

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2022.02.002
文章编号: 1005-8982 (2022) 02-0005-07

麻醉专题·论著

新生期小鼠多次氯胺酮麻醉对远期认知功能的影响及其机制研究*

殷艺娜¹, 马敏², 常俊晓¹, 孔玉芳¹, 芮琳琳³, 褚国强¹

(1. 南京医科大学附属常州妇幼保健院 麻醉科, 江苏 常州 213003; 2. 南通大学附属医院 麻醉科, 江苏 南通 226001; 3. 南京医科大学附属常州妇幼保健院 保健科, 江苏 常州 213003)

摘要: **目的** 研究多次氯胺酮麻醉是否影响新生期小鼠学龄期及成年后认知功能, 并进一步探讨小胶质细胞及其特异性受体CX3CR1相关信号通路在该过程中发挥的作用。**方法** 将出生后6 d(P6)的同窝昆明小鼠随机分为对照组和氯胺酮组, 每组20只。氯胺酮组连续5 d腹腔注射氯胺酮80 mg/(kg·d), 对照组注射同等体积生理盐水; 给药1个月和2个月后分别行Morris水迷宫实验, 检测学龄期及成年后两组小鼠的空间学习记忆能力; 观察海马齿状回小胶质细胞数的变化, 检测双侧海马组织CX3CR1蛋白相对表达量。**结果** 氯胺酮组与对照组学龄期和成年小鼠训练前第1天、第2天、第3天、第4天、第5天逃避潜伏期比较, 采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点学龄期和成年小鼠逃避潜伏期有差异($F=34.213$ 和 41.527 , 均 $P=0.000$)。②氯胺酮组与对照组学龄期和成年小鼠逃避潜伏期有差异($F=19.856$ 和 21.365 , 均 $P=0.000$); 氯胺酮组与对照组相比逃避潜伏期较长($P<0.05$)。③两组学龄期和成年小鼠逃避潜伏期变化趋势有差异($F=12.436$ 和 17.548 , 均 $P=0.000$)。对照组学龄期和成年小鼠60 s内穿台次数、目的象限活动时间占比多或高于氯胺酮组($P<0.05$)。对照组P11、P16、P21、P35、P67小鼠海马齿状回小胶质细胞数、CX3CR1蛋白相对表达量多或高于氯胺酮组($P<0.05$)。**结论** 新生期小鼠多次氯胺酮麻醉可致其远期认知功能障碍, 且海马齿状回小胶质细胞和海马区CX3CR1蛋白相对表达量减少对其有促进作用。

关键词: 认知功能; 氯胺酮; 新生小鼠; 小胶质细胞

中图分类号: R971.2

文献标识码: A

Effect of neonatal repeated anesthesia with ketamine on the long-term cognitive function in mice and its mechanisms*

Yi-na Yin¹, Min Ma², Jun-xiao Chang¹, Yu-fang Kong¹, Lin-lin Rui³, Guo-qiang Chu¹

(1. Department of Anesthesiology, Changzhou Maternal and Child Health Care Hospital, Nanjing Medical University, Changzhou, Jiangsu 213003, China; 2. Department of Anesthesiology, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong, Jiangsu 226001, China; 3. Department of Health, Changzhou Maternal and Child Health Care Hospital, Nanjing Medical University, Changzhou, Jiangsu 213003, China)

Abstract: **Objective** To investigate whether the long-term cognitive function will be affected by neonatal repeated anesthesia with ketamine in mice, and to explore the potential role of microglia and CX3CR1 signaling pathway in the process. **Methods** The postnatal day 6 (P6) littermates were randomly divided into the control group and the ketamine group. The ketamine group received intraperitoneal injection of 80 mg/kg ketamine once a day for

收稿日期: 2021-09-17

* 基金项目: 江苏省自然科学基金面上项目(No:SBK2020021703); 南京医科大学科技发展基金一般项目(No:NMUB2018068)
[通信作者] 褚国强, E-mail: dengmudaier@163.com; Tel: 13961217068

five consecutive days, whereas the control animals were injected with an equal volume of saline. After one month and two months of administration, the Morris water maze test was performed respectively to reflect the spatial learning and memory abilities of the school-age and adult mice. The alterations in the number of microglia in the dentate gyrus of hippocampus were observed and the expression of CX3CR1 protein in bilateral hippocampal tissues was detected. **Results** The escape latency as detected in the Morris water maze test was significantly different among the distinct time points (1st, 2nd, 3rd, 4th and 5th day before training) in school-age and adult mice ($F = 34.213$ and 41.527 , both $P < 0.001$). The escape latency of school-age and adult mice was different between the ketamine group and the control group ($F = 19.856$ and 21.365 , both $P < 0.001$), and was even greater in the ketamine group ($P < 0.05$). In addition, the change trend of the escape latency of school-age and adult mice was also different between the ketamine group and the control group ($F = 12.436$ and 17.548 , both $P < 0.001$). The number of platform crossing within 60 s was greater, and the time spent in the target quadrant was longer in the control group relative to the ketamine group ($P < 0.05$). The number of microglia and the level of CX3CR1 protein in hippocampal dentate gyrus at P11, P16, P21, P35 and P67 were higher in the control groups than those in the ketamine group ($P < 0.05$). **Conclusions** Neonatal repeated anesthesia with ketamine leads to long-term cognitive dysfunction in mice, which may be associated with the decrease in the number of microglia and the expression of CX3CR1 protein in the hippocampus.

Keywords: cognitive function; ketamine; neonatal mice; microglia

氯胺酮作为N-甲基-D-天冬氨酸受体的非竞争性拮抗剂,因其独特的麻醉特性,被广泛应用于产科和小儿外科手术麻醉^[1]。婴幼儿神经系统发育期是神经系统最脆弱、最容易受到损害的时期,全身麻醉药物是否影响患儿的大脑发育及学习记忆功能一直是临床及科研工作者关注的热点^[2]。以往对于氯胺酮致发育期神经毒性的研究主要集中在神经元凋亡、神经炎症等方面^[3],对小胶质细胞在其中发挥的作用研究较少。因此,本研究旨在进一步探究氯胺酮致发育期神经毒性作用机制是否与小胶质细胞发育及功能改变有关,以期氯胺酮致发育期神经毒性作用机制研究提供新思路。

1 材料与方法

1.1 实验动物

成年昆明小鼠置于室温(25 ± 1)℃、湿度20%~30%的动物房中分笼饲养,12 h昼/夜循环照明,自由摄食、饮水。适应性饲养1周,每天下午4:00~6:00按照雌雄比例2:1~3:1合笼交配,使母鼠受孕,合笼后第2~6天上午检查阴道栓子有无脱落。母鼠受孕后阴道口可见乳白色阴道栓,此时记为孕0.5(E0.5)。孕鼠自然分娩即新生小鼠出生当日记为P0,新生小鼠断奶前(出生后21~24 d)母鼠喂养,断奶后普通饲料喂养。实验动物生产许可证号:SCXK(苏)2017-0007,实验动物使用许可

证号SYXK(苏)2017-0044。本动物实验经南京医科大学实验动物伦理委员会审批通过。

1.2 实验分组

将出生后6 d(P6)的同窝昆明小鼠按随机数字表法分为对照组和氯胺酮组,每组36只。两组采用腹腔注射给药方式,氯胺酮单次给药剂量为80 mg/kg,对照组每次注射与氯胺酮组等体积的生理盐水。两组每天下午2:00注射1次,连续注射5 d。两组动物每次注射完毕后,分别放入单独鼠笼中,各项操作轻柔,密切注意小鼠皮肤颜色变化,防止发生低氧血症,待小鼠翻正反射恢复后放回原来的鼠笼。

1.3 主要试剂与仪器

盐酸氯胺酮注射液(福建古田药业有限公司),0.9%氯化钠注射液(石家庄四药有限公司),羊Iba1多克隆抗体(美国Abcam公司),Alexa Flour 546驴抗山羊IgG(美国Invitrogen公司),兔CX3CR1单克隆抗体(美国Abcam公司),鼠 β -actin多克隆抗体(美国Santa Cruz公司)。Morris水迷宫(上海吉量软件科技公司),ChemiDocTM XRS+凝胶成像仪(美国Bio-Rad公司),冷冻切片机(德国Leica公司),显微照相系统(日本Olympus公司)。

1.4 方法

1.4.1 水迷宫测试 两组小鼠给药1个月和2个月分别取20只行Morris水迷宫实验。实验在直径100 cm、水深40 cm的圆形水池中进行,水温维持

在 $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$ 。将直径6 cm的圆形平台放入目标象限,并隐匿于水面下1 cm处。实验前1 d,将小鼠放入迷宫水池中自由游行1 min,使其适应水池及周围环境。前期训练共持续5 d,自第1天起,每天下午2:00开始训练,将小鼠头朝向水池壁,从第一象限开始,依次从4个象限的入水点放入水中,记录小鼠入水至爬上平台所需时间,即逃避潜伏期;若小鼠60 s未爬上平台统一按照60 s计算,并由实验者将其引导上平台并停留15 s,反映被测小鼠的学习能力。第6天进行定向航行实验,将小鼠于平台对侧象限入水点放入水中,记录小鼠入水到爬上平台所需时间;若小鼠60 s内未爬上平台则统一按照60 s计算。然后撤去平台,将小鼠于平台对侧象限入水点放入水中,记录小鼠在60 s内搜索平台的路线图、目的象限停留时间及穿台次数,反映小鼠学会寻找平台后,对平台的空间位置记忆能力。

1.4.2 免疫荧光染色 选取P11、P16、P21、P35、P67小鼠各8只,腹腔注射水合氯醛350 mg/kg麻醉,固定四肢,开胸暴露心脏,由左心室心尖部插入头皮针至升主动脉,剪开右心耳,快速灌注肝素、生理盐水,直至肝脏变白,右心耳流出的液体透明,再以4%多聚甲醛灌注,直至下肢、鼠尾变硬,随即断头、取脑。将全部脑组织置于 4°C 、4%多聚甲醛固定24 h后取出,置于30%蔗糖脱水,直至组织沉底。用滤纸吸干脑组织表面水分,放入包埋剂内,置于 -20°C 冷冻切片机中速冻60 min,调整切片厚度为40 μm ,采取冠状位连续切片,以海马前联合为标记点,采用Iba1对小鼠海马齿状回小胶质细胞进行标记。顺序选取其后第6~15张含海马区切片,置于0.01 mol/L PBS液内备用。将脑组织切片用0.01 mol/L PBS摇床洗涤3次,5 min/次;3% BSA常温封闭1 h。一抗孵育:羊源DCX(1:200,0.4% PBST稀释) 4°C 摇床孵育24 h;0.01 mol/L PBS摇床洗涤3次,5 min/次;二抗孵育:Alexa Flour 546标记的驴抗山羊IgG(1:200,0.4% PBST稀释)室温避光孵育2 h;0.01 mol/L PBS摇床洗涤3次,5 min/次,进行贴片并晾干切片,全程避光;每张载玻片上均匀滴入DAPI染液100 μl ,染色10 min后PBS冲洗并晾干,全程避光;防淬灭封片剂封片,置于FV1000激光共聚焦显微镜下,用Olympus

Fluoview Ver.4.2a软件观察和拍片,在Image-Pro Plus软件下手动计数细胞,计算每个20倍物镜视野下($620 \mu\text{m} \times 620 \mu\text{m}$)海马齿状回区域Iba1阳性细胞数,并计算每平方毫米Iba1阳性细胞数。计数过程中采用盲法,图像分析软件的分析参数一致。

1.4.3 Western blotting检测CX3CR1蛋白 小胶质细胞发育、成熟过程中受许多因素影响,CX3CR1是小胶质细胞发育、成熟过程中的“特征”因子^[4-5]。选取P11、P16、P21、P35、P67小鼠各8只,直接断头后置于冰上取脑,迅速分离出双侧海马组织,分别取RIPA蛋白裂解液和100 mmol/L PMSF蛋白酶抑制剂,按照100:1比例混合。称取组织重量,按照每100 mg组织加入100 μl 蛋白裂解液的比例加入适量裂解液,在冰上进行组织匀浆。 4°C 、12 000 r/min离心15 min,取上清液。BCA法测定样本蛋白浓度后,各组用裂解液配平。加入 $5 \times$ 上样缓冲液,沸水变性5 min。各组取等量样本蛋白在12% SDS-PAGE凝胶系统上样,先恒压80 V至溴酚蓝跑到浓缩胶与分离胶分界处,再恒压120 V使溴酚蓝跑至底部。跑完电泳后,进行半干转,转膜结束后,摇床上温和振荡,3% BSA常温封闭2 h,加入一抗 4°C 孵育过夜。复温后Washing Buffer洗涤3次,5 min/次,加入辣根过氧化物酶标记二抗,摇床上温和振荡,常温孵育2 h。Washing Buffer洗涤3次,5 min/次。膜上滴适量ECL发光液,将膜放入凝胶成像仪,采用化学发光法检测并采集图像。用Image J图像分析软件对所得条带进行光密度扫描,各组CX3CR1蛋白条带光密度值与内参蛋白光密度值的比值为CX3CR1蛋白相对表达量。

1.5 统计学方法

数据分析采用SPSS 16.0和Graph Pad Prism 6统计软件。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用 t 检验或重复测量设计的方差分析,进一步两两比较用LSD- t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组学龄期小鼠水迷宫行为学变化

氯胺酮组与对照组学龄期小鼠训练前第1天、第2天、第3天、第4天、第5天逃避潜伏期比较,采用重复测量设计的方差分析,结果:①不同时间点学龄期小鼠逃避潜伏期有差异($F=34.213, P=$

0.000)。②氯胺酮组与对照组学龄期小鼠逃避潜伏期有差异($F=19.856, P=0.000$)；氯胺酮组与对照组相比逃避潜伏期较长($P<0.05$)，多次氯胺酮麻

醉可能导致学龄期小鼠学习记忆功能障碍。③两组学龄期小鼠逃避潜伏期变化趋势有差异($F=12.436, P=0.000$)。见表 1。

表 1 两组学龄期小鼠不同时间点的逃避潜伏期变化
($n=20, s, \bar{x} \pm s$)

组别	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
对照组	41.7 ± 7.8	33.4 ± 10.3	29.5 ± 8.8	24.5 ± 8.8	20.7 ± 7.4
氯胺酮组	43.9 ± 5.4	39.9 ± 7.7	38.2 ± 7.4	33.2 ± 7.4	30.7 ± 10.1
<i>t</i> 值	1.037	2.260	3.384	3.384	3.572
<i>P</i> 值	0.304	0.030	0.002	0.002	0.001

在第 6 天的空间探索实验中，氯胺酮组与对照组学龄期小鼠 60 s 内穿台次数、目的象限活动时间占比比较，经 *t* 检验，差异有统计学意义 ($P<0.05$)，对照组高于氯胺酮组。见表 2。

2.2 两组成年小鼠水迷宫行为学变化

氯胺酮组与对照组成年小鼠训练前第 1 天、第 2 天、第 3 天、第 4 天、第 5 天逃避潜伏期比较，采用重复测量设计的方差分析，结果：①不同时间点成年小鼠逃避潜伏期有差异($F=41.527, P=0.000$)。②氯胺酮组与对照组成年小鼠逃避潜伏期有差异($F=21.365, P=0.000$)；氯胺酮组与对照组

相比逃避潜伏期较长($P<0.05$)，多次氯胺酮麻醉可能导致学习记忆功能障碍。③两组成年小鼠逃避潜伏期变化趋势有差异($F=17.548, P=0.000$)。见表 3。

表 2 两组学龄期小鼠 60 s 内穿台次数和目的象限活动时间比较 ($n=20, \bar{x} \pm s$)

组别	穿台次数	目的象限活动时间占比/%
对照组	2.6 ± 1.3	24.9 ± 10.1
氯胺酮组	1.2 ± 1.2	16.7 ± 10.0
<i>t</i> 值	3.539	2.580
<i>P</i> 值	0.001	0.014

表 3 两组成年小鼠不同时间点的逃避潜伏期变化 ($n=20, s, \bar{x} \pm s$)

组别	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
对照组	43.1 ± 7.1	34.6 ± 10.1	26.5 ± 10.0	24.8 ± 6.4	18.6 ± 7.0
氯胺酮组	45.2 ± 9.3	38.9 ± 10.1	34.4 ± 6.9	33.4 ± 9.1	30.4 ± 12.5
<i>t</i> 值	0.803	1.346	2.908	3.457	3.683
<i>P</i> 值	0.440	0.190	0.006	0.001	0.001

在第 6 天的空间探索实验中，氯胺酮组与对照组成年小鼠 60 s 内穿台次数、目的象限活动时间占比比较，经 *t* 检验，差异有统计学意义 ($P<0.05$)，对照组高于氯胺酮组。见表 4。

表 4 两组成年小鼠 60 s 内穿台次数和目的象限活动时间占比比较 ($n=20, \bar{x} \pm s$)

组别	穿台次数	目的象限活动时间占比/%
对照组	2.7 ± 1.3	27.2 ± 11.1
氯胺酮组	1.7 ± 1.1	21.3 ± 6.7
<i>t</i> 值	2.626	2.035
<i>P</i> 值	0.011	0.049

2.3 两组小鼠海马齿状回小胶质细胞数变化

氯胺酮组与对照组 P11、P16、P21、P35、P67 小鼠海马齿状回小胶质细胞数比较，经 *t* 检验，差异有统计学意义 ($P<0.05$)，对照组均多于氯胺酮组。见表 5 和图 1。

2.4 两组小鼠双侧海马组织 CX3CR1 蛋白相对表达量变化

氯胺酮组与对照组 P11、P16、P21、P35、P67 小鼠双侧海马组织 CX3CR1 蛋白相对表达量比较，经 *t* 检验，差异有统计学意义 ($P<0.05$)，对照组高于氯胺酮组。见表 6 和图 2。

表 5 两组不同阶段小鼠海马齿状回小胶质细胞数比较 ($n=8$, $\text{个}/\text{mm}^2$, $\bar{x} \pm s$)

组别	P11	P16	P21	P35	P67
对照组	255.8 ± 17.2	277.3 ± 15.5	236.1 ± 21.2	205.5 ± 12.5	199.1 ± 14.0
氯胺酮组	237.2 ± 17.1	256.6 ± 18.9	210.9 ± 22.6	194.5 ± 15.3	185.9 ± 15.1
<i>t</i> 值	3.068	3.387	3.353	2.227	2.564
<i>P</i> 值	0.004	0.002	0.003	0.033	0.016

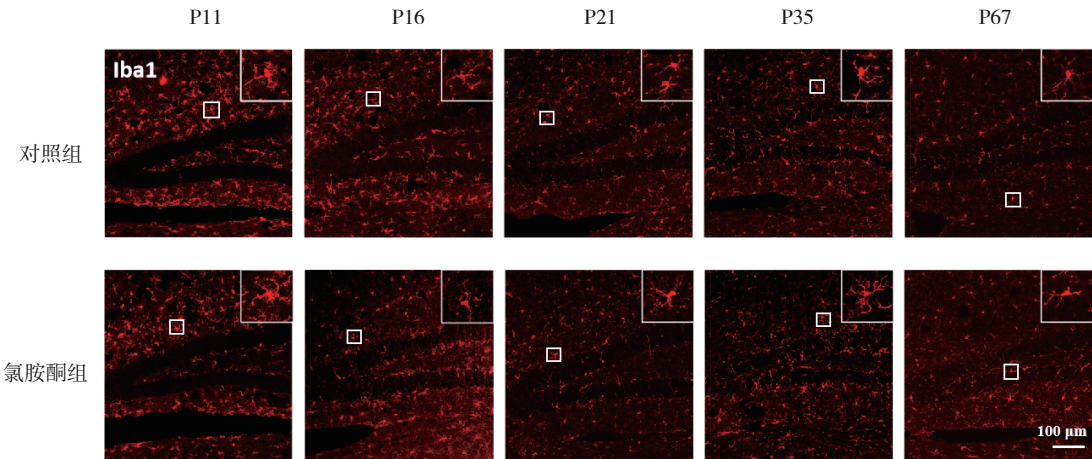


图 1 两组不同阶段小鼠海马齿状回小胶质细胞 (免疫荧光染色 × 20)

表 6 两组不同阶段小鼠双侧海马组织 CX3CR1 蛋白相对表达量比较 ($n=8$, $\bar{x} \pm s$)

组别	P11	P16	P21	P35	P67
对照组	0.75 ± 0.17	1.05 ± 0.11	0.83 ± 0.14	0.94 ± 0.16	0.70 ± 0.12
氯胺酮组	0.55 ± 0.17	0.85 ± 0.12	0.64 ± 0.10	0.73 ± 0.21	0.53 ± 0.16
<i>t</i> 值	2.353	3.475	3.124	2.250	2.404
<i>P</i> 值	0.033	0.004	0.007	0.038	0.029

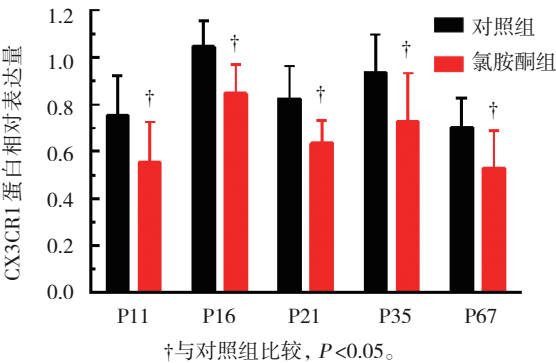
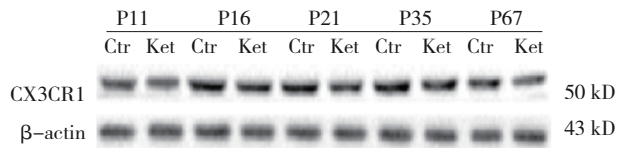


图 2 两组不同阶段小鼠双侧海马组织 CX3CR1 蛋白相对表达量变化 ($n=8$, $\bar{x} \pm s$)

3 讨论

婴幼儿阶段是神经系统发育的高峰期和敏感期，与成人相比更易受到麻醉药物的损害^[6]。啮齿类动物与灵长类动物的研究表明，氯胺酮的大剂量使用或者持续暴露可以诱导发育期大脑神经细胞变性和凋亡，导致认知功能障碍^[7-8]。因此，有人认为氯胺酮只有在作用时间足够长，浓度足够大时才会引起神经元结构和认知功能损害^[7]。

有研究显示，小鼠氯胺酮产生麻醉状态的半数有效量是 80 mg/kg^[9-10]，据此笔者进行了预实验，最终确定氯胺酮腹腔注射麻醉剂量为 80 mg/kg。婴幼儿神经系统发育期是神经系统最脆弱、最容易受到损害的时期，故本研究中氯胺酮的给药时段设在大脑发育高峰期及小胶质细胞增殖、发育高

峰时期,约出生后2周左右^[11]。前期预实验选择出生后6 d小鼠腹腔注射氯胺酮80 mg/(kg·d)或同等体积生理盐水,并分设连续给药1次、3次和5次实验组,以确定腹腔注射氯胺酮80 mg/(kg·d)剂量下,给药次数对小鼠远期认知功能的影响。选取出生后6 d小鼠1次或连续3次给药,1个月后Morris水迷宫实验检测两组小鼠逃避潜伏期、穿台次数、目的象限活动时间占比等无差异,说明新生期小鼠氯胺酮1次或连续3次暴露不足以造成长期空间学习记忆功能改变。由此本研究最终确定采用新生期小鼠连续5次氯胺酮麻醉这一实验剂量。

小胶质细胞是中枢神经系统中重要的免疫效应细胞,对于维持大脑内环境稳定发挥了不可替代的作用^[12],如参与调节神经系统发育、促进神经环路形成、影响神经元活动、清除病原体及吞噬凋亡的神经元^[13]等。关于全身麻醉药物对小胶质细胞数量、形态及功能的影响目前还没有明确结论。有研究显示,中枢神经系统损伤后,脑组织内炎症因子明显增加,小胶质细胞持续活化,促使小胶质细胞吞噬增加,加快了突触退化和过度萎缩,导致小鼠认知障碍^[14]。有趣的是,景胜等^[15]的研究表明,出生后7 d小鼠腹腔注射丙泊酚后海马齿状回小胶质细胞数减少并且抑制了小胶质细胞活化,这与SHEN等^[16]的结果相反。笔者猜测这些研究结果相反可能与药物、剂量、实验模型不同有关。本研究结果显示,新生期小鼠5次氯胺酮麻醉后,P11、P16、P21、P35、P67小鼠海马齿状回Iba1阳性标记的小胶质细胞数明显减少,推测氯胺酮神经毒性可能抑制了小胶质细胞增殖。

CX3CR1是趋化因子CX3CL1的受体,在脑内的特异性由小胶质细胞表达^[4-5]。CX3CR1不仅影响发育期小胶质细胞的分化成熟,对小胶质细胞的形态及功能的维持也具有重要作用^[17]。此外,CX3CL1/CX3CR1也是神经元与小胶质细胞之间重要的信号传导通路,参与调节机体许多生理过程,包括维持神经元存活、突触连接的成熟、突触传递及可塑性调节等^[18-19]。有研究表明,成年小鼠敲除CX3CR1基因后,海马区小胶质细胞数量减少,突触修剪被推迟,这种突触修剪作用的缺陷会造成树突棘增多,认知功能受损,提示小胶质细胞

减少可能通过CX3CL1/CX3CR1信号通路导致突触发育异常及认知功能障碍^[20]。本研究发现,P6小鼠多次氯胺酮麻醉后海马齿状回区域Iba1标记的小胶质细胞数减少,且海马区CX3CR1蛋白相对表达量减少。笔者推测小胶质细胞发育抑制,导致CX3CR1蛋白相对表达量减少,相关信号通路异常,最终影响认知功能。

综上所述,新生期小鼠多次氯胺酮麻醉致其学龄期及成年后认知功能障碍,海马齿状回小胶质细胞和海马区CX3CR1蛋白相对表达量减少对其有促进作用。这为下一步麻醉药的神经毒性研究提供了新方向,也为麻醉药物在发育期的安全应用提供一些指导。

参考文献:

- [1] YAN J, JIANG H. Dual effects of ketamine: neurotoxicity versus neuroprotection in anesthesia for the developing brain[J]. *Journal of Neurosurgical Anesthesiology*, 2014, 26(2): 155-160.
- [2] MCCANN M E, SORIANO S G. Does general anesthesia affect neurodevelopment in infants and children[J]. *BMJ*, 2019, 367: l6459.
- [3] CHOUDHURY D, AUTRY A E, TOLIAS K F, et al. Ketamine: Neuroprotective or Neurotoxic[J]. *Frontiers in Neuroscience*, 2021, 2: 961.
- [4] MURAI N, MITALIPOVA M, JAENISCH R. Functional analysis of CX3CR1 in human induced pluripotent stem (iPS) cell-derived microglia-like cells[J]. *European Journal of Neuroscience*, 2020, 52(7): 3667-3678.
- [5] TAY T L, SAVAGE J C, HUI C W, et al. Microglia across the lifespan: from origin to function in brain development, plasticity and cognition. *The Journal of Physiology*[J]. 2017, 595(6): 1929-1945.
- [6] FODALE V, TRIPODI V F, PENNA O, et al. An update on anesthetics and impact on the brain[J]. *Expert Opinion on Drug Safety*, 2017, 16(9): 997-1008.
- [7] LIU F, G PAULE M, ALI S, et al. Ketamine-induced neurotoxicity and changes in gene expression in the developing rat brain[J]. *Current Neuropharmacology*, 2011, 9(1): 256-261.
- [8] WU Y Q, LIANG T, HUANG H, et al. Ketamine inhibits proliferation of neural stem cell from neonatal rat hippocampus in vitro[J]. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2014, 34(5): 1792-1801.
- [9] HUANG L N, LIU Y, JIN W, et al. Ketamine potentiates hippocampal neurodegeneration and persistent learning and memory impairment through the PKCγ-ERK signaling pathway in the developing brain[J]. *Brain Research*, 2012, 1476: 164-171.
- [10] WANG J, ZHOU M, WANG X B, et al. Impact of ketamine on

- learning and memory function, neuronal apoptosis and its potential association with miR-214 and PTEN in adolescent rats[J]. PLoS One, 2014, 9(6): e99855.
- [11] MORGAN C J A, DODDS C M, FURBY H, et al. Long-term heavy ketamine use is associated with spatial memory impairment and altered hippocampal activation[J]. Frontiers in Psychiatry, 2014, 5: 149.
- [12] THION M S, GAREL S. Microglial ontogeny, diversity and neurodevelopmental functions[J]. Current Opinion in Genetics & Development, 2020, 65: 186-194.
- [13] CORNELL J, SALINAS S, HUANG H Y, et al. Microglia regulation of synaptic plasticity and learning and memory[J]. Neural Regeneration Research, 2022, 17(4): 705.
- [14] NORDEN D M, MUCCIGROSSO M M, GODBOUT J P. Microglial priming and enhanced reactivity to secondary insult in aging, and traumatic CNS injury, and neurodegenerative disease[J]. Neuropharmacology, 2015, 96: 29-41.
- [15] 景胜, 黄静, 包晓航, 等. 丙泊酚对新生小鼠海马星形胶质细胞和小胶质细胞的影响[J]. 重庆医学, 2015, 44(11): 1469-1471.
- [16] SHEN X, DONG Y L, XU Z P, et al. Selective anesthesia-induced neuroinflammation in developing mouse brain and cognitive impairment[J]. The Journal of the American Society of Anesthesiologists, 2013, 118(3): 502-515.
- [17] GYONEVA S, HOSUR R, GOSSELIN D, et al. Cx3cr1-deficient microglia exhibit a premature aging transcriptome[J]. Life Science Alliance, 2019, 2(6): e201900453.
- [18] LUO P, CHU S F, ZHANG Z, et al. Fractalkine/CX3CR1 is involved in the cross-talk between neuron and glia in neurological diseases[J]. Brain Research Bulletin, 2019, 146: 12-21.
- [19] de MIRANDA A S, ZHANG C J, KATSUMOTO A, et al. Hippocampal adult neurogenesis: does the immune system matter[J]. Journal of the Neurological Sciences, 2017, 372: 482-495.
- [20] PAOLICELLI R C, BOLASCO G, PAGANI F, et al. Synaptic pruning by microglia is necessary for normal brain development[J]. Science, 2011, 333(6048): 1456-1458.
- (童颖丹 编辑)
- 本文引用格式:** 殷艺娜, 马敏, 常俊晓, 等. 新生小鼠多次氯胺酮麻醉对远期认知功能的影响及其机制研究[J]. 中国现代医学杂志, 2022, 32(2): 5-11.
- Cite this article as:** YIN Y N, MA M, CHANG J X, et al. Effect of neonatal repeated anesthesia with ketamine on the long-term cognitive function in mice and its mechanisms[J]. China Journal of Modern Medicine, 2022, 32(2): 5-11.