

·基础研究·

睡眠-觉醒曲线与双相情感障碍模型小鼠躁狂和抑郁症状和工作记忆的关系

刘冀荣¹,李瑛¹,惠玲利²

作者单位

1. 渭南市中心医院
神经内科

陕西 渭南 714000

2. 陕西省榆林市星
元(第四)医院神经
内一科

陕西 榆林 719000

收稿日期

2020-04-06

通讯作者

惠玲利

365330197@qq.com

摘要 目的:研究睡眠-觉醒曲线与双相情感障碍模型小鼠躁狂症状、抑郁症状和学习记忆功能的关系。**方法:**双相情感障碍雄性小鼠模型10只纳入模型组,C57BL/6野生型雄性小鼠10只纳入对照组。对2组小鼠进行睡眠-觉醒行为学实验、旷场实验、强迫游泳实验、糖水偏好实验和Morris水迷宫实验,研究睡眠觉醒状态、躁狂症状、抑郁症状和学习记忆功能;根据结果综合分析睡眠-觉醒曲线与双相情感障碍模型小鼠躁狂症状、抑郁症状和学习记忆的关系。**结果:**模型组小鼠的清醒时间和快速眼动睡眠占比多于对照组($P<0.01$),非快速眼动睡眠占比少于对照组($P<0.01$);从1 min~5 min,模型组小鼠穿越中央格的次数显著高于对照组($P<0.05$);模型组小鼠在强迫游泳实验中的不动时间长于对照组($P<0.05$),糖水偏爱率低于对照组($P<0.05$);模型组的总探索时间、第1天~第4天找到平台所需时间均高于对照组($P<0.05$);2组第4天找到平台所需时间均低于同组第1天找到平台所需时间($P<0.05$);睡眠-觉醒曲线中的清醒时间与躁狂症状呈正相关,与学习记忆呈负相关;非快速眼动睡眠与躁狂症状呈负相关;快速眼动睡眠与躁狂症状、抑郁症状呈负相关,与学习记忆呈正相关($P<0.05$)。**结论:**双相情感障碍模型小鼠存在躁狂和抑郁症状,同时表现出了记忆障碍,双相情感障碍模型小鼠睡眠-觉醒曲线与躁狂和抑郁症状和工作记忆之间均存在相关性。

关键词 睡眠-觉醒曲线;双相情感障碍;躁狂;抑郁;工作记忆**中图分类号** R741;R741.02;R749 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssngcj.20200338**本文引用格式:**刘冀荣,李英,惠玲利.睡眠-觉醒曲线与双相情感障碍模型小鼠躁狂和抑郁症状和工作记忆的关系[J].神经损伤与功能重建,2020,15(10):594-596.

双相情感障碍是指情感异常高涨或者异常低落的一种精神性疾病,同时还伴有躁狂和抑郁症状的出现,常呈间歇或反复发作,患者易出现易怒、心情低落及身体乏力等表现,甚至可能引发其他生理和心理等疾病^[1,2]。睡眠-觉醒的生物节律对维持生物体各种生理和心理活动具有重要作用^[3],而双相情感障碍患者常表现为生物节律紊乱,主要是出现睡眠-觉醒生物节律紊乱,导致患者出现典型的反复发作的情绪异常^[4]。本实验对双相情感障碍模型小鼠的睡眠-觉醒状态、躁狂症状、抑郁症状和工作记忆的变化进行研究,为深入研究双相情感障碍的发病机制提供新的思路和新的治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 实验动物

雄性双相情感障碍小鼠模型10只(购自上海南方模式生物科技股份有限公司)纳入模型组;同时选取雄性C57BL/6野生型小鼠10只(购自中国医学科学院动物所)纳入对照组;小鼠均为6~8周,体质量(20±2)g。将小鼠饲养于室温,相对湿度50%左右,12 h光照与黑暗交替,自由饮水、进食及活动。

1.2 方法

1.2.1 睡眠-觉醒行为学实验 麻醉小鼠,手术植入脑电图(electroencephalogram, EEG)和肌电图(electromyogram, EMG)电极,恢复1周时间后转移

至记录箱内。头部连接数据记录线和光纤,12 h光照和黑暗交替(19:00-7:00开灯,7:00-19:00无光照)。适应3 d后正式记录1~2 d的数据作为基线,初步判断小鼠睡眠节律是否正常;比较2组小鼠清醒时间、非快速眼动睡眠和快速眼动睡眠所占百分比。

1.2.2 躁狂症状对比研究 通过旷场实验检测小鼠的兴奋性和烦躁不安等自主行为,评价小鼠的躁狂行为^[5]。旷场实验的实验箱为81 cm×81 cm×28 cm大小,实验箱四周为白色,将底部划分为16格的正方形格子(20 cm×20 cm),场地中央置1彩色瓶子。将小鼠面朝墙放入任一拐角方格,计数小鼠5 min内小鼠穿越中央格的次数。

1.2.3 抑郁症状对比研究 根据强迫游泳实验和糖水偏好实验的方法来检测小鼠的抑郁样行为。强迫游泳实验中,显示出较长时间不动的动物被判断为抑郁样行为的标志-绝望。将每只小鼠单独放置在竖直透明有机玻璃圆筒中,内有(23±1)℃,20 cm深的自来水。将小鼠轻柔放置入水,让其自由游泳6 min,完全不动或仅有1只爪子保持平衡轻轻运动的小鼠被认为不动。比较2组小鼠不动时间。糖水偏好实验中,表现出糖水偏好度降低的动物被判断为抑郁样行为。使小鼠适应48 h 1%糖水,禁食禁水4 h后将2组小鼠置于同时有1%糖水和自来水水瓶的饲养笼中,根据水瓶上刻度来记录1 h内小鼠对糖水和自来水的摄入量。糖水偏爱

率/%=糖水摄入量/(糖水摄入量+自来水摄入量)×100%。

1.2.4 学习记忆对比研究 通过Morris水迷宫实验研究小鼠学习、记忆能力。水迷宫水温为(18~22)℃,池中平台位于水下0.5~1 cm,每天在固定时间训练小鼠寻找并爬上隐匿在水下的逃生平台。测试时,随机从4个不同象限入水,记录2组小鼠的总探索时间和找到平台所需时间,连续测试4 d。

1.3 统计学处理

采用SPSS 20.0软件处理数据。计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,单因素方差分析和t检验;相关性采用Pearson相关性分析;P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 睡眠-觉醒行为学实验对比研究

结果显示,模型组小鼠的清醒时间和快速眼动睡眠占比多于对照组(P<0.01),非快速眼动睡眠占比少于对照组(P<0.01),见表1。

表1 2组睡眠-觉醒行为学实验对比研究(%、 $\bar{x}\pm s$)

组别	只数	时间	清醒时间
对照组	10	07:00-19:00	41.35±2.54
		19:00-07:00	64.21±2.09
模型组	10	07:00-19:00	46.43±3.12 ^①
		19:00-07:00	68.32±5.32 ^①
组别		非快速眼动睡眠	快速眼动睡眠
对照组		46.65±4.23	6.67±1.08
		31.25±1.98	3.34±0.97
模型组		45.09±2.87 ^①	6.98±0.87 ^①
		26.78±3.09 ^①	3.91±0.77 ^①

注:与对照组比较,^①P<0.05

2.2 躁狂症状对比研究

从1 min~5 min,模型组小鼠穿越中央格的次数显著高于对照组(P<0.05),见表2。

表2 2组小鼠躁狂症状对比研究(次、 $\bar{x}\pm s$)

组别	只数	1 min	2 min	
对照组	10	16.12±2.46	25.76±4.19	
模型组	10	25.33±3.10 ^①	36.09±5.09 ^①	
组别		3 min	4 min	5 min
对照组		40.67±6.64	61.44±10.53	85.14±10.06
模型组		53.89±9.53 ^①	76.80±12.65 ^①	97.17±13.34 ^①

注:与对照组比较,^①P<0.05

2.3 抑郁症状对比研究

模型组小鼠在强迫游泳实验中的不动时间长于对照组(P<0.05),糖水偏爱率低于对照组(P<0.05),见表3。

2.4 学习记忆对比研究

模型组的总探索时间、第1天~第4天找到平台所需时间均高于对照组(P<0.05);2组第4天找到平台所需时间均低于同组第1天找到平台所需时间(P<0.05),见表4。

表3 2组小鼠抑郁症状对比研究($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	不动时间/s	糖水偏爱率/%
对照组	10	67.74±6.33	79.20±14.54
模型组	10	86.45±9.42 ^①	45.77±9.36 ^①

注:与对照组比较,^①P<0.05

2.5 睡眠-觉醒曲线与躁狂和抑郁症状和学习记忆的关系

睡眠-觉醒曲线中的清醒时间与躁狂症状呈正相关,与学习记忆呈负相关;非快速眼动睡眠与躁狂症状呈负相关;快速眼动睡眠与躁狂症状、抑郁症状呈负相关,与学习记忆呈正相关(P<0.05),见表5。

3 讨论

双相情感障碍是常见的慢性重症精神障碍,易出现躁狂和抑郁等反复发作的症状,在抑郁时情绪极其低落,且注意力难以集中、食欲不振和睡眠障碍等,从而引发其出现自杀的念头;当患者躁狂时则情欲异常高涨、行为增多和言语夸大等,严重时易出现幻觉和妄想等^[6-8]。生物节律的紊乱可能是双相情感障碍发作的原因之一^[9],生物钟或者激素的分泌紊乱引发精神障碍和昼夜节律发生改变,导致抑郁和躁狂^[10]。关于引发双相情感障碍的原因至今仍不明确,但临床上发现其与生物学、遗传学以及心理社会因素等有直接关系,神经生化和神经递质代谢异常等引发相应受体功能病变,尤其是下丘脑-垂体-甲状腺的功能异常,家族中有双相情感障碍患者的则易遗传给后代,不良的生活事件、环境的刺激和高度紧张等易促发发病^[11,12]。研究睡眠-觉醒曲线与双相情感障碍之间的关系有重要的临床意义。

本实验睡眠-觉醒行为学实验结果显示,在7:00-19:00以及19:00-7:00时间段,模型组小鼠的清醒时间和快速眼动睡眠占比多于对照组(P<0.01),非快速眼动睡眠占比少于对照组(P<0.01)。这表示双相情感障碍小鼠存在睡眠-觉醒行为障碍,主要表现为小鼠清醒时间和快速眼动睡眠时间,而非快速眼动睡眠时间短,说明其精神亢奋比较明显,难以进入睡眠状态。为证明双相情感障碍小鼠的兴奋性增强等自主行为,在睡眠-觉醒行为实验后进行了旷场实验,结果显示,从1 min~5 min,模型组小鼠穿越中央格的次数显著高于对照组(P<0.05)。模型组小鼠在强迫游泳实验中的不动时间长于对照组(P<0.05),糖水偏爱率低于对照组(P<0.05)。以上3个实验均说明双相情感障碍模型小鼠存在躁狂和抑郁症状。旷场实验是用来评价实验动物在新环境中某些行为,一般情况下,小鼠在旷场实验中主要是在外周活动,但在本研究中模型组的穿过中央格次数显著增加,可以看出新环境增加了双相情感障碍小鼠的自主行为^[13],说明该组小鼠的躁狂症状更加明显。在强迫游泳实验中,小鼠的不动时延长均说明小鼠存在抑郁行为^[14]。在糖水偏好实验中,小鼠表现出糖水偏爱率下降,说明小鼠出现抑郁样行为,这可能是因为小鼠快感缺乏,对糖水的需求减少,食欲下降。Morris水迷宫实验是研究学习和记忆功能的经典实验,本研究结果显示,模型组小鼠总探索时间以及第1天到第4天找到平台所需时间均长于对照组,说明小鼠的空间学习能力和记忆能力障碍。向

表4 2组小鼠学习记忆对比研究(s, $\bar{x}\pm s$)

组别	只数	总探索时间	找到平台所需时间			
			第1天	第2天	第3天	第4天
对照组	10	40.12±3.92	51.64±3.54	38.75±4.32	30.54±3.90	26.99±3.12 ^②
模型组	10	53.04±2.28 ^①	58.98±4.56 ^①	46.54±5.61 ^①	35.78±5.43 ^①	30.76±4.56 ^{①②}
t值		9.009	4.021	3.479	2.479	2.158
P值		<0.001	0.001	0.003	0.023	0.044

注:与对照组比较,^①P<0.05;与第1天比较,^②P<0.05

表5 睡眠-觉醒曲线与躁狂症状、抑郁症状和学习记忆的关系研究

指标		清醒	非快速	快速
		时间	眼动睡眠	眼动睡眠
躁狂症状	r值	0.533	-0.462	-0.507
	P值	0.006	0.009	0.001
抑郁症状	r值	0.219	0.125	-0.512
	P值	0.056	0.286	0.001
学习记忆	r值	-0.512	0.091	0.441
	P值	0.003	0.476	0.009

东等^[15]研究发现,与正常对照组相比,双相情感障碍患者存在明显的认知功能损害,主要表现在学习和记忆功能能力下降,分析原因可能与患者大脑特定区域发生损害有关。相关性分析研究结果显示:清醒时间与躁狂症状呈正相关、和工作记忆呈负相关,非快速眼动睡眠与躁狂症状呈负相关,快速眼动睡眠与躁狂症状和抑郁症状呈负相关、与工作记忆呈正相关,说明睡眠-觉醒曲线与躁狂和抑郁症状和工作记忆之间均存在相关性。

综上所述,双相情感障碍模型小鼠存在躁狂和抑郁症状,同时表现出了记忆障碍,双相情感障碍模型小鼠睡眠-觉醒曲线与躁狂和抑郁症状和工作记忆之间均存在相关性。本研究为深入研究双相情感障碍的发病机制提供了新的思路,也为该疾病的药物治疗提供了新的靶位点。

参考文献

[1] Leelahanj T, Kongsakon R, Choovanichvong S, et al. Time to relapse and remission of bipolar disorder: findings from a 1-year prospective study in Thailand[J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2013, 9: 1249-1256.
 [2] 黄悦琦, 洪武, 邱美慧, 等. 中国双相情感障碍不同躁狂发作亚型危险因素的现状调查[J]. *中国心理卫生杂志*, 2015, 29: 927-932.
 [3] 肖邦, 崔淑芳. 体外培养细胞生物节律研究进展[J]. *中国比较医学杂志*, 2014, 24: 64-69.
 [4] 周瑞. Cathepsin D 缺陷小鼠的行为学及其机制的研究[D]. 浙江大学, 2015.
 [5] 陈通, 龙志敏, 汪克建, 等. 丙戊酸钠对APP/PS1 转基因小鼠自主活动及脑形态结构的影响[J]. *第三军医大学学报*, 2012, 34: 870-873.
 [6] Susan L McElroy, Renu Kotwal, Rakesh Kaneria, et al. Antidepressants and suicidal behavior in bipolar disorder[J]. *Bipolar Disord*, 2006, 8: 596-617.
 [7] Colin A Depp, Brent T Mausbach, Alexandria L Harmell, et al. Meta - analysis of the association between cognitive abilities and everyday functioning in bipolar disorder[J]. *Bipolar Disord*, 2012, 14: 217-226.
 [8] 王红, 陈林, 吉振鹏, 等. 双相障碍患者焦虑症状的危险因素分析[J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2017, 26: 800-804.
 [9] 赵敏. 双相情感障碍与单相抑郁症患者之间的促炎细胞因子水平的比较分析[J]. *中国医学创新*, 2017, 14: 20-23.
 [10] Mubeen Taj, R Padmavati. Neuropsychological impairment in bipolar affective disorder[J]. *Indian J Psychiatry*, 2005, 47: 48-50.
 [11] 耿洪春. 双相情感障碍联合治疗进展研究与临床评价[J]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2016, 10: 18-18.
 [12] Álvarez Ruiz, Eva M, Gutiérrez-Rojas Luis. Comorbidity of bipolar disorder and eating disorders[J]. *Rev Psiquiatr Salud Ment*, 2014, 8: 232-241.
 [13] 赵日霞, 郭瑾, 唐纯志, 等. 针刺治疗对躁狂模型大鼠行为学及睡眠潜伏期的影响[J]. *疑难病杂志*, 2016, 15: 87-90.
 [14] 张辉, 王军锋, 邢博, 等. 不同实验条件对昆明和BALB/C 小鼠强迫游泳实验的影响[J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2011, 20: 306-308
 [15] 向东, 陈良梅, 蔺华利. 双相情感障碍认知功能损害特点的研究[J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2008, 17: 1007-1009.

(本文编辑:唐颖馨)

(上接第584页)

[34] Volbers B, Giede-Jeppe A, Gerner ST, et al. Peak perihemorrhagic edema correlates with functional outcome in intracerebral hemorrhage[J]. *Neurology*, 2018, 90: e1005-e1012.
 [35] Altmann-Schneider I, Trompet S, de Craen AJM, et al. Cerebral microbleeds are predictive of mortality in the elderly[J]. *Stroke*, 2011, 42: 638-644.
 [36] Marti-Fabregas J, Delgado-Mederos R, Granell E, et al. Microbleed burden and hematoma expansion in acute intracerebral hemorrhage[J]. *Eur Neurol*, 2013, 70: 175-178.
 [37] Evans A, Demchuk A, Symons SP, et al. The spot sign is more common in the absence of multiple prior microbleeds[J]. *Stroke*, 2010, 41: 2210-2217.
 [38] Boulouis G, van Etten ES, Charidimou A, et al. Association of Key Magnetic Resonance Imaging Markers of Cerebral Small Vessel Disease With Hematoma Volume and Expansion in Patients With Lobar and Deep Intracerebral Hemorrhage[J]. *JAMA Neurol*, 2016, 73: 1440-1447.
 [39] Shoamanesh A, Morotti A, Romero JM, et al. Cerebral Microbleeds and the Effect of Intensive Blood Pressure Reduction on Hematoma

Expansion and Functional Outcomes: A Secondary Analysis of the ATACH-2 Randomized Clinical Trial[J]. *JAMA Neurol*, 2018, 75: 850-859.
 [40] Greenberg SM, Nandigam RNK, Delgado P, et al. Microbleeds versus macrobleeds: evidence for distinct entities[J]. *Stroke*, 2009, 40: 2382-2386.
 [41] Sato S, Delcourt C, Heeley E, et al. Significance of Cerebral Small-Vessel Disease in Acute Intracerebral Hemorrhage[J]. *Stroke*, 2016, 47: 701-707.
 [42] Herweh C, Prager E, Sykora M, et al. Cerebral atrophy is an independent risk factor for unfavorable outcome after spontaneous supratentorial intracerebral hemorrhage[J]. *Stroke*, 2013, 44: 968-971.
 [43] Caprio FZ, Maas MB, Rosenberg NF, et al. Leukoaraiosis on magnetic resonance imaging correlates with worse outcomes after spontaneous intracerebral hemorrhage[J]. *Stroke*, 2013, 44: 642-646.
 [44] Sykora M, Herweh C, Steiner T. The Association Between Leukoaraiosis and Poor Outcome in Intracerebral Hemorrhage Is Not Mediated by Hematoma Growth[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2017, 26: 1328-1333.

(本文编辑:唐颖馨)