

· 论 著 ·

老年和成年大鼠术后认知功能障碍模型的建立与比较

曹 剑, 李 鹏[△], 易 斌, 罗铁山, 石胜驰, 陶国才
(第三军医大学西南医院麻醉科, 重庆 400038)

摘要:目的 建立不同月龄大鼠麻醉术后认知功能障碍(POCD)模型并进行比较,为 POCD 机制研究提供模型选择。方法 以 4 月龄和 20 月龄 SD 雄性大鼠为研究对象,分别接受异氟醚麻醉处理和腹腔探查手术 2 h,建立吸入麻醉和手术应激模型。术后分别进行 Morris 水迷宫、穿梭箱实验检测大鼠行为学变化。**结果** 老年大鼠在接受麻醉和手术后出现不同程度的认知能力下降,并且以手术组最为明显,持续时间较长;成年大鼠接受手术后出现行为学改变,但程度较轻,1 周后恢复,而成年麻醉组大鼠未见明显行为学改变。**结论** 老年大鼠手术后认知功能损害明显,可作为 POCD 研究的动物模型。

关键词:大鼠;异氟醚;认知;模型;手术后并发症

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2010.17.020

中图分类号:R749.502

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)17-2292-02

Establishment and evaluation of model of postoperative cognitive dysfunction in adult and aged rats

CAO Jian, LI Peng[△], YI Bin, et al.

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

Abstract: Objective To establish and assess adult and aged rats model of postoperative cognitive dysfunction(POCD) in order to provide the model for researching POCD pathogenesis. **Methods** Adult and aged rats were randomly divided into six groups with 10 rats in each group. Group I1 and I2 were anesthetized with 1.5% isoflurane for 2 h; during the inhalation anaesthesia with 1.5% isoflurane, the rats in group O1 and group O2 accepted abdominal operation for 2 h; the learning and memory function was assessed using Morris water-maze test and Shuttle box trial after anaesthesia and operation. **Results** The result of the tests showed that there were different degrees of cognitive decline in the aged rat after anesthesia and surgery but the change was more obvious and longer in the O1 group which received operation. In the adult rats, there was behavioral change last for a week after surgery while no significant behavioral changes were found in the adult anesthesia group. **Conclusion** Isoflurane anesthesia and exploratory abdominal surgery result in a different month-old rats varying degrees of cognitive impairment, particularly in old rats after receiving surgery and it can be used as postoperative cognitive dysfunction animal model for pathogenesis study.

Key words: rats; isoflurane; cognition; models; postoperative complications

术后认知功能障碍(postoperative cognitive dysfunction, POCD)是术后常见的并发症,研究报道中年患者接受手术后 1 周 POCD 发生率为 19.7%,并有 6.2%患者认知障碍持续到 3 个月以后^[1],而老年患者 POCD 的发生率更高,影响也更大^[2]。对 POCD 病因及机制研究也成为科研热点,本实验拟通过观察经麻醉和手术处理后的大鼠学习和记忆能力的改变,旨在为制备和选择研究 POCD 发生机制的动物模型奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 动物选择及分组 SD 雄性老年大鼠(月龄 22 个月)30 只,体质量 500~600 g;SD 雄性成年大鼠(月龄 4 个月)30 只,体质量 200~260 g,由成都达硕生物科技有限公司动物中心提供。老年大鼠随机分为 3 组($n=10$):老年对照组(C1 组),老年麻醉组(I1 组),老年麻醉手术组(O1 组)。成年大鼠随机分为 3 组($n=10$):成年对照组(C2 组),成年麻醉组(I2 组),成年麻醉手术组(O2 组)。

1.2 动物模型建立 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)实施吸入麻醉,麻醉箱一侧孔接 Drager Fabius 型麻醉机(德国 Drager 公司),另一侧孔接 solar 8000M 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。麻醉组均进行 1.5%异氟醚吸入麻醉 2 h,

麻醉箱中保持 30%氧浓度。麻醉手术组大鼠在吸入箱中麻醉后迅速移入预充相同气体及吸入麻醉药的自制大鼠面罩内进行麻醉及手术,行右侧股动脉插管接多功能监护仪,腹部皮肤剪去毛发,消毒后取腹正中切口约 5 cm 进行腹腔探查术,依次探查肠道、肝、脾、肾等脏器,手术持续时间 2 h。术中持续监测大鼠动脉血压、血氧饱和度、心率、呼吸、肛温,并给予腹腔加温生理盐水滴注补液及保温处理。术中 0.5、1、2 h 抽取动脉血进行血气分析。术中保持严格无菌操作,术后给予腹腔注射青霉素钠 50 u/g,1 次/天,预防感染,直至伤口完全愈合、拆线。对照组动物不进行任何处理。

1.3 动物学习及行为学测试

1.3.1 水迷宫实验 动物建模后 1 d 与对照组进行行为学测试,采用 Morris 水迷宫实验检测各组的空间学习记忆能力。将水池等分为四象限,在第四象限正中离池壁 20 cm 处放透明平台,平台顶低于水面 2 cm。训练期间迷宫外参照物保持不变。(1)定位航行实验(place navigation test):实验历时 5 d 记录大鼠找到平台的时间,即逃逸潜伏期(escape latency),120 s 找不到平台,潜伏期记为 120 s。每次训练取四个象限平均值为当天成绩。(2)空间探索实验(spatial probe test):训练完毕次日进行空间探索实验,撤除平台,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作为空间记

[△] 通讯作者,电话:13752907466;E-mail:lipeng_138@yahoo.com.cn.

表 1 各组大鼠水迷宫测试逃避潜伏期比较 (n=10, $\bar{x} \pm s, s$)

组别	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
C1 组	52.34±10.21	22.53±6.43	10.76±2.42	10.35±3.52	9.32±2.53
I1 组	54.65±12.14	28.42±5.14*	18.51±3.67*	14.79±2.27*	13.17±3.65*
O1 组	53.32±10.64	33.72±5.69*	22.65±3.52*	18.42±3.52*#	17.26±5.18*#
C2 组	52.25±13.33	21.99±6.52	9.32±2.25	8.62±2.55	7.42±2.91
I2 组	54.63±17.43	22.87±6.21	11.61±3.39	9.19±2.61	8.25±2.39
O2 组	57.51±17.92	25.53±6.04 Δ	18.37±3.28 Δ \blacktriangle	16.65±4.63 Δ \blacktriangle	14.67±3.73 Δ \blacktriangle

*:与 C1 组比较, P<0.05; #:与 I1 组比较, P<0.05; Δ :与 C2 组比较, P<0.05; \blacktriangle :与 I2 组比较, P<0.05。

忆成绩^[3]。

1.3.2 电脑控制的穿梭箱系统 本系统以灯光为条件刺激,足底电击为非条件刺激。大鼠在接受灯光刺激后即能进行穿梭运动为主动回避反应(active avoidance reaction, AAR),如需进行电击而完成穿梭称为被动回避反应(passive avoidance reaction, PAR)。按参考文献[4]进行训练 5 d,每次进行 20 轮光电刺激,动物先在暗箱内适应 5 min,开始时给予持续灯光刺激 5 s,如大鼠不逃至另一端,则给予电击(电流 3 mA、频率 15 Hz),使动物逃至箱底不通电的另一端,此时电击停止,否则持续受电击 5 s。间隔 60 s 重复上述刺激。分别在麻醉、手术处理后第 5 天,1、2、4 周进行穿梭箱实验测试。大鼠的学习记忆能力以完成 AAR 的次数与测试总次数的比值即 AAR 比率代表^[5]。

1.4 统计学处理 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 Comparisons)法。

2 结 果

2.1 术中情况 两组大鼠术中生命体征平稳,未发现低血压、缺氧、二氧化碳储留及酸碱平衡紊乱。

2.2 水迷宫试验结果 与 C1 组比较,I1 组与 O1 组手术后在训练第 2 天均开始出现逃逸潜伏期延长(P<0.05),并持续到训练测试结束,而 O1 组在训练第 4 天及测试当天逃逸潜伏期长于 I1 组(P<0.05)。I2 组逃逸潜伏期与 C2 组比较未见显著差异,从第 2 天开始 O2 组表现出逃逸潜伏期延长(P<0.05)(表 1)。空间探索实验显示:与 C1 组比较,I1 组穿越平台次数减少(P<0.05),O1 组探索时间及穿越平台次数均减少(P<0.05)。I2 组与 C2 组比较未见明显差异,但 O2 组探索时间及穿越平台次数均较 C2、I2 组减少,差异有统计学意义(P<0.05),见表 2。

表 2 各组大鼠空间探索实验结果比较 (n=10, $\bar{x} \pm s$)

组别	空间探索时间(s)	穿越平台次数(次)
C1 组	48.55±6.92	7.15±2.50
I1 组	46.94±7.23	5.30±2.17*
O1 组	37.28±6.27*	4.14±2.30*
C2 组	57.53±12.51	8.60±2.21
I2 组	54.23±11.52	7.80±2.27
O2 组	45.32±10.74 Δ	3.50±1.77 Δ

*:与 C1 组比较, P<0.05; Δ :与 C2、I2 组比较, P<0.05。

2.3 穿梭箱测试结果 与 C1 组比较,I1 组第 5 天时主动回避率降低。O1 组直至第 2 周仍较 C1 组低,第 4 周末未见明显差异。I2 组各时相点与 C2 组比较未见明显差异,但 O2 组与 C2

组比较第 5 天及 1 周时差异有统计学意义(P<0.05),见表 3。

表 3 各组大鼠实验因素处理后各时相点 AAR 结果 (n=10, $\bar{x} \pm s, \%$)

组别	第 5 天	1 周	2 周	4 周
C1 组	92.43±7.26	92.35±6.53	89.43±8.32	90.41±6.50
I1 组	83.27±6.14*	87.42±5.14	88.36±5.62	87.42±8.08
O1 组	70.32±10.26*#	78.76±6.39*#	81.53±6.17*#	86.82±4.72
C2 组	93.24±4.62	91.99±6.42	88.31±4.29	89.62±6.55
I2 组	90.32±5.43	89.59±6.85	88.61±4.09	88.49±4.08
O2 组	76.11±9.12 Δ	80.51±6.93 Δ	85.84±5.18	86.04±4.06

*:与 C1 组比较, P<0.05; #:与 I1 组比较, P<0.05; Δ :与 C2、I2 组比较, P<0.05。

3 讨 论

POCD 在临床并不少见,随着社会老龄化加剧,接受麻醉与手术的老年患者比例增加,POCD 发生率也呈上升趋势。关于 POCD 发生率各研究报道不一,但毋庸置疑的是 POCD 的发生不仅延长住院时间、增加费用支出、同时增高发病率及病死率^[6]。关于术后认知功能的研究也成为科研热点,然而 POCD 的发生机制仍然不明确,目前认为有多种因素与 POCD 的发生相关,如麻醉方法、麻醉药、手术类型、基础健康状况、并发症、缺氧、低血压、年龄、基础认知能力及基因差异等。但目前较明确的是 POCD 在老年患者发生率较高^[2]。研究报道术中应用吸入麻醉药异氟醚后对术后认知功能影响明显^[7],而临床报道腹部手术后 POCD 较常见,因此本研究应用异氟醚麻醉大鼠并进行剖腹探查术,尽可能模拟临床手术麻醉过程,术后通过行为学检测评价处理因素对大鼠认知功能的影响。

由于低血压、感染以及术中缺氧等因素可能影响 POCD 的发生^[8],因此本研究进行了血压、心率、血气及体温监测,以排除其他因素干扰,术后给予抗生素防止伤口感染。Morris 水迷宫是一种研究与学习记忆功能直接相关的测试方法,逃逸潜伏期直接反映了空间信息获取的学习能力,空间探索实验反映了记忆储存及提取再现的能力。而穿梭箱实验以光、电击为联合刺激,使实验动物由被动回避建立主动的条件反射。记录此条件反射建立过程中的 AAR 指标可反映实验动物的学习、记忆能力的变化。本实验结果显示,在成年大鼠中,麻醉并没有对大鼠认知能力产生明显影响,而老年大鼠却表现出认知能力下降,但在 1 周时并未见与对照组存在差异,说明异氟醚对老年大鼠的认知功能影响随时间延长逐渐减小。麻醉手术后大鼠均出现认知能力下降,老年大鼠尤为明显,并且持续时间较长,说明手术创伤应激在 POCD 中发挥了重要的作用。既往研究也报道了腹部手术后大鼠认知功能下降^[9],而研究报道局部麻醉与全身麻醉后 POCD 的发生率并未有明显的差别,同样提示了 POCD 发生机制与手术创伤的关系^[10]。本实验结果表明异氟醚吸入麻醉和剖腹探查手术引起(下转第 2296 页)

受体,从而阻断苯二氮卓类与 GABA 受体的结合,使突触后膜氯离子通道关闭,产生去极化,从而解除抑制性突触后电位,达到催醒效果^[7-8]。静脉麻醉药丙泊酚均可直接激活 GABA 受体,诱导内向性氯离子电流,造成患者认知功能下降,严重者即可发生 POCD。近年来研究发现氟马西尼可增强某些类型的记忆力^[9],但氟马西尼是否可改善丙泊酚麻醉后认知功能的降低或障碍目前尚不清楚。本研究发现丙泊酚麻醉后早期,患者空间认知能力、记忆和思维能力均有不同程度的降低,24 h 后逐渐恢复。给予氟马西尼后,患者清醒时间缩短;空间认知能力、记忆和思维能力均有不同程度的改善,以给予该药物后 30 min 作用最明显,说明给予氟马西尼不仅具有催醒作用,同时确能改善丙泊酚麻醉后早期认知功能。但与术前认知功能比较,仍存在差异,说明氟马西尼只能在一定程度上改善术后认知功能减退或障碍,而不能完全逆转。提示术后 POCD 发生的机制涉及多方面,而且氟马西尼对丙泊酚麻醉后认知功能减退的改善作用发生在给予药物后 2 h 内,这可能与氟马西尼的作用时间较短有关。

综上所述,在采用丙泊酚麻醉后给予氟马西尼可在一定程度上改善老龄患者术后早期认知功能减退或障碍。

参考文献:

- [1] Ghouri AF, Ruiz MA, White PF, et al. Effect of flumazenil on recovery after midazolam and propofol sedation[J]. *Anesthesiology*, 1994, 81(2): 333.
- [2] Wei H, Xiong W, Yang S, et al. Propofol facilitates the development of long-term depression (LTD) and impairs the maintenance of long-term potentiation (LTP) in the CA1 region of the hippocampus of anesthetized rats[J].

(上接第 2293 页)

的术后认知能力下降在不同年龄大鼠中表现出不同的影响,而尤其以手术对认知功能影响较大,同时老年大鼠更易发生认知能力损害。

综上所述,本研究通过模拟临床麻醉、手术过程,成功构建了术后认知功能损害的大鼠模型,并比较了麻醉手术对成年和老年大鼠认知功能影响的差别,为今后研究 POCD 发生机制奠定了一定基础。由于 POCD 发生机制比较复杂,就目前研究水平来看,POCD 的模型建立尚缺乏一个标准的处理方法及评价金标准,目前国内外学者倾向于通过动物组间行为学差异来认定认知能力的下降,而建立一个公认的标准化处理方案及判断金标准仍然是努力的方向。

参考文献:

- [1] Johnson T, Monk T, Rasmussen LS, et al. Postoperative cognitive dysfunction in middle-aged patients[J]. *Anesthesiology*, 2002, 96: 135.
- [2] Rohan D, Buggy DJ, Crowley S, et al. Increased incidence of postoperative cognitive dysfunction 24 hr after minor surgery in the elderly[J]. *Can J Anaesth*, 2005, 52(2): 137.
- [3] 邓娟,周华东,李敬诚,等. 吸烟对 AD 大鼠认知功能和 tau 蛋白异常磷酸化的影响[J]. *中国行为医学科学*, 2007, 16(7): 591.
- [4] 诸葛正兵,方琦,金春雷,等. 杏仁核电点燃癫痫对大鼠穿

Neurosci Lett, 2002, 324(3): 181.

- [3] Herzog CD, Stackman RW, Walsh TJ. Intraseptal flumazenil enhances, while diazepam binding inhibitor impairs, performance in a working memory task[J]. *Neurobiol Learn Mem*, 1996, 66(3): 341.
- [4] 李德明,刘昌,李贵芸. “基本认知能力测验”的编制及标准化工作[J]. *心理学报*, 2001, 33(5): 453.
- [5] Kubitz J, Epple J, Bach A, et al. Psychomotor recovery in very old patients after total intravenous or balanced anaesthesia for cataract surgery[J]. *Br J Anaesth*, 2001, 86(2): 203.
- [6] 洪得厚. 记忆心理学: 实用心理学丛书[M]. 北京: 科学普及出版社, 1988: 142.
- [7] Veselis RA, Reinsel RA, Vladimir A, et al. The comparative amnestic effects of midazolam, propofol, thiopental, and fentanyl at equisedative concentrations[J]. *Anesthesiology*, 2001, 87(4): 749.
- [8] Rusch D, Forman SA. Classic benzodiazepines modulate the open-close equilibrium in alpha1beta2gamma2L gamma-aminobutyric acid type A receptors[J]. *Anesthesiology*, 2005, 102(4): 783.
- [9] Hall BJ, Chebib M, Hanrahan JR, et al. Flumazenil-independent positive modulation of gamma-aminobutyric acid action by 6-methylflavone at human recombinant alpha1beta2gamma2L and alpha1beta2 GABAA receptors[J]. *Eur J Pharmacol*, 2004, 491(1): 1.

(收稿日期: 2010-03-25 修回日期: 2010-06-25)

梭箱被动回避反应的记忆保持能力的作用[J]. *浙江大学学报*, 2008, 37(5): 463.

- [5] 王昌铭,向静,王景周,等. 血管性痴呆大鼠颈内动脉灌注脐血单个核细胞与血脑屏障的相关性研究[J]. *第三军医大学学报*, 2006, 28(12): 1330.
- [6] Monk TG, Weldon BC, Garvan CW, et al. Predictors of cognitive dysfunction after major noncardiac surgery[J]. *Anesthesiology*, 2008, 108(1): 18.
- [7] Delphin E, Jackson D, Gubenko Y, et al. Sevoflurane provides earlier tracheal extubation and assessment of cognitive recovery than isoflurane in patients undergoing off-pump coronary artery bypass surgery[J]. *Cardiothorac Vasc Anesth*, 2007, 21(5): 690.
- [8] Stygall J, Hirani S, Shaefi S, et al. Postoperative cognitive dysfunction after noncardiac surgery[J]. *Anesthesiology*, 2007, 106: 572.
- [9] 耿德勤,王红梅,王志萍,等. 老龄大鼠麻醉术后认知障碍动物模型的建立及评价[J]. *实用临床医药杂志*, 2005, 9(1): 9.
- [10] 潘丽峰,王东信,李军. 不同麻醉和镇痛方法对老年患者非心脏手术后早期认知功能的影响[J]. *北京大学学报*, 2006, 10(38): 510.

(收稿日期: 2010-03-25 修回日期: 2010-06-25)