

基础研究

DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2012.04.009

丙泊酚对新生大鼠远期神经行为学的影响及机制

高 进,余得水,胡 佳,彭淑君,戴 珩,李 季,陈 萍

(重庆医科大学附属第一医院麻醉科,重庆 400016)

【摘要】目的:研究丙泊酚对新生大鼠远期神经行为学的影响及机制。方法:新生 7 d SD 大鼠 72 只随机分为 3 组($n=24$ 只),雌雄各半;对照组(C 组)和丙泊酚单次注射组(P1 组)腹腔注射生理盐水 7.5 ml/kg,1 次/d,连续 6 d;第 7 天分别注射生理盐水 7.5 ml/kg 和丙泊酚 75 mg/kg;丙泊酚多次注射组(P2 组)腹腔注射丙泊酚 75 mg/kg,1 次/d,连续 7 d。第 7 天注射完毕后 15 min,每组随机抽取 3 只大鼠测定动脉血气和血糖;30、90 d 和 180 d 3 个时间点,每个时间点各组随机抽取 7 只进行旷场实验和 Morris 水迷宫测试;取大鼠海马 CA1 区组织,用流式细胞仪测定神经元凋亡率并用体视学方法对锥体细胞形态学进行定量分析。结果:在 30 d 时,与对照组(C 组)和丙泊酚单次注射组(P1 组)相比,丙泊酚多次注射组(P2 组)空间学习记忆功能和探究功能明显降低($P<0.05$),海马 CA1 区神经元凋亡率明显增高($P<0.05$);与 C 组相比,P1 组和 P2 组海马 CA1 区锥体细胞体积密度 Vv (Volume density, Vv) 和表面积密度 Sv (Surface area density, Sv) 出现不同程度下降($P<0.05$),与 P1 组相比,P2 组下降程度更为明显($P<0.05$);在 90 d 和 180 d 时,3 组大鼠的各项指标没有明显差异。结论:丙泊酚多次注射可导致新生大鼠远期认知功能减退,可能与神经元凋亡率增加以及锥体细胞减少及形态改变有关。

【关键词】丙泊酚;新生大鼠;海马;凋亡;行为学

【中国图书分类法分类号】R726.1

【文献标志码】A

【收稿日期】2011-12-20

Effects of Propofol on long-term neuroethology of neonatal rats and its mechanism

GAO Jin, YU Deshui, HU Jia, PENG Shujun, DAI Heng, LI Ji, CHEN Ping

(Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the effects of Propofol on long-term neuroethology of neonatal rats and its mechanism. **Methods:** Totally 72 seven-day-old neonatal rats were randomly divided into group C, group P1 and group P2 ($n=24$). The rats in group C and group P1 were injected intraperitoneally with 7.5 ml/kg normal saline q. d for consecutive six days and on 7th d, the rats in group C were injected with 7.5 ml/kg normal saline while those in group P1 were injected with 75 mg/kg Propofol. The rats in group P2 were received 75 mg/kg Propofol q. d for consecutive seven days. On 7th d, the artery blood gas and glucose were tested for three rats randomly chosen in each group at 15 min after the intraperitoneal injection. On 30th, 90th and 180th, seven rats randomly chosen in each group were examined by Morris water maze and open-field test. The hippocampal CA1 region was decapitated in rats, the apoptosis rates of the neurons were measured by flow cytometry and the morphologic changes of the pyramidal cells were assessed quantitatively by stereology method. **Results:** The learning, memorizing and exploring function on 30th were declined significantly and the neuron apoptosis rates in CA1 region were increased markedly in group P2 compared with those in group C and group P1 ($P<0.05$). The volume density (Vv) and surface area density (Sv) in hippocampal CA1 region in group P1 and P2 were declined with various degrees compared with those in group C ($P<0.05$), with more obvious decline in group P2. On 90th and 180th d, there was no difference in each item among three groups. **Conclusion:** Multiple propofol injections may impair long-term neuroethology of neonatal rats, which may associated with increased neuron apoptosis and morphologic change of pyramidal cells.

【Key words】Propofol; neonatal rats; hippocampus; apoptosis; ethology

妊娠末期以及出生后早期是大脑学习记忆功能发育成熟的关键时期,而此时神经系统对内外环境的影响异常敏感^[1],在此时期长时间、反复使用全麻

药是否引起中枢神经系统损伤国际上尚无有力依据。已有研究表明,脑发育高峰时期,药物性阻断 N-甲基-D-天(门)冬氨酸(N-methyl-Aspartate, NM-DA)受体或(和)过度激动 γ -氨基丁酸 A 型(γ -aminobutyric acid-A, GABA_A)受体体会触发广泛的神经细胞凋亡^[2]。丙泊酚(Propofol)作为一种新型快速短效的静脉全麻药,其主要通过激动 GABA 受

作者介绍:高 进(1971-),女,主治医师,硕士,

研究方向:器官保护与慢性疼痛。

通信作者:陈 萍,女,教授,Email:pingping620814@sina.com。

体^[3]以及间接抑制 NMDA 受体功能^[4]产生全身麻醉作用。本研究选择单次和多次接受丙泊酚注射的 7 d 新生大鼠为研究对象,探讨丙泊酚对新生大鼠远期神经行为学的影响及机制。

1 材料与方法

1.1 仪器及试剂

流式细胞仪(美国 Becton Dickinson 公司);血糖分析仪(日本京都第一科学株式会社,日本);水迷宫(中国医学科学院药物研究所);动脉血气分析仪(美国雅培公司);方网测试系统(上海博讯实业有限公司);GD-8 型病理影像多媒体图文操作系统(成都金盘电子科大多媒体技术有限公司);丙泊酚(批号:FT565, AstraZeneca 公司,意大利);小鼠抗 Neu(美国 Chemicon 公司);异硫氰酸荧光素 FITC 标记的羊抗鼠 IgG(Pierce 公司,美国)。

1.2 实验方法

1.2.1 实验动物 清洁级 7 d SD 大鼠(重庆医科大学动物中心提供)72 只,12~17 g,雌雄各半[合格证:SCXK(渝 2007-0001)]。

1.2.2 模型制作及动物分组 清洁级 7 d SD 大鼠 72 只,12~17 g,雌雄各半。随机分为 3 组($n=24$ 只):对照组(C 组)和丙泊酚单次注射组(P1 组)腹腔注射生理盐水 7.5 ml/kg,1 次/d,连续 6 d;第 7 天分别注射生理盐水 7.5 ml/kg 和丙泊酚 75 mg/kg;丙泊酚多次注射组(P2 组)腹腔注射丙泊酚 75 mg/kg,1 次/d,连续 7 d。麻醉后把新生大鼠放置于恒温充氧培养箱中,同时用婴儿脉搏血氧饱和度探头贴于鼠腹部,监测 SpO_2 。第 7 天注射完毕后 15 min,每组随机抽取 3 只大鼠左心室穿刺抽取动脉血测定血气和血糖,其余大鼠继续与母鼠同窝饲养,自由饮水进食,于 21 d 断母乳喂养。出生后 7~30 d,每天记录体重,30 d 后每周记录体重。喂养至 30 d 时随机抽取 7 只进行认知功能测试,包括旷场实验和 Morris 水迷宫测试。喂养到 30、90、180 d 时取大鼠海马 CA1 区组织,分两部分分别进行神经元凋亡率的检测和锥体细胞形态学定量分析。

1.2.3 指标检测

1.2.3.1 大鼠认知功能检测(Morris 水迷宫+旷场实验)

旷场实验:旷场实验观察箱为 60 cm×60 cm×60 cm 的无顶木箱,箱底用黑线分为 36 个等份小方格。将大鼠从中央格放入箱底,观察在中央格停留时间和 2 min 内穿越格子数,2 次实验之间间隔 5 min,以排除上 1 只大鼠气味的影响。Morris 水迷宫:水迷宫系统由一圆形水池(直径 110 cm、高 50 cm)、图像采集系统和分析系统组成。水池平均划分为 4 个象限,注水后加入混匀,水温维持 22℃~25℃,将 1 个直径 10 cm 的平台固定在一象限,平台在水面下 1 cm。(1)定位航行实验:定位航行实验:分 5 d 进行,每天每只大鼠进行 4 次训练,每只大鼠随机从每个象限的中点面壁式入水 1 次,每次间隔 60 s,采用图像采集系统和分析系统自动记录大鼠 120 s 内找到平台的时间和路径长度即逃逸潜伏期和寻台路径长度。以第 5 天的逃逸潜伏期和寻台路径长度反映其学习功能,逃逸潜伏期和寻台路径长度越长,学习能力越差。(2)空间探索实验:第 6 天时将平台撤除,选定和平台区

域相对的象限中点为入水点,采用图像采集系统和分析系统自动记录大鼠 120 s 内在原平台所在象限探索的时间和穿越平台区的次数,反映其记忆功能,且与记忆功能正相关。整个测试期间,保持实验室内灯光、物品摆放等室内环境一致,以排除环境干扰。

1.2.3.2 大鼠海马 CA1 区神经元凋亡率的检测(流式细胞仪) 采用流式细胞仪检测大鼠认知功能检测完毕后,迅速断头处死,冰台上快速取脑,分离出海马 CA1 区,用直剪将脑组织剪至匀浆状 200 目筛网过滤,收集细胞悬液入 15 ml 离心管中;4℃离心 PBS 溶液洗涤 2 次,1 000 r/min,每次 5 min。用 PBS 调整细胞浓度至 1×10^7 个/ml,分装 Ep 管;每管加入 75%冷乙醇固定细胞,-30℃过夜 4℃离心洗涤 2 次,弃上清;每管加入 0.25% Triton 600 μ l 重悬细胞,室温静置 5 min 4℃离心洗涤 2 次,弃上清;加入一抗 Neu(1:1 000),4℃孵育过夜,4℃离心洗涤 2 次,弃上清;加入 100 μ l 二抗 FITC(1:100),室温避光孵育 60 min 4℃离心洗涤 2 次,弃上清;1 ml PBS 溶液重悬细胞加入 PI(50 μ g/ml)及 RNA 酶 A(200 μ g/ml),4℃冰箱避光放置 30 min,上流式细胞仪检测。检测时设阴性对照(以 PBS 代替一抗)。上流式细胞仪检测, FITC 记录激发波长 488 nm 处的绿色荧光,应用 Cellquest 软件(美国 Becton Dickson 公司)对所测 GFAP 阳性细胞的亚二倍体峰(sub-G1 peak)进行分析,得出神经元的凋亡百分数。

1.2.3.3 大鼠海马 CA1 区锥体细胞形态学定量分析检测(Nissl 染色体视学分析方法) 分离出大鼠海马 CA1 区后,-20℃恒温冷箱切片连续切片,取背侧海马最大面积处切片(厚 10 μ m)。切片后将冰冻切片放置于 PBS 中固定 15 min,再置于 1% 甲苯胺蓝染液中 20 min,充分冲洗后乙醇脱水,二甲苯透明,每次 2 min 共 2 次,中性树胶封片后在光镜下观察。参照细胞形态立体计量方法^[5],用方网测试系统(10×10),在显微镜下对海马 CA1 区,用“十字交叉法”计算每个视野下网格交叉点击中锥体细胞的数量(P_{xi}),测试线与锥体细胞的交点数(I_{xi}),落在包容空间的点数(P_{ci}),在本实验具体的包容空间为海马 CA1 区。利用上述得到的数值计算锥体细胞体积密度 V_v (Volume density, V_v)和表面积密度 S_v (Surface area density, S_v)。具体计算公式:

$$V_v = \frac{\sum_{i=1}^n P_{xi}}{\sum_{i=1}^n P_{ci}} \quad S_v = \frac{2}{z} g = \frac{\sum_{i=1}^n P_{xi}}{\sum_{i=1}^n P_{ci}}$$

Z 为 1 个测试点代表的测试线长度。每例动物 3 张切片,每张切片随机取 2 个视野,取平均值。

1.3 统计学分析

采用 SPSS13.0 软件分析,计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,所有计量资料符合正态分布,组间比较采用单因素方差分析和两因素混合实验设计的重复测量方差分析,两两比较采用 q 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠一般情况

3 组大鼠血气各项指标、血糖均在正常范围内,无统计学差异,见表 1。

表 1 血气、血糖分析 ($n=3, \bar{x} \pm s$)
Tab.1 Arterial blood gas and blood glucose analysis ($n=3, \bar{x} \pm s$)

动脉血气、血糖	C 组	P1 组	P2 组	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
pH	7.38 ± 0.05	7.48 ± 0.04	7.42 ± 0.03	4.320	0.069
PaCO ₂ (mmHg)	31.33 ± 2.51	28.67 ± 3.78	32.33 ± 4.04	0.874	0.464
PaO ₂ (mmHg)	111.00 ± 16.52	97.67 ± 13.20	106.00 ± 15.10	0.605	0.576
HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	23.57 ± 2.42	22.33 ± 3.06	23.27 ± 3.40	0.139	0.873
SaO ₂ (%)	98.00 ± 1.00	98.67 ± 0.58	97.00 ± 2.00	1.188	0.368
Glucose	6.33 ± 0.87	6.58 ± 1.12	6.79 ± 0.41	0.209	0.817

2.2 大鼠认知功能的变化

在 30 d 时与 C 组和 P1 组相比, P2 组大鼠旷场实验中央格停留时间明显延长而穿越格子数减少 ($P < 0.05$), 并且水迷宫实验中学习功能和记忆功能明显降低 ($P < 0.05$), 而 C 组和 P1 组的认知功能差异无统计学意义, 见表 2。

表 2 大鼠 30 d 认知功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.2 Comparison of the cognitive function on 30th d ($\bar{x} \pm s$)

组别	学习记忆功能		探究功能	
	逃逸潜伏期 (s)	探索时间 (s)	中央格停留时间 (s)	穿越格子个数 (s)
C 组	48 ± 6	78 ± 6	16 ± 4	20 ± 3
P1 组	47 ± 4	80 ± 5	17 ± 3	19 ± 4
P2 组	78 ± 5▲★	56 ± 3▲★	27 ± 2▲★	12 ± 3▲★
<i>F</i> 值	78.909	50.313	26.681	13.246
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000

注: ▲, $P < 0.05$, 与对照组相比; ★, $P < 0.05$, 与 P1 组相比

2.3 各组大鼠不同时间点海马 CA1 区神经元凋亡率的变化

30 d 时, P1 组和对照组相比无统计学差异, 而 P2 组大鼠海马 CA1 区神经元凋亡明显, 凋亡率较 C 组和 P1 组明显增加 ($P < 0.05$); 90 d 和 180 d 时 3 组大鼠的神经元凋亡率两两相比无明显差异 ($P > 0.05$), 见表 3 和图 1。

表 3 各组大鼠不同时间点海马 CA1 区神经元凋亡率比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.3 Comparison of the neuron apoptosis rate in hippocampal CA1 region at different time periods ($\bar{x} \pm s$)

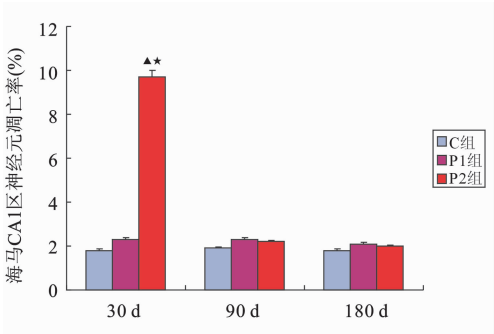
组别/天数	30 d (%)	90 d (%)	180 d (%)
C 组	1.8 ± 0.9	1.9 ± 1.2	1.8 ± 0.8
P1 组	2.3 ± 1.2	2.3 ± 1.4	2.1 ± 1.2
P2 组	9.7 ± 3.2▲★	2.2 ± 0.8	2.0 ± 0.7
<i>F</i> 值	6.042	2.800	2.791
<i>P</i> 值	0.010	0.087	0.088

注: ▲, $P < 0.05$, 与对照组相比; ★, $P < 0.05$, 与 P1 组相比

2.4 大鼠海马 CA1 区锥体细胞形态学的变化

如图 2 所示, 在高倍镜下观察海马 CA1 区锥体细胞的形态改变, 30 d 时, C 组大鼠海马 CA1 区可见排列整齐密集的

锥体细胞层, 核大而圆居于胞体中央, 胞浆呈蓝色, 可见 1、2 个清晰核仁; 而 P1 组海马 CA1 区锥体细胞可见轻度改变, 细胞体积缩小, 细胞层不完整, 出现细胞丢失; P2 组细胞层次紊乱, 排列稀疏, 锥体细胞核明显固缩, 细胞及核界限模糊, 细胞出现空泡样变性, 细胞明显缺失。海马 CA1 区锥体细胞形态学定量分析, 与 C 组相比, P1 组锥体细胞 V_v、S_v 有所下降, P2 组则下降更为明显, 均有明显差异 ($P < 0.05$); P1、P2 组相比, P2 组较 P1 组的 V_v 和 S_v 更明显减少 ($P < 0.05$), 90 d 和 180 d 时 3 组大鼠的锥体细胞 V_v、S_v 与对照组相比无明显差异 ($P > 0.05$), 见表 4、图 3、4。



注: ▲, $P < 0.05$, 与对照组相比; ★, $P < 0.05$, 与 P1 组相比

图 1 3 组大鼠不同时间点 CA1 区神经元凋亡率比较

Fig.1 Comparison of the neuron apoptosis rate in hippocampal CA1 region at different time periods

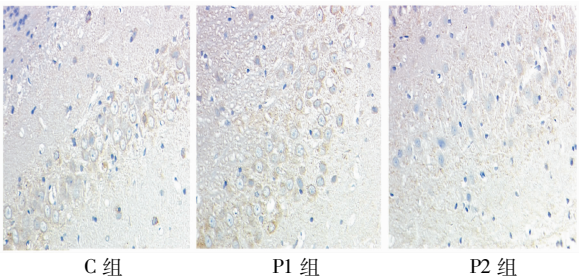


图 2 3 组大鼠 30 d 时海马 CA1 区锥体细胞形态学比较 (Nissl 染色, 400 ×)

Fig.2 Comparison of the morphology of the pyramid cells in hippocampal CA1 region on 30th d among three groups (Nissl staining, 400 ×)

表 4 各组大鼠不同时间点海马 CA1 区锥体细胞 Vv($\times 10^{-2}\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^3$) 和 Sv($\times 10^{-2}\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^3$) ($\bar{x} \pm s$)
Tab. 4 Comparison of the volume density ($\times 10^{-2}\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^3$) and surface area density ($\times 10^{-2}\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^3$)
of the pyramid cells in hippocampal CA1 region at different time periods($\bar{x} \pm s$)

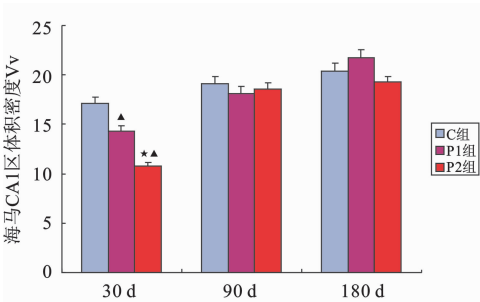
组别/天数	30 d		90 d		180 d	
	Vv	Sv	Vv	Sv	Vv	Sv
C 组	17.1 \pm 1.2	42.3 \pm 3.0	19.1 \pm 1.7	42.4 \pm 2.8	19.5 \pm 1.1	42.9 \pm 3.7
P1 组	14.3 \pm 1.3 [▲]	32.1 \pm 2.8 [▲]	19.1 \pm 0.9	40.6 \pm 3.2	19.0 \pm 1.2	41.4 \pm 3.5
P2 组	10.8 \pm 1.5 ^{▲★}	27.4 \pm 2.1 ^{▲★}	17.6 \pm 1.8	41.8 \pm 2.7	18.3 \pm 1.3	40.9 \pm 3.1
F 值	0.252	0.243	1.777	0.740	0.039	0.495
P 值	0.000	0.000	0.991	1.000	0.991	1.000

注: ▲, $P < 0.05$, 与对照组相比; ★, $P < 0.05$, 与 P1 组相比

标准,在不给予控制呼吸的情况下,腹腔注射异丙酚大于 150 mg/kg,新生鼠死亡率较高;若采用 75 mg/kg 的异丙酚剂量,既能满足麻醉要求又能保证新生鼠存活率。由于麻醉期间可能的低氧血症和低血糖会对脑发育产生影响,故本实验在麻醉期间动态监测 SpO₂、血气和血糖,以排除这些因素对实验结果的干扰^[7]。

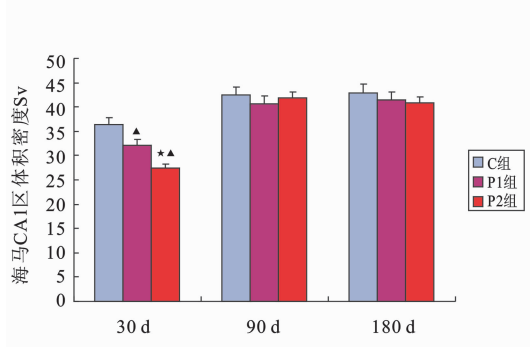
本实验的研究发现,丙泊酚单次注射组(P1 组)和生理盐水处理组(C 组)新生大鼠在 30、90 d 及 180 d 3 个时间点的认知功能差异无统计学意义,并且 2 组大鼠的认知功能随时间逐渐增强也符合正常大鼠学习记忆功能随增龄的变化趋势^[8];而 Anders^[9]的研究发现,新生 10 d 小鼠单次注射 60 mg/kg 丙泊酚后其成年认知功能并未减退,也支持本研究结果。丙泊酚多次注射组(P2 组)大鼠在 30 d 时其空间学习记忆功能和探究功能都出现严重减退,但是在 90 d 及 180 d 时其认知功能又与对照组同龄大鼠无差异。该结果表明脑发育高峰期脑组织多次暴露于麻醉剂量的丙泊酚会引起幼年期大鼠学习记忆功能受损;但在神经系统的适应和自我修复下,大鼠长到青年期时,这种学习记忆功能得到了很好的恢复,其学习记忆功能和正常大鼠并无明显区别。本研究还发现,与 C 组相比,P1 组、P2 组大鼠海马 30 d 龄时 CA1 区神经元凋亡率和锥体细胞细胞 Vv、Sv 都出现不同程度的凋亡性改变,从另一个侧面反映了神经细胞发生凋亡或者坏死的数目增多^[10],其中 P2 组更为明显;而这种凋亡性改变随时间增加逐渐好转,在 90 d 龄时已和对照组大鼠无差异,此发展趋势正好与本研究认知功能检测结果相符合。

认知活动是脑的高级神经活动,也是重要的智力因素,学习、记忆是其组成部分。大鼠学习记忆的快速发育期是妊娠的末期以及出生后 2 周,该时期未成熟的神经系统对内外环境的化学物质具有高度的敏感性。已有研究发现全麻药对大鼠脑发育高峰



注: ▲, $P < 0.05$, 与对照组相比; ★, $P < 0.05$, 与 P1 组相比

图 3 各组大鼠不同时间点 CA1 区锥体细胞体积密度比较
Fig. 3 Comparison of the volume density of the pyramid cells



注: ▲, $P < 0.05$, 与对照组相比; ★, $P < 0.05$, 与 P1 组相比

图 4 各组大鼠不同时间点 CA1 区锥体细胞表面积密度比较
Fig. 4 Comparison of the surface area density of the pyramid cells in hippocampal CA1 region at different time periods

3 讨 论

本研究选用的 7 d 新生大鼠以神经系统发育成熟度为对照,相当于 36 周的胎儿^[6],而本实验从出生后 7 d 开始予以连续 7 d 的干预,正好覆盖大鼠整个脑发育高峰期。研究发现,1~6 个月的婴儿异丙酚诱导半数有效剂量为(3.0 \pm 0.2) mg/kg。为达同等药效,腹腔注射应为静脉注射剂量的 2 倍,大鼠剂量是人剂量的 25~50 倍。根据前期多次预实验结果,以翻正反射和自发运动消失大于 30 s 为麻醉

期的神经元结构和功能有损害作用,包括神经元凋亡增加以及远期神经行为学的损伤^[11,12]。Scallet 等人证实了多次使用氯胺酮这种典型的 NMDA 受体非竞争性拮抗剂能引起幼龄大鼠神经细胞凋亡,但认为同等剂量单次注射则对神经元凋亡无影响^[13]。而丙泊酚主要通过激动 GABA 受体产生全身麻醉作用,通过对幼龄大鼠神经元结构和神经认知功能的测试证实了丙泊酚能够剂量依赖性的增加神经元的凋亡并导致远期学习记忆功能的损害^[14],本实验前期研究也发现孕晚期母鼠多次接受丙泊酚麻醉后胎鼠的神经元凋亡明显增加^[15]。本研究证实,单次麻醉剂量丙泊酚不会引起幼鼠远期学习记忆功能及探究功能损害,而新生鼠连续多次接受丙泊酚麻醉可能会导致幼年期的学习记忆功能和探究功能下降。但在少年期以及青年期时,接受多次丙泊酚麻醉大鼠的学习记忆功能和探究功能又与正常大鼠无明显差异。结合本实验的结果,我们推测,新生大鼠单次注射丙泊酚后脑组织出现较轻且可逆性的病理学改变,并不会引起脑组织的功能性改变;但多次注射后,细胞凋亡增加,锥体细胞明显减少,细胞形态改变,最终导致幼年期认知功能受损。但是出生后 2 周也正是神经发育高峰期,此期的神经系统有很强的适应与损伤自我修复功能^[16]。随着凋亡诱导因素消失,神经干细胞的激活和损伤修复的进行,内源性神经干细胞增殖分化,海马神经元的丢失逐渐被代偿,大鼠的神经网络结构逐渐被恢复。此外,大鼠从出生后至 6 月龄时的学习记忆能力都呈逐渐增强趋势,6 月龄时达到最高点,该生理特点也有利于大鼠学习记忆功能的逐渐恢复,最终使得脑功能恢复正常。

综上所述,新生大鼠多次接受丙泊酚麻醉可引起幼年期认知功能减退,可能与海马 CA1 区神经元凋亡增加以及锥体细胞的形态学变化有关。

参 考 文 献

- [1] Ma D, Williamson P, Januszewski A, et al. Xenon mitigates isoflurane-induced neuronal apoptosis in the developing rodent brain[J]. Anesthesiology, 2007, 106(4): 746-753.
- [2] Scallet A C, Schmued L C, Slikker W, et al. Developmental neurotoxicity of ketamine: morphometric confirmation, exposure parameters, and multiple fluorescent labeling of apoptotic neurons[J]. Toxicological Sciences, 2004, 81(2): 364-370.
- [3] Kitamura A, Marszalec W, Yeh J Z, et al. Effects of halothane and propofol on excitatory and inhibitory synaptic transmission in rat cortical Neurons[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2003, 304(1): 162-171.
- [4] Irifune M, Takarada T, Shimizu Y, et al. Propofol-induced anesthesia in mice is mediated by gamma-aminobutyric acid-A and excitatory amino acid receptors[J]. Anesth Analg, 2003, 97(2): 424-429.
- [5] 郑富盛. 细胞形态立体计量学[M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1987: 19-42.
- [6] Zheng F S. Cells form stereo metrology[M]. Beijing: Beijing Medical University Peking Union Medical College Press Association, 1987: 19-42.
- [7] Loepke A W, McCann J C, Dean K C, et al. The physiologic effects of isoflurane anesthesia in neonatal mice[J]. Anesth Analg, 2006, 102(1): 75-80.
- [8] 蒋 燕, 周泽军, 高 进, 等. 反复注射异丙酚对新生大鼠认知功能的影响[J]. 中华麻醉学, 2008, 289(11): 1007-1009.
- [9] Jiang Y, Zhou Z J, Gao J, et al. Effects of multiple doses of propofol on cognitive function in neonatal rats[J]. Chinese Journal of Anesthesiology, 2008, 289(11): 1007-1009.
- [10] 王 蓉, 唐 玉, 叶翠飞, 等. 大鼠学习记忆功能随增龄变化的实验研究[J]. 中国行为医学科学, 2006, 15(3): 200-201.
- [11] Wang R, Tang Y, Ye C F, et al. Research experiments on the behavior changes of aging rats[J]. Chin J of Behavioral Med Sci, 2006, 15(3): 200-201.
- [12] Anders F, Emma P, Torsten G, et al. Neonatal exposure to a combination of N-Methyl-D-aspartate and [gamma]-aminobutyric acid type A receptor anesthetic agents potentiates apoptotic neurodegeneration and persistent behavioral deficits[J]. Anesthesiology, 2007, 107(3): 427-436.
- [13] Anthony K F, Robert S, David C, et al. To die or not to die for neurons in ischemia, traumatic brain injury and epilepsy: a review on the stress-activated signaling pathways and apoptotic pathways[J]. Prog Neurobio, 2003, 69(7): 103-142.
- [14] Vesna J T, John W O. PRO: Anesthesia-induced developmental neuroapoptosis: status of the evidence[J]. Anesth Analg, 2008, 106(6): 1659-1663.
- [15] Loepke A W, Soriane S G. An assessment of the effects of general anesthetics on developing brains structure and neurocognitive function[J]. Anesth Analg, 2008, 106(6): 1681-1707.
- [16] Scallet A C, Schmued L C, Slikker W Jr, et al. Development neurotoxicity of ketamine: morphometric confirmation, exposure parameters and multiple fluorescent labeling of apoptotic neurons[J]. Toxicol Sci, 2004, 81(2): 364-370.
- [17] Fredriksson A, Ponten E, Gordh T, et al. Neonatal exposure to a combination of N-methyl-d-aspartate and gamma-aminobutyric acid type a receptor anesthetic agents potentiates apoptotic neurodegeneration and persistent behavioral deficits[J]. Anesthesiology, 2007, 107(3): 427-436.
- [18] 余得水, 高 进, 陈 萍. 丙泊酚对胎鼠神经元凋亡和 NMDAR1 蛋白及连接蛋白 43 表达的影响[J]. 中国新药与临床杂志, 2009, 28(10): 766-770.
- [19] Yu D S, Gao J, Chen P. Effects of propofol on neuron apoptosis and expression of NMDAR1 protein and Connexin 43 in fetal rats[J]. Chinese Journal of New Drugs and Clinical Remedies, 2009, 28(10): 766-770.
- [20] Sturman D A, Moghaddam B. The neurobiology of adolescence: changes in brain architecture, functional dynamics and behavioral tendencies[J]. Neurosci Biobehav Rev, 2011, 35(8): 1704-1712.

(责任编辑: 冉明会)