

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.10.008

网络首发 http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20181228.0912.008.html(2018-12-29)

新生大鼠哺乳期间断吸入七氟烷对老年期行为学及海马 ApoE 的影响*

吴振宇^{1,2}, 谢 笛², 唐春春³, 朱宇航¹, 朱昭琼^{1,2△}

(1. 遵义医学院附属医院麻醉科, 贵州遵义 563000; 2. 贵州省麻醉与器官保护基础研究重点实验室, 贵州遵义 563000; 3. 贵州省遵义市第一人民医院 ICU, 贵州遵义 563000)

[摘要] **目的** 探讨新生大鼠哺乳期间断吸入七氟烷对老年期行为学及海马中载脂蛋白 E(ApoE) 的影响。**方法** 健康 7 日龄 SD 大鼠 48 只, 随机分为七氟烷哺乳期组(Sev1 组)、七氟烷老年期组(Sev2 组)及哺乳期对照组(Con1 组)、老年期对照组(Con2 组), 共 4 组, 每组 12 只。Sev1、2 组于生后 7、14 和 21 d 分别吸入 2.6% 七氟烷 2 h, Con1、2 组吸入空气混合气体。哺乳期组大鼠于生后 31 d、老年期组大鼠于生后 20 个月行 Morris 水迷宫实验; 实验结束后取海马组织, 荧光定量聚合酶链反应(PCR)测 ApoE mRNA 表达, 免疫组织化学测 ApoE、ApoE4 表达。**结果** 定位航行实验中, 各组大鼠逃避潜伏期均逐渐缩短, 但 Sev1 组与 Con1 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 而 Sev2 组与 Con2 组比较, 第 3 天逃避潜伏期延长($P < 0.05$); 空间探索实验中, Sev1 组与 Con1 组比较、Sev2 组与 Con2 组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$); Sev1 组与 Con1 组比较、Sev2 组与 Con2 组比较, 海马 ApoE mRNA 表达均上调($P < 0.05$); Sev1 组相对 Con1 组大鼠海马 CA1 区和 CA3 区 ApoE 表达上调($P < 0.05$), DG 区 ApoE 表达差异无统计学意义($P > 0.05$); Sev2 组相对 Con2 组海马各分区 ApoE 表达差异无统计学意义($P > 0.05$); Sev1 组与 Con1 组比较、Sev2 组与 Con2 组比较, 海马各分区 ApoE4 表达差异均无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 哺乳期大鼠间断吸入 2.6% 七氟烷麻醉后, 对大鼠海马 ApoE 有短暂影响, 但并不造成其老年期海马 ApoE 异常及明显行为学改变。

[关键词] 大鼠; 海马; 动物, 新生; 七氟烷; 远期行为学; 载脂蛋白

[中图分类号] R614.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2019)10-1652-05

Effect of intermittent inhalation of sevoflurane in lactation rats on gerontic behavior and ApoE in hippocampus*

WU Zhenyu^{1,2}, XIE Di², TANG Chunchun³, ZHU Yuhang¹, ZHU Zhaoqiong^{1,2△}

(1. Department of Anesthesiology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou 563000, China; 2. Guizhou Key Laboratory of Fundamental Research on Anesthesiology and Organ Protection, Zunyi, Guizhou 563000, China; 3. the First People's Hospital of Zunyi, Zunyi, Guizhou 563000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of intermittent inhalation of sevoflurane in lactation rats on gerontic behavior and ApoE in hippocampus. **Methods** A total of 48 healthy 7-day old rats were randomly assigned into four groups, group of sevoflurane anesthesia of lactation (group Sev1), group of sevoflurane anesthesia of gerontism (group Sev2), control group of lactation (group Con1), control group of gerontism (group Con2). Rats in group Sev1 and Sev2 were inhaled with 2.6% sevoflurane for 2 hours at 7 th, 14 th and 21 st day after birth, while rats in group Con1 and Con2 were inhaled with oxygen mixed gas. Morris water maze test was performed in lactation rats 31 days after birth and gerontic rats 20 months after birth. Afterwards, hippocampus tissue was collected to determine the mRNA expression of ApoE by RT-PCR and the expression of ApoE and ApoE4 by immunohistochemistry. **Results** The escape latency in the orientation navigation experiment exhibited a shortened tendency in each group, which was not statistically different between group Sev1 and group Con1 ($P > 0.05$), but was significantly prolonged in group Sev2 compared to group Con2 at the third day ($P < 0.05$). In terms of spatial probe test, there was no statistical significance between group Sev1 and group Con1, or group Sev2 and group Con2 ($P > 0.05$). The mRNA expression of ApoE in rat hippocampus was significantly up-regulated in group Sev1 compared to group Con1, and it was significantly

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81360180, 81660193); 贵州省科技厅联合基金项目(黔科合 J 字 LKZ[2012]04 号)。作者简介: 吴振宇(1990—), 住院医师, 在读硕士, 主要从事吸入麻醉的研究。△ 通信作者, E-mail: 693315357@qq.com。

elevated in group Sev2 compared to group Con2 (all $P < 0.05$). Compared to group Con1, the ApoE expression of CA1 region and CA3 region in rat hippocampus was significantly up-regulated in group Sev1 ($P < 0.05$), however, the ApoE expression of DG region was not statistically different between the two groups ($P > 0.05$). The ApoE expression in different regions of hippocampus was not statistically significant between group Sev2 and Con2 ($P > 0.05$). There was no statistical significance of ApoE4 expression in different regions of hippocampus between group Sev1 and group Con1, or group Sev2 and group Con2 ($P > 0.05$). **Conclusion** Intermittent inhalation of 2.6% sevoflurane in lactation rats could lead to transient effect on ApoE in hippocampus of lactation rats, which, however, was not adequate to cause abnormality of ApoE in gerontic hippocampus or obvious behavior changes.

[Key words] rats; hippocampus; animals, newborn; sevoflurane; long term behavior; apolipoproteins E

婴幼儿时期是大脑发育的关键时期,该时期机体的中枢神经系统对于内外环境的变化异常敏感^[1]。小儿智力发育状况直接关系其未来成长的远期结果,但由于疾病、创伤、意外等多重风险因素的存在,不同年龄的小儿可能面临需要在全身麻醉下进行一次或多次的医学检查及治疗。目前已有研究表明老年患者接受七氟烷麻醉后可出现显著持久的认知功能障碍^[2]。但临床常用小儿全身麻醉药七氟烷麻醉后,对婴幼儿时期大脑发育及远期的认知功能的影响目前鲜有报道。载脂蛋白 E (apolipoprotein-E, ApoE) 及其基因型的异常表达是目前较为公认的影响老年期认知功能的重要因素^[3],然而对其他年龄段影响不明。故本实验观察哺乳期大鼠间断吸入七氟烷麻醉后,哺乳期、老年期行为学变化及海马 ApoE 变化差异,探讨间断吸入七氟烷麻醉影响大鼠海马 ApoE 变化与不同时期认知功能的改变,并探索其机制。

1 材料与方法

1.1 主要药品、试剂与仪器 七氟烷(批号:65130704,山东鲁南贝特制药有限公司);ApoE 一抗(北京奥博森生物技术有限公司);GTVision III 抗鼠/兔通用型免疫组织化学试剂盒(上海基因科技有限公司);Trizol、PrimeScript RTReagent Kit(TaKaRa 公司,日本);iQ SYBR GreenSupermix(Bio-Rad 公司,美国);Fabius 麻醉机、Va-mos 气体监测仪(Draeger 公司,德国);自制吸入麻醉箱;Morris 水迷宫测试仪(成都泰盟科技有限公司);显微镜(Olympus 公司,日本);CFX 荧光定量聚合酶链反应(PCR)仪(Bio-Rad 公司,美国)。

1.2 动物选择及分组 新生 7 日龄 SD 大鼠 48 只,雌雄不拘,由重庆第三军医大学实验动物中心提供[SCXK(渝)2012-0005]。依照体质量及大鼠年龄采用随机数字表法分为 4 组,即间断七氟烷麻醉哺乳期(P0~P37)组(Sev1 组, $n=12$)、哺乳期对照组(Con1 组, $n=12$)、间断七氟烷麻醉老年期(P600~P606)组(Sev2 组, $n=12$)及老年期对照组(Con2 组, $n=12$)。Sev1、2 组分别于出生后第 7 天(P7)、第 14 天(P14)、第 21 天(P21)经七氟烷处理:将自制吸入麻醉箱(75 cm×40 cm×15 cm)进、出气口连接麻醉机及气

体监护仪,调节气体流量及七氟烷挥发罐完成箱内气体平衡,待进出气口七氟烷浓度稳定于 2.6%后放入大鼠,并维持 2.6%七氟烷浓度麻醉 2 h;Con 组在上述时间点分别吸入空氧混合气体(空气 1 L/min+ O₂ 1 L/min)2 h。麻醉结束待自然苏醒后放回原饲养笼喂养。饲养环境相对湿度 50%~60%,温度 20~24 °C,自然昼夜循环光照,母乳喂养。

1.3 认知功能测定 Sev1 组、Con1 组于第 31~37 天进行 Morris 水迷宫实验,包括 1 d 的适应性训练、5 d 的定位航行实验和 1 d 的空间探索实验。定位航行实验:每天 4 次,将平台设置为低于水面 1.5 cm。依次从 4 个象限的盆壁中点将大鼠面向盆壁放入水中,以大鼠 120 s 内找到并爬上平台时间记录为逃避潜伏期。若 120 s 内没有找到平台,则指引其找到并置于平台上休息 20 s 后再次实验。若大鼠 3 次均未能爬上平台,将予以剔除。空间探索实验:实验第 6 天,撤去平台,大鼠从原平台象限的对侧象限入水,游泳 120 s,记录原平台象限滞留时间百分比,原平台象限运动距离百分比,原平台象限进入次数百分比。Sev2 组($n=12$)、Con2 组($n=12$)于 20 个月完成上述相同实验。

1.4 海马 ApoE mRNA 表达的检测 水迷宫实验结束后立即取材,每组各 6 只腹腔注射 1%戊巴比妥钠 30 mg/kg 麻醉后取海马组织,置于 0.5 mL Trizol 液中,用研杵充分匀浆至组织完全裂解,加入氯仿 0.2 mL,快速摇匀,4 °C 以 12 000 r/min 离心 10 min,取出上清液,加 0.2 mL 异丙醇摇匀后,室温静置 10 min,4 °C 以 12 000 r/min 离心 10 min,弃上清液。加入 75%乙醇 0.5 mL,4 °C 下以 12 000 r/min 离心 10 min,弃上清液。将 EP 管倒置于滤纸上室温下自然干燥,以去酶水 50 μ L 溶解。采用紫外分光光度计测定吸光度值(A_{260}/A_{280})。根据 GenBank 中目的基因全序列,使用 Primer Premier 5.0 软件自行设计引物, ApoE mRNA 上游引物:5'-GTG CAG ACG CTT TCT GAC C-3',下游引物:5'-CTT CCG TCA TAG TGT CCT CCA TC-3'。荧光定量 PCR 反应体系为 ddH₂O 7.6 μ L, SYBR 10 μ L,上游引物 0.4 μ L,下游引物 0.4 μ L, DNA 模板 1.6 μ L,每管共计 20 μ L。

PCR 反应条件:95.0 °C 预变性 10 s;95.0 °C 5 s, 60.6 °C 20 s,循环 40 次;55.0 °C 开始,每 0.5 °C 采集 10 s 荧光。采用 2^{-ΔΔCT} 法计算目的基因的相对表达水平。

1.5 海马 ApoE、ApoE4 表达的检测 水迷宫结束后立即取材,将两组实验动物每组各 6 只,腹腔注射 1%戊巴比妥钠 30 mg/kg 麻醉后处死,取出脑组织置于 4%多聚甲醛溶液中固定 24 h 后石蜡包埋切片、脱蜡、复水、抗原修复,磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗后加一抗。次日复温,PBS 冲洗 3 次后孵育二抗,二氨基联苯胺(DAB)显色,苏木素复染,脱水、透明、封片。400 倍光镜下进行半定量分析,每张切片选取海马 CA1 区、CA3 区和 DG 区,每区选取 4 个视野,采用 Image-Pro Plus6.0 图像分析软件检测 144 个(1 蛋白×12 标本×3 区×4 视野=144)视野 A 值,以平均 A 值反映 ApoE、ApoE4 的表达水平。

1.6 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,不同时间点之间及组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),有差异者进一步两两比较,组间比较采用两独立样本 t 检验。水迷宫采用球形检验后再行重复测量方差分析。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 水迷宫实验结果

2.1.1 定位航行实验 随实验时间增加,各组大鼠逃避潜伏期呈缩短趋势,其中 Sev1 组与 Con1 组比较差异无统计学意义(P>0.05)。实验数据第 3 天 Sev2 组大鼠与 Con2 组比较,差异有统计学意义(P<0.05)。见图 1、2。

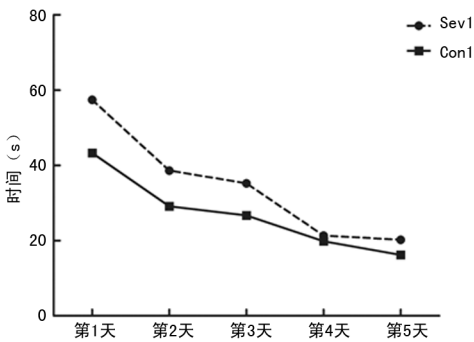


图 1 哺乳期组大鼠定位航行实验逃避潜伏期比较

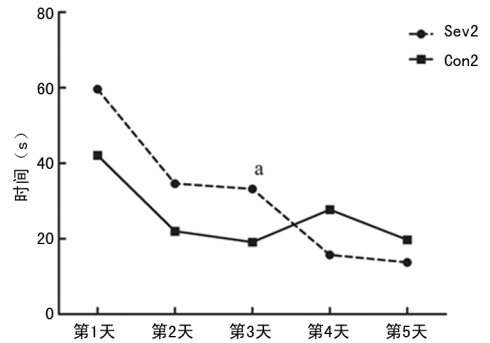
2.1.2 空间探索实验 Sev1 组与 Con1 组相比较,Sev2 组与 Con2 组相比较,原平台象限滞留时间百分比、原平台象限运动距离百分比、原平台象限进入次数百分比差异无统计学意义(P>0.05)。见表 1。

2.2 荧光定量 PCR 结果 Sev1 组与 Con1 组比较,Sev2 组与 Con2 组比较,大鼠海马 ApoE mRNA 表达均明显上调(P<0.05)。见表 2。

2.3 免疫组织化学实验结果

2.3.1 大鼠海马 ApoE 蛋白表达结果 与 Con1 组

比较,Sev1 组海马 CA1 区和 CA3 区 ApoE 表达上调(P<0.05),DG 区 ApoE 表达差异无统计学意义(P>0.05)。与 Con2 组比较,Sev2 组大鼠海马各分区 ApoE 蛋白表达差异无统计学意义(P>0.05),见表 2。



a: P<0.05,与 Con2 组比较

图 2 老年期组大鼠定位航行实验逃避潜伏期比较

表 1 空间探索实验原平台象限各观察指标比较(n=12, $\bar{x} \pm s$, %)

组别	滞留时间百分比	运动距离百分比	进入次数百分比
Sev1 组	22±5	23±5	22±4
Con1 组	24±7	23±6	22±5
Sev2 组	23±6	23±5	24±5
Con2 组	25±4	26±3	25±3

表 2 海马 ApoE 表达水平比较(n=6, $\bar{x} \pm s$)

组别	ApoE			ApoE mRNA
	CA1 区	CA3 区	DG 区	
Sev1 组	0.189±0.012 ^a	0.182±0.015 ^a	0.190±0.030	3.3±0.6 ^a
Con1 组	0.175±0.006	0.166±0.008	0.173±0.020	2.1±0.9
Sev2 组	0.052±0.016	0.052±0.018	0.053±0.018	3.4±1.5 ^b
Con2 组	0.052±0.015	0.061±0.010	0.062±0.015	1.6±1.2

a: P<0.05,与 Con1 组比较; b: P<0.05,与 Con2 组比较

2.3.2 大鼠海马 ApoE4 蛋白表达比较结果 Sev1 组与 Con1 组比较,Sev2 组与 Con2 组比较,大鼠海马各分区 ApoE4 蛋白表达差异均无统计学意义(P>0.05)。见表 3。

表 3 海马各分区 ApoE4 蛋白表达水平比较(n=6, $\bar{x} \pm s$)

组别	CA1 区	CA3 区	DG 区
Sev1 组	0.197±0.031	0.202±0.018	0.192±0.026
Con1 组	0.198±0.021	0.203±0.027	0.152±0.016
Sev2 组	0.124±0.036	0.134±0.422	0.152±0.072
Con2 组	0.115±0.015	0.142±0.047	0.132±0.048

3 讨论

全身麻醉与认知功能变化的研究一直是医学界的热点话题。七氟烷因其药理特性的优势,已成为小

儿全身麻醉药的常用药物之一。小儿由于语言表达能力、客观事物反应能力的受限性,围术期通常难以配合医务人员或学者的观察,所以目前的临床研究中罕有小儿经麻醉后出现认知功能障碍的报道。然而患儿家长及学者们依然担心全身麻醉会对小儿未来的认知能力产生影响。目前临床应用于婴幼儿的七氟烷浓度为 2.6%左右^[4],且七氟烷的临床 99%有效浓度为 1.3 MAC,通过换算,浓度也为 2.6%。而新生大鼠七氟烷最低肺泡有效浓度(minimum alveolar concentration, MAC)值约 2.0%^[5]。故参考文献[6],本研究于新生大鼠 7、14、21 d 间断重复吸入 2.6%七氟烷麻醉建立动物模型,以模拟临床上接受七氟烷麻醉患儿,观察近期及远期行为学相关的变化,并探讨其可能机制。

目前用于检测认知功能经典的行为学方法是 Morris 水迷宫实验,参照文献[7],本研究采用 Morris 水迷宫实验检测哺乳期及老年期大鼠认知功能。本实验中未发现先天愚型大鼠。定位航行试验检测大鼠陈述性记忆能力,陈述性记忆属于外显记忆,海马和内侧颞叶是其核心脑区^[8]。由 Morris 水迷宫实验可发现,其与逃避潜伏期呈负相关^[9],即陈述性记忆能力强,则逃避潜伏期短。逃避潜伏期延长,反映大鼠陈述性记忆能力受到损害。本实验结果显示,哺乳期大鼠逃避潜伏期随训练时间增加呈缩短趋势,组间比较差异无统计学意义。老年期大鼠逃避潜伏期随时间增加呈缩短趋势,定位航行实验第 3 天 Sev2 组逃避潜伏期相对 Con2 组时间延长($P < 0.05$),但随着训练时间的增加,两组大鼠逃避潜伏期差异无统计学意义。空间探索实验主要检测空间联想和回忆能力^[10],是对之前定位航行实验中记忆信息的再提取。本研究发现,哺乳期大鼠、老年期大鼠原平台滞留时间百分比、原平台运动距离百分比、原平台进入次数百分比差异均无统计学意义($P > 0.05$)。表明吸入 2.6%七氟烷麻醉对核心脑区的记忆输出功能并不造成影响。本研究行为学实验表明,新生大鼠间断七氟烷麻醉对其老年期陈述性记忆可能存在影响,但这种影响随着训练时间的增加是可逆的,对大鼠的记忆提取能力没有影响。

目前,国内外均有研究表明 ApoE 及其基因型是发生认知功能障碍的易感基因,也是引起阿尔茨海默病(AD)的危险因素,其与认知功能障碍的慢性演化甚至进展为 AD 密切相关^[11-12]。ApoE 分为 3 种亚型,分别为 ApoE2、ApoE3 及 ApoE4。有研究发现,中枢神经系统中,ApoE 作为胆固醇载体运输的脂质对轴突生长有重要作用,ApoE4 可降低脑中脂质代谢水平并导致脂质异常,从而促进认知障碍的发生^[13]。HANSON 等^[14]研究也指出,ApoE 与 A β 的清除代谢密切相关,A β 是大脑“老年斑”形成的重要诱因,ApoE 可通过分子伴侣的形式与 A β 结合,影响星形

细胞和神经元对 A β 的清除,导致老年斑形成和神经细胞凋亡,从而引起认知功能障碍,且 Apo4 携带者清除能力弱于 Apo3,故 Apo4 更易引起 A β 的沉积,使海马/脑内的“老年斑”沉积增加,进而促进认知功能障碍的发生。本研究中发现,间断吸入 2.6%七氟烷后,哺乳期、老年期海马 ApoE mRNA 表达均明显上调($P < 0.05$)。ApoE mRNA 是蛋白质合成的模板,在 ApoE 的生成过程中有重要作用,故 ApoE mRNA 表达量的增高可能提示局部组织蛋白质的变化。进一步对比各组大鼠海马各分区 ApoE 蛋白表达变化发现,Sev1 组大鼠 CA1 区、CA3 区 ApoE 蛋白表达水平较 Con1 组明显上调($P < 0.05$)。海马 CA1 区是学习记忆信号在海马的主要输出区域^[15]。CA3 区是联想记忆产生的重要脑区,分为自联想和异联想记忆^[16]。而 Sev2 组大鼠海马各分区 ApoE 蛋白表达水平比较差异无统计学意义。再进一步分析大鼠海马各分区 ApoE4 蛋白表达比较分析差异无统计学意义($P > 0.05$)。通过对比发现,间断吸入七氟烷后,短期内可以导致大鼠海马 ApoE 上调,提示间断吸入七氟烷有产生一过性神经毒性及认知功能障碍的可能性,但随着时间的增加,这种神经毒性可以通过某种途径自行被消除。分析其原因可能与 ApoE 基因多态的功能特异性有关,本课题组前期研究表明 ApoE2 等位基因与 AD 的危险性下降有关^[17]。也有研究指出 ApoE3 可增加 Tau 蛋白的稳定性,促进神经元的生长等^[18]。故推测哺乳期大鼠接受间断七氟烷麻醉后,其可能存在 ApoE2、ApoE3 表达的升高,可能与认知功能障碍的产生呈负相关。这种 ApoE 多态性基因的相互作用也可能与七氟烷暴露时间及浓度存在相关性。且本实验中哺乳期及老年期大鼠 ApoE4 检测未见异常表达,可以认为不必担心有与此机制相关的认知障碍发生。本实验中哺乳期大鼠间断 2.6%七氟烷麻醉虽然在大鼠幼年期引起了海马 ApoE 改变,但未造成老年期大鼠海马 ApoE 异常及明显行为学改变,提示该浓度七氟烷麻醉对发育中大鼠大脑的影响是短暂性的,并不影响远期行为学。文献[19]的观点与本实验结果一致。这也符合朱霞等^[20]认为七氟烷影响认知功能的效应是短期的、一过性的推测。

综上所述,哺乳期大鼠间断 2.6%七氟烷麻醉后,可对大鼠海马 ApoE 产生短暂影响,但并非足以造成大鼠老年期海马 ApoE 异常及明显的行为学改变,可为临床使用该浓度七氟烷提供参考。同时本研究也存在一定不足之处,笔者将进一步探究新生期及老年期大鼠吸入七氟烷后海马 ApoE 多态性的变化,以及对其他认知功能相关基因及蛋白进行进一步定性、定量分析,更深层次地探讨七氟烷吸入麻醉与认知功能改变的相关机制。

参考文献

[1] 赖尚导,钟伟强,陈伟元,等.七氟醚对新生大鼠发育期学

- 习记忆功能的影响及其可能的机制[J]. 临床和实验医学杂志, 2016, 15(9): 829-832.
- [2] 丁洪艳, 张雪飞, 王志伟, 等. 七氟烷和丙泊酚对老年患者腹腔镜胆囊切除术后认知功能的影响研究[J]. 重庆医学, 2017, 46(28): 3920-3921, 3924.
- [3] 李海涛, 李桂花, 哈斯也提·依不来音, 等. 载脂蛋白 E ϵ 4 基因对轻度认知功能障碍患者脑白质微细结构损害研究[J]. 中国全科医学, 2016, 19(26): 3175-3179.
- [4] 王权, 张超, 王义, 等. 新生期间断重复吸入七氟醚对大鼠学习记忆及 Tau 蛋白和 p-Tau 蛋白的影响[J]. 医学研究生学报, 2017, 30(3): 257-261.
- [5] 江君丽, 任娟娟, 唐春春, 等. 新生期大鼠重复吸入七氟醚对其幼年及成年学习、记忆能力及脑脊液中 ApoE 浓度的影响[J]. 山东医药, 2016, 56(28): 26-28.
- [6] FREDRIKSSIN A, PONTÉN E, GORDH T, et al. Neonatal exposure to a combination of N-methyl-D-aspartate and gamma aminobutyric acid type A receptor anesthetic agents potentiates apoptotic neurodegeneration and persistent behavioral deficits[J]. *Anesthesiology*, 2007, 107(3): 427-436.
- [7] 朱宇航, 朱昭琼, 张超, 等. 七氟醚麻醉对大鼠海马载脂蛋白 EmRNA 表达的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2015, 35(2): 172-174.
- [8] MC DONALD J, KRAINIC D. Alzheimer gene APOE epsilon 4 linked to brain development in infants[J]. *JAMA*, 2014, 311(3): 298.
- [9] SHEN X, LIU S. Early Life exposure to seboflurane impairs adulthood spatial memory in the rat[J]. *Neurotoxicology*, 2013(39): 45-56.
- [10] 郑淑文, 朱昭琼, 马欢欢, 等. 哺乳期大鼠反复七氟醚麻醉对远期认知功能的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2013, 33(6): 669-671.
- [11] 吕小荣, 钟远. 轻度认知障碍及阿尔茨海默病与载脂蛋白 E 基因多态性的相关性[J]. 中国老年学杂志, 2012, 32(5): 917-919.
- [12] BORENSTEIN A R, MORTIMER J A, SCHELLENBERG D D, et al. Effects of apolipoprotein e-epsilon 4 and -epsilon 2 in amnesic mild cognitive impairment and dementia in Shanghai; SCOBHI-P[J]. *Am J Alzheimers Dis Other Demen*, 2010, 25(3): 233-238.
- [13] 黄高雅, 王德生, 汤颖. 载脂蛋白 E 与阿尔茨海默病相关性研究进展[J]. 中国临床神经科学, 2016, 24(1): 102-108.
- [14] HANSON A J, CRAFT S, BANKS W A. The APOE genotype: modification of therapeutic responses in Alzheimer's disease[J]. *Curr Pharm Des*, 2015, 21(1): 114-120.
- [15] GOSHEN I, BRODSKY M, PRAKASH R, et al. Dynamics of retrieval strategies for remote memories[J]. *Cell*, 2011, 147(3): 678-689.
- [16] NGUYEN L B, RICCIARDI T N, MALOUF A T. Reinnervation of stratum lucidum by hippocampal mossy fibers is developmentally regulated[J]. *Brain Res Dev Brain Res*, 1996, 95(2): 184-193.
- [17] JIANG J, TANG C, REN J, et al. Effect of multiple neonatal sevoflurane exposures on hippocampal apolipoprotein E ϵ levels and learning and memory abilities[J]. *Pediatr Neonatol*, 2018, 59(2): 154-160.
- [18] ALZATE O, OSORIO C, DEKROON R M, et al. Differentially charged isoforms of apolipoprotein E from human blood are potential biomarkers of Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Res Ther*, 2014, 6(4): 43.
- [19] LIANG X L, ZHANG Y I, ZHANG C, et al. Effect of repeated neonatal sevoflurane exposure on the learning, memory and synaptic plasticity at juvenile and adult age[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(11): 4974-4983.
- [20] 朱霞, 朱贵芹, 张励才. 不同浓度七氟醚对幼鼠学习记忆及海马 NR2B Tyr1472 磷酸化表达的影响[J]. 中国药理学通报, 2013, 29(12): 1717-1721.

(收稿日期: 2018-08-18 修回日期: 2018-11-25)

(上接第 1651 页)

- 在血管内皮细胞凋亡作用中的研究进展[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版), 2013, 7(20): 9317-9319.
- [17] 张云, 旦菊花, 孙鑫, 等. MAPKs 信号通路在动脉粥样硬化发生发展中的调控作用[J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(5): 968-970.
- [18] KIM E K, CHOI E J. Compromised MAPK signaling in human diseases: an update[J]. *Arch Toxicol*, 2015, 89(6): 867-82.
- [19] 呼雅丽. 黄葵固体分散体通过抑制 JNK 保护心肌缺血再灌注损伤的作用机制研究[D]. 吉林大学, 2015.
- [20] 张腾, 张艳军, 庄朋伟, 等. 瓜蒌对心梗后心衰大鼠心功能及心肌细胞凋亡的影响[J]. 中国药理学通报, 2016, 32(8): 1183-1184.
- [21] GUO C, YANG M, JING L, et al. Amorphous silica nanoparticles trigger vascular endothelial cell injury through apoptosis and autophagy via reactive oxygen species-mediated MAPK/Bcl-2 and PI3K/Akt/mTOR signaling[J]. *Int J Nanomedicine*, 2016, 11: 5257-5276.
- [22] BITTREMIEUX M, BULTYNCK G. p53 and Ca²⁺ signaling from the endoplasmic reticulum: partners in anticancer therapies[J]. *Oncoscience*, 2015, 2(3): 233-238.
- [23] KOKAWA K, SHIKONE T, OTANI T, et al. Apoptosis and the expression of Bax and Bcl-2 in squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the uterine cervix[J]. *Cancer*, 2015, 85(8): 1799-1809.

(收稿日期: 2018-08-22 修回日期: 2018-12-01)