

DOI:10.3724/SP.J.1008.2010.00694

• 短篇论著 •

腹腔注射东莨菪碱诱发大鼠谵妄模型

A rat delirium model induced by intraperitoneal injection of scopolamine

裘毅敏¹, 李士通^{2*}, 江继宏², 汪正平², 周雅春², 杨立群¹, 俞卫锋^{1*}

- 1. 第二军医大学东方肝胆外科医院麻醉科, 上海 200438
- 2. 上海交通大学附属第一人民医院麻醉科, 上海 200080

[摘要] **目的** 探讨腹腔注射东莨菪碱建立大鼠谵妄模型的可行性及有效性。**方法** 将大鼠随机分为生理盐水对照组及东莨菪碱组,采用旷场实验观察腹腔注射药物前及注射后1 h内SD大鼠情绪及行为学变化。**结果** 与对照组及用药前相比,用药后东莨菪碱组大鼠周边跑格数、垂直运动次数均显著提高($P < 0.05$);旷场实验箱中央格停留时间延长,跨格数增加($P < 0.05$),其中以5~10 min的变化最明显;修饰次数及修饰时间减少($P < 0.05$)。**结论** 腹腔注射东莨菪碱可建立稳定的大鼠谵妄模型。

[关键词] 东莨菪碱;谵妄;旷场实验

[中图分类号] R 749 **[文献标志码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2010)06-0694-02

谵妄是临床常见、危害极大的术后并发症^[1]。目前关于其发病原因的研究多以临床多因素观察为主^[2-5]。Beier^[6]研究认为,全麻引起的中枢乙酰胆碱能系统抑制及由此引发的术后认知功能障碍包括了术后谵妄症状。由于伦理学和方法学上的限制,目前谵妄研究缺乏深入的机制分析和合适的研究模型。因此,本研究采用抗胆碱药物东莨菪碱,模拟全麻后乙酰胆碱受抑的中枢递质环境,观察大鼠的行为学变化,尝试建立合适的谵妄动物模型,为后续研究奠定基础。

1 材料和方法

- 1.1 动物来源及分组 健康2个月龄雄性SD大鼠12只,体质量140~160 g,由第二军医大学实验动物中心提供,随机等分为两组($n=6$):东莨菪碱组及生理盐水对照组。
- 1.2 大鼠谵妄模型的制备 参照文献^[7]及预试验结果,在旷场试验中腹腔注射东莨菪碱1.8 mg/kg时大鼠的谵妄行为最为显著,因此设定实验组剂量为东莨菪碱(1.8 mg/kg)腹腔注射,对照组为1 ml生理盐水腹腔注射。
- 1.3 大鼠行为学观察 旷场试验:根据文献^[8]采用自制旷场实验观察箱(100 cm×100 cm×50 cm),箱壁及箱底均为银灰色,箱底用墨线分为25个20 cm×20 cm的方格。大鼠称质量后轻轻放入旷场实验箱中熟悉环境,10 min后将其放入旷场实验箱正中格并开始摄像计时,记录5 min内大鼠的活动情况。记录周边跑格数(四爪均进入的方格方可记数,沿墙格为外周格,其余为中央格),直立探究行为次数(两前爪腾空或攀附箱壁),记录中央格停留时间、中央跑格数、修饰次数(理毛、洗脸、舔足次数)、修饰时间等。并摄像记录大鼠腹腔注射东莨菪碱后1 h内每5 min的活动情况。每只大鼠试验完毕被取出后,清洗旷场周壁及底面,以免上次动物余留的信息影响下次测试结果。

1.4 统计学处理 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用Excel统计软件进行单侧配对 t 检验,检验水平(α)为0.05。

2 结果

- 2.1 各组大鼠旷场试验水平、垂直运动次数 结果(表1)表明:与对照组相比,注药后各时段(T1~T4)东莨菪碱组的大鼠周边跑格数、垂直运动次数均明显增高($P < 0.05$),其中以T2时段升高最显著($P < 0.01$)。
- 2.2 各组大鼠中央格穿格数、中央格停留时间 结果(表1)表明:与对照组相比,东莨菪碱组注药后大鼠中央格停留时间延长,中央格跑格数增加,在T2、T5、T7时段差异有统计学意义($P < 0.05$)。
- 2.3 各组大鼠修饰次数、修饰时间 结果(表1)表明:与对照组及注药前相比,东莨菪碱组在T1~T4、T6、T7时段的修饰次数或修饰时间有所减少($P < 0.05$)。30~55 min期间的5个时间段的各组行为学表现的数据介于T6与T7之间,变化不大,故未一一罗列。

3 讨论

本实验采用的旷场试验是经典反映大鼠在新环境中的情绪、探究行为、测试动物的学习认知能力及精神兴奋状态^[8]的方法。中央格停留时间是反映大鼠对空间认知能力的反映^[9],正常大鼠会避开空旷环境,迅速离开中央格,沿周边活动。如果对新环境的认知能力差,则大鼠停留在中央格的时间延长。周边跑格数和垂直运动数反映动物的兴奋性,直立探究行为反映大鼠的探索行为,该行为过程延长,反映出大鼠对空间学习、记忆能力的下降。而修饰则反映大鼠对新环境的满意程度,该活动减少,反映大鼠焦虑情绪的增长。

[收稿日期] 2010-03-10 **[接受日期]** 2010-05-21

[作者简介] 裘毅敏,硕士,主任医师, E-mail: qiuyimin@163.com

* 通讯作者 (Corresponding authors). Tel: 021-81875231, E-mail: ywf808@sohu.com; Tel: 021-63240090-3022, E-mail: lishitongs@hotmail.com

表1 大鼠旷场试验行为学检测结果

(n=6, $\bar{x} \pm s$)

指标	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
周边跑格数								
生理盐水对照组	3.7±1.6	3.0±0	3.0±0	4.2±2.4	3.0±0	3.8±1.6	4.8±3.6	3.0±0
东莨菪碱组	5.2±3.0	46.8±34.9* [△]	83.2±46.6* [△]	72.8±40.4* [△]	32.2±34.0*	19.5±18.4	31.0±30.2	10.2±6.3*
垂直运动数								
生理盐水对照组	2.2±1.2	1.0±1.5	0.8±0.8	0.7±1.2	0	0.7±1.2	1.0±1.1	0
东莨菪碱组	3.8±2.4	7.0±5.7*	16.7±12.8**	13.3±5.6*	4.7±3.5*	2.7±3.1	3.0±2.0	3.2±4.4
中央格跑格数								
生理盐水对照组	2.2±0.4	2.3±0.8	2.0±0	2.0±0	2.0±0	2.7±0.8	2.2±0.4	2.0±0
东莨菪碱组	3.0±2.6	11.2±12.5	12.8±13.0*	9.0±10.8	6.2±5.0	4.8±2.5*	6.3±7.4	3.8±2.2*
中央格停留时间								
生理盐水对照组	2.7±1.5	1.8±0.8	1.0±0	1.0±0	1.3±0.8	1.8±0.8	2.7±1.9	1.0±0
东莨菪碱组	3.0±2.1	16.5±17.1	17.5±19.5*	13.8±18.4	27.8±40.1	7.5±6.5*	15.8±21.1	6.2±6.1*
修饰次数								
生理盐水对照组	4.3±1.9	4.0±1.3	3.8±2.3	3.8±1.5	2.2±1.3	2.7±1.5	2.8±2.3	3.2±1.9
东莨菪碱组	4.7±2.3	1.2±1.2* [△]	1.8±3.1	1.7±1.2* [△]	2.0±1.9	2.7±2.0	1.2±1.2 [△]	0.8±1.2* [△]
修饰时间								
生理盐水对照组	51.0±60.8	37.2±45.6	12.7±14.3	6.0±10.1	4.0±8.0	19.8±16.9	8.7±17.2	10.3±20.8
东莨菪碱组	63.2±42.3	11.3±11.8 [△]	8.2±10.5 [△]	26.2±28.6* [△]	14.7±18.8 [△]	24.7±15.4	10.0±15.2* [△]	8.0±14.4 [△]

T0: 注射前, T1~T7: 注射后; T1: 0~5 min, T2: 5~10 min, T3: 10~15 min, T4: 15~20 min, T5: 20~25 min, T6: 25~30 min, T7: 55~60 min. *P<0.05 与生理盐水对照组相比, [△]P<0.05 与 T0 时间点相比

本模型的大鼠行为学观察结果显示:(1)大鼠用药前进入旷场的最初 5 min 表现为对旷场进行探索,沿周边水平及垂直活动较多,经 5~10 min 熟悉环境后,水平及垂直活动消失,在旷场的一角落内休息,可观察到修饰活动;此时将其拉至中央格,大鼠迅速回到角落内休息。(2)腹腔注射东莨菪碱后的 1 h 内可观察到:①大鼠兴奋性显著增加,表现为水平活动显著增加;其垂直活动的增加,反映出其对新环境的探究时间延长,即对空间学习记忆能力的下降。②大鼠空间认知能力下降,表现为在中央格停留时间显著延长及中央格穿格数增加。③大鼠修饰行为减少或消失,反映出大鼠的焦虑情绪增加,对环境的满意度下降。(3)腹腔注射东莨菪碱后,在 5~10 min 时间段谵妄程度最大,表现为周边格跑格数最多,直立探究行为最多,中央格跑格数最多,梳理毛发时间及次数最少。

多数全麻药能引起中枢乙酰胆碱代谢的变化,使用抗胆碱药造成的大鼠谵妄模型,可观察到大鼠与人相似的谵妄表现及相似的脑电图(EEG)、眼动图(EOG)与肌电图(EMG)改变^[7]。为避免阿托品所致的心动过速,本研究选择东莨菪碱致大鼠谵妄的方案。以往采用的水迷宫等侧重于学习记忆能力测试的实验方法,其推荐的东莨菪碱剂量在旷场实验中未能引出谵妄表现。因此,本研究根据大鼠在旷场中的表现,将文献^[7]中的剂量 0.3 mg/kg 调整至 1.8 mg/kg,获得了稳定的大鼠谵妄模型。东莨菪碱作为抗胆碱能药物既能直接引起中枢乙酰胆碱量的变化,较好地模拟全麻后 Ach 受抑的中枢递质环境,又能在旷场实验中诱发出术后谵妄的核心症状,既有认知功能的下降,又有精神状态的兴奋。因此该模型是比较稳定的麻醉后谵妄动物模型,为我们进一步开展麻醉药与谵妄相关机制的研究奠定了基础。

[参考文献]

- [1] Bryson G L, Wyand A. Evidence-based clinical update: general anesthesia and the risk of delirium and postoperative cognitive dysfunction[J]. Can J Anaesth, 2006, 53: 669-677.
- [2] Hudetz J A, Patterson K M, Byrne A J, Pagel P S, Wartier D C. Postoperative delirium is associated with postoperative cognitive dysfunction at one week after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass[J]. Psychol Rep, 2009, 105(3 Pt 1): 921-932.
- [3] Marcantonio E R, Rudolph J L, Culley D, Crosby G, Alsop D, Inouye S K. Serum biomarkers for delirium[J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2006, 61: 1281-1286.
- [4] Rudolph J L, Jones R N, Grande L J, Milberg W P, King E G, Lipsitz L A, et al. Impaired executive function is associated with delirium after coronary artery bypass graft surgery[J]. J Am Geriatr Soc, 2006, 54: 937-941.
- [5] Hamrahian A H, Oseni T S, Arafah B M. Measurements of serum free cortisol in critically ill patients[J]. N Engl J Med, 2004, 350: 1629-1638.
- [6] Beier M T. Cholinesterase inhibitors and anticholinergic drugs: is the pharmacologic antagonism myth or reality[J]? J Am Med Dir Assoc, 2005, 6: 413-414.
- [7] Nakamura K, Kurasawa M, Tanaka Y. Scopolamine model of delirium in rats and reversal of the performance impairment by aniracetam[J]. Drug Development Research, 1998, 43: 85-97.
- [8] Katz R J, Roth K A, Carroll B J. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression[J]. Neurosci Biobehav Rev, 1981, 5: 247-251.
- [9] 郭德玉, 陈铁玉, 李斌, 张丽, 李雅莉, 李林. 不同年龄大鼠学习记忆能力及旷场行为比较[J]. 中国实验动物学报, 1998, 6: 19-23.