

·临床研究·

从肝论治音乐疗法治疗昼夜节律性睡眠障碍患者的临床观察

姚冉¹, 陈明鉴², 李清¹

作者单位
1. 武汉市优抚医院
综合科
武汉 430000
2. 武汉市精神卫生
中心精神科
武汉 430000
收稿日期
2021-08-29
通讯作者
姚冉
290234893@qq.
com

摘要 **目的:**探索从肝论治音乐疗法治疗昼夜节律性睡眠障碍患者的临床疗效及作用机制。**方法:**采用随机对照试验设计方案,共招募昼夜节律性睡眠障碍患者60例,并随机分为治疗组和对照组,每组30例。2组均予以睡眠健康卫生宣教,治疗组还予从肝论治音乐疗法,共干预4周。观察患者PSQI和ESS量表的变化情况,并检测患者外周血生物钟基因 *Per1* 和 *Bmal1* 的表达变化。**结果:**干预后,治疗组的PSQI评分、ESS评分均显著低于对照组(均 $P<0.01$),治疗组外周血 *Per1*、*Bmal1* 的表达水平显著上调,均明显高于对照组(均 $P<0.01$)。治疗组在观察期间未出现严重不良事件。**结论:**从肝论治音乐疗法临床有效且安全性较高,调控生物钟基因的表达水平可能是其发挥疗效的潜在机制。

关键词 音乐疗法;从肝论治;昼夜节律;睡眠障碍;临床研究

中图分类号 R741;R749.059 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20210807

本文引用格式:姚冉, 陈明鉴, 李清. 从肝论治音乐疗法治疗昼夜节律性睡眠障碍患者的临床观察[J]. 神经损伤与功能重建, 2022, 17(11): 672-674.

昼夜节律性睡眠障碍是由于睡眠-觉醒周期与人体的24 h生物节律或与人群的睡眠-觉醒时相不一致所致的一类睡眠疾病,其临床主要表现为失眠和(或)白天嗜睡,严重影响患者的生活质量^[1]。病因学上可归因于昼夜节律系统的改变和(或)内源性昼夜节律与外源性因素的不一致^[2]。目前,光照、褪黑素及时间疗法是临床应用最多的治疗手段,但仍缺乏高质量的临床证据,限制了其推广应用^[3-4]。

从肝论治音乐疗法是以中医理论为基础,以传统古典音乐为干预手段,达到防治疾病目的的一种音乐疗法^[5-7]。学者发现古典音乐作为一种简单、无创的非药物干预措施,具备促进睡眠质量、改善白天焦虑和疲劳的潜力^[8]。目前,国内采用传统古典音乐干预昼夜节律性睡眠障碍的临床研究鲜有报道,本研究一方面通过经典临床量表评价从肝论治音乐疗法对昼夜节律性睡眠障碍患者的有效性和安全性,另一方面从昼夜节律“转录-翻译”负反馈环路着手,通过相关节律基因表达水平的变化,深入探讨其发挥疗效的潜在机制,以期为该治疗方案的临床推广应用提供基础和依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

2018年11月至2021年6月于武汉市优抚医院招募昼夜节律性睡眠障碍患者60例,纳入标准:年龄18~65周岁;符合诊断标准:参照《睡眠障碍国际分类(第三版)》^[9],符合以下三点:呈现慢性的或反复出现的睡眠-觉醒节律紊乱,至少持续3月;出现失眠或嗜睡症状,或两者兼而有之;睡眠-觉醒节律紊乱对患者精神、躯体、社交、工作、学习等重要功能领域造成临床显著的痛苦或损害。排除标准:缺乏适宜的睡眠机会或睡眠环境;伴严重的未治愈的

呼吸、循环、消化、血液、内分泌及神经精神系统疾病;药物滥用;怀孕及哺乳期;听力障碍或患听力系统疾病。中止和脱落标准:发生严重不良事件;使用课题规定禁用药物;未完成完整观察周期。本研究已通过武汉市优抚医院伦理委员会的审批,且受试者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 试验设计及分组 试验遵循随机对照原则设计,利用SPSS生成随机数字序列,由第三方将其封于信封中并编号。随后,研究人员根据患者招募次序打开信封,决定其纳入组别。研究全部完成后,两名研究者分别录入试验数据以交叉核对,并交予统计人员进行一级揭盲,统计分析完成后再进行二次揭盲。

1.2.2 治疗方案 2组均给予常规睡眠健康卫生宣教,治疗组则还给予从肝论治音乐疗法干预,具体参照郝万山等编制的《中国传统五行音乐》^[10],遵五行-五脏理论,辨脏腑病位所在,选取适宜的古典音乐进行干预,30 min/次,1次/d,2组均干预4周。

1.3 观察指标

1.3.1 主要结局 干预前后分别采用匹兹堡睡眠质量指数(Pittsburgh Sleep Quality Index, PSQI)和爱泼沃斯嗜睡量表(Epworth Sleepiness Scale, ESS)评估1次。

1.3.2 次要结局 采用RT-PCR法检测 *Per1*、*Bmal1* mRNA的表达水平。干预前后分别留取患者的外周血样本,使用QIAamp[®] RNA Blood Mini Kit从人全血中提取总RNA,并通过分光光度法评估RNA样品纯度。通过NCBI Primer-blast网站设计引物,引物序列见表1。使用Roche公司实时荧光定量PCR仪器,设置PCR仪反应程序为65 ℃、5 min, 4 ℃、∞;加入5×Prime Script Buffer 2等,充分混合

均匀,设置PCR仪反应程序为42℃、60 min,70℃、5 min,4℃、∞。配置PCR反应液,加入PCR Forward Primer、PCR Reverse Primer、DNA模板、ddH₂O等。充分混合均匀,离心,采用GAPDH为内参,设置Real Time-PCR仪反应条件:96℃、30 min,95℃、5 min,60℃、30 min,95℃、10 min,65℃、5 min,95℃、6 min,共进行40个循环,绘制溶解曲线,运用2^{-ΔΔCt}法计算mRNA的相对表达量。

表1 引物序列

基因	引物	序列(5'~3')
GAPDH	正向	ACAGCAACAGGGTGGTGGAC
	反向	TTTGAGGGTGCAGCGAACTT
Per1	正向	GTGGGTGTCTTCTATGGCTCT
	反向	ACATATGGGGTTAGCGCGAAT
Bmal1	正向	CACCAACCCATACACAGAAGC
	反向	GTAGTCGAACAACTCTGGCC

1.4 安全性观察

干预前后分别检测2组患者的血常规、尿常规、粪便常规、肝肾功能和心电图,并对不良事件进行详细记录。

1.5 统计学处理

主要应用SPSS 23.0软件(Chicago, IL, USA)进行统计分析。服从正态分布的计量资料以(均值±标准差)表示,不服从的则以中位数(四分位间距)表示。符合正态分布且方差齐性的计量资料比较采用t检验。计数资料采用率或构成比表示,组间计数资料的比较采用Pearsonχ²检验。双侧检验,P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

观察4周后,治疗组脱落1例,对照组脱落5例,共计54例完成完整观察周期,总脱落率为10%。对照组25例,男8例,女17例;年龄(43.28±11.69)岁;身高(160.44±7.05)cm,体质量(56.11±8.91)kg。治疗组29例,男10例,女19例;年龄(43.31±9.78)岁;身高(164.38±7.41)cm,体质量(60.70±8.68)kg。2组一般资料比较差异无统计学意义(均P>0.05)。

2.2 2组PSQI与ESS评分比较

干预前,2组的PSQI和ESS评分差异无统计学意义(P>0.05);干预后,2组PSQI和ESS评分均较干预前显著降低(P<0.01),且治疗组的量表评分显著低于对照组(P<0.01),见图1。

2.3 2组Per1和Bmal1的表达水平比较

干预前,2组的Per1和Bmal1 mRNA的表达水平差异无统计学意义(P>0.05);干预后,治疗组的Per1和Bmal1 mRNA的表达水平显著上调(P<0.01),而对照组仅Bmal1 mRNA的表达水平上调(P<0.05),Per1 mRNA的表达水平未见改变(P>0.05);此外,治疗组干预后的Per1、Bmal1 mRNA表达水平均显著高于对照组(P<0.01),见图2。

2.4 相关性分析

在基线时,患者PSQI量表的评分与其Per1和Bmal1 mRNA

表达水平显著相关(P<0.01);ESS量表评分与Per1和Bmal1 mRNA表达水平也显著相关(P<0.01),见图3。

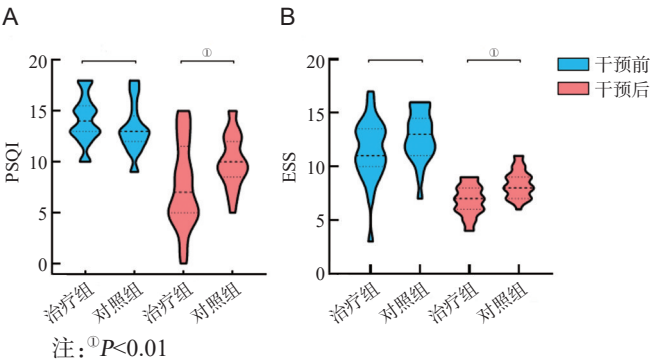


图1 2组干预前后PSQI和ESS评分比较

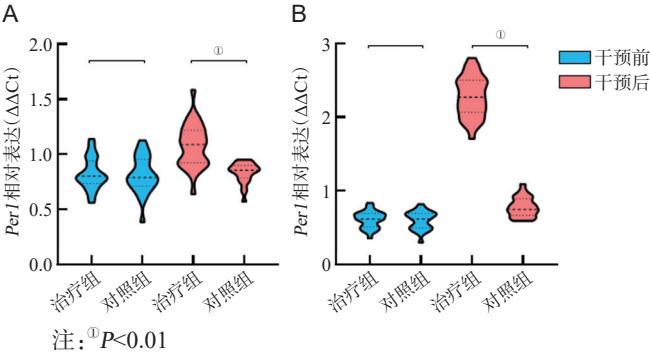


图2 2组干预前后Per1和Bmal1 mRNA相对表达情况

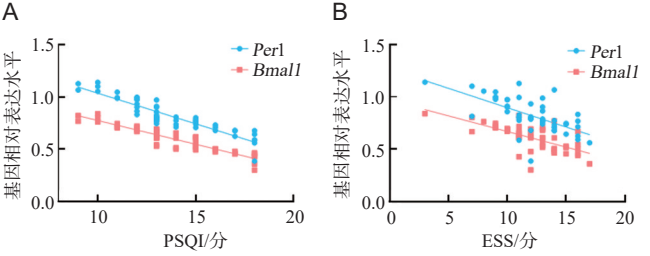


图3 PSQI(A)和ESS(B)量表与患者Per1和Bmal1 mRNA表达水平的相关性分析

2.5 安全性观察

治疗组有1例因耳鸣退出研究;对照组有2例因眩晕退出研究,3例主动要求退出研究。停止干预后,上述不良反应消失。

3 讨论

人体的昼夜节律基因以24 h左右为周期对机体体温、摄食、情绪、睡眠-觉醒等生理、行为发挥调控作用^[11]。其中,睡眠-觉醒周期是昼夜节律最直观的体现之一。由昼夜节律紊乱引起的睡眠障碍被称为昼夜节律性睡眠-觉醒障碍,临床以失眠和日间嗜睡为主要表现^[12]。人体昼夜节律的中央起搏器位于下丘脑视交叉上核,由视网膜的感光细胞检测到可见光,并将信息直接投射到负责全身昼夜节律的视交叉上核^[13]。而昼夜节律的周期转换由两条关键的转录-翻译负反馈回路调控。其一,Clock和Bmal1基因表达的CLOCK、BMAL1蛋白结合成异源二聚体,并激活生物钟基因(如Per1、Per2、Per3、Cry1和Cry2)启动子的E-box区域,上调后者的转录表达水平^[14],使PER和CRY蛋白能够在细胞质中逐渐累积,并与磷酸化受酪蛋白激酶I形成复合

物,转运至细胞核中,抑制 CLOCK:BMAL1 二聚体的活性来抑制自身的表达,完成负反馈调控环^[15]。其二,钟控基因 *Rev-erb* 和 *Ror* 表达的 2 种视黄酸相关孤儿核受体 REV-ERB α 与 ROR α 可竞争性结合 Bmal1 启动子上的视黄酸相关孤儿受体反应元件,抑制 Bmal1 的转录和表达以实现负反馈调节^[16]。

本研究发现,从肝论治音乐疗法可显著降低昼夜节律性睡眠障碍患者的 PSQI 和 ESS 量表评分,可见该治疗可有效改善患者的夜间睡眠质量,并缓解其日间嗜睡症状。与之相似,张瑞芳等^[17]发现,五行音乐疗法联合中药能够显著降低围绝经期失眠患者的 PSQI 评分,明显改善其生活质量。而从赵璐^[18]的研究结果可见,采用择时策略的五行音乐疗法对患者失眠症状的改善效果要明显优于无择时策略的治疗方案。此外,研究表明人外周血生物钟基因 *Per1* 和 *Bmal1* 的表达水平与机体昼夜节律周期直接相关^[19,20]。因而,调节生物钟基因的表达可能是纠偏机体昼夜节律紊乱的途径之一。本研究发现,本治疗方法可明显上调患者外周血中 *Per1* 和 *Bmal1* 基因的表达水平,这可能是该法发挥临床疗效的潜在机制。

综上所述,本研究表明从肝论治音乐疗法可能是通过调控 *Per1* 和 *Bmal1* 基因的表达来改善昼夜节律性睡眠障碍患者的失眠和日间嗜睡症状。音乐治疗不良反应轻微,与单纯药物治疗相比不增加额外的不良反应,不良反应小,可进一步提高患者的治疗依从性,提高疗效^[21]。

参考文献

[1] 韩芳. 昼夜节律性睡眠障碍[J]. 生命科学, 2015, 27: 1448-1454.
[2] AAOS Medicine. International Classification of Sleep Disorders II: Diagnostic and Coding Manual[M]. 2nd ed. Westchester, IL, 2005.
[3] Auger RR, Burgess HJ, Emens JS, et al. Clinical Practice Guideline for the Treatment of Intrinsic Circadian Rhythm Sleep-Wake Disorders: Advanced Sleep-Wake Phase Disorder (ASWPD), Delayed Sleep-Wake Phase Disorder (DSWPD), Non-24-Hour Sleep-Wake Rhythm Disorder (N24SWD), and Irregular Sleep-Wake Rhythm Disorder (ISWRD). An Update for 2015: An American Academy of Sleep Medicine Clinical Practice Guideline[J]. J Clin Sleep Med, 2015, 11: 1199-1236.

[4] 张俊, 王巍, 黄礼传, 等. 光照治疗对老年人昼夜节律性睡眠障碍的影响研究[J]. 中外医学研究, 2021, 19: 56-59.
[5] 李江波, 耿少辉, 包宇, 等. 我国传统音乐疗法的追本溯源[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34: 2644-2647.
[6] 王宇婷, 吴蓓蓓, 蔡迎, 等. 基于子午流注探讨五音疗疾机制[J]. 中华中医药杂志, 2020, 35: 4884-4887.
[7] 李非洲. 五脏皆令人不寐[J]. 世界睡眠医学杂志, 2019, 6: 37-38.
[8] Hausenblas H, Hooper S, Hooper D, et al. Efficacy of Wholetones® 2Sleep and classical music on sleep and health behaviors of adults with insomnia symptoms: A single blind, randomized, controlled, crossover pilot trial[J]. Sleep science (São Paulo, SP), 2019, 12: 302-306.
[9] IL D. International classification of sleep disorders[M]. 3rd ed. Westchester: American Academy of Sleep Medicine, 2014.
[10] 郝万山, 石峰, 中央音乐学院民团演奏. 中国传统五行音乐(正调式)[Z]. 北京: 中华医学电子音像出版社, 1995.
[11] Ahmad M, Md Din NSB, Tharumalay RD, et al. The Effects of Circadian Rhythm Disruption on Mental Health and Physiological Responses among Shift Workers and General Population[J]. Int J Environ Res Public Health, 2020, 17: 7156.
[12] Akashi M, Sogawa R, Matsumura R, et al. A detection method for latent circadian rhythm sleep-wake disorder[J]. EBioMedicine, 2020, 62: 103080.
[13] 萧文泽, 张佳敏. 褪黑素抑制炎症小体 NLRP3 的研究进展[J]. 神经损伤与功能重建, 2020, 15: 33-35.
[14] Gekakis N, Staknis D, Nguyen HB, et al. Role of the CLOCK protein in the mammalian circadian mechanism[J]. Science, 1998, 280: 1564-1569.
[15] Mohawk JA, Green CB, Takahashi JS. Central and peripheral circadian clocks in mammals[J]. Annu Rev Neurosci, 2012, 35: 445-462.
[16] Crumley C, Burris TP. Direct regulation of CLOCK expression by REV-ERB[J]. PLoS One, 2011, 6: e17290.
[17] 张瑞芳, 韩迎娣, 王伟, 等. 归脾汤加减联合五行音乐疗法治疗围绝经期心脾两虚型失眠临床研究[J]. 新中医, 2021, 53: 39-42.
[18] 赵璐. 择时耳穴贴压联合五行音乐对肝郁化火型失眠患者的临床观察[D]. 山西中医药大学, 2020.
[19] Moller-Levet CS, Archer SN, Bucca G, et al. Effects of insufficient sleep on circadian rhythmicity and expression amplitude of the human blood transcriptome[J]. Proc Natl Acad Sci, 2013, 110: E1132-E1141.
[20] Delgado-Lara DL, Gonzalez-Enriquez GV, Torres-Mendoza BM, et al. Effect of melatonin administration on the PER1 and BMAL1 clock genes in patients with Parkinson's disease[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 129: 110485.
[21] 王朔. 音乐治疗联合艾司西酞普兰治疗首发抑郁障碍临床疗效评价[J]. 神经损伤与功能重建, 2021, 16: 476-477.

(本文编辑:王晶)

(上接第 667 页)

[3] 尚振英, 牟英峰, 尹一鸣, 等. 中性粒细胞/淋巴细胞比值在自发性脑出血早期血肿扩大中的预测价值[J]. 神经损伤与功能重建, 2019, 14: 16-19.
[4] Li C, Bu X, Liu Y. Effect of folic acid combined with pravastatin on arteriosclerosis in elderly hypertensive patients with lacunar infarction[J]. Medicine, 2021, 100: e26540.
[5] 李楠, 杨光辉, 石斌. 美国国立卫生研究院卒中量表评分与颅内自发性脑出血影像不匹配患者神经内镜锁孔手术治疗的疗效评估[J]. 中国药物与临床, 2019, 19: 1859-1861.
[6] 韩林梅, 杜涛明, 李红. CT 双期增强扫描在自发性脑出血患者点征检出中的优势及临床价值[J]. 心脑血管病防治, 2019, 19: 235-236, 239.
[7] Salsi G, Bellussi F, Cataneo I, et al. The role of fetal cerebral Doppler in the diagnosis of fetomaternal hemorrhage in women with decreased perception of fetal movements[J]. Ultrasound in Obstetrics and Gynecology, 2019, 54: 182-182.
[8] 代媛, 代凤霞, 李新胜. CT 与 MRI 检查在脑梗死并脑出血诊断中的价值研究[J]. 贵州医药, 2019, 43: 1618-1619.

[9] 王霁雯, 王浩, 李秀丽, 等. 基于深度学习的自发性脑出血 CT 影像分割算法精准计算病灶体积的应用探讨[J]. 中华放射学杂志, 2019, 53: 941-945.
[10] 郭华峰, 王晓男, 杨璐. 多层螺旋 CT 联合 MRI 检查在脑梗死合并脑出血诊断中的应用[J]. 实用临床医药杂志, 2020, 24: 13-15, 19.
[11] Lin J, Li X, Wu G, et al. White Matter High Signals Interfere with Noncontrast Computed Tomography in the Early Identification of Cerebral Infarction[J]. Cerebrovasc Dis, 2020, 49: 135-143.
[12] 韩林梅, 杜涛明, 李红. CT 双期增强扫描在自发性脑出血患者点征检出中的优势及临床价值[J]. 心脑血管病防治, 2019, 19: 40-41, 44.
[13] 田丽. 1.5T 磁共振 DWI 与 SWI 序列检查在脑梗死以及急性脑出血诊断中的临床价值研究[J]. 实用心脑血管病杂志, 2019, 27: 68-70.
[14] 赵月, 毕国荣. 成年人卒中后华勒变性的临床和影像学特征: 4 例病例系列研究[J]. 国际脑血管病杂志, 2020, 28: 360-364.
[15] 黎普刚, 郑双双, 吕雪霞, 等. 脑微出血部位和负荷与脑梗死抗血小板治疗的相关分析[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2020, 22: 119-122.

(本文编辑:王晶)