

海马区胶质纤维酸性蛋白及含 1-亚基 N-甲基-D-天冬氨酸受体表达与七氟醚致老龄大鼠认知障碍相关性分析

张秋莹¹,李立明¹,胡同江¹,张加强²

(1.焦作煤业(集团)有限责任公司中央医院,河南 焦作 454003;

2.河南省人民医院,河南 郑州 450003)

摘要:**目的** 探讨海马区胶质纤维酸性蛋白(GFAP)及含 1-亚基 N-甲基-D-天冬氨酸受体(NR1)表达与七氟醚所致老龄大鼠认知障碍相关性。**方法** 60 只 SD 大鼠随机分为七氟醚吸入组($n=40$)、氧气吸入组($n=10$)和对照组($n=10$),七氟醚吸入组吸入 2% 七氟醚 120 min,氧气吸入组吸入纯氧 120 min,对照组在常规环境中活动 120 min。对氧气吸入组和对照组进行 Morris 水迷宫实验,七氟醚吸入组分别于大鼠苏醒后 2 h(T_0)、24 h(T_1)、7 d(T_2)和 14 d(T_3),随机选取 10 只大鼠进行水迷宫实验,测定逃避潜伏期和游泳总路程;采用免疫组化法和 Western Blot 法检测海马组织 GFAP 和 NR1 阳性表达情况,并分析 GFAP 和 NR1 阳性表达与水迷宫实验结果相关性。**结果** 七氟醚吸入组在 T_{0-2} 时逃避潜伏期和游泳总路程均较对照组和氧气吸入组延长,均差异有统计学意义($P<0.05$);七氟醚吸入组 T_{0-2} 时刻 CA1 区和 CA3 区 GFAP 蛋白阳性表达均高于对照组和氧气吸入组,NR1 蛋白阳性表达均低于对照组和氧气吸入组,均差异有统计学意义($P<0.05$);Western Blot 检测显示, T_{0-2} 时刻,七氟醚吸入组海马组织中 GFAP 蛋白表达均高于对照组和氧气吸入组,NR1 蛋白表达均低于对照组和氧气吸入组,均差异有统计学意义($P<0.05$);Pearson 相关分析显示,GFAP 蛋白表达与小鼠逃避潜伏期和游泳总路程均呈正相关($r=0.628$ 和 0.728 , $P<0.001$),而 NR1 蛋白表达则均呈负相关($r=-0.697$ 和 -0.735 , $P<0.001$)。**结论** 七氟醚吸入老龄大鼠出现了一过性认知障碍,与海马区星形胶质细胞活化指标 GFAP 表达上调和学习记忆通路受体亚单位 NR1 表达受抑制有关。

关键词:认知功能障碍;老龄;七氟醚;胶质纤维酸性蛋白;含 1-亚基 N-甲基-D-天冬氨酸受体

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2017.07.007

Correlation between the expressions of GFAP and NR1 in the hippocampus and sevoflurane-induced cognitive disorders in aged rats

ZHANG Qiuying¹,LI Liming¹,HU Tongjiang¹,ZHANG Jiaqiang²

(1. Jiaozuo Coal Group Co.,Ltd. Central Hospital, Jiaozuo, Henan 454003, China;

2. Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou, Henan 450003, China)

Abstract:**Objective** To investigate the correlation between GFAP and NR1 expression in the hippocampus and sevoflurane-induced cognitive disorders in aged rats. **Methods** Sixty SD rats were randomly assigned into the sevoflurane group ($n=40$), oxygen inhaled group ($n=10$) and control group ($n=10$). Rats in the sevoflurane group were inhaling 2% sevoflurane 120 min, and in oxygen inhaled group were inhaling pure oxygen 120min, while in the control group were staying in normal environment 120min. Rats in the oxygen inhaled group and control group were taking Morris water maze test. After awaking 2 h (T_0), 24 h (T_1), 7 d (T_2) and 14 d (T_3), each 10 rats in the sevoflurane group were randomly selected to take water maze test. The total escaping latency and total swimming distance were measured. The expressions of GFAP and NR1 in the hippocampus regions were detected by immunohistochemical and Western blot. The correlations between the expressions of GFAP and NR1 and water maze test results were analyzed. **Results** At T_{0-2} , the escaping latency times and total swimming distances in the sevoflurane group were longer than the control group and oxygen inhaled group; the differences were statistically significant ($P<0.05$). At T_{0-2} , the positive expression rates of GFAP in CA1 and CA3 regions in the sevoflurane group were higher than the control group and oxygen inhaled group, while the positive expression rates of NR1 were lower than the control group and oxygen inhaled group; the differences were statistically significant ($P<0.05$). Western blot analysis showed, at T_{0-2} , the relative expression levels of GFAP proteins in hippocampus in the sevoflurane group were higher than the control group and oxygen inhaled group, while the relative expression levels of NR1 proteins were lower than the control group and oxygen inhaled group; the differences were all statistically significant ($P<0.05$). Pearson correlation analysis showed the expressions of GFAP were positively correlated with the total escaping latency times and total swimming distance ($r=0.628$ and 0.728 , $P<0.001$), whereas, the expressions of NR1 proteins were negatively correlated with the total escaping latency times and swimming distance ($r=-0.697$

and $-0.735, P < 0.001$). **Conclusions** Sevoflurane inhaling could result in a transient cognitive impairment in aged rats. It might be related to the up-regulated expressions of GFAP, which was activation marker for astroglial cell, and the inhibited expressions of NR1, which was accessing receptor for learning and memory in the hippocampus.

Key words: Cognitive dysfunction; Aged; Sevoflurane; Glial fibrillary acidic protein; N-methyl-D-aspartic acid receptor

术后认知障碍 (postoperative cognitive dysfunction, POCD) 是七氟醚全麻下病人出现的围术期认知功能损伤, 以老年病人居多, 与药物浓度、用量及麻醉时间有关^[1-2]。研究表明^[3], 海马是学习和记忆的关键部位, 对短时记忆和短时记忆转化为长时记忆具有重要意义。海马解剖结构简单, 与边缘系统其他核团及大脑皮质、皮质下中枢存在复杂的纤维联系, 根据细胞形态及纤维排列的不同可分为 CA1 和 CA3 区, CA1 区与下托相连, CA3 区树突可与苔藓纤维形成突出连续, 海马内部纤维联系以单向为主的神经网络, CA3 区神经元接受传入的投射可经过 Schaffer 侧支通路投射至同侧 CA1 区, 亦可投射对侧 CA1 区神经元, 海马的主要传出纤维最终主要经 CA1 区返回至内嗅皮层形成一个回路^[4]。胶质纤维酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein, GFAP) 是海马星形胶质细胞激活的指标, 是海马炎症反应程度的重要标志物^[5]。含 1-亚基 N-甲基-D-天冬氨酸受体 (NR1) 主要在中枢神经系统表达, 是学习和记忆的关键性受体 N-甲基-D-天冬氨酸受体激活的必需成分, 激活后产生长时程增强, 是学习记忆和长时记忆的重要的生理基础^[6]。本研究拟对七氟醚吸入麻醉对老龄大鼠海马 GFAP 及 NR1 表达的影响进行探讨, 以期对七氟醚诱发 POCD 的可能机制提供参考资料。

1 资料与方法

1.1 动物选择及分组 选取清洁级健康雄性 SD 大鼠 60 只, 周龄 23 ~ 24 周, 体质量 550 ~ 650 g, 由河南省实验动物中心提供, 利用数字表法随机分为七氟醚吸入组 ($n = 40$), 氧气吸入组 ($n = 10$) 和对照组 ($n = 10$), 七氟醚吸入组所有大鼠于自制的麻醉箱中吸入 120 min 的 2% 七氟醚 (批号 65160105, 山东科源制药股份有限公司), 氧气吸入组给予吸入纯氧 120 min, 对照组在常规环境中活动 120 min。

1.2 认知能力的检测 根据文献^[7]中的方法对氧气吸入组和对照组进行 Morris 水迷宫实验, 测定逃避潜伏期和游泳总路程: 随机选取 3 个象限作为入水区域, 于东北象限中央放置平台, 实验前大鼠均在平台上停留 30 s, 随后从其中一个象限面向池壁放入水中, 记录大鼠寻找并爬上平台的时间即为逃避潜伏期; 对于在 60 s 内不能找到平台的大鼠, 引导其到平台并停留 30 s, 记录其逃避潜伏期为

60 s, 利用电脑对游泳总路程进行分析。七氟醚吸入组分别于大鼠苏醒后 2 h (T_0)、24 h (T_1)、7 d (T_2) 和 14 d (T_3), 随机选取 10 只大鼠进行水迷宫实验, 方法同上。

1.3 GFAP 及 NR1 表达的免疫组化检测 水迷宫实验后, 用 5% 戊巴比妥腹腔注射麻醉, 开胸后迅速将 200 mL 4 °C 肝素生理盐水经主动脉快速灌注, 待右心耳有清亮液体流出后, 用 4% 多聚甲醛进行缓慢灌注 30 min, 所有大鼠进行断头取脑, 用 4% 多聚甲醛溶液进行固定 1 d。利用梯度乙醇进行脱水、透明和石蜡包埋切片, 厚度约 4 μ m。随后经脱蜡、脱水、抗原修复, 滴加 7% H_2O_2 以灭活内源性过氧化物酶, 于 37 °C 放置 15 min, 滴加山羊血清工作液进行 37 °C 孵育 15 min。(1) GFAP 表达检测: 将 1:100 兔抗-GFAP 一抗 (购自美国 Sigma 公司) 滴加, 并于 4 °C 过夜, 将生物素标记山羊抗兔 IgG 二抗 (购自武汉博士德生物) 滴加后, 于 37 °C 孵育 15 min, 随后将辣根酶标记链霉卵白素工作液 (购自南京森贝伽生物) 滴加后, 37 °C 孵育 15 min, 用显微镜观察下进行 DAB 显色, 苏木素复染 3 min, 用 0.6% 盐酸乙醇进行分化后, 脱水、透明、封片, 于 400 倍高倍显微镜下随机选取海马 CA1 和 CA3 区各 5 个视野进行图片采集。(2) NR1 表达检测: 滴加小鼠抗-NR1 一抗 (购自美国 Zymed 公司), 室温条件下孵育 48 h; 将生物素标记羊抗兔二抗 (购自武汉博士德生物) 滴加, 室温条件下孵育 60 min; 阴性对照采用 PBS 替代。其余方法同 GFAP 表达检测, 利用 Image-Pro Pls 6.0 图像分析系统测定平均光密度值以反映 GFAP 和 NR1 阳性表达情况。

1.4 GFAP 及 NR1 蛋白表达的 Western blot 检测 (1) 取材: 将大鼠进行过量麻醉后, 迅速分离海马组织 60 ~ 80 mg, 加入组织裂解液 500 μ L, 用匀浆器进行匀浆, 于 4 °C 条件下进行离心提取蛋白。(2) 用 BCA 蛋白测定试剂盒对总蛋白进行测定。对上样量进行调整, 让各组蛋白总量保持一致。将上样缓冲液加入样品, 吹打均匀后, 于 100 °C 下煮沸 5 min, 让蛋白质充分变性。(3) 利用 SDS-PAGE 凝胶电泳对蛋白进行分离。(4) 转膜: 电泳结束后将蛋白转印到硝酸纤维素膜上。(5) 免疫染色: 转膜结束后, 用 TBST 进行洗膜 2 次, 每次 15 min, 用 5% 脱脂牛奶进行封闭 120 min; 随后将转印膜放入

塑料袋中,加入(GFAP 1:500,NR1 1:150)一抗(购自美国 Abgent 公司),于4℃条件下过夜孵育。(6)洗膜,之后将碱性磷酸酶标记的山羊抗兔 IgG(1:1 000)加入,于室温条件下轻摇 60 min。(7)分别以 GAPHD(1:1 000)和β肌动蛋白作为内参阳性对照,进行化学发光显影。(8)利用凝胶图像处理系统测定目标条带光密度值,分别计算与其内参的比值。

1.5 统计学方法 利用 SPSS 17.0 统计分析软件进行统计学处理,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组大鼠认知能力情况 对照组和氧气吸入组大鼠逃避潜伏期和游泳总路程差异均无统计学意义($P > 0.05$),七氟醚吸入组在 T_{0-2} 时逃避潜伏期分别为(32 ± 7)、(26 ± 8)和(16 ± 10) s,均较对照组和氧气吸入组延长,均差异有统计学意义($P < 0.05$),而 T_3 时则与对照组和氧气吸入组差异无统计学意义($P > 0.05$);七氟醚吸入组在 T_{0-2} 时游泳总路程分别为(854 ± 149)、(813 ± 152)和(501 ± 115) cm,均较对照组和氧气吸入组延长,均差异有统计学意义($P < 0.05$),而 T_3 时则与对照组和氧气吸入组差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

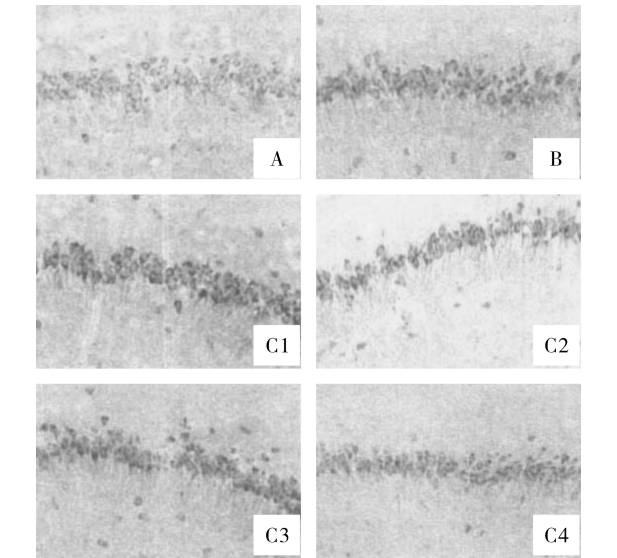
表 1 3组大鼠认知能力情况/ $\bar{x} \pm s$				
组别	鼠数/只	时点	逃避潜伏期/s	游泳总路程/cm
对照组	10		12 ± 6	426 ± 225
氧气吸入组	10		11 ± 5	417 ± 201
七氟醚吸入组	10	T_0	32 ± 7^{ab}	854 ± 149^{ab}
	10	T_1	26 ± 8^{ab}	813 ± 152^{ab}
	10	T_2	16 ± 10^{ab}	501 ± 115^{ab}
	10	T_3	12 ± 7	397 ± 207
<i>F</i> 值			15.218	21.513
<i>P</i> 值			< 0.001	< 0.001

注:与对照组相比,^a $P < 0.05$;与氧气吸入组相比,^b $P < 0.05$ 。

2.2 3组大鼠 GFAP 蛋白阳性表达情况 对照组和氧气吸入组大鼠 CA1 区和 CA3 区 GFAP 蛋白阳性表达均差异无统计学意义($P > 0.05$),七氟醚吸入组 T_{0-2} 时刻 CA1 区和 CA3 区 GFAP 蛋白阳性表达分别为(0.535 ± 0.022)、(0.467 ± 0.016)、(0.364 ± 0.009)和(0.523 ± 0.015)、(0.375 ± 0.012)、(0.312 ± 0.010),均高于对照组和氧气吸入组,均差异有统计学意义($P < 0.05$),而 T_3 时 CA1 区和 CA3 区 GFAP 蛋白阳性表达均与对照组和氧气吸入组差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表2、图1和图2。

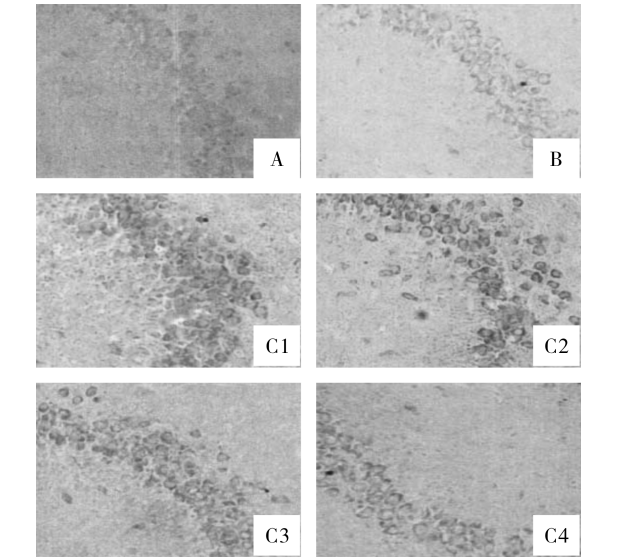
表 2 3组大鼠 GFAP 蛋白阳性表达情况/ $\bar{x} \pm s$				
组别	鼠数/只	时点	CA1 区	CA3 区
对照组	10		0.302 ± 0.007	0.252 ± 0.021
氧气吸入组	10		0.297 ± 0.011	0.253 ± 0.019
七氟醚吸入组	10	T_0	0.535 ± 0.022^{ab}	0.523 ± 0.015^{ab}
	10	T_1	0.467 ± 0.016^{ab}	0.375 ± 0.012^{ab}
	10	T_2	0.364 ± 0.009^{ab}	0.312 ± 0.010^{ab}
	10	T_3	0.304 ± 0.014	0.257 ± 0.024
<i>F</i> 值			48.875	391.512
<i>P</i> 值			< 0.001	< 0.001

注:与对照组相比,^a $P < 0.05$;与氧气吸入组相比,^b $P < 0.05$ 。



注:A.对照组;B.氧气吸入组;C1~C4.七氟醚吸入组 $T_0 \sim T_2$ 时点。

图 1 海马 CA1 区 GFAP 蛋白表达($\times 200$)



注:A.对照组;B.氧气吸入组;C1~C4.七氟醚吸入组 $T_0 \sim T_2$ 时点。

图 2 海马 CA3 区 GFAP 蛋白表达($\times 200$)

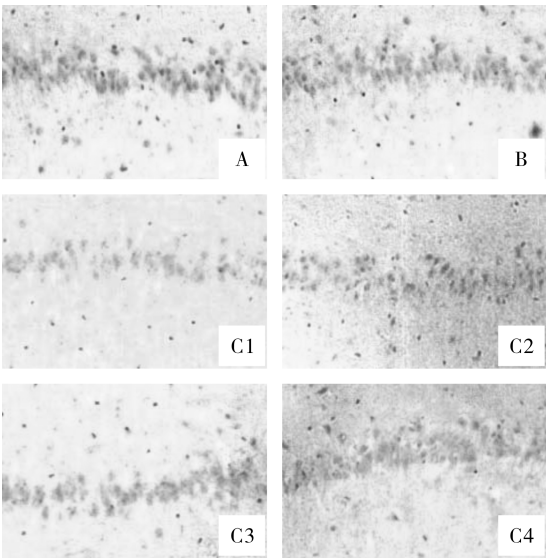
2.3 3组大鼠 NR1 蛋白阳性表达情况 对照组和氧气吸入组大鼠 CA1 区和 CA3 区 NR1 蛋白阳性表达差异均无统计学意义($P > 0.05$),七氟醚吸入组 T_{0-2} 时刻 CA1 区和 CA3 区 NR1 蛋白阳性表达分别为(0.005 ± 0.002)、(0.026 ± 0.003)、($0.023 \pm$

0.009) 和 (0.009 ± 0.005)、(0.031 ± 0.001)、(0.040 ± 0.010),均低于对照组和氧气吸入组,均差异有统计学意义($P < 0.05$),而 T_3 时 CA1 区和 CA3 区 NR1 蛋白阳性表达均与对照组和氧气吸入组差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3、图 3 和图 4。

表 3 3 组大鼠 NR1 蛋白阳性表达情况/ $\bar{x} \pm s$

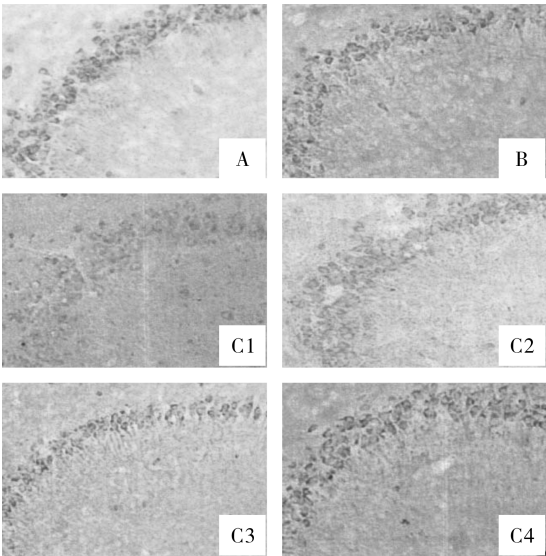
组别	鼠数/只	时点	CA1 区	CA3 区
对照组	10		0.031 ± 0.004	0.052 ± 0.008
氧气吸入组	10		0.035 ± 0.011	0.055 ± 0.012
七氟醚吸入组	10	T_0	0.005 ± 0.002 ^{ab}	0.009 ± 0.005 ^{ab}
	10	T_1	0.019 ± 0.003 ^{ab}	0.031 ± 0.001 ^{ab}
	10	T_2	0.023 ± 0.009 ^{ab}	0.040 ± 0.010 ^{ab}
	10	T_3	0.033 ± 0.004	0.049 ± 0.007
F 值			33.681	39.578
P 值			<0.001	<0.001

注:与对照组相比,^a $P < 0.05$;与氧气吸入组相比,^b $P < 0.05$ 。



注:A. 对照组;B. 氧气吸入组;C1~C4. 七氟醚吸入组 $T_0 \sim T_4$ 时点。

图 3 海马 CA1 区 NR1 蛋白表达 (×200)



注:A. 对照组;B. 氧气吸入组;C1~C4. 七氟醚吸入组 $T_0 \sim T_4$ 时点。

图 4 海马 CA3 区 NR1 蛋白表达 (×200)

2.4 3 组大鼠 Western Blot 检测海马区 GFAP 蛋白和 NR1 蛋白表达情况 Western Blot 检测显示, T_{0-2} 时刻,七氟醚吸入组海马组织中 GFAP 蛋白表达均高于对照组和氧气吸入组,均差异有统计学意义($P < 0.05$),NR1 蛋白表达均低于对照组和氧气吸入组,均差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4 和图 5。

表 4 Western Blot 检测 GFAP 蛋白和 NR1 蛋白

表达情况/ $\bar{x} \pm s$

组别	鼠数/只	时点	GFAP 蛋白	NR1 蛋白
对照组	10		1.674 ± 0.272	0.322 ± 0.017
氧气吸入组	10		1.668 ± 0.293	0.319 ± 0.018
七氟醚吸入组	10	T_0	3.547 ± 0.174 ^{ab}	0.157 ± 0.009 ^{ab}
	10	T_1	2.865 ± 0.203 ^{ab}	0.218 ± 0.012 ^{ab}
	10	T_2	2.261 ± 0.226 ^{ab}	0.267 ± 0.016 ^{ab}
	10	T_3	1.735 ± 0.257	0.320 ± 0.018
F 值			97.592	246.415
P 值			<0.001	<0.001

注:与对照组相比,^a $P < 0.05$;与氧气吸入组相比,^b $P < 0.05$ 。

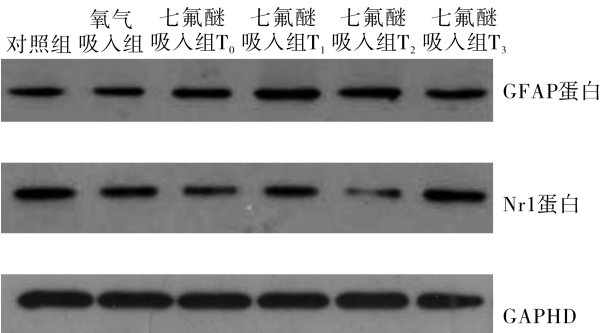


图 5 Western Blot 检测海马区 GFAP 蛋白和 NR1 蛋白表达

2.5 Western Blot 检测 GFAP 蛋白和 NR1 蛋白表达与大鼠认知能力相关性分析 Pearson 相关分析显示,GFAP 蛋白表达与大鼠逃避潜伏期和游泳总路程均呈正相关($r = 0.628$ 和 0.728 , $P < 0.001$); NR1 蛋白表达与大鼠逃避潜伏期和游泳总路程均呈负相关($r = -0.697$ 和 -0.735 , $P < 0.001$)。

3 讨论

高龄病人由于各器官代谢功能降低,在行七氟醚全麻手术后易出现认知能力损伤,出现注意力、记忆力、言语理解能力和社会适应性降低,给病人及家属生活质量带来严重影响^[8],如何有效避免氟醚全麻术后认知障碍的发生已成为临床医生研究重点。本研究通过动物实验的方法对可能的机制进行研究,根据大鼠七氟醚最低肺泡有效浓度,为达到 95% 的有效浓度本实验采取 2% 七氟醚进行吸入,以保证良好的麻醉效果^[9]。由于在进行七氟醚

吸入时需氧气作为载体,为排除氧气的干扰,本研究单独设置氧气组,水迷宫实验是经典的反应学习和记忆能力的实验,考虑到七氟醚所致认知障碍好发生在术后 90 d 以内^[10],本研究根据人的年龄对大鼠进行换算,采用苏醒后 2 h, 24 h, 7 d 和 14 d 4 个时点对相关指标进行研究。已有研究指出^[11],七氟醚诱发老年大鼠 POCD 与海马区星形胶质细胞 GFAP 表达增加有关。本研究为进一步探讨七氟醚导致老年大鼠 POCD 的相关机制,不仅探讨了海马 CA1 和 CA3 两个关键区域 GFAP 表达变化,而且加入时间因素可能的影响,同时,分析了对海马区 NR1 蛋白表达的影响,以更好的为相关机制研究提供证据。

Morris 水迷宫实验是行为学尤其是记忆和学习研究经典实验,其研究结果在世界上获得一致认可^[12]。本研究显示,七氟醚吸入组在 T_{0-2} 时逃避潜伏期均较对照组和氧气吸入组延长 ($P < 0.05$),游泳总路程均较对照组和氧气吸入组延长 ($P < 0.05$),说明七氟醚吸入后对老龄大鼠认知产生了影响,苏醒后认知水平显著降低,产生一过性认知障碍。GFAP 是星形胶质细胞的特异性标志物,表达于活化的星形胶质细胞,已被用于中枢神经中星形胶质细胞受损的鉴别。本研究显示,七氟醚吸入组 T_{0-2} 时刻 CA1 区和 CA3 区 GFAP 蛋白阳性表达均高于对照组和氧气吸入组 ($P < 0.05$),Western Blot 检测显示, T_{0-2} 时刻,海马区 GFAP 蛋白表达均高于对照组和氧气吸入组 ($P < 0.05$),说明七氟醚吸入麻醉大鼠苏醒后不同时间,对海马区产生了影响,导致星形胶质细胞被大量活化,发生了炎症反应,并随着时间推移,活化程度降低,我们推测,可能随着时间推移,吸入的七氟醚被机体所代谢,使其浓度降低,因而对胶质细胞的影响减弱。本研究显示,GFAP 蛋白表达与大鼠逃避潜伏期和游泳总路程均呈正相关 ($r = 0.628$ 和 0.728 , 均 $P < 0.001$),进一步证实海马区星形细胞活化在 POCD 发生中发挥重要作用^[13]。

GFAP 是星形胶质细胞分化及激活的早期标志物,而星形胶质细胞的激活可能会进一步引起与学习及记忆密切相关的兴奋性氨基酸受体,特别是 N-甲基-D-天冬氨酸 (NMDA) 受体的可塑性改变^[14]。有研究指出^[15],位于小鼠海马 CA1 区的 NMDA 受体被选择性剔除后,小鼠记忆能力与学习能力出现严重缺损。NR1 是功能性 NMDA 基本亚单位,当 NR1 蛋白表达下降时,会导致 NMDA 受体功能障碍,从而导致海马区学习和记忆障碍^[16]。本研究显示,七氟醚吸入组 T_{0-2} 时刻 CA1 区和 CA3 区 NR1

蛋白阳性表达均低于对照组和氧气吸入组 ($P < 0.05$),Western Blot 检测显示, T_{0-2} 时刻, NR1 蛋白表达均低于对照组和氧气吸入组 ($P < 0.05$),说明七氟醚吸入大鼠海马区 NR1 蛋白表达被抑制,并随着时间推移,这种抑制作用逐渐降低。本研究显示, NR1 蛋白表达与大鼠逃避潜伏期和游泳总路程均呈负相关 ($r = -0.697$ 和 -0.735 , 均 $P < 0.001$),进一步提示,七氟醚一过性降低大鼠认知功能,与海马区 NR1 表达被抑制有关。

综上所述,七氟醚所致老龄大鼠一过性认知障碍的发生,与海马区星形胶质细胞活化指标 GFAP 表达上调和学习记忆通路受体亚单位 NR1 表达受抑制有关。

参考文献

- [1] XU JH, ZHANG TZ, PENG XF, et al. Effects of sevoflurane before cardiopulmonary bypass on cerebral oxygen balance and early post-operative cognitive dysfunction [J]. *Neurol Sci*, 2013, 34 (12): 2123-2129.
- [2] RÖRTGEN D, KLOOS J, FRIES M, et al. Comparison of early cognitive function and recovery after desflurane or sevoflurane anaesthesia in the elderly: a double-blinded randomized controlled trial [J]. *Br J Anaesth*, 2010, 104 (2): 167-174.
- [3] ERICKSON KI, VOSS MW, PRAKASH RS, et al. Exercise training increases size of hippocampus and improves memory [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108 (7): 3017-3022.
- [4] ZHANG H, WANG H, XIAO X, et al. Melamine alters glutamatergic synaptic transmission of CA3-CA1 synapses presynaptically through autophagy activation in the rat hippocampus [J]. *Neurotox Res*, 2016, 29 (1): 135-142.
- [5] LIU Y, NAMBA T, LIU J, et al. Glial fibrillary acidic protein-expressing neural progenitors give rise to immature neurons via early intermediate progenitors expressing both glial fibrillary acidic protein and neuronal markers in the adult hippocampus [J]. *Neuroscience*, 2010, 166 (1): 241-251.
- [6] SUN H, ZHANG J, ZHANG L, et al. Environmental enrichment influences BDNF and NR1 levels in the hippocampus and restores cognitive impairment in chronic cerebral hypoperfused rats [J]. *Curr Neurovasc Res*, 2010, 7 (4): 268-280.
- [7] MA G, SONG T, CHEN M, et al. Hippocampal and thalamic neuronal metabolism in a putative rat model of schizophrenia [J]. *Neural Regen Res*, 2013, 8 (26): 2415-2423.
- [8] CREMER J, STOPPE C, FAHLENKAMP AV, et al. Early cognitive function, recovery and well-being after sevoflurane and xenon anaesthesia in the elderly: a double-blinded randomized controlled trial [J]. *Med Gas Res*, 2011, 1 (1): 9.
- [9] CALLAWAY JK, JONES NC, ROYSE AG, et al. Sevoflurane anaesthesia does not impair acquisition learning or memory in the Morris water maze in young adult and aged rats [J]. *Anesthesiology*, 2012, 117 (5): 1091-1101.