

· 论著 ·

七氟醚麻醉对新生鼠学习与记忆的影响

孙继辉¹, 陆志俊², 辛怡纯³, 于布为² (1. 同济大学医学院, 上海 200092; 2. 上海交通大学医学院瑞金医院麻醉科, 上海 200025; 3. 上海交通大学医学院瑞金医院卢湾分院麻醉科, 上海 200020)

[摘要] **目的** 探索用七氟醚麻醉发育期小鼠是否会引引起成长过程中学习记忆障碍。**方法** 实验包括 122 只新生鼠(出生后 7 d)。其中 72 只分别经七氟醚 1.0 或 0.5 最低肺泡有效浓度(minimum alveolar concentration, MAC)麻醉或吸入 40% O₂ 2 h, 4 周或 12 周行水迷宫实验, 记录训练各天潜伏期和游泳速度, 以及探索期平台滞留时间和平台穿越次数。另外 50 只小鼠用于测定七氟醚麻醉(1.0 或 0.5 MAC)过程(0、1、2 h)中动脉血气分析。**结果** 新生鼠在整个麻醉过程中, pH 值、PaCO₂、PaO₂ 和 SaO₂ 均保持稳定, $P > 0.05$ 。麻醉后 4 周, 训练期后 3 d, 对照组小鼠潜伏期明显低于麻醉组, 且后 2 d, 0.5 MAC 组小鼠的潜伏期明显短于 1.0 MAC 组。探索期, 对照组小鼠平台停留时间和平台穿越次数均明显高于 2 组麻醉组。麻醉后 12 周, 1.0 MAC 组小鼠在训练第 5 天潜伏期仍明显延长。探索期, 对照组小鼠平台停留时间和(或)平台穿越次数均明显高于麻醉组。**结论** 七氟醚麻醉引起新生鼠成长过程中学习与记忆障碍, 其程度与药物浓度有关, 且随时间推移减弱。

[关键词] 新生鼠; 七氟醚; Morris 水迷宫; 学习记忆

[中图分类号] R971.2; R965

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2015)04-0341-06

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2015.04.014

The effects of sevoflurane on learning and memory of neonatal mice

SUN Jihui¹, LU Zhijun², Xin Yichun³, Yu Buwei² (1. School of Medicine, Tongji University, Shanghai 200092, China; 2. Department of Anesthesia, Ruijin Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200025, China; 3. Department of Anesthesia, Luwan Branch of Ruijin Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200020, China)

[Abstract] **Objective** To evaluate the effects of sevoflurane on learning and memory of neonatal mice. **Methods** 122 neonatal mice (7 days postnatal) were included in this study. 72 of them were exposed to sevoflurane (1.0 or 0.5 MAC, minimum alveolar concentration) or 40% O₂ for 2 h (hours). Morris water maze was performed 4 and 12 weeks after anesthesia. Latency and swimming speed during training, time on island and times across island during the research were recorded. The rest 50 mice was used in artery blood analysis during sevoflurane (1.0 or 0.5 MAC, 0, 1, 2 h). **Results** pH, PaO₂, PaCO₂, SaO₂ were stable during anesthesia. Latency in control group were significantly shorter than the two anesthesia groups 4 weeks after anesthesia and 3 days after the training. During the last 2 training days, the latency in 1.0 MAC sevoflurane-exposed mice were significantly longer than that of the 0.5 MAC group. 12 weeks after anesthesia, the latency was still significantly longer in 1.0 MAC sevoflurane-exposed mice on the last training day. The time on island and/or times across island were significantly decreased in anesthesia groups during the research performed 4 weeks and 12 weeks after anesthesia. **Conclusion** Early exposure to sevoflurane leads to a concentration and time-dependent persistent learning and memory deficits to neonatal mice.

[Key words] neonatal mice; sevoflurane; Morris water maze; learning and memory

小儿外科学的发展使越来越多的疾病能在婴幼儿、甚至新生儿期通过手术方式予以早期治疗, 以减少病症对患儿日后生长发育的影响。近年来的一些回顾性研究发现, 小儿在 4 岁前接受全身麻醉, 可能

会引起日后的行为异常和学习障碍^[1,2]。

吸入麻醉药是全身麻醉中最常用的药物, 临床中常用的吸入麻醉药都对发育期大脑具有损伤作用, 诱导神经元程序性死亡^[3,4]。目前研究表明, 不同吸入麻醉药对新生鼠大脑的影响不同。Kodama 等^[5]发现地氟醚和异氟醚都能引起新生鼠神经元凋亡, 但地氟醚还能导致成年后记忆能力障碍, 异氟醚则不会。

七氟醚起效迅速, 对气道没有刺激性, 适用于小儿麻醉吸入诱导, 部分厂商甚至根据小儿的喜好, 在

[基金项目] 上海市自然科学基金课题基金项目(11ZR1423200)

[作者简介] 孙继辉, 本科, 医师. Tel: 13651666909; E-mail: bullets_333cn@163.com

[通讯作者] 陆志俊, 副主任医师, 研究方向: 吸入麻醉药对学习记忆的影响. E-mail: lusamacr@126.com

七氟醚罐中加入糖果等香味,以缓解患者在麻醉前的紧张情绪,增加诱导的平稳性。因此,七氟醚已经成为小儿麻醉的最佳选择。七氟醚能引起发育期大脑多个部位的神经退变^[6],但对成长过程学习记忆能力的影响尚不清楚。因此,我们拟给予新生鼠不同浓度的七氟醚麻醉,然后在其成长过程中用 Morris 水迷宫实验来评价小鼠学习记忆能力是否受到抑制。

1 材料和方法

1.1 实验动物 本实验方案经上海交通大学医学院瑞金医院卢湾分院实验动物伦理委员会审核同意。实验动物为出生后 7 d(P7)的雄性小鼠(C57BL/6 品系),由南京大学模式动物研究所提供。

实验小鼠饲养于中国科学院上海生命科学院营养与代谢研究所小动物房(SPF 级),环境温度 22℃,湿度 55%。实验小鼠对食物和饮水的获得不受限制。动物房实施灯光管制,每天亮灯 12 h(7:00 至 19:00),即光照 12 h 与黑暗 12 h 循环。为避免小鼠在实验时发生触摸恐惧,在水迷宫实验前 5 d,每天由实验者抚摸小鼠 2 min。

1.2 实验小鼠分组 将 122 只小鼠分为 A($n=72$)、B($n=50$)两部分。第一部分小鼠参加水迷宫实验,这些小鼠在出生后第 7 天接受七氟醚(2.6%或 1.3%以及 40% O₂)麻醉 2 h,然后分别在 4 周或 12 周后进行 Morris 水迷宫实验,对照组仅吸入 40% O₂。实验分组详见表 1。

表 1 实验分组 A(水迷宫, $n=72$)

| 实验指标测定时间 | 七氟醚麻醉浓度 | Morris 水迷宫时间 | 个体数量 |
|----------|---------|--------------|------|
| 4 周 | 1.0MAC | 麻醉后 4 周 | 12 |
| | 0.5MAC | 麻醉后 4 周 | 12 |
| | 对照组 | 与麻醉组同时 | 12 |
| 12 周 | 1.0MAC | 麻醉后 12 周 | 12 |
| | 0.5MAC | 麻醉后 12 周 | 12 |
| | 对照组 | 与麻醉组同时 | 12 |

第二部分小鼠($n=50$)分为 5 组,为评估幼鼠在七氟醚麻醉过程中是否会缺氧,将 10 只 P7 幼鼠在七氟醚(2.6%或 1.3%)麻醉过程中处死,剖胸取胸主动脉血作血气分析,测定 pH 值、PaO₂、PaCO₂和 SaO₂。实验分组见表 2。

1.3 小鼠麻醉 实验前订制透明塑料材质麻醉箱,长 65 cm×宽 52 cm×高 45 cm。从顶部开盖,由此放入实验动物。麻醉气体由顶部小孔进入箱内,在

表 2 实验分组 B(血气分析, $n=50$)

| 七氟醚麻醉浓度 | 实验指标测定时间 | 个体数量 |
|---------|----------|------|
| 对照组 | 麻醉开始前 | 10 |
| 1.0MAC | 麻醉 1 h | 10 |
| 1.0MAC | 麻醉 2 h | 10 |
| 0.5MAC | 麻醉 1 h | 10 |
| 0.5MAC | 麻醉 2 h | 10 |

箱侧壁留一小孔,可与麻醉气体检测仪相连,该小孔的位置位于小鼠活动平面。当所有设备连接好以后,整个系统处于密封状态,与大气不相通。麻醉箱分为上、下两层,下层铺有钠石灰,吸收 CO₂,防止箱内 CO₂蓄积。

麻醉机(OMEDA-DETAX, USA)波纹管与麻醉箱顶部小孔相连接,麻醉气体分析仪(OMEDA-DETAX S/5, USA)采样管一端与麻醉箱侧壁小孔相连接,监测箱内麻醉气体的浓度,另一端与储气气囊连接,收集废气,定时排空。在放入实验小鼠前,先以 10 L/min 混合气体(5%七氟醚-40% O₂)预冲麻醉箱至箱内七氟醚浓度达到 5%,然后打开顶盖,将实验小鼠迅速放入。因此,当箱内置入小鼠后,七氟醚蒸发罐刻度置于 5%保持 1 min,然后将最低肺泡有效浓度(minimum alveolar concentration, MAC)调至 1 MAC(2.6%)或 0.5 MAC(1.3%),新鲜气体流量降至 3 L/min,维持 120 min,而后关闭七氟醚蒸发罐,将小鼠放回原先的鼠笼。麻醉箱底部放置电热毯,外部以取暖器加热,保持箱内温度在 37~38℃。对照组小鼠亦放在相同形状的箱内,给予 40% O₂,流量为 3 L/min,维持 120 min。

1.4 Morris 水迷宫实验 Morris 水迷宫系统(DigBehv-MG,通用型)由上海吉量软件科技有限公司设计制造。水槽为圆形,直径 122 cm。根据实验操作电脑所在的位置,在水槽边上设 4 个点,东(E)、南(S)、西(W)和北(N),以 E-W、N-S 连线将水槽分为 4 个象限,逆时针排列,以东北(EN)象限为 I 象限,NW 象限为 II 象限,WS 象限为 III 象限,SE 象限为 IV 象限。平台置于 II 象限中央,由透明有机材料制成,直径为 10 cm。本实验采用暗台方式进行水迷宫训练,调节水槽内水位高度,使得平台上表面位于水面下 0.5~1.0 cm,实测水深约 45 cm。实验前加入二氧化钛粉末,使水槽中的清水变成白色,肉眼通过水面无法看到平台位置,水温维持在 22~24℃。摄像机置于圆形水槽中心水面上方约 70 cm 处。整套系统由计算机系统自动记录分析,通过捕捉白色水面上黑色小鼠的运动轨迹分析记录各种数

据。为了适应啮齿类动物的趋暗性,整个水槽周围以白色布围住,其内部无灯光照射。此外,整个水迷宫实验过程中,保持现场安静,防止小鼠根据声音来判断平台方位。

整个水迷宫实验共需6 d,前5 d为训练,第6天撤去平台,进行探索实验。训练期,每只小鼠每天进行4次水迷宫训练,为避免小鼠对起点位置的记忆,同一天内小鼠4次水迷宫训练从不同的起点出发。平台设在II象限,训练起点则设在另外3个象限区域内,即E点、S点、EN点(E与N的中点)和WS点(W与S的中点)。通过半随机化方式设定每天每只小鼠从不同起点进入水迷宫的顺序,以避免小鼠对起点顺序的记忆。第6天进行探索实验时,为确保所得出的结果是反映小鼠所记住的是平台的空间位置,而非记住了特定路线,所有小鼠均从一个新的起点即SE点(S与E中点)进行实验。关于起点位置的半随机化设定详见表3。

表3 Morris水迷宫小鼠起点位置半随机化表

| 训练时间 | 训练实验1 | 训练实验2 | 训练实验3 | 训练实验4 |
|-----------|-------|-------|-------|-------|
| 第1天 | S | E | WS | EN |
| 第2天 | WS | S | EN | E |
| 第3天 | EN | WS | E | S |
| 第4天 | E | EN | S | WS |
| 第5天 | S | E | WS | EN |
| 第6天(探索实验) | SE | | | |

注:WS点为W与S的中点

实验训练期,实验者持鼠尾位于某一起点位置,然后将小鼠面向水槽壁放入水中,同时打开摄像程序,预先设置软件程序,当小鼠四肢均接触暗台 >1 s,摄像程序自动停止,并给出潜伏期。若小鼠在90 s内不能找到暗台,则摄像程序自动停止。无论小鼠是否能在规定时间内找到平台,每次训练完成后,小鼠均在平台上停留15 s。第1~5天,重复上述步骤,第6天移除平台进行探索实验。

Morris水迷宫实验中需记录实验数据。在训练期,测量2项数据:①潜伏期:从小鼠放入水中至小鼠四肢均触及平台(时间 >1 s),若小鼠在90 s内无法完成任务,则该小鼠的潜伏期为90 s;②平均速度:小鼠每天在水中游泳的平均速度,本实验采用的是4次训练的平均速度。在探索实验中,测量2项数据:①小鼠穿越平台位置的次数;②小鼠在平台区域的停留时间。所有数据均由计算机软件自动记录,以避免人为干扰。

1.5 统计学方法 所有指标均以 $(\bar{x} \pm SE)$ (均值±标准误)表示。实验中的参数资料采用二向方差(two way ANOVA)检验进行多组比较,如有差异,再以 post hoc 两两比较(q 检验),两组间比较采用团体 t 检验。本实验的非参数资料采用秩和检验,本研究采用刘万里等^[7]所述方法用 SPSS 11.5 软件实现秩和检验的多组多重比较。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠存活情况 所有 P7 小鼠七氟醚麻醉后均存活。麻醉后4周和12周,每一组均有2只小鼠在成长过程中死亡。

2.2 七氟醚麻醉对 P7 小鼠呼吸的影响 为评估七氟醚麻醉过程中小鼠是否有缺氧和 CO_2 蓄积,我们在麻醉过程中采动脉血进行血气分析,结果显示,无论是 1.0 MAC 还是 0.5 MAC 浓度七氟醚,小鼠在整个麻醉过程中, pH 值、 $PaCO_2$ 、 PaO_2 和 SaO_2 均保持相对稳定, $P > 0.05$, 详见表 4。

表4 P7小鼠七氟醚麻醉中血气分析($n=10, \bar{x} \pm SE$)

| 麻醉浓度及阶段 | pH 值 | PaO_2 (mmHg) | $PaCO_2$ (mmHg) | SaO_2 (%) |
|----------------|-------------|-------------------|--------------------|----------------|
| 麻醉前 | 7.411±0.008 | 105±2 | 21.8±0.8 | 99.0±0.3 |
| 1.0 MAC 麻醉 1 h | 7.411±0.008 | 103±2 | 23.6±0.7 | 98.3±0.4 |
| 1.0 MAC 麻醉 2 h | 7.403±0.008 | 98±1 | 23.0±0.9 | 97.4±0.6 |
| 0.5 MAC 麻醉 1 h | 7.403±0.010 | 103±2 | 23.9±0.7 | 98.1±0.4 |
| 0.5 MAC 麻醉 2 h | 7.406±0.007 | 99±1 | 23.3±0.9 | 97.2±0.6 |

2.3 七氟醚麻醉对幼鼠成长中记忆力的影响 小鼠在出生后第7天接受七氟醚麻醉,然后分别在之后第4周和第12周进行 Morris 水迷宫实验,以明确小鼠记忆能力是否受到影响。

实验结果显示,在麻醉后第4周,小鼠在训练期的第3、4、5天,对照组小鼠潜伏期明显短于麻醉组,而且在第4、5天,0.5 MAC 组小鼠的潜伏期明显短于1.0 MAC 组,详见表5。在随后的探索实验中,对照组小鼠平台停留时间和平台穿越次数均明显高于两组麻醉组。1.0 MAC、0.5 MAC 和对照组小鼠探索期平台停留时间分别为 (0.038 ± 0.026) 、 (0.188 ± 0.093) 和 (0.875 ± 0.212) s, $P=0.001$;平台穿越次数分别为 (0.25 ± 0.16) 、 (0.63 ± 0.32) 和 (2.38 ± 0.65) 次, $P=0.003$ 。

在麻醉后第12周,小鼠在训练期第5天,1.0 MAC 组小鼠潜伏期仍然明显高于对照组和0.5 MAC 组,详见表6。在随后进行的探索实验中,

表5 麻醉后4周各组小鼠水迷宫实验各训练期中的潜伏期比较($n=10, \bar{x} \pm SE$)

| 组别 | 潜伏期(t/s) | | | | |
|--------|--------------|------------|-------------|--------------|--------------|
| | 第1天 | 第2天 | 第3天 | 第4天 | 第5天 |
| 对照组 | 82.58±4.15 | 78.61±4.03 | 50.19±5.72 | 45.55±4.87 | 35.97±4.49 |
| 0.5MAC | 73.94±4.98 | 74.98±4.85 | 65.99±5.34* | 67.22±4.89* | 63.27±6.14* |
| 1.0MAC | 84.56±3.02 | 85.66±2.70 | 76.48±4.85* | 85.50±2.52*# | 69.17±5.56*# |

* $P < 0.05$, 与对照组比较; # $P < 0.05$, 与0.5MAC组比较表6 麻醉后12周各组小鼠水迷宫实验各训练期中的潜伏期比较($n=10, \bar{x} \pm SE$)

| 组别 | 潜伏期(t/s) | | | | |
|--------|--------------|------------|------------|------------|-------------|
| | 第1天 | 第2天 | 第3天 | 第4天 | 第5天 |
| 对照组 | 72.61±5.29 | 67.75±5.16 | 60.81±5.59 | 42.09±5.42 | 32.73±5.12* |
| 0.5MAC | 77.27±4.88 | 53.39±4.92 | 44.25±5.53 | 36.68±4.49 | 27.34±4.14* |
| 1.0MAC | 81.68±3.58 | 54.40±5.19 | 55.23±5.48 | 53.23±5.84 | 52.42±5.46 |

* $P < 0.05$, 与1.0MAC组比较

对照组小鼠平台停留时间明显高于两组麻醉组。1.0 MAC、0.5 MAC 和对照组小鼠探索期平台停留时间分别为(0.233±0.107)、(1.000±0.273)和(15.322±3.622) s, $P < 0.001$ 。对照组和0.5 MAC组小鼠平台穿越次数明显多于1.0 MAC组。1.0 MAC、0.5 MAC 和对照组小鼠探索期平台

穿越次数分别为(0.67±0.33)、(2.63±0.71)和(4.67±1.18)次, $P=0.006$ 。

为避免小鼠游泳速度对实验结果的干扰,我们在水迷宫实验中记录了各组小鼠的游泳速度。结果显示,在麻醉后4周和12周进行的水迷宫实验中,各组小鼠的游泳速度没有明显差异。详见表7、8。

表7 麻醉后4周各组小鼠水迷宫实验各训练期中的游泳速度比较($n=10, \bar{x} \pm SE$)

| 组别 | 游泳速度($v/m \cdot s^{-1}$) | | | | |
|--------|----------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | 第1天 | 第2天 | 第3天 | 第4天 | 第5天 |
| 对照组 | 0.180±0.012 | 0.138±0.011 | 0.148±0.010 | 0.151±0.009 | 0.160±0.007 |
| 0.5MAC | 0.192±0.013 | 0.180±0.014 | 0.180±0.013 | 0.161±0.014 | 0.169±0.015 |
| 1.0MAC | 0.161±0.012 | 0.166±0.012 | 0.176±0.013 | 0.185±0.012 | 0.200±0.012 |

表8 麻醉后12周各组小鼠水迷宫实验各训练期中的游泳速度比较($n=10, \bar{x} \pm SE$)

| 组别 | 游泳速度($v/m \cdot s^{-1}$) | | | | |
|--------|----------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | 第1天 | 第2天 | 第3天 | 第4天 | 第5天 |
| 对照组 | 0.210±0.010 | 0.175±0.012 | 0.156±0.011 | 0.172±0.011 | 0.157±0.009 |
| 0.5MAC | 0.234±0.012 | 0.198±0.012 | 0.193±0.014 | 0.200±0.013 | 0.182±0.013 |
| 1.0MAC | 0.239±0.011 | 0.158±0.013 | 0.161±0.012 | 0.181±0.013 | 0.164±0.013 |

3 讨论

本实验结果显示,新生鼠(出生后7 d)经七氟醚麻醉后4周和12周,水迷宫实验训练期后半阶段,潜伏期明显延长。探索实验中,麻醉组小鼠平台区域停留时间和穿越平台次数亦显著下降。

3.1 七氟醚麻醉对小鼠发育期大脑日后学习与记忆能力的影响 麻醉对发育期中枢神经系统的影响一直受到关注,尤其是学习与记忆能力的改变更是研究的热点^[8-13]。Morris 水迷宫是评价空间学习和

记忆能力的经典行为学实验方法,能较为准确地评价海马功能,实验结果稳定,重复性好^[14]。在不同遗传背景的啮齿类动物中,C57BL/6品系小鼠擅长游泳,能在较短时间内适应水迷宫环境,但是,雌性小鼠的行为学表现容易受到雌激素周期的影响^[14],因此,本实验选用雄性C57BL/6品系小鼠作为研究对象。

幼鼠经七氟醚麻醉后,是否对日后的学习与记忆能力产生影响,仍然存在争议。Zheng等^[15]给予Wistar幼鼠(P7)七氟醚麻醉(1%~3%,2~4 h),

在麻醉后5周、8周和14周,对幼鼠进行 Morris 水迷宫实验。结果发现,这些幼鼠训练各天的潜伏期以及探索期(训练结束后24 h)各项指标均没有明显改变,提示早期七氟醚麻醉不影响日后学习记忆能力。而 Ramage 等^[16]同样用大鼠进行实验发现,在出生后第7天接受七氟醚麻醉(2%~3%,4 h),然后在第83天(约麻醉结束后12周)行 Morris 水迷宫实验,这些大鼠的早期长时程(训练结束后4 h)记忆有缺陷。本实验分别在幼鼠七氟醚麻醉后4周和12周行 Morris 水迷宫实验。麻醉组小鼠探索实验(训练结束后24 h)平台区域停留时间均明显低于对照组,说明小鼠的长时程记忆受损。我们的实验结果支持 Ramage 等的结论,却与 Zheng 等不同。以上实验结果的差异可能与水迷宫实验方法存在差异有关:①Ramage 等将探索实验放在训练结束后4 h进行,而 Zheng 等的探索实验在训练结束后24 h才进行,记忆的不同阶段所需的调节因子不同,受药物的影响亦会不同。②Zheng 等在探索实验中将小鼠在平台象限停留时间作为评价指标之一,而本实验采用小鼠在平台滞留时间作为评价指标,由于区域更小,所以能更准确地反映小鼠对平台位置的记忆能力。由于记忆的形成机制十分复杂,因此,一些微小的实验条件的改变亦可能对结果产生明显影响。

3.2 不同浓度七氟醚对小鼠学习与记忆能力的影响 1.0 MAC七氟醚可以达到临床麻醉深度,而采用复合麻醉技术可以使七氟醚降至0.5 MAC(1.3%),也能达到很好的麻醉效果。本实验观察较低浓度的七氟醚是否能降低甚至消除其对新生鼠大脑的影响。麻醉后4周,在训练期第4、第5天,1.0 MAC组小鼠潜伏期明显较0.5 MAC组延长。麻醉后12周,训练期第5天,1.0 MAC组小鼠潜伏期亦明显较0.5 MAC组延长。24 h后进行的探索实验中,1.0 MAC小鼠平台穿越次数也明显低于0.5 MAC组。说明新生鼠接受较高浓度的七氟醚麻醉,成长过程中表现出的学习记忆障碍更加严重。同样,尽管小鼠学习记忆障碍可以延续到麻醉后12周,但受损的程度逐渐下降,麻醉后4周,两麻醉组小鼠在训练期第3~5天,潜伏期均延长。而在麻醉后12周,仅训练期第5天1.0 MAC组小鼠潜伏期延长。因此,本实验结果提示,七氟醚对小鼠学习与记忆能力的影响与浓度有关,同时,随着时间的延长,小鼠学习与记忆能力逐步恢复。

3.3 七氟醚对新生鼠大脑损伤的可能机制 七氟醚对小鼠发育期大脑的损伤机制还未十分清楚。一

些研究表明,七氟醚可以诱发发育期大脑出现广泛的神经元退变,从而出现持续性的学习与记忆障碍^[5,6,8]。这种神经毒性可能与七氟醚兴奋 GABA 受体(γ -氨基丁酸受体)和抑制 NMDA 受体(N-甲基-D-天冬氨酸受体)有关^[17,18]。本实验仅从行为学方面研究七氟醚对新生鼠的不良反应,却没有进行相关的机制研究,这也是本实验的缺陷。我们将在以后的研究中加以完善。

已有的研究表明,缺氧能激活细胞凋亡信号通路,也能干扰神经营养因子介导的神经细胞发育^[19]。而在麻醉过程中,若不能很好地控制呼吸,保持呼吸道通畅,有可能引起缺氧。我们在麻醉中测定新生鼠的血气分析,结果显示,pH 值、PaCO₂、PaO₂和 SaO₂均没有明显变化,表明新生鼠在麻醉过程中没有发生缺氧和 CO₂ 蓄积。

3.4 结论 根据我们的实验结果,可以得出以下结论:①新生鼠七氟醚麻醉后,成长过程中会出现学习与记忆障碍;②七氟醚对新生鼠大脑的损伤,与药物浓度有关,且随着时间的推移,这种损伤作用逐渐减弱。

【参考文献】

- [1] Kalkman CJ, Peelen L, Moons KG, *et al.* Behavior and development in children and age at the time of first anesthetic exposure[J]. *Anesthesiology*, 2009, 110(4): 805-812.
- [2] Wilder RT, Flick RP, Sprung J, *et al.* Early exposure to anesthesia and learning disabilities in a population-based birth cohort[J]. *Anesthesiology*, 2009, 110(4): 796-804.
- [3] Wise-Faberowski L, Zhang H, Ing R, *et al.* Isoflurane-induced neuronal degeneration: an evaluation in organotypic hippocampal slice culture [J]. *Anesth Analg*, 2005, 101(3): 651-657.
- [4] Edwards DA, Shah HP, Cao W, *et al.* Bumetanide alleviates epileptogenic and neurotoxic effects of sevoflurane in neonatal rat brain[J]. *Anesthesiology*, 2010, 112(3): 567-575.
- [5] Kodama M, Satoh Y, Otsubo Y, *et al.* Neonatal desflurane-exposure induces more robust neuroapoptosis than do isoflurane and sevoflurane and impairs working memory[J]. *Anesthesiology*, 2011, 115(5): 979-991.
- [6] Istaphanous GK, Howard J, Nan X, *et al.* Comparison of the neuroapoptotic properties of equipotent anesthetic concentrations of desflurane, isoflurane, or sevoflurane in neonatal mice [J]. *Anesthesiology*, 2011, 114(3): 578-587.
- [7] 刘万里, 薛西, 曹明芹, 等. 用 SPSS 实现完全随机设计多组比较秩和检验的多重比较[J]. *地方病通报*, 2007, 22(2): 27-29.
- [8] Bercker S, Bert B, Bittigau P, *et al.* Neurodegeneration in newborn rats following propofol and sevoflurane anesthesia [J]. *Neurotox Res*, 2009, 16(2): 140-147.

- [9] Jevtovic-Todorovic V, Hartman RE, Izumi Y, *et al.* Early-exposure to common anesthetic agents causes widespread neurodegeneration in the developing rat brain and persistent learning deficits[J]. *J Neurosci*, 2003, 23(3):876-882.
- [10] Liang G, Ward C, Peng J, *et al.* Isoflurane causes greater neurodegeneration than an equivalent exposure of sevoflurane in the developing brain of neonatal mice [J]. *Anesthesiology*, 2010, 112(6): 1325-1334.
- [11] Loepke AW, McCann JC, Kurth CD, *et al.* The physiologic effects of isoflurane anesthesia in neonatal mice [J]. *Anesth Analg*, 2006, 102(1): 75-80.
- [12] Brambrink AM, Evers AS, Avidan MS, *et al.* Isoflurane-induced neuroapoptosis in the neonatal rhesus macaque brain [J]. *Anesthesiology*, 2010, 112(4): 834-841.
- [13] Stratmann G, May LD, Sall JW, *et al.* Effect of hypercarbia and isoflurane on brain cell death and neurocognitive dysfunction in 7-day old rats [J]. *Anesthesiology*, 2009, 110(4): 849-861.
- [14] Vorhee CV, Williams MT. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory [J]. *Nat Prot*, 2006, 1(2): 848-858.
- [15] Zhou X, Song FH, He W, *et al.* Neonatal exposure to sevoflurane causes apoptosis and reduces nNOS protein expression in rat hippocampus [J]. *Mol Med Rep*, 2012, 6(3): 543-546.
- [16] Ramage TM, Chang FL, Shih J, *et al.* Distinct long-term neurocognitive outcomes after equipotent sevoflurane or isoflurane anaesthesia in immature rats [J]. *Br J Anaesth*, 2013, 110 (S1): i39-i46.
- [17] Shelton KL. Discriminative stimulus effects of inhaled 1,1,1-trichloroethane in mice: comparison to other hydrocarbon vapors and volatile anesthetics [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2009, 203(2): 431-440.
- [18] Nishikawa K, Harrison NL. The actions of sevoflurane and desflurane on the gamma-aminobutyric acid receptor type A: effects of TM2 mutations in the alpha and beta subunits [J]. *Anesthesiology*, 2003, 99(3): 678-684.
- [19] Daval JL, Vert P. Apoptosis and neurogenesis after transient hypoxia in the developing rat brain [J]. *Semin Perinatol*, 2004, 28(4): 257-263.

[收稿日期] 2014-06-04 [修回日期] 2014-10-27
[本文编辑] 李睿旻

(上接第 297 页)

- [14] Golubovic B, Vucicevic K, Radivojevic D, *et al.* Total plasma protein effect on tacrolimus elimination in kidney transplant patients—population pharmacokinetic approach [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2013, 52: 34-40.
- [15] Seng KY, Hee KH, Soon GH, *et al.* CYP3A5*3 and bilirubin predict midazolam population pharmacokinetics in Asian cancer patients [J]. *J Clin Pharmacol*, 2014, 54(2): 215-224.
- [16] Yamamoto M, Kuzuya T, Baba H, *et al.* Population pharmacokinetic analysis of vancomycin in patients with gram-positive infections and the influence of infectious disease type [J]. *J Clin Pharm Ther*, 2009, 34(4): 473-483.
- [17] 翁芳娟. 万古霉素的群体药动学研究 [J]. *海峡药学*, 2013, 25(7): 207-209.
- [18] N PP, D BBF. The epilepsy prescriber's guide to antiepileptic drugs [M]. Oxford: Cambridge University Press, 2010.
- [19] Jovanovic M, Sokic D, Grabnar I, *et al.* Population pharmacokinetics of topiramate in adult patients with epilepsy using nonlinear mixed effects modelling [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2013, 50(3-4): 282-289.
- [20] Marsot A, Boulamery A, Bruguerolle B, *et al.* Population pharmacokinetic analysis during the first 2 years of life: an overview [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2012, 51(12): 787-798.
- [21] Udy AA, Covajes C, Taccone FS, *et al.* Can population pharmacokinetic modelling guide vancomycin dosing during continuous renal replacement therapy in critically ill patients? [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2013, 41(6): 564-568.
- [22] Conil JM, Georges B, Fourcade O, *et al.* Intermittent administration of ceftazidime to burns patients: influence of glomerular filtration [J]. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 2007, 45(3): 133-142.
- [23] Conil JM, Georges B, Ravat F, *et al.* Ceftazidime dosage recommendations in burn patients: from a population pharmacokinetic approach to clinical practice via Monte Carlo simulations [J]. *Clin Ther*, 2013, 35(10): 1603-1612.
- [24] 柳晓泉, 陈渊成, 郝琨, 等. 药动学-药效学结合模型的研究进展及在新药研发中的应用 [J]. *中国药科大学学报*, 2007, 38(6): 481-488.
- [25] 王清, 朱萱萱, 周杰, 等. 参麦注射液在心肌缺血患者体内的群体药动学研究 [J]. *中华中医药学刊*, 2013, 31(12): 2702-2705.
- [26] Levy GA. C2 monitoring strategy for optimising cyclosporin immunosuppression from the neoral formulation [J]. *Bio-drugs*, 2001, 15(5): 279-290.
- [27] Yoshida K, Kimura T, Hamada Y, *et al.* Comparative study of population pharmacokinetics upon switching of cyclosporine formulation from sandimmune to neoral in stable renal transplant patients [J]. *Transplant P*, 2001, 33(7): 3146-3147.
- [28] Yue CS, Huynh HH, Raymond C, *et al.* Population pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling of acetazolamide in peritoneal dialysis patients and healthy volunteers [J]. *J Pharm Pharm Sci*, 2013, 16(1): 89-98.
- [29] Lal R, Sukbuntherng J, Luo W, *et al.* Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of gabapentin after administration of gabapentin enacarbil [J]. *J Clin Pharmacol*, 2013, 53(1): 29-40.

[收稿日期] 2014-07-18 [修回日期] 2015-03-14
[本文编辑] 李睿旻