

# 长时程睡眠剥夺对大鼠行为记忆和海马区递质的影响及四神聪电针的预防作用

顾媛<sup>1</sup>, 李志铃<sup>2</sup>, 汪燕玲<sup>3</sup>, 阮经文<sup>1</sup>

(1.中山大学附属第一医院针灸科,广东 广州 510080; 2.中山大学附属第七医院中医科,广东 深圳 518107;  
3.中国人民解放军第四五八医院康复科,广东 广州 510000)

**摘要:**【目的】探讨连续长时程睡眠剥夺对大鼠行为、记忆和海马区递质的影响及四神聪电针的预防作用。【方法】采用多平台法进行连续7 d睡眠剥夺造模。实验分阶段进行,一阶段(实验一):将30只SD雌性大鼠随机分成环境对照组(TC组),睡眠剥夺组(SD组),睡眠剥夺结束后3 d组(3 d after SD)、6 d组(6 d after SD)和11 d组(11 d after SD),即7 d睡眠剥夺结束后再在常规大鼠饲养笼内饲养不同时间,并让大鼠恢复正常睡眠;每组大鼠均为6只。采用旷场实验观察大鼠自发活动。二阶段(实验二):将18只大鼠随机分成环境对照组(TC组)、睡眠剥夺组(SD组)、电针组(SD+EA组),每组6只。SD+EA组于睡眠剥夺期间每天上午电针一次,每次20 min,共7 d。采用Morris水迷宫实验观察各组大鼠空间学习记忆能力。另外,两阶段的酶联免疫吸附测定均在旷场实验和水迷宫检测结束后取材进行。【结果】实验一,旷场实验:SD组与TC组比,大鼠水平运动和垂直运动的得分减少明显( $P < 0.05$ );但睡眠恢复3 d、6 d、11 d后,3 d组、6 d组、11 d组的大鼠水平运动和垂直运动得分恢复明显,与SD组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),但与TC组比,3 d组、6 d组虽存在差异( $P < 0.05$ ),但11 d组差异已无显著性( $P > 0.05$ )。大鼠海马区GABA检测:SD组与TC组比,睡眠剥夺后导致GABA表达下降( $P < 0.05$ );但睡眠恢复3 d、6 d后,GABA的表达明显上升,与SD组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而与TC组比差异已无显著性( $P > 0.05$ );但到第11天时,GABA表达相对于TC组和6 d组又有下降趋势,但与TC组和6 d组相比较无统计学差异( $P > 0.05$ )。实验二:Morris水迷宫检测结果显示,与TC组和电针组比,SD组水下平台的逃避潜伏期明显延长( $P < 0.05$ ),而穿越原平台所在区次数明显减少( $P < 0.05$ );相反,电针组与TC组相比,无论是水下平台的逃避潜伏期还是穿越原平台所在区次数,均无统计学意义( $P > 0.05$ )。大鼠海马区的5-HT和GABA检测:5-HT的表达,与TC组相比,SD组变化不大( $P > 0.05$ );但电针组与TC组比有下降趋势,且差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。GABA的表达与5-HT的表达刚好相反,与TC组比,SD组海马GABA的表达有下降趋势( $P < 0.05$ );但电针组与TC组比变化不大( $P > 0.05$ )。【结论】7 d连续睡眠剥夺可导致大鼠行为、记忆能力明显下降,且对大鼠海马区GABA和5-HT表达的影响有异于既往文献报道的少于4 d连续睡眠剥夺的影响。四神聪电针具有预防长时程睡眠剥夺对大鼠行为记忆损害的作用,其机制可能是通过电针改善因睡眠剥夺而导致的紊乱的中枢神经递质。

**关键词:**睡眠剥夺;电针;四神聪;行为;记忆;GABA;5-HT

中图分类号:R245

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2018)01-0054-07

## Effects of Long-term Sleep-deprivation on Rats' Learning and Memory Behavior and Neurotransmitters in Hippocampus and the Effects of Prevention of Electro-acupuncture on the Sishencong Acupoints

GU Yuan<sup>1</sup>, LI Zhi-ling<sup>2</sup>, WANG Yan-ling<sup>3</sup>, RUAN Jing-wen<sup>1</sup>

(1. Department of Acupuncture, The First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China;

2. Department of Traditional Chinese Medicine, The Seventh Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Shenzhen

收稿日期:2017-10-27

基金项目:广东省科技厅科技项目(2014SC105)

作者简介:顾媛,硕士研究生,研究方向:睡眠障碍及针刺机制探讨,E-mail:zygyuan@163.com;阮经文,通信作者,主任医师,研究方向:睡眠障碍及针刺机制探讨,E-mail:ruanjw@163.com

518107, China; 3.Department of Rehabilitation, The 458 Hospital of Chinese People's Liberation Army (PLA), Guangzhou, 510080, China)

Corresponding to: RUAN Jing-wen, E-mail: ruanjw@163.com

**Abstract:** 【Objective】 To investigate the effects of continuous long-term sleep deprivation on rat's behavior, memory and neurotransmitters in hippocampus, as well as determine the effects of prevention of electro-acupuncture. 【Method】 We used multi-platform water environment to make the rat model of insomnia. The experiment was divided into two sections. Section one: thirty rats were divided into 5 groups (six rats each group): tank control group (TC), sleep-deprived for continuous 7 days group (SD group), three days of recovery after SD group (3d after SD group), six days of recovery after SD group (6d after SD group), eleven days of recovery after SD group (11d after SD group). The term of recovery refers to normal feeding and sleeping when rats return to cages after sleep-deprivation. The open-field test was performed following the end time of each group experiment and then the rats were perfused and fixed. Section two: Eighteen rats were divided into three groups (six rats each group): tank control group (TC), sleep-deprived for continuous 7 days group (SD group), sleep-deprived rats treated with electro-acupuncture group (SD+EA group). Rats of SD group and SD+EA group were deprived sleep for continuous 7 days. During the period of sleep deprivation, the rats of SD+EA group were treated with electro-acupuncture 20 minutes every morning. At the end time of experiment, rats were tested by the Morris water maze and then perfused and get specimens. 【Results】 Section one: the statistical analysis of outcome of open-field test showed: as compared to the TC group, the scores of rat's horizontal movement and vertical movement were significantly fewer in the SD group ( $P < 0.05$ ). After 3, 6, or 11 days recovery of sleep, the scores increased significantly as compared with SD group ( $P < 0.05$ ). Although, the outcome of open-field test in the 3d after SD and 6d after SD groups had the significant difference with TC group ( $P < 0.05$ ), there was no different between the 11d after SD group and TC group ( $P > 0.05$ ). The quantitative analysis of gamma aminobutyric acid (GABA) expression in the hippocampus showed: the SD group shows lower level of GABA when compared to the TC group ( $P < 0.05$ ). After 3 days or 6 days of recovery, the expression of GABA is higher than the SD group ( $P < 0.05$ ), and similar to the TC group ( $P > 0.05$ ). In the 11days after SD group, the expression of GABA declined as compared to the TC group and the 6d after SD group ( $P < 0.05$ ). Section two: In the Morris water maze experiment, when compared to the TC group and the SD+EA group, the escape latency period was significantly prolonged and the times of across the platform were significantly reduced in the SD group ( $P < 0.05$ ). On the contrary, there were no statistical differences in the escape latency period or the across platform times between the SD+EA group and the TC group ( $P > 0.05$ ). The results of serotonin (5-HT) and GABA in the hippocampus showed: the 5-HT level in the SD group was no significant difference as compared to the TC group and the SD group on 5-HT level, while the 5-HT level in the SD+EA group was reduced as compared to the TC group ( $P < 0.05$ ). In the opposite, the GABA level in the SD group was decreased as compared to the TC group ( $P < 0.05$ ), while the SD+EA group and the TC group appear similarly level ( $P > 0.05$ ). 【Conclusions】 The effect of 7 days' continuous long-term sleep-deprivation may lead to the reduction in the ability of learning and memory behavior of rats. Our results is different with 4 days' continuously sleep-deprivation which was reported on the rats' expression of GABA and 5-HT. Electro-acupuncture stimulating the Sishengcong Acupoints seems preventing the harming of long-term sleep-deprivation on the ability of learning and memory, which probably is through adjusting the disorder of central neurotransmitter expression caused by sleep deprivation.

**Key words:** sleep deprivation, electro-acupuncture, Sishengcong Acupoints, behavior, memory, GABA, 5-HT.

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2018, 39(1): 54-60]

充足的睡眠是保持学习工作效率的前提,睡眠剥夺(sleep deprivation, SD),无论是对人还是动物,均可导致大脑的认知功能受损和行为、记忆能力的下降<sup>[1-2]</sup>。但短时间的SD,目前被认为不会产生明显的不良影响,可是,超过24 h或更长时间的SD,尤其连续性长时程SD,则会带来较大

的不良后果<sup>[3]</sup>。至今有关减小这种长时程SD损害的办法尚少。尽管有研究报道,咖啡因能预防SD诱导的海马依赖性记忆损害<sup>[4]</sup>,但它同时也存在着干扰睡眠结构的突出缺点,长期应用会引起睡眠结构紊乱,反而加重行为、记忆损害。因此,进一步探讨连续性长时程SD的影响和预防措施

十分重要。居于既往针灸治疗失眠的有效性和预防性的研究<sup>[5]</sup>,我们将进一步探讨其对预防SD的损伤是否同样有效。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

清洁级(SPF级)健康Sprague Dawley鼠48只,雌性,体质量220~250 g(由中山大学实验动物中心提供,动物生产许可证号:SCXK(粤)2011-0029。实验室内温度20~25℃,保持12 h光照循环,实验动物自由饮水进食,符合我国《实验动物管理条例》和《医学实验动物管理实施细则》。

### 1.2 主要试剂与材料

大鼠 $\gamma$ 氨基丁酸(GABA)ELISA Kit,购于武汉华美生物工程有限公司,货号:CSB-E08368r;大鼠5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT) ELISA kit,购于上海源叶生物科技有限公司,货号K00417。戊巴比妥钠,购于中国医药集团上海化学试剂公司。Sunrise酶标分析仪(TECAN,德国)、3500型超高速低温离心机(久保田,日本)、JY92-2D超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技股份有限公司)、上海华谊G6805-1A低频脉冲治疗仪(上海华谊医用仪器有限公司)、一次性毫针:0.25 mm $\times$ 13 mm规格(广州穗鑫医疗器械有限公司)、XR-XB108型Morris水迷宫(上海欣软信息科技有限公司)。

### 1.3 分组

实验分两步进行。实验一:将SD大鼠按体质量大小编号,利用随机数字表进行分组,分别为环境对照组(TC组),睡眠剥夺组(SD组),睡眠剥夺结束后3 d组(3 d after SD)、6 d组(6 d after SD)和11 d组(11 d after SD),共5组,每组6只大鼠。其中SD组睡眠剥夺7 d;环境对照组大鼠则置于网台上7 d,可正常饮食与睡眠;其余各组在结束7 d睡眠剥夺后再分别恢复实验室常规饲养和睡眠3 d、6 d、11 d。以上所有组均在旷场实验结束后取材。实验二:将18只大鼠按实验一相同方法随机分成TC组、SD组、电针组(SD+EA组);每组6只。SD组和SD+EA组大鼠连续剥夺睡眠7 d,其中SD+EA组于睡眠剥夺期间每天上午电针一次,每次20 min,共7 d。三组均在实验7 d后取材,取材点均为大鼠双侧海马脑区。

### 1.4 实验动物模型的构建

采用改良多平台水环境法建立大鼠睡眠剥夺模型。睡眠剥夺箱50 cm $\times$ 40 cm $\times$ 40 cm,内有6个平台,高8.0 cm,直径6 cm,平台之间间隔8 cm,平台周边注满水,水面距平台面约1.0 cm,水温保持在(20 $\pm$ 3)℃左右。大鼠进入快动眼睡眠(REM睡眠)时,由于骨骼肌的松弛使大鼠失去支撑掉入水中而惊醒,如此反复,造成睡眠剥夺。环境对照组则是在原有平台上放置总长40 cm,总宽28 cm的不锈钢网格,网格大小为1.2 cm $\times$ 1.2 cm,动物能够进入睡眠,每天更换睡眠剥夺箱中的水。实验大鼠采用24 h/d剥夺法(每天给睡眠剥夺箱换水时,大鼠有20 min左右的非剥夺时间);环境对照组大鼠则置于网台上;电针组进行四神聪电针干预时则于睡眠剥夺箱外进行。

### 1.5 四神聪电针干预

①用特定固定架将大鼠固定;②选取四神聪穴(头部顶骨正中、两耳尖连线中点,前后左右各旁开约2 mm);③选用直径0.25 mm $\times$ 13 mm的针灸针向百会方向平刺,进针约2 mm,连电针仪并用疏密波,幅度为2 mV,电源电压9 V,刺激20 min;于睡眠剥夺期间每天上午电针一次,共7 d。

### 1.6 行为学观察指标和生化检测方法

1.6.1 行为学观察指标 旷场实验:旷场实验箱底面分成25个边长4 cm的正方形组成,每只大鼠测试前喷洒酒精消除上一只测试大鼠气味,测试大鼠5 min内水平活动情况(爬行总格数)和垂直方向活动情况(直立次数)。Morris水迷宫:在实验二进行的第三天开始,每天上、下午共进行2次获得性训练(记录大鼠60 s内找到水下隐藏平台时间),训练四天,最后一天,撤去水迷宫中平台,进行空间探索试验(记录大鼠穿越原平台所在位置次数)。

1.6.2 酶联免疫吸附测定 在旷场实验或Morris水迷宫测试结束后,断头取脑,在冰板上迅速分离出海马,4℃ pbs洗净,滤纸拭干,按1:9比例加入pbs(pH7.4),采用电动玻璃匀浆器冰浴中制备匀浆,匀浆液在4℃ 20 630  $\times$ g离心10 min,取上清液,再次离心10 min,取上清液,按不同的实验阶段要求,采用ELISA技术分别测定海马组织匀浆中GABA、5-HT的含量。

### 1.7 统计学处理

所有统计学处理均采用SPSS22.0统计软件

进行分析。计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。主要统计数据均进行正态性及方差齐性检验,正态分布数据组间差异性比较采用单因素方差分析,Bonferroni法进行两组间多重比较。选取检验水准 $\alpha=0.05, P<0.05$ 为差异有统计学意义。

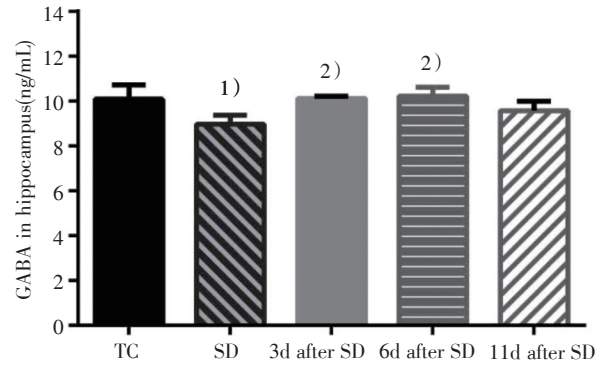
## 2 结 果

### 2.1 实验一

旷场实验结果如表1:SD组与环境对照组比,大鼠水平运动和垂直运动的得分减少明显( $P<0.05$ );但恢复常规鼠笼饲养、休息和睡眠3 d、6 d、11 d后,3 d组、6 d组、11 d组的大鼠水平运动和垂直运动得分恢复明显,与SD组比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ),但与TC组比:3 d组、6 d组存在差异( $P<0.05$ ),而11 d组差异已无显著性( $P>0.05$ )。说明大鼠行为活动可在恢复自由睡眠后得到改善和恢复。大鼠海马区GABA检测结果如图1:SD组与环境对照组比,睡眠剥夺后导致GABA表达下降( $P<0.05$ );但恢复常规饲养3 d、6 d后,GABA的表达明显上升,与SD组比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ),而与环境对照组比差异已无显著性( $P>0.05$ );11 d组分别与TC组和6 d组比 $P>0.05$ ,但GABA表达相对于TC组和6 d组又有下降趋势。可见,睡眠剥夺后及睡眠恢复不同时段大鼠海马区GABA的表达趋势具有一定差异。

### 2.2 实验二

Morris水迷宫行为记忆检测(表2):与环境对照组和电针组比,SD组水下平台的逃避潜伏期明显延长( $P<0.05$ ),而穿越原平台所在区次数明显减少( $P<0.05$ );相反,电针组与环境对照组相比,无论是水下平台的逃避潜伏期还是穿越原平台所在区次数,均无统计学意义( $P>0.05$ )。以上结果说明四神聪电针对连续长时程睡眠剥夺所导致的



GABA: gamma- aminobutyric acid; TC: tank control; SD: sleep deprivation; 1)  $P<0.05$  vs. TC group; 2)  $P<0.05$  vs. SD group

图1 睡眠剥夺对大鼠海马脑区GABA的影响

Fig.1 Effects of sleep deprivation on GABA in rat hippocampus

表2 Morris水迷宫检测电针对睡眠剥夺大鼠的学习记忆的影响

Table 2 Effects of electroacupuncture on learning and memory of rats with sleep deprivation

	TC(n=6)	SD(n=6)	SD + EA(n=6)	F	P
ELP/s	12.20±1.15	22.67±2.00 <sup>1)</sup>	11.47±0.82 <sup>2)</sup>	19.528	<0.001
APT/times	4.50±0.42	1.33±0.42 <sup>1)</sup>	4.67±0.49 <sup>2)</sup>	17.477	<0.001

ELP: escape latency period; APT: across platform times TC: tank control; SD: sleep deprivation; SD + EA: sleep deprivation + electroacupuncture; 1)  $P<0.05$  vs. TC group; 2)  $P<0.05$  vs. SD group

记忆损害具有一定预防作用。大鼠海马区的5-HT和GABA检测结果如表3:5-HT的表达,与环境对照组比,SD组变化不大( $P>0.05$ );但电针组与环境对照组比有下降趋势,且差异有统计学意义( $P<0.05$ )。GABA的表达与5-HT的表达刚好相反,与环境对照组比,SD组有下降趋势( $P<0.05$ );但电针组与环境对照组比变化不大( $P>0.05$ )。说

表1 旷场实验检测睡眠剥夺对大鼠行为学的影响

Table 1 Effects of sleep deprivation on behavior of rats were investigated by open field experiment

	TC(n=6)	SD(n=6)	3 d after SD(n=6)	6 d after SD(n=6)	11 d after SD(n=6)	F	P
TMD/grids	104.83±6.68	44.83±10.12 <sup>1)</sup>	85.83±6.21 <sup>1)2)</sup>	90.17±6.82 <sup>1)2)</sup>	103.67±6.83 <sup>2)</sup>	63.434	<0.001
VMT/times	19±2.68	2.83±0.87 <sup>1)</sup>	9.33 ±0.67 <sup>1)2)</sup>	11±0.93 <sup>1)2)</sup>	21.83±1.17 <sup>2)</sup>	63.300	<0.001

TMD: total movement distance; VMT: vertical movement times; TC: tank control; SD: sleep deprivation; 1)  $P<0.05$  vs. TC group; 2)  $P<0.05$  vs. SD group

明四神聪电针对5-HT及GABA的表达具有调节作用,这可能也是四神聪电针预防睡眠剥夺对行为记忆损害的内在机制。

表3 电针对睡眠剥夺大鼠海马脑区神经递质的影响  
Table 3 Effects of electroacupuncture on neurotransmitter in hippocampus of rats with Sleep Deprivation

	TC (n=6)	SD (n=6)	SD + EA (n=6)	F	P
GABA/ng/mL	10.87±0.63	8.06±0.57 <sup>1)</sup>	10.23±0.33	7.748	0.005
5-HT/ng/mL	9.73±0.35	9.24±0.23	7.94±0.56 <sup>1)</sup>	5.229	0.019

GABA: gamma-aminobutyric acid; 5-HT: Serotonin; TC: tank control; SD: sleep deprivation; SD+EA: sleep deprivation + electroacupuncture; 1)  $P < 0.05$  vs. TC group

### 3 讨论

有临床研究表明:睡眠剥夺对双侧海马功能连接存在显著影响,连续睡眠剥夺会显著影响人们的注意力和记忆力<sup>[2,6]</sup>。实验研究也证实:连续睡眠剥夺严重损害大鼠行为记忆和改变海马区递质的表达<sup>[1,7]</sup>。因此,海马区及海马区的5-HT、GABA自然也就成为此次睡眠剥夺研究的靶器官和靶递质。实验一结果显示:7 d睡眠剥夺后大鼠行为能力与既往文献报道<sup>[8]</sup>基本一致,即睡眠剥夺后旷场实验总分均显著低于TC对照组( $P < 0.05$ )。

但在恢复睡眠3~11 d后,大鼠行为得分随着恢复睡眠天数的增加而不断提升,至11 d时行为得分与TC组比差异已无显著差别( $P > 0.05$ )。说明睡眠剥夺作为一种应激原,在恢复睡眠后机体启动应急代偿保护机制,以保护因睡眠剥夺而严重受损的行为能力。不同的是7 d睡眠剥夺后,大鼠海马区抑制性递质GABA表达的趋势与既往文献中少于4 d的睡眠剥夺的海马区GABA表达的趋势<sup>[7]</sup>完全相反的,即7 d睡眠剥夺后,SD组与TC组比是下降的( $P < 0.05$ ),而少于4 d睡眠剥夺的SD组与TC对照组比是上调的( $P < 0.05$ ),部分文献报道也证实无论相同还是不同的睡眠剥夺造模法均可出现GABA表达下降的结果<sup>[9-10]</sup>;但睡眠恢复3 d、6 d后的GABA表达与既往睡眠剥夺1 d、3 d、5 d,恢复睡眠后6 h的GABA表达较对照组显

著增高的结果是一致的<sup>[11]</sup>。这再次反映了睡眠剥夺作为一种应激原,无论剥夺睡眠时间的长短在恢复睡眠后均会启动应急代偿保护机制。可是,睡眠在恢复至11 d时,大鼠海马区GABA的表达与TC组、3 d组和6 d组比又开始呈现下降趋势,但差异无显著( $P > 0.05$ )。以上结果表明:7 d睡眠剥夺后的SD组及恢复睡眠的3 d组、6 d组,精神行为的得分与海马区GABA的表达有正相关趋势,这有别于过往的文献有关于抑制性递质的水平与大鼠的精神行为呈负相关的研究结果<sup>[12]</sup>。近年研究表明<sup>[13]</sup>:GABA作为一种重要的抑制性神经递质,其GABAA受体亚基 $\alpha 2$ 、 $\beta 2$ 、 $\gamma 2$ 广泛分布于海马,也存在于脊髓运动神经,参与运动调节,因此,依据GABA的生理功能,其表达上升会抑制大鼠行为活动<sup>[7]</sup>。但7 d睡眠剥夺后的SD组其运动得分并没有因GABA的表达下调而增加,也没有因睡眠恢复后GABA的表达上升而下降。说明7 d睡眠剥夺后的大鼠行为活动有其独特性。这可能与下列因素有关。首先,有研究显示<sup>[14-15]</sup>:水平台长期异相睡眠剥夺可以显著影响大鼠的能量代谢,导致大鼠体温下降、基础代谢率升高等,甚至完全睡眠剥夺3周后可导致死亡,死亡前有大量能量消耗。可见,长时程睡眠剥夺引起的过度能量消耗可能是导致大鼠行为活动下降的原因之一;另外,有研究还表明连续5 d睡眠剥夺可导致抑郁<sup>[16]</sup>,而抑郁模型大鼠的海马中GABA能中间神经元减少<sup>[17]</sup>,这与7 d睡眠剥夺后的大鼠行为得分降低及GABA的表达下调结果是一致的,即7 d睡眠剥夺可能导致了大鼠产生抑郁状态。而行为活动能力下降正是抑郁症的主要表现之一。所以,7 d睡眠剥夺后的大鼠行为能力和GABA表达下降主要原因就是睡眠剥夺与少于4 d睡眠剥夺比,时间相对过长,导致能量过度消耗,和由于大鼠连续长时程维持清醒状态下,中枢系统为了拮抗大量聚集的兴奋性递质如谷氨酸和其产生的神经毒性,必会大量和过度耗竭抑制性递质GABA所致。至于睡眠恢复3 d和6 d后行为得分明显上升,是由于睡眠恢复后能量亦得到恢复和代偿,以及睡眠恢复后随着GABA的应激性反弹,抑郁症状在内外因的促使亦得到改善所致。另外,睡眠在恢复至11 d时,大鼠海马区GABA的表达与TC组、3 d组和6 d组比又开始呈现下降趋势,这或许与睡眠剥夺对海马区神经元产生损伤有关<sup>[7-8]</sup>,即GABA的

表达终因神经元的器质性损害最终会由应急代偿保护转变成失代偿,而出现GABA表达较正常水平下调的现象。但此时大鼠行为能力并没有似睡眠剥夺阶段随GABA下降而下降,相反继续上升,说明大鼠在睡眠恢复后,机体的机能逐步恢复,生理功能也逐步趋于正常,因而正常生理状态下的大鼠行为能力在抑制性递质下调的情况下,其行为更活跃,行为得分也因此而上升。

实验二结果显示,7 d连续睡眠剥夺海马区5-HT的表达与空白组差异无显著性,不似4 d的连续睡眠剥夺可使海马区5-HT的表达上升<sup>[7]</sup>。可能是由于5-HT作为一个重要的情绪性行为的调节因子,应激事件使海马内5-HT的释放减少<sup>[18]</sup>,但也有研究显示<sup>[19]</sup>:大鼠在经过24 h睡眠剥夺后5-HT的转化率达到最高,但随着睡眠剥夺时间的延长这种转化作用逐渐减弱。因此,7 d连续睡眠剥夺后5-HT的释放减少和转化减弱形成的动态平衡,或许是导致7 d连续睡眠剥夺海马区5-HT的表达与空白组无显著性差异的主要原因。另

外,5-HT作为中枢内水平增高可出现疲劳感和睡意的另一个生理特点,四神聪电针后下调其表达有助于记忆的维持;同样,实验二的结果还表明:四神聪电针可预防大鼠海马区因连续长时程睡眠剥夺而导致的GABA表达下调。这一结果一方面或许有预防长时程睡眠剥夺对海马区神经元的损害,但需要进一步研究证实;另一方面,防止GABA表达下调具有消除大鼠因睡眠剥夺而形成的抑郁状态的递质基础,从而改善大鼠的抑制性精神行为,保护大鼠的行为注意力和记忆力。可能正是由于四神聪电针调整了因连续睡眠剥夺而导致的紊乱中枢神经递质以及避免了海马区神经元结构的损伤,从而获得实验二的水迷宫检测结果:电针组明显优于SD组,而与环境对照组差异无统计学意义的良好结果。因此,四神聪电针对睡眠剥夺所致记忆损害具有很好的预防作用,并且其对睡眠剥夺大鼠中枢神经递质的调节作用是其预防作用的可能机制。

#### 参考文献

- [1] 王博文,徐兆慧,杜勇,等.不同方式的睡眠剥夺对大鼠学习记忆的影响[J].西安交通大学学报(医学版),2014,35(02):213-217.  
Wang BW, Xu ZH, Du Y, et al. Effects of different ways of sleep deprivation on learning and memory in rats [J]. J Xi'an Jiaotong Univ (Med Sci), 2014, 35(02): 213-217.
- [2] 项恒,梁曼.中国民航管制学员注意力差异分析[J].科学技术与工程,2014,14(12):141-145.  
Xiang H, Liang M. An analysis of attracting differences of chinese civil aviation control [J]. Sci Tech Eng, 2014, 14(12): 141-145
- [3] How JM, Foo SC, Low E, et al. Effects of sleep deprivation on performance of Naval seamen: I. Total sleep deprivation on performance [J]. Ann Acad Med Singapore, 1994, 23(5): 669-675.
- [4] Alhaider IA, Alkadhi KA. Caffeine treatment prevents rapid eye movement sleep deprivation-induced impairment of late-phase long-term potentiation in the dentate gyrus [J]. Eur J Neurosci, 2015, 42(10): 2843-2850.
- [5] Mandiroglu S, Ozdilekcan C. Impact of acupuncture on chronic insomnia: A report of two cases with polysomnographic evaluation [J]. J Acupunct Meridian Stud, 2017, 10(2): 135-138.
- [6] 李继元,宋云龙,齐建林.睡眠剥夺对健康成人学习记忆网络影响的功能磁共振研究[J].安徽医科大学学报,2017,52(09):1335-1340.  
Li JY, Song YL, Qi JL, et al. Study on the effects of sleep deprivation on the learning and memory network of healthy adults [J]. J Anhui Med Univ, 2017, 52(09): 1335-1340.
- [7] 马双双,齐阳,王莹,等.连续睡眠剥夺对大鼠认知能力?神经递质及海马结构的影响[J].海军医学杂志,2013,34(02):15-18.  
Ma SS, Qi Y, Wang Y, et al. Effects of continuous sleep deprivation on cognitive ability, neurotransmitter and hippocampus in rats [J]. J Naval Med Sci, 2013, 34(02): 15-18.
- [8] 王新兴,梅竹松,刘伟丽,等.睡眠剥夺应激对大鼠海马的损伤作用及其对探究行为的影响[J].军事医学,2011,35(09):663-665.  
Wang XX, Mei ZS, Liu WL, et al. Effects of sleep

- deprivation stress on hippocampus injury in rats and its effect on exploratory behavior [J]. *J Mil Med*, 2011, 35(09): 663-665.
- [9] 杨波, 岳明. 酸枣仁汤对睡眠剥夺大鼠认知功能及海马 NA, GABA, 5-HT 的影响 [J]. *陕西中医*, 2015, 36(1): 122-123  
Yang B, Yue M. Effects of ziziphus jujuba decoction on cognitive function and NA, GABA and 5-HT in rats with sleep deprivation [J]. *Shanxi Tradit Chin Med*, 2015, 36(1): 122-123
- [10] 木日根吉雅, 阿古拉. 蒙医温针针对失眠大鼠海马中 Glu GABA ACh 含量的影响 [J]. *中国民族医药杂志*, 2014, 20(6): 43-44  
Murigen JY, Aguera. Effect of mongolian warming on Glu, GABA and ACh contents in hippocampus of insomnia rats [J]. *J Med Pharm Chin Minorities*, 2014, 20(6): 43-44
- [11] 李振. GABA 能药物干预对 REM 睡眠剥夺大鼠认知功能影响的实验研究 [D]. 第二军医大学, 2008: 20-22  
Li Z. Experimental study on the effect of GABAergic drug intervention on cognitive function in REM sleep deprived rats [D]. Second Mil Med Univ, 2008: 20-22.
- [12] Brady K, Brown JW, Thurmond JB. Behavioral and neurochemical effects of dietary tyrosine in young and aged mice following cold-swim stress [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 1980, 12(5): 667-674.
- [13] 刘晶, 李峰, 宋月晗, 等. GABA 能系统与失眠 [J]. *现代生物医学进展*, 2012, 12(18): 3589-3591.  
Liu J, Li F, Song YH, et al. GABAergic system and insomnia [J]. *Adv Modern Biol*, 2012, 12(18): 3589-3591.
- [14] Rechtschaffen A, Gilliland MA, Bergmann BM, et al. Physiological correlates of prolonged sleep deprivation in rats [J]. *Science*, 1983, 221(4606): 182-184.
- [15] 曾荣, 邵淑丽, 徐兴军, 等. 长期异相睡眠剥夺对大鼠能量代谢及血清甲状腺素水平的影响 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2010, 26(1): 105-108.  
Zen R, Shao SL, Xu XJ, et al. Effects of long-term sleep deprivation on energy metabolism and serum thyroxine levels in rats [J]. *Chin J Appl Physiol*, 2010, 26(1): 105-108.
- [16] 王云, 岳云. 异丙酚对异相睡眠剥夺大鼠海马谷氨酸和  $\gamma$ -氨基丁酸释放的影响 [J]. *中华麻醉学杂志*, 2008, 28(1): 7-9.  
Wang Y, Yue Y. Effects of propofol on the release of glutamate and  $\gamma$ -aminobutyric acid in hippocampus of rats with heterogeneous sleep deprivation [J]. *Chin J Anesth*, 2008, 28(1): 7-9.
- [17] 王敏建, 况利. 脑海马结构与抑郁障碍的关系 [J]. *中国临床康复*, 2005, 9(48): 116-118.  
Wang MJ, Kuang L. The relationship between hippocampus and depressive disorder [J]. *Chin J Clin Rehabil*, 2005, 9(48): 116-118.
- [18] Amat J, Baratta MV, Paul E, et al. Medial prefrontal cortex determines how stressor controllability affects behavior and dorsal raphe nucleus [J]. *Nat Neurosci*, 2005, 8(3): 365-371.
- [19] 钟静瑜, 黄俊山. 5-羟色胺与睡眠的研究进展 [J]. *医学综述*, 2010, 16(10): 1471-1473.  
Zhong JY, Huang JS. Advances in serotonin and sleep [J]. *Med Rev*, 2010, 16(10): 1471-1473.

(编辑 孙慧兰)