



空军军医大学

Air Force Medical University

分类号         R614        

U D C         616        

密 级         公开        

# 硕士学位论文

## 七氟烷和右美托咪定麻醉对睡眠结构 影响的研究

        李文        

培 养 类 别         全日制        

学 位 类 型         专业学位        

一级学科(专业类)         临床医学        

二级学科(专业)         麻醉学        

研 究 方 向         全麻机制        

指 导 教 师         董海龙教授 (副主任医师)        

培 养 单 位         西京医院麻醉科        

二〇一八年五月

# 独创性声明

秉承学校严谨的学风与优良的科学道德，本人声明所呈交的论文是我个人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。尽我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，不包含本人或他人已申请学位或其他用途使用过的成果。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示了致谢。

申请学位论文与资料若有不实之处，本人承担一切相关责任。

论文作者签名：\_\_\_\_\_日期：\_\_\_\_\_

# 保护知识产权声明

本人完全了解空军军医大学有关保护知识产权的规定，即：研究生在校攻读学位期间论文工作的知识产权单位为空军军医大学。本人保证毕业离校后，发表论文等使用本论文工作成果时第一署名单位仍然为空军军医大学。学校可以公布论文的全部或部分内容（含电子版，保密内容除外），可以采用影印，缩印或其他复制手段保存论文；学校有权允许论文被查阅和借阅，并在校园网上提供论文内容的浏览和下载服务。同意学校将论文加入《中国优秀博硕士学位论文全文数据库》和编入《中国知识资源总库》等，并可浏览和下载，同时享受《中国优秀博硕士学位论文全文数据库出版章程》规定的相关权益。

论文作者签名：\_\_\_\_\_导师签名：\_\_\_\_\_日期：\_\_\_\_\_

# 目 录

缩略语表 .....	1
中文摘要 .....	3
ABSTRACT .....	6
前 言 .....	10
文献回顾 .....	12
正 文 .....	26
实验一 七氟烷麻醉对大鼠睡眠结构的影响.....	26
1 材料.....	26
1.1 实验动物.....	26
1.2 麻醉系统.....	26
1.3 无线遥感睡眠监测系统.....	26
2 方法.....	27
2.1 大鼠无线睡眠监测系统建立.....	27
2.2 麻醉方法及监测.....	30
2.3 睡眠行为学分析.....	31
2.4 脑电图频谱分析.....	33
2.5 数据统计和分析.....	34
3 结果.....	34
3.1 七氟烷麻醉后大鼠睡眠结构的变化.....	34
3.2 七氟烷麻醉后大鼠脑电图各波形的变化.....	40
4 小结.....	43
实验二 右美托咪定麻醉对大鼠睡眠结构的影响.....	45
1 材料.....	45
1.1 实验动物.....	45
1.2 麻醉系统.....	45
1.3 无线遥感睡眠监测系统.....	46
1.4 静脉置管材料.....	46
2 方法.....	46
2.1 大鼠无线睡眠监测系统建立.....	46
2.2 大鼠颈静脉置管.....	46
2.3 麻醉方法及监测.....	46
2.4 睡眠行为学分析.....	47
2.5 脑电图频谱分析.....	48
2.6 统计学处理.....	48
3 结果.....	48
3.1 右美托咪定麻醉后大鼠睡眠结构的变化.....	48

3.2 右美托咪定麻醉后大鼠脑电图各波形的变化.....	53
讨 论 .....	59
参考文献 .....	62
个人简历和研究成果 .....	66
致 谢 .....	68

## 缩略语表

缩略词	英文全称	中文全称
Dex	Dexmedetomidine	右美托咪定
EEG	Electroencephalogram	脑电图
GABA	Gamma-aminobutyric acid	$\gamma$ -氨基丁酸
LORR	Loss of righting reflex	翻正反射消失
MAC	Minimal alveolar concentration	最低肺泡有效浓度
MPTN	Mesopontine tegmental nucleus	中脑被盖区
NE	Noradrenaline	去甲肾上腺素
NREM	Non-rapid eye movement sleep	非快动眼睡眠
OXA	Orexin-A	食欲素-A
Pef	Perifornical	穹窿周围
PnO	Pontis oralis	脑桥嘴
PVN	Paraventricular nucleus	室旁核
POCD	Postoperative cognitive dysfunction	术后认知功能障碍
PSD	Postoperative sleep disturbances	术后睡眠障碍

REM	Rapid eye movement sleep	快动眼睡眠
RORR	Recovery of righting reflex	翻正反射恢复
TMN	Tuberomammillary nucleus	结节乳头体核
VLPO	Ventral lateral preoptic area	腹外侧视前区
VTA	Ventral tegmental area	腹侧被盖区

# 七氟烷和右美托咪定麻醉对睡眠结构影响的研究

硕士研究生：李 文

导 师：董海龙 教授

第四军医大学西京医院麻醉科，西安 710032

## 中文摘要

麻醉药物应用于外科手术一百多年来，随着外科学的发展，麻醉学也逐渐的成为独立学科，并在新世纪向麻醉与围术期医学转变。麻醉学的发展离不开麻醉药物的发展，从早期的气体麻醉药物乙醚到现在静脉麻醉药物右美托咪定，伴随着全麻药物的重大革新，但是麻醉药物如何在体内发挥作用进而导致全身麻醉的作用机制至今仍不明，这严重的影响了麻醉药物的应用以及麻醉学的发展。但是可以确定的是全身麻醉的效应与麻醉药物浓度及机体代谢活动高度相关。

睡眠是一种持续性的、可逆性的，并伴随着反应能力减弱和主动行为消失的行为状态。并可以与觉醒状态相互转换。持续的睡眠缺失能导致体温调节失常、代谢紊乱和免疫功能受损，并最终导致个体死亡。

麻醉是一种与睡眠表现相似的行为状态，两者都诱导可逆性的意识消失、中枢对外界刺激的整合能力下降和肌肉松弛等。麻醉和睡眠不仅是相似的状态，而且还有共同的神经生物学特征，麻醉中促睡眠的作用是由麻醉药作用于调控自然睡眠的神经系统而产生的，麻醉诱导意识消失过程的脑功能成像显示丘脑和中脑网状结构被抑制，而这与自然情况下非快动眼睡眠过程中的丘脑皮层特征相一致。因此全麻药物可能通过作用于调控睡眠的区域从而产生全麻效应。然而全麻药物对睡眠结构是否产生直接影响则很少见著报道。

近年来,手术麻醉后患者出现术后睡眠障碍(postoperative sleep disturbances, PSD)的报道越来越多,主要表现为患者在麻醉手术后睡眠结构发生紊乱。研究证明睡眠剥夺之后的小鼠给予气体麻醉药物进行全身麻醉后,对睡眠结构产生了影响;也有研究报道指出睡眠剥夺后的大鼠,给予丙泊酚后可以部分补偿睡眠债务。然而长时间应用气体麻醉药物或者静脉麻醉药物对睡眠结构的影响还不清楚,本课题拟应用无线遥感监测技术,通过长时间给予气体麻醉药物七氟烷或静脉麻醉药物右美托咪定,观察动物睡眠结构的变化,并进一步研究气体麻醉药物以及静脉麻醉药物对睡眠结构影响的异同,为深入探讨麻醉药物对睡眠结构的影响奠定基础,同时也进一步揭示不同类型的麻醉药物潜在的作用靶点,通过研究睡眠与全身麻醉的关系,为全麻机制的研究开辟新的思路。

#### 实验一 长时间七氟烷麻醉对大鼠睡眠结构的影响

**【目的】**观察长时间七氟烷麻醉后 24 小时大鼠睡眠结构的变化

**【方法】**将 16 只雄性 SD 大鼠(250-300g),随机分为两组(n=8):对照组(C组)与七氟烷组(S组),两组大鼠都通过手术在体内放置植入子,术后第 9 天监测 24 小时基础睡眠,第 10 天早 8 点将两组动物分别放入麻醉转筒,C组通入纯氧气 1.5 L/min,持续给予 6 小时,S组通入 2.4%七氟烷与纯氧气 1.5 L/min,持续 5.5 小时,之后再通入纯氧 1.5 L/min 0.5 小时使得大鼠能够完全恢复翻正反射,之后将两组动物放入睡眠监测观察箱,从当日 14:00 开始连续监测 24 小时的 EEG、EMG、ECG、活动度。将 24 小时按照昼夜节律分为 4 个时相,第一个时相 L1(Light,14:00 至 20:00),第二个时相 D1 (Dark, 20:00 至 02:00),第三个时相 D2 (Dark,02:00 至 08:00),第四个时相 L2 (Light,8:00 至 14:00)。

**【结果】**与 C 组比较, S 组 Wake 总时间减少, REM 睡眠总时间增加, NREM 睡眠次数总数增加, L1 和 D1 时相 REM 睡眠时间增加 ( $p<0.05$ ), D2 时相 Wake 时间显著减少 ( $p<0.01$ ), NREM 睡眠时间增加 ( $p<0.05$ ), 在 L2 时相两组睡眠结构无差异。

**【结论】**经过长时间日间七氟烷麻醉后,大鼠的睡眠结构发生明显变化,表现为 NREM 睡眠碎片化, REM 睡眠时间增加, Wake 状态时间减少,且对睡眠结构的影响主要发生在 L1、D1、D2 时相。



## 实验二 长时间右美托咪定麻醉对大鼠睡眠结构的影响

**【目的】**观察长时间右美托咪定麻醉后 24 小时大鼠睡眠结构的变化。

**【方法】:**

将 16 只雄性 SD 大鼠 (250-300g) 随机分为两组 (n=8): 对照组 (C 组) 与右美托咪定麻醉组 (D 组), 两组大鼠都通过手术在体内放置植入子, 术后第 7 天手术颈静脉置管, 术后第 10 天监测 24 小时基础睡眠, 第 11 天早 8 点将两组动物分别放入麻醉行为观察箱, C 组泵注 0.9%NaCl 注射液, 持续给予 4 小时, D 组泵注 20 $\mu$ g/ml 右美托咪定注射液, 持续给予 4 小时。之后去除注射泵管, 并封好颈静脉软管。观察 2 小时之后将两组动物放入睡眠监测观察箱, 从当日 14:00 开始连续监测 24 小时的 EEG、EMG、ECG、活动度。将 24 小时按照昼夜节律分为 4 个时相, 第一个时相 L1 (Light,14:00 至 20:00), 第二个时相 D1 (Dark, 20:00 至 02:00), 第三个时相 D2 (Dark,02:00 至 08:00), 第四个时相 L2 (Light,8:00 至 14:00)。

**【结果】**与 C 组比较, D 组 Wake 总时间减少 ( $p<0.05$ ), REM 睡眠总时间显著增加 ( $p<0.01$ ), NREM 睡眠次数增加 ( $p<0.05$ ); L1 时相 REM 睡眠时间显著减少 ( $p<0.001$ ), Wake 时间减少 ( $p<0.05$ ), NREM 睡眠时间显著增加 ( $p<0.01$ ); D1 时相 REM 睡眠时间显著减少 ( $p<0.01$ ); D2 时相 REM 睡眠时间增加 ( $p<0.05$ ), NREM 睡眠时间增加 ( $p<0.05$ ), Wake 时间显著减少 ( $p<0.01$ ); L2 时相 REM 睡眠时间显著增加 ( $p<0.01$ )。

**【结论】**经过日间长时间右美托咪定麻醉后, 大鼠的睡眠结构发生显著变化, 表现为 NREM 睡眠碎片化, REM 睡眠时间增加, 觉醒状态时间减少, 且睡眠变化持续时间较长, 变化特点较复杂。

**关键词:** 睡眠结构, 麻醉并发症, 右美托咪定, 七氟烷

# **Effects of sevoflurane and dexmedetomidine on sleep structure**

Candidate for master: Li Wen

Supervisor: Dong Hailong

Department of anesthesiology, Xijing hospital, Fourth Military Medical University,  
Xi'an 710032, China

## **Abstract**

Since anesthetics used in surgery was invented a hundred years, anesthesiology has slowly become a subject. In the new century, it slowly began to transform into perioperative medicine. The development of anesthesia cannot be separated from the development of anesthetic drugs. From the early volatile anaesthetized drug to the present intravenous anesthetic, accompanied by great progress and development of anesthesiology. But how narcotic drugs play a role in the body play a mechanism of general anesthesia is still not very clear. This has seriously affected the anesthesiologist's choice of anesthetic drugs. However, it can be confirmed that the effect of general anesthesia is highly correlated with the concentration of anesthetic drugs and metabolism.

Sleep is an active process that the brain produces and becomes the first physiological need in humans. The lack of sustained sleep can lead to body temperature regulation, metabolic and immune function damage, and eventually death.

Anesthesia is similar to the performance of a sleep state, have shown reversible loss of consciousness, the central integration capabilities to external stimuli and decreased

muscle relaxation and so on. Anesthesia and sleep are not only similar states, but also have common neurobiological characteristics. The role of promoting sleep during anesthesia is caused by the anesthetic's specific action on the nervous system that regulates natural sleep. Functional imaging of the brain when anesthesia-induced consciousness disappeared revealed that the thalamus and midbrain reticular formation were suppressed, whereas the nature of the thalamic cortex during normal non-rapid eye movements was similar.

Therefore, in the study of the mechanism of action of general anesthetic drugs, the region that regulates sleep is generally used as a research object. So general anesthesia drugs will inevitably have an impact on sleep.

Reported that in recent years, patients with postoperative sleep disturbances more and more, mainly for patients with sleep disordered structure after anesthesia. There are basic research reports prove that sleep deprivation mice was given general anesthesia then had an impact on sleep architecture. It was reported that after sleep deprivation, the sleep structure was observed after propofol anesthesia was administered, which partially compensated for the sleep debt. However, it was unclear whether the anesthetic after prolonged anesthesia had influence on the sleep structure.

In this experiment, we observed the change of sleep structure about the sevoflurane anesthesia and dexmedetomidine anesthesia. The results can provide reference for clinical anesthesiologists when using drugs.

**Experiment one:** Effects of long-time sevoflurane anesthesia on sleep structure.

**Objective** To evaluate the effects of sevoflurane anesthesia on sleep structure.

**Methods** Sixteen pathogen-free healthy adult male Sprague-Dawley rats, weighing 250-300g, were randomized into 2 groups using a random number table: control group (group C); Sevoflurane group (group S). Each rat was implanted with a transmitter for recording EEG, ECG, EMG and activity via telemetry. After 10 days of recovery and habituation to a 12h:12h light dark cycle states. Group C rats exposed to oxygen for 6 h

during 8:00 to 14:00. Group S rats exposed to 2.4% sevoflurane and 100% oxygen for 5.5 h and 100% oxygen 0.5h during 8:00 to 14:00. Then rats were taken into the sleep recording box to record EEG、EMG、Activity and Heart Rate for 24h. The amount of time spent Wake, in NREM sleep, and in REM sleep was calculated in four blocks covering from 14:00 to the next day 14:00, both 6h portions of the light cycle (L1 and L2) and both 6h portions of the dark cycle (D1 and D2).

**Results** Compared with group Control, rats in group sevoflurane exhibited a significant increase of REM sleep ( $p < 0.05$ ) and decrease of Wake time ( $p < 0.05$ ), and bouts of NREM sleep had increase ( $p < 0.05$ ). But no change with NREM sleep time in whole recording. Initial significant daytime (L1) and nighttime (D1) increases in REM sleep after exposure to sevoflurane. It also caused a significant decreases in the average duration of wake but increases in the average duration of NREM sleep time in nighttime (D2).

**Conclusion** After long time sevoflurane anesthesia, the sleep architecture of rats had changed and increased REM sleep time, decreased wake time, and major in L1, D1, D2.

**Experiment two:** Effects of long-time dexmedetomidine anesthesia on sleep structure.

**Objective** To evaluate the effects of dexmedetomidine anesthesia on sleep structure.

**Methods** Sixteen pathogen-free healthy adult male Sprague-Dawley rats, weighing 250-300g, were randomized into 2 groups using a random number table: Control group (group C); Dexmedetomidine group (group D). Each rat was implanted with a transmitter for recording EEG, ECG, EMG and activity via telemetry. After 7 days of recovery rats had been given jugular vein catheterization. Then habituation to a 12h:12h light dark cycle states for 3 days and record a 24 hours baseline sleep structure. Infusion Group C 0.9% NaCl injection, administered 4 hours duration, D group pumping 20 $\mu$ g / ml given dexmedetomidine injection, sustained administration for 4 hours. Then rats were taken into the sleep recording box to record EEG、EMG、Activity and Heart Rate for 24h. The amount of time spent Wake, in NREM sleep, and in REM sleep was calculated in

four blocks covering from 14:00 to the next day 14:00, both 6h portions of the light cycle (L1 and L2) and both 6h portions of the dark cycle (D1 and D2).

**Results** Compared with group Control, rats in group dexmedetomidine exhibited a significant increase of REM sleep ( $p < 0.05$ ) and decrease of Wake time ( $p < 0.05$ ), and bouts of NREM sleep had increase ( $p < 0.05$ ). But no change with NREM sleep time in whole recording. Initial significant daytime(L1) and nighttime (D1) decreases in REM sleep time after pump to dexmedetomidine and increases daytime(L2) and nighttime (D2). Caused a significant decrease in the average duration of wake time in daytime(L1) and nighttime (D2).

**Conclusion** After long time dexmedetomidine anesthesia, the sleep architecture of rats had changed and increased REM sleep time and decreased Wake time. The effects of dexmedetomidine on the sleep structure are long and complex.

Key words: Sleep, Dexmedetomidine, sevoflurane, EEG, Anesthesia, PSD

## 前 言

从第一例乙醚成功用于外科手术开始，现代麻醉学经过一百多年的发展已经成为了一个独立的临床专科，正在向围术期医学发展。全身麻醉是指麻醉药经呼吸道吸入、静脉或肌肉注射进入体内，产生中枢神经系统的暂时抑制，临床表现为神志消失、全身痛觉消失、遗忘、反射抑制和骨骼肌松弛的行为状态。全身麻醉时表现出特殊的脑电模式，普遍认为当低频高幅的脑电活动增加表示麻醉深度加深。麻醉药物如何引起全身麻醉并维持这种状态是一个重要的科学问题。

人一生大约 1/3 的时间处于睡眠状态。有研究表明，在睡眠阶段，大脑的脑干、下丘脑、基底前脑等区域的神经元活性降低。正常的睡眠时相可以分为非快动眼睡眠期(non-rapid eye movement, NREM)和快动眼睡眠期(rapid eye movement, REM)。在快动眼睡眠时，脑电图表现为一种高频低幅的节律。非快动眼睡眠时脑电图表现为低频高幅节律，并伴有打鼾、体温和心率降低等表现。

2008 年 Lancet 报道数据显示，全球每年约完成 2.34 亿例手术，预示每年有至少超过 2 亿人会使用麻醉药物。然而麻醉手术后并发症越来越引起人们的重视，和麻醉相关的常见的并发症有术后脑功能障碍、麻醉手术后意识恢复障碍等。其中术后脑功能障碍主要包括术后谵妄 (Postoperative Delirium, POD)、术后认知功能障碍 (postoperative cognitive dysfunction,POCD) 等，近年来，术后睡眠障碍 (postoperative sleep disturbances, PSD) 的发生较常见，且有学说认为 POD 及 POCD 都是与 PSD 高度相关，PSD 的发生引起昼夜节律紊乱，出现神经网络连接异常，可能出现 POD 及 POCD。PSD 的发生可能是因为调控麻醉的环路与调控睡眠的网络部分相同，在接受全身麻醉后，这部分神经网络功能发生变化，引起睡眠结构的变化。

吸入麻醉药七氟烷是第三代挥发性气体麻醉药物，属于卤代醚类，是目前在临床上最为常见的吸入麻醉药物。术后的并发症较少，有报道称七氟烷可以起到脑保护的作用，研究证明睡眠剥夺的小鼠经历七氟烷麻醉后，可以部分性的补偿睡眠债务。右美托咪定是一种高度选择性的  $\alpha_2$  受体激动剂，广泛的应用于临床镇静与麻醉。研究发现，右美托咪定可以作用于不同脑区发挥作用——如作用于外侧视前区

(LPO), 可产生镇静效应; 而作用于蓝斑区 (LC) 则产生麻醉效应。同时, 以上两个脑区都是调节睡眠-觉醒的重要区域。然而关于单纯应用七氟烷或右美托咪定麻醉后睡眠结构是否发生变化鲜有报道。本实验计划, 第一步: 观察长时间吸入七氟烷麻醉后大鼠睡眠结构的变化。第二步: 观察长时间静脉注射右美托咪定麻醉后大鼠睡眠结构的变化。研究麻醉药物对睡眠结构的影响, 可以更深入的了解睡眠与麻醉, 从而为治疗 PSD 等相关疾病奠定基础, 也可以深入的认识全麻机制与睡眠机制的关系, 从实验结果总结进一步的指导麻醉。

## 文献回顾

### 一、全身麻醉药的发展与研究

1846年，美国康涅狄格州哈特福德市牙医 William T.G<sup>[1]</sup>在麻省总医院给病人施以乙醚吸入麻醉，由著名外科医生 John C. Warrn 从病人下颌部成功切除一个肿瘤，这一事件标志着麻醉学成为独立专业的开始。1847年英国产科医生 James. Y.为产妇施行乙醚麻醉镇痛，1853年他又开始应用氯仿麻醉，而使氯仿麻醉在英国得到公认。1920年 McGill 介绍了应用气管插管进行吸入麻醉，以保持气管的通畅，避免呼吸停止，可以人工通气。1925年—1960年间，麻醉学的发展取得了巨大的进步。到了21世纪的今天，麻醉学已经成为了一门系统的、综合的临床学科。据文献报道，每年大约有2.6亿病人接受手术<sup>[2]</sup>，大部分这类病人接受都需接受全身麻醉，每年这一数字还在不断增加。

全身麻醉是指麻醉药经呼吸道吸入、静脉或肌肉注射进入体内，产生中枢神经系统的暂时抑制，临床表现为神志消失、全身痛觉消失、遗忘、反射抑制和骨骼肌松弛的行为状态。麻醉药物对中枢神经系统的抑制程度与血药浓度有关，并且可以控制和调节。麻醉药物对神经系统的抑制是完全可逆的，当药物被代谢或从体内排出后，患者的神志及各种反射逐渐恢复。常用的全身麻醉药物按照给药方式的不同，可以分为静脉麻醉药物和吸入性麻醉药物。

#### 1、吸入麻醉药物的发展史

最早的吸入性麻醉药物是氧化亚氮（N<sub>2</sub>O），Humphry Davy 发现 N<sub>2</sub>O 能缓解拔牙时的疼痛，但是在其他手术的演示中失败，直到1846年 William T.G 公开演示乙醚吸入麻醉切除颈部血管瘤，乙醚吸入麻醉才开始得到普及，anesthesia 这一词才能得以出现<sup>[3]</sup>。随着乙醚麻醉的普及，研究者发现乙醚具有易燃、有刺激性气味，诱导期长、恶心呕吐发生率高缺点，开始寻找新的更合适的麻醉药物，1847年氯仿被 Simpson 提倡开始运用于产妇分娩时，氯仿开始广泛的作为麻醉药物应用于外科，直到1894年，有报道称称氯仿麻醉后儿童发生迟发性肝毒反应，同时在动物实验上发



现氯仿复合肾上腺素可使动物发生致死性室颤。由于麻醉机的发明，人们开始再次使用  $N_2O$  和氧气混合的方式进行麻醉，直到 1954 年氟烷的合成以及在 1956 年被应用于临床（107,108,47 页），吸入性麻醉药物开始进入较快的发展时期，并提出了 MAC 值的概念，MAC 是指可引起 50% 手术患者对刺激没有反应的肺泡药物浓度<sup>[4]</sup>，之后 1965 年 Ohio Medical Products 公司合成了恩氟烷和异氟烷<sup>[5]</sup>，广泛应用到临床麻醉中并一直沿用至今，七氟烷在 1968 年被合成，但是由于其与碱石灰不相容，直到 80 年代末期才应用于临床<sup>[6]</sup>。同时地氟烷也在这一时期开始应用于临床。

## 2、静脉麻醉药物的发展史

静脉麻醉药物与气体麻醉药物相比历史比较短，在静脉麻醉药物出现以前，外科全麻诱导及维持必须吸入气体和蒸汽，由于麻醉气体的异味及刺激性，对一些患者来讲这是一个非常痛苦的经历。直到静脉输液和注射器的出现之后，化学家将目光放在静脉给药上，开始研究各类静脉麻醉药物，1872 年 Ore 首次在人身上实施水合氯醛的静脉麻醉，但这一方法未得到世人的认可，直到静脉麻醉方法创始人 Helmut Weese<sup>[7]</sup>在 1932 年报道了几千例苯巴比妥静脉麻醉病例，静脉麻醉才被临床开始广泛应用，之后静脉麻醉药物进入了飞速的发展，1934 年出现了硫喷托纳，并提出了“平衡麻醉”的概念，20 世纪 60 年代到 70 年代先后出现了苯二氮卓类药物地西洋、咪达唑仑<sup>[8]</sup>、依托咪酯、氯胺酮、丙泊酚。提出了全凭静脉麻醉（total intravenous anesthesia, TIVA）的方法，这些药物及概念一直延续到今天。右美托咪定作为一种新型的高选择性的  $\alpha_2$ -肾上腺素受体激动剂，具有镇静、镇痛、抗焦虑、呼吸抑制轻、稳定血流动力学、抑制交感神经活动性、减少麻醉药物用量等优点。右美托咪定在 1999 年被美国药品与食品管理局（FDA）批准应用于 ICU，2009 年 FDA 批准可以用于全身麻醉前的镇静药物以及麻醉维持过程中的镇静药物。

## 3、麻醉药物作用机制研究

吸入麻醉药是化学结构与药理作用方面都各异的一类药物，主要可以分为三类，第一类：气体麻醉药，主要是氙气和氧化亚氮；第二类是：强效卤代醚类，主要是异氟烷、七氟烷、地氟烷和恩氟烷；第三类是烷类，主要是氟烷。最早的吸入麻醉药物作用机制是在 1899 年提出脂质是麻醉药的作用靶点，即脂质学说<sup>[9]</sup>，但是随着吸入麻醉药物的发展，MAC 值概念的形成，20 世纪 80 年代，英国帝国理工大学的

Franks 教授提出麻醉药竞争性地拮抗蛋白质功能<sup>[10]</sup> (图 1), 麻醉作用的相关分子靶点是关键性的信号蛋白, 即蛋白质学说, 在这之后的几十年麻醉机制研究都集中在寻找何种蛋白对导致麻醉终点起决定性作用。

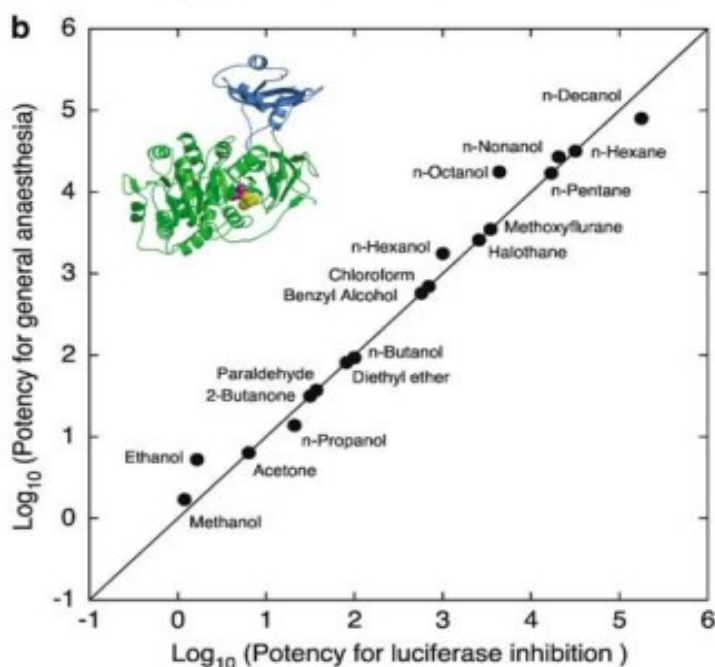


图 1 全麻药物通过与蛋白直接结合产生作用 (Franks NP, Lieb WR. Molecular and cellular mechanisms of general anaesthesia. Nature. 1994 Feb 17;367(6464):607-14..)

进入 21 世纪以来, 随着神经科学各项新技术的发展, 人们可以利用研究的手段越来越多, 光遗传、钙成像、双光子成像、转基因动物等先进技术的出现, 为研究麻醉药物的作用机制提供了新的方法, 而蛋白质学说始终没有找到任何一种受体, 通过调控它可以直接进入麻醉状态而不需要麻醉药物, 也没有一种受体可以被调控使得从麻醉状态中恢复。利用最新的技术, 研究者们开始对在麻醉状态下, 大脑的各个脑区以及神经元进行观察, 发现与睡眠或觉醒高度相关的神经元同样与麻醉及麻醉后觉醒高度相关, 人们开始尝试控制与觉醒及睡眠相关的区域及神经元来控制麻醉, 研究者们发现, 调控大多数促睡眠的核团及神经元同样可以调节麻醉加深以及诱导的麻醉药物浓度的减少<sup>[11]</sup> (图 2)。神经网络调控学说认为, 全身麻醉药通过抑制了中枢神经系统内的“促觉醒”核团, 同时兴奋了“促睡眠”的核团, 使整个中枢神经系统的觉醒程度降低, 而引起的意识丧失。

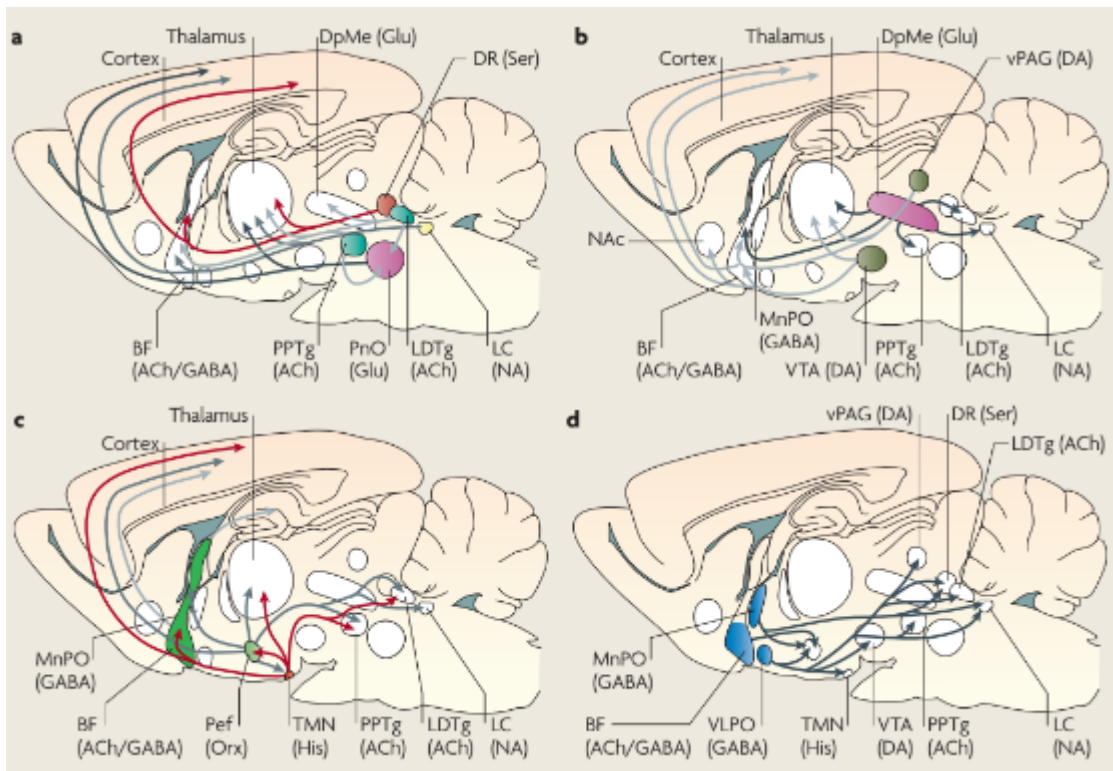


图 2 睡眠和觉醒相关的神经环路<sup>[11]</sup>

进一步的研究发现，在麻醉状态下，大多数神经元活性降低，但是少部分的神经元活性增强，尤其是皮层的少部分神经元和觉醒高度相关，在体和离体试验中都证明了皮层、脑干、丘脑以及纹状体的  $\gamma$ -氨基丁酸 A ( $GABA_A$ ) 和 NMDA 受体都是镇静药物的重要靶点<sup>[12, 13]</sup>，同时发现大脑中少数的抑制性中间神经元控制着大量的兴奋性神经元，而全麻药物可以增强 GABA 能神经元的抑制性从而使脑内大部分区域神经元活动性降低甚至钝化，从而引起意识的消失<sup>[14]</sup>。

镇静药物的作用机制各不相同，丙泊酚主要通过与其  $GABA_A$  受体的  $\beta$  亚单位结合，增强 GABA 诱导的氯电流，从而产生催眠作用<sup>[15]</sup>（图 3），氯胺酮的作用机制不明，但已证明氯胺酮的麻醉效应与阻断中枢神经系统的钠通道无关。



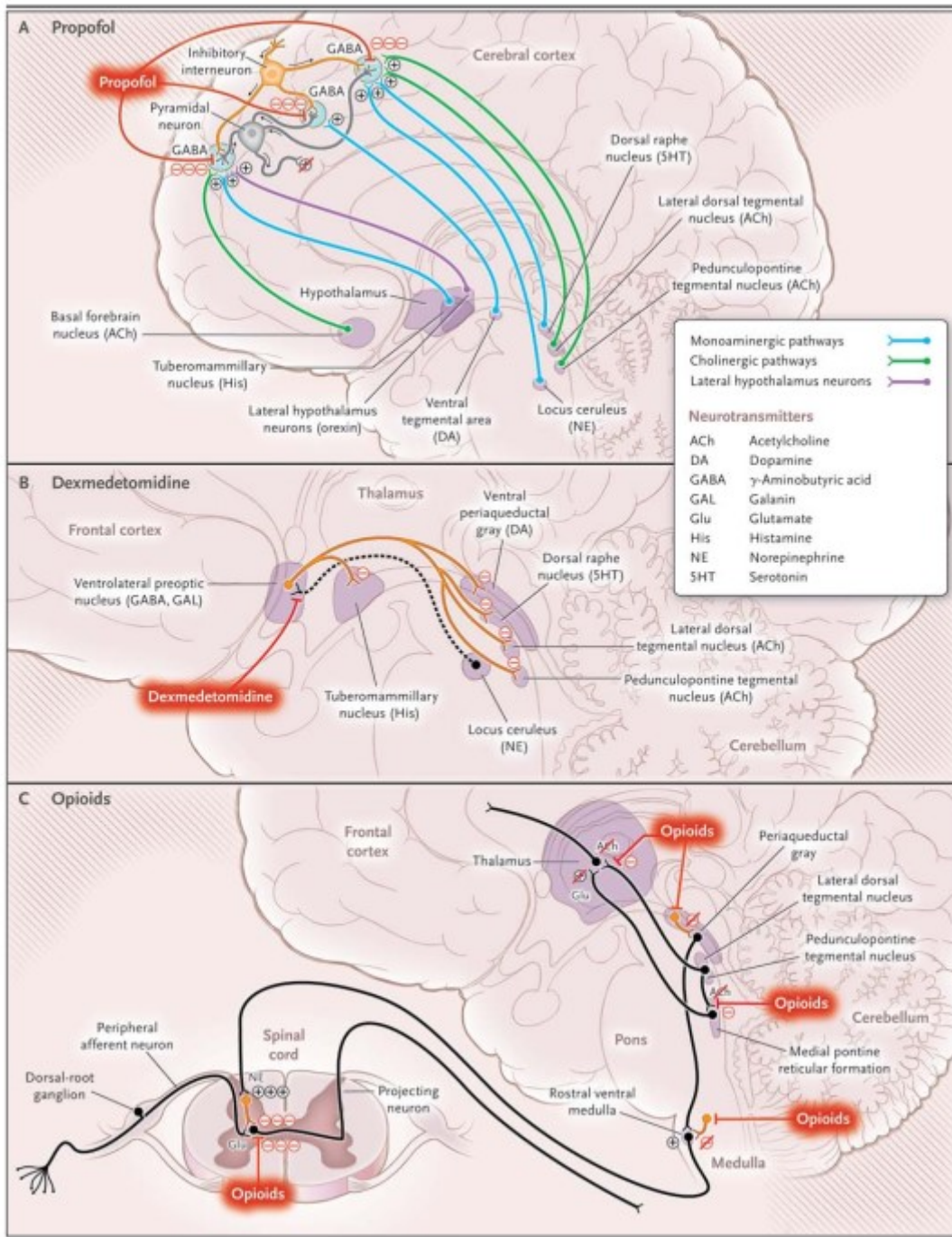


图 3 麻醉药物改变清醒作用的神经环路机制<sup>[16]</sup> 注：图 A 显示 GABA 能抑制性中间神经元（橙色）对锥体神经元（灰色）的突触作用接受来自上行觉醒道路的兴奋作用。单胺能通路起源于释放去甲肾上腺素的蓝斑、释放 5-HT 的中缝核、释放组胺的结节状乳头体以及释放多巴胺的腹侧被盖区。释放乙酰胆碱的胆碱能通路起源于基底前脑、外侧被盖核。外侧下丘脑神经元释放促觉醒肽。丙泊酚作用于突触后神经元并增强了 GABA 能神经元的抑制作用，拮抗了对锥体神经元的觉醒信号的传入，降低了锥体神经元的兴奋性，导致了无意识状态。图 B 所示，右美托咪定作用于蓝斑区神经元的  $\alpha_2$  受体，抑制了腹外侧视前核去甲肾上腺素的释放(虚线)。腹外侧视前区的去抑制作用通过调控中脑、

下丘脑和脑桥觉醒核团的  $GABA_A$  和甘丙肽而抑制觉醒作用。如图 C 所示, 阿片类药物通过抑制从外侧被盖区和脑桥脚被盖区到中脑网状结构和丘脑的投射来减少神经元释放乙酰胆碱。阿片类药物还作用于导水管周围灰质和喙侧腹侧延髓区的阿片类受体; 同时作用于背根神经节和投射神经元的外周传入神经元之间的突触前和突触后的脊髓阿片类受体。

右美托咪定作用于蓝斑 (LC) 的  $\alpha_2$  受体产生镇静催眠的作用 (图 4), 作用于脊髓内的产生镇痛作用<sup>[17]</sup>。

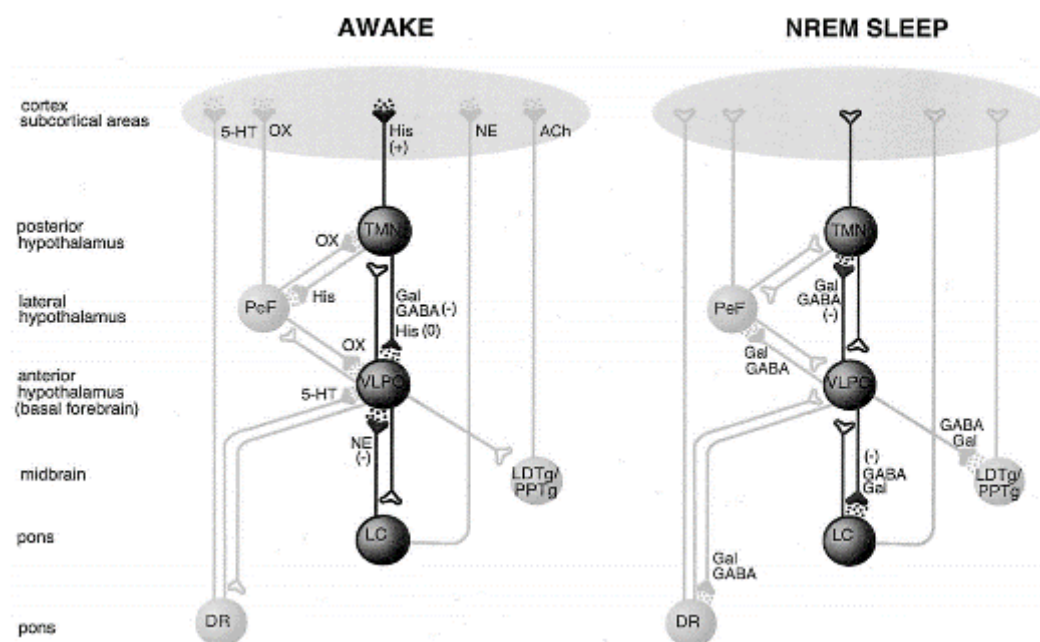


图 4 右美托咪定诱导非快动眼睡眠模型。蓝斑受到右美托咪定的刺激作用, 解除对 VLPO 的抑制。随后 VLPO 释放 GABA 到结节核。这抑制了促进前脑皮层觉醒组胺的释放诱导意识丧失。

## 二、睡眠的介绍

全麻药作用于不同的脑区的不同类型的神经元而产生不同的行为学效应, 包括遗忘、催眠、痛觉消失、运动停止和自主反射迟钝等。绝大多数麻醉药只能产生一个或几个麻醉行为学效应<sup>[18]</sup>, 但是吸入麻醉药几乎能产生全部的麻醉效应。

睡眠作为一种自然状态与全身麻醉的几个行为学效应都密切相关, 麻醉是一种被动的行为学状态, 然而, 全麻药物是如何产生作用, 实现可逆性的意识消失与恢复的? 更为重要的是, 认识全麻药物的作用特点并阐明其核心机制不仅决定麻醉药物发展的未来, 也对理解和阐明认知、意识等复杂神经活动的机制会产生深远影响。睡眠被动理论认为睡眠仅仅是活动状态即清醒的停止而产生的一种缺省状态。有研究表明横切延髓尾侧, 尽管能导致动物瘫痪, 但动物仍然可以保持警觉并维持正常

的睡眠节律；相反，当横断第三对脑神经的神经根尾侧，则会使动物进入持续的睡眠状态，这一结果为被动理论提供了强有力的证据。而主动睡眠理论则认为睡眠是主动产生的，当大脑中特殊的神经元系统提高他们的冲动频率，并因此抑制了其他维持清醒的神经元结构的信息输出时，就导致了睡眠产生。在 21 世纪以前，由于研究方法的制约，被动睡眠理论被广泛接受，但随着越来越多的新的神经科学研究技术的出现，越来越多的证据支持主动睡眠理论。尽管两种睡眠理论还存在争议，但这两种模式并不是相互排斥的。

生理学上觉醒和睡眠最显著的标记信号就是脑电图(electroencephalogram EEG)和肌电图 (electromyogram,EMG) [19]。觉醒状态被定义为 EEG 高频低振幅的节律，即“去同步化”，同时伴有 EMG 上出现或不出现运动活动度。整体来分，睡眠分为 NREM 睡眠与 REM 睡眠，二者在功能和表现上都存在极大的不同，NREM 睡眠时，EEG 显示为高振幅、低频 (0.5-4Hz) 的  $\delta$  波占主要成分。美国睡眠协会 AASM 在新的标准制订的时候将 NREM 睡眠分为 N1、N2、N3 期<sup>[20]</sup> (图 5)，各睡眠分期脑电存在较大差异，所占 NREM 的比例也不同，N1 期，占整晚睡眠的 5%，这个阶段又叫做浅睡期，N1 期比较短，往往持续 1~7 分钟，常在由觉醒向其他睡眠阶段移行或睡眠中体动多时出现。N1 期  $\alpha$  波减少 50%以上，脑电主要表现为低波幅混合频率波 (low amplitude, mixed frequency activity)。在 N1 期的后半段到 N2 期的初期，可出现顶尖波。N1 期肌电水平较觉醒时低，可有缓慢眼球运动。N2 期，占整晚睡眠的 50%，是成人夜间主要的睡眠阶段，N2 期背景脑电图也是低波幅混合频率波，但频率慢于 N1 期。有两个特征性的波：K 复合波和睡眠纺锤波。N3 期，占整晚睡眠的 20%，是睡眠最深沉的阶段，修复功能最强，主要是针对躯体和内脏功能。这一阶段不太容易被叫醒。这一阶段脑电特征为 0.5~2Hz，波幅>75 $\mu$ V 的慢波占比 20%以上(R&K 标准 20-50%为 3 期，50%以上为 4 期)，也叫慢波睡眠(slow wave sleep)。正常成人晚上睡眠转换规律为，先是第一个循环 N1、N2、N3 期，然后经 N2 过渡到 REM 期；第二个循环 N2、N3、N2、REM；然后再来 N2、N3、N2、REM；如此往复，一夜共约 5 个循环，每个循环约 90 分钟左右。前半夜 N3 占比高，后半夜 N3 越来越少，REM 越来越多。REM 睡眠，占整晚睡眠的 25%，脑电图与清醒时类似，表现为不同步，且  $\theta$  节律波 (4-8Hz) 比例增加，这一时间内，EMG 的活动度是最

小的甚至完全消失<sup>[21]</sup>，临床上也用 EOG 来记录眼球的运动，当眼动电图 EOG 显著增强时判定 REM 睡眠。

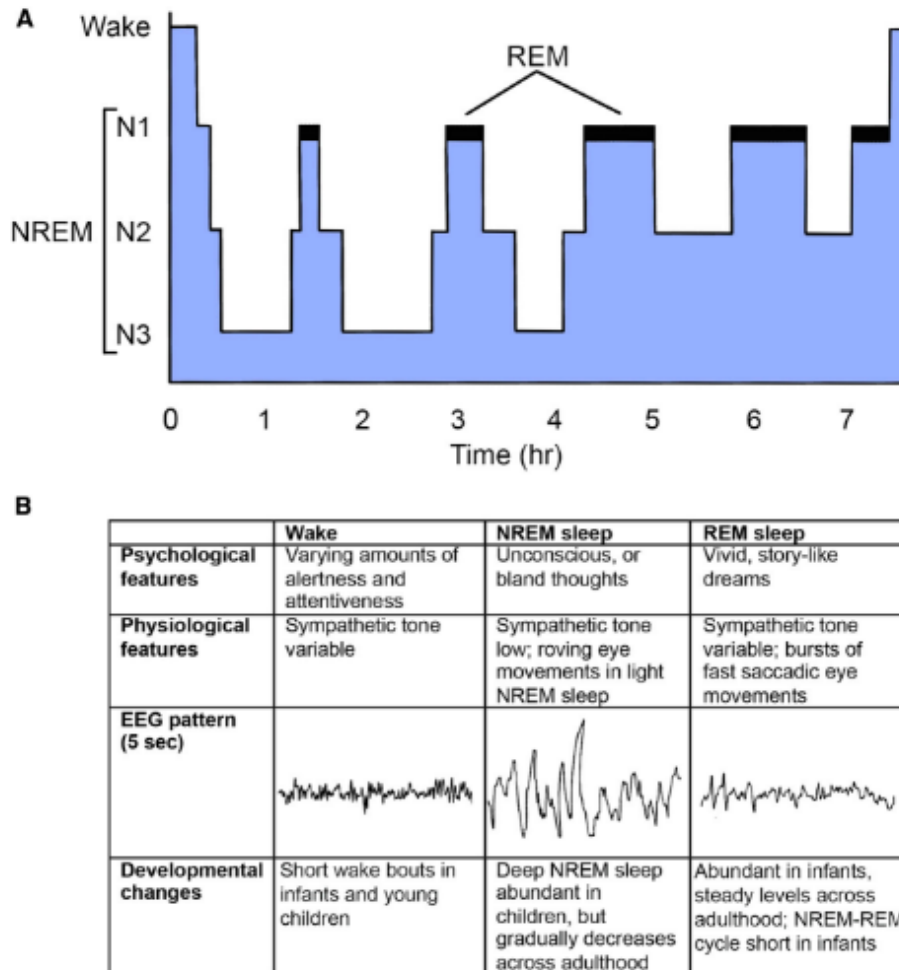


图 5 睡眠生理学特点<sup>[22]</sup> 注: **Wake** 被定义为 EEG 高频低振幅的节律, 同时伴有 EMG 上出现或不出现运动活动度。睡眠分为 NREM 睡眠与 REM 睡眠, 二者在功能和表现上都存在极大的不同, NREM 睡眠时, EEG 显示为高振幅、低频 (0.5-4Hz) 的  $\delta$  波占主要成分。NREM 睡眠分为 N1、N2、N3 期, REM 睡眠脑电图与清醒时类似,  $\theta$  节律波 (4-8Hz) 比例增加, EMG 的活动度是最小的甚至完全消失。

负责控制觉醒状态的神经系统对个体非常重要, 大脑内的促觉醒通路包括脑干前部以及下丘脑尾部的单胺能神经元直接向皮层以及下丘脑、丘脑的投射调控觉醒, 这些单胺能神经元包括 LC 脑区的去甲肾上腺素能神经元<sup>[23]</sup>、脊核 (Raphe) 背侧<sup>[24]</sup>、中侧的 5-羟色胺能神经元 (5-HT)<sup>[25]</sup>、腹侧被盖区的多巴胺能神经元<sup>[26]</sup>, 以及结节乳头状核的组胺能神经元。这些中枢的冲动发放频率在清醒状态时最大, 在 NREM 睡眠时下降, 在 REM 睡眠时基本静止。臂旁核 (PN)、侧背面被盖区 (LDT)<sup>[27]</sup>、



脑桥脚被盖区 (PPT) [28] 以及基底前脑区 (BF) [29] 的胆碱能神经元也同样有促觉醒的作用, 这些神经元在觉醒状态和 REM 状态时兴奋性最高, 在 NREM 睡眠时神经元活性降低, 这与单胺能神经元的作用方式不太相同。

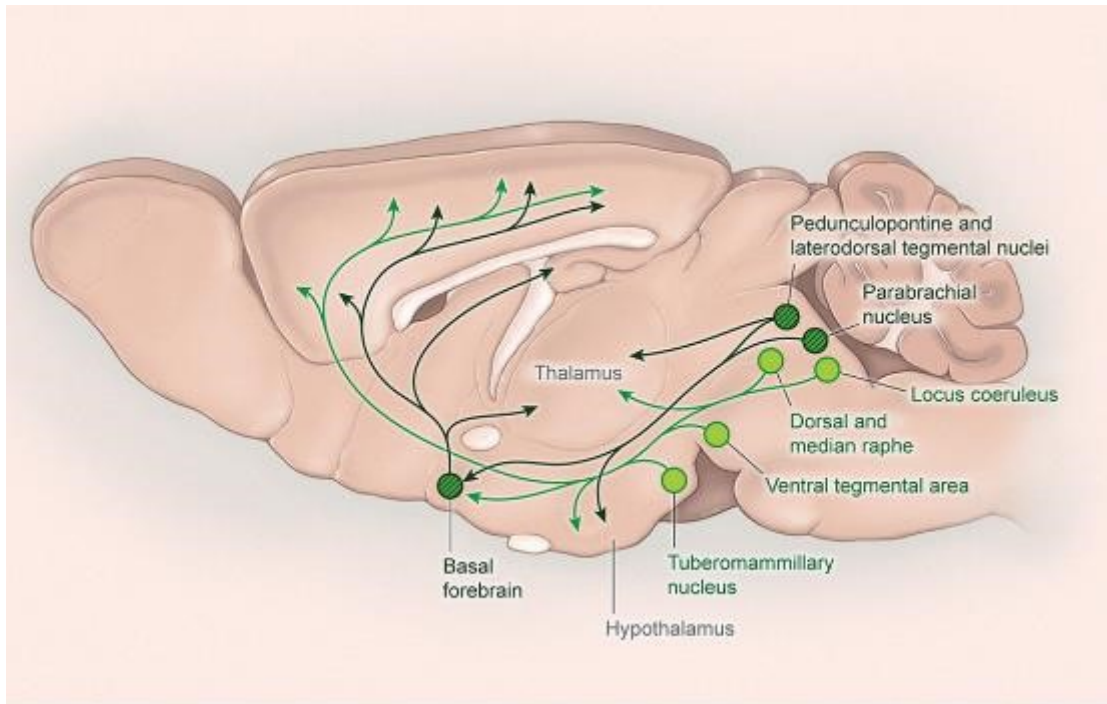


图 6 促进觉醒的神经通路 注: 数个促觉醒的神经化学系统以及觉醒状态典型的快速皮层活动。喙侧脑干以及尾侧下丘脑的单胺能神经元 (淡绿色) 直接调控了皮层以及许多包括下丘脑和丘脑在内的许多亚皮层区域。这些单胺能区域包括蓝斑区的去甲肾上腺素神经元, 被盖区和中缝核团的 5-HT 能神经元, 腹侧被盖区的多巴胺能神经元以及结节状乳头体区的单胺能神经元。促觉醒信号也起源于臂旁核和包括脑桥脚被盖核核外侧被盖核核基底前脑的胆碱能区 (深绿色虚线)

在 NREM 睡眠时, 除视交叉前腹外侧核团 (VLPO) 外, 绝大多数脑区的电活动下降<sup>[30]</sup>, VLPO 区的神经元在睡眠时是兴奋的, 该区域的 GABA 能神经元抑制了下丘脑尾部和脑干中促觉醒的相关通路<sup>[31]</sup>。BF 区同样存在直接投射到皮层来激活睡眠的促睡眠神经元<sup>[32]</sup>。侧颜区 (PZ) 的 GABA 能神经元通过抑制臂旁核的促觉醒神经元发挥促睡眠的作用<sup>[33]</sup>。大脑的皮层本身也存在促睡眠神经元, 主要是 GABA 能神经元和神经元型一氧化氮合酶 (nNOS), 敲除 nNOS 的小鼠 NREM 睡眠时间减少, 睡眠的次数也减少, 睡眠内稳态就像是睡眠剥夺一样<sup>[34, 35]</sup>。



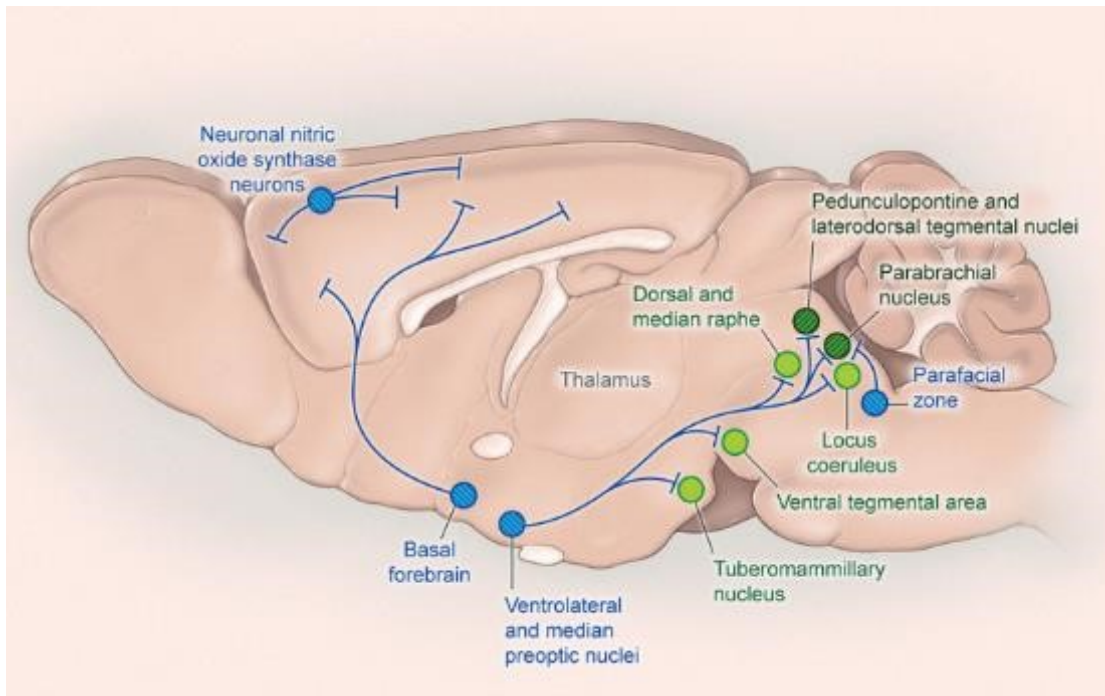


图 7 促 NREM 睡眠的神经通路 注：腹外侧视前区和中央视前区的 GABA 能神经元通过抑制尾侧下丘脑和脑干的促觉醒神经元而促进睡眠。基底前脑也包含睡眠兴奋神经元，可能通过 BF 内部的投射以及到皮层的直接投射来促进睡眠。侧颜区的 GABA 能神经元能够通过抑制臂旁核而促进睡眠。皮层含有散在在的包括 GABA 以及氮氧合酶在内的 NREM 睡眠活性神经元。

REM 睡眠也同样受大脑调控，产生 REM 睡眠的主要效应部位存在于脑桥网状结构，在猫的脑干横切面研究中，将脑桥内的脑干 REM 控制中枢局限于脑桥核嘴侧（PnO）区域，直接将胆碱能激动剂注入 PnO 可产生类似于自然睡眠 REM 睡眠的状态，此处可能是产生 REM 睡眠所必须的。背部侧枝核（SLD）在调节 REM 睡眠中起到决定性的作用<sup>[36]</sup>，SLD 区的谷氨酸能神经元通过激活腹侧延髓和脊髓的 GABA 能神经元导致 REM 睡眠时的肌肉麻痹。脑桥脚和侧盖被区的胆碱能神经元通过调整神经元的放电方式使 EEG 表现为 REM 睡眠时的 EEG。在 NREM 睡眠和觉醒状态时<sup>[37]</sup>，SLD 区神经元被中脑导水管周围灰质腹外侧（vIPAG）的 GABA 神经元抑制从而终止 REM 睡眠<sup>[38]</sup>，vIPAG 神经元和 SLD 的神经元构成了一个相互拮抗的环路来产生和抑制 REM 睡眠。

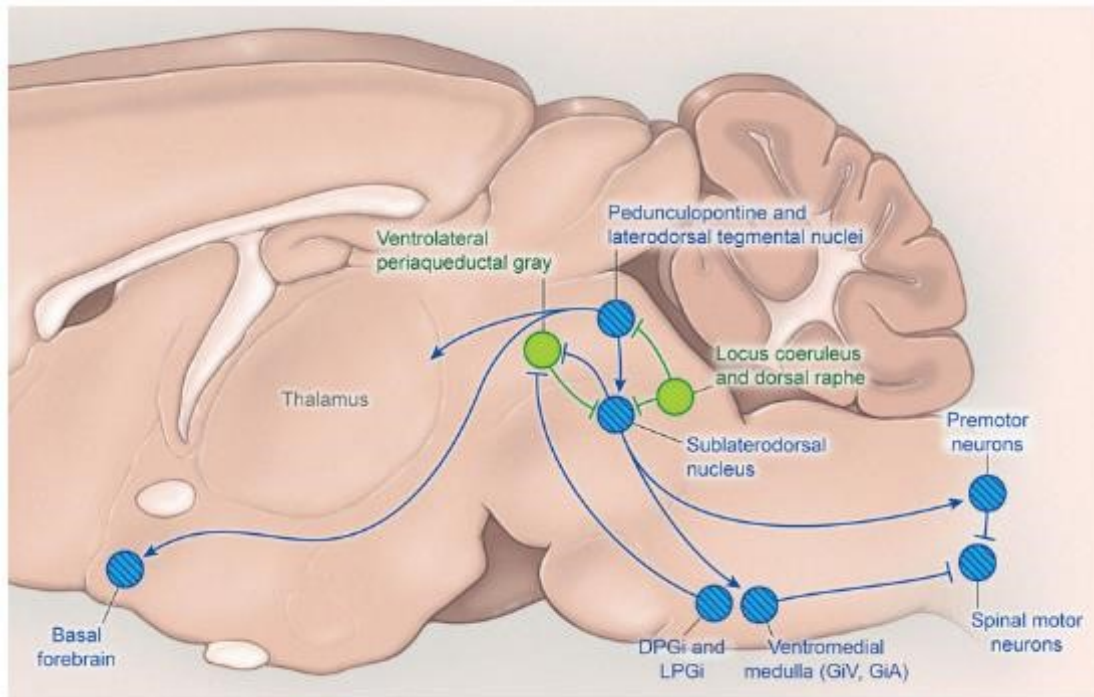


图 8 促 REM 睡眠的神经通路 注：背部侧枝核在 REM 睡眠调控中扮演了极为重要的角色。背部侧枝核的谷氨酸能神经元通过兴奋腹正中延髓和脊髓的运动神经元而产生肌肉瘫痪。脑桥脚和外侧被盖区的核团的胆碱能神经元也能促进 REM 睡眠，并且可能诱发典型的 REM 睡眠的快速脑电活动。在觉醒和 NREM 睡眠中，背部侧枝核受到来自腹外侧导水管周围灰质以及毗邻的外侧脑桥被盖 GABA 神经元的抑制，还受到蓝斑区和中缝核单胺能神经元的抑制。在 REM 睡眠中，腹外侧导水管周围灰质很可能受到来自背部侧枝核和髓质 GABA 能神经元的抑制。促 REM 睡眠的核团以蓝色虚线呈现，REM 抑制核团以绿色虚线呈现。

### 三、麻醉对睡眠的影响

虽然全身麻醉广泛应用于临床，然而麻醉药物如何作用于大脑发挥作用的具体机制还不清楚。目前认为控制睡眠的是两种不同但又相互联系的机制，即睡眠同态调节器和生物钟。而在麻醉起作用的时候患者处于一种意识丧失的状态，这可能是麻醉药物影响了控制睡眠的两种机制的一种或者两种。事实上有报道指出全麻药物对睡眠同态调节器有影响，而且一些镇静的麻醉药物能够补偿睡眠债务。临床上很多术后病人都反映经历过睡眠紊乱，并且越来越多的术后睡眠障碍（postoperative sleep disturbances, PSD）病例被报道。同时在动物实验上发现给予全身麻醉后可以打乱睡眠结构和引起动物的生物钟紊乱，这些都提示麻醉药物对睡眠产生了直接的影响。而且越来越多的研究证实了这一点<sup>[39-56]</sup>。

麻醉对睡眠结构的影响是临床研究的新方向，研究发现术后患者高发 PSD，而麻醉可能是重要因素，睡眠紊乱和昼夜节律的变化会引起炎症以及影响免疫功能，

从而可引起一系列的生理和行为学变化<sup>[39, 45, 57-60]</sup>，所以麻醉引起的昼夜节律紊乱可能对患者术后康复产生极大的影响。

动物的休息和活动节律被打乱一般表现为在休息期活动增多，在活动期则休息增多，有研究报道，经历四种不同的麻醉药物以后动物的休息和活动受到了不同的影响，七氟烷、戊巴比妥、氯胺酮活动度都发生了明显的减少<sup>[39, 45, 60]</sup>，但是异氟烷麻醉后动物的活动度却增加，丙泊酚未见明显差异。这可能是因为这些药物对睡眠稳态的作用不同。全身麻醉打乱了休息/活动节律，则会影响到休息/活动节律的时相变化，大量研究证明在动物的非活跃期给予七氟烷、戊巴比妥、异氟烷麻醉，则对动物的活动时相没有产生明显的作用（图 9）。值得注意的是在大鼠的非活跃期的中间时段给予氯胺酮麻醉后，大鼠的活动时相发生了 3.9 小时的延迟<sup>[44]</sup>，而在小鼠的非活跃期的结束时段给予丙泊酚麻醉，小鼠的活动时相发生了 1 个小时的提前。而戊巴比妥则不管在动物的任何时期给予麻醉，都不会引起活动时相的变化。但是关于异氟烷对活动时相的结论却不同，这可能与不同的研究实验方案不同有关。

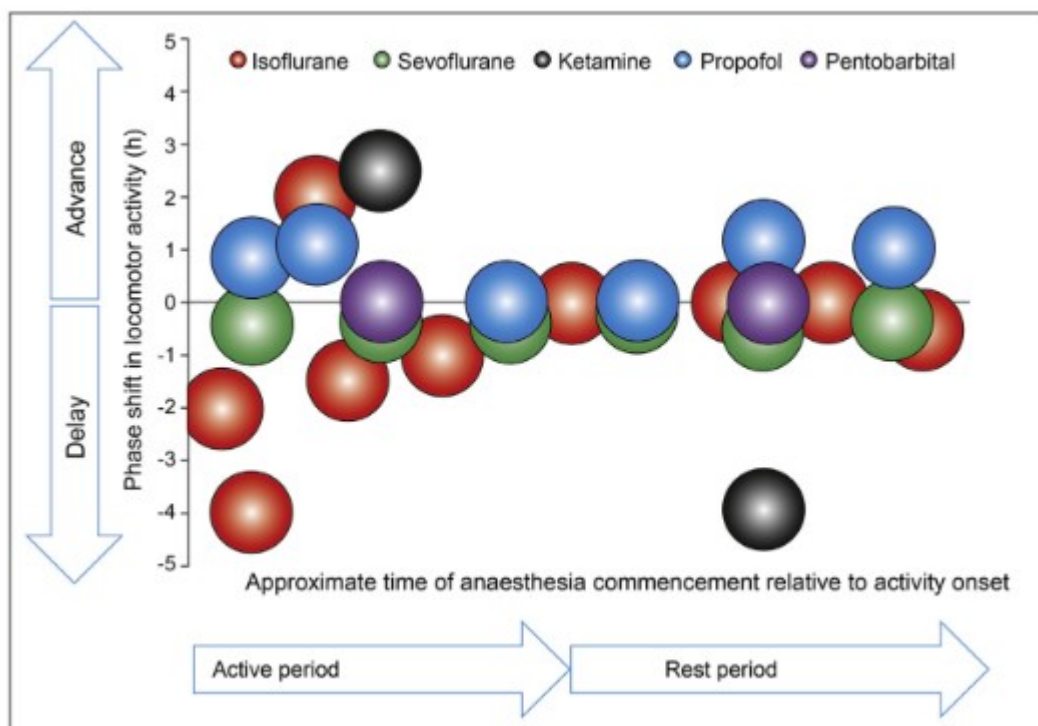


图 9 不同麻醉药物对休息/活动的影响

这些研究结果大多来自于夜间为活跃期的动物，这和人类的节律相反，那么日间为活动期的动物在经历麻醉后，休息/活动节律是否会发生相同的变化呢？有研究

报道在动物的 SCN 区注射 GABA 激动剂蝇蕈醇发现在夜间为活动期的动物表现为活动时相提前，而在日间为活动期的动物表现为活动时相延迟。麻醉药物作为 GABA 激动剂则观察到了相反的作用<sup>[55, 61]</sup>。

睡眠的缺乏以及睡眠结构的紊乱可能引起一系列代谢性疾病。睡眠剥夺(sleep deprivation)是导致高血压、糖尿病、肥胖症、心脏病和中风等疾的高危因素。而且，睡眠缺乏还会导致人们反应速度变慢，造成车祸或者医疗事故<sup>[62-64]</sup>。睡眠剥夺可以引起注意力的减退，特拉维夫大学的 Yuval Nir 等研究证实在处于睡眠剥夺状态时，类似睡眠时出现的脑波会侵入特定脑区，扰乱大脑在完成任务时的正常活动，睡眠剥夺使得颞叶的神经元活动变慢，从而对注意力产生影响。<sup>[65]</sup>

随着外科手术量的增加，术后睡眠障碍的报道也在增多，这可能是手术压力、术前自身因素、以及手术麻醉等因素引起<sup>[66, 67]</sup>。

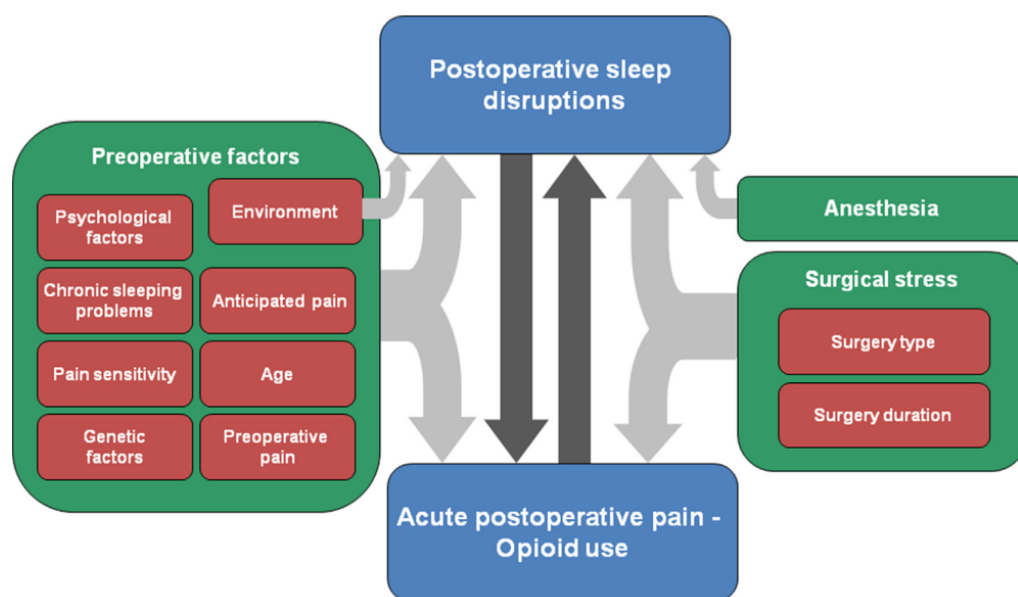


图 10 影响术后睡眠障碍的因素

术后睡眠障碍的发生可能是因为调控全身麻醉的神经网络与调控睡眠的神经网络部分相同，在接受全身麻醉后，这部分神经网络功能发生变化，引起睡眠结构的变化，主要表现为在睡眠阶段的 NREM 睡眠和 REM 睡眠时间减少，觉醒的时间和次数增多。在使用多导脑电图的多项研究中发现，在术后的首晚，患者的睡眠结构被改变的较明显，伴有频繁的觉醒和睡眠转换，以及 NREM 睡眠时间和 REM 睡眠时间缩短<sup>[68, 69]</sup>。术后睡眠结构的紊乱可能持续 3 到 4 天，在心脏手术患者持续时间

更长，甚至达到几周时间，右美托咪定及七氟烷作为全身麻醉药物，由于其对循环系统的影响较小，目前已经作为在心脏手术的常规用药，有临床文献报道术后给予右美托咪定，可以明显改善术后睡眠障碍，使得术后夜晚睡眠质量提升，尤其是对N1,N2期睡眠的改善<sup>[70]</sup>。

# 正文

## 实验一 七氟烷麻醉对大鼠睡眠结构的影响

实验背景及目的:

七氟烷是临床上较常用的气体麻醉药物,在之前的基础研究报道中,发现在睡眠剥夺后给予七氟烷麻醉可以部分的偿还睡眠债务,在未经历睡眠剥夺给予长时间七氟烷麻醉的情况下睡眠结构的变化以及具体变化的特点目前还不是很清楚,且不同的文献报道结果还不一致。本部分实验旨在探讨日间长时间七氟烷麻醉后 24 小时内,连续无线监测大鼠的睡眠,观察大鼠睡眠结构的变化以及具体的变化特点。

### 1 材料

#### 1.1 实验动物

成年雄性 SD 大鼠 16 只(体重 250-300g 周龄 10-12 周),由空军军医大学实验动物中心提供。实验动物在西京医院麻醉科实验室 SPF 级动物房饲养,动物房环境温度设定为(24±0.5℃),湿度(60±2%),保持昼夜节律:日间(08:00 至 20:00),夜间(20:00 至 08:00),保证水和食物充足。

#### 1.2 麻醉系统

七氟烷(批号:A117L517, Baxter 公司,美国),小动物麻醉机(Raymain, Model: HSIV-u),自制麻醉行为箱, YZB/GER 3570-2011 型监测仪(Draeger Medical GmbH 公司,德国)。

#### 1.3 无线遥感睡眠监测系统

大鼠植入子 F50-EEE(7 导联, DSI 公司,美国),无线信号接收板 PCR-1 (DSI 公司,美国),睡眠行为观察箱, DQART 软件(DSI 公司,美国), NeuroScore 软件



(DSI 公司, 美国)。

## 2 方法

### 2.1 大鼠无线睡眠监测系统建立

1) 大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛 (3ml/kg, ip) 麻醉。

2) 对大鼠常规头部、颈部备皮, 备皮位置以两耳连线前后 1cm 区域为准, 备皮并碘伏消毒。

3) 大鼠置于加热恒温手术台上, 保持大鼠仰卧位, 用橡胶皮筋固定四肢, 沿腹中线备皮 1 cm × 3.5 cm 的区域, 并用碘伏消毒。

4) 用消毒过手术剪刀沿腹中线作长 2.5-3.0 cm 纵行切口, 分离皮肤及肌层, 暴露腹腔, 将浸泡的 F50-EEE 无线遥感植入子 (DSI 公司, 美国) 用镊子埋入腹腔, 尽量不压迫腹腔器官。

5) 植入子 F50-EEE 上透明色导线在 13G 针头引导下穿过腹部肌层, 剥离导线前端线鞘暴露弹簧金属导丝 4mm。并在 21G 针头引导下穿过肌肉用线鞘固定于腹壁左下部肌层, 另将其余 6 根导线在 13G 针头引导下穿过肌层, 将纯蓝色导线在 21G 针头引导下固定于大鼠心前区肌层, 将蓝白色 (一半为蓝色一半为白色) 导线置于大鼠右前肢向心端肌层, 这对导线将用于监测心电图 (ECG), 另 4 根导线经导引套管穿过皮下于颈部皮下引出, 并腹肌缝合固定植入子, 关闭腹腔、消毒, 然后缝合腹部切口皮肤, 并碘伏消毒。

6) 然后将大鼠改为俯卧位放置大鼠恒温加热垫确保在麻醉及手术操作时维持大鼠体温, 将大鼠适配器的调平杆调节到左右相同刻度; 先将大鼠下颚用牙签撬开, 咬住大鼠适配器前端, 两侧用耳棒在耳朵后下部位夹紧头部 (尽量前后左右保持在同一水平面), 在大鼠眼睛上涂红霉素眼膏, 剪开头部上皮 (直剪), 用 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 擦拭颅骨, 将颅骨外膜腐蚀, 充分暴露出颅骨, bregma, lamda 分线明显; 调平 (脑立体定位仪): 找到 bregma 点, (先前后再左右) 调平 (前后调平时尽量使 bregma 点和 lambda 点保持在一水平直线上, 误差不大于一个 0.05mm)。参照《The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates》第五版, 使 AP 轴和 ML 轴定位并移动到电极置入点 (正极,

AP: 0.15, ML: 0.2, DV:-0.1;负极, AP: -0.7, ML: -0.2, DV: -0.1) 后, 用手术刀片在颅骨表面划定标记, 用颅骨钻 (NAKANISHI INC,日本) 钻孔后, 纯绿色导线剥离导线前端线鞘暴露弹簧金属导丝, 前段 2mm 在显微镜做 Z 行弯曲并作为正极置于颅骨下, 且不透过硬膜外, 同样的方法将绿白色导线作为负极置于颅骨下, 并用牙科水泥将电极固定于颅骨表面, 这对电极将用来记录大鼠脑电图 (EEG)。将纯橘色导线前端线鞘暴露弹簧金属导丝 4mm。并在 21G 针头引导下穿过肌肉用线鞘固定于颈部左侧肌肉用于作为正极, 同法将橘白色导线做为负极埋入右侧颈部肌肉, 这对电极将用于记录肌电图 (EMG)。缝合头部创口并消毒, 放入温箱直至大鼠觉醒, 具体流程如下图所示 (图 11)。术后连续 3 天腹腔注射镇痛药物。



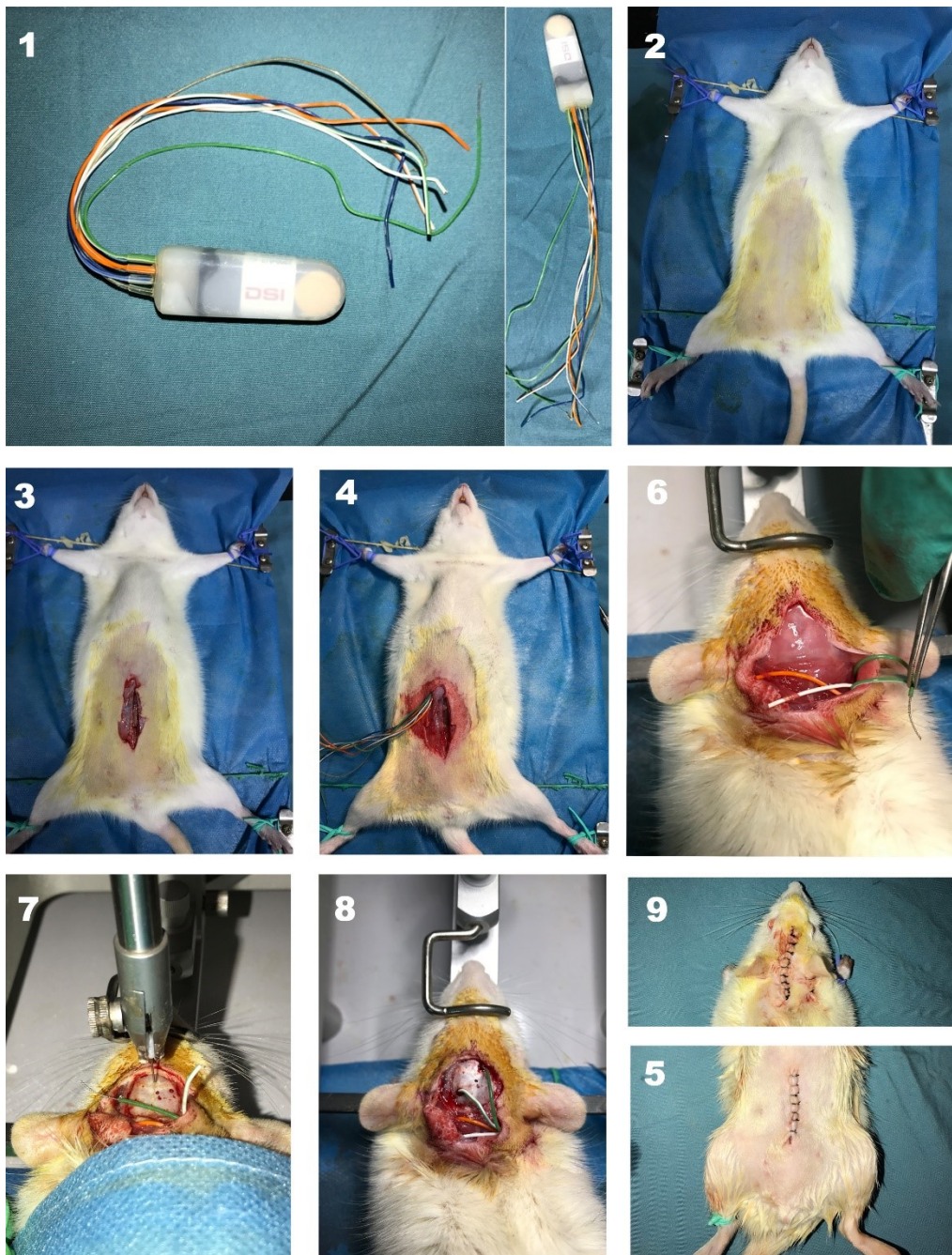


图 11 大鼠体内无线植入子置入流程

注：1、F50-EEE 植入子准备;2、大鼠备皮消毒固定；3、暴露大鼠腹腔；4、大鼠腹腔置入植入子，固定 ECG 和参考电极，将电极从颈部引出；5、腹腔缝合，消毒；6、颈部 EMG 电极固定；7、立体定位仪定位 EEG 电极点；8、置入 EEG 电极；9、牙科胶固定 EEG 电极，缝合头部切口，消毒。

## 2.2 麻醉方法及监测

术后第 7 天将大鼠连鼠笼放入睡眠监测观察箱。箱体系统的灯光昼夜节律设定与大鼠生物节律相似。将大鼠采用随机数字表法分为两组 (n=16): 七氟烷麻醉组 (S 组, n=8), 对照组 (C 组, n=8), 两组大鼠适应 2 天后, 用磁铁在大鼠腹部划过, 收音机验证听到长时间的蜂鸣音后确认植入子 F50-EEE 被开机, 之后将大鼠放入鼠笼, 鼠笼放置在 RPC-1 信号接收板上 (DSI 公司, 美国), 放入睡眠监测观察箱。通过 DQART 软件 (Version 4.33, DSI 公司, 美国) 连续记录 24 小时 (14:00 至次日 14:00), 监测 EEG (采样频率 500 Hz)、EMG (采样频率 500 Hz)、ECG 和活动度等信号, 用来作为大鼠的基础睡眠值。植入子术后第 10 日早 8:00 将大鼠放入自制的麻醉行为转筒 (直径 20 cm, 长 35 cm), C 组通入纯氧 1.5 L/min, 持续给予 6 小时, S 组通入 2.4% 七氟烷 (批号: A117L517, Baxter 公司, 美国) 与纯氧气 1.5 L/min, 持续给药 5.5 小时, 然后关闭七氟烷, 再通入纯氧 1.5 L/min, 持续 30 分钟, 观察大鼠恢复反正反射并可以自主运动。全程使用 YZB/GER 3570-2011 型监测仪 (Draeger Medical GmbH 公司, 德国) 监测箱内气体浓度。30 分钟通氧气后即刻移出大鼠, 植入子开机将大鼠放入睡眠监测观察箱持续记录 24 h 大鼠生理信号 (14:00 至次日 14:00), 监测 EEG (采样频率 500 Hz)、EMG (采样频率 500 Hz)、ECG 和活动度等信号。具体流程如图所示 (图 12)。

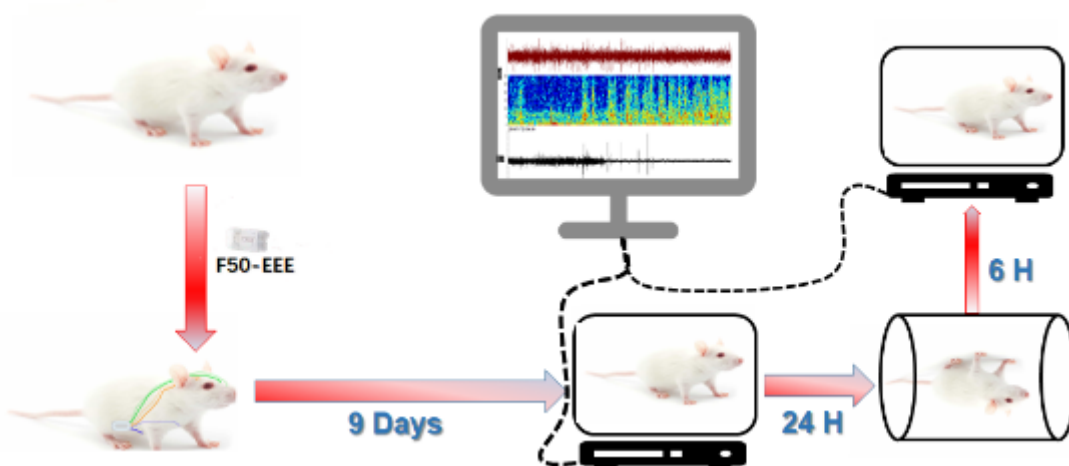


图 12 大鼠七氟烷麻醉流程示意图

### 2.3 睡眠行为学分析

依据大鼠适应的昼夜节律将麻醉后的 24 小时分为 4 个时相：第一个时相（L1）定义为麻醉结束后的第一个 6 小时，这一时相内睡眠监测箱内为灯亮状态（Light 1,14:00 至 20:00），第二个时相（D1）定义为麻醉结束后的第二个 6 小时，也是睡眠监测箱内关灯的第一个 6 小时(Dark 1, 20:00 至 02:00)，第三个时相（D2）定义为麻醉结束后的第三个 6 小时，也是睡眠监测箱内关灯的第二个 6 小时(Dark 2,02:00 至 08:00)，第四个时相（L2）定义为麻醉结束后的第四个 6 小时，也是第二日睡眠监测箱内开灯的第一个 6 小时 L2 (light 2,08:00 至 14:00)。采用 Neuroscore 软件（Version 3.0,DSI 公司，美国）进行分析，采用经典的 Rodents scoring 法，将 EEG 波形首先滤波，设定为 0-50HZ,之后对 EEG 分析，单独滤出 EEG 中各波形(Delta 波:0.5-4 Hz,Theta 波:4-8Hz， Alpha 8-12Hz,Sigma 12-16Hz,Beta 16-25Hz,Gama 25-50Hz)（图 13）。

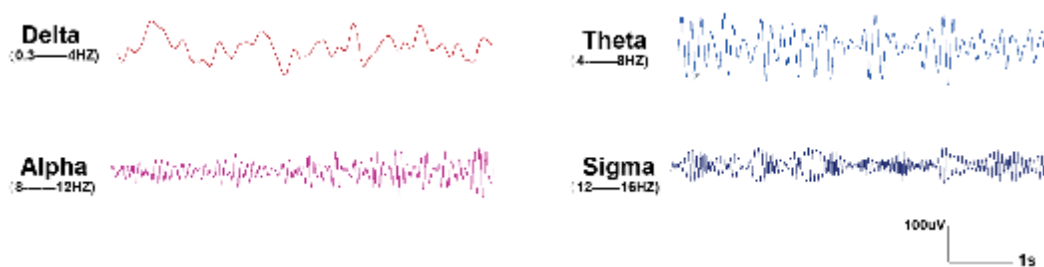


图 13 脑电图中各波形示意图

不同的睡眠状态时各个波所占的比例也不同，NREM 睡眠是以 Delta 波为主，并伴有较低或者没有 EMG，REM 睡眠则以 Theta 波为主，伴有 EMG 的消失，Wake 状态则可出现 Sigma 波或者 Beta 波为主，伴有较高幅度的 EMG（图 14）。

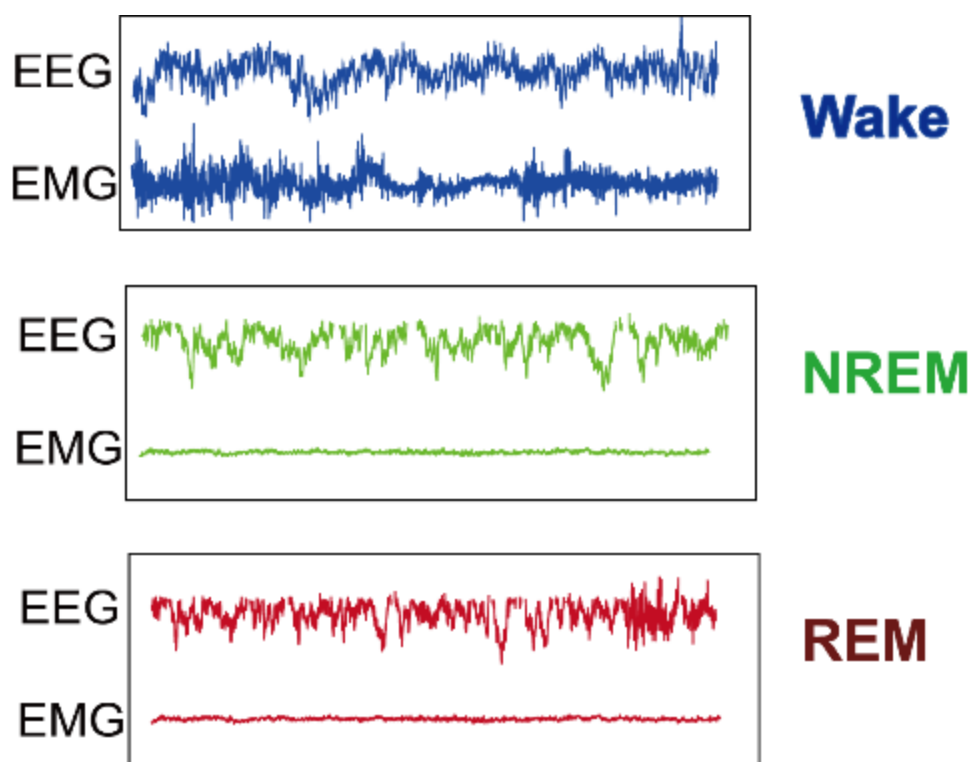


图 14 各睡眠状态脑电图与肌电图的表现

为了精细准确的分析 24 小时的睡眠,将每 10 s 数据定义为一个时间段(epoch),分析整段数据,当某一个 epoch 的 EMG 的测定值 $\geq 1.1$  倍整段数据的平均值,或者 EMG 测定值 $< 1.1$  倍平均值,但 Delta 波的能量较低, Beta 波所占的比例相对较高则定义为觉醒状态——Wake; 当 EMG 的测定值 $< 1.1$  倍平均值时,且 Delta 波的能量高于平均值,或者 Theta 波比 Delta 波所占的比例较低,判断为非快动眼睡眠——NREM 睡眠; 当 EMG 的测定值 $< 1.1$  倍平均值时,且 Theta 波的能量高于平均值,或者 Theta 波比 Delta 波所占的比例较高时判断为快动眼睡眠——REM 睡眠。所有的 24 小时数据经软件自动分析后,随机抽取 1000 个时间点,进行手工重检,如错误率高于 5%,调整参数后再次机器和手工重检验证。整段 24 小时记录的数据分析觉醒、非快动眼睡眠和快动眼睡眠的总时间和次数以及每个时间段内的睡眠结构,并做睡眠结构图(图 15),其中纵坐标代表的是各睡眠状态,W 代表 Wake, R 代表的为 REM 睡眠, N 代表的为 NREM 睡眠。横坐标代表的时间,在图中与纵坐标齐高的横线,代表这一时间段大鼠所处的状态。





越高。如下图示意图中，横坐标代表的是时间，纵坐标代表的是 0—30HZ，从图中看出在黑色框标记的时间段内低频的 Delta 波所占的比例较高，代表这一时期主要以 Delta 波为主（图 16）。

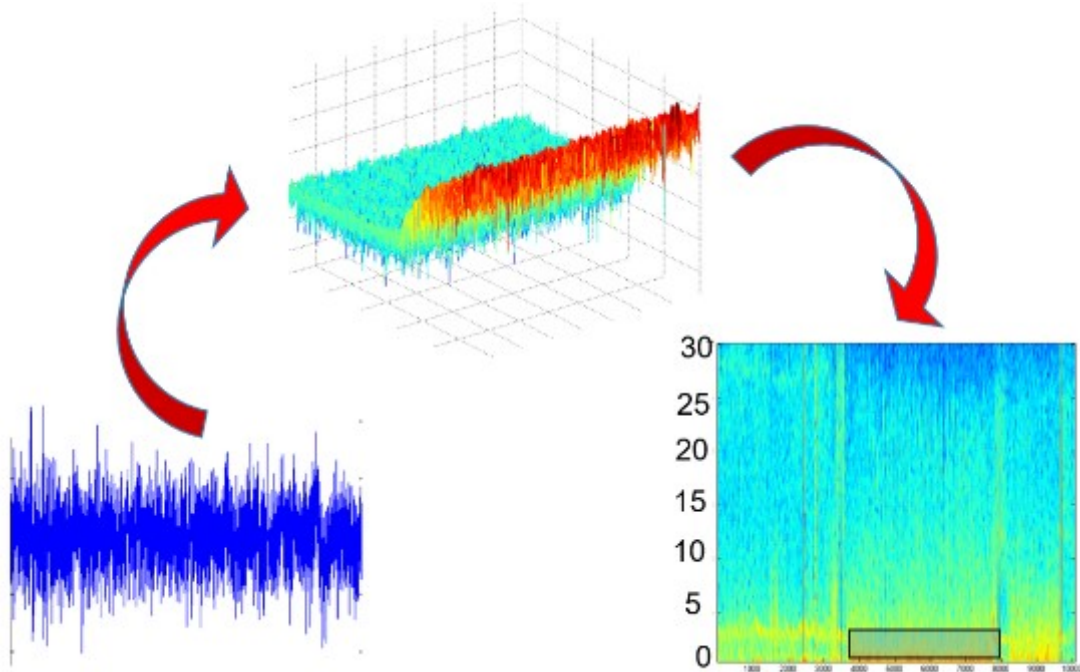


图 16 脑电图计算转换为频谱图示意图

## 2.5. 数据统计和分析

采用SPSS 19.0软件进行数据分析，剂量资料采用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示，睡眠时间计数等组间比较采用非配对t检验(Unpaired t text)，组内比较采用one-way ANOVA和Tukey's multiple comparisons test，计数资料采取卡方检验。P < 0.05有统计意义。

## 3 结果

### 3.1 七氟烷麻醉后大鼠睡眠结构的变化

#### 3.1.1 大鼠体重及基础睡眠结构的比较

C 组体重 Mean±SEM 为  $286.5 \pm 3.625$  g, S 组体重 Mean±SEM 为  $285.5 \pm 2.612$  g,

两组大鼠体重差异无明显统计学意义(图 17)。两组大鼠的 24 小时基础睡眠中 NREM 睡眠时间、REM 睡眠时间以及 Wake 时间没有明显的统计学差异 ( $p>0.05$ )。

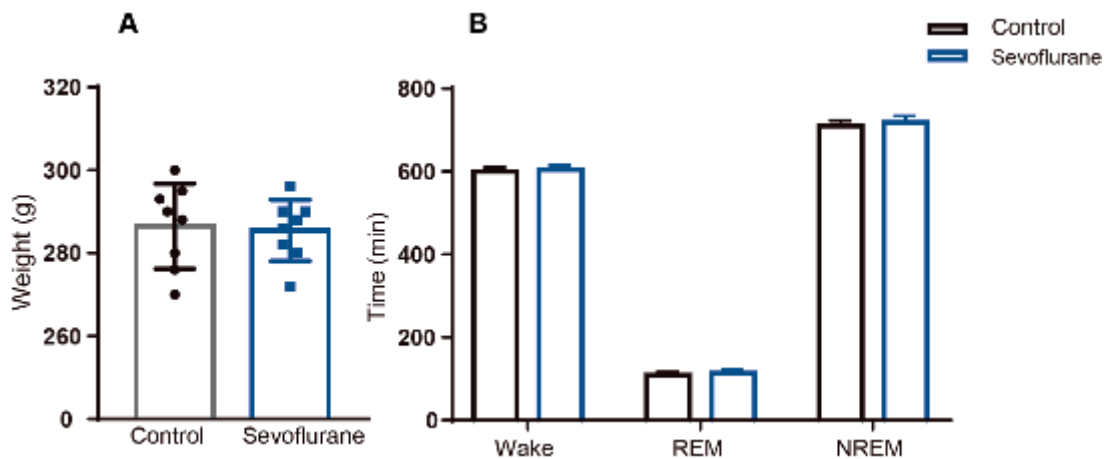


图 17 七氟烷麻醉组与对照组基础情况对照。

(A)对照组和七氟烷麻醉组体重无差异；(B)对照组和七氟烷麻醉组基础睡眠情况无统计学差异。

### 3.1.2 大鼠七氟烷麻醉后 24 小时睡眠结构的变化

在大鼠整个麻醉过程中始终监测麻醉箱中气体浓度的变化并随时调整使七氟烷浓度，保证在麻醉过程中七氟烷浓度为 2.4%，将 24 小时的睡眠结构严格的按照实验方法分析后发现：与对照组（C 组）比较，七氟烷麻醉组（S 组）麻醉结束后 24 小时各睡眠状态时间发生明显变化，主要表现为七氟烷麻醉组 Wake 时间明显减少 ( $597.3 \pm 12.5 \text{ min VS } 508.3 \pm 19.4 \text{ min}$ ,  $p=0.01$ ), REM 睡眠时间增加 ( $108.5 \pm 7.9 \text{ min VS } 135.5 \pm 9.1 \text{ min}$ ,  $p=0.02$ ), NREM 睡眠时间无明显统计学差异。大鼠的睡眠结构由睡眠时间及睡眠次数 bouts 构成，与对照组（C 组）比较，七氟烷麻醉组（S 组）麻醉结束后 24 小时各睡眠状态的次数变化发生如下变化：NREM 睡眠次数明显增加 ( $1011 \pm 55 \text{ 次 VS } 1309 \pm 113 \text{ 次}$ ,  $p=0.04$ ), REM 睡眠和清醒状态的次数则没有明显统计学差异 (图 18)

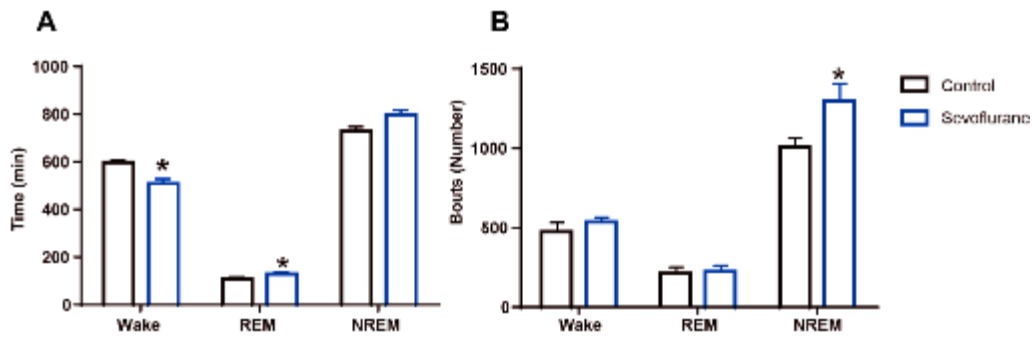


图 18 七氟烷麻醉组与对照组 24 小时整体睡眠结构的比较

注：图 A 表示与对照组相比，七氟烷麻醉组 Wake 时间降低，REM 睡眠时间增加，NREM 睡眠次数增加\*  $p < 0.05$  VS Control Group

### 3.1.3 大鼠七氟烷麻醉后各时相睡眠结构的变化

与对照组（C 组）相比，七氟烷麻醉组在 L1 时相的睡眠状态主要变化为：REM 睡眠时间显著增加( $27.7 \pm 1.8$  min VS  $36.6 \pm 2.6$  min,  $P=0.01$ ), NREM 睡眠时间无明显变化 ( $p=0.4$ )，Wake 时间也无统计学差异 ( $p=0.9$ )。两组实验动物睡眠结构图上可以看出睡眠结构发生改变，REM 睡眠增多，在频谱图上可以看出在这一时相的 Theta 波的比例有增加，但 Delta 波的比例有所下降（图 19）。



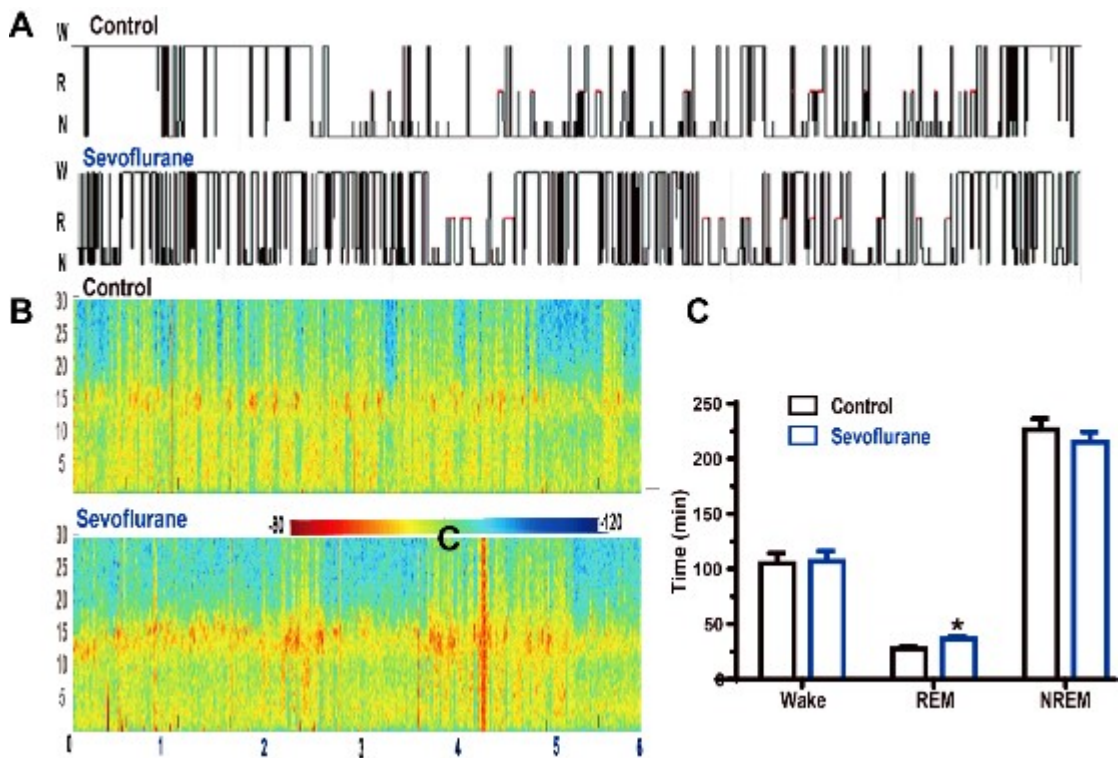


图 19 L1 时相七氟烷麻醉组与对照组的睡眠结构图、频谱图示例，睡眠结构的比较

注：A 图为对照组和七氟烷麻醉组各一只大鼠的睡眠结构图；B 图为对照组和七氟烷麻醉组各一只大鼠的 EEG 频谱图；C 图为对照组与七氟烷麻醉组的睡眠结构比较，REM 睡眠时间显著增加。\*  $p < 0.05$  VS Control Group

在大鼠的第一个活跃期 D1 时相，与对照组相比，七氟烷麻醉组在 D1 时相的睡眠状态主要变化为：REM 睡眠时间明显增加( $27.6 \pm 3.4$  min VS  $38.4 \pm 3.4$  min,  $p = 0.04$ ), NREM 睡眠时间无明显变化 ( $p = 0.6$ ), Wake 时间也无统计学差异 ( $p = 0.4$ )。两组实验动物在睡眠结构图上可以看出 REM 睡眠显著增加，在频谱图上可以看出在这一时相的 Theta 波的比例有增加 (图 20)。

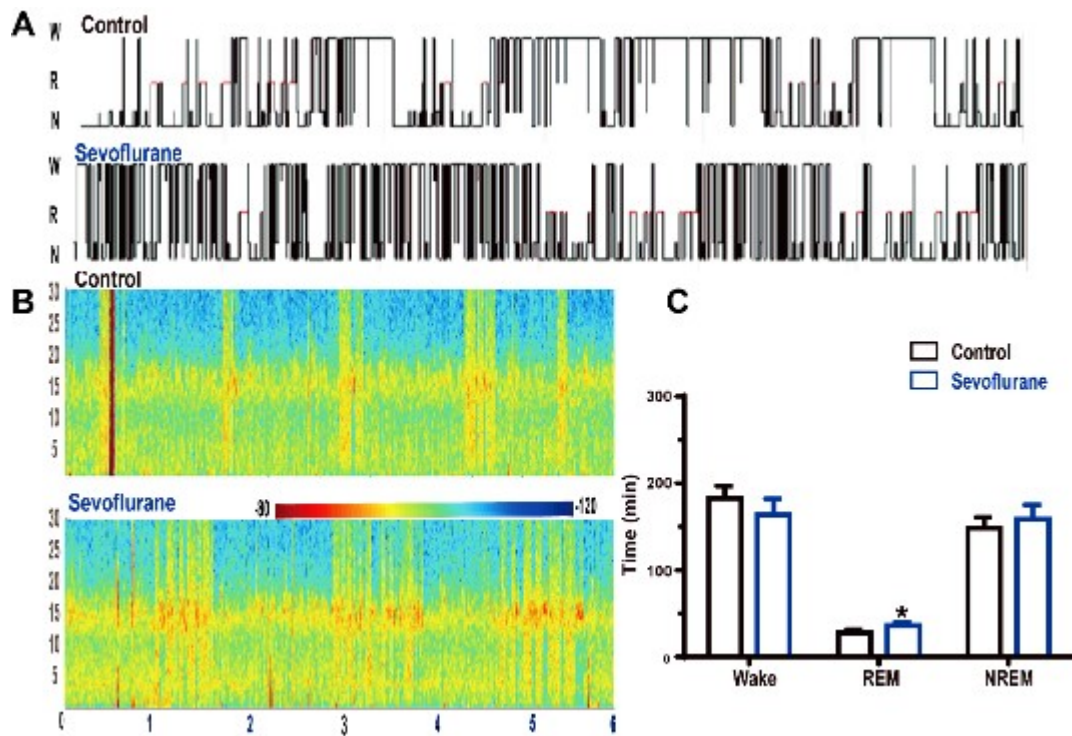


图 20 D1 时相七氟烷麻醉组与对照组的睡眠结构图、频谱图示例，睡眠结构的比较。

注：A 图为对照组和七氟烷麻醉组各一只大鼠的睡眠结构图；B 图为对照组和七氟烷麻醉组各一只大鼠的 EEG 频谱图；C 图为对照组与七氟烷麻醉组的睡眠结构比较，REM 睡眠时间显著增加。\*  $p < 0.05$  VS Control Group

在大鼠的第二个活跃期 D2 时相，与对照组（C 组）相比，七氟烷麻醉组在 D2 时相的睡眠状态主要变化为：Wake 时间明显减少 ( $240.8 \pm 10.5$  min VS  $189.9 \pm 13.3$  min,  $p = 0.01$ ), NREM 睡眠时间明显增加 ( $101.6 \pm 9.3$  min VS  $144.3 \pm 14.6$  min,  $p = 0.03$ ), REM 睡眠无统计学差异 ( $p = 0.1$ )。从频谱图上可以看到明显的 Delta 波增加（图 21）。

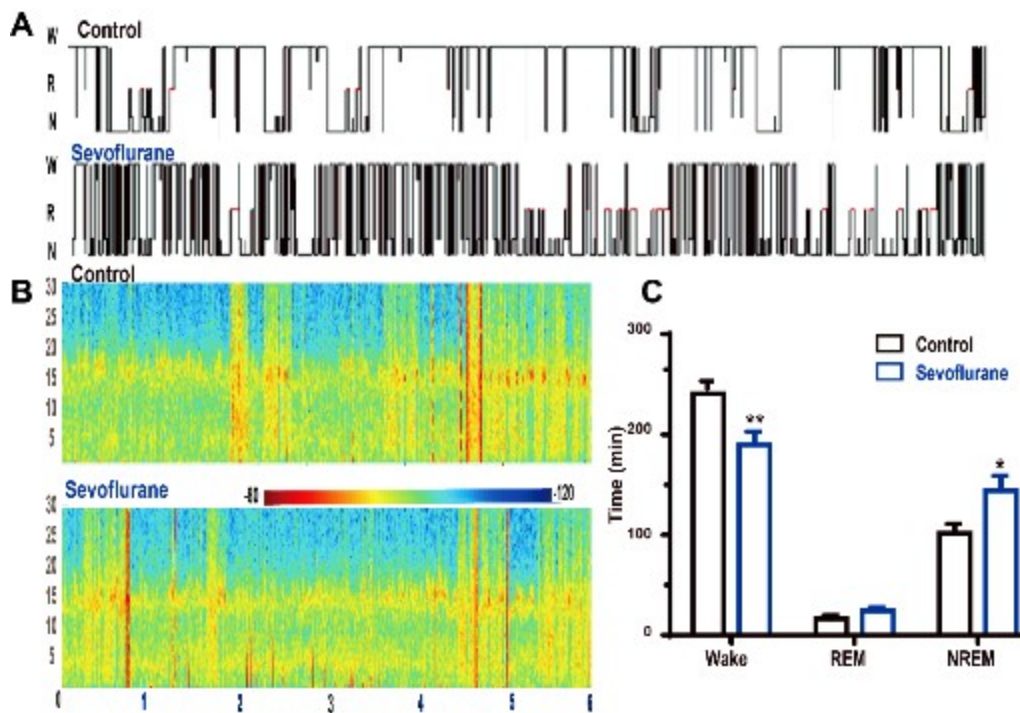


图 21 D2 时相七氟烷麻醉组与对照组的睡眠结构图、频谱图示例，睡眠结构的比较

注：A 图为对照组和七氟烷麻醉组各一只大鼠的睡眠结构图；B 图为对照组和七氟烷麻醉组各一只大鼠的 EEG 频谱图；C 图为对照组与七氟烷麻醉组的睡眠结构比较，Wake 时间减少，NREM 睡眠时间显著增加。\*  $p < 0.05$  VS Control Group, \*\*  $p < 0.01$  VS Control Group

在大鼠的 L2 时相，与对照组（C 组）相比，七氟烷麻醉组在 L2 时相的睡眠状态均无明显改变（图 22）。这说明七氟烷麻醉对大鼠的睡眠结构的影响，在这一时期可能已经消失，大鼠的睡眠结构恢复正常。

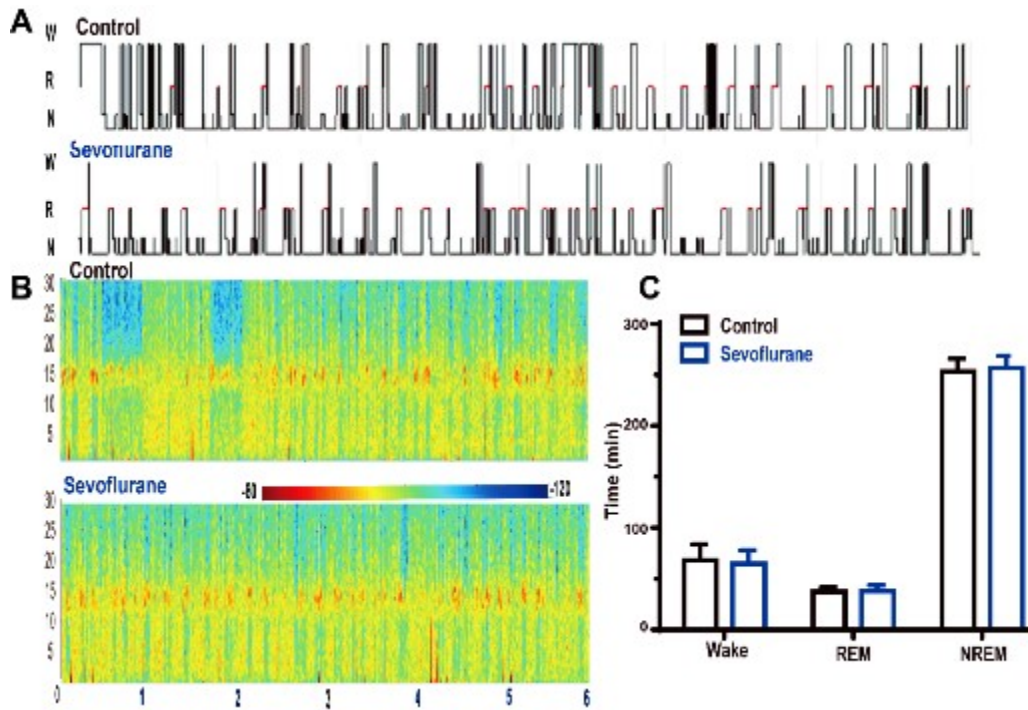


图 22 L2 时相七氟烷麻醉组与对照组的睡眠结构图、频谱图示例，睡眠结构的比较

注:A 图为对照组和七氟烷麻醉组各一只大鼠的睡眠结构图;B 图为对照组和七氟烷麻醉组各一只大鼠的 EEG 频谱图; C 图为对照组与七氟烷麻醉组的睡眠结构比较

### 3.2 七氟烷麻醉后大鼠脑电图各波形的变化

两组动物的 EEG 在经历麻醉后存在一些差异性变化,从频谱图上可以看到,两组的频谱整体趋势并未见差异性变化,且各睡眠状态整体都有昼夜节律变化。与对照组(C 组)相比,七氟烷麻醉组(S 组)在麻醉后 24 小时内脑电各波形所占比例的变化主要为: Delta 波未见明显的变化,且具有明显的昼夜变化,NREM 睡眠主要与 Delta 波的变化高度相关,两组大鼠连续 24 小时 NREM 睡眠二者在整体趋势上相似,与对照组相比,七氟烷麻醉组在麻醉结束后的 L1 时相 Delta 波比例并没有恢复到正常水平,在 D1 时相基本恢复。在 L1 时相七氟烷麻醉组 NREM 基本都低于对照组,这一现象在进入 D1、D2 时相开始转变,在 D2 时相,经过长时间七氟烷麻醉的大鼠 NREM 睡眠时间明显延长。(图 23)



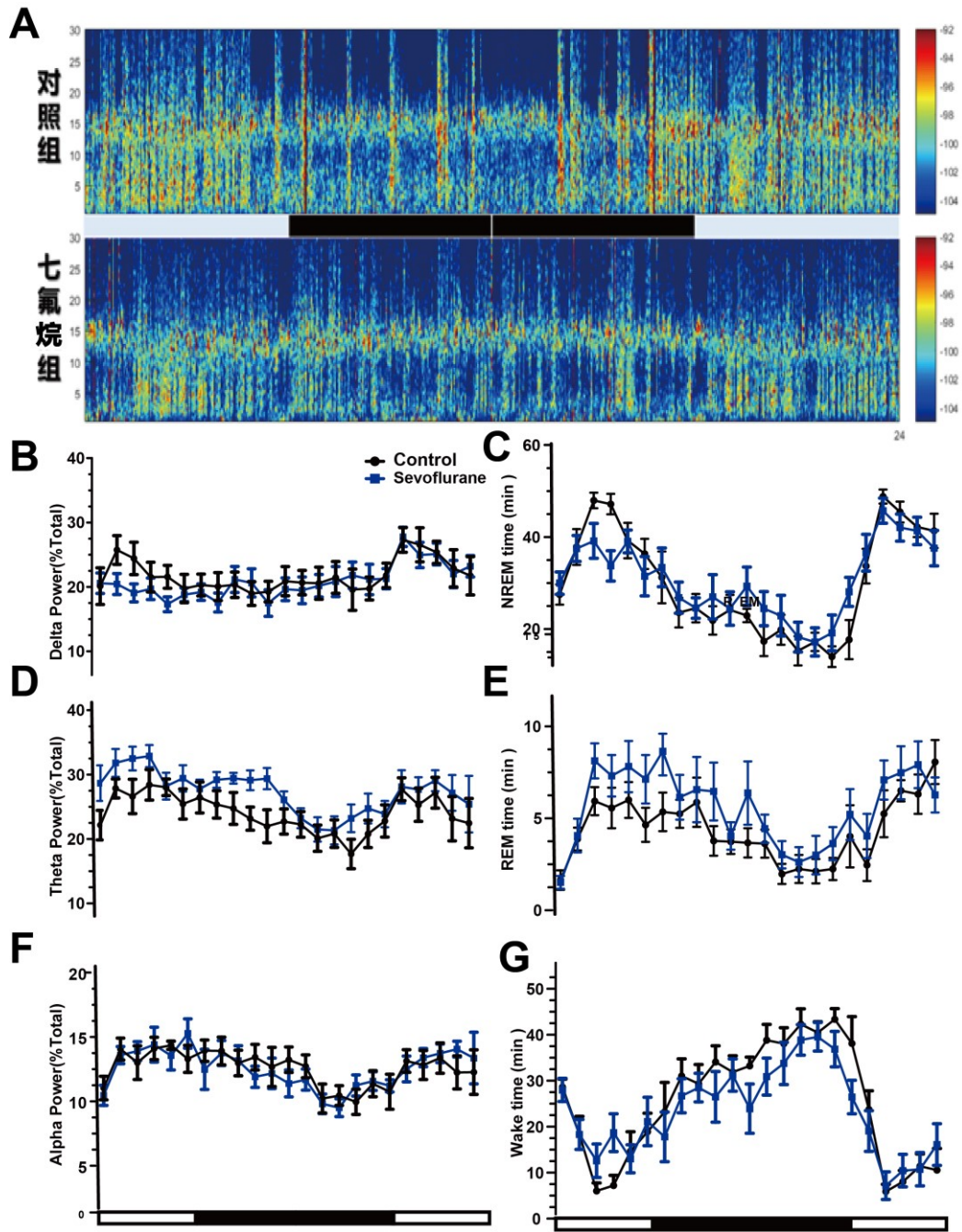


图 23 七氟烷麻醉组与对照组 24 小时睡眠频谱图，各波段比例变化及各睡眠状态变化

注：A 图表示对照组与七氟烷麻醉组各一只大鼠的 24 小时频谱示意图；B 图表示 24 小时内对照组与七氟烷麻醉组 Delta 波形的变化；C 图表示 24 小时内对照组与七氟烷麻醉组 NREM 睡眠时间的变化；D 图表示 24 小时内对照组与七氟烷麻醉组 Theta

波形的变化；E图表示24小时内对照组与七氟烷麻醉组 REM 睡眠时间的变化；F图表示24小时内对照组与七氟烷麻醉组 Alpha 波形的变化。G图表示24小时内对照组与七氟烷麻醉组 Wake 时间的变化,图中白色的黑框表示白天（开灯），黑色的黑框表示为夜晚（关灯）。

经过长时间七氟烷麻醉处理的大鼠 Theta 波比例较对照组升高，在 L1 和 D1 时相较明显，且有统计学差异，与 Theta 波高度相关的 REM 睡眠,在 L1 时相与 D1 时相也明显升高，在整个 24 小时的过程中 REM 睡眠所占的时间都高于对照组。连续 24 小时的 Alpha 波与 beta 波未见明显变化，24 小时的 Wake 状态经过长时间七氟烷麻醉处理的大鼠清醒时间在 L1 时相较对照组增加，但在大鼠的活跃时相 D1、D2 时相明显减少，尤其在 D2 时相较明显。

大鼠的活动度随着昼夜变化有一个节律性变化，七氟烷麻醉组大鼠在麻醉结束后的 24 小时内活动度虽然呈现一个整夜节律变化，但是在大鼠的活跃期活动度显著降低，大鼠的心率也出现昼夜节律变化，但是两组间比较未见差异（图 24）。

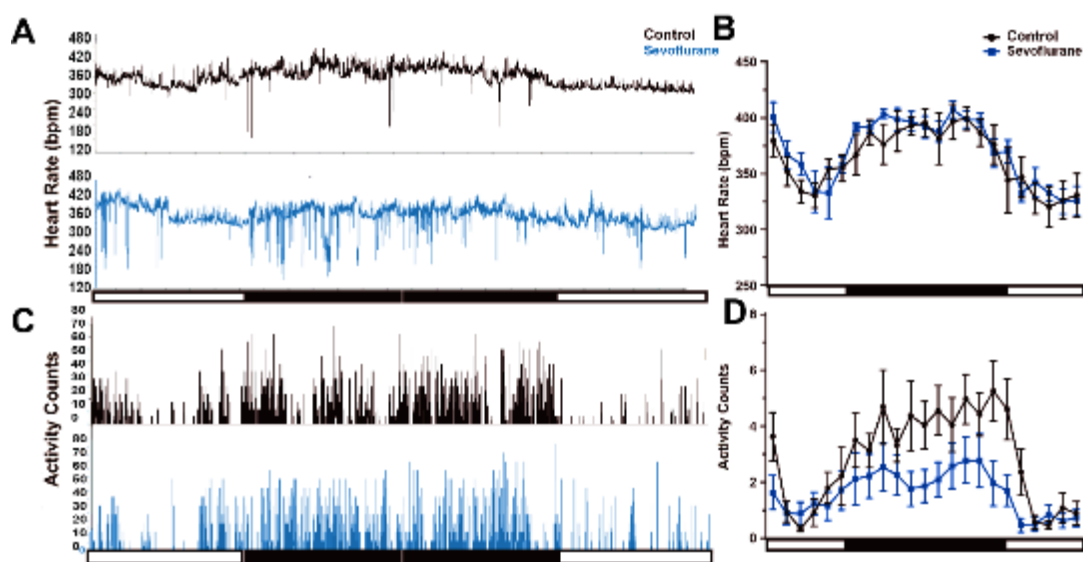


图 24 七氟烷麻醉组与对照组 24 小时心率及活动的变化

注：A 图表示 24 小时内对照组与七氟烷麻醉组各一只大鼠心率的变化示意图；B 表示 24 小时内对照组与七氟烷麻醉组大鼠心率的变化.；C 图表示 24 小时内对照组与七氟烷麻醉组各一只大鼠活动度的变化示意图

## 4 小结

本实验参考之前的研究，在早晨 8:00 对大鼠进行了长时间的日间麻醉，七氟烷是在临床上最常用的气体麻醉药物，该药物对睡眠结构的影响之前有研究报道 12 小时睡眠剥夺处理的大鼠经过 6 小时的麻醉处理后<sup>[71]</sup>，七氟烷麻醉并不能完全抵消睡眠债务，而是部分性的抵偿 NREM 睡眠债务，但是不能恢复 REM 的睡眠债务，甚至还导致 REM 睡眠债务的加深，本实验证明正常昼夜节律的大鼠在经历日间长时间七氟烷麻醉后，睡眠结构发生明显变化，主要表现为 REM 睡眠延长，而 Wake 状态减少，NREM 睡眠时间未发生明显的变化，打乱了大鼠的睡眠节律。24 小时每个状态的时间由很多个单独的状态加起来的和组成，状态的个数 (bouts) 反应了睡眠的连续性 & 完整性，对两组大鼠 24 小时的 bouts 统计分析发现，七氟烷麻醉组的 NREM 睡眠 bouts 数目明显增加，这说明大鼠在长时间的七氟烷麻醉后睡眠更加碎片化，更不完整。为了确定睡眠结构的变化具体发生在大鼠昼夜节律的哪一时相，我们将大鼠七氟烷麻醉后的 24 小时分为 4 个时相，分别是非活跃期 (L1、L2) 以及活跃期 (D1、D2)，对各个时段的睡眠结构分析发现，Wake 状态减少主要发生在 D2 时相，同时在这一时相内 NREM 睡眠明显增加。

动物在睡眠过程中会出现与清醒时截然不同的 EEG，并且 EMG 也发生明显的变化，通过 EEG 判断大鼠的脑功能状态变化，通过 EMG 判断大鼠的睡眠行为，再结合大鼠活动度分析大鼠的睡眠结构。在连续 24 小时的记录分析中，七氟烷麻醉组 EEG 波形发生了变化，在七氟烷麻醉过程中 Delta 波比例明显升高，但在麻醉结束后的早期 L1 时相 Delta 波却降低。在麻醉结束后的第三及第四个小时内 NREM 睡眠时间明显低于对照组。经过长时间七氟烷麻醉处理后大鼠 EEG 波形中 Theta 波的比例较对照组升高，且从 L1 时相持续到 D2 时相，这期间大鼠的 REM 睡眠也持续增加。从 D1 时相开始，七氟烷麻醉组的 Wake 状态少于对照组的趋势，且在 D2 时相有明显的统计学差异，而且与对照组相比，七氟烷麻醉组大鼠的活动度 D1 时相和 D2 时相明显较低，即在大鼠的活跃期大鼠的活跃性明显降低，直至 L2 时相才与对照组趋势无差别。

综上所述，大鼠在日间经历持续的七氟烷麻醉可改变大鼠 24 小时内睡眠结构，具体为 EEG 波形中 Theta 波增高，增加 REM 睡眠，减少 Wake 状态，使 NREM 睡

眠碎片化。



## 实验二 右美托咪定麻醉对大鼠睡眠结构的影响

经历长时间日间七氟烷麻醉的大鼠睡眠结构发生了明显的变化，既然气体麻醉药物可以改变睡眠结构，那么静脉麻醉药物是否存在同样的改变，本部分实验拟研究右美托咪定麻醉对大鼠睡眠结构的影响。

右美托咪定是一种高度选择性的  $\alpha_2$  受体激动剂，具有镇静和镇痛的效果，由于其具有镇静效果稳定且可以唤醒，对病人呼吸循环功能抑制轻微等作用，已经广泛的用于临床麻醉。近年来，有研究显示，当增加右美托咪定的剂量后，可以产生麻醉效应，因此有人提出可以单独应用右美托咪定进行全身麻醉。但是右美托咪定作为麻醉药物是否对动物的睡眠产生了影响，报道还较少，本实验拟探寻经历长时间右美托咪定麻醉的大鼠 24 小时睡眠结构的变化。

### 1 材料

#### 1.1 实验动物

成年雄性 SD 大鼠 16 只（体重 250-300g 周龄 10-12 周），由空军军医大学实验动物中心提供。实验动物在西京医院麻醉科实验室 SPF 级动物房饲养，动物房环境温度设定为（ $24\pm 0.5^\circ\text{C}$ ），湿度（ $60\pm 2\%$ ），保持昼夜节律：日间（08:00 至 20:00），夜间（20:00 至 08:00），保证水和食物充足。

#### 1.2 麻醉系统

盐酸右美托咪定注射液（批号 1512058P，江苏恒瑞医药股份有限公司，中国），静脉注射泵，肝素帽，静脉注射管道。

### 1.3 无线遥感睡眠监测系统

见第一部分

### 1.4 静脉置管材料

聚乙烯管，肝素，血管手术剪刀，显微镜，血管镊。

## 2 方法

### 2.1 大鼠无线睡眠监测系统建立

见第一部分

### 2.2 大鼠颈静脉置管

大鼠体内埋置植入手术后第 7 天，10%水合氯醛（0.3ml/100g）麻醉下，对大鼠进行颈静脉置管。大鼠两前肢背部备皮并消毒，翻转大鼠固定在手术加热板上，大鼠左下颌角下 3cm 区域备皮消毒，切开大鼠颈部皮肤，用手术剪及镊子逐步分离脂肪组织及颈部肌肉，暴露其颈静脉，用手术镊分离颈静脉，并在颈静脉两端用线虚打一单结，用镊子夹住颈静脉两端，依次松开反复验证确保为颈静脉，用线先结扎静脉远心端，在颈静脉上剪一 V 形小口，将用肝素盐水预充满的聚乙烯软管（内径 0.58mm，外径 0.965mm，瑞沃德）一头连接肝素盐水的注射器，另一头插入血管内，向近心端置入 3cm，回抽验证管路通畅，用线将血管与软管充分固定，并将软管与颈部肌肉缝合，防止软管脱落，将导管另一端用引导管从背部皮下穿出，再次验证软管的通畅性，整个软管内充满肝素盐水，并用火将体外的软管端口封闭。缝合颈部皮肤并消毒，将从背部穿出的软管用缝线固定于背部，并牙科胶固定。每天用肝素盐水冲管一次防止堵管。

### 2.3 麻醉方法及监测

颈静脉置管术后 1 天将大鼠连笼放入睡眠监测观察箱。箱体系统的灯光昼夜节

律设定与大鼠生物节律相似。将大鼠采用随机数字表法分为两组 (n=16): 右美托咪定麻醉组 (D 组, n=8), 对照组 (C 组, n=8), 两组大鼠适应 2 天后, 用磁铁在大鼠腹部划过, 收音机验证确认植入子 F50-EEE 被开机, 之后将大鼠放入鼠笼, 鼠笼放置在 RPC-1 信号接收板上 (DSI 公司, 美国), 放入睡眠监测观察箱, 通过 DQART 软件 (Version 4.33, DSI 公司, 美国) 连续记录 24 h (14:00 至次日 14:00) EEG (采样频率 500 Hz)、EMG (采样频率 500 Hz)、ECG 和活动度等信号记录 24 小时基础睡眠, 第四日早 8:00 将大鼠放入自制的麻醉行为观察箱 (长 35cm×宽 25 cm×高 20 cm), 颈静脉置管的体外端与微注射泵连接好, C 组 20ml 注射器中为 0.9%NaCl 注射液, 快速泵注 2ml, 之后 1.5ml/小时的速度持续泵注, 持续 4 小时静脉泵注, 之后去除注射泵管, 并封好颈静脉软管外口。D 组 20ml 注射器中为 20 $\mu$ g/ml 右美托咪定注射液, 用 2ml 开始诱导麻醉, 1.5ml/小时静脉的速度持续泵注, 给予大鼠持续 4 小时静脉麻醉, 之后去除注射泵管, 并封好颈静脉软管外口。待大鼠恢复 2 小时后, 将大鼠移出, 植入子开机并持续记录两组大鼠 24 h 生理信号 (14:00 至次日 14:00), 监测 EEG (采样频率 500 Hz)、EMG (采样频率 500 Hz)、ECG 和活动度等信号。

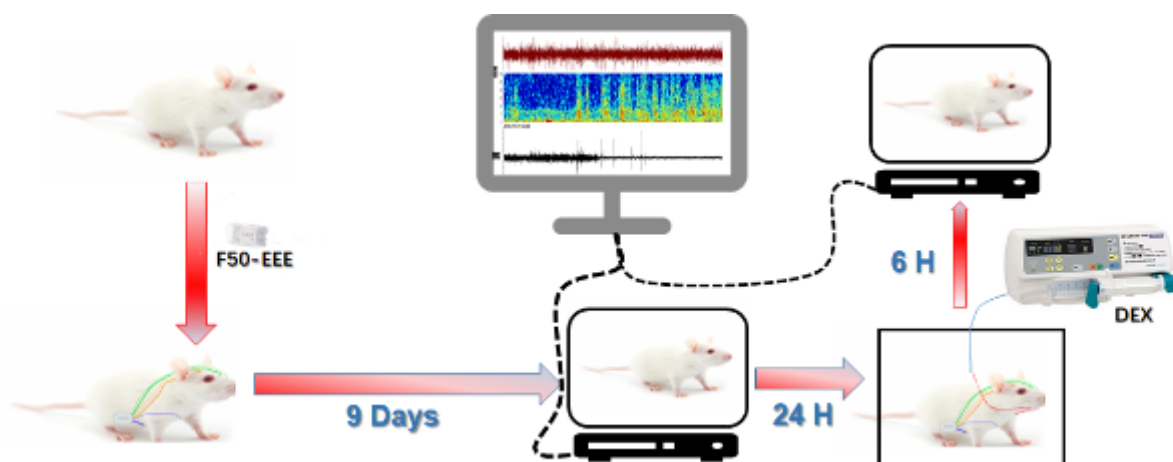


图 25 右美托咪定麻醉后对睡眠结构影响研究实验流程图

## 2.4 睡眠行为学分析

见实验一。

## 2.5 脑电图频谱分析

见实验一。

## 2.6 统计学处理

见实验一。

# 3 结果

## 3.1 右美托咪定麻醉后大鼠睡眠结构的变化

### 3.1.1 大鼠体重及基础睡眠结构的比较

C 组体重 Mean±SEM 为  $285.9 \pm 3.254$  g, D 组体重 Mean±SEM 为  $286.1 \pm 3.073$  g, 两组大鼠体重差异无统计学意义。两组大鼠的 24 小时基础睡眠中 NREM 睡眠、REM 睡眠以及 Wake 状态没有明显的统计学差异 (图 26)。

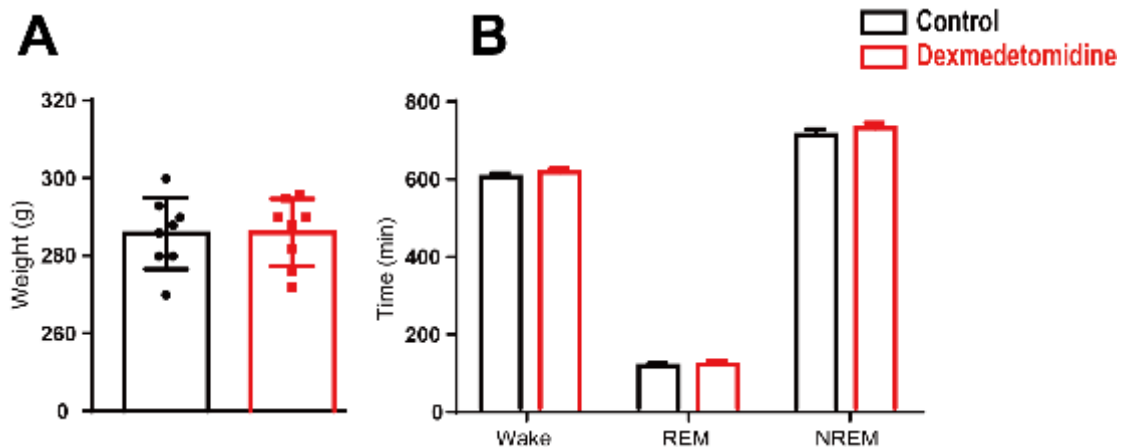


图 26 右美托咪定麻醉组与对照组基础情况对照

注：A 图对照组和右美托咪定麻醉组体重无差异；B 图对照组和右美托咪定麻醉组基础睡眠情况无统计学差异

### 3.1.2 大鼠右美托咪定麻醉后 24 小时睡眠结构的变化

在实验过程中设置的右美托咪定持续泵注浓度的泵注量可以保证大鼠获得稳定可靠的麻醉作用而。与对照组（C 组）比较，右美托咪定麻醉组（D 组）麻醉结束后 24 小时各睡眠状态时间发生明显变化，主要表现为右美托咪定麻醉组 Wake 明显减少( $586.6 \pm 7.6\text{min}$  VS  $531.8 \pm 22.1\text{ min}$ ,  $p=0.02$ ),REM 睡眠显著增加( $102.4 \pm 5.9\text{min}$  VS  $143.8 \pm 11.87\text{min}$ ,  $p=0.008$ ),NREM 睡眠无明显统计学差异。与对照组（C 组）比较，右美托咪定麻醉组（D 组）麻醉结束后 24 小时各睡眠状态的次数变化发生如下变化：NREM 睡眠次数明显增加( $1016 \pm 47.5\text{ 次}$  VS  $1231 \pm 59\text{ 次}$ ,  $p=0.01$ ),REM 睡眠和清醒状态的次数没有明显统计学差异（图 27）。

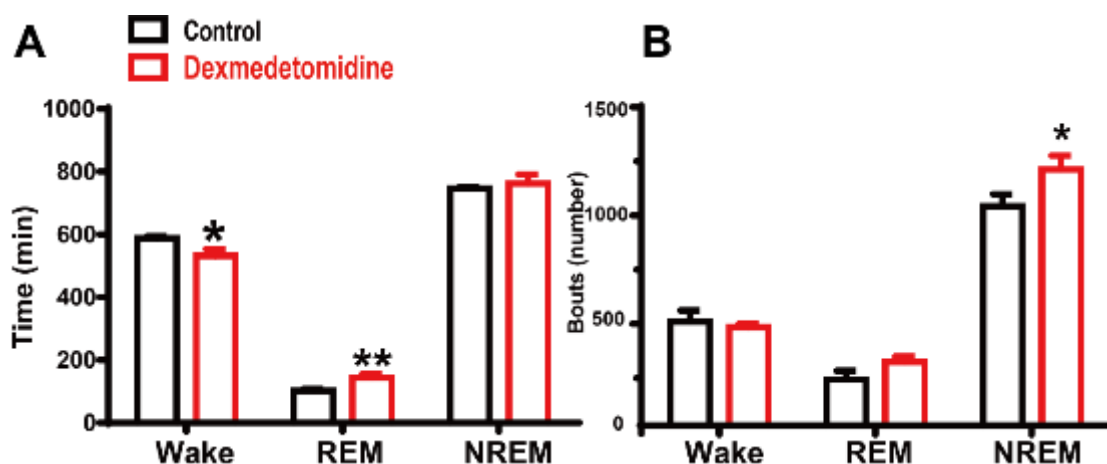


图 27 右美托咪定麻醉组与对照组 24 小时整体睡眠结构的比较

注：图 A 表示与对照组相比，右美托咪定麻醉组 Wake 时间降低，REM 睡眠时间增加，NREM 睡眠次数增加\*  $p < 0.05$  VS Control Group, \*\*  $p < 0.01$  VS Control Group

### 3.1.3 大鼠右美托咪定麻醉后睡眠结构的变化

经历长时间右美托咪定麻醉后，与对照组（C 组）相比，右美托咪定麻醉组在 L1 时相的睡眠状态主要变化为：REM 睡眠时间显著增加( $27 \pm 2.1\text{ min}$  VS  $11.76 \pm 2.1\text{min}$ ,  $p=0.0002$ ),NREM 睡眠时间显著延长 ( $224.2 \pm 11.01\text{min}$  VS  $274.7 \pm 10.66\text{min}$ ,  $p=0.006$ )，Wake 时间明显减少 ( $108 \pm 10.16\text{min}$  VS  $77 \pm 8.3\text{min}$ ,  $p=0.03$ )，大鼠的睡眠节律完全被打乱，主要表现为睡眠时间延长，觉醒状态减少。从睡眠结构图上可

以看到右美托咪定麻醉组 REM 睡眠明显减少，在整个 L1 期出现 REM 睡眠较少，主要以 NREM 为主。在频谱图上可以看到明显的 Delta 波、Theta 波的增加，Alpha 波的减少（图 28）。

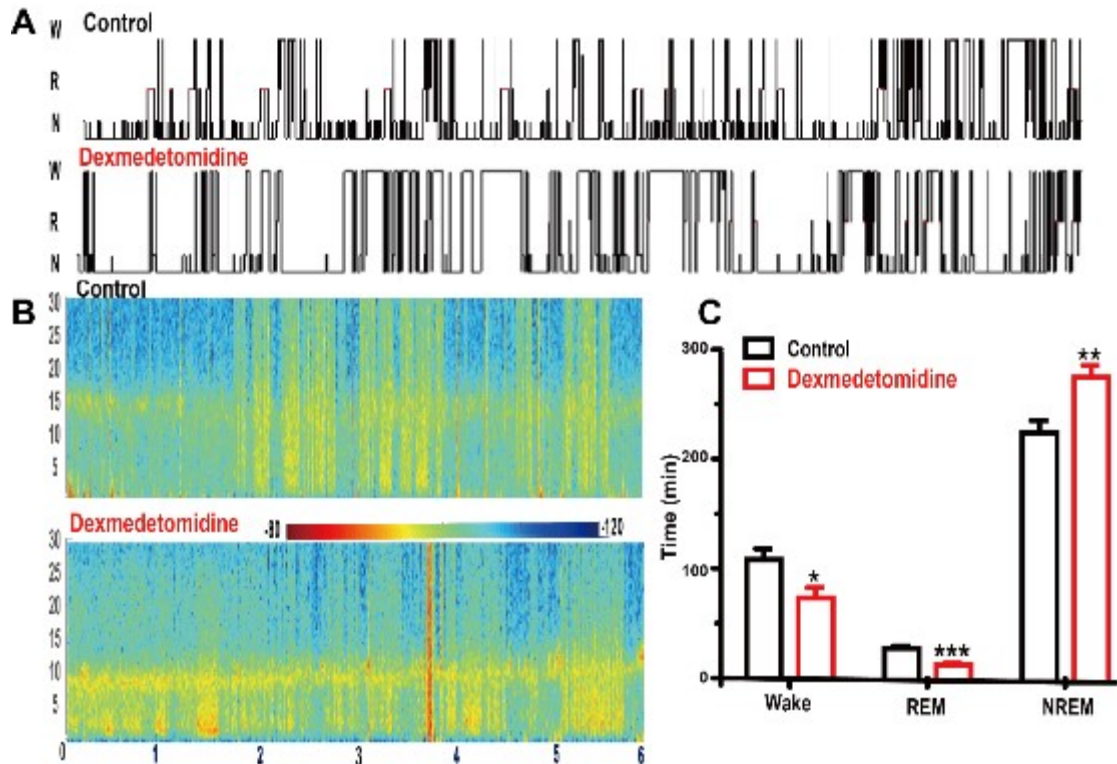


图 28 L1 时相右美托咪定麻醉组与对照组的睡眠结构图、频谱图示例，睡眠结构的比较

注：A 图为对照组和右美托咪定麻醉组各一只大鼠的睡眠结构图；B 图为对照组和右美托咪定麻醉组各一只大鼠的 EEG 频谱图；C 图为对照组与右美托咪定麻醉组的睡眠结构比较，Wake 时间显著减少，REM 睡眠时间显著减少，NREM 睡眠时间增加。

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  VS Control group

在大鼠的第一个活跃期 D1 时相，与对照组（C 组）相比，右美托咪定麻醉组（D 组）在 D1 时相的睡眠状态主要变化为：REM 睡眠时间明显减少 ( $30 \pm 2.2 \text{ min}$  VS  $17 \pm 2.1 \text{ min}$ ,  $p = 0.001$ ), NREM 睡眠时间无明显变化 ( $p = 0.7$ ), Wake 时间也无统计学差异 ( $P = 0.47$ )。从右美托咪定麻醉组睡眠结构图上可以看到 REM 睡眠延续 L1 时相时的趋势，还是非常少。从频谱上图上可以看出右美托咪定麻醉组的 Delta 波、Theta 波所占的比例显著高于对照组。Alpha 波的比例较 L1 时相增加（图 29）。

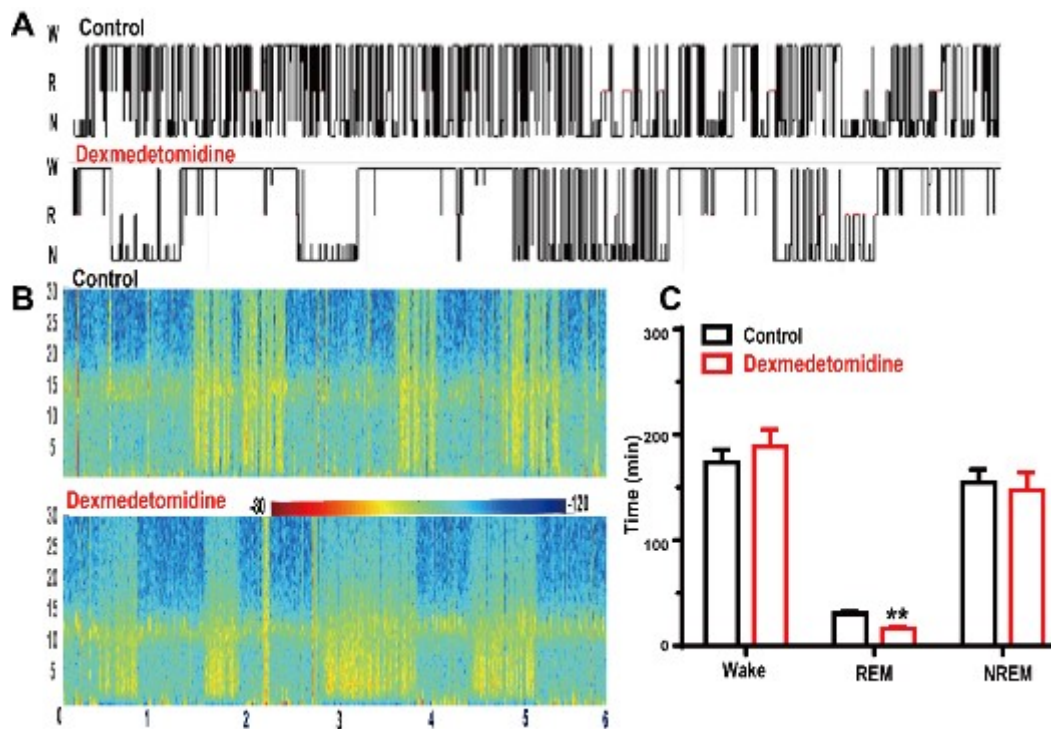


图 29 D1 时相右美托咪定麻醉组与对照组的睡眠结构图、频谱图示例，睡眠结构的比较

注：A 图为对照组和右美托咪定麻醉组各一只大鼠的睡眠结构图；B 图为对照组和右美托咪定麻醉组各一只大鼠的 EEG 频谱图；C 图为对照组与右美托咪定麻醉组的睡眠结构比较，REM 睡眠时间显著减少。\*\*  $p < 0.01$  VS Control group

在大鼠的第二个活跃期 D2 时相，与对照组（C 组）相比，右美托咪定麻醉组（D 组）在 D2 时相的睡眠状态主要变化为：Wake 时间显著减少 ( $245.3 \pm 10.95$  min VS  $192.4 \pm 13.32$  min,  $p = 0.009$ ), NREM 睡眠时间明显增加 ( $98 \pm 9.99$  min VS  $133.5 \pm 11.74$  min,  $p = 0.04$ ), REM 睡眠时间明显增加 ( $15.4 \pm 3.7$  min VS  $32.9 \pm 5.9$  min,  $p = 0.02$ )。睡眠结构图上看这一时间段大鼠的睡眠结构发生完全的紊乱，REM 睡眠显著增加，从频谱图上可以看出 Delta 波、Theta 波、Alpha 波所占比例都较对照组增高（图 30）。



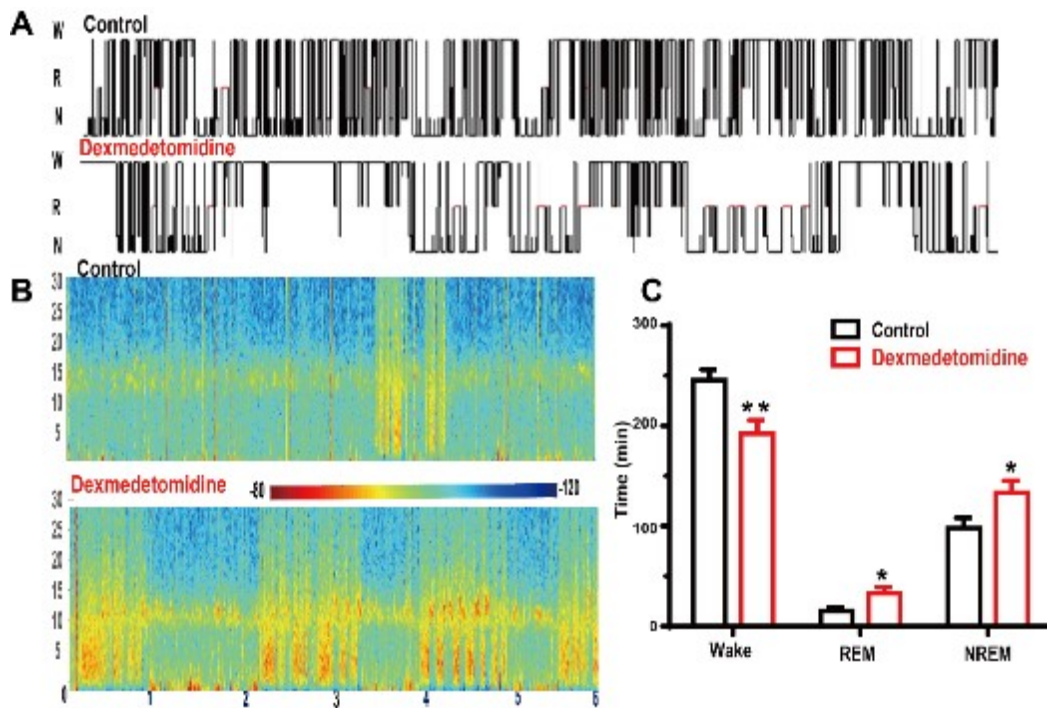


图 30 D2 时相右美托咪定麻醉组与对照组的睡眠结构图、频谱图示例，睡眠结构的比较

注：A 图为对照组和右美托咪定麻醉组各一只大鼠的睡眠结构图；B 图为对照组和右美托咪定麻醉组各一只大鼠的 EEG 频谱图；C 图为对照组与右美托咪定麻醉组的睡眠结构比较，NREM 睡眠时间、REM 睡眠时间显著增加，Wake 时间显著减少。\*

$p < 0.05$  VS Control Group

在大鼠的 L2 时相，与对照组（C 组）相比，右美托咪定麻醉组（D 组）在 L2 时相的 REM 睡眠状态显著增加（ $35.5 \pm 4.9\text{min}$  VS  $61 \pm 5.5\text{min}$ ,  $p = 0.005$ ），NREM 睡眠无明显变化（ $p = 0.09$ ），Wake 状态无统计学差异（ $p = 0.7$ ）。从睡眠结构图上看 REM 睡眠增加，频谱图上 Alpha 波的比例较对照组增高（图 31）。

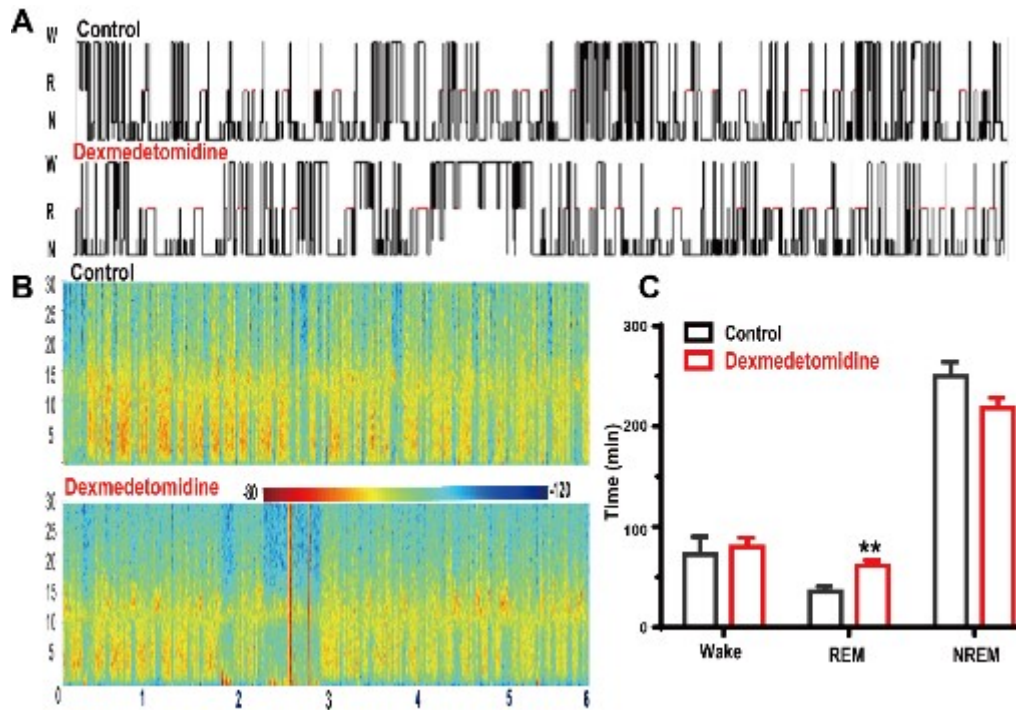


图 31 L2 时相右美托咪定麻醉组与对照组的睡眠结构图、频谱图示例，睡眠结构的比较

注：A 图为对照组和右美托咪定麻醉组各一只大鼠的睡眠结构图；B 图为对照组和右美托咪定麻醉组各一只大鼠的 EEG 频谱图；C 图为对照组与右美托咪定麻醉组的睡眠结构比较，REM 睡眠时间显著增加。\* \* $p < 0.05$  VS Control Group

### 3.2 右美托咪定麻醉后大鼠脑电图各波形的变化

在两组频谱图上看，两组的趋势存在较大的差异，在相同的能量标准下，右美托咪定麻醉组的 Delta 波、Theta 波能量值明显高于对照组，Alpha 波的能量在早期明显低于对照组，但在后期高于对照组。

与对照组（C 组）相比，右美托咪定麻醉组（D 组）在麻醉后 24 小时内脑电波形变化主要为：Delta 波明显的增高。NREM 睡眠主要与 Delta 波的变化高度相关，两组大鼠连续 24 小时 NREM 睡眠在整体趋势上相似，与对照组相比，右美托咪定麻醉组在麻醉结束后的 L1 时相初期 Delta 波比例显著高于正常水平，在 L1 时相并开始下降，在 D1 时相开始下降恢复，但仍普遍高于正常水平，这一时相 NREM 睡眠没有显著变化，只是在 D1 的后期，Delta 波升高，NREM 睡眠增加。在 D2 时相

右美托咪定麻醉组（D组）Delta波明显高于对照组（C组），且这一时相Delta波所占的比例在逐渐升高。这一时期NREM睡眠时间也明显高于对照组，在L2时相，经过长时间右美托咪定麻醉的大鼠Delta波所占的比例在降低，且降低幅度较大，趋近于对照组所占的比例，这一时相右美托咪定麻醉组（D组）NREM睡眠时间在L2时相发生明显降低，在L2时相后期开始达到正常对照组的水平（图32）。

经过日间长时间右美托咪定麻醉处理的大鼠Theta波比例较对照组在早期有较大变化，在L1时相早期较明显，且有统计学差异，随后Theta波所占的比例开始下降，在D1时相基本与对照组相同，在D2时相早期Theta波所占的比例开始升高，与Theta波高度相关的REM睡眠，在L1时相与D1时相也明显降低，这是因为这一时相虽然Theta波所占的比例升高，但是Delta波所占的比例升高更明显，Theta/Delta的值在减小，所以NREM睡眠时间增加，REM时间睡眠减少，但在D2时相开始，Delta波所占比例降低，Theta波所占比例升高，使得Theta/Delta比值升高，故这一时相开始REM睡眠增加，在L2时相尤其显著。

与对照组比较，右美托咪定麻醉组在麻醉后连续24小时的Alpha波变化主要表现为在L1时相及D1时相明显降低，在D2及L2与对照组无明显统计学差异，经过长时间右美托咪定麻醉处理的大鼠清醒时间在L1时相较对照组明显减少，但在大鼠的活跃期D1时相Wake状态无明显变化，在D2时相显著减少。

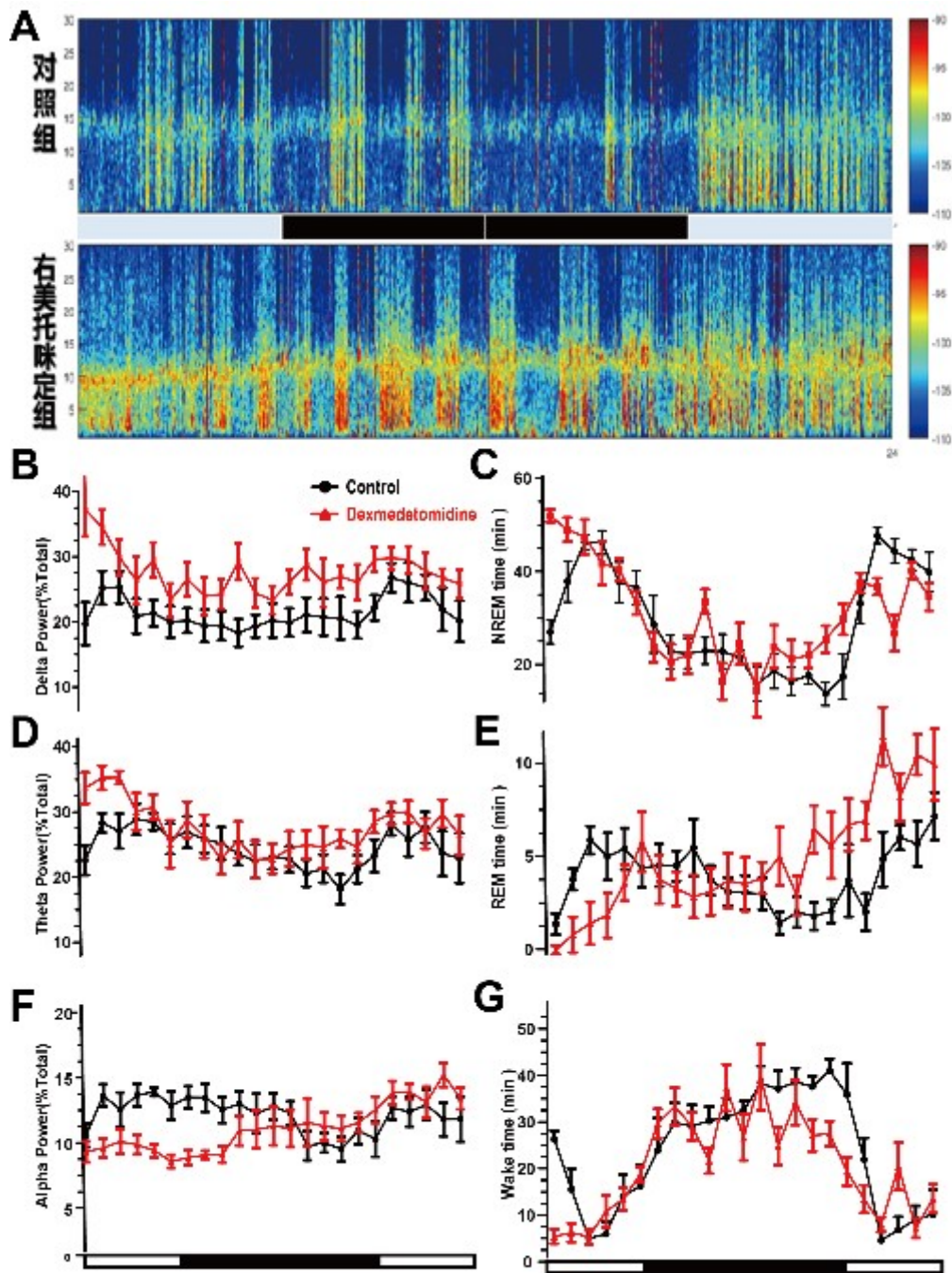


图 32 右美托咪定麻醉组与对照组 24 小时睡眠频谱图，各波段比例变化及各睡眠状态变化

注：A 图表示对照组与右美托咪定麻醉组各一只大鼠的 24 小时频谱示意图；B 图表示 24 小时内对照组与右美托咪定麻醉组 Delta 波形的变化；C 图表示 24 小时内对照组与右美托咪定麻醉组 NREM 睡眠时间的变化；D 图表示 24 小时内对照组与右美托



咪定麻醉组 Theta 波形的变化；E 图表示 24 小时内对照组与右美托咪定麻醉组 REM 睡眠时间的变化；F 图表示 24 小时内对照组与右美托咪定麻醉组 Alpha 波形的变化。G 图表示 24 小时内对照组与右美托咪定麻醉组 Wake 时间的变化,图中白色的黑框表示白天（开灯），黑色的黑框表示为夜晚（关灯）

右美托咪定麻醉组大鼠在麻醉结束后的 24 小时内活动度显著降低，在大鼠的活跃期 D2 期，大鼠的活动度与对照组存在显著差异。与对照组相比，右美托咪定麻醉组（D 组）在麻醉结束后的心率明显降低，且在麻醉结束后开始恢复性升高，但是在 D1 时相后期才恢复到与对照组无明显差异，在睡眠监测的 L2 时相经右美托咪定麻醉的大鼠的心率并未按照昼夜节律降低，在 L2 时相后期高于对照组（图 33）。

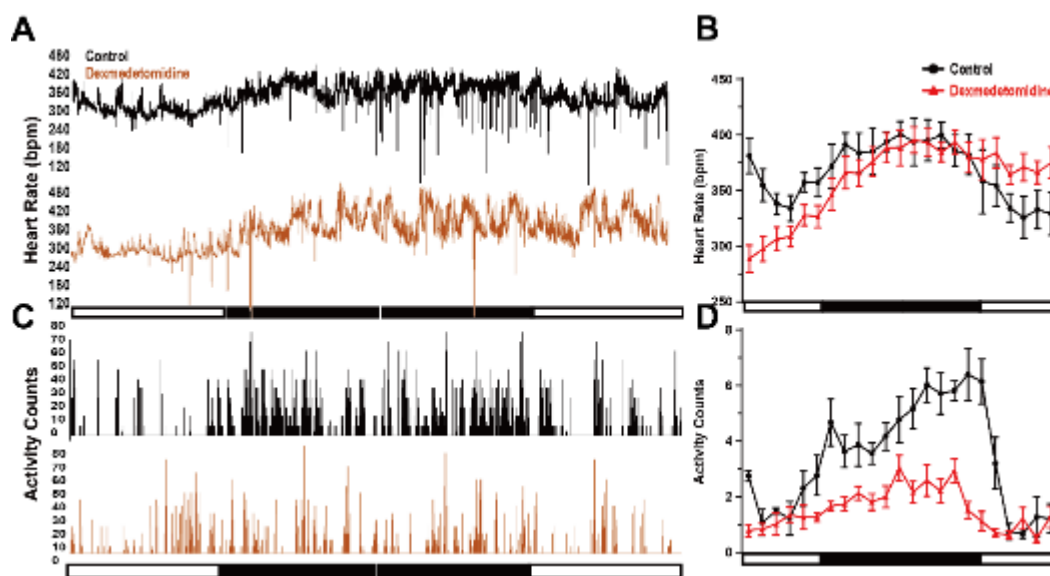


图 33 右美托咪定麻醉组与对照组 24 小时心率及活动的变化

注：A 图表示 24 小时内对照组与右美托咪定麻醉组各一只大鼠心率的变化示意图；B 表示 24 小时内对照组与右美托咪定麻醉组大鼠心率的变化。；C 图表示 24 小时内对照组与 A 各一只大鼠活动度的变化示意图；D 表示 24 小时内对照组与右美托咪定麻醉组大鼠活动度的变化。

#### 4 小结

右美托咪定是一种高选择性的肾上腺素  $\alpha_2$  受体激动剂，作为一种新型的镇静麻醉药，广泛的应用于围手术期。在 ICU 患者身上也有广泛的使用，有研究报道 ICU

患者夜间使用右美托咪定可以增加 NREM 睡眠的 N2 期，在镇静剂量的右美托咪定作用下并不能明显的看到 EEG 与正常睡眠的 EEG 有明显变化，除了在清醒期纺锤波的时间延长。本实验选取 20ug/ml 右美托咪定，2ml 诱导，1.5ml/h 静脉泵注的剂量，在前期的预实验，以及本课题组另一个相关实验中证明，大鼠在该剂量停止泵注 2 小时后都可以恢复反正反射（RORR）。本实验证明正常昼夜节律的大鼠在经历日间长时间右美托咪定麻醉后，睡眠结构发生了明显变化，主要表现为整个 24 小时内 REM 睡眠时间显著延长，而 Wake 时间减少，NREM 睡眠时间未发生明显的变化，两组大鼠 24 小时的 bouts 统计分析发现，右美托咪定麻醉组的 NREM 睡眠 bouts 数目明显增加，该结果说明右美托咪定麻醉后 24 小时内大鼠睡眠时间发生了紊乱，睡眠时间延长，增加的睡眠主要为 REM 睡眠，但是 NREM 睡眠的 bouts 显著增加，说明长时间的右美托咪定麻醉后大鼠睡眠更加碎片化，睡眠质量较低，说明麻醉药物确实可以引起睡眠功能紊乱。

为了确定睡眠结构的变化具体特征，对大鼠的 4 个时相的睡眠状态进行分析：Wake 状态的改变主要发生在 L1 时相和 D2 时相，这一时相的 Alpha 波也发生明显变化，Alpha 波的变化与大鼠的觉醒状态相关，相关文献报道老年人在麻醉中 Alpha 波的缺失与麻醉觉醒以及 POCD 的发生有一定的关联，本实验前期研究中发现麻醉过程中大鼠的 Alpha 波发生明显降低并缺失，从本部分试验中可以看出这一作用持续大概 12 小时，直到大鼠的夜间活跃期的第二个时相才有所转变。同时发现，静脉麻醉药物右美托咪定麻醉后大鼠在第二个活跃期 D2 时相的 Wake 时间都会明显减少。伴随着 Wake 的减少，D1 时相与 D2 时相的活动度也明显减少，这可能说明日间大鼠在经历长达 6 个小时的麻醉后，并没有得到多余的睡眠存储，反而可能是一种睡眠债务的体现，而大鼠的活跃期活动度减少，Wake 时间的减少，可能是大脑对睡眠债务偿还的保护行为。因为这两个时相的 Wake 时间的减少，睡眠时间则发生显著的增加，NREM 睡眠的改变主要发生在这两个时相，同时对大鼠的脑电进行分析发现 Delta 波在经历右美托咪定后明显升高，这可能是因为在右美托咪定麻醉剂量作用下，大鼠的 EEG 变化主要表现为 Delta 波的增加其他波减少，且当大鼠翻正反射恢复以后 Delta 波还是明显高于对照组，这一变化一般要持续 24 小时以上，本实验中可以发现在 L1 时相的 Delta 波、Theta 波所占的比例明显高于对照组，同时相 NREM

睡眠时间明显增加，但是 REM 睡眠时间却发生了减少，这是因为大鼠 Theta/Delta 的比率较平均水平低，所以表现为 NREM 的增加，但是随着 Delta 波比例下降幅度的增大，使得 Theta/Delta 的比率增大，直到高于平均水平，NREM 睡眠的增加在相对减少，REM 睡眠的减少也在相对减少，直至到达 D2 时相 REM 睡眠开始增加，在 L2 时相也可以看到 REM 睡眠明显的增加，这可能是 REM 睡眠债务的反弹效果，即当整个睡眠过程中，在前期的睡眠中 REM 睡眠减少较多时，后期会反弹性的升高，表现为 Theta/Delta 的比例明显增加。从心率变化的结果可以发现大鼠的心跳在随着 REM 睡眠时间的增加也在增加，在 L2 时相 REM 睡眠时间显著增加的情况下，可以发现 D 组大鼠的心跳显著高于 C 组。

综上所述，大鼠在日间经历长时间的右美托咪定麻醉后可引起 24 小时内睡眠结构的紊乱，整体表现为增加 REM 睡眠时间，Wake 时间减少，NREM 睡眠碎片化，大鼠的活动度明显下降，心率也发生了双向变化。但是 REM 睡眠时间的具体变化是先减少而后增加。大鼠的 EEG 中各波形的变化，表现为经历长时间右美托咪定麻醉后，EEG 中 Delta 波和 Theta 所占比例均升高。



## 讨 论

自全身麻醉药问世以来,与睡眠就形成了千丝万缕的联系,由于麻醉药物作用,人的意识状态以及行为状态类似于深度睡眠,都表现为可逆的意识消失,很多手术患者接受全身麻醉后醒来的感受就好像是睡了一觉,然而麻醉与睡眠的相关作用环路是否完全一致,麻醉药物作用神经环路是否对睡眠环路产生影响,并不完全清楚。我们课题组长期关注全麻药物的作用机制。有研究报道丙泊酚和七氟烷麻醉后对大鼠睡眠结构的改变相反<sup>[72]</sup>。之前的研究大多是在动物睡眠剥夺后进行麻醉,来研究睡眠债务问题,但鲜有直接研究持续麻醉后对睡眠结构是否产生影响,是否持续麻醉本身就会构成睡眠债务,需要动物在之后的睡眠时相内偿还睡眠债务。

我们实验室之前的研究结果证明日间经过长时间的异氟烷麻醉处理后,大鼠睡眠节律产生了变化,但是并没有监测大鼠的 EEG 以及 EMG, 24 小时睡眠结构具体的变化并没有阐述清楚。本实验采用无线遥感监测系统用来监测分析大鼠睡眠结构变化,是对之前的研究的深入以及补充。该系统为国际上最先进的睡眠监测系统<sup>[73]</sup>,将专用的植入子植入动物体内可以实时监测动物的生物电信号变化,本实验通过 7 导联植入子监测大鼠的脑电图、肌电图、心电图以及活动度,并依据这些原始数据判断大鼠的睡眠状态,分析具体各个波形在脑电图中的变化,与传统的有线记录比较,首先,该系统稳定性极高,因为电极是植入在大鼠体内及组织上,不会受到大鼠移动或者传统接头滑动造成的影响。其次,噪音少,该系统为无线的闭环系统,基本接触不到其他的电磁干扰。第三,该系统可以不打乱大鼠的生物节律及生活习惯,减少人为的影响,该系统因为是无线传输且植入大鼠体内,有研究证明在手术后第 7 天大鼠的生物节律已恢复正常水平,所以在术后第 7 天开始让大鼠去适应环境。最后,该系统可以连续工作 60 天,记录大鼠 60 天的生理信号并做分析,本实验采取 24 小时是因为在前期预实验的研究中发现,大鼠在经历气体麻醉后,24 小时后睡眠结构并无显著的差异,故没有选择更长的周期。

课题的第一部分利用无线遥感睡眠监测系统验证了气体麻醉药物七氟烷对大鼠长时间的麻醉后观察 24 小时睡眠结构的变化:大鼠在日间经历长时间的七氟烷麻醉

可改变大鼠 24 小时内睡眠结构的稳定性，增加 REM 睡眠，减少觉醒状态，NREM 睡眠时间不发生变化但却发生碎片化。

课题的第二部分验证了静脉麻醉药物右美托咪定对大鼠睡眠结构的影响，用颈静脉置管的方法持续微量泵注的方法麻醉大鼠，之后观察 24 小时睡眠结构的变化发现：大鼠在日间经历长时间的右美托咪定麻醉后可改变大鼠的 EEG，主要表现为 Delta 波比例在所有时相内均升高，Alpha 波与 Theta 波比例下降在 L1、D1 时相，在 D2 时相与 L2 时相升高，EEG 波形的改变与 24 小时内睡眠结构的紊乱高度相关，整体表现为增加 REM 睡眠时间，Wake 时间减少，NREM 睡眠碎片化，大鼠的活动度明显下降。但是 REM 睡眠的具体变化是先减少而后增加，这与之前的报道相同称为 REM 睡眠的反弹，即在一段时间内的 REM 睡眠时间减少，则在之后的一段时间内会反弹性的增高。

从以上实验可以得出，经历过麻醉后大鼠的 EEG 各波形发生了变化，相比于气体麻醉药物七氟烷对 EEG 的影响，静脉麻醉药物右美托咪定对 EEG 的影响更大，尤其是对 Delta 波长时间的影响，使得大鼠在静脉麻醉之后的运动度处于一个低水平的状态，两种麻醉药物对睡眠结构都有明显改变，共同主要改变为：REM 睡眠增加，Wake 状态减少，NREM 睡眠发生碎片化。具体的改变特征为：七氟烷麻醉的 Wake 状态减少主要在大鼠的活跃期 D2 时相，REM 睡眠的增加主要在非活跃期 L1 时相与活跃期 D1 时相，与气体麻醉药物七氟烷相比，静脉麻醉药物右美托咪定对睡眠的影响更大。七氟烷麻醉对大鼠的睡眠影响时间较短，一般在麻醉后 18 小时内基本可以恢复到正常的睡眠状态，但是右美托咪定麻醉组在麻醉后 24 小时还存在扰乱睡眠结构，主要是对 REM 睡眠的影响。

本实验初步说明了气体麻醉药物七氟烷和静脉麻醉药物右美托咪定在长时间的麻醉后，24 小时内睡眠结构的变化，从整体来看，气体七氟烷麻醉对患者的影响更小一些，影响持续时间较右美托咪定短，且并没有对脑电图产生较大的作用，对心率的影响较小。

两种麻醉药物都对睡眠结构产生了作用，说明麻醉后确实可以引起 PSD，右美托咪定产生了较强的干扰作用，而且在术后 24 小时内不能恢复，这可能是由于右美托咪定影响了大脑 LC 区，有文献报道右美托咪定在小剂量镇静作用于大脑 VLPO 区，

在大剂量麻醉时作用于大脑 LC 区，而持续泵注的过程，在药物代谢的过程中会涉及到剂量从大到小的过程，所以可能同时作用于大脑 VLPO 和 LC 区，两个区域对 Wake 和 REM 都有着极强的调节作用。

在临床手术麻醉结束后睡眠紊乱可以影响患者术后的恢复，有研究表明，术后稳定的良好的睡眠对患者的伤口愈合有明显的帮助作用，睡眠碎片化影响患者术后的恢复。在最新的加速康复外科（ERAS）理念下建议在一些腹腔镜胆囊手术后要求患者尽快下床活动以加快术后恢复，缩短住院时间，但是右美托咪定对活动度的影响较明显，且持续时间较长，所以可以得出在一些要求术后尽快恢复活动的手术中，气体麻醉药物可能是一个更好的选择。

本实验探索了七氟烷和右美托咪定长时间麻醉对睡眠结构的影响，为术后睡眠障碍提供了新的证据，为麻醉药物的机制研究提供了参考证据，也为临床医生在麻醉方式及麻醉药物的选择上提供了有利的证据。

## 参考文献

- [1] W. Stanley sykes mbeb, Julia Arrowood MD. Essays on the First Hundred Years of Anesthesia.[J]. 1961.
- [2] Weiser T G, Regenbogen S E, Thompson K D, et al. An estimation of the global volume of surgery: a modelling strategy based on available data[J]. Lancet, 2008,372(9633):139-144.
- [3] Henry Jacob Bigelow M D. Insensibility during Surgical Operations Produced by Inhalation. 1846.
- [4] Ketyss C. Nitrous oxide method for quantitiative determination of cerebral blood flow in man; theory,procedure and normal values .1948.
- [5] Dobkin A B, Heinrich R G, Israel J S, et al. Clinical and laboratory evaluation of a new inhalation agent: compound 347 (chf2-o-cf2-chf cl)[J]. Anesthesiology, 1968,29(2):275-287.
- [6] Katoh Tik. The minimum alveolar concentration(MAC) of seveflurane in humans. 1987.
- [7] Weese H S W. Evipan,ein neuartiges einschlafmittel. 1932.
- [8] Hunkeler W, Mohler H, Pieri L, et al. Selective antagonists of benzodiazepines[J]. Nature, 1981,290(5806):514-516.
- [9] Katz Y. Anesthesia and the Meyer-Overton rule. II. A solution theory view of anesthesia and perturbations[J]. J Theor Biol, 1994,167(2):99-105.
- [10] Franks N P, Lieb W R. Do general anaesthetics act by competitive binding to specific receptors[J]. Nature, 1984,310(5978):599-601.
- [11] Franks N P. General anaesthesia: from molecular targets to neuronal pathways of sleep and arousal[J]. Nature Reviews Neuroscience, 2008,9(5):370-386.
- [12] Rudolph U, Antkowiak B. Molecular and neuronal substrates for general anaesthetics[J]. Nat Rev Neurosci, 2004,5(9):709-720.
- [13] Hemmings H J, Akabas M H, Goldstein P A, et al. Emerging molecular mechanisms of general anesthetic action[J]. Trends Pharmacol Sci, 2005,26(10):503-510.
- [14] Bai D, Pennefather P S, Macdonald J F, et al. The general anesthetic propofol slows deactivation and desensitization of GABA(A) receptors[J]. J Neurosci, 1999,19(24):10635-10646.
- [15] Blednov Y A, Jung S, Alva H, et al. Deletion of the alpha1 or beta2 subunit of GABAA receptors reduces actions of alcohol and other drugs[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2003,304(1):30-36.
- [16] Brown E N, Lydic R, Schiff N D. General anesthesia, sleep, and coma[J]. N Engl J Med, 2010,363(27):2638-2650.
- [17] Guo T Z, Jiang J Y, Buttermann A E, et al. Dexmedetomidine injection into the locus ceruleus produces antinociception[J]. Anesthesiology, 1996,84(4):873-881.
- [18] Krause A J, Simon E B, Mander B A, et al. The sleep-deprived human brain.
- [19] Prerau M J, Brown R E, Bianchi M T, et al. Sleep neurophysiological dynamics through the lens of multitaper spectral analysis[J]. Physiology, 2017,32(1):60-92.
- [20] Berry R B, Budhiraja R, Gottlieb D J, et al. Rules for scoring respiratory events in sleep: update of the 2007 AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events. Deliberations of the Sleep Apnea Definitions Task Force of the American Academy of Sleep Medicine[J]. J Clin Sleep Med, 2012,8(5):597-619.

- [21] Jouvet M. Research on the neural structures and responsible mechanisms in different phases of physiological sleep[J]. Arch Ital Biol, 1962,100:125-206.
- [22] Scammell T E, Arrigoni E, Lipton J. Neural circuitry of wakefulness and sleep[J]. Neuron, 2017,93(4):747-765.
- [23] Carter M E, Yizhar O, Chikahisa S, et al. Tuning arousal with optogenetic modulation of locus coeruleus neurons[J]. Nature neuroscience, 2010,13(12):1526-1533.
- [24] Weissbourd B, Ren J, Deloach K E, et al. Presynaptic partners of dorsal raphe serotonergic and GABAergic neurons[J]. Neuron, 2014,83(3):645-662.
- [25] Murray N M, Buchanan G F, Richerson G B. Insomnia Caused by Serotonin Depletion is Due to Hypothermia[J]. Sleep, 2015,38(12):1985-1993.
- [26] Jensen Rs B C. Cockpit Resource Management[J]. 1989.
- [27] Cox J, Pinto L, Dan Y. Calcium imaging of sleep-wake related neuronal activity in the dorsal pons[J]. Nat Commun, 2016,7:10763.
- [28] Steriade M, Dossi R C, Pare D, et al. Fast oscillations (20-40 Hz) in thalamocortical systems and their potentiation by mesopontine cholinergic nuclei in the cat[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1991,88(10):4396-4400.
- [29] Xu M, Chung S, Zhang S, et al. Basal forebrain circuit for sleep-wake control[J]. Nat Neurosci, 2015,18(11):1641-1647.
- [30] Alam M A, Kumar S, McGinty D, et al. Neuronal activity in the preoptic hypothalamus during sleep deprivation and recovery sleep[J]. J Neurophysiol, 2014,111(2):287-299.
- [31] Gallopin T, Luppi P H, Cauli B, et al. The endogenous somnogen adenosine excites a subset of sleep-promoting neurons via A2A receptors in the ventrolateral preoptic nucleus[J]. Neuroscience, 2005,134(4):1377-1390.
- [32] Hassani O K, Lee M G, Henny P, et al. Discharge profiles of identified GABAergic in comparison to cholinergic and putative glutamatergic basal forebrain neurons across the sleep-wake cycle[J]. J Neurosci, 2009,29(38):11828-11840.
- [33] Anacleit C, Ferrari L, Arrigoni E, et al. The GABAergic parafacial zone is a medullary slow wave sleep-promoting center[J]. Nat Neurosci, 2014,17(9):1217-1224.
- [34] Gerashchenko D, Wisor J P, Burns D, et al. Identification of a population of sleep-active cerebral cortex neurons[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008,105(29):10227-10232.
- [35] Morairty S R, Dittrich L, Pasumarthi R K, et al. A role for cortical nNOS/NK1 neurons in coupling homeostatic sleep drive to EEG slow wave activity[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013,110(50):20272-20277.
- [36] Lu J, Sherman D, Devor M, et al. A putative flip-flop switch for control of REM sleep[J]. Nature, 2006,441(7093):589-594.
- [37] Boucetta S, Cisse Y, Mainville L, et al. Discharge profiles across the sleep-waking cycle of identified cholinergic, GABAergic, and glutamatergic neurons in the pontomesencephalic tegmentum of the rat[J]. J Neurosci, 2014,34(13):4708-4727.
- [38] Sapin E, Lapray D, Berod A, et al. Localization of the brainstem GABAergic neurons controlling paradoxical (REM) sleep[J]. PloS One, 2009,4(1):e4272.
- [39] Anzai M, Iijima N, Higo S, et al. Direct and Specific Effect of Sevoflurane Anesthesia on rat Per2 Expression in the Suprachiasmatic Nucleus[J]. Plos One, 2013,8(3).

- [40] Bellet M M, Vawter M P, Bunney B G, et al. Ketamine influences clock: bmal1 function leading to altered circadian gene expression[J]. *Plos One*, 2011,6(8).
- [41] Ludin N M, Cheeseman J F, Merry A F, et al. The effects of the general anaesthetic isoflurane on the honey bee (*Apis mellifera*) circadian clock[J]. *Chronobiology International*, 2016,33(1):128-133.
- [42] Cheeseman J F, Winnebeck E C, Millar C D, et al. General anesthesia alters time perception by phase shifting the circadian clock[J]. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America*, 2012,109(18):7061-7066.
- [43] Kadota K, Iijima N, Ohe-hayashi Y, et al. Time-dependent repression of mPer2 expression in the suprachiasmatic nucleus by inhalation anesthesia with sevoflurane[J]. *Neuroscience Letters*, 2012,528(2):153-158.
- [44] Mihara T, Kikuchi T, Kamiya Y, et al. Day or night administration of ketamine and pentobarbital differentially affect circadian rhythms of pineal melatonin secretion and locomotor activity in rats[J]. *Anesthesia And Analgesia*, 2012,115(4):805-813.
- [45] Ohe Y, Iijima N, Kadota K, et al. The general anesthetic sevoflurane affects the expression of clock gene mPer2 accompanying the change of NAD(+) level in the suprachiasmatic nucleus of mice[J]. *Neuroscience Letters*, 2011,490(3):231-236.
- [46] Prudian F, Gantenbein M, Pelissier A L, et al. Daily rhythms of heart rate, temperature and locomotor activity are modified by anaesthetics in rats: A telemetric study[J]. *Naunyn-Schmiedebergs Archives Of Pharmacology*, 1997,355(6):774-778.
- [47] Xia T, Cui Y, Chu S, et al. Murine clock gene expression in the suprachiasmatic nuclei and peripheral blood mononuclear cells during the daily sleep-wake rhythm and after isoflurane anesthesia[J]. *Sleep And Biological Rhythms*, 2015,13(4):357-365.
- [48] Xia T, Cui Y, Chu S, et al. Melatonin pretreatment prevents isoflurane-induced cognitive dysfunction by modulating sleep-wake rhythm in mice[J]. *Brain Research*, 2016,1634:12-20.
- [49] Challet E, Gourmelen S, Pevet P, et al. Reciprocal relationships between general (propofol) anesthesia and circadian time in rats[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2007,32(3):728-735.
- [50] Dispersyn G, Touitou Y, Coste O, et al. Desynchronization of Daily Rest-Activity Rhythm in the Days Following Light Propofol Anesthesia for Colonoscopy[J]. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2009,85(1):51-55.
- [51] Dispersyn G, Pain L, Touitou Y. Propofol Anesthesia Significantly Alters Plasma Blood Levels of Melatonin in Rats[J]. *Anesthesiology*, 2010,112(2):333-337.
- [52] Yokota S, Horikawa K, Akiyama M, et al. Inhibitory action of brotizolam on circadian and light-induced Per1 and Per1 expression in the hamster suprachiasmatic nucleus[J]. *British Journal Of Pharmacology*, 2000,131(8):1739-1747.
- [53] Matsuo I, Iijima N, Takumi K, et al. Characterization of sevoflurane effects on Per2 expression using ex vivo bioluminescence imaging of the suprachiasmatic nucleus in transgenic rats[J]. *Neuroscience Research*, 2016,107:30-37.
- [54] Novak C M, Albers H E. Novel phase-shifting effects of GABA(A) receptor activation in the suprachiasmatic nucleus of a diurnal rodent[J]. *American Journal Of Physiology-Regulatory Integrative And Comparative Physiology*, 2004,286(5):R820-R825.
- [55] Novak C M, Ehlen J C, Paul K N, et al. Light and GABA(A) receptor activation alter Period mRNA levels in the SCN of diurnal Nile grass rats[J]. *European Journal Of Neuroscience*, 2006,24(10):2843-2852.

- [56] Tung A, Bergmann B M, Herrera S, et al. Recovery from sleep deprivation occurs during propofol anesthesia[J]. *Anesthesiology*, 2004,100(6):1419-1426.
- [57] Born J, Lange T, Hansen K, et al. Effects of sleep and circadian rhythm on human circulating immune cells[J]. *Journal Of Immunology*, 1997,158(9):4454-4464.
- [58] Dispersyn G, Pain L, Touitou Y. Circadian Disruption of Body Core Temperature and Rest-Activity Rhythms after General (Propofol) Anesthesia in Rats[J]. *Anesthesiology*, 2009,110(6):1305-1315.
- [59] Irwin M R, Wang M, Campomayor C O, et al. Sleep deprivation and activation of morning levels of cellular and genomic markers of inflammation[J]. *Archives Of Internal Medicine*, 2006,166(16):1756-1762.
- [60] Kikuchi T, Tan H, Mihara T, et al. Effects of volatile anesthetics on the circadian rhythms of rat hippocampal acetylcholine release and locomotor activity[J]. *Neuroscience*, 2013,237:151-160.
- [61] Smith R D, Inouye S, Turek F W. Central administration of muscimol phase-shifts the mammalian circadian clock[J]. *Journal Of Comparative Physiology A-Sensory Neural And Behavioral Physiology*, 1989,164(6):805-814.
- [62] Duffy J F, Zitting K, Czeisler C A. The case for addressing operator fatigue.[J]. *Review Of Human Factors And Ergonomics*, 2015,10(1):29-78.
- [63] Goel N, Rao H, Durmer J S, et al. Neurocognitive Consequences of Sleep Deprivation[J]. *Seminars In Neurology*, 2009,29(4):320-339.
- [64] Lyznicki J M, Doege T C, Davis R M, et al. Sleepiness, driving, and motor vehicle crashes[J]. *Jama-Journal Of The American Medical Association*, 1998,279(23):1908-1913.
- [65] Nir Y, Andrillon T, Marmelshtein A, et al. Selective neuronal lapses precede human cognitive lapses following sleep deprivation[J]. *Nature Medicine*, 2017,23:1474.
- [66] Beydon L, Rauss A, Lofaso F, et al. Enquête sur la qualité du sommeil dans la période périopératoire. Etude des facteurs prédisposant à l'insomnie[J]. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, 1994,13(5):669-674.
- [67] Kain Z N, Caldwell-andrews A A. Sleeping characteristics of adults undergoing outpatient elective surgery: a cohort study[J]. *Journal of Clinical Anesthesia*,15(7):505-509.
- [68] Krenk L, Jennum P, Kehlet H. Sleep disturbances after fast-track hip and knee arthroplasty[J]. *British Journal of Anaesthesia*,109(5):769-775.
- [69] Gögenur I, Wildschjötz G, Rosenberg J. Circadian distribution of sleep phases after major abdominal surgery[J]. *British Journal of Anaesthesia*,100(1):45-49.
- [70] Chen Z, Tang R, Zhang R, et al. Effects of dexmedetomidine administered for postoperative analgesia on sleep quality in patients undergoing abdominal hysterectomy[J]. *Journal of Clinical Anesthesia*, 2017,36:118-122.
- [71] Pick J, Chen Y, Moore J T, et al. Rapid eye movement sleep debt accrues in mice exposed to volatile anesthetics[J]. *Anesthesiology*, 2011,115(4):702-712.
- [72] Steinmetz J, Holm-knudsen R, Eriksen k, et al. Quality differences in postoperative sleep between propofol-remifentanyl and sevoflurane anesthesia in infants[J]. *Anesthesia & Analgesia*, 2007,104(4):779-783.
- [73] Chang p, Hashemi K S, Walker M C. A novel telemetry system for recording EEG in small animals[J]. *Journal of Neuroscience Methods*, 2011,201(1):106-115.



## 个人简历和研究成果

个人简介:

姓名: 李文                      性别: 男                      出生年月: 1987年12月  
民族: 汉                      籍贯: 陕西榆林              政治面貌: 党员

学习和工作经历

2006.08 至 2011.06	第二军医大学	本科	临床医学专业
2011.07 至 2014.08	中国人民解放军 68241 部队	军医	
2014.08 至今	空军军医大学西京医院	研究生	麻醉学专业

攻读硕士研究生期间撰写的论文:

1. 李文, 李龙, 宋歌, 董海龙. 七氟醚麻醉对大鼠睡眠结构的影响. 中华麻醉学杂志, 2017, 37 (2): 159-162.
2. 宋歌, 张昊鹏, 李慧明, 等. 七氟醚对基底前脑区抑制性中间神经元电活动的影响, 临床麻醉学杂志, 2017, 33 (5): 469-472
3. LiYan, YinAnqi, SunXin et al. Deficiency of tumor suppressor NDRG2 leads to attention deficit and hyperactive behavior. J Clin Invest. 2017 Oct 23. doi: 10.1172/JCI94455.
4. 郭娟, 郭永馨, 李慧明, 等. 抑制下丘脑外侧区谷氨酸能神经元对小鼠焦虑样行为的影响, 神经解剖学, 2018, 34 (3): 337-381
5. YuXiao, LiWen, et al. GABA and glutamate neurons in the VTA are major determinants governing vigilance state. Nature Neuroscience (Under revised)

6. WangFeng, XieRougang, et al. Presynaptic excitation via CB1 receptors in hippocampus CA1 GABAergic neurons regulates fear memory recovery post-anesthesia. Nature Communication (In submission)
7. RanMingzi, WangZhihua, et al. Orexin type 1 receptor is involved in ageing delayed emergence from general anaesthesia in rats. Br J Anaesth (Accepted)
8. LiLong, LiWen, et al. Orexin-A facilitates emergence from dexmedetomidine anesthesia and sedation in the rat.. Anesth & Analg (In submission)

## 致 谢

时光荏苒，硕士研究生学习即将结束，在这里衷心感谢我的导师董海龙教授，导师指导我临床试验，建立了我的行医准则，感谢他带我进入基础科学的殿堂，他用他严谨的科研思维、伟大的人格魅力、谦逊的学者气息，以及对麻醉事业、科研的殉道精神深深的感染了我，他是值得我一生学习和努力的目标。在本人研究生学习期间，感谢导师的全局规划和悉心指导，使我建立了一个比较规范的科研思维，也深刻的意识到了自己的不足与差距，通过不断的努力提高自己。特别感谢英国帝国理工大学的 Nick Franks 教授和 Yu Xiao 博士后给予的指导及帮助，才能让我的硕士研究生生涯有一个很好的结果，感谢美国麻省总医院的 Patrick L. Purdon 教授、Emery N. Brown 教授在脑电分析方面给予的深厚指导。感谢王百忍教授在课题设计、实验实施、结果分析和论文撰写等各个环节的指导。

衷心感谢熊利泽和吕岩教授，他们在实验过程中给予我耐心的指导和热情的帮助。衷心感谢李新莉秘书、余莹秘书给予我生活和工作上的帮助。

衷心感谢仝黎博士在我研一时给予的帮助和指导，感谢张昊鹏博士在我实验上给予的巨大帮助，衷心感谢解柔刚博士后帮我修改大论文以及指导我的实验，感谢张丽娜博士在我实验无助时给予我的指导及安慰，感谢王丹技术员在病毒学方面给予的指导。

衷心感谢与我在同一实验室并肩作战的同学冉明梓博士、欧阳鹏荣硕士、宋歌硕士、李龙硕士、郝海智硕士、郭娟硕士感谢你们的相互鼓励、支持和帮助，感谢郭永馨师弟、尹路师弟、赵世毅师弟给予我的帮助。

感谢一直以来默默支持我的父母和家人，你们无尽的理解、关心、鼓励是我不断前进的动力，感谢我通信团的战友，是你给予我巨大的鼓励帮助我坚持做好每一个实验，感谢我的女儿李梓歌，对我工作的支持。你们永远是我的坚强后盾。