

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.011.001  
文章编号: 1005-8982 (2018) 011-0001-04

基础研究·论著

## 多次吸入七氟烷对新生期不同性别大鼠行为学的影响\*

赵鹏程<sup>1</sup>, 张超<sup>2</sup>, 王义<sup>2</sup>, 任娟娟<sup>2</sup>, 朱昭琼<sup>1</sup>

(1. 遵义医学院附属医院 麻醉科, 贵州 遵义 563003; 2. 贵州省麻醉与器官保护基础研究重点实验室, 贵州 遵义 563003)

**摘要:** **目的** 探讨新生期间断重复吸入七氟烷对不同时期和性别大鼠学习记忆能力的影响。**方法** 选取48只新生SD大鼠, 分为七氟烷雄性组、七氟烷雌性组, 以及对照雄性组、对照雌性组, 每组12只大鼠。七氟烷组大鼠在出生后第7、14、21天分别吸入2.6%七氟烷+运载气体(1 L/min空气+1 L/min氧气)2 h。对照组在相同时间点吸入运载气体, 自然喂养至幼年期(31~37 d)行Morris水迷宫实验, 观察定位航行实验游泳路程、逃避潜伏时间及空间探索实验各指标; 成年期(91~97 d)行定位航行和空间探索实验, 观察指标同前。**结果** ①幼年期大鼠游泳路程多于成年期大鼠; ②幼年期雌性大鼠定位航行和空间探索实验各指标与雄性大鼠比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ ); ③成年期雌性大鼠定位航行和空间探索实验各指标与雄性大鼠比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ )。**结论** 大鼠幼年期学习记忆能力可能产生一过性轻度损害, 但空间参考记忆能力无明显改变; 而成年期均无明显影响; 新生期间断重复七氟烷吸入麻醉后, 不同性别大鼠学习记忆能力无明显差别。

**关键词:** 七氟烷; 学习记忆; 性别

**中图分类号:** R965

**文献标识码:** A

## Repeated Sevoflurane inhalation in neonatal period on learning and memory of rats with different genders\*

Peng-cheng Zhao<sup>1</sup>, Chao Zhang<sup>2</sup>, Yi Wang<sup>2</sup>, Juan-juan Ren<sup>2</sup>, Zhao-qiong Zhu<sup>1</sup>

(1. Department of Anesthesiology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou 563003, China; 2. Guizhou Key Laboratory of Basic Research on Anesthesia and Organ Protection, Zunyi, Guizhou 563003, China)

**Abstract: Objective** To explore the impact of neonatal-period repeated inhalation of Sevoflurane on learning and memory of rats with different genders and in different periods. **Methods** Forty-eight newborn SD rats were divided into Sevoflurane male group (Sev M group,  $n = 12$ ), Sevoflurane female group (Sev F group,  $n = 12$ ), control male group (Con M group,  $n = 12$ ) and control female group (Con F group,  $n = 12$ ). The rats of the Sev M group and the Sev F group inhaled 2.6% Sevoflurane and carrier gas (1 L/min air + 1 L/min oxygen) for 2 h on the 7th, 14th and 21st d after birth; while the rats in the control groups inhaled only carrier gas for 2 h on the same days. The rats were naturally fed till infancy (31-37 d), and Morris water maze experiment was done, swimming distance and escape latency time in the navigation experiment and the indexes in the space exploration experiment were observed. With

收稿日期: 2016-12-21

\* 基金项目: 国家自然科学基金 (No: 81660193)

[通信作者] 朱昭琼, E-mail: zmczmzkzhaopc@163.com

batch feeding rats to adulthood (91-97 d), navigation and space exploration experiments were done again, the same indexes were observed. **Results** The total swimming distance of the infant rats was longer than that of the adult rats. The indexes of the navigation and space exploration experiments were not significantly different between the female and male infant rats ( $P > 0.05$ ). There was no significant difference in any index of the positioning navigation and space exploration experiments between the adult female and male rats ( $P > 0.05$ ). **Conclusions** Repeated inhalation of Sevoflurane may cause temporary and mild damage of learning and memory ability without change in spatial reference memory in infant rats; however it has no impact on adult rats. After repeating Sevoflurane anesthesia there is no obvious difference in learning or memory ability between newborn rats of different genders.

**Keywords:** Sevoflurane; learning and memory; gender

随着临床多次手术患儿增加, 儿童需多次接受七氟烷吸入麻醉。课题组前期研究发现, 多次吸入 2.6% 七氟烷麻醉的新生大鼠, 幼年期出现 Tau 蛋白表达的持续升高, 且在成年期大鼠海马出现磷酸化 Tau 蛋白表达增加<sup>[1]</sup>。这些蛋白的变化与大鼠学习能力下降有关<sup>[2]</sup>; 另有报道表明, 学习记忆能力的改变可能与中枢胆碱能系统功能改变关系密切<sup>[3]</sup>。然而少有研究关注大鼠性别差异, 基于临床用药多无性别指导或选择, 本实验观察大鼠在新生期间断重复七氟烷吸入麻醉后, 不同性别大鼠在幼年期、成年期的行为学变化, 旨在探索七氟烷吸入麻醉后, 不同性别大鼠学习记忆能力变化是否一致, 为临床应用提供数据参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

健康新生 SD 大鼠 48 只 [动物许可证号: SCXKZ (渝) 2012-0005], 雌、雄各 24 只。七氟烷 (临沂鲁南贝特制药有限公司, 批号: 65130702)。

### 1.2 仪器与设备

Fabius 麻醉机、Vamos 气体监护仪购自德国 Drager 公司, 七氟烷挥发罐 (美国雅培公司), WMT-100 型 Morris 水迷宫 (成都泰盟科技有限公司), 自制吸入麻醉箱等。

### 1.3 方法

**1.3.1 实验动物分组** 将 48 只大鼠分为七氟烷组和对照组, 每组 24 只。七氟烷组又分为七氟烷雄性组和七氟烷雌性组, 每组 12 只; 对照组分为对照雄性组和对照雌性组, 每组 12 只。七氟烷组大鼠在出生后第 7、14、21 天 (P7、P14、P21) 分别吸入 2.6% 七氟烷 + 运载气体 (1 L/min 氧气 + 1 L/min 空气) 2 h; 对照组在相同时间点吸入运载气体。

**1.3.2 观察指标** 模型复制成功后, 大鼠自然喂养至幼年期 (P31 ~ P37), 行 Morris 水迷宫实验, 记录定位航行实验游泳路程、逃避潜伏时间, 以及空间探索实验中原平台象限游泳距离及百分比、原平台象限滞留时间及百分比、经过平台区域次数的变化。大鼠自然喂养至成年期 (P91 ~ P97), 行 Morris 水迷宫实验, 观察指标同幼年期。幼年期和成年期大鼠共计 48 只进行行为学检测, 大鼠在实验过程中无意外死亡, 无不会游泳大鼠。

**1.3.3 Morris 水迷宫实验** ①适应性训练: 实验第 1 天 (P31、P91), 将大鼠放入无平台的水迷宫, 自由游泳训练 120 s, 排除不能适应游泳的大鼠。②定位航行实验: 实验第 2 ~ 6 天 (P32 ~ P36、P92 ~ P96), 每天将大鼠从水池的 4 个象限面壁放入水中, 摄像系统将大鼠的运动轨迹记录下来, 限时 120 s, 让大鼠寻找并爬上隐藏平台, 在平台停留时间  $>3$  s 视为成功, 记录逃避潜伏期,  $>120$  s 记录为 120 s。③空间探索实验: 实验第 7 天 (P37、P97), 将大鼠从水池壁任一位置放入无平台水中, 自由游泳 120 s, 系统记录并分析大鼠进入原平台区域次数、原平台区域滞留时间及百分比、原平台区域运动距离及百分比。

## 1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 统计软件, 计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 用  $t$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 幼年期不同性别大鼠的学习记忆能力

**2.1.1 定位航行实验游泳路程** 幼年期大鼠七氟烷组游泳路程 [ $(10\ 306.93 \pm 7\ 949.91)$  mm] 较对照组 [ $(7\ 299.79 \pm 2\ 716.98)$  mm] 有增加趋势, 但差异

无统计学意义 ( $t=1.149, P=0.235$ )。雌性 (七氟烷雌性组 + 对照雌性组) 大鼠游泳路程 [ $(9\ 597.22 \pm 8\ 157.47)$  mm] 与雄性 (七氟烷雄性组 + 对照雄性组) [ $(8\ 009.50 \pm 2\ 756.11)$  mm] 比较, 差异无统计学意义 ( $t=0.417, P=0.525$ )。七氟烷雌性组出现变异较大情况, 证实郑海霞等<sup>[4]</sup>的研究, Morris 水迷宫易受到多种因素影响, 存在不同程度的变异。

**2.1.2 定位航行实验逃避潜伏期** 七氟烷组逃避潜伏期 [ $(29.82 \pm 10.48)$  s] 与对照组 [ $(29.06 \pm 7.02)$  s] 比较, 差异无统计学意义 ( $t=0.042, P=0.839$ )。雌性大鼠逃避潜伏期 [ $(30.55 \pm 10.21)$  s] 与雄性 [ $(28.32 \pm 7.25)$  s] 比较, 差异无统计学意义 ( $t=0.363, P=0.553$ )。幼年期大鼠可能已形成稳定的空间参考记忆。

**2.1.3 空间探索实验** 七氟烷组大鼠原平台象限滞留时间、原平台象限滞留时间百分比、原平台象限游泳距离、原平台象限游泳距离百分比分别为 ( $27.72 \pm 5.23$ ) s、( $23.61 \pm 4.50$ ) %、( $7\ 607.15 \pm 1\ 555.92$ ) mm 和 ( $23.97 \pm 4.34$ ) %; 对照组大鼠原平台象限滞留时间、原平台象限滞留时间百分比、原平台象限游泳距离、原平台象限游泳距离百分比分别为 ( $26.78 \pm 4.04$ ) s、( $22.90 \pm 3.41$ ) %、( $7\ 295.47 \pm 1\ 070.15$ ) mm 和 ( $23.25 \pm 2.50$ ) %。七氟烷组与对照组上述指标比较, 差异无统计学意义 ( $t=0.234, 0.184, 0.313$  和  $0.232, P=0.634, 0.672, 0.582$  和  $0.635$ )。不同性别大鼠原平台象限滞留时间、原平台象限滞留时间百分比、原平台象限游泳距离、原平台象限游泳距离百分比比较, 差异无统计学意义 ( $t=0.125, 0.140, 0.043$  和  $0.003, P=0.727, 0.712, 0.838$  和  $0.958$ )。4 组大鼠空间记忆能力无明显差别。

## 2.2 成年期大鼠的学习记忆能力

**2.2.1 定位航行实验游泳路程** 成年期大鼠七氟烷组游泳路程 [ $(6\ 930.33 \pm 2\ 606.47)$  mm] 与对照组 [ $(6\ 473.38 \pm 2\ 192.12)$  mm] 比较, 差异无统计学意义 ( $t=0.224, P=0.641$ )。雌性大鼠游泳路程 [ $(7\ 348.44 \pm 2\ 900.62)$  mm] 与雄性 [ $(6\ 055.28 \pm 1\ 546.06)$  mm] 比较, 差异无统计学意义 ( $t=1.792, P=0.195$ )。

**2.2.2 定位航行实验逃避潜伏期** 七氟烷组逃避潜伏期 [ $(26.38 \pm 11.25)$  s] 与对照组 [ $(21.15 \pm 6.50)$  s] 比较, 差异无统计学意义 ( $t=2.004, P=0.171$ )。雌性大鼠逃避潜伏期 [ $(26.15 \pm 11.54)$  s] 与雄性

[ $(21.37 \pm 6.18)$  s] 比较, 差异无统计学意义 ( $t=1.676, P=0.210$ )。成年期大鼠可能已形成稳定的空间参考记忆; 性别因素的影响在成年期凸显, 但差异无统计学意义, 可能与性激素及吸入药物浓度有关。

**2.2.3 空间探索实验** 七氟烷组大鼠原平台象限滞留时间、原平台象限滞留时间百分比、原平台象限游泳距离、原平台象限游泳距离百分比分别为 ( $26.84 \pm 6.63$ ) s、( $22.93 \pm 5.68$ ) %、( $6\ 608.15 \pm 1\ 734.47$ ) mm 和 ( $23.41 \pm 5.44$ ) %; 对照组大鼠原平台象限滞留时间、原平台象限滞留时间百分比、原平台象限游泳距离、原平台象限游泳距离百分比分别为 ( $27.93 \pm 3.66$ ) s、( $23.94 \pm 3.02$ ) %、( $7\ 475.75 \pm 1\ 332.39$ ) mm 和 ( $23.72 \pm 3.98$ ) %。七氟烷组与对照组上述指标比较, 差异无统计学意义 ( $t=0.244, 0.293, 1.804$  和  $0.027, P=0.626, 0.594, 0.194$  和  $0.872$ )。不同性别大鼠原平台象限滞留时间、原平台象限滞留时间百分比、原平台象限游泳距离、原平台象限游泳距离百分比比较, 差异无统计学意义 ( $t=0.569, 0.562, 0.020$  和  $1.634, P=0.449, 0.462, 0.889$  和  $0.215$ )。4 组大鼠空间记忆能力无明显差别。

## 3 讨论

本研究主要对不同性别大鼠的行为学进行研究, Morris 水迷宫实验是目前用于评估动物空间学习能力和记忆能力最有效、经典的方法, 而且在跨物种时具有同样的敏感性<sup>[5]</sup>。本实验从定位航行和空间探索实验两方面, 对大鼠学习能力和记忆能力进行评估。定位航行实验体现动物学习能力和学习中形成的空间参考记忆, 属于陈述性记忆范畴, 逃避潜伏期的时间和路程与陈述性记忆能力呈负相关, 但易受多种因素的影响, 可能存在很大程度变异<sup>[4, 6]</sup>。本研究结果显示, 幼年期七氟烷组定位航行路程有增加趋势, 幼年期可能产生学习记忆损害, 而成年期无明显影响, 说明新生期重复吸入 2.6% 七氟烷对大鼠近期行为学方面可能有一过性影响, 但这种影响是暂时的, 可自行恢复, 相对于远期即成年期无明显影响, 但无论幼年期或成年期这种变化趋势无明显差异。

本实验分别比较新生期吸入 2.6% 七氟烷后的雄性和雌性大鼠, 幼年期雌性大鼠的游泳路程较雄性有增加趋势, 成年期雌性大鼠逃避潜伏期较雄性有增加趋势。有报道称, 成年雌性大鼠重复吸入 3% 七氟烷

会引起与雌激素相关的蛋白发生改变,该类蛋白与海马的神经细胞凋亡又存在相关性,且雌激素为保护因素<sup>[7]</sup>。也有报道称,女性老年痴呆与正常老年女性雌激素水平无差异<sup>[8]</sup>。目前针对性别差异的研究较少且并不全面,有待下一步研究不同浓度、不同时期吸入实验气体对性别差异表现出的不同学习能力和记忆能力,且可测定比较是否出现行为学改变的老年大鼠雌激素水平。空间探索实验检测原平台象限游泳距离及百分比、原平台象限滞留时间及百分比。本研究中对照组与七氟烷组比较无差异,说明七氟烷对大鼠空间记忆能力无明显影响<sup>[9]</sup>。

目前社会对儿童安全用药十分重视,但缺乏深入研究和合理药物开发,儿童用药并非成人的缩小版,尽管较短时间暴露于七氟烷不会引起儿童认知功能障碍<sup>[10]</sup>,但是儿童用药的特殊性还需进一步研究和反复验证,如母体药物治疗对子代的影响<sup>[11]</sup>等。本实验对性别的描述方式参考韩云峰等<sup>[12]</sup>文献报道,新生期大鼠重复吸入 2.6% 七氟烷后,其幼年和成年期行为学测试结果无差异,期望对临床儿童安全用药具有一定参考价值。

综上所述,新生期间断重复吸入 2.6% 七氟烷可能对幼年期大鼠学习记忆能力产生一过性影响,对成年期大鼠影响不明显,表明这种影响是暂时的,可自行恢复,而对空间记忆能力无影响。新生期重复吸入 2.6% 七氟烷后,幼年期雌性大鼠的学习记忆能力较雄性呈下降趋势,但不足以影响至成年期。因此,笔者推测多次 2.6% 七氟烷吸入麻醉对不同性别大鼠学习记忆能力、空间记忆能力无明显影响,在临床使用于不同性别患儿是安全的。

#### 参 考 文 献:

- [1] 唐春春,王义,任娟娟,等. 多次七氟烷麻醉对新生大鼠海马 ApoE 表达的影响 [J]. 中华麻醉学杂志, 2016, 36(5): 535-538.
- [2] 王萌萌,朱宇航,张超,等. 多次七氟烷麻醉对新生大鼠的神经毒性作用 [J]. 中华麻醉学杂志, 2016, 36(4): 411-413.
- [3] CHEN R F, ZHANG T, KUANG L T, et al. Cholinergic synaptic transmissions were altered after single sevoflurane exposure in drosophila pupa[J]. BioMed Research International, 2016, DOI: 10.1155/2015/485709.
- [4] 武海霞,吴志刚,刘红彬,等. Morris 水迷宫实验在空间学习记忆研究中的应用 [J]. 神经药理学报, 2014, 4(5): 30-35.
- [5] KATHERINE L P, ERICA T J, NICHOLAS T B, et al. Cross-species translation of the Morris maze for Alzheimer's disease[J]. The Journal of Clinical Investigation, 2016, 126(2): 779-783.
- [6] VORHEES C V, WILLIAMS M T. Morris water maze:procedures for assessing spatial and related of learning and memory[J]. Nat Protoc, 2006, 1(2): 848-858.
- [7] XIE H, SHE G M, WANG C, et al. The gender difference in effect of sevoflurane exposure on cognitive function and hippocampus neuronal apoptosis in rats[J]. European Review For Medical and Pharmacological Science, 2015, 19: 647-657.
- [8] 王硕,张宏博,胡文珠,等. 女性老年痴呆雌激素和正常老年女性体内雌激素水平的比较的 meta 分析 [J]. 职业与健康, 2014, 30(10): 1345-1348.
- [9] ALLEN K, POTVIN O. Processing idiothetic cues to remember visited location:hippocampal and vestibular contribution to radial-arm maze performance[J]. Hippocampus, 2007, 12(8): 642-653.
- [10] JEFFREY H Z, DONG Y L, FANG F, et al. Anesthetic sevoflurane causes Rho-dependent filopodial shortening in mouse neurons[J]. PLoS One, 2016, 21(7): e0159637.
- [11] 姚亚丽,曹文字,李昌琪,等. 大鼠配对前经历吗啡成瘾及戒断对子代掠食行为的影响 [J]. 中国药物依赖性杂志, 2011, 20(6): 417-420.
- [12] 韩云峰,娄峰阁,葛杰,等. 医学院校大学生健康信息素养的调查研究 [J]. 中国医学伦理学, 2017, 30(1): 127-130.

(童颖丹 编辑)