

针刺百会穴对老年大鼠吸入麻醉后认知功能障碍的影响

谢冕¹,张雪梅²,郭波¹,张益³,喻田³

(1. 重庆市中医院麻醉科 400021; 2. 重庆市妇幼保健院超声科 400010; 3 遵义医学院麻醉学系, 贵州遵义 563000)

[摘要] **目的** 探讨针刺百会穴对老年大鼠异氟醚吸入麻醉术后认知功能障碍(POCD)的效果及电生理机制。**方法** 48只老年SD大鼠分为针刺百会穴+异氟醚吸入组(AI组),单纯异氟醚吸入组(I组)及对照组(C组),每组16只。AI组与I组接受1.5%异氟醚吸入4h,C组吸入空气。麻醉7d后从3组中各抽取8只进行Morris水迷宫实验,包括定位航行实验和空间探索实验,以评估3组大鼠的空间学习记忆能力;其余大鼠进行在体电生理实验,通过比较各组高频刺激(HFS)前后海马CA1区神经元场兴奋性突触后电位(fEPSP)的幅度来评价长时程增强(LTP)的变化。**结果** AI组与C组每日定位航行实验的逃避潜伏期均明显短于I组($P<0.05$);I组跨台次数(5.9 ± 2.1)较AI组(15.4 ± 1.6)与C组(16.4 ± 1.1)明显减少($P<0.01$);电生理实验:C组在HFS后1、30 min和60 min的fEPSP幅度为 $248.2\%\pm 16.3\%$, $217.5\%\pm 17.6\%$ 与 $195.8\%\pm 11.9\%$;I组分别为 $201.3\%\pm 19.7\%$, $153.2\%\pm 13.9\%$, $146.7\%\pm 22.8\%$,与C组相比显著降低($P<0.01$);AI组相应时间点的fEPSP幅度为 $240.5\%\pm 13.8\%$, $199.6\%\pm 11.1\%$ 与 $194.2\%\pm 20.2\%$,与I组相比有明显的升高($P<0.05$)。I组HFS后fEPSP幅度明显低于AI组与C组($P<0.05$);AI组与C组间两种行为学实验以及LTP实验比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 异氟醚吸入麻醉可导致老年大鼠发生明显的POCD,而针刺百会穴可明显缓解异氟醚所导致的学习记忆功能障碍。

[关键词] 认知障碍;海马;针灸疗法;老年大鼠;长时程增强

[中图分类号] R614.2 R254.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)26-3624-03

The impact of acupuncturing BaiHui on preventing cognitive dysfunction after isoflurane anesthesia in aged rats

Xie Mian¹, Zhang Xuemei², Guo Bo¹, Zhang Yi³, Yu Tian³

(1. Department of Anesthesiology, Chongqing Hospital of TCM, Chongqing 400021, China; 2. Department of Ultrasound, Chongqing Health Center of Women and Children, Chongqing 400010, China; 3. Department of Anesthesiology, Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou 563000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the impact and electrophysiological mechanism of acupuncturing BaiHui in prevention of postoperative cognitive dysfunction (POCD) after isoflurane anesthesia. **Methods** 48 aged rats were randomly assigned into 3 groups: acupuncturing BaiHui plus isoflurane anesthesia (group AI), group isoflurane anesthesia (group I) and control group (group C), with 16 rats in each groups respectively. Group AI and I inhaled 1.5% isoflurane for 4h and group C inhaled air. 7 days after anesthesia, 8 rats were extracted from each group for Morris water maze, including place navigation test and spatial probe test, for estimating the spatial learning-memory ability. Other rats were used for in vivo electrophysiological experiment. The variation of LTP was assessed via comparing the amplitude of field excitatory postsynaptic potential (fEPSP) before and after high frequency stimulation (HFS) in hippocampal CA1 regions. **Results** The escape latency of place navigation test of group I was remarkably shorter than group AI and group C ($P<0.05$). In the spatial probe test, the frequency to cross the platform of group I was notably less than group AI and C ($P<0.05$). Amplitude of fEPSP after HFS in group I was lower than group AI and C as well. ($P<0.05$). However, there was no significant difference in the behavioral and electrophysiological results between group AI and C ($P>0.05$). **Conclusion** Isoflurane anesthesia could induce obvious POCD and learning-memory deficits in aged rat, which can be relieved by acupuncturing BaiHui. The underlying mechanism may be correlated with improvement of hippocampal oxygen supply and reduction of LTP lesions.

[Key words] cognition disorders; hippocampus; acupuncture-moxibustion; aged rat; long-term potentiation

异氟醚是临床上常用的吸入麻醉药,但老年患者在异氟醚麻醉后却时有精神错乱、焦虑、人格改变以及学习记忆功能受损等中枢神经功能障碍的发生,统称为术后认知功能障碍(postoperative cognitive dysfunction, POCD)^[1]。如何预防这一并发症成为了麻醉师目前所面临的重大难题。针灸作为我国传统医学的瑰宝,已被证明有明显的脑保护作用^[2-3]。但其是否可以预防异氟醚麻醉所导致的POCD目前仍不明确。海马神经元长时程增强(long-term potentiation, LTP)是学习记

忆的基础,同时也是全身麻醉影响学习记忆的重要途径^[4]。因此本研究旨在通过行为学和电生理的方法,探讨针刺百会穴预防老年大鼠POCD的效果及具体机制。

1 材料与方法

1.1 材料 健康成年SPF级SD大鼠48只,20月龄,雌雄不拘,体质量510~650g,购自第三军医大学实验动物中心,动物许可证号:SCXK(渝)2007-0005。大鼠分为针刺百会+异氟醚吸入组(AI组),单纯异氟醚吸入组(I组)以及对照组(C组),

每组 16 只。

1.2 方法

1.2.1 麻醉方法 AI 组与 I 组大鼠放入麻醉箱中,吸入含 1.5% 异氟醚的运载气体(每分钟 O₂ 1 L + air 1 L)(批号: N0088008, Baxter 公司, 美国)4 h, C 组则放入麻醉箱中吸入含 30% 氧气的空氧混合气 4 h。AI 组大鼠于异氟醚麻醉后取百会穴行针灸刺激,采用 15 mm×0.26 mm 毫针,接 G6805-2 型电针仪(上海华谊医用仪器有限公司生产)通电刺激至术毕。刺激波形疏密波,频率 2/15 Hz,电针强度为引起局部肌肉轻微颤动,大鼠穴位根据中国针灸学会实验针灸研究会制订的《动物针灸穴位图谱》进行选择。

1.2.2 行为学实验 异氟醚麻醉后 7 d 各组均取 8 只大鼠行 Morris 水迷宫(成都泰盟科技有限公司)实验。Morris 水迷宫实验在正式实验开始前 1 d,所有参与行为学实验的动物适应环境;由定位航行实验和空间探索实验组成的正式实验。方法同王东等^[5]报道。

1.2.3 电生理记录 麻醉后 7 d 时 3 组各取 8 只大鼠行在体电生理记录:大鼠头部固定于脑立体定位仪上(深圳瑞沃德科技有限公司),局部麻醉后切开头皮,根据大鼠脑立体定位图谱确定大鼠海马 CA1 区(前囟后 3.6 mm,中线旁 3.0 mm,深度 1.8~2.2 mm)及 Schaffer 侧枝(前囟后 4.1 mm,中线旁 3.7 mm,深度 2.6~3.0 mm)的坐标。记录电极(阻抗:2MΩ, A-M System 公司,美国)尖端置于 CA1 区,刺激电极(WPI 公司,美国)置于 Schaffer 侧枝。电生理数据采集通过 Model 3000 微电极放大器(A-M System 公司,美国)完成,刺激的给予运用 Master8 刺激仪(AMPI 公司,以色列)完成。首先给予波宽为 0.1 ms 的方波对 Schaffer 侧枝进行刺激,调整刺激强度直至 CA1 区所诱发的场兴奋性突触后电位(field excitatory postsynaptic potential, fEPSP)幅值约为最大值的 50%,以此强度为基础刺激强度,记录此刺激强度下 fEPSP 30 min,以确保突触传递的稳定。此后以 3 串 200 Hz 的高频刺激(high frequency stimulation, HFS)诱发 LTP,每串包含 20 个脉冲,每串间隔 30 s, HFS 后给予基础刺激强度并记录 6 min。fEPSP 幅值的计算方法为 fEPSP 起点到终点的连线与 fEPSP 最低值交汇处的垂直距离;以基础刺激诱发 fEPSP 的幅值为 100%,其他时点的数据均以此作归一化;以 HFS 前后 fEPSP 的幅值的增幅代表 LTP 的程度,并观察比较 3 组大鼠 HFS 前后 LTP 的情况。

1.3 统计学处理 统计学分析采用 SPSS19.0 完成,电生理数据的处理采用 SPIKE2 软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间比较用单因素方差分析完成,组间两两比较用 LSD 法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

各组大鼠在吸入异氟醚期间状态良好, SpO₂ 均在 90% 以上,且麻醉苏醒良好。

2.1 定位航行逃避潜伏期 各组大鼠与第 1 天相比,后 4 d 的逃避潜伏期有不同程度的缩短($P < 0.05$),说明各组大鼠均对之前训练产生了记忆。各组相比, AI 组与 C 组每天的逃避潜伏期均明显短于 I 组($P < 0.05$), AI 组与 C 组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

2.2 空间探索实验 I 组跨台次数(5.9±2.1)较 AI 组(15.4±1.6)与 C 组(16.4±1.1)明显减少($P < 0.01$), AI 组跨台次数与 C 组相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。

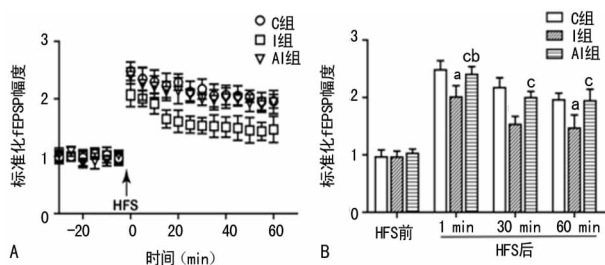
2.3 3 组 HFS 前后 fEPSP 幅度(LTP)的比较 各组在 HFS

后 fEPSP 幅度均升高 30% 以上,维持超过 30 min,说明 LTP 诱发成功。C 组在 HFS 后 1、30、60 min 的 fEPSP 幅度为 248.2%±16.3%, 217.45%±17.6% 与 195.8%±11.9%; I 组分别为 201.3%±19.7%, 153.2%±13.9%, 146.7%±22.8%, 与 C 组相比显著降低($P < 0.01$); AI 组相应时间点的 fEPSP 幅度为 240.5%±13.8%, 199.6%±11.1% 与 194.2%±20.2%, 与 I 组相比有明显的升高($P < 0.05$)。AI 组与 C 组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 3 组大鼠 5 d 逃避潜伏期的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
C 组	8	35.6±10.8	20.7±1.0	12.1±5.3	8.8±3.7	9.4±4.3
I 组	8	58.9±8.4 ^a	35.0±7.2 ^a	25.5±5.7 ^a	18.6±3.9 ^a	17.1±4.5 ^a
AI 组	8	35.6±7.8 ^b	19.0±6.6 ^b	11.0±5.2 ^b	9.5±4.8 ^b	9.6±3.9 ^b

^a: $P < 0.05$, 与 C 组相比; ^b: $P < 0.05$, I 组相比。



A: 3 组大鼠 fEPSP 幅度 HFS 前后变化示意图, B: 3 组间比较的统计图。^a: $P < 0.05$, ^b: $P < 0.01$, 与 C 组相比。 ^c: $P < 0.05$, 与 I 组相比。

图 1 3 组大鼠 fEPSP 幅度(LTP)的比较。

3 讨论

随着我国人口的逐渐老龄化,接受手术与麻醉的老年人势必越来越多,而老年人术后易发生 POCD,可导致患者生活质量严重下降、住院时间延长、住院费用增加^[6-7]。吸入麻醉药是 POCD 的诱发因素之一。研究显示,异氟醚麻醉后 POCD 的发生率可高达 27%^[8-9]。目前临床上尚无特别有效的方法可预防异氟醚麻醉导致的 POCD。有研究发现,术前针刺百会穴可减少高龄患者术后认知功能障碍的程度,但该方法是否也可以减轻异氟醚所致的 POCD,以及其具体的机制却仍然不明^[10-11]。

海马神经元的 LTP 在学习记忆的过程中扮演者非常重要的角色。研究发现,异氟醚对学习记忆影响的功能机制可能正是与其抑制了海马神经元的 LTP 有关^[12-13]。在本研究中,老年大鼠吸入异氟醚 7 d 后在行为学上发生了明显的学习记忆功能障碍,同时海马 CA1 区神经元的 LTP 也明显受到抑制。给予针刺百会穴干预后,老年大鼠的空间学习记忆能力与海马神经元 LTP 均恢复到了基本正常的水平。这说明了针刺百会穴对异氟醚所致的 POCD 有明显的缓解效果,且其可能的作用机制是通过改善了异氟醚对海马神经元 LTP 的抑制作用。

针刺百会穴可提升阳气,开窍启闭,有醒神安神功效,同时还可以调节督脉。有研究报道,电针刺刺激督脉可增加脑部血流,改善脑部缺血症状,从而产生脑保护作用^[14-15]。因此,本研究中,针刺百会穴可能正是通过这一途径,改善了海马神经元的氧供,从而缓解了异氟醚所致的 LTP 抑制,最终达到了预防麻醉后 POCD 发生的效果。

综上所述,异氟醚麻醉可导致老年大鼠发生明显的 POCD,而针刺百会穴可明显缓解异氟醚所导致的学习记忆功

能障碍,其机制可能与减轻异氟醚对海马神经元 LTP 的损伤有关。

参考文献

- [1] Baer GA, Paloheimo M, Randell T. Postoperative cognitive dysfunction in the elderly surgical patient[J]. *Bri J Anaesth*, 1999, 82(5): 812-813.
 - [2] 王强,熊利泽. 电针预处理脑保护的研究进展. *国际麻醉与复苏杂志*, 2011, 32(5): 597-603.
 - [3] 徐浩,沈剑,赵昱,等. 电针预处理大鼠百会穴对脑缺血保护作用及 HIF-1 α 相关机制的研究[J]. *神经解剖学杂志*, 2015, 31(5): 617-622.
 - [4] Zarnowska ED, Rodgers FC, Oh I, et al. Etomidate blocks LTP and impairs learning but does not enhance tonic inhibition in mice carrying the N265M point mutation in the beta3 subunit of the GABA(A) receptor[J]. *Neuropharmacology*, 2015, 93(2): 171-178.
 - [5] 王东,张旭,杨天德,等. Orexin-A 对氯胺酮麻醉老年大鼠学习记忆及基底前脑 ChAT 表达的影响[J]. *重庆医学*, 2009, 38(15): 1885-1887.
 - [6] Tan CB, Ng J, Jeganathan R, et al. Cognitive changes after surgery in the elderly: does minimally invasive surgery influence the incidence of postoperative cognitive changes compared to open colon surgery? [J]. *Demer Geriatr Cognit Dis*, 2015, 39(3/4): 125-131.
 - [7] Consultant JS, Consultant LSR. Peri-operative cognitive dysfunction and protection [J]. *Trends Anaesth Critic Care*, 2016, 71(Suppl6): 436-443.
 - [8] Zhang B, Tian M, Zhen Y, et al. The effects of isoflurane and desflurane on cognitive function in humans[J]. *Anesthesia analgesia*, 2012, 114(2): 410-415.
 - [9] Tao G, Xue Q, Luo Y, et al. Isoflurane Is More Deleterious to Developing Brain Than Desflurane: The Role of the Akt/GSK3 β Signaling Pathway [J]. *Bio Med Res Int*, 2016: 7919640.
 - [10] 尹正录,孟兆祥,林舜艳,等. 穴位电刺激对高龄患者术后认知功能及炎症因子的影响[J]. *中华针灸电子杂志*, 2015, 4(4): 159-163.
 - [11] 朱俊超,杨延超,滕秀飞,等. 甲强龙联合经皮穴位电刺激对老年患者术后认知功能的影响[J]. *中国医科大学学报*, 2016, 45(3): 233-235.
 - [12] Ballesteros KA, Sikorski A, Orfila JE, et al. Effects of inhaled anesthetic isoflurane on long-term potentiation of CA3 pyramidal cell afferents in vivo[J]. *Inter Gene Med*, 2012(5): 935-942.
 - [13] 刘媛媛,闵苏. 长时程增强及长时程抑制与全麻药关系的研究进展[J]. *国际麻醉学与复苏杂志*, 2009, 30(6): 548-550.
 - [14] 苏志伟,贾爱芬,吴中秋,等. 浅谈益肾通督法治治疗认知功能障碍的思路与方法[J]. *河北中医药学报*, 2010, 25(3): 34-34.
 - [15] 郑琦. 益肾调督针法治治疗脑卒中后轻度认知功能障碍的临床研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2014.
- (收稿日期: 2016-02-19 修回日期: 2016-04-06)
-
- (上接第 3623 页)
- BCRP gene expression is related to epithelial-mesenchymal transition inducer genes in a papillary thyroid carcinoma cell line (TPC-1) [J]. *J Mol Endocrinol*, 2014, 5252(3): 289-300.
- [6] Valastyan S, Weinberg RA. Tumor Metastasis; Molecular Insights and Evolving Paradigms [J]. *Cell*, 2011, 147(2): 275-292.
 - [7] Ni ZL, Bikadi Z, Rosenberg MF, et al. Structure and Function of the Human Breast Cancer Resistance Protein (BCRP/ABCG2) [J]. *Curr Drug Metab*, 2010, 11(7): 603-617.
 - [8] Ding XW, Wu JH, Jiang CP. ABCG2: a potential marker of stem cells and novel target in stem cell and cancer therapy [J]. *Life Sci*, 2010, 86(17/18): 631-637.
 - [9] Adrian B, Mackenzie IC. Cancer stem cells and EMT in carcinoma [J]. *Cancer Metastasis*, 2012, 31(1-2): 285-293.
 - [10] Voulgari A, Pintzas A. Epithelial-mesenchymal transition in cancer metastasis: mechanisms, markers and strategies to overcome drug resistance in the clinic [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1796(2): 75-90.
 - [11] Kowalski PJ, Rubin MA, Kleer CG. E-cadherin expression in primary carcinomas of the breast and its distant metastases [J]. *Breast Cancer Res*, 2003(5): 217-222.
 - [12] Nakajima S, Doi R, Toyoda E, et al. N-cadherin expression and epithelial-mesenchymal transition in pancreatic carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(12 Pt 1): 4125-4133.
 - [13] Med DR, Aydin F, Flügen G, et al. Epithelial-Mesenchymal-Transition (EMT); The role of E-cadherin transcription regulators SIP1, Twist and Snail in colorectal adenomas [J]. Springer Berlin Heidelberg, 2009, 38(8): 245-246.
 - [14] Rai H, Ahmed J. N-Cadherin; A Marker Of Epithelial To Mesenchymal Transition In Tumor Progression [J]. *Inter J Oncol*, 2014, 10(1): 55-61.
 - [15] Bhattacharya S, Das A, Mallya K, et al. Maintenance of retinal stem cells by Abcg2 is regulated by notch signaling [J]. *J Cell Sci*, 2007, 120(15): 2652-2662.
 - [16] Singh RR, Kunkalla K, Qu C, et al. ABCG2 is a direct transcriptional target of hedgehog signaling and involved in stroma-induced drug tolerance in diffuse large B-cell lymphoma [J]. *Oncogene*, 2011, 30(49): 4874-4886.
 - [17] Goler-Baron V, Sladkevich I, Assaraf YG. Inhibition of the PI3K-Akt signaling pathway disrupts ABCG2-rich extracellular vesicles and overcomes multidrug resistance in breast cancer cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 83(10): 1340-1348.
- (收稿日期: 2016-02-12 修回日期: 2016-04-06)