

· 实验研究 ·

参麦注射液预处理对老龄大鼠术后认知功能的影响

赵启东 季加富 韩晓 迟永良 苏帆

【摘要】 目的 观察参麦注射液预处理对老龄大鼠术后炎症反应水平和认知功能的影响。**方法** 健康雄性老龄 SD 大鼠 72 只,月龄约 20 个月,体重 500~600 g。按随机数字表法分为对照组(C 组)、参麦注射液组(S 组)和布洛芬组(I 组),每组 24 只。S 组腹腔注射参麦注射液,I 组给予布洛芬悬液灌胃,C 组腹腔注射等量生理盐水。七氟醚麻醉下行脾切除术建立老龄大鼠 POCD 模型。三组大鼠分别于麻醉后即刻、术后即刻和术后 1 d 采集颈静脉血,采用 ELISA 固相夹心法测定 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 浓度。于术前、术后 1、3 和 7 d 进行 Morris 水迷宫实验和旷场实验,记录大鼠的逃避潜伏期、平台穿越次数、中央格停留时间、修饰次数和直立次数。**结果** 术后即刻,S 组和 I 组 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 浓度均明显低于 C 组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);术后 1 d,I 组 IL-1 β 与 S 组和 I 组 IL-6 的浓度均明显低于 C 组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。与术前比较,术后 1、3 d C 组和 S 组的逃避潜伏期明显延长($P < 0.05$),平台穿越次数明显减少($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),中央格停留时间明显延长($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),修饰和直立次数均明显减少($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。与 C 组和 S 组比较,术后 1、3 d I 组逃避潜伏期明显缩短($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),平台穿越次数均明显增多($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),中央格停留时间明显缩短($P < 0.01$),修饰次数和直立次数均明显增多($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。**结论** 参麦注射液预处理可减轻手术后炎症反应,但对 POCD 无明显影响。

【关键词】 术后认知功能;炎症;参麦注射液;布洛芬

Effects of Shenmai injection pretreatment on postoperative cognition in old rats ZHAO Qidong, JI Jiafu, HAN Xiao, CHI Yongliang, SU Fan. Department of Anesthesiology, Affiliated Hospital of Shandong Medical University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China
Corresponding author: SU Fan, Email: boatsail@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the effects of shenmai injection (SMI) pretreatment on inflammatory response and postoperative cognition in old rats. **Methods** Seventy-two healthy male SD rats, aged 20 months, weighing 500 - 600 g, were randomly divided into three groups ($n = 24$ each): control group (group C), SMI group (group S) and ibuprofen group (group I). Group C received 2 ml of saline by intraperitoneal injection, group S received 2 ml of SMI by intraperitoneal injection, and group I received 3.5 mg/100 g of ibuprofen suspension. The POCD models of old rats were made by splenectomy under sevoflurane anesthesia. Blood was drawn from the jugular vein immediately after anesthesia, immediately after operation and 1 day after operation. IL-1, IL-6 and TNF- α were measured by ELISA. The learning and memorizing capability of rats were observed through the Morris water maze and Open field test before surgery and at 1, 3 and 7 days after operation. **Results** Immediately after operation, the concentrations of IL-1 β , IL-6 and TNF- α in group S and group I were significantly lower than those in group C ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). The concentrations of IL-1 β in group I and IL-6 in group S and group I were significantly lower than that in group C on day 1 postoperatively ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). Compared with before operation, the escape latency of group C and group S was significantly prolonged ($P < 0.05$), the number of platform crossings was significantly reduced ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), and the central lattice retention time was significantly prolonged ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), the number of modification and erection were significantly decreased ($P < 0.01$ or $P < 0.05$) on day 1 and day 3 postoperatively, there was no significant change in group I. Compared with group C and group S, the escape latency of group I was sig-

DOI:10.12089/jca.2018.08.015

基金项目:山东省自然科学基金重点项目(ZR2014HZ005)

作者单位:250014 济南市,山东中医药大学附属医院麻醉科(赵启东、季加富、迟永良、苏帆);临沂市人民医院麻醉科(韩晓)

通信作者:苏帆,Email:boatsail@126.com

nificantly shorter ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), and the number of platform crossings was significantly increased ($P < 0.01$ or $P < 0.05$); the central lattice retention time of group I significantly reduced ($P < 0.01$); the number of modification and erection significantly increased ($P < 0.01$ or $P < 0.05$) on day 1 and day 3 postoperatively; there was no significant difference between group S and group C. **Conclusion** Shenmai injection pretreatment can reduce postoperative inflammatory response, but no significant effect on postoperative cognitive dysfunction.

【Key words】 Postoperative cognition; Inflammation; Shenmai injection; Ibuprofen

术后认知功能障碍 (postoperative cognitive dysfunction, POCD) 是老年患者手术后常见的中枢神经系统并发症^[1], 其致病因素及发生机制仍不明确。手术后炎症级联反应导致的中枢神经系统损伤可能是导致 POCD 的重要因素^[2]。有研究证实, 长期使用布洛芬可以降低 POCD 的发生率^[3], 可能与其抗炎作用有关。参麦注射液 (shenmai injection, SMI) 是根据中国传统药方制成的一种注射用中药, 具有提升组织氧合、抗炎及改善微循环等功能, 在各种脑缺血-再灌注损伤模型中均取得了良好疗效, 理论上对术后炎性损伤和认知功能有一定的保护作用。然而, SMI 的抗炎机制不同于传统抗炎药物, 对 POCD 的影响一直没有定论。本研究给予老龄大鼠 SMI 预处理, 以布洛芬作为对照, 麻醉下行脾切除术建立 POCD 模型, 观察术后炎性细胞因子和认知功能的变化, 分析 SMI 预处理对 POCD 的影响, 探讨炎性细胞因子释放和 POCD 之间的联系。

材料与方法

实验动物 本实验经山东中医药大学动物实验伦理审查委员会批准。经筛选后合格的无特定病原体 (SPF) 级健康雄性 SD 大鼠 72 只, 月龄 20 个月, 体重 500~600 g, 由徐州医科大学实验动物中心提供。

分组与处理 按随机数字表法随机分为三组: 对照组 (C 组)、布洛芬组 (I 组) 和 SMI 组 (S 组)。C 组腹腔注射等量的生理盐水; S 组每次腹腔注射 SMI (批号: 1110172) 2 ml, 每天 3 次; I 组布洛芬悬液 (批号: 1106159) 灌胃, 约 3.5 mg/100 g, 每天 3 次。

POCD 模型 给药 1 h 后进行 Morris 水迷宫实验, 连续预处理 3 d。预处理后, 用 2% 七氟醚进行麻醉, 常规备皮消毒, 在腹部左上象限开腹, 切断脾脏周围相关韧带, 将脾脏从腹腔中移至体外的术野中央, 将脾门血管用 1 号丝线双重结扎, 行全脾切除, 如有副脾一并切除, 关闭腹腔。手术及麻醉维持 4 h。

Morris 水迷宫实验 参考文献^[4]的方法, 实验分为两部分: (1) 定位航行试验: 大鼠从 4 个象限的不同入水点找到平台的时间, 即逃避潜伏期; (2) 空间探索实验: 将老龄大鼠面向池壁放入水中, 自由游泳 60 s, 记录其 60 s 内的平台穿越次数。

旷场实验 实验开始前 30 min 把老龄大鼠放入实验箱中熟悉环境。实验开始后保持环境安静。实验时将大鼠置于底面中央格内, 然后松开其尾部开始计时 5 min, 记录相应指标。

观察指标 分别在麻醉后即刻、术后即刻和术后 1 d 经大鼠颈静脉采血, 采用 ELISA 固相夹心法测定炎性因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 浓度。记录术前、术后 1、3、7 d 的逃避潜伏期、平台穿越次数、中央格停留时间、修饰次数和直立次数。

统计分析 采用 SPSS 19.0 统计学软件进行分析。正态分布计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 组内比较采用重复测量方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

炎性因子浓度 麻醉后即刻三组 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 浓度差异均无统计学意义; 与麻醉后即刻比较, 术后即刻 C 组 IL-1 β 、TNF- α 浓度均明显升高 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。术后即刻 S 组和 I 组 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 浓度均明显低于 C 组 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 术后 1 d I 组 IL-1 β 浓度明显低于 C 组 ($P < 0.05$), S 组和 I 组 IL-6 浓度明显低于 C 组 ($P < 0.01$); 三组 TNF- α 浓度差异无统计学意义 (表 1)。

逃避潜伏期和平台穿越次数 与术前 3 d 比较, 术后 1、3 d C 组和 S 组的逃避潜伏期明显延长 ($P < 0.05$), 平台穿越次数明显减少 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), I 组无明显变化。术后 1、3 d I 组逃避潜伏期明显短于 C 组和 S 组 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 平台穿越次数明显多于 C 组和 S 组 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); S 组与 C 组差异无统计学意义 (表 2)。

旷场试验结果 与术前 1 d 比较, 术后 1、3 d C

表 1 三组大鼠不同时点炎症因子的比较($\bar{x} \pm s$)

指标	组别	只数	麻醉后即刻	术后即刻	术后 1 d
IL-1 β (ng/ml)	C 组	24	78.29 $\pm$ 2.98	151.88 $\pm$ 4.54 ^a	92.01 $\pm$ 7.05 ^b
	S 组	24	96.25 $\pm$ 8.09	106.84 $\pm$ 14.59 ^{bc}	88.29 $\pm$ 2.97
	I 组	24	95.72 $\pm$ 2.98	85.61 $\pm$ 14.43 ^c	71.63 $\pm$ 4.07 ^c
IL-6 (pg/ml)	C 组	24	201.84 $\pm$ 15.96	192.91 $\pm$ 17.06	184.91 $\pm$ 29.96 ^b
	S 组	24	190.85 $\pm$ 17.44	124.14 $\pm$ 13.03 ^{ac}	124.63 $\pm$ 16.17 ^{ac}
	I 组	24	198.62 $\pm$ 18.27	151.60 $\pm$ 8.22 ^{ac}	113.74 $\pm$ 18.48 ^{ac}
TNF- α (ng/ml)	C 组	24	51.38 $\pm$ 1.22	67.76 $\pm$ 1.83 ^a	51.46 $\pm$ 0.81
	S 组	24	51.92 $\pm$ 0.98	53.17 $\pm$ 0.53 ^c	53.53 $\pm$ 2.84
	I 组	24	48.80 $\pm$ 1.38	52.19 $\pm$ 0.55 ^c	53.17 $\pm$ 0.53

注:与麻醉后即刻比较,^a $P < 0.01$,^b $P < 0.05$;与 C 组比较,^c $P < 0.01$,^d $P < 0.05$

表 2 三组大鼠不同时点逃避潜伏期及平台穿越次数的比较($\bar{x} \pm s$)

指标	组别	只数	术前 3 d	术后 1 d	术后 3 d	术后 7 d
逃避潜伏期(s)	C 组	24	36.60 $\pm$ 6.36	41.26 $\pm$ 6.27 ^{ac}	38.80 $\pm$ 5.59 ^c	30.96 $\pm$ 2.85
	S 组	24	34.13 $\pm$ 2.90	38.61 $\pm$ 6.36 ^a	38.60 $\pm$ 6.36 ^{ac}	30.64 $\pm$ 1.96
	I 组	24	34.63 $\pm$ 3.02	36.17 $\pm$ 5.10	30.98 $\pm$ 5.55	29.91 $\pm$ 2.22
平台穿越次数(次)	C 组	24	4.0 $\pm$ 0.7	2.0 $\pm$ 0.5 ^{bd}	3.0 $\pm$ 0.8 ^{ac}	3.1 $\pm$ 0.9
	S 组	24	3.7 $\pm$ 0.7	1.9 $\pm$ 0.5 ^{bd}	3.1 $\pm$ 0.7 ^{ac}	3.1 $\pm$ 0.9
	I 组	24	3.7 $\pm$ 1.0	3.9 $\pm$ 0.6	3.7 $\pm$ 0.7	3.7 $\pm$ 0.7

注:与术前 3 d 比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与 I 组比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$

组和 S 组的中央格停留时间明显延长($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),修饰次数和直立次数均明显减少($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),I 组无明显变化。术后 1、3 d I 组中央格停留时间均明显短于 C 组和 S 组($P < 0.01$),修饰次数和直立次数均明显多于 C 组和 S 组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)(表 3)。

讨 论

POCD 模型尚无标准的建立方法。许多研究者曾采用腹腔探查术、脾切除术或肝部分切除术等模拟手术创伤,术后对实验动物进行行为学测试,均成功观察到了 POCD^[5-6]。本实验选用临床常用的麻醉方法,选取老龄大鼠行脾切除术,观察到老龄大鼠 POCD,建模成功。这进一步显示,老龄大鼠麻醉下行脾切除术可以作为一种建立 POCD 模型的可靠方法。

本实验结果显示,SMI 和布洛芬均可明显降低老龄大鼠术后血浆 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的浓度,提

示二者均能减轻老龄大鼠手术创伤后的炎症反应,这与国内外研究结果一致^[7-9]。IL-1 β 和 IL-6 在炎症和免疫反应的启动和维持中起着重要作用,是炎症反应系统被激活的直接标志,属于前炎性细胞因子,又是神经-内分泌-免疫网络的重要递质,可影响行为,尤其可以引起认知缺陷包括空间记忆损伤等^[10]。TNF- α 是一个参与先天和特异性免疫的多功能性细胞因子,在炎症反应、免疫调节和血管再生过程中发挥着重要作用,能促进炎症反应,这反过来又可促进其他炎症介质和促炎细胞因子的释放,从而启动炎症级联反应。有研究认为 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的释放增加可能是接受大手术的老年患者发生 POCD 病理生理学机制的一个重要部分^[11]。

Morris 水迷宫实验能反映大鼠空间学习记忆能力,而旷场实验可用于评价大鼠在新异环境中的自主活动和探究行为,反应其认知能力,因此, Morris 水迷宫实验联合旷场实验可较好地反映老

表 3 三组大鼠不同时点旷场试验结果的比较($\bar{x} \pm s$)

指标	组别	只数	术前 1 d	术后 1 d	术后 3 d	术后 7 d
中央格停留时间(s)	C 组	24	1.29±0.15	2.28±0.32 ^{ac}	1.87±0.05 ^{ac}	1.35±0.27
	S 组	24	1.28±0.25	1.89±0.48 ^{bd}	1.71±0.41 ^{bc}	1.41±0.61
	I 组	24	1.16±0.14	1.36±0.18	1.15±0.13	1.24±0.35
修饰次数(次)	C 组	24	1.9±0.7	0.6±0.8 ^{ac}	1.2±0.6 ^b	1.7±0.5
	S 组	24	1.4±0.5	1.1±0.7 ^{bc}	1.0±0.8 ^{bd}	1.4±0.9
	I 组	24	1.5±0.7	2.2±0.9	1.5±0.5	1.4±0.5
直立次数(次)	C 组	24	7.9±1.8	3.5±1.1 ^{ac}	3.6±0.8 ^{ac}	7.3±1.6
	S 组	24	7.6±1.4	4.4±2.1 ^{ad}	4.2±0.9 ^{ac}	7.6±0.8
	I 组	24	8.4±1.6	7.1±1.1	7.6±1.6	7.1±1.0

注:与术前 1 d 比较,^a $P<0.01$,^b $P<0.05$;与 I 组比较,^c $P<0.01$,^d $P<0.05$

龄大鼠术后认知功能的变化。本实验结果表明布洛芬预处理可明显减轻老龄大鼠术后的认知功能损害,而 SMI 预处理无此效应。SMI 预处理和布洛芬预处理对炎症细胞因子有相同的抑制作用,但对 POCD 的影响存在明显差异。这提示手术创伤后炎症反应和 POCD 并无明显的相关性,布洛芬对 POCD 的影响可能是通过其他途径实现的。有研究显示乌司他丁对 POCD 的影响时,也没有观察到炎症反应水平与 POCD 的相关性^[12]。其中一个重要原因可能是在 POCD 中起特殊作用的是中枢神经系统内 IL-6 和 TNF- α 浓度的增加,而不是外周血中浓度的变化。有研究表明,在手术时单次脑池内使用 IL-1 受体拮抗剂(IL-1RA)可阻断行为缺陷和神经炎症反应,而在外周血管给予相同剂量的 IL-1RA 则没有保护作用^[13]。因此,我们建议在炎症反应和 POCD 相关性的后续研究中采用脑池内炎症细胞因子的浓度作为观察指标。

综上所述,参麦注射液预处理虽能抑制手术后炎症反应水平,但对 POCD 无明显影响。

参 考 文 献

- [1] Tsai TL, Sands LP, Leung JM. An update on postoperative cognitive dysfunction. *Adv Anesth*, 2010, 28(1): 269-284.
- [2] Riedel B, Browne K, Silbert B. Cerebral protection: inflammation, endothelial dysfunction, and postoperative cognitive dysfunction. *Curr Opin Anaesthesiol*, 2014, 27(1): 89-97.
- [3] Grodstein F, Skarupski KA, Bienias JL, et al. Anti-inflammatory agents and cognitive decline in a bi-racial population. *Neuroepidemiology*, 2008, 30 (1): 45-50.
- [4] Chu QJ, He L, Zhang W, et al. Hydrogen sulfide attenuates surgical trauma-induced inflammatory response and cognitive deficits in mice. *J Surg Res*, 2013, 183 (1): 330-336.
- [5] Yu L, Sun L, Chen S, et al. Protective effect of senegenin on splenectomy-induced postoperative cognitive dysfunction in elderly rats. *Exp Ther Med*, 2014, 7 (4): 821-826.
- [6] Tian Y, Guo S, Zhang Y, et al. Effects of hydrogen-rich saline on hepatectomy-induced postoperative cognitive dysfunction in old mice. *Mol Neurobiol*, 2017, 54 (4): 2579-2584.
- [7] 傅天啸, 兰菲, 华晨, 等. 参麦注射液足三里穴位注射对大鼠全身炎症反应综合征血清 IL-6、IL-8、TNF- α 的影响. *陕西中医学院学报*, 2015, 9(5): 76-79.
- [8] Chmiel JF, Konstan MW, Accurso FJ, et al. Use of ibuprofen to assess inflammatory biomarkers in induced sputum: Implications for clinical trials in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*, 2015, 14(6): 720-726.
- [9] Le V, Kurnutala L, SchianodiCola J, et al. Premedication with intravenous ibuprofen improves recovery characteristics and stress response in adults undergoing laparoscopic cholecystectomy: a randomized controlled trial. *Pain Med*, 2016, 17(6): 1163-1173.
- [10] Zubarev OE, Klimenko VM. Elevation of proinflammatory cytokines level at early age as the risk factor of neurological and mental pathology development. *Russ Fiziol Zh Im I M Sechenova*, 2011, 97(10): 1048-1059.
- [11] 施丽燕, 徐静, 万燕杰. 外周血炎症因子变化与术后认知功能障碍的关系. *上海医学*, 2012, 35(2): 115-117.
- [12] De Cosmo G, Sessa F, Fiorini F, et al. Effect of remifentanyl and fentanyl on postoperative cognitive function and cytokines level in elderly patients undergoing major abdominal surgery. *J Clin Anesth*, 2016, 35(4): 40-46.
- [13] Barrientos RM, Hein AM, Frank MG, et al. Intracisternal interleukin-1 receptor antagonist prevents postoperative cognitive decline and neuroinflammatory response in aged rats. *J Neurosci*, 2012, 32(42): 14641-14648.

(收稿日期:2017-10-22)