

DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2019.20190398

丙泊酚麻醉对老年小鼠空间记忆能力的影响

沈黎玮¹, 金玲艳², 延泉德³, 龚艳玲³, 庄倩倩³, 吴丹红^{1*}

1. 复旦大学附属上海市第五人民医院神经内科, 上海 200240

2. 复旦大学附属上海市第五人民医院麻醉科, 上海 200240

3. 上海交通大学 Bio-X 研究院, 上海 200030

[摘要] **目的:**探讨丙泊酚麻醉对老年小鼠空间记忆能力的影响。**方法:**采用 15 个月龄的雄性 C57BL/6 小鼠 18 只随机均分为丙泊酚麻醉组和对照组, 丙泊酚麻醉组行 250 mg/kg 丙泊酚腹腔注射, 对照组予 20% 中/长链脂肪乳注射液腹腔注射。麻醉前先行转棒实验记录小鼠运动的平均速度。腹腔注射麻醉 24 h 后行放射状水迷宫实验(radial arm water maze, RAWM), 连续 2 d, 记录小鼠进入错误臂道的次数。比较两组小鼠第 2 天 5 个实验组错误次数的差异。**结果:**两组小鼠转棒时间差异无统计学意义。丙泊酚麻醉组和对照组 9 只小鼠中均有 3 只小鼠在放射状水迷宫实验中未达到学习标准, 占 30%。丙泊酚麻醉组和对照组 RAWM 第 2 天 5 组实验的错误次数差异无统计学意义($P=0.089$)。**结论:**250 mg/kg 剂量的丙泊酚腹腔注射对 15 个月龄小鼠短期空间记忆能力无明显影响。

[关键词] 丙泊酚; 麻醉; 空间记忆**[中图分类号]** R 614.4 **[文献标志码]** A

Effects of propofol anesthesia on spatial memory in aged mice

SHEN Li-wei¹, JIN Ling-yan², YAN Quan-de³, GONG Yan-ling³, ZHUANG Qian-qian³, WU Dan-hong^{1*}

1. Department of Neurology, Shanghai Fifth People's Hospital, Fudan University, Shanghai 200240, China

2. Department of Anesthesia, Shanghai Fifth People's Hospital, Fudan University, Shanghai 200240, China

3. Bio-X Institute, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200030, China

[Abstract] **Objective:** To explore the spatial memory of aged mice after propofol anesthesia. **Methods:** Eighteen male C57BL/6 mice, aged 15 months, were randomly enrolled into the propofol anesthesia group and control group. The propofol anesthesia group was given an intraperitoneal injection of 250 mg/kg propofol, and the control group was given a 20% medium/long chain fat emulsion injection intraperitoneally. The rotarod experiment was performed to record the average speed of mouse movement before anesthesia. The radial water maze (RAWM) test was performed 24 h after the intraperitoneal injection for 2 consecutive days, and the number of errors that the mouse entered the wrong arm was recorded. The difference of errors in the five blocks on the second day between the two groups was compared. **Results:** There was no significant difference in the time of rotarod between the two groups. Three of nine mice in the propofol anesthesia group and the control group did not reach the learning standard in the radial water maze test, accounting for 30%. There was no significant difference of errors on the second day of the RAWM test between the propofol anesthesia group and the control group ($P=0.089$). **Conclusions:** Intraperitoneal injection of 250 mg/kg propofol has no significant effect on the short-term spatial memory in 15-month aged mice.

[Key Words] propofol; anesthesia; spatial memory

术后认知功能障碍(postoperative cognitive dysfunction, POCD)的发生与许多因素有关,其发生不仅是年龄相关的,全身麻醉药物的应用也被认为是重要因素之一^[1]。丙泊酚是目前临床上普遍用于麻醉诱导、麻醉维持的一种新型快速、短效静脉麻醉药,具有起效快、苏醒迅速、不良反应小等特点^[2-3]。丙泊酚

麻醉可损害大鼠空间记忆能力,尤其是短期记忆^[3]。且丙泊酚可增加小鼠脑内 tau 蛋白磷酸化的程度,引起多个位点的 tau 蛋白过度磷酸化,降低磷酸酶 2A 的活性^[4]。然而有 meta 分析显示对于老年患者,丙泊酚麻醉比气体麻醉出现术后早期认知功能障碍的发生率低^[5]。还有研究发现,丙泊酚麻醉可

[收稿日期] 2019-03-21**[接受日期]** 2019-06-02**[作者简介]** 沈黎玮, 硕士, 副主任医师. E-mail: shenlw78@126.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-24289093, E-mail: wudanhong@5thhospital.com

增强大鼠的记忆能力^[6],提示丙泊酚对于动物认知功能的影响仍有争议。为了探讨丙泊酚麻醉对于小鼠行为学的影响,本研究采用老年小鼠作为研究对象,通过放射状水迷宫实验研究丙泊酚麻醉对老年小鼠空间学习记忆的影响。

1 材料与方法

1.1 动物来源及分组 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供的健康 SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠 18 只,小鼠在上海交通大学实验动物中心分笼饲养至 15 个月龄。实验动物在光/暗交替间隔周期为 12 h,光照时间为 7:00 至 19:00 的条件下饲养。18 只小鼠随机分为 2 组,丙泊酚麻醉组 9 只,对照组 9 只。

1.2 转棒实验 小鼠在转棒仪(美国 Med Associates Inc.)上行转棒实验,小鼠放置于转棒上,转棒以 4~40 r/min 的速度转动,逐渐加速,以小鼠从转棒上落下为实验终止的时间,设定 5 min 为最长的运动时间。记录小鼠运动的平均速度和在转棒上的时间,每只小鼠重复实验 5 次。

1.3 丙泊酚麻醉 采用 1% 的丙泊酚注射液(北京费森尤斯卡比医药有限公司),给予小鼠 1 次 250 mg/kg 的丙泊酚注射液进行腹腔注射麻醉,以小鼠翻正反射消失作为进入麻醉状态的标志,小鼠麻醉后被放置在加热垫上维持体温。对照组采用相当于丙泊酚注射剂量的 20% 中/长链脂肪乳注射液(西安力邦制药有限公司)腹腔注射。

1.4 放射状水迷宫实验 放射状水迷宫放置在一个四面墙壁有不同几何图形的房间内,这些几何图形作为小鼠的视觉线索。放射状水迷宫的直径为 110 cm,水池中放置 6 个放射状臂道,水迷宫的水温维持在 22~24℃。实验共 2 d,第 1 天,每只小鼠需行 15 次实验,前 12 次实验平台 1 次露出,1 次隐藏在水下,相互交替,最后 3 次实验平台隐藏在水下。平台露出水面和隐藏在水下时距离水面的垂直距离均为 1 cm。第 2 天,共 15 次实验,平台隐藏在水下。每只小鼠每次出发的臂道不同,同 1 只小鼠每次的目标平台相同。小鼠找到平台后在平台上停留 15 s 作为训练。每次实验结束后将小鼠轻轻用干纸巾擦干,放回笼中,用加热的灯泡照射取暖。每 3 次实验更换 1 只小鼠。研究人员计算小鼠进入错误臂道的次数,如果小鼠 15 s 内不能进入臂道算是 1 次错误。每个实验持续 1 min,计算总的错误

次数。每 3 次实验的错误次数取平均值作为一组错误次数,2 d 实验共有 10 组数据^[7]。2 d 的水迷宫实验由同一研究人员完成。研究人员对小鼠的分组情况不知情。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 22.0 统计软件进行统计分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。应用 t 检验统计两组小鼠转棒实验的时间。采用两因素重复方差分析统计两组放射状水迷宫实验的错误次数(取第 2 天 5 个实验组的数据),同时采用 t 检验比较两组第 2 天每个实验组错误次数的差异。检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 转棒实验 两组小鼠在腹腔注射药物前进行转棒实验,以了解小鼠的运动能力。丙泊酚麻醉组 5 次实验转棒时间的均值为 (57.77 ± 28.42) s,对照组为 (44.67 ± 11.09) s,两组小鼠 5 次转棒实验的时间差异无统计学意义,说明两组小鼠麻醉前的运动能力差异无统计学意义。

2.2 放射状水迷宫实验 两组小鼠在注射丙泊酚和脂肪乳剂 24 h 后行放射状水迷宫实验,小鼠每天行 15 次实验,每 3 次实验中错误次数的均数作为 1 组实验数据,每日有 5 组数据,实验第 2 天最后 1 组数据的错误次数在 1 次和 1 次以下作为小鼠学习达标的标准。丙泊酚组 9 只小鼠中 3 只小鼠未达到学习标准,占 30%;对照组 9 只小鼠中 3 只小鼠未达到学习标准,占 30%。统计分析结果(图 1)显示:两组小鼠第 2 天 5 组实验的错误次数差异无统计学意义($P=0.089$)。然而在第 2 天第 8 个实验组,两组的错误次数有差异,对照组较丙泊酚组的错误次数增多($P=0.023$)。

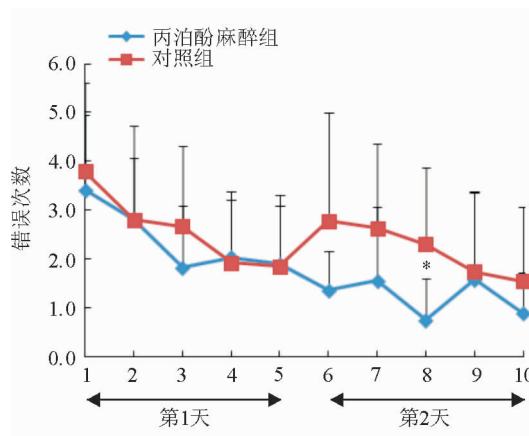


图1 丙泊酚麻醉组和对照组小鼠放射状水迷宫实验的错误次数

* $P=0.023$ 与对照组相比; $n=5$, $\bar{x} \pm s$

3 讨论

本研究采用放射状水迷宫实验来检测老年小鼠的空间记忆能力。检测小鼠空间记忆能力的常用方法是 Morris 水迷宫,但该实验的缺点是耗时长,常需要 1 周甚至更久的时间,对于没有学会寻找平台的小鼠则需要进一步延长训练时间。本研究应用的 2 d 放射状水迷宫实验主要用于检测小鼠的空间学习记忆能力。其优点是耗时短,大大提高了实验的效率,同时也不需要像其他行为学实验那样通过食物剥夺和电刺激小鼠足部等对动物产生一定损害的方法来进行实验^[8]。

丙泊酚是临床上常用的静脉麻醉药物,可以抑制 NMDA 受体激活,从而对学习记忆产生影响。以往对于丙泊酚对动物认知功能的研究有不同的看法,部分研究认为丙泊酚会损害大鼠的记忆能力,也有研究发现对大鼠的记忆能力无影响^[9]。另外有研究发现丙泊酚可以增强大鼠的记忆能力。这些结果与研究中采用的丙泊酚剂量、麻醉次数和行为学评价方法不同等因素也有相关性。本研究选择了目前较为常用的麻醉剂量进行麻醉,使得结果与文献中的数据更有可比性。

本研究发现丙泊酚麻醉组小鼠与对照组小鼠的空间学习记忆能力无差异统计学意义。以往的研究中也有类似的结果。Mardini 等^[10]同样用 250 mg/kg 剂量的丙泊酚给予平均月龄 11 个月的中老年小鼠和 3xTgAD 转基因小鼠一次腹腔注射,并将麻醉组的小鼠分成 2 组,一组给予盲肠切除术,一组作为对照,在 3 周和 15 周行 Morris 水迷宫实验未发现丙泊酚注射组的中老年 3xTgAD 转基因小鼠出现空间记忆能力损害。另外甚至有研究发现丙泊酚对老年小鼠的空间记忆能力有改善作用。Shao 等^[11]的研究显示每周腹腔注射 50 mg/kg 的丙泊酚,连续注射 8 周,老年小鼠的空间记忆能力有改善,连续注射 16 周,老年 AD 转基因鼠的空间记忆能力有改善。也有研究显示丙泊酚可以减少 caspase-3 的激活和 A β 寡聚体的产生^[12]。由此可见,丙泊酚作为一种静脉麻醉药物与老年小鼠和 AD 小鼠的认知功能存在着密切的关系,值得作进一步深入研究。

本研究未发现丙泊酚组和对照组的空间记忆能力有统计学差异,分析原因可能是行为学实验小鼠的样本量偏小,进一步可以扩大样本量进行研究。丙泊酚麻醉对于老年小鼠和成年小鼠认知功能影响有不同的结论,进一步的研究可以比较丙泊酚麻醉对于老年小鼠及成年小鼠认知功能影响的

差异。丙泊酚对于动物认知功能的作用受剂量、次数等多种因素的影响,因此可以采用文献中多次反复注射的方法来探究多次丙泊酚注射对于动物认知功能的影响。丙泊酚对于动物认知功能的影响存在短期和长期认知功能的影响,由于本研究条件的限制,所以未能进行慢性实验的观察,需要在今后的研究中进行补充。

参考文献

- [1] WHITTINGTON R A, BRETTEVILLE A, DICKLER M F, et al. Anesthesia and tau pathology [J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2013, 47:147-155.
- [2] 聂晶晶,黄绍强,孙申. Schnider 模型用于全麻剖宫产诱导时丙泊酚的效应室靶浓度[J]. 中国临床医学,2018,25(6):910-914.
- [3] 尚游,吴艳,姚尚龙,等. 丙泊酚对大鼠空间学习记忆能力影响的实验研究[J]. 中国药理学通报,2007,23(6):764-768.
- [4] WHITTINGTON R A, VIRÁG L, MARCOUILLER F, et al. Propofol directly increases tau phosphorylation[J]. PLoS One, 2011, 6(1):e16648.
- [5] 许德奖,杨威,赵国栋. 丙泊酚与气体麻醉对老年患者术后认知功能障碍的影响:Meta 分析[J]. 南方医科大学学报,2012,32(11):1623-1627.
- [6] HAUER D, RATANO P, MORENA M, et al. Propofol enhances memory formation *via* an interaction with the endocannabinoid system[J]. Anesthesiology, 2011, 114(6):1380-1388.
- [7] ALAMED J, WILCOCK D M, DIAMOND D M, et al. Two-day radial-arm water maze learning and memory task; robust resolution of amyloid-related memory deficits in transgenic mice[J]. Nat Protoc, 2006, 1(4):1671-1679.
- [8] PUZZO D, LEE L, PALMERI A, et al. Behavioral assays with mouse models of Alzheimer's disease: practical considerations and guidelines[J]. Biochem Pharmacol, 2014, 88(4):450-467.
- [9] 刘毓和,吴新民,杜敏逸,等. 咪唑安定、异丙酚和氯胺酮对老年大鼠认知功能的影响[J]. 中华麻醉学杂志,2006,26(4):315-317.
- [10] MARDINI F, TANG J X, LI J C, et al. Effects of propofol and surgery on neuropathology and cognition in the 3xTgAD Alzheimer transgenic mouse model[J]. Br J Anaesth, 2017, 119(3):472-480.
- [11] SHAO H, ZHANG Y, DONG Y, et al. Chronic treatment with anesthetic propofol improves cognitive function and attenuates caspase activation in both aged and Alzheimer's disease transgenic mice[J]. J Alzheimers Dis, 2014, 41(1):499-513.
- [12] ZHANG Y, SHAO H, DONG Y, et al. Chronic treatment with anesthetic propofol attenuates β -amyloid protein levels in brain tissues of aged mice[J]. Transl Neurodegener, 2014, 3:8.

[本文编辑] 吴秀萍,贾泽军