitive dysfunction and serum β -amyloid and cytokine levels in elderly patients after spine surgery: a randomized controlled trial[J]. Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao. 2021;**41**(4):600–606
- [15]Shi HX, Du XJ, Wu F, et al. Dexmedetomidine for early postoperative cognitive dysfunction after video-assisted thoracoscopic lobectomy in elderly male patients with lung cancer. Medicine (Baltimore). 2020;**99**(36):e21691
- [16]Zhang Y, Lin Y, Liu Q, et al. The effect of d on cognitive function and protein expression of A β , p-Tau, and PSD95 after extracorporeal circulation operation in aged rats[J]. Biomed Res Int, 2018, 2018: 4014021