

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2023.05.005
文章编号: 1005-8982 (2023) 05-0029-08

实验研究·论著

金钗石斛对衰老模型大鼠术后认知功能的影响及机制研究*

蒋瑞¹, 赵楠², 张乃心¹, 周骏洁¹, 朱昭琼¹

(1. 遵义医科大学附属医院 麻醉科, 贵州 遵义 563000; 2. 遵义医科大学附属口腔医院 麻醉科, 贵州 遵义 563000)

摘要: **目的** 探讨金钗石斛 (DNL) 对衰老模型大鼠术后认知功能的影响及机制。**方法** 选择4月龄SD雄性大鼠60只, 连续42 d颈背部皮下注射10% D-半乳糖0.125 g/(kg·d)复制衰老模型大鼠, 随机分为对照组、POCD+DNL组及POCD组, 每组20只。对照组不作处理, POCD+DNL组及POCD组在七氟烷麻醉下行单侧肾切除术。大鼠于麻醉苏醒2 h后灌胃, POCD+DNL组以10 g/(kg·d) DNL水煎剂进行连续灌胃, POCD组与对照组给予相同体积生理盐水灌胃。依据术后不同灌胃时间每组再分为7 d、14 d两个亚组, 每亚组10只。采用Morris水迷宫观察各组大鼠行为学表现; 采用HE染色观察大鼠海马神经元细胞形态变化; 采用ELISA法检测大鼠血清IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平; 采用Western blotting检测大鼠海马NF- κ B、I κ B α 蛋白表达。**结果** 与对照组及POCD+DNL组比较, POCD组大鼠的逃避潜伏期延长($P < 0.05$); 大鼠海马HE染色结果显示, 与对照组及POCD+DNL组比较, POCD组海马神经元细胞排列松散, 细胞形态不规则, 细胞核固缩, 染色较深; 与对照组及POCD+DNL组比较, POCD组血清IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平升高($P < 0.05$); 与对照组及POCD+DNL组同时时间点比较, POCD组海马NF- κ B蛋白相对表达量升高($P < 0.05$); 与对照组及POCD+DNL组同时时间点比较, POCD组海马I κ B α 蛋白相对表达量降低($P < 0.05$)。**结论** DNL连续灌胃可改善衰老模型大鼠术后认知功能障碍、减轻神经细胞的损伤程度, 降低炎症因子水平, 这可能是通过抗炎作用及抑制NF- κ B信号通路来减轻神经炎症、改善术后认知功能障碍。

关键词: 术后认知功能障碍; 衰老; 金钗石斛; 大鼠; 神经炎症

中图分类号: R749; R285.5

文献标识码: A

Study on the effect of Dendrobium nobile lindl on postoperative cognitive function and mechanism of aging model rats*

Jiang Rui¹, Zhao Nan², Zhang Nai-xin¹, Zhou Jun-jie¹, Zhu Zhao-qiong¹

(1. Department of Anesthesia, The Affiliate Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou 563000, China; 2. Department of Anesthesia, Hospital of Stomatology, Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou 563000, China)

Abstract: **Objective** To explore the effect and mechanism of Dendrobium nobile lindl on postoperative cognitive function in aging model rats. **Methods** Sixty 4-month-old male SD rats were selected and subcutaneously injected with 10% D-galactose 0.125 g/(kg·d) on the back of the neck for 42 consecutive days (d) to establish an

收稿日期: 2022-08-16

* 基金项目: 国家自然科学基金(No: 81960214, No: 82160223); 省部共建协同创新中心项目(No: 教科厅函[2020]39号); 贵州省中医药管理局中医药、民族医药科学技术研究课题(No: QZYY-2021-104, No: QZYY-2021-111); 遵义市科技计划项目(No: 遵市科合 HZ 字(2022)391号)

[通信作者] 朱昭琼, E-mail: zhuzhaoqiong@zmu.edu.cn

aging rat model. Then they were randomly divided into control group, treatment group, and model group, with 20 rats in each group. The control group was not treated with modeling, and the model group and the treatment group underwent unilateral nephrectomy under sevoflurane anesthesia. Then, the rats were given intragastric administration 2 hours (h) after awakening from anesthesia. The treatment group was given the decoction [10 g/ (kg·d)] of *Dendrobium nobile* lindl for continuous intragastric administration. The model group and the control group were given the same volume of normal saline for intragastric administration. According to the different time of gastric perfusion after operation, the rats were divided into two subgroups: 7 d and 14 d groups, with 10 rats in each subgroup. Morris water maze was used to observe the behavioral performance of the rats in each group. HE staining was used to observe the morphological changes of rats' hippocampal neurons. ELISA was used to detect the levels of inflammatory factors in rat serum. Western blot was used to detect the expression of NF- κ B and I κ B α protein in rat hippocampus. **Results** Compared with the control group and the treatment group, the escape latency of the rats from the model group was significantly prolonged ($P < 0.05$). According to the results of HE staining, compared with the control group and the treatment group, the hippocampal neurons in the model group were loosely arranged and the cell morphology was irregular. Nucleus was pyknosis with drak staining was detected. Compared with the control group and the treatment group, the serum inflammatory factor levels in the model group were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the control group and the treatment group at the same time point, the hippocampal NF- κ B protein expression of the model group was significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the control group and the treatment group at the same time point, the hippocampal I κ B α protein expression of the model group was significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Continuous intragastric administration of *Dendrobium nobile* lindl can significantly improve postoperative cognitive function damage and reduce nerve cellular injury and inflammatory factor levels in aging rats. It may play an important role in reducing neuroinflammation and improving postoperative cognitive disorders (POCD) through anti-inflammation and inhibition of NF- κ B signaling pathway.

Keywords: postoperative cognitive complications; aging; *dendrobium nobile* lindl; rats; neuroinflammation

术后认知功能障碍 (postoperative cognitive dysfunction, POCD) 是指在手术及麻醉后患者出现的一种神经精神障碍, 对患者的学习记忆能力、认知功能及运动能力有不同程度的影响, 尤其在老年患者中更为常见^[1-2]。目前对于 POCD 的确切发病机制仍不完全清楚, 大多数学者认为 POCD 的发生可能是炎症、氧化应激、自噬障碍、突触功能受损等多因素综合作用的结果。近来研究显示, 在围手术期认知障碍的患者和动物模型中都发现了促炎信号分子^[3-4]。因此, 炎症反应机制在 POCD 中的作用引起广泛的关注。围手术期伤害性刺激会导致全身炎症反应, 尤其是神经系统的炎症反应, 促炎细胞因子及肿瘤坏死因子表达升高可引起 Tau 蛋白过度磷酸化, 促使 β 淀粉样蛋白聚集, 胶质细胞过度激活, 神经毒性物质释放, 进而改变神经递质的正常传递及突触可塑性, 最终导致 POCD^[5]。值得注意的是, 神经炎症和 POCD 的发生与年龄相关^[6-7]。

以滋补为特点的中药在防治各种因衰老引起

的神经退行性疾病方面越来越受到重视。现代药理学发现金钗石斛 (*dendrobium nobile* lindl, DNL) 的化学成分具有保护神经系统、抗炎、提高记忆、抗衰老等多种药理活性, 在治疗神经系统功能障碍方面具有巨大潜力^[8-10]。但目前针对 DNL 的研究主要集中在单一提取物或活性成分方面, 而作为便利的、公认的、习惯饮用的单味中药是否对 POCD 具有改善作用的研究却鲜有尝试。D-半乳糖所致的衰老动物模型的理化特征可与自然衰老的大鼠一致, 且该模型复制方法操作简单、效果稳定^[11-12]。因此, 本研究选用七氟烷麻醉衰老大鼠行单侧肾切除术复制 POCD 模型, 探讨 DNL 可能与神经系统炎症反应相关的机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

60 只 4 月龄雄性 SD 大鼠, 体重 (450 ± 20) g, SPF 级, 购于长沙市天勤生物技术有限责任公司 [实验动物生产许可证号: SCXK(湘)2019-0014]。饲养

养房内温度维持于22~26℃,湿度维持于45%~55%,通风良好、环境清洁,昼夜各12h光线变换,并可自由获得食物和水。本实验经遵义医科大学附属医院动物伦理委员会批准(编号:KLL-2021-051)。

1.2 主要试剂及仪器

DNL(赤水信天斛满堂药业有限公司,生产许可证号:黔20170150,生产批号:190802),D-半乳糖(北京索莱宝科技有限公司,批号:301K057),七氟烷(鲁南贝特制药有限公司,批号:65210304),肿瘤坏死因子- α (TNF- α)ELISA检测试剂盒(上海江莱生物科技有限公司,批号:JL13202),白细胞介素-1 β (IL-1 β)ELISA检测试剂盒(上海江莱生物科技有限公司,批号:JL20884),白细胞介素-6(IL-6)ELISA检测试剂盒(上海江莱生物科技有限公司,批号:JL20896),核因子 κ B(NF- κ B)抗体(美国Abcam有限公司,批号:ab16502),NF- κ B抑制蛋白I κ B α 抗体(杭州华安生物技术有限公司,批号:ET1611-15),BCA蛋白定量试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,批号:20210608)。MT-200型Morris水迷宫(中国成都泰盟科技有限公司),-80℃超低温冰箱(中国海尔公司),Drager麻醉机(中国德尔格医疗设备有限公司),电子分析天平、低温高速离心机(美国Thermo公司),超纯水净化器、全波长酶标仪、ChemiDoc™ touchimaging system、电泳仪(美国BioRad公司)。

1.3 方法

1.3.1 衰老模型复制 参考文献及沿用本课题组前期研究成果^[13-14],采用10% D-半乳糖以0.125 g/(kg·d)注射于大鼠颈背部皮下,连续注射42 d,注射完成后可成功复制20月龄自然衰老模型。

1.3.2 实验动物分组 将60只衰老模型大鼠以随机数字表法分为空白对照组(对照组)、DNL水煎剂治疗组(POCD+DNL组)及POCD模型组(POCD组),每组20只。对照组不复制POCD模型,POCD组与POCD+DNL组在七氟烷麻醉下行单侧肾切除术进行POCD模型复制。

1.3.3 POCD模型复制 参考文献[15],POCD组与POCD+DNL组大鼠术前禁食12 h,禁饮2 h,在自制麻醉诱导箱内用七氟烷诱导10 min,待翻正反

射消失后视为麻醉生效,仰卧位固定于带有电子发热垫的手术台,腹部剃毛备皮,手术切口常规3遍碘伏消毒,铺无菌洞巾,于左上腹部行纵行切口2 cm,逐层进入腹腔游离左肾,于肾蒂远端分别结扎肾动、静脉,结扎输尿管,完整摘除左肾,止血,检查无渗血及其他脏器损伤后,用0号丝线按腹膜、肌肉、皮肤逐层缝合。所有手术操作均严格按照无菌要求进行,手术全程采用大鼠专用麻醉面罩维持麻醉,监护仪监护大鼠生命体征,维持大鼠血氧饱和度99%~100%,体温(36.0±0.2)℃。为了确保实验条件的一致性,所有手术均由同一术者完成。术中及术后全程保暖,维持手术室温(24±1)℃,大鼠翻正反射恢复、可自行行走后判断为麻醉恢复,将大鼠按分组回笼饲养,备下一步实验。

1.3.4 DNL水煎剂制备 称取DNL超微粉300 g,每100 g单独盛放,分别加4 500、3 600、3 000 mL超纯水,100℃煮1 h,过滤,抽取3次滤液,合并,浓缩成150 mL药液(相当于生药2 g/mL),整个煎煮过程耗时4 h,煎煮完成后4℃冰箱保存备用,临用时加热至常温^[16-17]。

1.3.5 3组模型大鼠的给药方法 POCD组与POCD+DNL组大鼠于麻醉苏醒2 h后灌胃,POCD+DNL组按10 g/(kg·d)DNL水煎剂连续灌胃,POCD组与对照组给予相同体积生理盐水连续灌胃。每组取10只,分别灌胃7 d和14 d。

1.3.6 Morris水迷宫实验 Morris水迷宫由圆形水池(直径120 cm、高60 cm)、可移动平台(直径20 cm、高30 cm)及图像采集记录系统三部分组成。将水迷宫平均划分为4个象限,依次逆时针命名为一、二、三、四象限。将可移动平台放置于第三象限中央处,水池中注水深度至超过移动平台(2.0±0.1)cm,加入奶粉600 g混匀,以肉眼无法直视平台为准。

①定位航行实验:于复制POCD模型前进行,每天训练4次,连续测试5 d;依次从4个象限的盆壁中点处将大鼠背向水池放入水中,记录大鼠从入水到登上平台时间,即逃避潜伏期,限时120 s;若大鼠在120 s计时结束时未登上平台,则将其引导至平台上休息20 s。②工作记忆实验:于灌胃后第7、14天进行,随机放置平台位置,观察大鼠找到新平台位置的时间,记录为逃避潜伏期时间。

1.3.7 ELISA法检测血清IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的水平 于灌胃后第7、14天 Morris 水迷宫实验结束后,以1%戊巴比妥钠30 mg/kg经腹腔注射,待大鼠夹尾反射消失表明麻醉生效。腹主动脉取血,装入抗凝真空采血管内,3 000 r/min离心15 min,取上清液,置于-80℃冰箱冷冻保存备用;ELISA法检测血清IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平,严格按照ELISA试剂盒说明书操作。

1.3.8 HE染色观察海马细胞形态 大鼠断头取脑,分离右侧脑组织放入4%多聚甲醛中固定24 h,随后送至遵义医科大学附属医院病理科进行脱水、包埋、切片。采用二甲苯脱蜡,梯度乙醇脱水,苏木精染色液染色,盐酸乙醇分化液分化,自来水冲洗返蓝,伊红染色液染色,乙醇水合,二甲苯透明、封片、观察。

1.3.9 Western blotting检测海马中NF- κ B、I κ B α 蛋白相对表达量 大鼠断头取脑,取左侧海马组织,在RIPA裂解缓冲液和蛋白酶抑制剂混合物中匀浆,4℃、13 000 r/min离心15 min,取上清液,进行蛋白定量,制备上样蛋白,电泳、转膜、脱脂牛奶封闭;随后将膜与相应I抗在4℃摇床上孵育过夜。次日TBST缓冲液洗涤3次后,ECL发光液曝光,采用Image J分析软件进行定量。以Lamin B及GAPDH为内参蛋白计算NF- κ B、I κ B α 蛋白相对表达量。

1.4 统计学方法

数据分析采用SPSS 19.0统计软件,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较采用方差分析或重复测量的方差分析,组间两两比较用LSD- t 检验或Dunnett's T3检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DNL对衰老模型大鼠术后学习记忆功能的影响

Morris 水迷宫定位航行实验中,随着训练天数延长,各组大鼠逃避潜伏期呈逐渐缩短且趋于稳定趋势,提示术前各组大鼠处于同一学习基线水平上。见图1。

工作记忆实验中,灌胃后第7天,对照组、POCD+DNL组及POCD组的逃避潜伏期分别为(13.93 ± 7.68)、(15.44 ± 6.91)及(27.15 ± 8.76)s,3组比较,差异有统计学意义($F = 5.130, P = 0.020$),

POCD组大鼠逃避潜伏期延长;灌胃后第14天,对照组、POCD+DNL组及POCD组的逃避潜伏期分别为(13.58 ± 8.09)、(13.46 ± 9.36)及(24.98 ± 7.74)s,3组比较,差异有统计学意义($F = 3.701, P = 0.049$),POCD组大鼠逃避潜伏期延长。见图2。

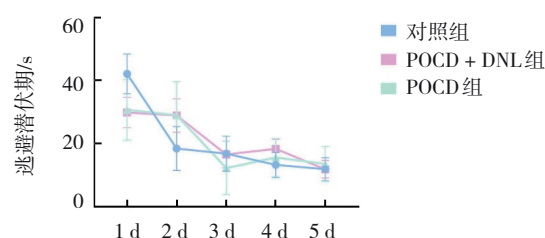
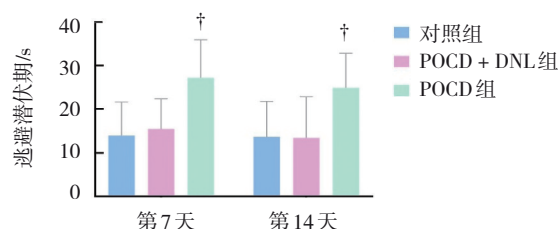


图1 大鼠定位航行实验中逃避潜伏期的变化趋势



†: 与对照组及POCD+DNL组同时时间点比较, $P < 0.05$ 。

图2 3组衰老模型大鼠灌胃后的逃避潜伏期比较

2.2 DNL对衰老模型大鼠术后海马神经元细胞形态的影响

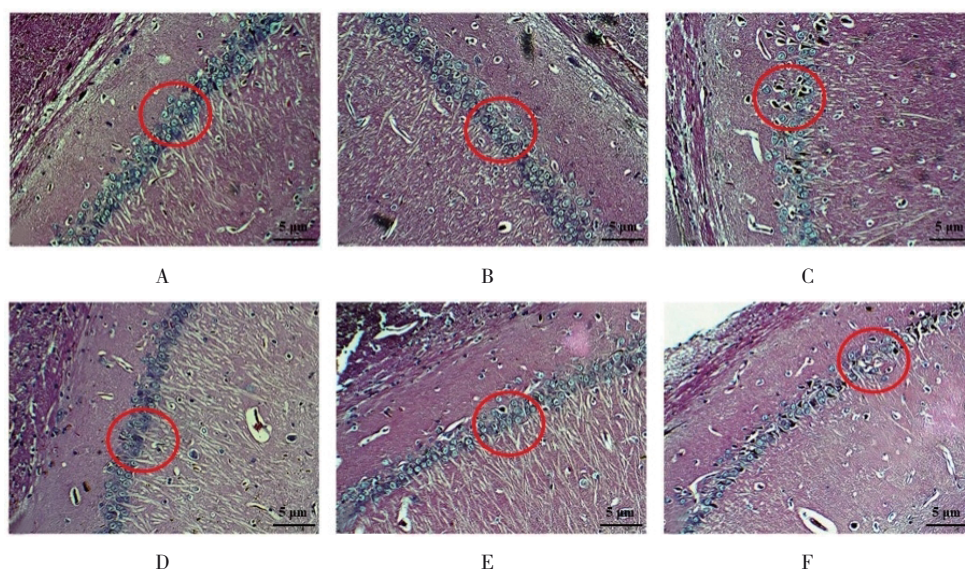
对照组大鼠海马CA1区神经元细胞排列紧密、整齐,细胞形态规则,细胞核清晰可见,胞质清楚(见图3A、D)。POCD+DNL组大鼠海马CA1区神经元部分细胞排列紊乱,少量细胞核固缩,染色较POCD组均匀(见图3B、E)。POCD组大鼠海马CA1区神经元细胞排列松散,细胞形态不规则,细胞核固缩,染色较深(见图3C、F)。

2.3 DNL对衰老模型大鼠血清IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的影响

灌胃后第7天和第14天,对照组、POCD+DNL组及POCD组的IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),POCD组较对照组及POCD+DNL组均升高。见表1和图4。

2.4 DNL对衰老模型大鼠术后海马NF- κ B、I κ B α 蛋白表达的影响

灌胃后第7天,对照组、POCD+DNL组及POCD组海马NF- κ B、I κ B α 蛋白相对表达量比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),POCD组海马NF- κ B



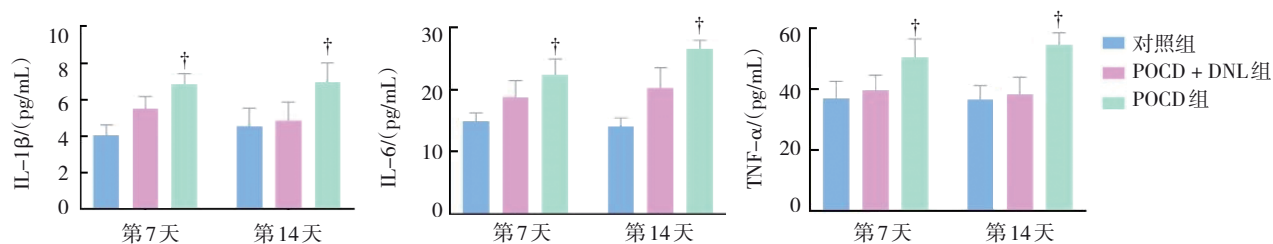
A: 对照组第 7 天海马 CA1 区神经元细胞; B: POCD+DNL 组第 7 天海马 CA1 区神经元细胞; C: POCD 组第 7 天海马 CA1 区神经元细胞; D: 对照组第 14 天海马 CA1 区神经元细胞; E: POCD+DNL 组第 14 天海马 CA1 区神经元细胞; F: POCD 组第 14 天海马 CA1 区神经元细胞。红色圆圈为各组大鼠海马 CA1 区神经元细胞。

图 3 3 组衰老模型大鼠灌胃后第 7 天、第 14 天海马 CA1 区神经元细胞形态 (HE × 200)

表 1 3 组衰老模型大鼠灌胃后第 7 天、第 14 天血清 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平比较 ($n=10$, pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	第 7 天			第 14 天		
	IL-1 β	IL-6	TNF- α	IL-1 β	IL-6	TNF- α
对照组	4.04 $\pm$ 0.56	14.98 $\pm$ 1.33	36.99 $\pm$ 5.56	4.52 $\pm$ 1.00	14.29 $\pm$ 1.17	36.50 $\pm$ 4.56
POCD + DNL 组	5.52 $\pm$ 0.63 [†]	18.79 $\pm$ 2.61 [†]	39.58 $\pm$ 4.97 [†]	4.82 $\pm$ 1.04 [†]	20.23 $\pm$ 3.29 [†]	38.32 $\pm$ 5.54 [†]
POCD 组	6.85 $\pm$ 0.56	22.35 $\pm$ 2.61	50.50 $\pm$ 6.04	6.94 $\pm$ 1.06	26.66 $\pm$ 1.26	54.54 $\pm$ 3.90
F 值	34.834	21.052	13.651	12.986	49.933	26.602
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注: [†]与 POCD 组比较, $P < 0.05$ 。



[†]: 与对照组及 POCD+DNL 组同时时间点比较, $P < 0.05$ 。

图 4 3 组衰老模型大鼠灌胃后第 7 天、第 14 天血清 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平比较

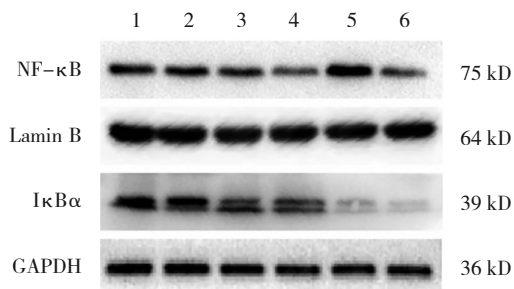
蛋白相对表达量较对照组及 POCD+DNL 组升高, I κ B α 蛋白相对表达量较对照组及 POCD+DNL 组降低; 灌胃后第 14 天, 对照组、POCD+DNL 组及 POCD 组的海马 NF- κ B、I κ B α 蛋白相对表达量比

较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), POCD 组海马 NF- κ B 蛋白相对表达量较对照组及 POCD+DNL 组升高, I κ B α 蛋白相对表达量较对照组及 POCD+DNL 组降低。见表 2 和图 5、6。

表2 3组衰老模型大鼠灌胃后第7天、第14天海马
NF- κ B、I κ B α 蛋白相对表达量比较 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	第7天		第14天	
	NF- κ B	I κ B α	NF- κ B	I κ B α
对照组	0.60 $\pm$ 0.08	1.20 $\pm$ 0.29	0.60 $\pm$ 0.09	1.23 $\pm$ 0.48
POCD+DNL组	0.61 $\pm$ 0.15 [†]	1.22 $\pm$ 0.31 [†]	0.62 $\pm$ 0.16 [†]	1.21 $\pm$ 0.32 [†]
POCD组	1.18 $\pm$ 0.21	0.49 $\pm$ 0.12	0.96 $\pm$ 0.14	0.45 $\pm$ 0.24
F值	28.434	15.388	14.162	9.085
P值	0.000	0.000	0.000	0.003

注: [†]与POCD组比较, $P<0.05$ 。



1: 对照组第7天; 2: 对照组第14天; 3: POCD+DNL组第7天;
4: POCD+DNL组第14天; 5: POCD组第7天; 6: POCD组第14天。

图5 3组衰老模型大鼠灌胃后第7天、第14天海马
NF- κ B、I κ B α 蛋白的表达

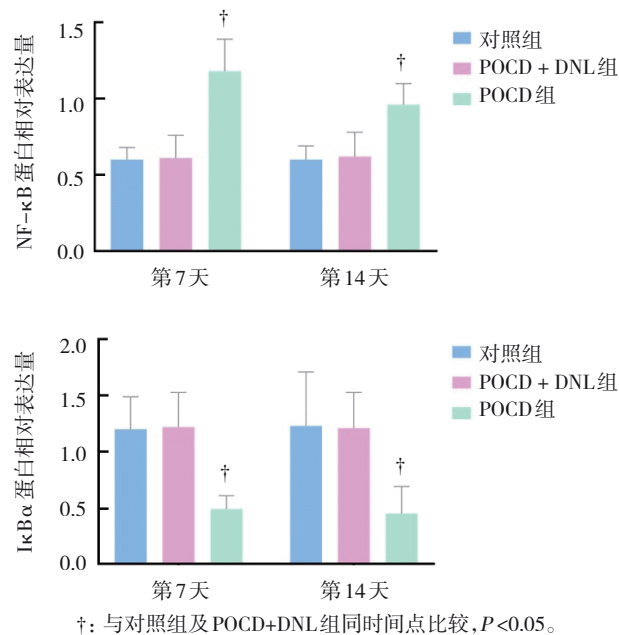


图6 3组衰老模型大鼠灌胃后第7天、第14天海马
NF- κ B、I κ B α 蛋白相对表达量比较

3 讨论

POCD作为术后常见的中枢神经系统并发症,在老年患者术后1周发生率高达25.5%^[2]。POCD不仅延长患者住院时间、降低术后生活质量,术后并发症和死亡率也随之增加,给家庭照护及社会公共资源带来沉重负担^[18]。目前临床上针对POCD的治疗手段有限,因此,探寻POCD的发病机制、降低其发生率及寻找一种有效的方法进行预防和治疗已成为目前临床麻醉工作中所面临的重要挑战。近来研究表明, DNL能够通过降低A β 含量、抑制Tau蛋白磷酸化等起到神经系统保护、抗炎、提高记忆、抗衰老等作用^[19-20]。

Morris水迷宫实验检测啮齿动物学习记忆能力、空间定位导航能力被认为是行为学研究的经典实验,被广泛应用在学习记忆、海马研究、老年痴呆等多个领域^[21]。术前进行定位航行实验可反映大鼠获取空间定位信息的能力,评测大鼠术前学习记忆能力;术后进行工作记忆实验则反映大鼠术后的新学习能力和瞬时记忆能力^[22]。本研究结果显示, POCD组在灌胃后第7天及第14天 Morris水迷宫工作记忆实验中逃避潜伏期明显延长, POCD + DNL组在 Morris水迷宫工作记忆实验中逃避潜伏期明显缩短。POCD组在灌胃后第14天较灌胃后第7天的逃避潜伏期缩短,但与对照组比较,逃避潜伏期延长,提示经过手术及麻醉后第14天衰老模型大鼠仍存在学习记忆能力的损害。此前也曾有报道通过麻醉复合手术复制的POCD动物模型术后认知功能改变最长可到术后30 d^[23]。而中药药效发挥是一个缓慢起效的过程,达到所需药效需要一定作用时间^[24]。基于以上结果,本研究推测利用麻醉复合手术复制的POCD动物模型,或许可为今后利用中药研究POCD提供良好、稳定的POCD动物模型。

大脑海马组织位于丘脑和内侧颞叶之间,参与构成大脑边缘系统,主要负责机体定向记忆、记忆存储和认知功能^[25],如损害海马内神经元,则会影响机体学习记忆进程并最终导致认知功能的损伤^[26]。研究证实POCD引起的脑损伤会激活星形胶质细胞,而被激活的星形胶质细胞能释放大量炎症因子进而导致神经细胞的损伤^[27]。对于脑损伤后神经细胞损害程度的甄别,形态学改变被认为

是当前最佳诊断依据^[28]。为了证实DNL能够减轻POCD所致神经细胞的损伤程度,在行为学实验结束后使用光学显微镜对各组大鼠脑组织的海马神经元细胞进行观察。结果显示,不论在术后第7天还是第14天,对照组大鼠海马CA1区神经元细胞排列紧密、整齐,细胞形态规则,细胞核清晰可见,胞质清楚;POCD+DNL组部分细胞排列紊乱,少量细胞核固缩,染色较均匀。POCD组海马神经元细胞排列松散,细胞形态不规则,细胞核固缩,染色较深。以上研究结果表明,手术及麻醉可造成衰老模型大鼠海马神经元细胞的破坏,经DNL连续灌胃可减少衰老大鼠海马区神经元细胞的损伤。

目前研究证实POCD的发生发展主要与神经炎症、氧化应激、 β -淀粉样蛋白和磷酸化Tau蛋白等因素密切相关,其中神经炎症的机制研究逐渐受到重视^[29]。来自动物实验的大量数据表明,外界刺激因素(如:外伤、手术等)可诱发外周炎症反应,产生大量炎症因子;炎症因子跨过血脑屏障进入中枢神经系统,引起中枢炎症反应,释放IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等细胞因子,从而引起Tau蛋白过度磷酸化,促使 β 淀粉样蛋白聚集、胶质细胞过度激活及神经毒性物质释放,使神经元和神经突触受到损害,最终导致POCD的发生^[30-31]。本研究结果显示,POCD组IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平较POCD+DNL组和对照组升高,提示经历手术和麻醉刺激会引起衰老模型大鼠体内神经系统的炎症反应,但经DNL水煎剂治疗后,衰老模型大鼠术后血清炎症因子水平降低,说明DNL能有效降低炎症因子水平,发挥改善神经炎症的作用。

NF- κ B信号通路是机体炎症反应网络系统中参与调控多种细胞因子及炎症介质释放和活性的重要分子通路,在炎症反应的调控中起核心作用^[32]。其中,NF- κ B、I κ B α 是NF- κ B信号通路中的重要蛋白^[33-34]。本研究结果也表明,术后第7天及第14天,POCD组NF- κ B蛋白表达较POCD+DNL组和对照组上调,I κ B α 蛋白表达下降,提示麻醉复合手术激活衰老模型大鼠海马NF- κ B信号通路,而经DNL水煎剂连续灌胃后,衰老模型大鼠海马NF- κ B蛋白表达下降,I κ B α 蛋白表达上调,提示DNL水煎剂可通过抑制NF- κ B信号通路,抑制炎

症反应,改善POCD。

综上所述,DNL水煎剂连续灌胃可明显减少衰老模型大鼠术后认知功能的损害、减轻神经细胞的损伤程度,降低炎症因子的水平。DNL水煎剂可能通过抗炎作用及抑制NF- κ B信号通路,发挥减轻神经炎症、改善POCD的功效。

参考文献:

- [1] CHEN S F, ZHANG Y Z, DAI W B, et al. Publication trends and hot spots in postoperative cognitive dysfunction research: a 20-year bibliometric analysis[J]. J Clin Anesth, 2020, 67: 110012.
- [2] 王燕, 刘晓华, 李海英. 全麻联合硬膜外麻醉及硬膜外自控镇痛降低老年患者术后认知功能障碍的发生率[J]. 中南大学学报(医学版), 2016, 41(8): 846-851.
- [3] XIE X L, SHEN Z W, HU C W, et al. Dexmedetomidine ameliorates postoperative cognitive dysfunction in aged mice[J]. Neurochem Res, 2021, 46(9): 2415-2426.
- [4] GONG M X, WANG G M, LI G D, et al. Dysfunction of inflammation-resolving pathways is associated with postoperative cognitive decline in elderly mice[J]. Behav Brain Res, 2020, 386: 112538.
- [5] ZHANG Y, LIN Y, LIU Q, et al. The effect of dexmedetomidine on cognitive function and protein expression of a β , p-Tau, and PSD95 after extracorporeal circulation operation in aged rats[J]. Biomed Res Int, 2018, 2018: 4014021.
- [6] WANG Z, MENG S Y, CAO L, et al. Critical role of NLRP3-caspase-1 pathway in age-dependent isoflurane-induced microglial inflammatory response and cognitive impairment[J]. J Neuroinflammation, 2018, 15(1): 109.
- [7] OGRODNIK M, EVANS S A, FIELDER E, et al. Whole-body senescent cell clearance alleviates age-related brain inflammation and cognitive impairment in mice[J]. Aging Cell, 2021, 20(2): e13296.
- [8] ZHANG W, ZHANG M H, WU Q, et al. *Dendrobium nobile* Lindl. alkaloids ameliorate A β ₂₅₋₃₅-induced synaptic deficits by targeting wnt/ β -catenin pathway in Alzheimer's disease models[J]. J Alzheimers Dis, 2022, 86(1): 297-313.
- [9] NIE X Q, CHEN Y, LI W, et al. Anti-aging properties of *Dendrobium nobile* Lindl.: from molecular mechanisms to potential treatments[J]. J Ethnopharmacol, 2020, 257: 112839.
- [10] DOU R G, LIU X, KAN X L, et al. *Dendrobium officinale* polysaccharide-induced neuron-like cells from bone marrow mesenchymal stem cells improve neuronal function a rat stroke model[J]. Tissue Cell, 2021, 73: 101649.
- [11] DU H M, WANG Y J, LIU X, et al. Defective central immune tolerance induced by high-dose D-galactose resembles aging[J]. Biochemistry (Mosc), 2019, 84(6): 617-626.
- [12] 吴振宇, 杨洋, 林夏妃, 等. 七氟烷对衰老模型大鼠认知功能及海马 α 7nAChR的影响[J]. 医学研究生学报, 2020, 33(4): 341-347.

- [13] QU Z, ZHANG J Z, YANG H G, et al. Protective effect of tetrahydropalmatine against d-galactose induced memory impairment in rat[J]. *Physiol Behav*, 2016, 154: 114-125.
- [14] 杨洋, 吴振宇, 林夏妃, 等. 七氟烷对衰老模型大鼠认知功能及海马超微结构的影响[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2019, 50(5): 689-694.
- [15] 刘娜. 帕瑞昔布钠对大鼠术后认知功能障碍的神经保护作用[D]. 北京: 中国人民解放军医学院, 2016.
- [16] 刘庆春. 金钗石斛对糖尿病大鼠肝组织 NF- κ B 表达的影响[J]. *中医临床研究*, 2017, 9(11): 23-24.
- [17] 杨城, 陈莹, 金海, 等. 金钗石斛对慢性疲劳综合征大鼠行为学的改善作用[J]. *遵义医学院学报*, 2017, 40(1): 49-52.
- [18] URITS I, ORHURHU V, JONES M, et al. Current perspectives on postoperative cognitive dysfunction in the ageing population[J]. *Turk J Anaesthesiol Reanim*, 2019, 47(6): 439-447.
- [19] 段灿灿, 王清纯, 赵泽粉, 等. 基于网络药理学分析金钗石斛治疗神经系统疾病的药效物质基础及作用机制[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(13): 1-10.
- [20] 王孟迪, 魏山山, 姜宁, 等. 金钗石斛对 MPTP 诱导 PD 小鼠的神经保护作用及机制研究[J]. *中国比较医学杂志*, 2022, 32(1): 48-56.
- [21] 杨玉洁, 李玉姣, 李彬彬, 等. 用于评价大小鼠学习记忆能力的迷宫实验方法比较[J]. *中国比较医学杂志*, 2018, 28(12): 129-134.
- [22] 吴振宇. 吸入七氟烷对衰老模型大鼠认知功能及海马胆碱能系统影响的研究[D]. 遵义: 遵义医科大学, 2020.
- [23] 袁雪梅, 张英, 陈齐, 等. 老龄大鼠行心肺转流术建立长期术后认知功能障碍模型[J]. *临床麻醉学杂志*, 2016, 32(12): 1204-1207.
- [24] 陈玉欢, 凌霄, 李春晓, 等. 同基源中药饮片及其天然药物的剂量关系探讨[J]. *中华中医药学刊*, 2021, 39(9): 145-150.
- [25] KOKUDAI Y, HONMA M, MASAOKA Y, et al. Cascade process mediated by left hippocampus and left superior frontal gyrus affects relationship between aging and cognitive dysfunction[J]. *BMC Neurosci*, 2021, 22(1): 75.
- [26] RAO Y L, GANARAJA B, MURLIMANJU B V, et al. Hippocampus and its involvement in Alzheimer's disease: a review[J]. *3 Biotech*, 2022, 12(2): 55.
- [27] NEAL M, RICHARDSON J R. Epigenetic regulation of astrocyte function in neuroinflammation and neurodegeneration[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2018, 1864(2): 432-443.
- [28] 梁克山. P38MAPK 抑制剂、雌二醇和 TPX2 对痴呆鼠模型海马神经细胞损害的保护作用及认知功能的影响[D]. 济南: 山东大学, 2019.
- [29] SUBRAMANIYAN S, TERRANDO N. Neuroinflammation and perioperative neurocognitive disorders[J]. *Anesth Analg*, 2019, 128(4): 781-788.
- [30] 闻广华. Tau 蛋白异常磷酸化和神经炎症在小鼠剖腹术后急性期认知功能障碍发生中的机制研究[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2021.
- [31] 周骏洁, 董良, 朱昭琼. 神经炎症对术后认知功能障碍影响的研究进展[J]. *临床麻醉学杂志*, 2021, 37(12): 1317-1320.
- [32] WANG Z G, LIU T L, YIN C P, et al. Electroacupuncture pretreatment ameliorates anesthesia and surgery-induced cognitive dysfunction via activation of an $\alpha 7$ -nAChR signal in aged rats[J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2021, 17: 2599-2611.
- [33] 李红金. FST 通过调节 IkB α /NF- κ B 信号通路减轻耳蜗炎症和氧化应激[D]. 芜湖: 皖南医学院, 2021.
- [34] 侯道荣, 刘振, 崔斯童, 等. 丹参酮 II-A 通过调控 TLR4/IkB α /NF κ B 信号通路抑制 LPS 诱导的细胞炎症[J]. *中国药理学通报*, 2021, 37(2): 210-214.

(张蕾 编辑)

本文引用格式: 蒋瑞, 赵楠, 张乃心, 等. 金钗石斛对衰老模型大鼠术后认知功能的影响及机制研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2023, 33(5): 29-36.

Cite this article as: JIANG R, ZHAO N, ZHANG N X, et al. Study on the effect of *Dendrobium nobile* lindl on postoperative cognitive function and mechanism of aging model rats[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2023, 33(5): 29-36.