【基础研究】

瑞马唑仑减轻七氟烷诱导的老年大鼠认知障碍的机制研究

宋盼盼，于丽丽*
（沧州市中心医院麻醉科，河北沧州 061000）

摘要：目的 探讨瑞马唑仑调节 Toll 样受体（toll-like receptor，TLR）4/ 髓样分化因子（myeloid differentiation factor，MyD）88/ 核转录因子 -κB（nuclear factor，NF）-κB 通路对七氟烷诱导的大鼠认知功能障碍的影响。**方法** 72 只雄性 SD 大鼠分为 A ～ F 组，每组 12 只。A 组（50% 空气和氧气混合物，2 L/min），其他组在 A 组＋ 2% 七氟烷构建老年术后认知功能障碍大鼠模型。建模成功后，C ～ E 组分别（1.5 mg/kg、3 mg/kg 以及 6 mg/kg 瑞马唑仑＋腹腔注射等量生理盐水）；F 组（6 mg/kg 瑞马唑仑＋腹腔注射 75 μg RS09）；A、B 组大鼠尾静脉和腹腔均注射等量的生理盐水。观察大鼠逃避潜伏期、穿越平台数及海马组织病理；免疫荧光染色检测离子化钙结合适配分子（ionized calcium-binding adapter molecule，IBA）-1 表达；酶联免疫吸附试验检测海马组织中神经元特异性烯醇化酶（neuron-specific enolase，NSE）、白介素（interleukin，IL）-6、中枢神经特异蛋白 S-100β、肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor，TNF）-α 水平；原位末端转移酶标记法检测神经元凋亡；免疫印记法检测 TLR4、MyD88、裂解的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶（Cleaved Caspase）-3、p-NF-κB p65 蛋白。**结果** 与 B 组相比，C ～ E 组大鼠神经元排列紊乱及细胞形态变化有所改善，逃避潜伏期缩短，穿越平台数增加，NSE、S-100β、IL-6、TNF-α 水平、IBA-1 阳性细胞数、神经元凋亡率及 TLR4、MyD88、Cleaved Caspase-3、p-NF-κB p65 蛋白降低（$P < 0.05$）。**结论** 瑞马唑仑可能通过抑制 TLR4/MyD88/NF-κB 通路改善七氟烷诱导的老年大鼠认知功能障碍。

关键词：瑞马唑仑；Toll 样受体 4/ 髓样分化因子 88/ 核转录因子 -κB 通路；术后认知功能障碍；神经炎症；凋亡
中图分类号：R-33　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1672-9188（2025）01-0029-009
引用：宋盼盼，于丽丽. 瑞马唑仑减轻七氟烷诱导的老年大鼠认知障碍的机制研究[J]. 世界临床药物，2025，46（1）：29-37.
DOI：10.13683/j.wph.2025.01.006

The mechanism of remimazolam in attenuating sevoflurane-induced cognitive impairment in aged rats

SONG Panpan, YU Lili*
（*Department of Anesthesiology, Cangzhou Central Hospital, Cangzhou 061000, Hebei Province, China*）

Abstract: ***Objective*** To investigate the effect of remimazolam on cognitive dysfunction induced by sevoflurane in rats by regulating Toll-like receptor（TLR）4/myeloid differentiation factor（MyD）88/nuclear transcription factor（NF）-κB pathway. ***Methods*** A total of 72 male SD rats were divided into A to F groups, 12 rats in each group. A group（50% air and oxygen mixture, 2 L/min）and other groups were treated with A group＋2% sevoflurane to construct aged postoperative cognitive dysfunction rat model. After successful modeling, C groups to E were given（1.5 mg/kg, 3 mg/kg and 6 mg/kg remimazolam＋intraperitoneal injection of the same amount of 0.9% sodium chloride injection），respectively, F group was given（6 mg/kg remimazolam＋intraperitoneal injection of 75 μg RS09）. The rats in A group and B group were injected with the same amount of 0.9% sodium chloride injection in the tail vein and abdominal cavity. The escape latency,

收稿日期：2024-06-27
作者简介：宋盼盼，硕士研究生，主治医师，研究方向：老年人术后认知功能障碍。
通信作者：于丽丽，研究方向：老年人术后认知功能障碍。
基金项目：2022年度河北省医学科学研究课题（20220339）

the number of crossing platforms and the histopathology of hippocampus were observed. The expression of ionized calcium-binding adapter molecule (IBA)-1 was detected by immunofluorescence staining. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect the levels of neuron-specific enolase (NSE), interleukin (IL)-6 , central nervous system specific protein S-100β, and tumor necrosis factor (TNF)-α in hippocampus. Terminal-deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick end labeling staining was used to detect neuronal apoptosis. TLR4, MyD88, Cleaved caspase-3 and p-NF-κB p65 proteins were detected by immunoblotting. ***Results*** Compared with B group, the disordered arrangement of neurons and cell morphological changes of rats in C ~ E group were improved, the escape latency was shortened, and the number of crossing platforms was increased. Levels of NSE, S-100β, IL-6, TNF-α, the number of IBA-1 positive cells, neuronal apoptosis rate, and the proteins levels of TLR4, MyD88, Cleaved Caspase-3, and p-NF-κB p65 were significantly decreased ($P<0.05$). ***Conclusion*** Remimazolam may improve sevoflurane-induced cognitive dysfunction in aged rats by inhibiting the TLR4/MyD88/NF-κB pathway.

Key words: remimazolam; Toll like receptor 4/myeloid differentiation factor 88/nuclear factor-κB pathway; postoperative cognitive dysfunction; neuroinflammation; apoptosis

术后认知功能障碍（postoperative cognitive dysfunction，POCD）是术后常见并发症，主要表现为认知功能受损，包括注意力、记忆力、信息处理和执行功能，这严重影响患者的生活质量，尤其是老年人[1]。有研究表明全身麻醉是POCD的重要危险因素之一[2]。七氟烷是临床上常用的麻醉剂，具有麻醉诱导时间短、不良反应小等优点[3]。但有研究发现，七氟烷会导致老年患者神经认知功能障碍[4]。因此，预防或缓解七氟烷引起的POCD已成为临床医生和研究人员关注的重点。瑞马唑仑是一种新型苯二氮䓬类药物，用于程序性镇静和全身麻醉[5]。已有研究报道，瑞马唑仑可缓解髋关节手术后老年患者的认知障碍[6]。但关于瑞马唑仑对七氟烷诱导的老年大鼠认知功能障碍的影响鲜有报道。阻断Toll样受体（toll-like receptor，TLR）4/髓样分化因子（myeloid differentiation factor，MyD）88/核转录因子-κB（nuclear factor，NF）-κB信号通路可改善七氟烷诱导的老年大鼠认知功能障碍[7]；且已有瑞马唑仑抑制TLR4/MyD88/NF-κB通路改善颅脑损伤大鼠脑组织损伤的研究[8]。瑞马唑仑是否可通过调控TLR4/MyD88/NF-κB信号通路影响七氟烷诱导的老年大鼠认知功能障碍尚不明确。基于此，本研究主要探究瑞马唑仑对七氟烷诱导老年大鼠认知功能障碍的影响以及其作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物与试剂

SPF级雄性SD大鼠72只，18月龄，体质量为680～700 g，购于河南省实验动物中心，生产许可证号SCXK（豫）2022-0001，使用许可证号SYXK（冀）2022-0053。有关动物使用的研究符合国家有关动物护理和使用的各项法规和制度政策，并经河北省实验动物中心动物伦理委员会审核批准。

瑞马唑仑（36 mg，20190034）购于江苏恒瑞医药股份有限公司；七氟烷（10 ml，20070172）购于上海恒瑞医药有限公司；TLR4激活剂RS09、原位末端转移酶标记法（terminal- deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick end labeling，TUNEL）细胞凋亡检测试剂盒（HY-P1439、20221223）购于美国MCE公司；大鼠神经元特异性烯醇化酶（neuron-specific enolase，NSE）、肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor，TNF）-α、中枢神经特异蛋白S-100β、白介素（interleukin，IL）-6酶联免疫吸附试验（enzyme linked immunosorbent assay，ELISA）试剂盒（20221220、20221003、20220506、20221108）购于上海恒远生物公司；兔源一抗TLR4、MyD88、离子化钙结合适配分子（ionized

calcium-binding adapter molecule，IBA）-1、裂解的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶（Cleaved aspartate-specific cysteine proteinase，Cleaved Caspase）-3、p-NF-κB p65、甘油醛 -3- 磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）、NF-κB p65 及羊抗兔二抗（ab13556、ab219413、ab178846、ab231289、ab239882、ab8245、ab16502 以及 ab6721）购于英国 Abcam 公司。

1.2 分组及方法

通过吸入 2% 七氟烷、50% 空气和氧气混合物（2 L/min）的方式构建老年 POCD 大鼠模型[9]。SD 大鼠按照随机数字表法随机分为 A ～ F 组，每组 12 只。A 组大鼠吸入 50% 空气和氧气混合物（2 L/min），其他组在 A 组基础上再吸入 2% 七氟烷构建老年 POCD 大鼠模型。根据 Morris 水迷宫实验结果，大鼠逃避潜伏期显著长于 A 组大鼠，穿越平台数显著少于 A 组大鼠作为造模成功的标准，为建模成功率为 100%。建模 4 h 后，C ～ E 组大鼠分别一次性尾静脉注射 1.5 mg/kg、3 mg/kg 以及 6 mg/kg 瑞马唑仑，且腹腔注射等量生理盐水[10]；F 组大鼠尾静脉注射 6 mg/kg 瑞马唑仑，腹腔注射 75 μg/ 只 RS09[11]；A、B 组大鼠尾静脉和腹腔均注射等量的生理盐水。

1.3 Morris 水迷宫实验

末次处理 24 h 后，即 D1，选取所有大鼠进行 Morris 水迷宫实验。D1 ～ D5，进行定位导航试验，将大鼠置于任一象限的水池中，将平台放置于水池正中间，大鼠找到平台的时间即为逃避潜伏期。D6，抽出平台，将大鼠从某一象限放入水中，记录 90 s 内穿越平台数。

1.4 苏木精 - 伊红（hematoxylin eosin，HE）染色

Morris 水迷宫实验完成后，每组随机取 6 只大鼠，处死大鼠，收集海马组织，将固定在 4% 多聚甲醛中的海马组织浸入不同浓度的酒精中脱水，在二甲苯中透化，包埋在石蜡中，切成 4 μm 厚的切片后进行 HE 染色，观察切片病理。

1.5 NSE、S-100β、IL-6 以及 TNF-α 水平检测

每组取剩余 6 只大鼠，处死大鼠后收集大鼠的海马组织，按照 ELISA 试剂盒说明检测海马组织匀浆中 NSE、IL-6、S-100β、TNF-α 水平。

1.6 免疫荧光染色检测 IBA-1 表达

取“**1.5**”中的海马组织切片，抗原修复 15 min 后用 10% 牛血清白蛋白封闭切片 1 h，然后加入 300 μl 一抗 IBA-1（1 ∶ 200）在 4 ℃下孵育过夜。用磷酸盐缓冲液洗涤后，将切片与荧光二抗在黑暗中孵育 2 h，用磷酸盐缓冲液洗涤后，使用含有 4',6-二脒基 -2- 苯基吲哚的抗荧光淬灭封片剂进行封装。最后观察和拍摄切片。

1.7 TUNEL 染色检测

取“**1.5**”中的海马组织切片，在蛋白酶 K 中透化 15 min，用末端脱氧核苷转移酶反应缓冲液孵育 10 min，再与 TUNEL 孵育 30 min。DAPI 染色细胞核后观察染色结果。神经元凋亡率＝ TUNEL 阳性细胞数 / 总细胞数 ×100%。

1.8 TLR4、Cleaved Caspase-3、MyD88 以及 p-NF-κB p65 蛋白检测

使用放射免疫沉淀法缓冲液裂解并提取“**1.7**”中的海马组织匀浆总蛋白，2,2- 联喹啉 -4,4- 二甲酸二钠法测量蛋白质浓度后，通过 10% 十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离 50 μg 蛋白质并转移至硝酸纤维素膜上，用 5% 脱脂牛奶阻断膜后，将膜与一抗 TLR4（1 ∶ 5 000）、Cleaved Caspase-3（1 ∶ 2 000）、MyD88（1 ∶ 3 000）、p-NF-κB p65（1 ∶ 5 000）、GAPDH（1 ∶ 1 000）及 NF-κB p65（1 ∶ 4 000）在 4 ℃下过夜孵育。将印迹在二抗（1 ∶ 3 000）中孵育 2 h。使用 Quantity One 软件对图像进行量化。

1.9 统计学分析

使用 SPSS25.0 软件处理数据。计量资料用 $(\bar{x}\pm s)$，组间比较采用单因素方差分析，多重比较

采用 SNK-q 检验。以 $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

2 结果

2.1 Morris 水迷宫实验

与 A 组相比，B 组大鼠逃避潜伏期延长，穿越平台数减少（$P < 0.05$）；与 B 组相比，C ～ E 组大鼠逃避潜伏期缩短，穿越平台数增加（$P < 0.05$）；与 E 组相比，F 组大鼠逃避潜伏期延长，穿越平台数减少（$P < 0.05$），见表 1。

表 1 Morris 水迷宫实验（$\bar{x}\pm s$，$n = 12$）

Table 1 Morris water maze experiment（$\bar{x}\pm s$, $n=12$）

组别	逃避潜伏期 /s	穿越平台数 / 次
A 组	27.36±1.28	7.15±0.31
B 组	45.56±2.14*	3.03±0.12*
C组	40.56±1.57$^{\#}$	4.13±0.14$^{\#}$
D组	35.69±1.28$^{\#\&}$	5.22±0.16$^{\#\&}$
E组	30.01±1.18$^{\#\&\blacktriangle}$	6.12±0.11$^{\#\&\blacktriangle}$
F组	36.88±1.43$^{\triangle}$	4.81±0.13$^{\triangle}$
F值	234.010	823.609
P值	＜0.001	＜0.001

注：与 A 组相比，*$P < 0.05$；与 B 组相比，$^{\#}P < 0.05$；与 C 组相比，$^{\&}P < 0.05$；与 D 组相比，$^{\blacktriangle}P < 0.05$；与 E 组相比，$^{\triangle}P < 0.05$。

Note: *vs* A group, *$P < 0.05$; *vs* B group, $^{\#}P < 0.05$; *vs* C group, $^{\&}P < 0.05$; *vs* D group, $^{\blacktriangle}P < 0.05$; *vs* E group, $^{\triangle}P < 0.05$.

2.2 海马组织病理学的影响

A 组神经元排列整齐紧密，胞质和细胞核饱满清晰；B 组神经元排列杂乱松散，细胞体积变小，核凝聚和细胞质减少；与 B 组相比，C ～ E 组大鼠神经元排列紊乱及细胞形态变化（体积变小、核凝聚和细胞质减少）有所改善；与 E 组相比，F 组大鼠神经元排列紊乱及细胞形态变化（体积变小、核凝聚和细胞质减少）严重，见图 1。

2.3 瑞马唑仑对大鼠海马组织中 NSE、IL-6、S-100β、TNF-α 水平的影响

与 A 组相比，B 组 NSE、IL-6、S-100β 以及 TNF-α 水平较高（$P < 0.05$）；与 B 组相比，C ～ E 组 NSE、IL-6、S-100β 以及 TNF-α 水平较低（$P < 0.05$）；与 E 组相比，F 组 NSE、S-100β、IL-6 以及 TNF-α 水平较高（$P < 0.05$），见表 2。

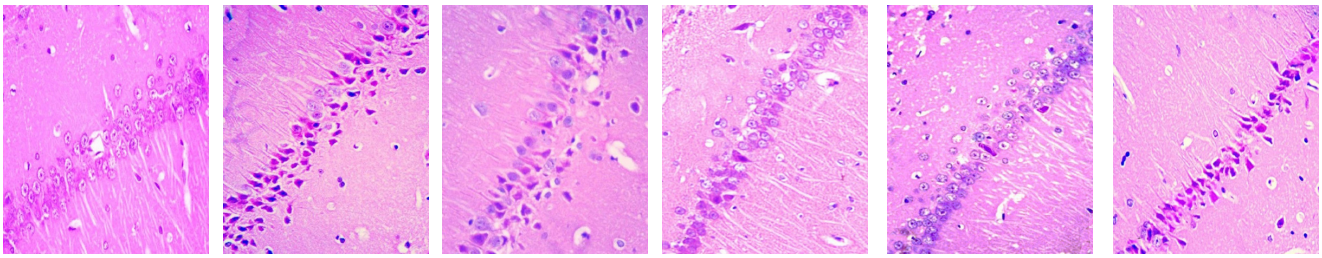
表 2 NSE、S-100β、IL-6 以及 TNF-α 水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n = 6$）

Table 2 Comparison of NSE, S-100β, IL-6 and TNF-α levels（$\bar{x}\pm s$, $n=6$）

组别	NSE/pg·ml^{-1}	S-100β/pg·ml^{-1}	IL-6/pg·ml^{-1}	TNF-α/pg·ml^{-1}
A 组	5.18±0.21	0.31±0.02	71.15±2.95	18.81±0.69
B 组	26.67±1.32*	2.59±0.11*	151.52±5.88*	71.72±3.14*
C组	21.78±1.01$^{\#}$	2.04±0.12$^{\#}$	132.76±4.69$^{\#}$	62.73±3.09$^{\#}$
D组	16.67±0.78$^{\#\&}$	1.36±0.14$^{\#\&}$	112.25±4.14$^{\#\&}$	51.52±2.18$^{\#\&}$
E组	9.88±0.41$^{\#\&\blacktriangle}$	0.83±0.07$^{\#\&\blacktriangle}$	90.65±3.63$^{\#\&\blacktriangle}$	30.34±1.62$^{\#\&\blacktriangle}$
F组	18.03±0.71$^{\triangle}$	1.77±0.15$^{\triangle}$	121.22±5.08$^{\triangle}$	53.36±2.14$^{\triangle}$
F值	538.238	334.720	248.683	448.782
P值	＜0.001	＜0.001	＜0.001	＜0.001

注：与 A 组相比，*$P < 0.05$；与 B 组相比，$^{\#}P < 0.05$；与 C 组相比，$^{\&}P < 0.05$；与 D 组相比，$^{\blacktriangle}P < 0.05$；与 E 组相比，$^{\triangle}P < 0.05$。

Note: *vs* A group, *$P < 0.05$; *vs* B group, $^{\#}P < 0.05$; *vs* C group, $^{\&}P < 0.05$; *vs* D group, $^{\blacktriangle}P < 0.05$; *vs* E group, $^{\triangle}P < 0.05$.



A 组　B 组　C 组　D 组　E 组　F 组

图 1 HE 染色（×400）

Figure 1 HE staining（×400）

2.4 海马组织中小胶质细胞活化影响

B 组 IBA-1 阳性细胞数高于 A 组（$P < 0.05$）；C ～ E 组 IBA-1 阳性细胞数低于 B 组（$P < 0.05$）；与 E 组相比，F 组大鼠海马组织中 IBA-1 阳性细胞数升高（$P < 0.05$），见图 2、表 3。

表 3 IBA-1 阳性细胞数比较（$\bar{x}\pm s$，$n = 6$）

Table 3 Comparison of the number of IBA-1 positive cells（$\bar{x}\pm s$, $n=6$）

组别	IBA-1 阳性细胞数 / 个
A 组	2.30±0.11
B 组	6.69±0.25*
C组	5.43±0.19$^{\#}$
D组	4.36±0.16$^{\#\&}$
E组	3.22±0.13$^{\#\&\blacktriangle}$
F组	4.76±0.14$^{\triangle}$
*F*值	509.042
*P*值	＜0.001

注：与 A 组相比，*$P < 0.05$；与 B 组相比，$^{\#}P < 0.05$；与 C 组相比，$^{\&}P < 0.05$；与 D 组相比，$^{\blacktriangle}P < 0.05$；与 E 组相比，$^{\triangle}P < 0.05$。

Note: *vs* A group, *$P < 0.05$; *vs* B group, $^{\#}P < 0.05$; *vs* C group, $^{\&}P < 0.05$; *vs* D group, $^{\blacktriangle}P < 0.05$; *vs* E group, $^{\triangle}P < 0.05$.

2.5 海马组织中神经元凋亡的影响

B 组神经元凋亡率高于 A 组（$P < 0.05$）；C ～ E 组神经元凋亡率低于 B 组（$P < 0.05$）；F 组神经元凋亡率高于 E 组（$P < 0.05$），见图 3、表 4。

表 4 神经元凋亡率比较（$\bar{x}\pm s$，$n = 6$）

Table 4 Comparison of neuronal apoptosis rate（$\bar{x}\pm s$, $n=6$）

组别	神经元凋亡率 /%
A 组	3.45±0.14
B 组	18.86±0.75*
C组	14.46±0.61$^{\#}$
D组	10.88±0.43$^{\#\&}$
E组	5.89±0.19$^{\#\&\blacktriangle}$
F组	12.26±0.44$^{\triangle}$
*F*值	833.519
*P*值	＜0.001

注：与 A 组相比，*$P < 0.05$；与 B 组相比，$^{\#}P < 0.05$；与 C 组相比，$^{\&}P < 0.05$；与 D 组相比，$^{\blacktriangle}P < 0.05$；与 E 组相比，$^{\triangle}P < 0.05$。

Note: *vs* A group, *$P < 0.05$; *vs* B group, $^{\#}P < 0.05$; *vs* C group, $^{\&}P < 0.05$; *vs* D group, $^{\blacktriangle}P < 0.05$; *vs* E group, $^{\triangle}P < 0.05$.

2.6 Cleaved Caspase-3 蛋白及 TLR4/MyD88/NF-κB 通路蛋白表达影响

与 A 组相比，B 组大鼠海马组织中 TLR4、Cleaved Caspase-3、MyD88 以及 p-NF-κB p65 蛋白升高（$P < 0.05$）；与 B 组相比，C ～ E 组 TLR4、MyD88、Cleaved Caspase-3 以及 p-NF-κB p65 蛋白降低（$P < 0.05$）；与 E 组相比，F 组 TLR4、MyD88、Cleaved Caspase-3 以及 p-NF-κB p65 蛋白升高（$P < 0.05$），见图 4、表 5。

表 5 TLR4、Cleaved Caspase-3、MyD88 以及 p-NF-κB p65 蛋白比较（$\bar{x}\pm s$，$n = 6$）

Table 5 Comparison of TLR4, Cleaved Caspase-3, MyD88, and p-NF-κB p65 proteins（$\bar{x}\pm s$, $n=6$）

组别	Cleaved Caspase-3/GAPDH	TLR4/GAPDH	MyD88/GAPDH	p-NF-κB p65/NF-κB p65
A 组	0.75±0.06	0.54±0.04	0.33±0.02	0.15±0.01
B 组	1.91±0.17*	1.56±0.16*	1.06±0.15*	0.78±0.06*
C组	1.63±0.12$^{\#}$	1.23±0.14$^{\#}$	0.81±0.07$^{\#}$	0.66±0.05$^{\#}$
D组	1.31±0.14$^{\#\&}$	1.02±0.11$^{\#\&}$	0.64±0.05$^{\#\&}$	0.51±0.05$^{\#\&}$
E组	0.99±0.09$^{\#\&\blacktriangle}$	0.79±0.06$^{\#\&\blacktriangle}$	0.46±0.04$^{\#\&\blacktriangle}$	0.29±0.02$^{\#\&\blacktriangle}$
F组	1.51±0.14$^{\triangle}$	1.11±0.12$^{\triangle}$	0.70±0.06$^{\triangle}$	0.58±0.04$^{\triangle}$
*F*值	69.462	58.450	67.565	186.359
*P*值	＜0.001	＜0.001	＜0.001	＜0.001

注：与 A 组相比，*$P < 0.05$；与 B 组相比，$^{\#}P < 0.05$；与 C 组相比，$^{\&}P < 0.05$；与 D 组相比，$^{\blacktriangle}P < 0.05$；与 E 组相比，$^{\triangle}P < 0.05$。

Note: *vs* A group, *$P < 0.05$; *vs* B group, $^{\#}P < 0.05$; *vs* C group, $^{\&}P < 0.05$; *vs* D group, $^{\blacktriangle}P < 0.05$; *vs* E group, $^{\triangle}P < 0.05$.

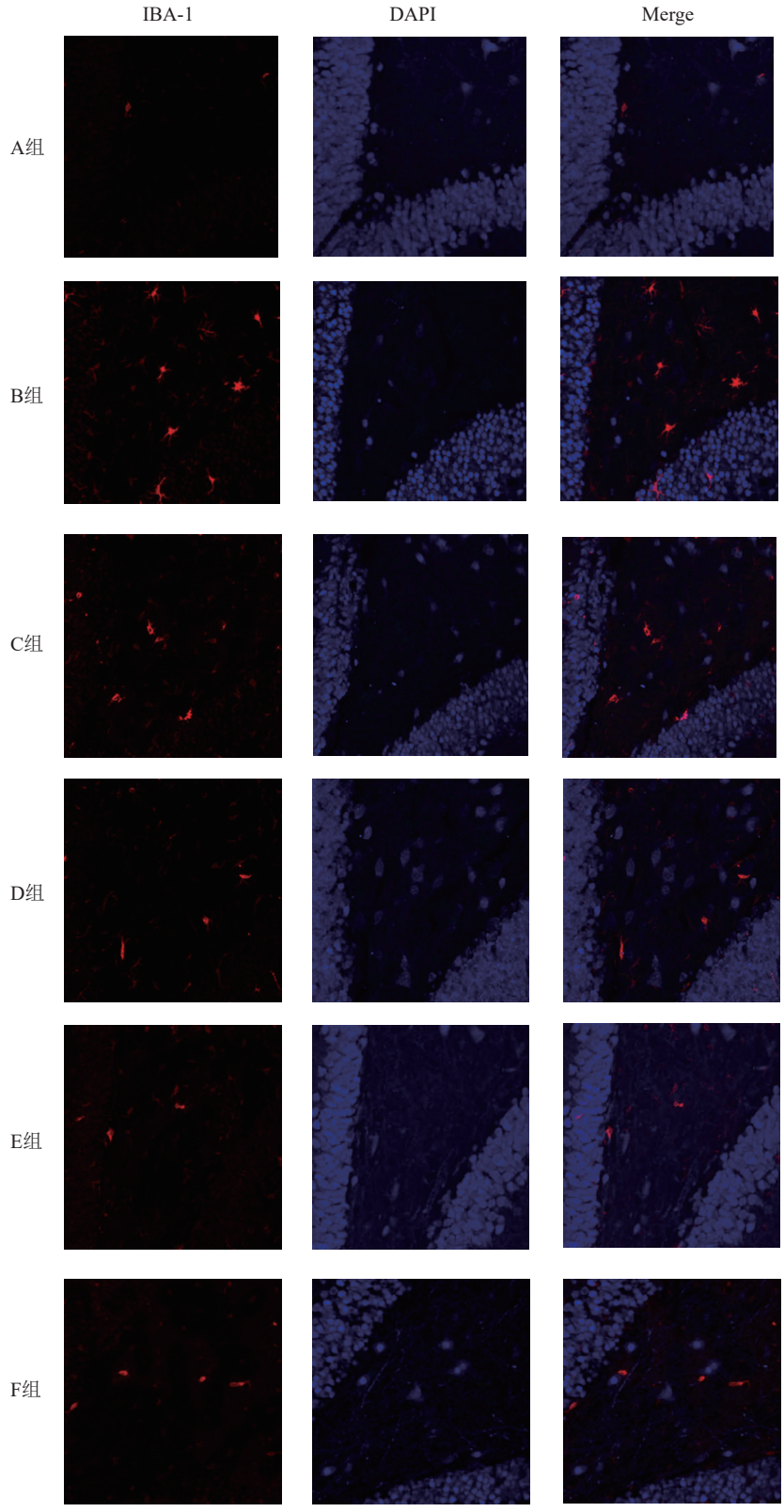


图 2　免疫荧光染色检测 IBA-1 表达（×200）

Figure 2　Immunofluorescence staining detection IBA - 1 expression（×200）

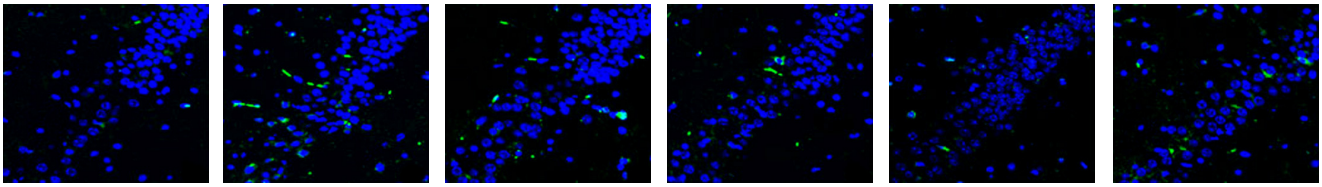


图 3　TUNEL 染色（×400）
Figure 3　TUNEL staining（×400）

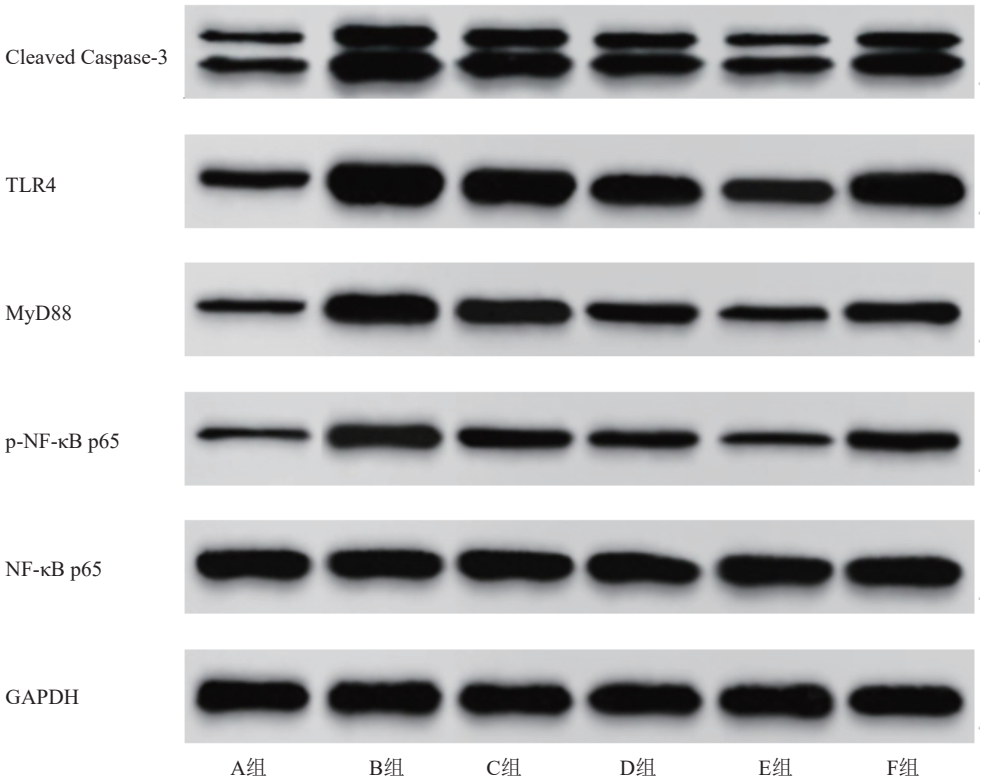


图 4　Cleaved Caspase-3、TLR4、MyD88 以及 p-NF-κB p65 蛋白表达比较
Figure 4　Comparison of Cleaved Caspase-3, TLR4, MyD88, and p-NF-κB p65 proteins expression

3　讨论

POCD 主要表现为手术和麻醉后认知功能下降，既往研究显示，七氟烷麻醉患者术后的认知功能明显差于术前[12]。此外，NSE、S-100β 是脑损伤的标志物，其指标水平越高，表明脑损伤程度越严重[13]；海马体作为吸入七氟烷的主要作用部位，与认知功能密切相关[14]。本研究结果显示，与 A 组相比，B 组大鼠穿越平台数减少，逃避潜伏期延长，海马组织中神经元排列杂乱松散，细胞体积变小，核凝聚和细胞质减少，NSE、S-100β 水平升高，表明七氟烷处理的大鼠存在认知功能障碍及脑组织损伤，符合 POCD 的特征。有研究阐述，由小胶质细胞驱动的神经炎症是 POCD 的主要神经病理学标志，小胶质细胞是大脑中常驻的巨噬细胞，对脑损伤反应

迅速，并发生明显的形态变化，活化的小胶质细胞通过分泌促炎细胞因子如 TNF-α、IL-6 促进神经炎症[15—17]；七氟烷可诱导神经元凋亡，这与 POCD 的发生密切相关[18]。本研究显示，与 A 组相比，B 组大鼠海马组织中小胶质细胞标志物 IBA-1 阳性细胞数升高，海马组织中 IL-6、TNF-α 水平、神经元凋亡率及促凋亡蛋白 Cleaved Caspase-3 表达升高，表明经七氟烷处理后，老年大鼠海马组织中小胶质细胞过度活化促进神经炎症、神经元凋亡的发生。提示抑制神经炎症、神经元凋亡可能是改善 POCD 的有效途径之一。

瑞马唑仑可减少神经元兴奋，从而实现体内镇静作用[19]。据报道，瑞马唑仑可减轻接受肺叶切除术的老年肺癌患者 POCD[20]；瑞马唑仑可改善脓毒症大鼠神经炎症，进而改善认知功能障碍[21]。本研究发现，瑞马唑仑可呈剂量依赖性抑制七氟烷处理的老年大鼠小胶质细胞过度活化、神经炎症及神经元凋亡，进而改善认知功能障碍，提示瑞马唑仑可能成为治疗 POCD 的潜在有效药物之一。

TLR4 是一种参与炎症过程的重要跨膜受体，其可通过 MyD88 通路激活转录因子 NF-κB，最终诱导炎症细胞因子的产生，如 TNF-α、IL-6，进而介导炎症反应[22]。据报道，阻断 TLR4/MyD88/NF-κB 信号通路可缓解老年小鼠 POCD[23]。与本研究结果基本一致。本研究发现，瑞马唑仑可呈剂量依赖性抑制七氟烷处理的老年大鼠海马组织中 TLR4、MyD88 及 p-NF-κB p65 蛋白表达，笔者推测瑞马唑仑可能通过抑制 TLR4/MyD88/NF-κB 通路改善七氟烷诱导的老年大鼠认知功能障碍。本试验采用 TLR4 激活剂 RS09 进行回复实验，结果显示，RS09 逆转高剂量瑞马唑仑对七氟烷诱导的老年大鼠认知功能障碍的改善作用。

4 结论

综上所述，瑞马唑仑可能通过抑制 TLR4/MyD88/NF-κB 通路改善七氟烷诱导的老年大鼠认知功能障碍。瑞马唑仑可能成为治疗 POCD 的潜在有效药物之一，为 POCD 的治疗提供新的参考依据。

参考文献：

[1] ZHANG J, WANG Z, CONG K, *et al*. Phoenixin-20 ameliorates sevoflurane inhalation-induced post-operative cognitive dysfunction in rats via activation of the PKA/CREB signaling[J]. Aging(Albany NY), 2023, 15(24): 14666-14676.

[2] SUN Y, WANG Y, YE F, *et al*. SIRT1 activation attenuates microglia-mediated synaptic engulfment in postoperative cognitive dysfunction[J]. Front Aging Neurosci, 2022, 14: 943842.

[3] LV G, WANG W, SUN M, *et al*. Inhibiting specificity protein 1 attenuated sevoflurane-induced mitochondrial stress and promoted autophagy in hippocampal neurons through PI3K/Akt/mTOR and α7-nAChR signaling[J]. Neurosci Lett, 2023, 794: 136995.

[4] DUAN GY, DUAN ZX, CHEN H, *et al*. Cognitive function and delirium following sevoflurane or propofol anesthesia for valve replacement surgery: a multicenter randomized controlled trial[J]. Kaohsiung J Med Sci, 2023, 39(2): 166-174.

[5] ZHOU Y, ZHAO C, TANG YX, *et al*. Efficacy and safety of remimazolam in bronchoscopic sedation: a meta-analysis[J]. World J Clin Cases, 2024, 12(6): 1120-1129.

[6] SUN Y, ZHANG J, FENG S. Remimazolam supplemented to general anesthesia alleviates stress and cognitive impairment in elder patients after hip surgery[J]. Psychiatry Investig, 2023, 20(4): 301-306.

[7] LI Y, LIU L, TIAN Y, *et al*. Rapamycin improves sevoflurane-induced cognitive dysfunction in aged rats by mediating autophagy through the TLR4/MyD88/NF-κB signaling pathway[J]. Mol Med Rep, 2019, 20(4): 3085-3094.

[8] 王东亚, 乔丹, 陈炜佳, 等. 瑞马唑仑对颅脑损伤大鼠脑组织损伤及TLR4/MyD88/NF-κB通路的影响[J]. 河北医学, 2024, 30(2): 177-182.

[9] 邹佳芮, 陈克研, 张振. 5-HT1A受体拮抗剂对七氟烷致老年认知功能障碍模型大鼠突触可塑性的作用及其机制[J]. 中国医科大学学报, 2024, 53(1): 60-66.

[10] 赵娟, 陈金权. 瑞马唑仑对老年大鼠海马B淋巴细胞瘤-2、一氧化氮合酶蛋白表达及神经元凋亡和认知功能的影响[J]. 陕西医学杂志, 2022, 51(3): 289-292.

[11] 王喜梅, 单艳华, 徐雅芳, 等. 柴胡皂苷D对脑出血大鼠神经保护作用的机制研究[J]. 临床神经病学杂志, 2023, 36(3): 208-215.

[12] ZHONG Y, ZHAO P, ZHANG C, *et al*. NUDT21 relieves sevoflurane-induced neurological damage in rats by down-regulating LIMK2[J]. Open Life Sci, 2023, 18(1): 20220486.

[13] DENIZ MN, SEZER E, TETIK A, *et al*. Evaluation of the brain cellular damage during liver transplantations[J]. Niger J Clin Pract, 2023, 26(8): 1063-1068.

[14] SHEN Q, JIANG Y, JIA X, *et al*. Amelioratory effect of melatonin on cognition dysfunction induced by sevoflurane anesthesia in aged mice[J]. Iran J Pharm Res, 2023, 21(1): e133971.

[15] ZHU Q, HUANG Y, ZHU X, *et al*. Mannose-coated superparamagnetic iron oxide nanozyme for preventing postoperative cognitive dysfunction[J]. Mater Today Bio, 2023, 19: 100568.

[16] SINNER P, PECKERT-MAIER K, MOHAMMADIAN H, *et al*. Microglial expression of CD83 governs cellular activation and restrains neuroinflammation in experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 4601.

[17] ZUO C, MA J, PAN Y, *et al*. Isoflurane and sevoflurane induce cognitive impairment in neonatal rats by inhibiting neural stem cell development through microglial activation, neuroinflammation, and suppression of VEGFR2 signaling pathway[J]. Neurotox Res, 2022, 40(3): 775-790.

[18] ZHOU Q, ZHENG Z, WANG X, *et al*. TaVNS alleviates sevoflurane-induced cognitive dysfunction in aged rats via activating basal forebrain cholinergic neurons[J]. Neurochem Res, 2023, 48(6): 1848-1863.

[19] LIAO YQ, MIN J, WU ZX, *et al*. Comparison of the effects of remimazolam and dexmedetomidine on early postoperative cognitive function in elderly patients with gastric cancer[J]. Front Aging Neurosci, 2023, 15: 1123089.

[20] KUANG Q, ZHONG N, YE C, *et al*. Propofol versus remimazolam on cognitive function, hemodynamics, and oxygenation during one-lung ventilation in older patients undergoing pulmonary lobectomy: a randomized controlled trial[J]. J Cardiothorac Vasc Anesth, 2023, 37(10): 1996-2005.

[21] ZHOU Z, YANG Y, WEI Y, *et al*. Remimazolam attenuates LPS-derived cognitive dysfunction via subdiaphragmatic vagus nerve target α7nAChR-mediated Nrf2/HO-1 signal pathway[J]. Neurochem Res, 2024, 49(5): 1306-1321.

[22] WEI X, ZHANG F, CHENG D, *et al*. Free heme induces neuroinflammation and cognitive impairment by microglial activation via the TLR4/MyD88/NF-κB signaling pathway[J]. Cell Commun Signal, 2024, 22(1): 16.

[23] YAO Y, LIN D, CHEN Y, *et al*. Fluoxetine alleviates postoperative cognitive dysfunction by attenuating TLR4/MyD88/NF-κB signaling pathway activation in aged mice[J]. Inflamm Res, 2023, 72(6): 1161-1173.

（编辑：沈佳婕）