

右美托咪定通过调节 CX3CL1-CX3CR1 信号通路对老年大鼠肝部分切除术后认知功能障碍的改善作用研究

赵丽丽¹, 杜睿¹, 杨晓林¹, 王延伟¹, 马平康¹, 秦革萍¹, 陈胜阳²

1. 黄河三门峡医院 麻醉科, 河南 三门峡 472000

2. 新乡医学院第一附属医院 麻醉科, 河南 新乡 453100

摘要:目的 观察右美托咪定通过调节 CX3CL1-CX3CR1 信号通路对老年大鼠肝部分切除术后认知功能障碍 (POCD) 的改善作用。方法 60 只 SPF 级老年 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、阳性对照组、右美托咪定组和 CX3CL1 抗体+右美托咪定组。阳性对照组大鼠于术前 3 d 给予布洛芬混悬液 35 mg/kg, ig 给药, 8 h/次, 连续 3 d; 除假手术组外, 各组大鼠均实施肝部分切除术, 右美托咪定组和 CX3CL1 抗体+右美托咪定组术前 30 min 均以 40 μ g/kg 右美托咪定 ip 给药, 假手术组、模型组及阳性对照组予以 ip 等剂量生理盐水。肝脏切除后, CX3CL1 抗体+右美托咪定组侧脑室立体定位注射 CX3CL1 中和抗体 1 pmol, 单次给药。新异臂探索实验评价各组大鼠认知功能; Nissl 染色观察各组大鼠海马组织神经元细胞损伤; ELISA 法检测各组大鼠海马组织肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 6 (IL-6) 水平; qRT-PCR 及 Western blotting 检测海马区 CX3CL1、CX3CR1 mRNA 及蛋白的表达。结果 与假手术组比较, 模型组大鼠新异臂移动距离与停留时间占比下降, 神经元细胞存活数量减少, 海马神经元细胞损伤, 海马组织炎症因子水平升高, 海马区 CX3CL1、CX3CR1 mRNA 及蛋白相对表达量降低 ($P < 0.05$), 经右美托咪定干预后 POCD 大鼠新异臂移动距离与停留时间占比显著增加, 神经元细胞存活数量提高, 海马神经元细胞损伤减轻, 海马组织炎症因子水平下降 ($P < 0.05$), 海马区 CX3CL1、CX3CR1 mRNA 及蛋白相对表达量升高 ($P < 0.05$)。结论 右美托咪定可改善老年大鼠肝部分切除术后 POCD, 其机制可能与激活 CX3CL1-CX3CR1 信号通路有关。

关键词: 右美托咪定; 术后认知功能障碍; 趋化因子 C-X3-C-基元配体 1; 趋化因子 C-X3-C-基元受体 1; 肝部分切除术

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2021)01-0021-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2021.01.004

Effect of dexmedetomidine on postoperative cognitive dysfunction after partial hepatectomy in aged rats by regulating CX3CL1-CX3CR1 signaling pathway

Zhao Li-li¹, Du Rui¹, Yang Xiao-lin¹, Wang Yan-wei¹, Ma Ping-kang¹, Qin Ge-ping¹, Chen Sheng-yang²

1. Department of Anesthesiology, Sanmenxia Hospital of the Yellow River, Sanmenxia 472000, China

2. Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Xinxiang 453100, China

Abstract: Objective To study the improvement of dexmedetomidine on postoperative cognitive dysfunction (POCD) after partial hepatectomy in aged rats by regulating the CX3CL1-CX3CR1 signaling pathway. **Methods** 60 aged SPF grade SD rats were randomly divided into sham operation group, positive group, model group, dexmedetomidine group, and anti-CX3CL1 + dexmedetomidine group. The rats in positive group were administrated with ibuprofen suspension 35 mg/kg by ig, 3 days before surgery, 8 h/time, for 3 consecutive days. Except for the sham operation group, rats in the other groups were underwent partial hepatectomy. Rats in the dexmedetomidine group and the anti-CX3CL1 + dexmedetomidine group were all administrated with 40 μ g/kg dexmedetomidine by ip at 30 min before surgery. Rats in the sham operation group, model group and positive group were administrated with equal doses of saline by ip. After liver resection, Rats in the anti-CX3CL1 + dexmedetomidine group were stereotactically injected with 1 pmol of CX3CL1 neutralizing antibody into the lateral ventricle, and a single dose was administered. The POCD of rats were evaluated by the new forearm experiment. Nissl staining was used to observe neuronal cell damage in rat

收稿日期: 2020-07-17

基金项目: 河南省医学科技攻关计划 (2018020351)

作者简介: 赵丽丽 (1983—), 女, 本科, 主治医师, 研究方向为麻醉学。E-mail: wyhj191@163.com

hippocampus, and the number of viable neurons were calculate. ELISA was used to detect the levels of TNF- α and IL-6 in rat hippocampus. RT-PCR and Western blotting methods were used to detect the expression of CX3CL1, CX3CR1 mRNA and protein in the hippocampus. **Results** Compared with the sham operation group, the proportion of new arm movement distance and residence time of rats in the model group decreased, the number of neuronal cells survived decreased, the hippocampal neuronal cells were damaged, the level of inflammatory factors in the hippocampus increased, and expression of CX3CL1 and CX3CR1 mRNA and protein in hippocampal decreased ($P < 0.05$). After the intervention of dexmedetomidine, the proportion of new arm movement distance and residence time in POCD rats increased, the survival number of neurons was increased, the damage of hippocampal neurons was reduced, and the level of inflammatory factors was decreased ($P < 0.05$). After dexmedetomidine intervention, the expression of CX3CL1 and CX3CR1 mRNA and protein in POCD rat hippocampus increased ($P < 0.05$). **Conclusion** dexmedetomidine can improve POCD after partial hepatectomy in aged rats, and its mechanism may be related to the activation of CX3CL1-CX3CR1 signaling pathway.

Key words: dexmedetomidine; postoperative cognitive dysfunction; chemokine C-X3-C-ligand 1; chemokine C-X3-C-receptor 1; partial hepatectomy

术后认知功能障碍 (postoperative cognitive dysfunction, POCD) 是手术麻醉后出现的一种中枢神经系统并发症, 以意识、认知、学习、记忆、定向、精神运动行为等方面的障碍为主要表现, 可延迟患者的康复时间, 增加其他并发症发生风险, 对预后造成严重影响^[1-2]。POCD 的具体发生机制仍未明确, 目前研究倾向于中枢胆碱能系统退行性病变及炎症损伤^[3]。右美托咪定是选择性 α_2 -肾上腺素受体激动剂, 具有良好的镇静、镇痛及抗交感作用, 是临床麻醉及 ICU 镇静的常用药^[4-5]。研究^[6]表明, 右美托咪定具有抗炎及神经保护作用, 可改善惊厥性癫痫持续状态大鼠的认知功能和神经炎症, 但其具体机制仍未明确。趋化因子 C-X3-C-基元配体 1 (chemokine C-X3-C-ligand 1, CX3CL1) 是在中枢神经系统特异性表达的趋化因子, 可与趋化因子 C-X3-C-基元受体 1 (chemokine C-X3-C-receptor 1, CX3CR1) 结合调节炎症反应^[7]。目前关于 CX3CL1-CX3CR1 信号通路的研究多集中于炎症感染方面, 而与 POCD 相关性研究较少。本研究通过对老年大鼠进行肝部分切除术, 分析右美托咪定对 POCD 的改善作用及与 CX3CL1-CX3CR1 信号通路的关系, 以期对 POCD 的临床治疗及药物研发提供参考。

1 材料

1.1 药物、试剂与仪器

盐酸右美托咪定注射液 (扬子江药业集团有限公司, 国药准字 H20183219, 规格 2 mL : 0.2 mg, 批号: 1806192); 布洛芬混悬液 (上海强生制药有限公司, 国药准字 H19991011, 规格 100 mL, 批号: 1802341), CX3CL1 中和抗体、兔抗鼠 CX3CL1 抗体、CX3CR1

抗体、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 抗体、白细胞介素 6 (IL-6) 抗体、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 抗体 (英国 Abcam 公司); 荧光定量 PCR 试剂盒 (日本 TaKara 公司); Nissl 染色液 (上海碧云天生物科技有限公司); Thermo FC 酶标仪 (美国 Thermo 公司); SM2010R 徠卡切片机 (德国徠卡公司); CheniDoc XRS 化学发光成像分析系统 (美国 Bio-Rad 公司)。

1.2 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠, 60 只, 18~20 月龄, 体重 500~700 g, 浙江维通利华实验动物技术有限公司, 生产许可证号: SCXK (浙) 2019-0001。动物房饲养环境: 室温 (22 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C, 相对湿度 50%~60%, 12 h 明暗交替光照。实验动物的使用遵循实验动物 3R 原则。

2 方法

2.1 动物造模与给药

大鼠以 3%戊巴比妥钠 45 mg/kg ip 麻醉, 于剑突下缘 3 cm 处实施消毒备皮, 纵行切开皮肤游离肝脏左叶, 将肝左叶切除, 术后 im 青霉素 1.0×10^5 U/d, 连续 3 d 预防感染。

60 只大鼠适应性饲养 1 周后称体质量, 随机分为假手术组、模型组、阳性对照组、右美托咪定组和 CX3CL1 抗体+右美托咪定组, 每组 12 只。阳性对照组于术前 3 d 给予布洛芬混悬液 35 mg/kg, ig 给药, 8 h/次, 连续 3 d^[8]; 其余均以同法生理盐水 ig 给药。除假手术组外, 均于末次 ig 后 1 h 实施肝部分切除术, 假手术组麻醉后仅打开腹腔, 不予以肝脏部分切除, 其余步骤相同。右美托咪定组和 CX3CL1 抗体+右美托咪定组术前 30 min 均以 40

$\mu\text{g/kg}$ 右美托咪定 ip 给药 (参照实验动物等效剂量系数换算法^[9]), 假手术组、模型组及阳性对照组予以 ip 等剂量生理盐水。肝脏切除完成后立即改为俯卧位固定, CX3CL1 抗体+右美托咪定组侧脑室(前囟后 0.8 mm, 旁开 1.3 mm、硬膜下 3.5 mm) 立体定位注射 CX3CL1 中和抗体 1 pmol, 单次给药, 其余组以相同剂量生理盐水为对照。术后模型组、CX3CL1 抗体+右美托咪定组死亡各 2 只, 剔除; 假手术组、右美托咪定组各死亡 1 只, 剔除; 最终各组选取 10 只动物进行后续实验。

2.2 新异臂探索实验评价认知功能

于术后 3 d 进行新异臂探索实验, 使用 Y 迷宫, 由 3 个相同的臂 (长方体空间) 组成, 分别为新异臂、起使臂和其他臂, 关闭新异臂, 让大鼠在另外两臂中探索 10 min, 间隔 20 min 后, 打开新异臂, 让其在 3 个臂中自由探索 5 min, 记录 5 min 内大鼠在各臂的停留时间和移动距离, 计算大鼠新异臂移动距离占比和新异臂停留时间占比, 探索共进行 3 次, 取平均值。

2.3 海马组织取材及病理学观察

新异臂探索实验后麻醉大鼠, 取出海马组织一部分进行石蜡包埋, 连续行冠状切片, 厚度 5 μm , 行 Nissl 染色, 观察海马 CA1 区椎体神经元损伤情况, 在光学显微镜下随机选取 CA1 区 2 个连续无重叠视野, 通过 Image Pro Plus 6.0 图像软件对存活神经细胞进行计数。剩余大鼠马组织经液氮冷冻, 保存于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱。

2.4 ELISA 法检测大鼠海马区炎症因子水平

取 -80 $^{\circ}\text{C}$ 保存的海马组织, 按 25 mL/g 加入生理盐水, 研磨匀浆, 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心取上清液, 按照 ELISA 试剂盒说明书步骤对海马区 TNF- α 、IL-6 进行标记, 以酶标仪测量波长 450 nm 处吸光度值, 对应标准曲线, 计算 TNF- α 、IL-6 含量。

2.5 实时荧光定量 PCR 检测 CX3CL1、CX3CR1 mRNA 相对表达量

取 -80 $^{\circ}\text{C}$ 保存海马组织, Trizol 法提取海马组织中总 RNA, 经反转录试剂盒逆转录为 cDNA, 琼脂糖凝胶电泳进行 CX3CL1、CX3CR1 cDNA 扩增, 严格按照试剂盒说明书设定反应体系, 反应条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 20 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 35 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 60 s, 重复 35 个循环, 再次 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min, 以 β -actin 为内参基因, $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 为目的基因的相对表达量。基因引物序列见表 1。

表 1 基因引物序列

Table 1 Gene primer sequence

基因	引物序列
CX3CL1	F: 5'-GCTACGGCTGTGAAGTGTAAGT-3' R: 5'-TAGCTTGCATGCTGTAACGTTA-3'
CX3CR1	F: 5'-GCTATGTCTAGTGTGAGTGT-3' R: 5'-AGACTGTTAGATCTGAGATC-3'
β -actin	F: 5'-TTACGTTAGCGCTGAGTGACTCC-3' R: 5'-GATCGTAGGATGTGTACGGTACT-3'

2.6 Western blotting 法检测 CX3CL1、CX3CR1 蛋白相对表达量

取 -80 $^{\circ}\text{C}$ 保存海马组织, BCA 法进行蛋白定量, 12% SDS-PAGE 凝胶电泳, 转移至 PVDF 膜, 室温下脱脂牛奶封闭 1 h, 加入一抗, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, TBST 洗膜 3 次, 加入二抗孵育 1 h, DAB 避光显色, 经 Image J 软件分析目的条带灰度值, 以 CX3CL1、CX3CR1 与内参 β -actin 灰度值比值为蛋白相对表达量。

2.7 统计学分析

采用 SPSS 20.0 统计软件分析处理数据, 计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 描述, 两样本比较使用 t 检验, 多样本计量资料比较采用单因素方差分析, 两两样本比较采用 LSD- t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠认知功能比较

与假手术组比较, 模型组大鼠的新异臂移动距离占比、新异臂停留时间占比均显著下降 ($P < 0.05$); 与模型组比, 阳性对照组与右美托咪定组大鼠新异臂移动距离占比、新异臂停留时间占比均升高 ($P < 0.05$), 且阳性对照组与右美托咪定组大鼠新异臂移动距离占比、新异臂停留时间占比差异无统计学意义; 与右美托咪定组比较, CX3CL1 抗体+右美托咪定组大鼠新异臂移动距离占比、新异臂停留时间占比均下降 ($P < 0.05$)。见表 2。

3.2 海马组织病理学观察及神经元存活情况比较

Nissl 染色显示, 假手术组大鼠海马 CA1 区椎体神经元细胞形态完整, 排列整齐, 细胞核清晰完整。模型组大鼠海马 CA1 区椎体神经元损伤, 细胞排列稀疏, 胞浆减少, 核固缩, 核仁模糊。阳性对照组与右美托咪定组大鼠海马 CA1 区椎体神经元损伤较模型组轻, 神经元细胞基本排列整齐, 胞浆较多, 核仁较为清晰, 两组神经元损伤情况相当。CX3CL1 抗体+右美托咪定组较右美托咪定组大鼠

神经元损伤加重,与模型组无明显区别。见图 1。

与假手术组比较,模型组的大鼠神经元细胞存活数量更低 ($P<0.05$);与模型组比,阳性对照组与右美托咪定组大鼠神经元细胞存活数量增加 ($P<$

0.05);阳性对照组与右美托咪定组大鼠神经元细胞存活数量差异无统计学意义;与右美托咪定组比较,CX3CL1 抗体+右美托咪定组大鼠神经元细胞存活数量明显减少 ($P<0.05$)。结果见表 3。

表 2 各组大鼠新异臂移动距离占比、新异臂停留时间占比比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Comparison on proportion of moving distance and staying time in new forearm of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	新异臂移动距离占比/%	新异臂停留时间占比/%
假手术	—	62.35±8.87	55.35±5.42
模型	—	23.32±4.83**	21.47±3.50**
布洛芬	35.00	54.02±8.01***	46.02±5.02***
右美托咪定	0.04	50.84±7.25***	43.15±4.71***
CX3CL1 抗体+右美托咪定	0.04	24.01±5.28**△△▲	22.45±4.01**△△▲

与假手术组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$;与模型比较: *** $P<0.01$;与布洛芬组比较: △△ $P<0.01$;与右美托咪定组比较: ▲ $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs sham operation group; *** $P<0.01$ vs model group; △△ $P<0.01$ vs Ibuprofen group; ▲ $P<0.01$ vs dexmedetomidine group

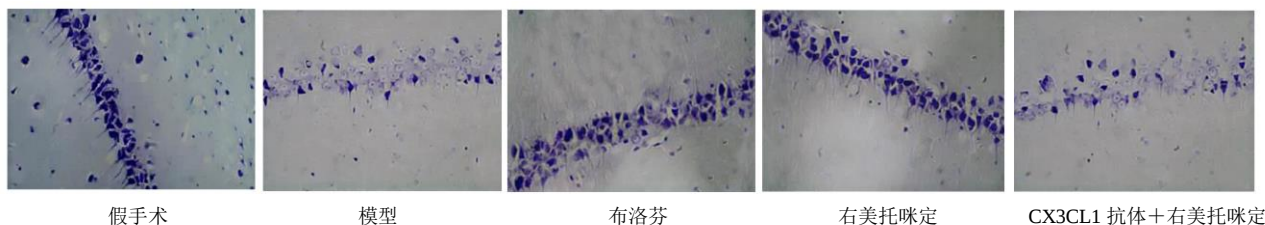


图 1 各组大鼠海马神经元尼氏染色 (×400)

Fig. 1 Nissl staining of hippocampal neurons of rats in each group (×400)

表 3 各组大鼠神经元细胞存活数量比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Comparison on survival number of neurons of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	神经元细胞存活数量
假手术	—	125.25±14.24
模型	—	42.28±6.40**
布洛芬	35.00	105.20±11.35***
右美托咪定	0.04	98.33±10.12***
CX3CL1 抗体+右美托咪定	0.04	45.58±6.30**△△▲

与假手术组比较: ** $P<0.01$;与模型比较: *** $P<0.01$;与布洛芬组比较: △△ $P<0.01$;与右美托咪定组比较: ▲ $P<0.01$

** $P<0.01$ vs sham operation group; *** $P<0.01$ vs model group; △△ $P<0.01$ vs Ibuprofen group; ▲ $P<0.01$ vs dexmedetomidine group

3.3 海马区 TNF-α、IL-6 水平比较

与假手术组比较,模型组大鼠海马组织中 TNF-α、IL-6 水平升高 ($P<0.05$);与模型组比较,阳性对照组与右美托咪定组大鼠海马组织中 TNF-α、IL-6 水平显著降低 ($P<0.05$);且;两组

间 TNF-α、IL-6 水平差异无统计学意义;与右美托咪定组比较,CX3CL1 抗体+右美托咪定组大鼠海马组织中 TNF-α、IL-6 水平升高 ($P<0.05$)。见表 4。

3.4 海马区 CX3CL1、CX3CR1 mRNA 相对表达量和蛋白表达量比较

与假手术组比较,模型组大鼠海马组织 CX3CL1、CX3CR1 mRNA 与蛋白相对表达量显著降低, ($P<0.05$);与模型组比较,阳性对照组与右美托咪定组大鼠海马组织中的 CX3CL1、CX3CR1 mRNA 与蛋白相对表达量均显著增加 ($P<0.05$);且两组间的 CX3CL1、CX3CR1 mRNA 与蛋白表达量差异无统计学意义;与右美托咪定组比较,CX3CL1 抗体+右美托咪定组的大鼠海马组织 CX3CL1、CX3CR1 mRNA 相对表达量显著降低 ($P<0.05$)。结果见表 5 和图 2。

4 讨论

POCD 多发生于老年患者中,其发生机制涉及神经系统与非神经系统两方面^[10]。神经系统机制为

表 4 各组大鼠海马区 TNF- α 、IL-6 水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 4 Comparison of TNF- α and IL-6 levels in hippocampus of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	TNF- α /(pg·mL ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)
假手术	—	42.35 ± 6.87	62.35 ± 8.40
模型	—	120.32 ± 12.33**	155.47 ± 15.87**
布洛芬	35.00	68.28 ± 7.50***	90.20 ± 12.81***
右美托咪定	0.04	71.25 ± 8.25***	93.15 ± 12.25***
CX3CL1 抗体+右美托咪定	0.04	115.36 ± 10.58**▲▲	150.31 ± 14.33***▲▲

与假手术组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: *** $P < 0.01$; 与布洛芬组比较: ▲▲ $P < 0.01$; 与右美托咪定组比较: ▲▲ $P < 0.01$ ** $P < 0.01$ vs sham operation group; *** $P < 0.01$ vs model group; ▲▲ $P < 0.01$ vs Ibuprofen group; ▲▲ $P < 0.01$ vs dexmedetomidine group表 5 海马区 CX3CL1、CX3CR1 mRNA 与蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 5 Comparison on relative expression levels of CX3CL1, CX3CR1 mRNA and protein in hippocampus of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	mRNA 相对表达量		蛋白相对表达量	
		CX3CL1	CX3CR1	CX3CL1	CX3CR1
假手术	—	1.02 ± 0.10	0.85 ± 0.08	0.45 ± 0.07	0.40 ± 0.04
模型	—	0.28 ± 0.04**	0.32 ± 0.05**	0.18 ± 0.04**	0.12 ± 0.03**
布洛芬	35.00	0.48 ± 0.06***	0.50 ± 0.07***	0.30 ± 0.05***	0.21 ± 0.05***
右美托咪定	0.04	0.45 ± 0.05***	0.48 ± 0.06***	0.28 ± 0.06***	0.20 ± 0.05***
CX3CL1 抗体+右美托咪定	0.04	0.30 ± 0.05***▲▲▲	0.35 ± 0.05***▲▲▲	0.20 ± 0.05***▲▲▲	0.13 ± 0.03***▲▲▲

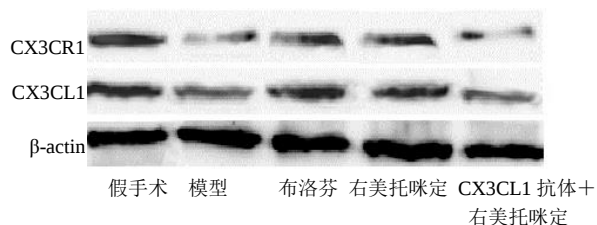
与假手术组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: *** $P < 0.01$; 与布洛芬组比较: ▲▲ $P < 0.01$; 与右美托咪定组比较: ▲▲ $P < 0.01$ ** $P < 0.01$ vs sham operation group; *** $P < 0.01$ vs model group; ▲▲ $P < 0.01$ vs Ibuprofen group; ▲▲ $P < 0.01$ vs dexmedetomidine group

图 2 Western blotting 检测 CX3CL1、CX3CR1 蛋白相对表达量

Fig. 2 Western blotting detection of the relative expression of CX3CL1 and CX3CR1 proteins

年龄引起的中枢神经系统退行性变,非神经系统机制为外科手术导致机体免疫系统激活,发生外周炎症反应,进而损害中枢神经系统,神经的可塑性损害,并引起脑功能的损害,最终导致 POCD 的发生^[11-12]。因此,在 POCD 的干预研究中,抑制中枢神经系统炎症、保护神经细胞成为关键。右美托咪定作为高效的 α_2 肾上腺素能受体激动剂,有抑制交感神经活性、抗炎、镇静、镇痛、稳定血流动力学等作用,在中枢神经系统损伤中可发挥保护作用,成为 POCD 的干预研究热点。肝部分切除术是 POCD 常用造模方法,可成功诱导老年大鼠 POCD

模型,且出现 POCD 和炎症反应的持续时间长,更适用于中远期 POCD 的研究造模^[13]。故本研究以大鼠肝部分切除术制备老年大鼠 POCD 模型,探讨右美托咪定通过调节 CX3CL1-CX3CR1 信号通路对认知功能的作用。

本研究结果显示,模型组大鼠新异臂移动距离、停留时间占比与神经元细胞存活数量较假手术组降低,Nissl 染色显示海马 CA1 区锥体神经元损伤、胞浆减少、核固缩等,说明模型组大鼠表现为 POCD,神经元损伤和海马区炎症;阳性对照组与右美托咪定组大鼠的新异臂移动距离与停留时间占比、神经元细胞存活数量均高于模型组,海马 CA1 区病理损伤减轻于模型组,且两组间无明显差异,提示右美托咪定能改善老年大鼠肝部分切除术后 POCD,抑制神经元损伤和海马区炎症。右美托咪定是外消旋混合物美托咪定的右旋异构体,其主要作用机制是激活中枢 α_2 -肾上腺素受体。右美托咪定能激活 α_2A 、 α_2B 、 α_2C 3 个 α_2 受体亚型,分别发挥镇静、镇痛,维持循环稳定,抑制外周及中枢交感神经兴奋效应^[14]。此外右美托咪定能通过阻滞交感神经,抑制儿茶酚胺的释放,下调促炎介质,

抑制炎症损伤,发挥神经保护作用^[15]。Peng等^[16]研究证实,右美托咪定能抑制大鼠术后海马小胶质细胞和NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)炎症小体的活化,减轻手术引起的中枢神经系统炎症反应。Yi等^[17]认为,右美托咪定能抑制大鼠海马神经元自噬。以上研究说明右美托咪定具有抑制中枢神经系统炎症,保护神经元的作用,证实右美托咪定能通过抑制中枢神经系统炎症,保护神经元细胞,改善POCD。

本研究结果还显示,右美托咪定组大鼠海马TNF- α 、IL-6水平高于假手术组,但低于模型组,CX3CL1、CX3CR1 mRNA及蛋白相对表达量低于假手术组,但高于模型组,TNF- α 、IL-6水平CX3CL1、CX3CR1 mRNA及蛋白相对表达量与阳性对照组无明显差异,说明右美托咪定可改善老年大鼠肝部分切除术后认知功能,其机制可能与CX3CL1-CX3CR1信号通路的激活有关。CX3CL1是趋化因子家族CX3CL成员,在大脑及脊髓中广泛存在,能作用于其特异性受体CX3CR1,参与神经元的发育、迁移和分化^[18]。研究显示^[19],CX3CL1-CX3CR1信号通路神经元是与小胶质细胞相互关联的关键信号通路,能抑制小胶质细胞活化,促进神经保护可溶性因子的释放,发挥神经保护作用。另外CX3CL1作为调节神经炎症反应的关键分子,可使小胶质细胞处于非促炎症状态,降低小胶质细胞毒性,抑制神经系统炎症,减轻神经元损伤^[20]。Zhuang等^[21]认为,CX3CL1-CX3CR1信号通路可影响多种炎症信号通路,防止炎症信号网络引起的组织损伤。Bemiller等^[22]认为通过抑制神经系统炎症,可改善大鼠空间学习记忆能力。因此右美托咪定能通过提高CX3CL1-CX3CR1 mRNA及蛋白的表达,抑制神经元炎症损伤,改善大鼠POCD。

综上所述,右美托咪定能改善老年大鼠肝部分切除术后POCD,其机制与上调CX3CL1-CX3CR1 mRNA及蛋白的表达有关,本研究为右美托咪定作为POCD的预防性用药提供了实验基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Evered L A, Silbert B S. Postoperative cognitive dysfunction and noncardiac surgery [J]. *Anesth Analg*, 2018, 127(2): 496-505.

[2] Daiello L A, Racine A M, Yun G R, et al. Postoperative delirium and postoperative cognitive dysfunction: overlap and divergence [J]. *Anesthesiology*, 2019, 131(3): 477-491.

[3] Luo C, Zou W. Cerebral monitoring of anaesthesia on reducing cognitive dysfunction and postoperative delirium: a systematic review [J]. *J Int Med Res*, 2018, 46(10): 4100-4110.

[4] 李琳, 韩继成, 杨旭芳, 等. 右美托咪定复合依托咪酯对老年大鼠肝部分切除诱导术后认知功能障碍的改善作用 [J]. *现代药物与临床*, 2017, 32(6): 987-992.

[5] 毕翻利, 高洁. 右美托咪定联合舒芬太尼缓解肺叶切除术后疼痛的疗效 [J]. *药物评价研究*, 2017, 40(2): 220-224.

[6] 韩耀国, 张涛, 叶明荣, 等. 右旋美托咪啉对惊厥性癫痫持续状态大鼠认知功能和神经炎症的影响 [J]. *安徽医药*, 2019, 23(7): 1310-1314.

[7] Amsellem V, Abid S, Poupel L, et al. Roles for the CX3CL1/CX3CR1 and CCL2/CCR2 chemokine systems in hypoxic pulmonary hypertension [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2017, 56(5): 597-608.

[8] 赵启东, 季加富, 韩晓, 等. 参麦注射液预处理对老龄大鼠术后认知功能的影响 [J]. *临床麻醉学杂志*, 2018, 34(8): 65-68.

[9] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2004, 9(9): 1069-1072.

[10] Needham M J, Webb C E, Bryden D C. Postoperative cognitive dysfunction and dementia: what we need to know and do [J]. *Br J Anaesth*, 2017, 119(1): i115-i125.

[11] Evered L A, Silbert B S. Postoperative cognitive dysfunction and noncardiac surgery [J]. *Anesth Analg*, 2018, 127(2): 496-505.

[12] Luo A, Yan J, Tang X, et al. Postoperative cognitive dysfunction in the aged: the collision of neuroinflammation with perioperative neuroinflammation [J]. *Inflammopharmacology*, 2019, 27(1): 27-37.

[13] 李琳. 不同的麻醉诱导方式对术后认知功能障碍的影响及机制研究 [D]. 牡丹江: 牡丹江医学院, 2017.

[14] Krüger B D, Kurmann J, Corti N, et al. Dexmedetomidine-associated hyperthermia: A Series of 9 cases and a review of the literature [J]. *Anesth Analg*, 2017, 125(6): 1898-1906.

[15] 任海强, 闫莉, 李月, 等. 右美托咪定抑制炎症反应中巨噬细胞迁移 [J]. *山西医科大学学报*, 2018, 49(3): 226-231.

[16] Peng J, Zhang P, Zheng H, et al. Dexmedetomidine

- reduces hippocampal microglia inflammatory response induced by surgical injury through inhibiting NLRP3 [J]. *Chin J Traumatol*, 2019, 22(3): 161-165.
- [17] Yi C, Fu Z, Luo X. Dexmedetomidine on autophagy of hippocampal neurons in aged rats under sevoflurane anesthesia [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(2): 837-841.
- [18] Cunha C, Santos C, Gomes C, *et al.* Downregulated glia interplay and increased miRNA-155 as promising markers to track ALS at an early stage [J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(5): 4207-4224.
- [19] Mecca C, Giambanco I, Donato R, *et al.* Microglia and Aging: The role of the TREM2-DAP12 and CX3CL1-CX3CR1 axes [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(1): 318.
- [20] Amsellem V, Abid S, Poupel L, *et al.* Roles for the CX3CL1/CX3CR1 and CCL2/CCR2 chemokine systems in hypoxic pulmonary hypertension [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2017, 56(5): 597-608.
- [21] Zhuang Q, Ou J, Zhang S, *et al.* Crosstalk between the CX3CL1/CX3CR1 axis and inflammatory signaling pathways in tissue injury [J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2019, 20(8):844-854.
- [22] Bemiller S M, Maphis N M, Formica S V, *et al.* Genetically enhancing the expression of chemokine domain of CX3CL1 fails to prevent tau pathology in mouse models of tauopathy [J]. *J Neuroinflamm*, 2018, 15(1): 278.

【责任编辑 刘东博】