异氟醚对成年大鼠行为学的影响

郑 雪,朱昭琼,张 超,张 帆 (遵义医学院附属医院麻醉科,贵州 遵义 563000)

[摘 要] **目的** 探讨国产异氟醚(宁芬)对成年大鼠学习记忆功能的影响。**方法** 成年雄性 SD 大鼠 36 只($n=6\times6$ 组),将其随机分为空白对照组(A 组)、阳性对照组(O_2组)、麻醉组。三组大鼠进行 Morris 水迷宫定位航行适应性训练 5 d,记录逃避潜伏期和总路程。麻醉组吸入 2.0% 浓度国产异氟醚 30 min,苏醒后 2 h、1 d、7 d、14 d 再次行水迷宫实验,观察指标与适应性训练相同。**结果** 麻醉 30 min 呼吸次数明显减少;与第 1 天比较,第 2、3、4、5 天逃避潜伏期、总路程差异显著($P<0.01$),且随着天数的增加逐渐缩短。**结论** 大鼠吸入宁芬 30 min 后,1 d 内对学习记忆有一定程度影响,1 d 后学习记忆逐渐改善,自行恢复到麻醉前水平。

[关键词] 学习记忆;认知功能障碍;行为学;异氟醚

[中图法分类号] R338.64;R614.2 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2012)06-0615-03

Effect of domestic isoflurane induced cognitive dysfunction on adult rats

ZHENG Xue, ZHU Zhao-qiong, ZHANG Chao, ZHANG Fan (Department of Anesthesiology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi Guizhou 563000, China)

Abstract: Objective To explore the effect of domestic isoflurane (Ningfen) induced learning and memory dysfunction on adult rats. **Methods** 36($n=6\times6$) adult male Sprague Dawley rats were randomly divided into 6 groups, control group (group air), positive control group (group O_2), anesthesia group (4 subgroups were divided as inhalation of domestic isoflurane). SD rats in anesthesia groups were given 2% isoflurane, recorded breath rate of the preanesthesia, anesthetized for 30min, then repeat the test again after 2 h, 1 d, 7 d, 14 d recover time respectively. **Results** Compared with group 1 d after anesthesia, the escape latency and path length of group 2 d, 3 d, 4 d and 5 d after anesthesia have shown significantly statistical differences ($P<0.01$), shortened as time passing on. **Conclusion** The inhalation of domestic isoflurane (Ningfen) after 1 d might affect the special memorizing ability of SD rats, however, after 1d of post anesthesia recovery, such ability can be restored completely to the original level.

Keywords: learning and memory; postoperative cognitive dysfunction; ethology; domestic isoflurane

术后认知功能障碍(postoperative cognitive dysfunction,POCD)是指术前无精神障碍的患者受围手术期各种因素的影响,出现术后大脑功能紊乱,导致认知、行为、意志的改变及记忆力受损。其发生是多种因素共同作用的结果,目前麻醉方式与药物是重要的危险因素[1]。而海马是学习、记忆和情绪行为功能密切相关的重要脑区,也是易累积受损的主要靶区[2]。本实验拟借助动物行为学实验,研究国产异氟醚吸入后对成年大鼠学习记忆的影响。

1 材料与方法

1.1 动物分组

健康 10 周龄 Sprag-Dawley(SD)雄性大鼠 36 只,体质量 250~280 g,由第三军医大学实验动物中心提供。采用随机数字表法,将大鼠随机分为空白对照组(A 组,即空气组)、阳性对照组(O_2组,即氧气组)、麻醉组(T1、T2、T3、T4 四个亚组,即异氟醚吸入 30 min 苏醒后 2 h、1 d、7 d、14 d 组)。

1.2 实验方法

麻醉前所有大鼠行 Morris 水迷宫适应性训练,其中前 5 d 行定位航行实验,每天 4 次,即:分别将大鼠头朝池壁按东、南、西、北 4 个入水点分次放入水池中,记录①总路程 大鼠从入水点到四肢爬上平台经过的路程(cm);②逃避潜伏期 大鼠从入水点至四肢爬上平台所需的时间(s)。第 6 天进行空间搜索实验,即除去平台,任选一入水点将大鼠放入水中,记录①大鼠 120 s 内在平台象限停留的时间(s);②平台游泳路程占总游泳路程百分比(%);③120 s 内大鼠游泳的平均速度(cm/s);④经过平台的次数(次)。水迷宫适应性训练完成后,A 组大鼠不做任何处理,O_2组大鼠于自制麻醉箱中吸入纯氧 30 min, T1、T2、T3、T4 组大鼠分别吸入异氟醚(ISO)30 min。该麻醉箱是一自制的(75 cm×30 cm×15 cm)的密闭容器,箱内铺垫厚 2 cm 的钠石灰,两侧分别有进气口与出气口,将其用螺纹管与麻醉机回路相连。适当调节 ISO 挥发罐刻度使大鼠在吸入麻醉期间进气口与出气口 ISO 浓度始终维持在 1.8% ~2.0%。A、O_2、T1 组分别在吸入空气、

[基金项目] 贵州省科技厅资助项目(黔科合字[2007]2132)横向联合研发项目(201001)

[收稿日期] 2012-09-03 [修回日期] 2012-09-12

O_2、ISO 30 min 后完全苏醒 2 h 进行定位航行实验和空间搜索实验；T2、T3、T4 组分别在吸入 ISO 30 min 后完全苏醒 1 d、7 d、14 d 进行定位航行实验和空间搜索实验，所有记录数据同麻醉前。

2.3 统计处理

计量资料均用均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，采用 SPSS 17.0 统计学软件进行单因素方差分析统计学处理，$P < 0.05$ 表示统计学有差异，$P < 0.01$ 表示统计学有显著性差异。

2 结果

水迷宫适应性训练完成后，将每只大鼠每天四个方向的成绩进行均数计算，得到每只大鼠每天训练总平均成绩（表 1、表 2）。随着时间的推移，大鼠逃避潜伏期和总路程缩短，说明从第 2 天开始产生了学习记忆，第 4 天产生了良好的学习记忆，提示模型建立成功。大鼠麻醉前，呼吸次数为（83.0 ± 7.1）次/分；麻醉 30 min，呼吸次数为（63.3 ± 10.4）次/分，翻正反射消失时间为（5.7 ± 1.2）min，翻正反射恢复时间为（5.5 ± 1.6）min，夹尾反射消失时间为（10.9 ± 1.3）min，完全苏醒时间为（9.2 ± 1.2）min；麻醉完全苏醒后的呼吸次数为（83.8 ± 5.0）次/分。麻醉后定位航行实验见表 3。麻醉后空间搜索实验，麻醉维持 30 min 后完全苏醒 2 h、1 d、7 d、14 d，分别按组行空间搜索实验（表 4）。

表 1 麻醉前各组大鼠空间探索试验结果分组平台象限停留（$\bar{x} \pm s$，$n = 36$）

分组	平台象限停留时间(s)	平台象限停留路程占总路程百分比(%)	平均速度(cm/s)	经过平台次数(次)
A 组	50.0 ± 10.3	35	19.5 ± 5.8	1.7 ± 1.0
O_2组	41.0 ± 10.5	28	23.4 ± 3.7	1.8 ± 1.7
T1 组	48.6 ± 12.7	36 *	23.8 ± 1.9	2.8 ± 2.0
T2 组	48.6 ± 12.9	35	23.2 ± 3.6	2.2 ± 1.6
T3 组	47.6 ± 10.3	32	24.2 ± 3.4	1.7 ± 1.2
T4 组	50.1 ± 8.0	36 *	25.3 ± 1.9	2.8 ± 1.9

*：与 O_2组比较，$P < 0.05$

表 2 水迷宫训练定位航行实验逃避潜伏期、总路程（$\bar{x} \pm s$，$n = 36$）

分组	潜伏期(s)	总路程(cm)
第 1 天	53.5 ± 41.7	1 291.3 ± 983.9
第 2 天	28.4 ± 30.8 *	809.5 ± 934.6 *
第 3 天	18.4 ± 16.5 *#	469.0 ± 401.1 *#
第 4 天	16.7 ± 18.2 *#	444.4 ± 499.7 *#
第 5 天	13.0 ± 10.5 *#△	379.9 ± 321.1 *#

*：与第 1 天比较，$P < 0.01$；#：与第 2 天比较，$P < 0.01$；△：与第 3 天比较，$P < 0.01$。

表 3 麻醉后定位航行实验潜伏期、总路程（$\bar{x} \pm s$，$n = 36$）

分组	潜伏期(s)	总路程(cm)
A 组	11.2 ± 6.6	347.5 ± 252.3
O_2组	11.0 ± 9.6	342.0 ± 256.1
T1 组	12.0 ± 14.5	523.7 ± 1 044.8
T2 组	24.8 ± 22.2 *#	608.5 ± 457.1
T3 组	14.8 ± 23.6	372.0 ± 606.9
T4 组	14.0 ± 13.0	461.5 ± 346.9

*：与 T1、T3、T4 组比较，$P < 0.05$；#：与 A、O_2组比较，$P < 0.01$

表 4 麻醉后各组大鼠空间探索试验结果（$\bar{x} \pm s$，$n = 36$）

分组	平台象限停留时间(s)	平台象限停留路程占总路程百分比(%)	平均速度(cm/s)	经过平台次数(次)
A 组	53.1 ± 5.5	40	26.5 ± 2.2	2.3 ± 1.5
O_2组	46.8 ± 6.5	35	30.2 ± 2.1	1.8 ± 1.3
T1 组	47.4 ± 11.6	35	26.2 ± 3.0	2.2 ± 1.0
T2 组	45.3 ± 10.0	38	21.7 ± 1.3 *	1.5 ± 1.0
T3 组	41.2 ± 6.3	32	26.3 ± 1.7	2.3 ± 1.8
T4 组	38.9 ± 6.0	31	23.6 ± 2.4	1.7 ± 1.0

*：与 A、O_2、T1、T3 组比较，$P < 0.01$

3 讨论

POCD 是精神功能变化的表现之一，指患者在麻醉手术后出现的焦虑、记忆受损、认知能力、语言理解能力和社会融合能力减退等中枢神经系统并发症。POCD 的发生是多种因素共同作用的结果，其中老龄是唯一明确的发病因素。研究表明，POCD 的发生率随着年龄的增长而不断增加[3]，但也有研究证实 POCD 的病因与麻醉药的作用密切相关[4]，尤其是吸入麻醉药可能影响老年大鼠的学习记忆功能，国内外许多专家对其发病机制进行了研究，但尚无定论[5]。

异氟醚是目前临床上广泛应用的吸入麻醉药，具有诱导和苏醒迅速、肌松良好、对循环系统影响小、无致畸等优点。异氟醚可通过多种机制对大脑学习记忆产生

影响,而目前临床上出现的 POCD 被认为可能与异氟醚所致的学习记忆功能障碍有关[6]。一方面,异氟醚增强 GABA 受体活性,抑制海马长时程增强,影响突触传递的可塑性,可能是术后产生认知功能障碍的基础;另一方面,中枢胆碱能系统被认为是引起 POCD 的一个可能作用和损害的位点。Wang 等[7]认为乙酰胆碱在学习记忆中扮演着重要的角色。异氟醚通过减少脑内乙酰胆碱含量来抑制中枢胆碱能系统,从而可能引起学习、记忆、注意力等认知功能的下降。而记忆是人类重要的生命活动形式之一,分为感觉记忆、短时记忆和长时记忆。其中长时记忆中的情景和语义记忆与海马密切相关,几乎完全依赖于海马系统,并且对全身麻醉药的作用非常敏感[8-9]。而海马则通过脑干网状结构系统及皮质下行纤维接受来自视、听、触、痛等多种感觉信息,并参与内分泌活动的调节,是研究最早和最多的与学习记忆相关的脑区,同时也是记忆的物质基础[10],是行为学观察点。

目前,动物的学习记忆主要通过行为学进行判断。Morris 水迷宫是英国心理学家 Morris 于 20 世纪 80 年代初设计,并应用于脑学习记忆机制研究的一种行为学实验。该实验操作简单,能够较为客观地反映动物的认知水平,减少感觉、运动缺陷对实验结果的干扰[11],其较为经典的测试程序主要包括定位航行试验和空间搜索试验两部分。定位航行试验反应动物的学习记忆功能,空间搜索试验反应定位的空间理想和回忆探究能力。本实验中,各组大鼠在吸入异氟醚前进行 5 d 的水迷宫适应性训练,结果表明随着训练天数的增加,逃避潜伏期和总路程进行性缩短。由实验结果看出,随着时间的推移,大鼠逃避潜伏期和总路程缩短,说明从第 2 天开始大鼠产生了学习记忆,第 4 天大鼠已经产生了良好的学习记忆,提示前期造模成功。在吸入异氟醚后,第 1 天组大鼠的逃避潜伏期增加,而平均速度减少,说明此现象不仅是由于大鼠游动时平均速度的下降导致行为学变化,其可能原因是记忆的提取过程出现了障碍导致大鼠最终的行为学变化。但这种变化仅出现在吸入异氟醚后的第 1 天,记忆障碍是暂时的,随着时间的推移,在吸入异氟醚后第 7 天、第 14 天后行为学逐渐恢复到麻醉前水平,提示学习记忆逐渐自行恢复。由此可以说明,吸入异氟醚只会造成短期的学习记忆障碍。本实验的结果与 Catherine 等所做研究结果相似。Catherine 等[12]将大鼠吸入异氟醚和氧化亚氮全身麻醉后,采用十二臂放射迷宫对其进行行为学观察,青年大鼠学习记忆能力有所下降,但短期内即可恢复。但是,Valentim 等[13]研究显示吸入低浓度的异氟醚才会对大鼠造成短期的空间学习障碍。将大鼠分别吸入 0、1%、2% 的异氟醚 28 h 后行 T 迷宫检测发现,1% 异氟醚会损坏大鼠空间学习记忆,而 2% 异氟醚却没有影响,这可能是因为两个实验吸入异氟醚的时间差异大有关,而吸入麻醉箱密闭性的差异也可能导致实验结果的不同。本实验只进行了持续吸入 2% 异氟醚 30 min 后,对大鼠苏醒的不同时间段空间学习记忆能力的研究,如果设置不同的异氟醚浓度延长吸入时间是否会造成大鼠学习记忆的改变将是本实验组接下来的研究计划。

[参考文献]

[1] Lombard FW, Mathew JP. Neurocognitive dysfunction following cardiac surgery [J]. Semin Cardiothorac Vasc Anesth, 2010, 14(2): 102 - 110.

[2] 徐佳丽,张小林,龙天霖. 烫伤对大鼠学习记忆能力与额叶皮质神经元凋亡的影响[J]. 局解手术学杂志, 2011, 20(6): 606 - 608.

[3] Callaway JK, Jones NC, Royse CF. Isoflurane induces cognitive deficits in the Morris water maze task in rats[J]. Eur J Anaesthesiol, 2012 Feb 17. [Epub ahead of print]

[4] 王 海,戴泽平. 全麻药物对学习记忆等认知功能的影响[J]. 实用新医学, 2007, 8(6): 486 - 488.

[5] Mawhinney LJ, de Rivero Vaccari JP, Alonso OF, et al. Isoflurane/nitrous oxide anesthesia induces increases in NMDA receptor subunit NR2B protein expression in the aged rat brain [J]. Brain Res, 2011 Nov 7. [Epub ahead of print]

[6] 彭 晶,朱昭琼,刘 旭,等. 乳化异氟醚对成年大鼠学习记忆功能的影响[J]. 西部医学, 2011, 23(7): 1214 - 1216.

[7] Wang H, Xu Z, Feng C, et al. Changes of learning and memory in aged rats after isoflurane inhalational anaesthesia correlated with hippocampal acetylcholine level[J]. Ann Fr Anesth Reanim, 2012 Jan 31. [Epub ahead of print]

[8] Hodges JR, Bozeat S, Lambon Ralph MA, et al. The role of conceptual knowledge in object use evidence from semantic dementia [J]. Brain, 2000, 123(Pt9): 1913 - 1925.

[9] 许艳淑,陈 琦,王英伟. 全凭静脉麻醉与吸入麻醉对老年患者术后认知功能影响的比较[J]. 上海医学, 2009, 32(1): 50 - 53.

[10] 许世福,吕黄伟. 异氟烷麻醉对大鼠认知功能的影响[J]. 中国医药导报, 2011, 8(15): 52 - 54.

[11] 彭 晶,朱昭琼,张 超,等. 乳化异氟醚对大鼠认知功能的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2011, 31(10): 1224 - 1227.

[12] Catherine C, Deborah JC, Mark GB, el al. Spatial memory performance 2 weeks after general anesthesia in adult rats [J]. Anesth Analg, 2005, 101(5): 1389 - 1392.

[13] Valentim AM, Alves HC, Olsson IA, et al. The effects of depth of isoflurane anesthesia on the performance of mice in a simple spatial learning task [J]. J Am Assoc Lab Anim Sci, 2008, 47(1): 16 - 19.

(编辑:蒋登金)