DOI:10.16016/j.2097-0927.202303101

右美托咪定对老年患者术后早期认知功能障碍保护机制的代谢组学研究

杜远琳[1],佘 汉[1,2],唐小峰[1],黄炳强[1],彭 雾[1],刘良明[2],李 涛[2],胡 弋[1], 400042 重庆,陆军特色医学中心:麻醉科[1];野战外科研究部战伤休克与输血研究室,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室[2]

[摘要] **目的** 通过对右美托咪定干预后老年患者术后早期认知功能相关代谢物测定,探讨右美托咪定保护术后早期认知功能的作用机理。**方法** 采用随机、单盲、安慰剂对照研究设计方案,选择2022年1-5月陆军特色医学中心关节外科收治关节炎并接受关节置换手术(含髋关节置换术和膝关节置换术)的老年患者48例,其中男性10例,女性38例,平均年龄71.38(65~89)岁。按2∶1比例随机分为右美托咪定组(DEX组)32例和对照组(CON组,以相同的方法等容等速持续泵注0.9%生理盐水)16例。分别在术前、后1天采用简易智力状态检查量表(mini-mental state examination,MMSE)对患者认知功能进行评估。使用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱联用(ultra-high performance liquid chromatography coupled with Q Exactive mass spectrometry,UHPLC-QE-MS)对患者血清样本进行代谢组学分析,筛选差异代谢物及其通路。**结果** 以术后MMSE评分低于术前≥2分判定为POCD,DEX组、CON组发生率分别6.25%、37.5%,2组差异有统计学意义($\chi^2=5.419$,$P=0.02$)。代谢组学检测出70种差异代谢物,DEX组十二酸乙酯、前列腺素D2、硫酸吲哚氧基、表油菜素内酯、二酰基甘油(18∶4/15∶0/0∶0)、甘油三酯H等明显下调;L-异亮氨酸、正亮氨酸、甜菜碱、3,3,5-三碘-L-酪氨酸-β-D-葡萄糖醛酸苷、磷脂酰胆碱(22∶6/16∶1)、磷脂酰胆碱(22∶5/14∶0)、磷脂酰胆碱(18∶4/18∶1)、脑磷脂(20∶3/14∶1)、甘油磷酸胆碱、L-丝氨酸、γ-氨基丁酸等显著上调;涉及的主要通路有甘油磷脂代谢,氨酰-tRNA生物合成,甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢通路,丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢通路等。**结论** 右美托咪定能通过参与脂质代谢、氨基酸代谢等多种生物途径,抑制炎症反应、减轻氧化应激、改善突触结构和功能、调控细胞能量代谢等来保护术后早期认知功能。

[关键词] 代谢组学;右美托咪定;关节置换术;术后早期认知功能障碍

[中图法分类号] R749.2;R966;R971.2 [文献标志码] A

Protective mechanism of dexmedetomidine on early postoperative cognitive dysfunction in elderly: a metabonomic study

DU Yuanlin[1], SHE Han[1,2], TANG Xiaofeng[1], HUANG Bingqiang[1], PENG Ji[1], LIU Liangming[2], LI Tao[2], HU Yi[1]

[1]Department of Anesthesiology; [2]State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injuries, Department of War Wound Shock and Transfusion, Institute of Surgery Research, Army Medical Center of PLA, Chongqing, 400042, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the protective mechanism of dexmedetomidine (Dex) on early postoperative cognitive function in the elderly by determining cognitive function-related metabolites during the early postoperative period following intervention. **Methods** A randomized, single-blind, placebo-controlled study was conducted on 48 elderly patients undergoing joint replacement surgery (including hip and knee

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目(81830065);国家自然科学基金面上项目(82270523);国家自然科学基金青年基金(82300561)

[通信作者] 胡 弋,E-mail:huyi921@sina.com

2097-0927/Copyright © 2022,陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

replacement surgeries) due to arthritis in Army medical center from January to May 2022. They were 10 males and 38 females, at an average age of 71.38 (ranging from 65 to 89) years. They were randomly divided into a Dex group ($n=32$) and a control group (CON group, receiving 0.9% saline at an equal rate and volume *via* same way, $n=16$) in a ratio of 2∶1. Mini-Mental State Examination (MMSE) was performed to evaluate cognitive function before and 1 d after the surgery. Metabolomic analysis was carried out on the serum samples harvested on the day of surgery and 1 d after using ultra-high-performance liquid chromatography-quadrupole-Orbitrap high-resolution mass spectrometry (UHPLC-QE-MS) in order to screen for differential metabolites and their pathways. **Results** Postoperative cognitive dysfunction (POCD) was defined as a decrease in MMSE score by ≥2 points when compared to the preoperative score. The incidence of POCD was 6.25% and 37.5%, respectively, in the Dex group and CON group, with statistical significance (*Chi-square*=5.419, $P=0.02$). Metabolomics analysis revealed 70 differential metabolites, including significantly down-regulated compounds such as ethyl dodecanote, prostaglandin D2, Indoxyl sulfate, Epibrassinolide, Diacylglycerol (18∶4/15∶0/0∶0), Ganoderide H. Up-regulated metabolites included, L-Alloisoleucine, L-Norleucine, Betaine, 3,3,5-triiodo-L-thyronine-beta-D-glucuronoside, Phosphatidylcholine (22∶6/16∶1), Phosphatidylcholine (22∶5/14∶0), Phosphatidylcholine (18∶4/18∶1), Cephalin (20∶3/14∶1), Glycerophosphocholine, L-Serine, Gamma-Aminobutyric acid. The main pathways involved were glycerophospholipid metabolism, aminoacyl-tRNA biosynthesis, and pathways related to glycine, serine, and threonine metabolism, as well as pathways related to alanine, aspartate, and glutamate metabolism. **Conclusion** Dex protects early postoperative cognitive function by participating in various biological pathways such as lipid metabolism, amino acid metabolism, suppressing inflammatory reactions, alleviating oxidative stress, improving synaptic structure and function, and regulating cellular energy metabolism.

[**Key words**] metabonomics; dexmedetomidine; arthroplasty; early postoperative cognitive dysfunction

Supported by the Key Program of National Natural Science Foundation of China (81830065), the General Program of National Natural Science Foundation of China (82270523), the National Natural Science Foundation for Young Scholars of China (82300561). Corresponding author: HU Yi, E-mail: huyi921@sina.com

术后认知功能障碍(postoperative cognitive dysfunction, POCD)是指手术后出现的一种中枢神经系统并发症,影响患者定向力、注意力、感知及意识,是老年患者手术后常见的并发症之一。而术后早期认知功能障碍指发生在术后3天内的POCD[1]。有研究显示65岁以上患者非心脏手术后1周术后认知功能障碍的发生率为25.8%~41.4%[2]。而在接受髋部骨折手术的老年人中,其POCD发生率同样高达40%[3]。目前认为发生POCD的原因:一是自身基础情况,如高龄、低文化程度、原有认知障碍、脑血管疾病等;二是手术相关因素,如手术种类、麻醉方法、手术后疼痛、低灌注、短暂性低氧血症、术后并发症等[4]。POCD延缓患者康复、延长住院时间、加重经济压力、降低患者生活质量甚至导致死亡率增加[5]。然而目前为止,术后认知障碍的具体机制尚不完全明确,且缺乏有效的治疗手段。因此,研究改善术后早期认知功能障碍的防治措施及其机制具有重要的临床意义。

右美托咪定(Dexmedetomidine,DEX)作为一种静脉麻醉药被广泛应用于临床麻醉。研究[6]报道DEX可能通过抑制炎症反应、减轻氧化应激损伤、减少神经元凋亡从而显著降低全身麻醉手术后老年人群POCD的发生率,但是具体作用机制未能阐明。

代谢组学作为继蛋白组学、脂质组学和基因组学后兴起的一种研究手段,能够在小分子物质代谢水平研究疾病的发生发展过程,现多应用于疾病的筛查、诊断、治疗反应以及预后预测等领域。最近研究表明,许多神经系统疾病,如POCD、癫痫、老年痴呆和帕金森病等都伴随明显的代谢变化。同时,有研究[7]报道,DEX可以通过降低海马组织谷氨酸、谷胱甘肽和丙二醛水平,减少癫痫大鼠惊厥发作次数和缩短发作时间,提示DEX可能通过调控代谢物发挥对脑功能的保护作用。那么,DEX能否通过调节代谢重编程发挥对术后早期认知功能的保护作用?对此,本研究拟利用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱联用

(ultra-high performance liquid chromatography coupled with Q Exactive mass spectrometry, UHPLC-QE-MS),以行关节置换手术的老年患者为研究对象,从代谢变化角度探索右美托咪定调控 POCD 的机制,以期为 POCD 的防治提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 伦理审查

本研究经陆军特色医学中心伦理委员会审查批准(批件号:2021-168),研究过程均在伦理委员会的监督下进行,并征得所有参与患者的书面知情同意;通过中国临床试验注册中心注册,注册号:ChiCTR2200055399(http://www.chictr.org.cn)。

1.2 研究对象与分组

选择陆军特色医学中心关节外科 2022 年 1-5 月收治的关节炎并接受关节置换手术(含髋关节置换术和膝关节置换术)的老年患者,平均年龄 71.38(65~89)岁。美国麻醉师协会(American Society of Anesthesiologist,ASA)评级Ⅱ~Ⅲ级,且术前没有精神或神经系统疾病。排除标准:①有认知功能障碍病史或接受过影响认知功能的手术或使用影响认知功能的药物;②患有糖尿病、高脂血症及其他代谢性疾病;③中枢神经系统病史(脑卒中、中风、精神分裂、癫痫、帕金森等);④术前 3 个月使用其他试验药物,或者参加其他临床试验;⑤听力、视力、语言障碍或无书写能力的患者;⑥酒精或者药物依赖者;⑦文盲;⑧家属拒绝配合;⑨病态窦房结综合征、严重心动过缓等心律失常。利用随机数字表法,以 2∶1比例将患者随机分为右美托咪定组(DEX 组)与对照组(CON 组)。在整个试验期间,参与研究的受试者不知其接受何种治疗。

1.3 麻醉和手术方法

所有患者使用 0.4%罗哌卡因进行坐骨神经+腰丛神经阻滞,在神经阻滞之后均给予依托咪酯 5~20 μg/(kg·min)连续静脉泵注,并根据具体情况给予舒芬太尼或者咪达唑仑镇痛镇静。同时 DEX 组静脉泵注右美托咪定负荷量 1 μg/kg,输注时间 10 min,随后维持量以 0.4 μg/(kg·h)至术毕前 30 min。CON 组以同样方式等容量等速度等时间持续泵注 0.9%生理盐水。在手术过程中持续监测心率(HR)、血压(BP)、脉搏氧饱和度(SPO_2),术中血压和心率波动维持在基线值的±30%范围内。记录麻醉时长、手术时长及术后疼痛评分等。术后镇痛使用患者自控镇痛技术(15 mg 地佐辛注射液、50 μg 舒芬太尼、5 mg 托烷司琼用生理盐水配至 150 mL 供 48 h 镇痛用),以 2 mL/h 背景剂量持续静脉输注。

1.4 认知功能评估

同一位麻醉医师于手术前 1 天对两组患者进行简易智力状态检查量表(mini-mental state examination,MMSE)评分;术后 1 天对两组患者进行 MMSE 评分以及视觉模拟评分(visual analogue scale,VAS)。MMSE 由以下 7 个因素组成:时间定向力、地点定向力、即刻记忆、注意力和计算力、延迟记忆、语言、视空间。共 30 道题,答对 1 题得 1 分,答错或答不知道得 0 分,量表的总分为 30 分。手术后 MMSE 评分较术前降低≥2 分判定为 POCD[8]。

1.5 血液样本的采集和代谢物的提取

在手术当天和术后第 1 天晨 8:00 采集空腹静脉血 5 mL 于离心管内室温静置 1 h,凝固分层。3 000 r/min 离心 10 min,取上清液转移到洁净的离心管内。12 000 r/min,4 ℃离心 10 min 取上清液分装入 1.5 mL 离心管内,每管 0.2 mL,-80 ℃冻存。移取 50 μL 样品放入 EP 管内,加入提取液 200 μL[甲醇∶乙腈=1∶1(V/V),含同位素标记内标混合物],涡旋搅拌 30 s;超声处理 10 min(冰水浴);在-40 ℃条件下静置 1 h;然后将样品在 4 ℃、13 800×g 离心 15 min;取出上清液在进样瓶内上机检测;全部样品另取等量上清搅拌均匀后作为质量控制(quality control,QC)试样上机检测。

1.6 数据分析和处理

采用 Vanquish (Thermo Fisher Scientific)超高效液相色谱仪,通过 Waters ACQUITY UPLC BEH Amide (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm)液相色谱柱分离目标化合物。液相色谱的 A 相是含有 25 mmol/L 乙酸铵与 25 mmol/L 氨水的水相,B 相是乙腈。样品盘温度:4 ℃,进样体积:3 μL。通过 ProteoWizard 软件将原始数据转成 mzXML 格式,利用自主开发的 R 程序包(内核为 XCMS)实现峰识别、峰提取、峰对齐及积分等,然后在 BiotreeDB(V2.1)自建二级质谱数据库中进行物质注释匹配,将算法打分的 Cutoff 值设置为 0.3。进行正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis,OPLS-DA),选择满足变量的重要位置信息(variable importance in projection,VIP)>1.0,P<0.05 的化合物作为差异代谢物。

1.7 统计学分析

采用 SPSS 25.0 统计学软件对数据进行统计分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较以两独立样本 t 检验进行;计数资料用 χ^2 检验,P<0.05 表明差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者一般特征比较

研究共入组48例患者,其中DEX组32例、CON组16例参与了术前及术后1天的MMSE评分。但在术后1天采血时DEX组有1例患者不愿意配合,有3例患者术后血液发生溶血反应,合计4例失访。故DEX组28例送检血清代谢组学检测。两组患者的人口学及其他基线见表1。

2.2 两组患者麻醉不良反应情况

两组患者的麻醉不良反应发生率差异无统计学意义($\chi^2=0.188$,$P=0.665>0.05$,表2)。

2.3 DEX对术后早期认知功能的影响

DEX组有2例(6.25%)出现POCD,CON组有6例(37.5%)出现POCD,DEX组POCD发生率明显低于CON组($\chi^2=5.419$,$P=0.02$)。

2.4 DEX对关节置换手术患者术后代谢谱图的影响

2.4.1 DEX组和CON组代谢组学数据具有良好可靠性 Orbitrap平台的电离源具有正离子(positive ion mode, POS)和负离子(negative ion mode, NEG)两种电离模式,在检测代谢组时结合两种方式可以使代谢物覆盖率更高,在后续的数据分析过程中我们对两种模式分别进行了分析。此外,为了获得可信赖、可重复的代谢产物,6个质控(quality control, QC)样本被用来评价样品采集过程中系统的稳定性和重复性。PCA三维得分散点图(图1A、B)表明了方法的高度重复性和数据的可靠性。采用OPLS-DA(图1C、D)进一步对DEX组和CON组进行分析,结果说明原模型稳健性良好,无过拟合现象。

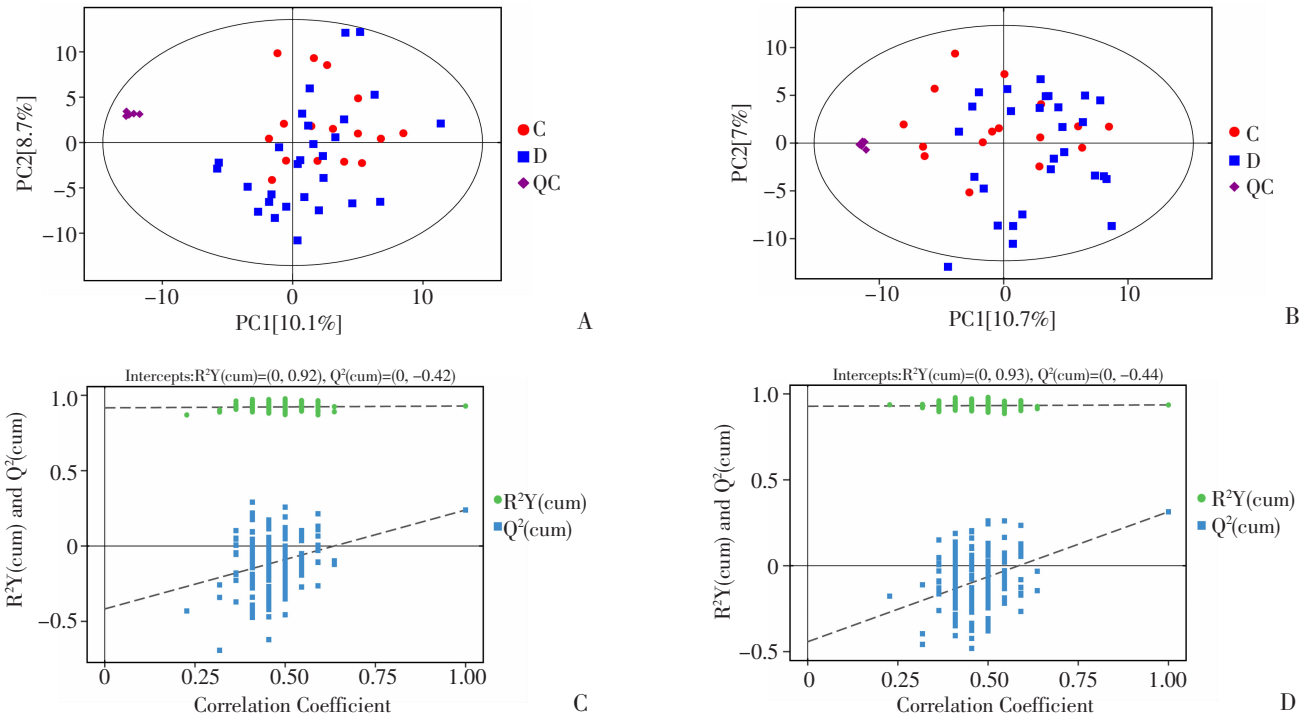
2.4.2 DEX组和CON组差异性内源性代谢物的发现和鉴定 DEX组和CON组比较,正、负离子模式共检测出70种差异代谢物(图2),其中正离子模式下55种,负离子模式15种。和CON组相比,DEX组主要有以下物质下调:十二酸乙酯、前列腺素D2、硫酸吲哚氧基、表油菜素内酯、二酰基甘油(18:4/15:0/0:0)、甘油三酯H等;DEX组中上调的代谢物主要有:L-异亮氨酸、正亮氨酸、甜菜碱、3,3,5-三碘-L-酪氨酸-β-D-葡萄糖醛酸苷、磷脂酰胆碱(22:6/16:1)、磷脂酰胆碱(22:5/14:0)、磷脂酰胆碱(18:4/18:1)、脑磷脂(20:3/14:1)、甘油磷酸胆碱、L-丝氨酸、γ-氨基丁酸等(图3)。其中二酰基甘油(18:4/15:0/0:0)、甘油三酯H、

表1 两组患者一般临床资料比较[$\bar{x}\pm s$,例(%)]

基线指标	DEX组($n=32$)	CON组($n=16$)	t/χ^2	P
年龄/岁	70.81±4.33	72.50±7.04	1.027	0.310
男	8(25.00)	2(12.50)	0.395	0.530
女	24(75.00)	14(87.50)		
文化水平(教育年限)	5.23±4.74	5.19±3.83	0.023	0.982
ASA分级				
Ⅱ	16(50.00)	9(56.25)	0.167	0.683
Ⅲ	16(50.00)	7(43.75)		
术前MMSE评分/分	26.66±3.03	26.56±3.27	0.098	0.922
手术时间/min	135.80±32.95	123.80±39.64	1.114	0.271
麻醉时间/min	172.20±34.19	154.70±38.36	1.605	0.115
术后第1天VAS评分/分	3.16±0.63	3.13±0.62	0.163	0.871

表2 两组患者的麻醉不良反应发生情况比较[例(%)]

组别	n	恶心呕吐	心动过缓	低血压	呼吸抑制	躁动	总发生率
DEX组	32	2(6.25)	3(9.38)	2(6.25)	2(6.25)	1(3.13)	10(31.25)
CON组	16	2(12.5)	2(12.5)	1(6.25)	1(6.25)	0(0.00)	6(37.50)
χ^2		0.034	0.000	0.000	0.000	0.000	0.188
P		0.854	1.000	1.000	1.000	1.000	0.665



A:正离子模式下的 PCA 模型三维得分散点图。B:负离子模式下的 PCA 模型三维得分散点图　横坐标 PC1、纵坐标 PC2 分别代表居第一和第二位的主成分得分,每个散点代表一个样本,散点的颜色和形状代表不同组;样本基本处于 95%*CI* 内。C:正离子模式下 DEX 组对 CON 组 OPLS-DA 模型的置换检验结果点状图。D:负离子模式下 DEX 组对 CON 组 OPLS-DA 模型的置换检验结果点状图　R^2Y 表示模型对 Y 变量的解释性,Q^2 表示模型的可预测性

图 1　代谢组学数据可靠性分析

前列腺素 D2、甜菜碱、磷脂酰胆碱(22:6/16:1)、磷脂酰胆碱(22:5/14:0)、磷脂酰胆碱(18:4/18:1)、甘油磷酸胆碱、γ-氨基丁酸等代谢物与认知功能密切相关。以上结果表明,右美托咪定可能通过调控代谢重编程发挥对术后早期认知功能的保护作用。

2.4.3　差异代谢物 ROC 分析　　利用 ROC 曲线对与调节认知功能相关的差异代谢物进一步分析,并计算曲线下面积(area under curve, AUC)(图 3)。ROC 曲线下的面积值在 1.0 和 0.5 之间,在 AUC>0.5 的情况下,越接近于 1,说明该物质诊断能力越强。本研究结果显示,与调节认知功能相关的差异代谢物胞苷(Cytidine,AUC=0.777)、甜菜碱(Betaine,AUC=0.737)、甘油二酯[DG(18:4(6Z,9Z,12Z,15Z)/15:0/0:0)],AUC=0.730)、前列腺素 D2(Prostaglandin D2,AUC=0.703)、γ 氨基丁酸(gamma-Aminobutyric acid,AUC=0.703)、L 丝氨酸(L-Serine,AUC=0.688)、磷脂酰胆碱{PC(18:4[(6Z,9Z,12Z,15Z)/18:1(11Z)],AUC=0.690}、甘油磷酸胆碱(Glycerophosphocholine,AUC=0.681)、磷脂酰胆碱{PC22:6[(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)/161(9Z)],AUC=0.672}具有良好的诊断能力。

2.4.4　DEX 组和 CON 组差异代谢物的通路分析

通过富集分析对 DEX 和 CON 组差异代谢物所映射的差异通路进行分析,结果表明 DEX 保护术后早期认知功能所参与的主要途径包括甘油磷脂代谢(Glycerophospholipid metabolism),氨酰 tRNA 生物合成(Aminoacyl-tRNA biosynthesis),D-谷氨酰胺和 D-谷氨酸代谢(D-Arginine and D-ornithine metabolism),半胱氨酸和蛋氨酸代谢(Cysteine and methionine metabolism),丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢(Alanine, aspartate and glutamate metabolism),甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢(Glycine, serine and threoninemetabolism),亚油酸代谢(Linoleic acid metabolism),精氨酸和脯氨酸代谢(Arginine and proline metabolism),花生四烯酸代谢(Arachidonic acid metabolism)等(图 4),其中的甘油磷脂代谢通路(图 5)以及氨酰 tRNA 生物合成通路(图 6)*P* 值较小,提示可能在 DEX 保护术后认知功能中发挥更为重要的作用。



A:正离子模式下进行的差异代谢物层次聚类分析的热图;B:负离子模式下差异代谢物层次聚类分析的热图　图中不同位置的色块代表相应位置的代谢物相对表达量,红色表示该物质在所在组中的表达量较高,蓝色表示该物质在所在组中的表达量较低

图 2　DEX 组与 CON 组之间的层次聚类分析热力图

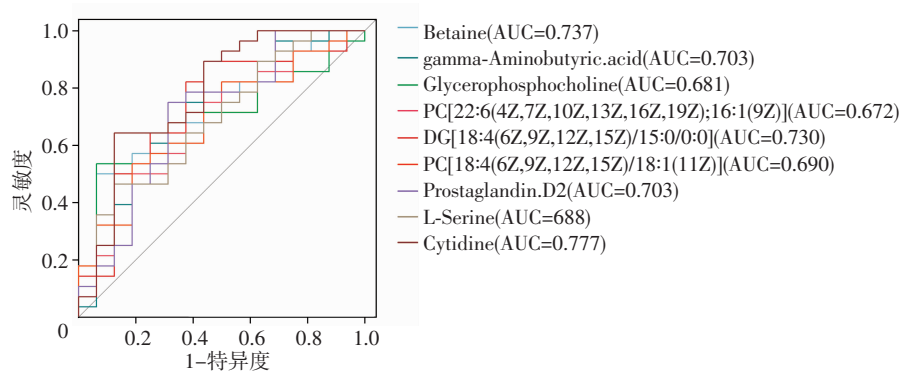
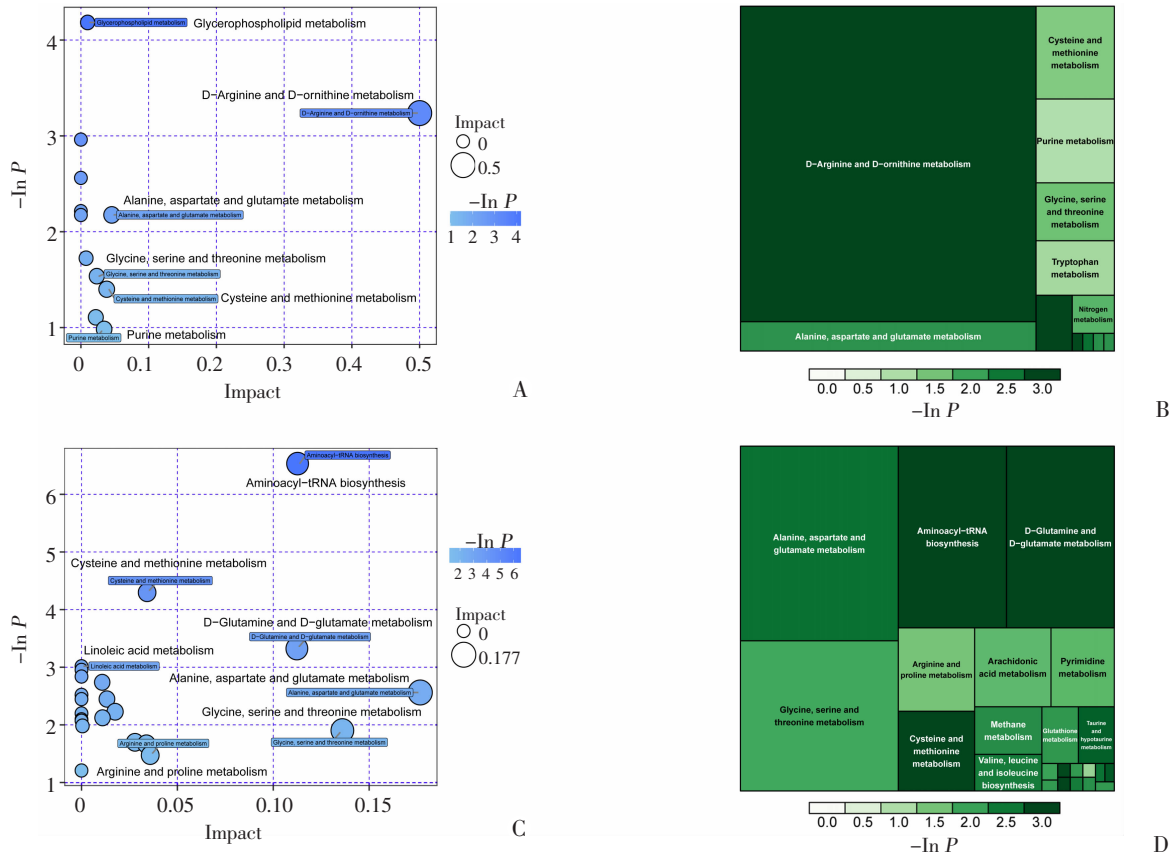


图 3 DEX 组和 CON 组差异代谢物曲线下面积



A:正离子模式下 DEX 组对 CON 组的代谢通路气泡分析图。C:负离子模式下 DEX 组对 CON 组的代谢通路气泡分析图　代谢通路分析的结果以气泡图进行展示;气泡图中每一个气泡代表一个代谢通路,气泡所在横坐标和气泡大小表示该通路在拓扑分析中的影响因子大小,气泡越大影响因子越大;气泡所在纵坐标和气泡颜色表示富集分析的 P 值[取负自然对数,即$-\ln(P)$],颜色越深 P 值越小,富集程度越显著。B:正离子模式下 DEX 组对 CON 组的代谢通路矩形树图分析图。D:负离子模式下 DEX 组对 CON 组的代谢通路矩形树图分析图　代谢通路分析的结果以矩形树图进行展示;矩形树图中每一个方块代表一个代谢通路,方块大小表示该通路在拓扑分析中的影响因子大小,方块越大影响因子越大;方块颜色表示富集分析的 P 值[取负自然对数,即$-\ln(P)$],颜色越深 P 值越小,富集程度越显著

图 4 DEX 组和 CON 组差异代谢物通路富集分析

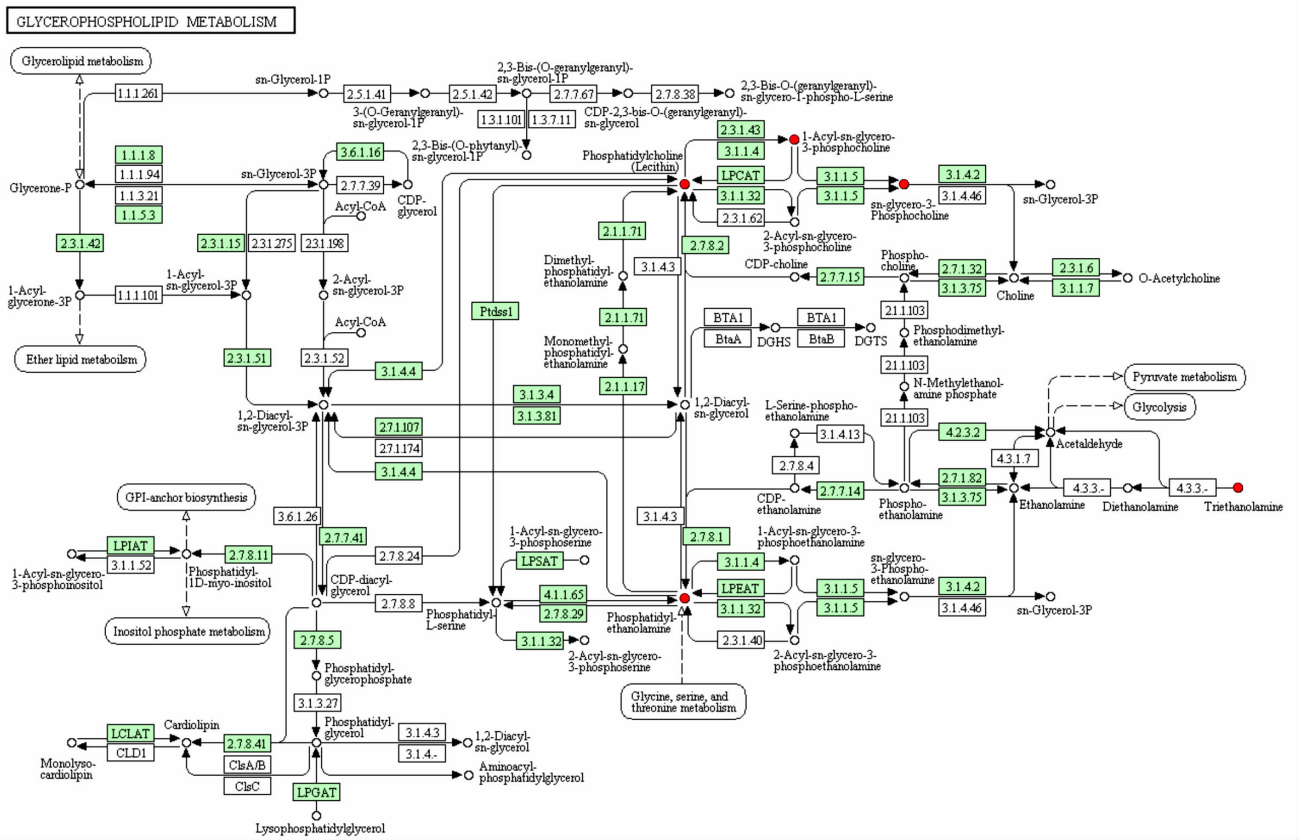


图 5 甘油磷脂代谢通路

3 讨论

本研究结果显示 DEX 组 POCD 发生率显著低于 CON 组(6.25% *vs* 37.5%, $\chi^2=5.419$, $P=0.02$),提示右美托咪定对老年患者 POCD 具有较好的保护作用。代谢组学数据显示右美托咪定可以通过多种代谢途径发挥对老年患者术后早期认知功能的保护作用,包括下调二酰基甘油(18∶4/15∶0/0∶0)、甘油三酯 H、前列腺素 D2 等代谢物,上调磷脂酰胆碱(22∶6/16∶1)、磷脂酰胆碱(22∶5/14∶0)、磷脂酰胆碱(18∶4/18∶1)、脑磷脂(20∶3/14∶1)、甘油磷酸胆碱、胞苷、L-丝氨酸、γ-氨基丁酸、甜菜碱等代谢物。

3.1 右美托咪定通过调控脂质代谢保护术后早期认知功能

2 组差异表达代谢物大多数是脂质,提示脂质代谢重编程可能是右美托咪定保护术后早期认知功能的重要机制。脂质具有能量储存、细胞信号转导及构成生物膜结构等多种生物学功能;同时,脂质稳态的破坏是蛋白质病的常见生化特征,并可能导致认知能力下降等神经功能障碍。磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC)是一种在蛋黄中发现的磷脂,其在亚油酸代谢通路中发挥重要的抗炎和抗氧化作用。研究证明 PC 可以调节神经营养因子和突触蛋白的表达,有效缓解脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)引起的神经损伤和突触功能障碍,进而减轻 LPS 诱导的小鼠的炎症反应和行为障碍[9]。YLILAURI 等[10]对近 2 500 名受试者进行了一项长达 20 年的前瞻性研究,结果表明,膳食中较高的 PC 摄入量与认知障碍有关。磷脂酰乙醇胺(phosphatidyl ethanolamine, PE),又称为脑磷脂,属于甘油磷脂,主要存在于脑、神经、微生物和大豆中,是膜脂(生物膜中约 20%的脂质含量是 PE)以及线粒体内膜的主要成分[11],在信号传导和维持生命功能等方面发挥重要作用。最近的数据也显示阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)患者和轻度认知功能障碍(mild cognitive impairment, MCI)患者血液和大脑中 PE 水平下降[12-13],研究表明 PE 可以逆转 AD 大鼠的认知障碍[14]。胆碱衍生物甘油磷酸胆碱(glycerophoshocholine, GPC)是神经递质乙酰胆碱的重要前体,在神经系统功能中起重要作用,它可以缓解老年小鼠认知功能的下降[15]。胞苷作为胞苷三磷酸(cytidine triphosphate, CTP)的前体,参与磷脂酰胆碱(PC)和磷脂酰乙醇胺(PE)的生物合成途径[16];同时,

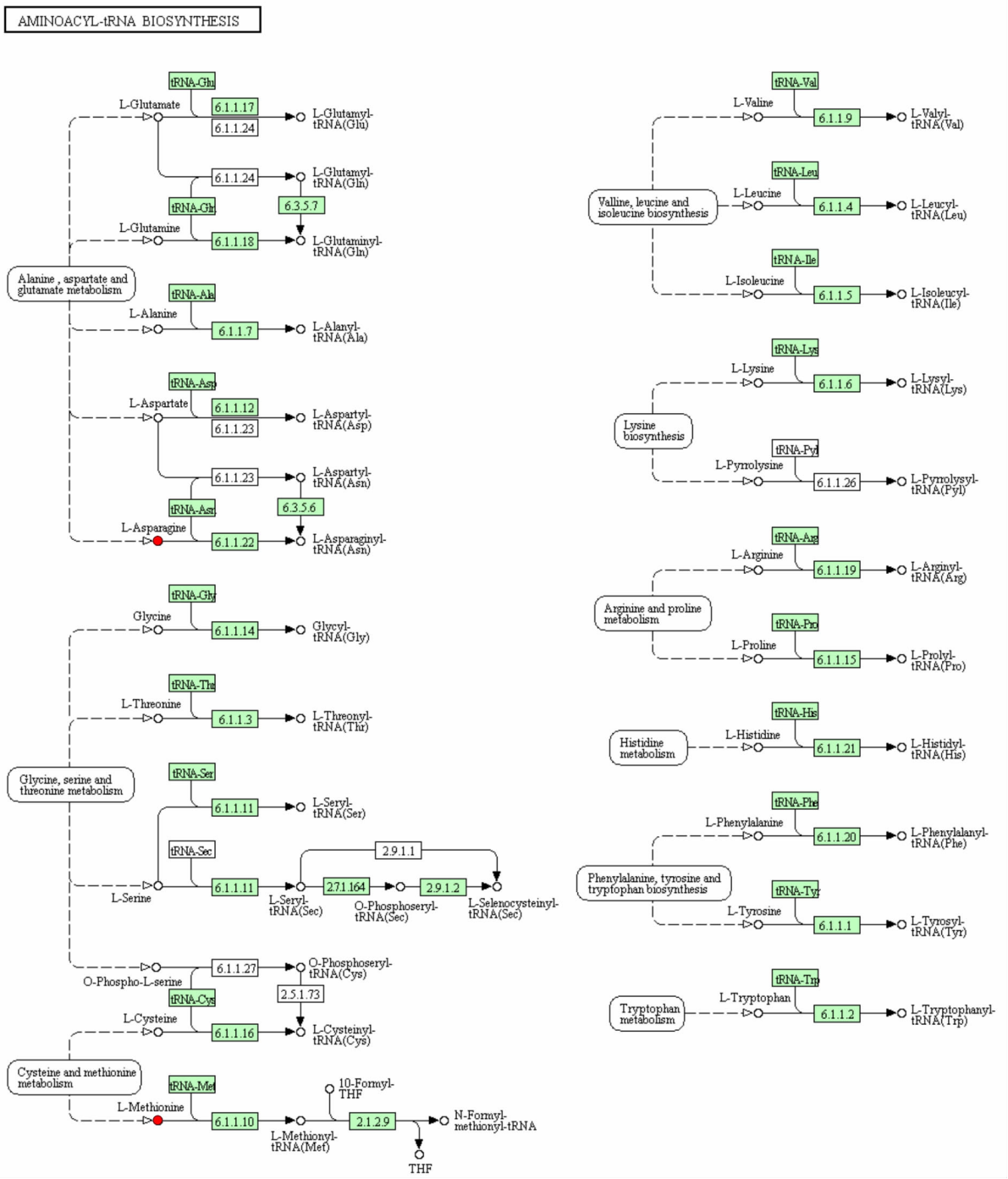


图 6 氨酰 tRNA 生物合成通路

胞苷可转化为尿苷和环磷酰胺[17],后者可通过分步反应转化为 CDP-胆碱(胞二磷胆碱),CDP-胆碱在神经细胞膜合成中发挥重要作用,可增强记忆力和保护大脑认知功能。在我们的研究结果中 DEX 组 PC、PE、GPC 和胞苷含量显著上调,提示右美托咪定可能通过调节亚油酸代谢和甘油磷脂代谢,上调 PC、PE、GPC 和胞苷,发挥抗炎和抗氧化特性、调控突触功能和信号转导,最终保护老年患者术后早期认知功能。

除了以上上调的差异代谢物,我们还发现二酰基甘油(diacylglycerol, DAG)在 DEX 组中呈下调趋势,它对于甘油磷脂的合成及能量代谢至关重要,并且是核脂质信号通路中必不可少的第二信使。WOOD 等[18]的研究表明,AD 和 MCI 受试者的额叶皮层和血浆中 DAG 的水平增加,并且 DAG 的合成增加是神经

退行性疾病的共同特征。此外,本研究还发现与 CON 组相比,DEX 组患者血清中前列腺素 D2(prostaglandin D2,PGD2)水平显著下调。PGD2 作为花生四烯酸代谢中的一种重要物质,有研究表明 PGD2-CRTH2(前列腺素 D2-辅助性 T 辅助细胞)信号传导参与 N-甲基-d-天冬氨酸受体拮抗剂诱导的认知功能障碍[19];而替马匹仑(高度选择性 PGD2 受体拮抗剂)可显著减轻 TgF344-AD 转基因大鼠的阿尔茨海默病病理表现和认知缺陷[20]。因此推测,DEX 通过保护术后早期认知功能的机制可能与下调 DAG 和 PGD2,干预甘油磷脂代谢和花生四烯酸代谢通路,调控体内能量代谢有关。上述结果显示 DEX 可通过调控以上脂质有关代谢物及代谢通路,发挥抗炎和抗氧化、调控突触功能和信号转导、调节能量代谢的作用,最终保护术后早期认知功能。

3.2 右美托咪定通过调控氨基酸代谢保护术后早期认知功能

氨基酸代谢对于神经功能至关重要,他们不仅可以维持细胞内和细胞间水以及离子的分布,同时作为神经递质,还在神经传导过程中发挥重要作用。氨酰-tRNA 生物合成代表着氨基酸的合成与代谢。氨基酸代谢紊乱会导致相关脑区神经元损伤、认知障碍和记忆力下降[21]。L-丝氨酸作为一种有效的神经保护剂[22],参与氨酰-tRNA 生物合成,并在 DEX 组中显著上调。WANG 等[23]利用 L-丝氨酸治疗局灶性脱髓鞘病变(FDL)的小鼠,发现 L-丝氨酸可以通过抑制小胶质细胞活化,减少炎症因子的释放,保护少突胶质细胞免受氧-糖剥夺(OGD)损伤,促进髓鞘再生,进而改善其空间学习、记忆和认知能力。LE 等[24]的研究表明在饮食中补充 L-丝氨酸可保护 AD 小鼠的突触功能及预防其行为缺陷,从而保护认知功能。在本研究中,我们还发现甜菜碱(Betaine)在 DEX 组显著上调,并且参与了甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢通路。有研究报道,在注射了 β 淀粉样蛋白的 AD 小鼠海马体中,甜菜碱摄入可防止认知障碍[25];IBI 等[26]也发现甜菜碱可通过改善突触结构和功能以及抗氧化作用预防 AD。DEX 组中血清 L-丝氨酸和甜菜碱含量升高,提示 DEX 可上调 L-丝氨酸和甜菜碱,调控氨酰-tRNA 生物合成以及甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢,从而抑制小胶质细胞活化、减少炎症因子的释放来保护术后早期认知功能。

γ-氨基丁酸(Gamma-aminobutyric acid,GABA)作为一种重要的抑制性神经递质参与了丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢通路,全脑 1/3 的突触以 GABA 作为递质。PERVAIZ 等[27]发现 Wistar 大鼠后代 GABA 信号通路缺陷和星形胶质细胞形态恶化与双酚 A(BPA)导致的认知障碍有关。也有研究报道,脑损伤会损害 GABA 的摄取,并最终导致认知障碍[28-29]。代谢组学结果提示经 DEX 干预后,患者血清中 GABA 含量上升,说明 DEX 通过上调 GABA,调控丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢来保护术后早期认知功能。上述代谢组学结果提示,DEX 可通过调控氨基酸有关代谢物及代谢通路,抑制小胶质细胞活化、减少炎症因子的释放、促进髓鞘再生,最终发挥对术后早期认知功能的保护作用。

本研究利用代谢组学分析了右美托咪定发挥术后早期认知功能保护作用的可能机制,为寻找早期 POCD 的治疗靶点提供了理论依据。但本研究存在一定的局限性:①为了便于分析和减少混杂因素,我们进行了严格排除标准的病例对照研究,但本研究的随访时间有限,且只招募了 48 名患者用于代谢组学分析,样本量较少。②在本研究中,我们使用 MMSE 评分来评估患者术后早期认知功能,但 MMSE 存在一定的误诊率,且影响因素较多(如测试者主观因素、教育程度等),量表较为单一。③缺乏协助诊断 POCD 的客观指标。因此,在未来的研究中,还需完善诊断方法对较大队列做进一步验证分析。尽管本文所述的代谢改变和与 POCD 相关的确切潜在机制还远不清楚,但通过补充有利于认知功能的物质,如磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、甘油磷酸胆碱、L-丝氨酸、甜菜碱和 γ-氨基丁酸等;或减少损害认知功能的物质,如二酰基甘油、前列腺素 D2 等,以此纠正这些代谢紊乱,可能为术后早期认知功能障碍的预防以及治疗提供新的思路。

本试验采用代谢组学分析方法发现右美托咪定能通过下调二酰基甘油(18:4/15:0/0:0)、甘油三酯 H、前列腺素 D2 等代谢物,上调磷脂酰胆碱(22:6/16:1)、磷脂酰胆碱(22:5/14:0)、磷脂酰胆碱(18:4/18:1)、脑磷脂(20:3/14:1)、甘油磷酸胆碱、胞苷、L-丝氨酸、γ-氨基丁酸、甜菜碱等代谢物,干预亚油酸代谢,甘油磷脂代谢,氨酰-tRNA 生物合成,甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢,丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢等通路,从而抑制炎症反应、减轻氧化应激、改善突触结构和功能、调控细胞能量代谢等来保护术后早期认知功能。

参考文献:

[1] WANG W H, MA Y X, LIU Y, *et al*. Effects of dexmedetomidine anesthesia on early postoperative cognitive dysfunction in elderly patients[J]. ACS Chem Neurosci, 2022, 13(15): 2309-2314. DOI: 10.1021/acschemneuro.2c00173.

[2] SHEN Y, LI X C, YAO J Y. Develop a clinical prediction model for postoperative cognitive dysfunction after major noncardiac surgery in elderly patients: a protocol for a prospective observational study[J]. Gerontology, 2022, 68(5): 538-545. DOI: 10.1159/000517511.

[3] TZIMAS P, SAMARA E, PETROU A, *et al*. The influence of anesthetic techniques on postoperative cognitive function in elderly patients undergoing hip fracture surgery: general vs spinal anesthesia[J]. Injury, 2018, 49(12): 2221-2226. DOI: 10.1016/j.injury.2018.09.023.

[4] KAPOOR I, PRABHAKAR H, MAHAJAN C. Postoperative cognitive dysfunction[J]. Indian J Crit Care Med, 2019, 23(Suppl 2): S162-S164. DOI: 10.5005/jp-journals-10071-23196.

[5] SHAO L J Z, XUE F S, GUO R J, *et al*. Comparing the effects of different drugs on postoperative cognitive dysfunction in elderly patients[J]. Chin Med J (Engl), 2019, 132(8): 1007-1008. DOI: 10.1097/CM9.0000000000000170.

[6] YU H, KANG H, FAN J X, *et al*. Influence of dexmedetomidine on postoperative cognitive dysfunction in the elderly: a meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Brain Behav, 2022, 12(8): e2665. DOI: 10.1002/brb3.2665.

[7] KAN M C, WANG W P, YAO G D, *et al*. Anticonvulsant effect of dexmedetomidine in a rat model of self-sustaining status epilepticus with prolonged amygdala stimulation[J]. Neurosci Lett, 2013, 543: 17-21. DOI: 10.1016/j.neulet.2013.03.036.

[8] 刘德智. 老年患者术后认知功能障碍情况及其对 MMSE 评分的影响[J]. 重庆医学, 2014, 43(27): 3577-3579. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2014.27.010.
LIU D Z. Postoperative cognitive dysfunction of elderly patients and its impact on MMSE score[J]. Chongqing Med, 2014, 43(27): 3577-3579. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2014.27.010.

[9] TAN W, ZHANG Q J, DONG Z J, *et al*. Phosphatidylcholine ameliorates LPS-induced systemic inflammation and cognitive impairments via mediating the gut-brain axis balance[J]. J Agric Food Chem, 2020, 68(50): 14884-14895. DOI: 10.1021/acs.jafc.0c06383.

[10] YLILAURI M P T, VOUTILAINEN S, LÖNNROOS E, *et al*. Associations of dietary choline intake with risk of incident dementia and with cognitive performance: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study[J]. Am J Clin Nutr, 2019, 110(6): 1416-1423. DOI: 10.1093/ajcn/nqz148.

[11] CALZADA E, ONGUKA O, CLAYPOOL S M. Phosphatidylethanolamine metabolism in health and disease[J]. Int Rev Cell Mol Biol, 2016, 321: 29-88. DOI: 10.1016/bs.ircmb.2015.10.001.

[12] GONZÁLEZ-DOMÍNGUEZ R, GARCÍA-BARRERA T, GÓMEZ-ARIZA J L. Combination of metabolomic and phospholipid-profiling approaches for the study of Alzheimer's disease[J]. J Proteom, 2014, 104: 37-47. DOI: 10.1016/j.jprot.2014.01.014.

[13] WOOD P L, BARNETTE B L, KAYE J A, *et al*. Non-targeted lipidomics of CSF and frontal cortex grey and white matter in control, mild cognitive impairment, and Alzheimer's disease subjects[J]. Acta Neuropsychiatr, 2015, 27(5): 270-278. DOI: 10.1017/neu.2015.18.

[14] CHE H X, LI Q, ZHANG T T, *et al*. A comparative study of EPA-enriched ethanolamine plasmalogen and EPA-enriched phosphatidylethanolamine on $A\beta_{42}$ induced cognitive deficiency in a rat model of Alzheimer's disease[J]. Food Funct, 2018, 9(5): 3008-3017. DOI: 10.1039/C8FO00643A.

[15] LIU J Y, ZHENG R Q, WANG Y, *et al*. The endogenous metabolite glycerophosphocholine promotes longevity and fitness in *Caenorhabditis elegans*[J]. Metabolites, 2022, 12(2): 177. DOI: 10.3390/metabo12020177.

[16] CANSEV M. Uridine and cytidine in the brain: their transport and utilization[J]. Brain Res Rev, 2006, 52(2): 389-397. DOI: 10.1016/j.brainresrev.2006.05.001.

[17] TROVARELLI G, PALMERINI C A, FLORIDI A, *et al*. The transport of cytidine into rat brain *in vivo*, and its conversion into cytidine metabolites[J]. Neurochem Res, 1982, 7(10): 1199-1207. DOI: 10.1007/BF00965891.

[18] WOOD P, TIPPIREDDY S, FERIANTE J, *et al*. Augmented frontal cortex diacylglycerol levels in Parkinson's disease and Lewy Body Disease[J]. PLoS One, 2018, 13(3): e0191815. DOI: 10.1371/journal.pone.0191815.

[19] ONAKA Y, SHINTANI N, NAKAZAWA T, *et al*. Prostaglandin D_2 signaling mediated by the CRTH2 receptor is involved in MK-801-induced cognitive dysfunction[J]. Behav Brain Res, 2016, 314: 77-86. DOI: 10.1016/j.

bbr.2016.07.050.

[20] WALLACE CHARLES H, GIOVANNI O, SERRANO PETER A, *et al*. Timapiprant, a prostaglandin D2 receptor antagonist, ameliorates pathology in a rat Alzheimer's model [J]. Life Sci Alliance, 2022, 5(12): e202201555. DOI: 10.26508/lsa.202201555.

[21] ENACHE T A, OLIVEIRA-BRETT A M. Alzheimer's disease amyloid beta peptides *in vitro* electrochemical oxidation[J]. Bioelectrochemistry, 2017, 114: 13-23. DOI: 10.1016/j.bioelechem.2016.11.003.

[22] YE L S, SUN Y C, JIANG Z L, *et al*. L-serine, an endogenous amino acid, is a potential neuroprotective agent for neurological disease and injury[J]. Front Mol Neurosci, 2021, 14: 726665. DOI: 10.3389/fnmol.2021.726665.

[23] WANG G H, DING L Z, GAO C Y, *et al*. Neuroprotective effect of l-serine against white matter demyelination by harnessing and modulating inflammation in mice [J]. Neuropharmacology, 2019, 146: 39-49. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2018.11.025.

[24] LE DOUCE J, MAUGARD M, VÉRAN J, *et al*. Impairment of glycolysis-derived L-serine production in astrocytes contributes to cognitive deficits in Alzheimer's disease[J]. Cell Metab, 2020, 31(3): 503-517. e8. DOI: 10.1016/j.cmet.2020.02.004.

[25] IBI D, KONDO S, OHMI A, *et al*. Preventive effect of betaine against cognitive impairments in amyloid β peptide-injected mice through Sirtuin1 in hippocampus [J]. Neurochem Res, 2022, 47(8): 2333-2344. DOI: 10.1007/s11064-022-03622-z.

[26] IBI D, HIRASHIMA K, KOJIMA Y, *et al*. Preventive effects of continuous betaine intake on cognitive impairment and aberrant gene expression in hippocampus of 3xTg mouse model of Alzheimer's disease[J]. J Alzheimer's Dis, 2021, 79(2): 639-652. DOI: 10.3233/jad-200972.

[27] PERVAIZ S S, SAMREEN M, FARSI K S A, *et al*. Gamma aminobutyric acid signaling disturbances and altered astrocytic morphology associated with bisphenol A induced cognitive impairments in rat offspring[J]. Birth Defects Res, 2021, 113(12): 911-924. DOI: 10.1002/bdr2.1886.

[28] XU P, HUANG X W, NIU W H, *et al*. Metabotropic glutamate receptor 5 upregulation of γ-aminobutyric acid transporter 3 expression ameliorates cognitive impairment after traumatic brain injury in mice[J]. Brain Res Bull, 2022, 183: 104-115. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2022.03.005.

[29] 徐礼鲜, 汪伟. 麻醉学在拓展舒适化医疗服务中的贡献与挑战[J]. 空军军医大学学报, 2023(4): 289-293. DOI: 10.13276/j.issn.2097-1656.2023.04.001.
XU L X, WANG W. Anesthesiology expands comfortable medical services: contributions and challenges[J]. J Air Force Med Univ, 2023(4): 289-293. DOI: 10.13276/j.issn.2097-1656.2023.04.001.

(**收稿**:2023-03-15;**修回**:2023-04-08)

(编辑 刘秋池)