右美托咪定调控亲环素A/基质金属蛋白酶-9通路对老年小鼠术后谵妄的防治作用及机制

张　娜[1],刘文娜[1],孟　华[1],陈志良[1],赵少静[2*]

1.华北医疗健康集团邢台总院麻醉科,邢台　054000;2.华北医疗健康集团邢台总院内科二病区,邢台　054000

摘要:目的　探讨右美托咪定(dexmedetomidine,Dex)对老年雄性小鼠术后谵妄(postoperative delirium,POD)的干预效果及其潜在的作用机制。**方法**　将60只小鼠采用随机数字表法分为对照组、模型组、Dex低剂量(low-dose Dex,Dex-L)组、Dex高剂量(high-dose Dex,Dex-H)组、Dex+环孢素A(cyclosporin A,CsA)组、CsA组,每组10只。采用旷场实验、Y迷宫实验评价小鼠的谵妄相关行为学表现;尼氏染色观察海马区神经元组织形态;透射电镜观察神经元线粒体超微结构;使用商品化试剂盒测定海马组织活性氧(reactive oxygen species,ROS)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)、白细胞介素-10(interleukin-10,IL-10)、白细胞介素-1β(interleukin-1β,IL-1β)含量及基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9,MMP-9)活性;蛋白免疫印迹法检测海马突触后密度蛋白95(postsynaptic density protein 95,PSD95)、突触素(synaptophysin,SYP)、裂解的半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶-3(cleaved-cysteinyl aspartate-specific proteinase-3,cleaved caspase-3)、亲环素A(cyclophilin A,CypA)和MMP9蛋白的表达水平。**结果**　与对照组比较,模型组神经元尼氏小体染色浅淡、轮廓模糊,线粒体结构有明显损坏;旷场中央格停留时间增加;海马组织ROS、TNF-α、IL-1β含量、MMP-9活性,Cleaved caspase-3、CypA、MMP-9蛋白表达均显著升高;旷场跨格次数,Y迷宫X臂进入次数和停留时间,海马组织IL-10含量,PSD95、SYP蛋白表达均显著降低($P<0.05$)。与模型组比较,Dex-L组、Dex-H组、Dex-H+CsA组、CsA组神经元尼氏小体染色形态和线粒体结构均有所改善;旷场中央格停留时间缩短,海马组织ROS、TNF-α、IL-1β含量,MMP-9活性,cleaved caspase-3、CypA、MMP9蛋白表达均显著降低;旷场跨格次数,Y迷宫X臂进入次数和停留时间,海马组织IL-10含量,PSD95、SYP蛋白表达均显著升高($P<0.05$)。与Dex-H组比较,Dex+CsA组各项观测指标的改善效果均更为显著($P<0.05$);CsA组小鼠各项检测指标比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论**　Dex能够抑制炎症反应、氧化应激水平,缓解海马神经元损伤,改善POD行为,其防控老年小鼠POD的作用机制可能与抑制CypA/MMP-9信号通路相关。

关键词:右美托咪定;术后谵妄;亲环素A/基质金属蛋白酶-9信号通路;海马;氧化应激;神经炎症

DOI:10.3969/j.issn.1004-2407.2026.05.013

CSTR:32412.14.2026.05.013

中图分类号:R971　　**文献标志码:**A　　**文章编号:**1004-2407(2026)05-0095-08

Preventive and therapeutic effects of dexmedetomidine on postoperative delirium in aged mice *via* the regulation of the cyclophilin A/matrix metalloproteinase-9 pathway and its mechanism

ZHANG Na[1], LIU Wenna[1], MENG Hua[1], CHEN Zhiliang[1], ZHAO Shaojing[2*]

1. Department of Anesthesiology, Xingtai General Hospital, North China Medical Health Group, Xingtai 054000, China; 2. The Second Department of Internal Medicine, Xingtai General Hospital, North China Medical Health Group, Xingtai 054000, China

Abstract: Objective To investigate the preventive and therapeutic effects of dexmedetomidine (Dex) on postoperative delirium (POD) in aged male mice and its underlying mechanism. **Methods** Mice were randomly divided into control group, model group, low-dose Dex group (Dex-L), high-dose Dex group (Dex-H), Dex+cyclosporine A (CsA) group, and CsA group. Open field test and Y-maze test were performed to evaluate delirium-like behaviors. Nissl staining was used to observe hippocampal morphology, and electron microscopy was used to observe neuronal mitochondrial morphology. The levels of reactive oxygen species (ROS), tumor necrosis factor-alpha (TNF-α), interleukin-10 (IL-10), interleukin-1β (IL-1β), and the activity of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in hippocampal tissue were detected by commercial kits. The expression of postsynaptic density protein 95 (PSD95), synaptophysin (SYP), cleaved cysteinyl aspartate-specific proteinase-3 (cleaved caspase-3), cyclophilin A (CypA), and matrix metalloproteinase-9 (MMP9) proteins in hippocampal tissue samples was assessed *via* Western blot analysis. **Results** Compared with the control group, the model group showed pale and faint Nissl body staining and blurred contours of neurons, along with obvious mitochondrial structural damage. The time spent in the central zone in the open field test was increased. The levels of ROS, TNF-α,

收稿日期:2025-03-05

基金项目:邢台市重点研发计划自筹项目(编号:2025ZC150)

*通信作者:赵少静。E-mail:xxddo16@163.com

and IL-1β, as well as MMP-9 activity and the protein expression of cleaved caspase-3, CypA, and MMP-9 in hippocampal tissue, were significantly increased. Meanwhile, the number of crossings in the open field test, the number of entries and time spent in the X arm of the Y-maze, the level of IL-10 in hippocampal tissue, and the protein expression of PSD95 and SYP were significantly decreased ($P<0.05$). Compared with the model group, the Dex-L, Dex-H, Dex-H+CsA, and CsA groups all showed improvements in Nissl body staining morphology and mitochondrial structure of neurons, shortened time spent in the central zone in the open field test, and significantly decreased levels of ROS, TNF-α, and IL-1β, MMP-9 activity, and protein expression of cleaved caspase-3, CypA, and MMP-9 in hippocampal tissue, while the number of crossings in the open field test, the number of entries and time spent in the X arm of the Y-maze, the level of IL-10 in hippocampal tissue, and the protein expression of PSD95 and SYP were significantly increased ($P<0.05$). Compared with the Dex-H group, the Dex+CsA group showed more significant improvements in all observed parameters ($P<0.05$), while no statistically significant differences was found in any of the measured parameters in the CsA group ($P>0.05$). **Conclusion** Dex could inhibit inflammatory responses and oxidative stress levels, alleviate hippocampal neuronal damage, and improve POD-related behaviors. The mechanism underlying its preventive effect on POD in aged mice may be associated with the inhibition of the CypA/MMP-9 signaling pathway.

Key words: dexmedetomidine; postoperative delirium; cyclophilin A/matrix metalloproteinase-9 signaling pathway; hippocampus; oxidative stress; neuroinflammation

术后谵妄(postoperative delirium,POD)是外科术后以注意力下降、意识水平紊乱和认知功能异常为主要特征的急性神经精神综合征,老年人群的发病率较高[1]。POD患者的主要临床表现为烦躁不安、行为游走、情绪恐惧、言语增多、警觉性异常、情感冷漠、行为退缩、神经认知障碍和注意力缺陷等,可加重基础疾病,增加患者死亡风险,阻碍患者术后功能恢复、损害长期生存质量,也持续加重家庭照料压力与社会医疗经济负担[2]。目前,POD的具体发病机制尚未完全阐明,临床缺乏针对性的有效防治药物和治疗措施[3]。据此,阐明POD的病理发生机制并筛选新型高效干预药物,已成为优化其临床防治策略的关键科学问题。右美托咪定(dexmedetomidine,Dex)属高选择性α_2-肾上腺素能受体激动剂,具有镇痛、抗炎、镇静、神经保护等多重药理活性[4]。Cao S等[5]研究发现,Dex可有效降低POD的发病率和病情严重程度。Jacob Y等[6]研究表明,Dex可通过调控胆碱能抗炎通路缓解POD病理损伤。现阶段Dex对POD的改善作用已得到初步证实,但其具体分子作用机制仍有待进一步阐释。亲环素A(cyclophilin A,CypA)/基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9,MMP-9)通路是经典的炎症相关信号通路,广泛参与POD等多种神经系统疾病的发生、发展过程。Liu L F等[7]研究表明,CypA/MMP-9通路异常激活可诱导老年术后小鼠血脑屏障损伤,促进POD的发生、发展。Hu Y等[8]研究证实,外科手术刺激可激活MMP-9,诱发老年小鼠神经炎症、突触功能障碍及血脑屏障破坏,最终介导POD发病。现有研究发现,CypA/MMP-9通路可能参与POD的病理进展,但Dex改善POD的作用是否与调控该通路有关尚不明确。因此,本研究探究Dex对老年小鼠术后POD的防治作用及相关机制,明确其是否通过调控CypA/MMP-9通路发挥保护神经、改善谵妄的作用。

1 仪器与材料

1.1 仪器

GX53型光学显微镜(上海巴贯仪器科技有限公司);KH-LQ3000型冷冻组织切片机(湖北孝感阔海医疗科技有限公司);SUV8700型扫描电子显微镜(上海西努光学科技有限公司)。

1.2 试剂

Dex(批号20260354H,质量分数为99%,上海赢瑞生物医药科技有限公司);CypA/MMP-9通路抑制剂——环孢素A(cyclosporin A,CsA)(批号为HY-B0579,质量分数为99.90%,美国MCE公司);活性氧(reactive oxygen species,ROS)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)、白细胞介素-10(interleukin-10,IL-10)、白细胞介素-1β(interleukin-1β,IL-1β)酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbnent assay,ELISA)试剂盒(批号分别为E004-1-1、H052-1-2、H009-1-2、H002-1-1),基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9,MMP-9)检测试剂盒(批号为H146-4-2),均购自南京建成生物工程研究所有限公司;突触后密度蛋白95(postsynaptic density protein 95,PSD95)、突触素(synaptophysin,SYP)、裂解的半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶-3(cleaved-cysteinyl aspartate-specific proteinase-3,cleaved caspase-3)、CypA、MMP-9、β-肌动蛋白(β-actin)一抗(批号分别为ab2723、ab263862、ab32042、ab138497、ab76003、ab8227)、免

疫球蛋白G(Immunoglobulin G,IgG)二抗(批号为ab6789),均购自英国Abcam公司。

1.3　实验动物

60只18月龄无特定病原体(specific pathogen free,SPF)级雄性C57BL/6小鼠,由山东艾茂达康生命科学有限公司供应,生产许可证编号:SCXK(鲁)2023-0010。小鼠饲养环境:环境温度(22±2)℃,昼夜光照周期为12 h,相对湿度(60%±5%),小鼠自由摄食、饮水。实验在博晖生物制药股份有限公司进行,本研究经博晖生物制药股份有限公司动物伦理委员会审核、批准。

2　方法

2.1　POD模型的建立与动物分组

采用随机数字表法将小鼠分为对照组、模型组、Dex低剂量组(low-dose Dex,Dex-L)、Dex高剂量组(high-dose Dex,Dex-H)、Dex+CsA组、CsA组,每组10只。所有药物均于手术麻醉前30 min给药:Dex-L组、Dex-H组小鼠分别经尾静脉注射25、50 $\mu g \cdot kg^{-1}$ Dex[5];Dex+CsA组小鼠尾静脉注射50 $\mu g \cdot kg^{-1}$ Dex,同时腹膜内注射10 $mg \cdot kg^{-1}$ CsA溶液[7];CsA组小鼠腹膜内注射10 $mg \cdot kg^{-1}$ CsA溶液;对照组和模型组小鼠采用相同方式注射等体积生理盐水。除对照组外,其余各组小鼠均构建POD模型:将小鼠置于麻醉箱内,采用体积分数3%七氟烷联合体积分数60%氧气进行吸入麻醉,待小鼠翻正反射消失后固定体位,于剑突至耻骨联合上方0.5 cm处作腹部正中切口,暴露腹部脏器2 min后逐层缝合腹部切口,伤口涂抹奥布卡因软膏镇痛,持续麻醉2 h,待小鼠自然苏醒后正常饲喂、给水[9]。

2.2　旷场实验和Y迷宫实验检测小鼠谵妄样行为

手术后48 h开展行为学实验,评估小鼠的谵妄相关行为学表现。

2.2.1　旷场实验　将小鼠置于规格为60 cm×60 cm×60 cm旷场箱的中央区域,自由活动5 min,使用ANY maze动物行为分析系统统计小鼠中央区域停留时间、跨格次数和僵直时间。

2.2.2　Y迷宫实验　Y迷宫分为起始臂(Q臂)、常规臂(T臂)和新异臂(X臂),Q臂和T臂在实验中始终打开;X臂在训练阶段关闭,在测试阶段打开。训练阶段关闭X臂,将小鼠从Q臂放入迷宫,自由探索Q臂和T臂10 min,结束后将小鼠放回饲养笼;间隔2 h后进入测试阶段,开启X臂,将小鼠从Q臂放入,自由探索5 min,使用ANY maze软件记录小鼠X臂的进入次数、停留时间[10]。

2.3　样本的采集与处理

小鼠麻醉后脱颈处死,快速剥离完整脑组织。每组随机选取5只小鼠的脑组织,用于尼氏染色和透射电镜检测;剩余5只小鼠的脑组织用于炎症因子、氧化应激指标检测和蛋白免疫印迹实验。

2.4　尼氏染色观察小鼠海马组织的形态学变化

取经体积分数4%多聚甲醛浸泡固定48 h的小鼠脑组织,依次开展梯度乙醇脱水、石蜡浸蜡包埋,随后制备组织切片。切片使用尼氏染色试剂孵育10 min,采用含吐温-20的磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution with Tween 20,PBST)充分漂洗,再通过梯度乙醇脱水与二甲苯透明处理;中性树胶封片后,借助光学显微镜观察海马不同亚区神经元的形态结构和尼氏体的分布情况。

2.5　透射电镜观察海马神经元的超微结构

取小鼠脑组织,快速分离海马组织,清洗干净后剪取1～2 mm组织块,置于体积分数3%戊二醛溶液中固定3周,制备超薄切片,经醋酸铀-枸橼酸铅双染处理,利用透射电子显微镜观测各组小鼠海马神经元的超微形态及线粒体的形态结构变化。

2.6　海马组织ROS、炎症因子水平及MMP-9活性的检测

精密称取小鼠海马CA1区组织,加入对应裂解液在低温条件下充分匀浆,以3 000 $r \cdot min^{-1}$离心10 min,吸取上清液。严格按照各试剂盒说明书的操作步骤,依次加入反应试剂和终止试剂,测定样本吸光度,计算各组小鼠海马组织ROS、TNF-α、IL-10、IL-1β水平及MMP-9活性。

2.7　蛋白免疫印迹法检测小鼠海马组织相关蛋白的表达

精确称量小鼠海马CA1区组织标本,提取总蛋白并测定蛋白浓度。蛋白样品水浴变性后开展十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,转印至聚偏氟乙烯(polyvinylidene fluoride,PVDF)膜,室温条件下封闭2 h;加入PSD95、SYP、Cleaved caspase-3、CypA、MMP-9和内参β-actin一抗,4 ℃孵育过夜;清洗后加入对应二抗室温孵育,增强化学发光(enhanced chemiluminescence,ECL)化学发光试剂显影曝光。采用Image-Pro Plus图像软件分析蛋白条带灰度值,统计目标蛋白相对表达量。

2.8　统计学方法

采用Graphpad Prism 8.0.1软件对数据进行分析处理。计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,组内两两比较采用SNK-q检验方

法。$P<0.05$为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 Dex可有效改善小鼠术后谵妄样行为

与对照组比较，模型组小鼠旷场中央格停留时间显著延长，跨格次数、Y迷宫X臂进入次数和停留时间均显著减少（$P<0.05$）；小鼠僵直时间比较差异无统计学意义（$P>0.05$）。与模型组比较，Dex-L组、Dex-H组、Dex-H+CsA组和CsA组小鼠中央格停留时间均显著缩短，跨格次数、X臂进入次数和停留时间均显著增加（$P<0.05$）；小鼠僵直时间比较差异均无统计学意义（$P>0.05$）。与Dex-H组比较，Dex-H+CsA组小鼠中央格停留时间显著缩短，跨格次数、X臂进入次数和停留时间均显著增加（$P<0.05$）；小鼠僵直时间比较差异无统计学意义（$P>0.05$）；CsA组小鼠各项行为学指标与Dex-H组比较差异均无统计学意义（$P>0.05$）。见表1。

表1 各组小鼠旷场和Y迷宫实验行为学指标的比较（$\bar{x}\pm s$，n=10）

Tab. 1 Comparison of behavioral parameters in the open field and Y-maze tests in each group ($\bar{x}\pm s$, n=10)

组别	旷场实验			Y迷宫实验	
	中央格停留时间/s	跨格次数/次	僵直时间/s	X臂进入次数/次	X臂停留时间/s
对照组	9.38±1.24	87.50±10.63	85.64±21.32	23.70±3.13	62.58±7.16
模型组	31.67±4.59^{a}	40.80±5.31^{a}	82.51±18.49	9.50±1.72^{a}	34.21±3.87^{a}
Dex-L组	25.73±3.65^{b}	51.60±6.17^{b}	83.47±24.61	13.20±1.93^{b}	41.36±4.29^{b}
Dex-H组	18.94±3.27^{bc}	63.40±7.14^{bc}	84.73±23.54	17.10±2.23^{bc}	48.67±4.38^{bc}
Dex-H+CsA组	14.32±2.56^{bcd}	71.30±8.25^{bcd}	81.92±20.83	20.40±2.55^{bcd}	54.74±5.12^{bcd}
CsA组	18.26±2.93^{bc}	65.70±7.26^{bc}	83.26±22.78	17.30±2.16^{bc}	47.82±4.51^{bc}

注：与对照组比较，$^{a}P<0.05$；与模型组比较，$^{b}P<0.05$；与Dex-L组比较，$^{c}P<0.05$；与Dex-H组比较，$^{d}P<0.05$。

3.2 Dex可改善小鼠海马组织神经元形态损伤

对照组小鼠海马区神经元尼氏体着色较深，细胞形态完好，边界清晰。模型组小鼠海马组织神经元尼氏体染色浅淡、形态模糊，表明神经元存在明显损伤。与模型组比较，Dex-L组、Dex-H组、Dex-H+CsA组、CsA组小鼠海马组织神经元尼氏体形态均得到不同程度改善，其中Dex-H+CsA组小鼠神经元形态改善效果最为显著。见图1。

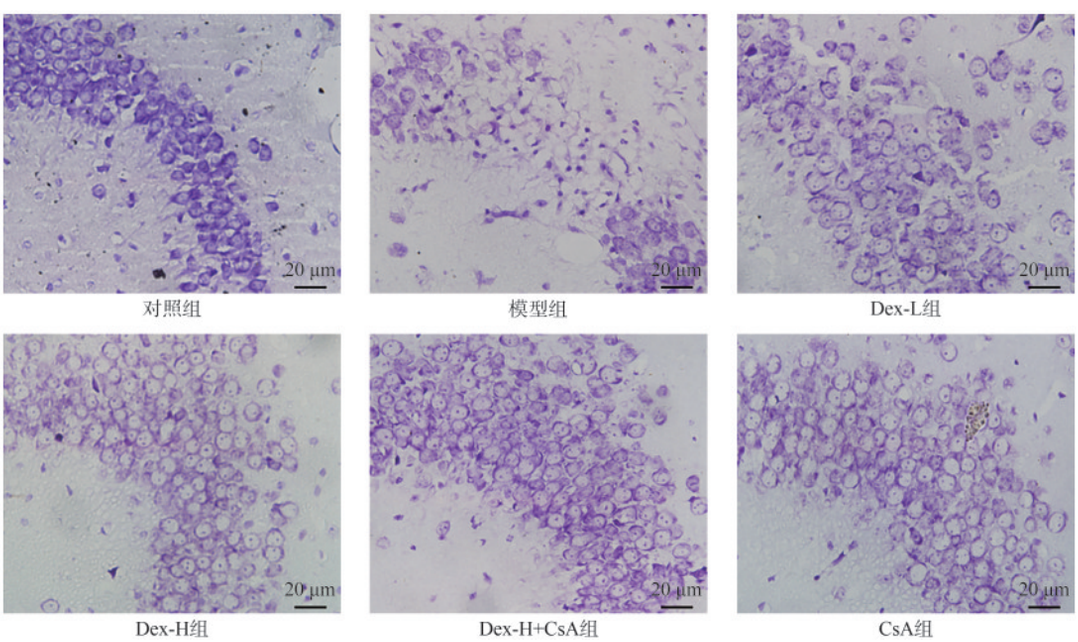


图1 各组海马组织神经元尼氏染色的结果

Fig. 1 Nissl staining results of hippocampal neurons in each group

3.3 Dex可改善小鼠海马神经元超微结构损伤

对照组小鼠海马神经元结构完整，线粒体形态正常、嵴结构清晰、基质致密；模型组小鼠海马神经元线粒体明显肿胀、基质密度降低、线粒体嵴数量减少且断裂缩短，超微结构损伤明显。与模型组比较，Dex-L组、Dex-H组、Dex-H+CsA组和CsA组小鼠

神经元线粒体结构损伤明显减轻，线粒体形态趋于正常，其中Dex-H＋CsA组小鼠神经元线粒体结构改善效果最显著。见图2。

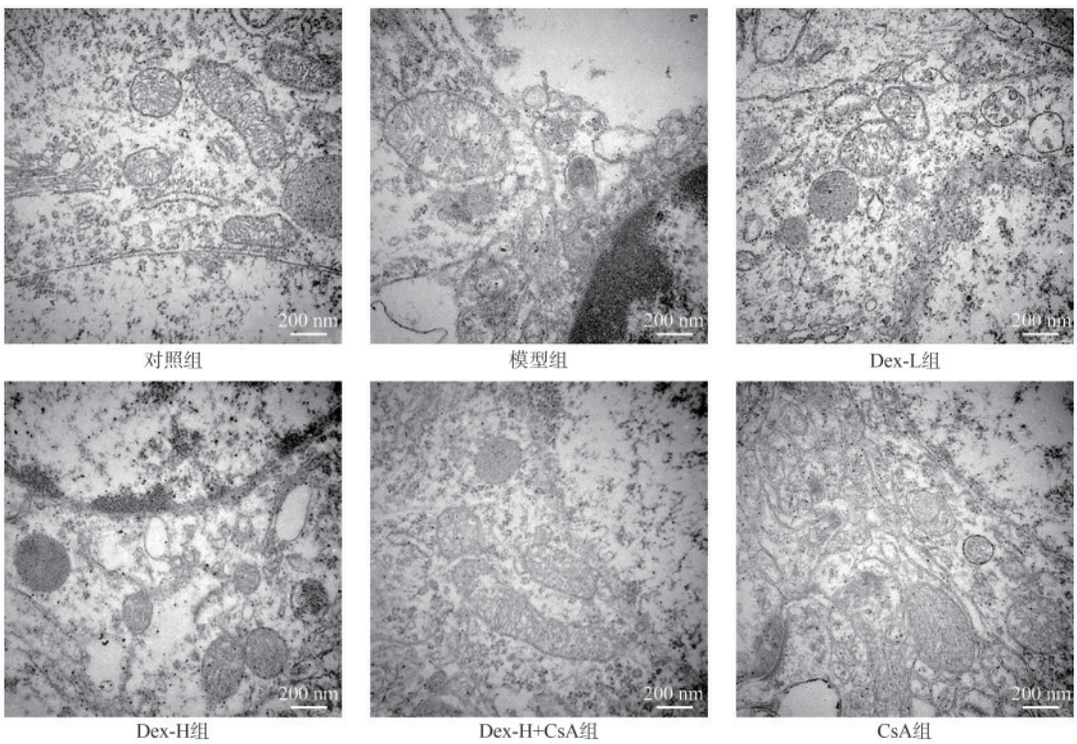


图2　各组小鼠海马神经元透射电镜超微结构

Fig. 2 Transmission electron microscopic ultrastructure of hippocampal neurons in each groups

3.4　Dex对小鼠海马组织ROS、炎症因子水平和MMP-9活性的影响

与对照组比较，模型组的IL-10水平显著降低，TNF-α、ROS、IL-1β水平和MMP-9活性均显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，Dex-L组、Dex-H组、Dex-H＋CsA组和CsA组的IL-10水平均显著升高，TNF-α、ROS、IL-1β水平和MMP-9活性均显著降低（$P<0.05$）。与Dex-H组比较，Dex-H＋CsA组的IL-10水平显著升高，TNF-α、ROS、IL-1β水平和MMP-9活性均显著降低（$P<0.05$）；CsA组各项检测指标与Dex-H组比较差异均无统计学意义（$P>0.05$）。见表2。

表2　各组小鼠海马组织ROS、TNF-α、IL-10、IL-1β水平和MMP-9活性的比较（$\bar{x}\pm s$，n=5）

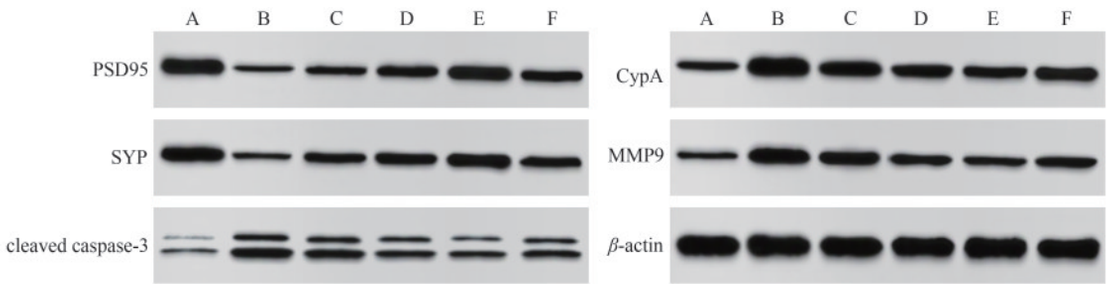
Tab. 2 Comparison of hippocampal levels of ROS, TNF-α, IL-10, IL-1β, and MMP-9 activity in each group ($\bar{x}\pm s$, n=5)

组别	ROS	TNF-α/（ng·mL^{-1}）	IL-10/（ng·mL^{-1}）	IL-1β/（ng·mL^{-1}）	MMP-9/（U·mL^{-1}）
对照组	91.26%±12.84%	35.43±4.62	146.58±16.72	24.84±3.73	0.14±0.03
模型组	236.47%±25.71%^{a}	159.37±18.56^{a}	41.56±6.37^{a}	86.57±9.16^{a}	3.82±0.29^{a}
Dex-L组	193.32%±18.63%^{b}	117.58±14.29^{b}	68.34±9.26^{b}	70.36±8.23^{b}	3.17±0.24^{b}
Dex-H组	152.64%±17.43%^{bc}	82.64±11.38^{bc}	94.29±13.82^{bc}	53.43±7.42^{bc}	2.36±0.18^{bc}
Dex-H＋CsA组	124.78%±13.57%^{bcd}	56.42±7.81^{bcd}	117.61±14.54^{bcd}	41.72±5.64^{bcd}	1.75±0.16^{bcd}
CsA组	156.29%±17.38%^{bc}	84.76±11.45^{bc}	92.47±12.63^{bc}	56.98±7.64^{bc}	2.48±0.21^{bc}

注：与对照组比较，$^{a}P<0.05$；与模型组比较，$^{b}P<0.05$；与Dex-L组比较，$^{c}P<0.05$；与Dex-H组比较，$^{d}P<0.05$。

3.5　Dex对小鼠海马组织相关蛋白表达水平的影响

与对照组比较，模型组的SYP、PSD95蛋白表达水平均显著降低，cleaved caspase-3、MMP9、CypA蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，Dex-L组、Dex-H组、Dex-H＋CsA组和CsA组的SYP、PSD95蛋白表达水平均显著升高，CypA、cleaved caspase-3、MMP9蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$）。与Dex-H组比较，Dex-H＋CsA组的SYP和PSD95蛋白表达水平均显著升高，CypA、cleaved caspase-3、MMP9蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$）。CsA组小鼠上述各蛋白表达水平与Dex-H组比较差异均无统计学意义（$P>0.05$）。见图3、表3。



注：A. 对照组；B. 模型组；C. Dex-L组；D. Dex-H组；E. Dex-H＋CsA组；F. CsA组。

图3 各组小鼠海马组织相关蛋白表达电泳图

Fig. 3 Electrophoretic blots of hippocampal protein expression in each group

表3 各组小鼠海马组织相关蛋白相对表达量的比较（$\bar{x}\pm s$，n=5）

Tab. 3 Comparison of relative protein expression levels in the hippocampus of mice in each group（$\bar{x}\pm s$，n=5）

分组	PSD95	SYP	CypA	MMP9	Cleaved caspase-3
对照组	0.82±0.09	0.87±0.11	0.36±0.05	0.24±0.03	0.19±0.03
模型组	0.21±0.03^{a}	0.25±0.03^{a}	1.14±0.13^{a}	0.90±0.11^{a}	0.76±0.09^{a}
Dex-L组	0.36±0.05^{b}	0.42±0.06^{b}	0.86±0.10^{b}	0.71±0.09^{b}	0.61±0.08^{b}
Dex-H组	0.51±0.06^{bc}	0.58±0.07^{bc}	0.67±0.08^{bc}	0.53±0.07^{bc}	0.47±0.06^{bc}
Dex-H＋CsA组	0.67±0.08^{bcd}	0.71±0.08^{bcd}	0.52±0.07^{bcd}	0.37±0.06^{bcd}	0.35±0.05^{bcd}
CsA组	0.52±0.07^{bc}	0.56±0.07^{bc}	0.68±0.09^{bc}	0.56±0.07^{bc}	0.48±0.06^{bc}

注：与对照组比较，$^{a}P<0.05$；与模型组比较，$^{b}P<0.05$；与Dex-L组比较，$^{c}P<0.05$；与Dex-H组比较，$^{d}P<0.05$。

4 讨论

POD是外科术后高发的中枢神经系统并发症，主要表现为术后意识障碍、认知功能障碍、睡眠-觉醒周期紊乱等[11]。随着人口老龄化加剧与外科手术技术的广泛应用，临床POD的发病率逐年攀升。现阶段POD的完整发病机制尚未完全明确，临床缺乏有效的预防和治疗措施[12]。因此深入探索POD的发病机制、开发新型有效治疗药物，对改善POD患者的预后具有重要临床意义。Dex作为临床常用的高选择性肾上腺素能受体激动剂，具有镇静、镇痛、抗焦虑的作用，广泛用于临床麻醉辅助治疗。近年的研究证实，Dex还具有显著的抗炎、保护神经作用，可有效降低心脏和非心脏外科手术患者术后POD的发生率[13]。Patel M等[14]研究表明，Dex可显著降低心脏手术患者术后POD的发生率，表明Dex对POD具有潜在的防治价值。

POD是麻醉和手术后发生的一种急性、波动性神经功能障碍，通常具有可逆性，主要表现为注意力、认知、情绪和精神行为异常，目前动物实验多通过评估实验动物注意力、意识状态和思维行为变化评价POD动物模型构建效果[15]。本研究联合采用旷场实验和Y迷宫实验评价小鼠谵妄样行为，结果显示，模型小鼠的中央格停留时间延长，跨格次数和进入X臂次数减少，X臂停留时间缩短，表明小鼠出现明显谵妄样行为，POD模型构建成功。而Dex干预可显著逆转小鼠的异常行为，改善术后认知与探索功能。外科手术或创伤可引发机体全身性炎症反应，大量炎症介质透过血脑屏障侵袭脑组织，诱导海马神经元损伤、突触结构破坏，进而损伤大脑学习和记忆功能，引发神经功能障碍，最终导致POD发生[16]。本研究结果显示，与对照组比较，模型组小鼠的促炎因子TNF-α、IL-1β水平均显著升高，抗炎因子IL-10水平显著降低，表明术后炎症失衡是介导POD的重要诱因；Dex干预可有效下调促炎因子、上调抗炎因子，抑制脑组织炎症反应。

大量研究证实，氧化应激失衡和线粒体功能障碍参与POD的病理进程，过量ROS产生可造成机体氧化还原稳态失衡，导致线粒体结构与功能障碍，最终介导神经元损伤及凋亡[10]。本研究结果显示，模型组小鼠的ROS水平显著升高，线粒体明显肿胀、结构破坏，超微结构损伤严重；Dex干预可有效降低脑组织ROS水平，修复线粒体结构形态，缓解氧化应激损伤。尼氏体是神经元蛋白质合成的重要结构，其形态与数量可直接反映神经元损伤程度。本研究尼氏染色结果显示，与对照组比较，模型组小鼠的神经元尼氏体染色浅淡且形态模糊，提示神经元损伤；与模型组比较，Dex干预组小鼠尼氏体染色形态有明显改善，提示Dex干预具有神经保护作用。PSD95和SYP为突触标志蛋白，其表达降低与认知功能障碍密切相关；Cleaved caspase-3是凋亡相关蛋白，可介

导神经元凋亡损伤[17]。本研究结果显示，与模型组比较，Dex可显著上调PSD95、SYP蛋白表达，抑制Cleaved caspase-3蛋白表达，表明Dex可通过改善突触功能、抑制神经元凋亡，缓解POD神经损伤。

CypA是具有促炎作用的特异性趋化白细胞因子，可特异性激活MMP家族蛋白；MMP-9作为锌依赖性内肽酶，可降解血脑屏障细胞外基质蛋白和紧密连接蛋白，破坏血脑屏障完整性，进而诱发中枢神经炎症与神经元损伤[18]。郑国玉等[19]研究表明，抑制CypA表达可减轻脑卒中后神经炎症和组织损伤，改善神经功能缺损。Wang Y等[20]研究表明，靶向抑制CypA/MMP-9通路可缓解神经炎症、改善血脊髓屏障功能障碍。本研究结果显示，与对照组比较，模型组小鼠的CypA和MMP-9蛋白表达水平和MMP-9活性均显著升高，表明POD模型小鼠脑组织CypA/MMP-9通路异常激活。为验证该通路在POD中的调控作用，本研究采用CypA/MMP-9通路抑制剂CsA进行干预，结果证实，CsA干预可显著改善小鼠术后神经炎症、氧化应激和神经元损伤，缓解谵妄样行为。单独Dex干预可显著降低CypA和MMP-9蛋白表达水平和MMP-9活性，抑制该通路活化，且高剂量Dex干预的效果与CsA单独干预的效果相近。而Dex联合CsA干预可产生协同增效作用，进一步强化神经保护效果，显著改善POD相关指标。上述结果证实，Dex改善老年小鼠术后谵妄、减轻神经损伤的作用，依赖于对CypA/MMP-9信号通路的抑制。

综上所述，Dex可通过抑制CypA/MMP9信号通路的活化，减轻术后发生的神经炎症、氧化应激反应，抑制神经元凋亡、修复突触和线粒体损伤，进而有效改善老年小鼠术后谵妄样行为，发挥显著的POD防治作用。本研究仍存在一定局限性：本研究仅选用雄性小鼠开展实验，未纳入雌性小鼠，性别差异可能对术后神经损伤及POD发病进程产生潜在影响，后续可补充雌性小鼠实验，完善性别相关机制研究；本研究为动物基础实验，尚未开展临床对照研究，相关作用机制与干预效果仍需进一步临床试验验证，其临床应用价值有待进一步探索。

参考文献：

[1] Xiao M Z, Liu C X, Zhou L G, et al. Postoperative delirium, neuroinflammation, and influencing factors of postoperative delirium: A review[J]. Medicine, 2023, 102(8): e32991.

[2] Aldecoa C, Bettelli G, Bilotta F, et al. Update of the European Society of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine evidence-based and consensus-based guideline on postoperative delirium in adult patients[J]. Eur J Anaesthesiol, 2024, 41(2): 81-108.

[3] Evered L A, Pryor K O. Benzodiazepines and postoperative delirium: Should we be as cautious as we are?[J]. Br J Anaesth, 2023, 131(4): 629-631.

[4] Xie K, Chen J, Tian L, et al. Postoperative infusion of dexmedetomidine *via* intravenous patient-controlled analgesia for prevention of postoperative delirium in elderly patients undergoing surgery[J]. Aging Clin Exp Res, 2023, 35(10): 2137-2144.

[5] Cao S, Wu Y, Gao Z, et al. Automated phenotyping of postoperative delirium-like behaviour in mice reveals the therapeutic efficacy of dexmedetomidine[J]. Commun Biol, 2023, 6(1): 807.

[6] Jacob Y, Schneider B, Spies C, et al. In a secondary analysis from a randomised, double-blind placebo-controlled trial dexmedetomidine blocks cholinergic dysregulation in delirium pathogenesis in patients with major surgery[J]. Sci Rep, 2023, 13(1): 3971.

[7] Liu L F, Hu Y, Liu Y N, et al. Reactive oxygen species contribute to delirium-like behavior by activating CypA/MMP9 signaling and inducing blood-brain barrier impairment in aged mice following anesthesia and surgery[J]. Front Aging Neurosci, 2022, 14: 1021129.

[8] Hu Y, Hu X D, He Z Q, et al. Anesthesia/surgery activate MMP9 leading to blood-brain barrier disruption, triggering neuroinflammation and POD-like behavior in aged mice[J]. Int Immunopharmacol, 2024, 135: 112290.

[9] 饶耘菊. 支链氨基酸改善小鼠术后谵妄样行为及认知障碍[D]. 泸州：西南医科大学，2023.

[10] 李可，陆雅媛，陈磊，等. 手术/麻醉对老龄术后谵妄小鼠线粒体动力学的影响[J]. 武汉大学学报：医学版，2021, 42(1): 52-56.
Li Ke, Lu Yayuan, Chen Lei, et al. Effect of surgery/anesthesia on the mitochondrial dynamics in elderly mice with postoperative neurocognitive disorder[J]. Medical Journal of Wuhan University, 2021, 42(1): 52-56.

[11] Leung J M, Rojas J C, Tang C, et al. Presence of preoperative neurodegeneration biofluid markers in patients with postoperative delirium[J]. Anesthesiology, 2023, 139(4): 432-443.

[12] Lan S, Liang S, Wu H, et al. Strategies to prevent postoperative delirium: A comprehensive evaluation of anesthesia selection and drug intervention[J]. Front Psychiatry, 2024, 15: 1518460.

[13] van Norden J, Spies C D, Borchers F, et al. The effect of peri-operative dexmedetomidine on the incidence of postoperative delirium in cardiac and non-cardiac surgical

patients: A randomised, double-blind placebo-controlled trial[J]. Anaesthesia,2021,76(10):1342-1351.

[14] Patel M, Onwochei D N, Desai N. Influence of perioperative dexmedetomidine on the incidence of postoperative delirium in adult patients undergoing cardiac surgery[J]. Br J Anaesth,2022,129(1):67-83.

[15] Wang D, Liu Z, Zhang W, et al. Intravenous infusion of dexmedetomidine during the surgery to prevent postoperative delirium and postoperative cognitive dysfunction undergoing non-cardiac surgery: A Meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Eur J Med Res,2024,29(1):239.

[16] 徐英,楼屹,刘美真,等. 电针对东莨菪碱诱导谵妄大鼠远期认知功能障碍的影响[J]. 新中医,2023,55(1):159-163.
Xu Ying, Lou Yi, Liu Meizhen, et al. Effect of electro-acupuncture on long-term cognitive dysfunction in delirium rats induced by scopolamine[J]. Journal of New Chinese Medicine,2023,55(1):159-163.

[17] 刘丽芳. 活性氧通过CypA/MMP9信号通路介导血脑屏障损害导致老年小鼠术后出现谵妄样行为的机制研究[D]. 合肥:安徽医科大学,2023.

[18] Anderson E L, Williams D M, Walker V M, et al. Little genomic support for cyclophilin A-matrix metalloproteinase-9 pathway as a therapeutic target for cognitive impairment in APOE4 carriers[J]. Sci Rep,2022,12:1057.

[19] 郑国玉,栗静媛,杨广军,等. 醒神解郁汤通过CyPA-ERK1/2-NF-κB信号通路调控神经炎症改善卒中后抑郁[J]. 解剖科学进展,2024,30(4):349-353.
Zheng Guoyu, Li Jingyuan, Yang Guangjun, et al. Xingshen Jieyu Decoction regulates neuroinflammation through CyPA-ERK1/2-NF-κB signaling pathway to improve post-stroke depression[J]. Progress of Anatomical Sciences, 2024, 30(4):349-353.

[20] Wang Y, Wang C, Yang X, et al. Inhibition of cyclophilin A-metalloproteinase-9 pathway alleviates the development of neuropathic pain by promoting repair of the blood-spinal cord barrier[J]. Anesth Analg,2024,138(6):1313-1323.