

# 全麻药物对发育大脑神经毒性作用的研究进展

张斌宇, 陈锡明, 赵璇

上海交通大学医学院附属新华医院麻醉科, 上海 200092

关键词: 全麻药物; 儿童; 神经毒性; 认知功能; 行为改变

中图分类号: R 614 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2015)07-0967-04

全麻药物的发展使得手术的安全性不断提高,并且允许一些复杂手术得以开展。但是至今这些药物降低患者对伤害性刺激反应的作用机制并没有被完全理解,目前研究发现可能与多种离子通道和神经元受体相互作用有关。由于全麻药物作用机制的复杂性,因此对机体可能具有潜在的不良反应,其中受到较多关注的是全麻药物对发育大脑的影响。越来越多的动物实验表明临床常用的麻醉药物对发育大脑有神经毒性作用,并且可以造成远期的神经行为异常。与此同时,临床研究对于小儿手术麻醉与随后出现的学习和行为障碍之间是否存在联系尚有争议<sup>[1-2]</sup>。因此,了解目前全麻药物对发育大脑认知和行为改变作用机制的研究进展对于今后相关的科学研究和更为合理的指导临床麻醉实践具有重要意义。

## 1 全麻药物致发育大脑神经退行性改变的机制研究

1.1 诱发神经细胞凋亡 Jevtovic-Todorovic 等<sup>[3]</sup>于 2003 年发现了联合使用麻醉药物引发大鼠发育大脑神经元细胞的死亡并引起脑功能长期的损伤。目前的研究表明全麻药物可以通过不同的途径激活关键的效应物质半胱天冬蛋白酶 (Caspase) 而引起神经凋亡,这些作用途径包括:线粒体依赖性通路、受体依赖性通路、神经营养因子 (BDNF) 依赖性通路以及神经细胞依赖性通路。线粒体依赖性途径通过下调凋亡抑制蛋白 Bcl-2 超家族,引起线粒体膜通透性增加促进细胞色素 C 的释放来发挥凋亡作用<sup>[4]</sup>。受体依赖性途径通过激活相应的膜受体,形成死亡诱导信号复合物 (DISC),从而上调 Fas 蛋白水平并且激活 Caspase 来执行凋亡程序<sup>[5]</sup>。麻醉药物通过双向机制来引起 BDNF 依赖性凋亡通路的发生。在丘脑,麻醉药物降低 BDNF 蛋白水平并且激活神经元生存的关键因子蛋白激酶的 B (PKB)。而在大脑皮层麻醉药物对这两者起到相反的调节作用,并且激活 Caspase-3 和 Caspase-9 的活性进而促进凋亡<sup>[6]</sup>。麻醉药物不仅诱发神经元的凋亡,同样对作为轴突髓鞘重要组成部分的少突胶质细胞也有致凋亡作用,并且在未成熟的大脑上调亡的分布于轴突通路一致<sup>[7]</sup>。最后,麻醉药物对神经细胞的作用主要在突触生长期,尽管在麻醉期间维持正常的血气、动脉血氧饱和度、血压和血糖,未成熟

的神经细胞也发生了显著凋亡。

1.2 抑制神经元再生 发育中的大脑具有高度的可塑性,这一时期的神经祖细胞具有较强分裂增殖能力,与整个神经网络神经元的分化,迁移密不可分,特别是脑室下区和海马齿状回处的神经再生对于学习和记忆具有重要作用。然而,越来越多的证据表明麻醉药物对神经干细胞或者神经祖细胞的分化和再生具有抑制作用。目前研究最为集中地是异氟醚对神经再生的影响。离体实验表明,异氟醚对神经再生的抑制作用具有剂量依赖性,0.7% 的异氟醚对神经再生没有影响,随着浓度的升高,1.4% 和 2.8% 的异氟醚可以使神经祖细胞的再生减少 20%~30%。异氟醚的这种抑制神经再生的作用可能与其抗有丝分裂效应有关<sup>[8]</sup>。人类神经再生的高峰是胎儿时期,因此妊娠期接受麻醉可能对胎儿的神经干细胞池造成直接影响。

1.3 诱导突触发生和塑形障碍 发育早期的大脑突触发生较为活跃,来自新分化神经元的树突逐渐生长形成新的突触连接,以维持神经网络正常的信息处理。研究表明麻醉药物同样影响突触的发生且具有年龄依赖性,在突触发育峰值期麻醉药物可以引起树突棘的数量减少和突触形成受限,而在发育后期使前额叶皮层锥体细胞的棘突密度增加,干扰神经再生的正常生理过程<sup>[9-10]</sup>。此外,麻醉药物并不会改变突触的长度,突触后致密体或者突触前囊泡等大体结构,主要对突触微结构和功能产生影响。更为重要的是突触发生是一个更为长期的过程,在这一期间麻醉药物对正常生理过程的干扰可能引起相关的认知和神经心理变化仅仅伴有较少的神经元凋亡。

1.4 影响细胞骨架的形成 肌动蛋白细胞骨架对于维持神经元和突触结构的完整性与可塑性是必不可少的,其中细胞黏附分子,细胞膜 Rho 家族和 GTP 酶和肌动蛋白结合蛋白对于肌动蛋白细胞骨架的调节起着重要作用,其中与麻醉较为相关是 RhoA-MLC 信号通路。RhoA 通过调节 MLC 蛋白的磷酸化,使之进一步促进肌动蛋白骨架的构建以及局部黏着的形成。研究发现长时间 (24 h) 的异氟醚作用似乎可以通过下调活化的 RhoA 和磷酸化的 MLC 来显著降低肌动蛋白细胞骨架的构建最终导致星状细胞的分化和成熟的障碍<sup>[11]</sup>。而相对较短时间 (120 min) 的暴露于异氟醚通过 P75 神经营养因子受体介导的 RhoA 上调引起细胞骨架的解聚<sup>[12]</sup>。虽然这两个实验的处理方式不同,但最终都可以通过神经细胞生长数目的减少和功能的障碍对整个神经网络的连接造成影响。

1.5 诱导胶质细胞成熟生长障碍 胶质细胞是广泛分布于中枢和周围神经系统,包括少突胶质细胞、星形胶质细胞、小胶质细胞。星形胶质细胞作为胶质细胞的主要组成部分通过调节神经细胞迁移,成熟和突触的状态对整个大脑的发育起调控作用。正常情况下,星形胶质细胞不仅促进突触接头的形成,而且对突触起到稳定作用。失去星形胶质细胞支持的神经细胞培养可以使突出的数量降低并且使突出的自发活动减少。由于一部分成熟或未成熟的星形胶质细胞也表达 GABA 受体,因此也有可能受到麻醉药物的影响。研究发现异氟醚可以从抑制肌动蛋白应激纤维 (ASF) 的形成;黏附蛋白的含量以及阻碍细胞骨架的构建这三个方面显著影响星状细胞的形态和功能<sup>[11]</sup>。

1.6 动物实验的局限性 有许多因素限制了将动物实验结果适用于人类,包括麻醉药物的使用和研究设计。例如,人和动物在麻醉药物的药效学上存在差异,为达到一定的麻醉水平,其用药量可以高达临床儿童剂量的 100 倍。此外,动物实验缺乏手术应激,难以进行气道管理,不能很好的监测与调节生理变化,不能纠正麻醉药物所致的代谢与生化改变。最后,长时间的麻醉药物暴露也是使得动物实验与临床麻醉缺乏可比性的一个重要因素。

## 2 全麻药物对发育大脑影响的临床研究

2.1 临床麻醉对发育大脑毒性作用的证据 虽然动物实验有证据表明全麻药物对发育大脑的神经毒性作用可以造成实验动物出现远期的认知功能和行为改变,但是近年的临床研究对于全麻药物与小儿神经发育之间的关系没有给出明确的结论<sup>[13-22]</sup>。这些研究分别从学习能力、行为改变、记忆力等不同的角度研究了全麻药物对于行为和认知功能的影响,有三个队列研究对小儿麻醉与学习障碍的关系进行了研究, Sprung 等<sup>[13]</sup>和 Wilder 等<sup>[14]</sup>使用了相同的队列,在前者的研究中作者将顺产出生的儿童与接受全麻或者局麻剖宫产出生的儿童进行比较,发现采用全麻或者局部麻醉行剖腹产出生的儿童发生学习障碍的风险与顺产出生的儿童相比没有显著差异。而后者的研究发现 4 岁以前多次接受麻醉的儿童发生学习障碍的风险增加。Bong 等<sup>[15]</sup>人将婴儿期接受过麻醉得患儿作为研究对象同样得到了与 Wilder 相似的结果。Kalkman 等<sup>[16]</sup>和 Sprung 等<sup>[17]</sup>分别对全麻药物所致的儿童行为改变进行了研究,Kalkman 等<sup>[16]</sup>将 0~6 岁接受泌尿外科手术的患儿作为研究队列,发现接受全身麻醉后有增加异常行为的趋势,而 Sprung 等<sup>[17]</sup>发现 2 岁以前多次接受麻醉的患儿在今后发生注意力缺陷多动症的风险显著增加。此外,还有一些临床实验研究了全麻药物对儿童记忆的影响。Pham 等<sup>[18]</sup>比较了 5~12 岁接受全麻的患儿,发现常规麻醉过程中并没有出现记忆形成的损害。Yin 等<sup>[19]</sup>比较了丙泊酚和七氟醚对 7~13 岁患儿近期记忆和远期记忆的影响,发现丙泊酚影响了近期记忆,而两种全麻药物对远期记忆均没有影响。

2.2 临床研究对全麻药物神经毒性作用的局限性 由于没有随机对照实验来研究儿童接受与不接受全麻药物后的神经认知功能改变的情况,因此要确实的证明全麻药物对发育大

脑的神经毒性作用存在巨大的挑战。观察性研究所报道的一些麻醉药物的神经毒性作用的影响因素很多,包括麻醉药物过量、长时间的麻醉、围手术期焦虑或者一些意外事件。现有病例对照研究虽然得出了一些麻醉药物与神经发育的联系,但这些研究仍有一定的限制。首先,在队列的选择上没有排除人种之间的影响。其次,接受麻醉与手术的患儿其本身由于体质虚弱以及其他的并存疾病有更多的可能发生一些认识与行为上的异常。第三,目前对于神经认知功能的评价主要采用各种神经行为测试量表,不同的量表可能得到的结果并不一致,从而造成各个研究之间得不到统一的结论。最后,现有的队列研究在麻醉药物的选择上没有严格的限制,一些研究选择了已经过时或者被证明不适用于小儿的麻醉药物。

## 3 减轻全麻药物神经毒性作用的可能措施

减轻麻醉药物对发育大脑神经毒性作用可能的措施包括尽量减少或者避免在孕晚期接受麻醉。对于出生后的幼儿,手术的时机非常重要,非急症手术应尽量在脑发育高峰后进行,此外还应使用尽量少的麻醉药物和尽量简单的麻醉方式。动物实验表明一些药物与全麻药物联合使用可以减轻麻醉药物引起的神经退行性改变,对远期的脑功能具有保护作用,下面就对这些药物逐一介绍。

3.1 褪黑素 褪黑素是有松果体在夜间分泌的一种激素,离体细胞实验表明褪黑素通过上调 bcl-xL 蛋白水平和下调细胞色素 C 蛋白水平抑制线粒体依赖性通路引起的凋亡<sup>[23]</sup>。

3.2  $\beta$ -雌二醇  $\beta$ -雌二醇作为一种类固醇激素对上调磷酸化的 PKB 水平起着重要的作用,由此进一步抑制 caspas-9 和 caspas-3 的活性,最终可以减轻全麻药物对神经细胞的毒性作用,可能为临床提供一种可能的保护措施<sup>[24]</sup>。

3.3 左旋肉碱 左旋肉碱是一种 L-赖氨酸衍生物,其主要作用是将长链脂肪酸转运到线粒体内进行  $\beta$ -氧化循环并中和毒性产物酰基辅酶 A<sup>[25]</sup>,其功能与许多病理生理过程有关,包括许多中枢神经系统的神经退行性疾病<sup>[26]</sup>。Bax 是一种凋亡蛋白,可以转移到线粒体的外膜,影响线粒体膜的通透性并且引起线粒体内的细胞色素 C 释放进入胞质内,从而引起细胞的死亡。有研究表明左旋肉碱可以显著降低异氟醚联合笑气所引起的 Bax 水平升高<sup>[27]</sup>。

3.4 氙气灯 载体和离体实验都表明,用氙气灯预处理可以减轻氧化亚氮和异氟醚引起的神经凋亡,其作用机制可能是增加 Bcl-2 的表达,同时降低了细胞色素 C 和 P53 蛋白的表达水平<sup>[28]</sup>。

3.5 锂 氯胺酮和丙泊酚可以通过抑制磷酸化的 ERK1/2 水平引起神经细胞凋亡,联合使用锂剂可以逆转磷酸化的 ERK1/2 水平,减轻这些药物的神经毒性作用。虽然只有较高剂量的锂剂 (6 mg/kg) 表现出逆转磷酸化的 ERK1/2 的作用,但是低剂量的锂剂同样可以抑制细胞的凋亡,其具体机制有待进一步研究<sup>[29]</sup>。

3.6 右美托咪定 选择性  $\alpha_2$ -肾上腺素能受体激动剂右美托咪定对异氟醚引起的海马、丘脑和皮层等部位的损伤具有一定的保护作用,并且可以预防异氟醚所致的远期认知功能障

碍。右美托咪定的这种抗全麻药物神经毒性作用的机制可能是通过维持 PI3K/Akt 通路的活性从而抑制 caspase-3 的表达<sup>[30]</sup>。

3.7 促红细胞生成素 促红细胞生成素的主要作用是调节造血,最近的研究表明其还有神经保护作用。促红细胞生成素可以通过提高脑源性神经营养因子(BDNF),神经生长因子(NGF)的水平来减轻七氟醚对发育大脑的凋亡作用以及由此产生的神经功能紊乱<sup>[31]</sup>。

#### 4 总结

虽然动物实验表明发育大脑暴露于大剂量麻醉药物可以导致剂量与时间依赖性的广泛神经退行性改变和远期的神经行为缺陷,但是麻醉药物对人类发育大脑所造成的神经系统后遗症并不多见。此外,流行病学研究也没有确凿的证据表明全麻药物与各种改变之间存在直接的关系。因此,需要设计更为完善的实验室和临床研究来确定全麻药物对神经发育带来的影响。

#### 参考文献

[1] Ing CH, DiMaggio CJ, Malacova E, et al. Comparative analysis of outcome measures used in examining neurodevelopmental effects of early childhood anesthesia exposure [J]. *Anesthesiology*, 2014, 120(6): 1319-1332.

[2] Hansen TG. Anesthesia-related neurotoxicity and the developing animal brain is not a significant problem in children [J]. *Paediatr Anaesth*, 2015, 25(1): 65-72.

[3] Jevtovic-Todorovic V, Hartman RE, Izumi Y, et al. Early exposure to common anesthetic agents causes widespread neurodegeneration in the developing rat brain and persistent learning deficits [J]. *J Neurosci*, 2003, 23(3): 876-882.

[4] Zhang Y, Dong Y, Wu X, et al. The mitochondrial pathway of anesthetic isoflurane-induced apoptosis [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(6): 4025-4037.

[5] Yon JH, Daniel-Johnson J, Carter LB, et al. Anesthesia induces neuronal cell death in the developing rat brain via the intrinsic and extrinsic apoptotic pathways [J]. *Neuroscience*, 2005, 135(3): 815-827.

[6] Lu LX, Yon JH, Carter LB, et al. General anesthesia activates BDNF-dependent neuroapoptosis in the developing rat brain [J]. *Apoptosis*, 2006, 11(9): 1603-1615.

[7] Creeley CE, Dikranian KT, Dissen GA, et al. Isoflurane-induced apoptosis of neurons and oligodendrocytes in the fetal rhesus macaque brain [J]. *Anesthesiology*, 2014, 120(3): 626-638.

[8] Culley DJ, Boyd JD, Palanisamy A, et al. Isoflurane decreases self-renewal capacity of rat cultured neural stem cells [J]. *Anesthesiology*, 2011, 115(4): 754-763.

[9] Head BP, Patel HH, Niesman IR, et al. Inhibition of p75 neurotrophin receptor attenuates isoflurane-mediated neuronal apoptosis in the neonatal central nervous system [J]. *Anesthesiology*, 2009, 110(4): 813-825.

[10] Briner A, De Roo M, Dayer A, et al. Volatile anesthetics rapidly increase dendritic spine density in the rat medial prefrontal cortex during synaptogenesis [J]. *Anesthesiology*, 2010, 112(3): 546-556.

[11] Lunardi N, Hucklenbruch C, Latham JR, et al. Isoflurane impairs immature astroglia development in vitro: the role of actin cytoskeleton [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2011, 70(4): 281-291.

[12] Lemkuil BP, Head BP, Pearn ML, et al. Isoflurane neurotoxicity is mediated by p75NTR-RhoA activation and actin depolymerization [J]. *Anesthesiology*, 2011, 114(1): 49-57.

[13] Sprung J, Flick RP, Wilder RT, et al. Anesthesia for cesarean delivery and learning disabilities in a population-based birth cohort [J]. *Anesthesiology*, 2009, 111(2): 302-310.

[14] Wilder RT, Flick RP, Sprung J, et al. Early exposure to anesthesia and learning disabilities in a population-based birth cohort [J]. *Anesthesiology*, 2009, 110(4): 796-804.

[15] Bong CL, Allen JC, Kim JT. The effects of exposure to general anesthesia in infancy on academic performance at age 12 [J]. *Anesth Analg*, 2013, 117(6): 1419-1428.

[16] Kalkman CJ, Peelen L, Moons KG, et al. Behavior and development in children and age at the time of first anesthetic exposure [J]. *Anesthesiology*, 2009, 110(4): 805-812.

[17] Sprung J, Flick RP, Katusic SK, et al. Attention-deficit/hyperactivity disorder after early exposure to procedures requiring general anesthesia [J]. *Mayo Clin Proc*, 2012, 87(2): 120-129.

[18] Pham X, Smith KR, Sheppard SJ, et al. Implicit memory formation during routine anesthesia in children: a double-masked randomized controlled trial [J]. *Anesthesiology*, 2010, 112(5): 1097-1104.

[19] Yin J, Wang SL, Liu XB. The effects of general anaesthesia on memory in children: a comparison between propofol and sevoflurane [J]. *Anaesthesia*, 2014, 69(2): 118-123.

[20] Flick RP, Katusic SK, Colligan RC, et al. Cognitive and behavioral outcomes after early exposure to anesthesia and surgery [J]. *Pediatrics*, 2011, 128(5): e1053-e1061.

[21] DiMaggio C, Sun LS, Kakavouli A, et al. A retrospective cohort study of the association of anesthesia and hernia repair surgery with behavioral and developmental disorders in young children [J]. *J Neurosurg Anesthesiol*, 2009, 21(4): 286-291.

[22] Bartels M, Rietveld MJ, Van Baal GC, et al. Heritability of educational achievement in 12-year-olds and the overlap with cognitive ability [J]. *Twin Res*, 2002, 5(6): 544-553.

[23] Yon JH, Carter LB, Reiter RJ, et al. Melatonin reduces the severity of anesthesia-induced apoptotic neurodegeneration in the developing rat brain [J]. *Neurobiol Dis*, 2006, 21(3): 522-530.

[24] Napolitano M, Costa L, Piacentini R, et al. 17 $\beta$ -estradiol protects cerebellar granule cells against  $\beta$ -amyloid-induced toxicity via the apoptotic mitochondrial pathway [J]. *Neurosci Lett*, 2014, 561: 134-139.

[25] Böhles H, Evangelidou A, Bervoets K, et al. Carnitine esters in metabolic disease [J]. *Eur J Pediatr*, 1994, 153(7 Suppl 1): S57-S61.

[26] Stumpf DA. Mitochondrial disorders [J]. *Rinsho Shinkeigaku*, 1983, 23(12): 1046-1055.