



## 睡眠剥夺对海马区单胺类神经递质、氨基酸代谢及小鼠行为的影响\*

梁 心<sup>1,2</sup>, 侯紫薇<sup>3</sup>, 陈 蕾<sup>3</sup>, 王宇涵<sup>3</sup>, 华可秀<sup>3</sup>, 孙一鸣<sup>1,3△</sup>

1. 蚌埠医学院第一附属医院 药剂科(蚌埠 233004); 2. 蚌埠医学院药学院 药剂教研室(蚌埠 233004);

3. 蚌埠医学院药学院 药理教研室(蚌埠 233004)

**【摘要】** 目的 研究短期睡眠剥夺对小鼠海马脑区代谢的影响。方法 采用改良多平台水环境法建立睡眠剥夺模型。小鼠随机分为3组, 每组10只, 分别为正常对照组、睡眠剥夺24 h组和睡眠剥夺48 h组。采用旷场实验评价小鼠焦虑样行为, 采用糖水偏好实验、强迫游泳和悬尾实验评价小鼠的抑郁样行为; 应用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)对小鼠海马脑区5-羟色胺(5-HT)、去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)、 $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)、二羟苯乙酸(5-DOPAC)、高香草酸(HVA)6种单胺类神经递质及谷氨酸(Glu)、天冬氨酸(Asp)、丝氨酸(Ser)、牛磺酸(Tau)4种氨基酸的含量进行测定; 采用免疫荧光染色技术检测每组小鼠海马脑区胶质细胞表达量。主要指标为单胺类神经递质与氨基酸含量的测定。结果 行为学结果表明与对照组相比, 睡眠剥夺24 h组糖水偏好率上升, 强迫游泳不动时间、悬尾不动时间显著缩短, 旷场总运动距离增加; 睡眠剥夺48 h组糖水偏好率下降, 强迫游泳及悬尾不动时间延长, 旷场总运动距离降低。单胺类递质HPLC检测结果表明, 与对照组相比, 睡眠剥夺24 h组小鼠海马区, DA含量升高( $P<0.001$ )、NE含量升高( $P<0.01$ ), GABA含量降低( $P<0.05$ ), 5-HT、5-DOPAC和HVA含量较对照组差异无统计学意义; 睡眠剥夺48 h小鼠海马区5-HT、NE含量降低( $P$ 均 $<0.05$ ), DA含量降低( $P<0.01$ ), GABA含量升高( $P<0.01$ ), 5-DOPAC和HVA差异无统计学意义。氨基酸类递质HPLC检测结果显示, 较对照组, 睡眠剥夺24 h组Tau及Glu水平平均升高( $P$ 均 $<0.05$ ), Asp及Ser差异无统计学意义。睡眠剥夺48 h组海马脑区Glu及Tau含量较睡眠剥夺24 h组下降, 差异有统计学意义( $P$ 均 $<0.05$ )。免疫荧光结果显示, 睡眠剥夺24 h组GFAP阳性数较对照组差异无统计学意义, 睡眠剥夺48 h组, GFAP阳性数较对照组降低( $P<0.05$ )。结论 睡眠剥夺24 h可能通过激活小鼠海马脑区胶质细胞, 上调5-HT、DA、NE含量, 同时Glu、Tau水平升高, 引起小鼠行为学焦虑样的改变; 睡眠剥夺48 h可能通过抑制小鼠海马脑区胶质细胞激活, 反向调节海马脑区上述单胺类神经递质、氨基酸, 引起小鼠行为学抑郁样的改变。

**【关键词】** 睡眠剥夺 胶质细胞活化 神经递质 氨基酸

**Effect of Sleep Deprivation on the Metabolism of Hippocampal Amino Acids and Monoamine Neurotransmitters in Mice and Their Behaviors** LIANG Xin<sup>1,2</sup>, HOU Ziwei<sup>3</sup>, CHEN Lei<sup>3</sup>, WANG Yuhan<sup>3</sup>, HUA Kexiu<sup>3</sup>, SUN Yiming<sup>1,3△</sup>.

1. Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233004, China; 2. Department of Pharmaceutics, Bengbu Medical College, Bengbu 233004, China; 3. Department of Pharmacology, Bengbu Medical College, Bengbu 233004, China

△ Corresponding author, E-mail: 15951977608@163.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the effect of sleep deprivation on the metabolism of the hippocampal region in mice. **Methods** The mice were randomly assigned to three groups, a control group, a 24-h sleep deprivation (SD) group, and a 48-h SD group. Each group had 10 mice. The sleep deprivation model was induced by the modified multiple platform method. The mice's anxiety-like behaviors were assessed with the open field test (OFT) and their depression-like behaviors were assessed with the sucrose preference test (SPT), the forced swimming test (FST), and tail suspension test (TST). High performance liquid chromatography (HPLC) was performed to determine the levels of 6 monoamine neurotransmitters, including 5-hydroxytryptamine (5-HT), norepinephrine (NE), dopamine (DA), gamma-aminobutyric acid (GABA), 5-dihydroxyphenylacetic acid (5-DOPAC), and homovanillic acid (HVA), and 4 amino acids, including glutamic acid (Glu), aspartic acid (Asp), serine (Ser), and taurine (Tau), in the hippocampal region. Immunofluorescence staining was performed to examine the expression of glial cells in the hippocampal region of the mice. The main indicators measured were the levels of monoamine neurotransmitters and amino acids.

\* 国家自然科学基金青年基金(No. 82104152)、安徽省教育厅重点项目(No. KJ2021A0778)、蚌埠医学院大学生创新创业训练计划项目(No. bydc2022081)和蚌埠医学院自然科学重点项目(No. 2020byzd090)资助

△ 通信作者, E-mail: 15951977608@163.com

出版日期: 2023-11-20

**Results** According to the results of the behavioral analysis, in comparison with the findings for the control group, the 24-h SD mice exhibited increased consumption of sucrose in SFT, significantly decreased total immobility time in FST and TST, and increased total distance covered in OFT, while the 48-h SD mice showed decreased consumption of sucrose in SFT, prolonged total immobility time in FST and TST, and decreased total distance covered in OFT. The results of the HPLC analysis of the monoamine neurotransmitter showed that 24-h SD mice had in their hippocampal region increased levels of DA ( $P<0.001$ ) and NE ( $P<0.01$ ) and decreased levels of GABA ( $P<0.05$ ) in comparison with those of the control mice, while their 5-HT, 5-DOPAC, and HVA levels were not significantly different from those of the control mice. In comparison with those of the control mice, the 48-h SD mice had, in their hippocampal region, decreased levels of 5-HT and NE (all  $P<0.05$ ), decreased DA ( $P<0.01$ ), and increased level of GABA ( $P<0.01$ ), while the levels of 5-DOPAC and HAV were not significantly different. The 48-h SD group showed a significant decrease in the levels of Tau and Glu in comparison with those of the 24-h SD group (all  $P<0.05$ ). According to the results of immunofluorescence assay, there was no significant difference between the control group and the 24-h SD group in the cell count of glial fibrillary acidic protein (GFAP)-positive cells, while a decline in GFAP-positive cells in comparison with that of the control group was observed in the 48-h SD group. **Conclusion** SD of 24 hours may induce anxiety-like behavioral changes in mice by activating their hippocampal glial cells, upregulating the levels of 5-HT, DA, and NE, and increasing the levels of Glu and Tau in the hippocampal region. SD of 48 hours may induce depression-like behavioral changes in mice by inhibiting the activation of glial cells in the hippocampal region and regulating in the opposite direction the levels of the above-mentioned monoamine neurotransmitters and amino acids in the hippocampal region.

**【Key words】** Sleep deprivation    Glial cell activation    Neurotransmitters    Amino acids

睡眠剥夺指因外部环境或个人自身原因导致睡眠全部或部分缺失,睡眠总时长低于人体基本生理需求<sup>[1]</sup>。现代人群因为生活习惯或睡眠紊乱而被剥夺睡眠,比如倒班工作、压力大、睡前使用电子设备或神经紊乱等。睡眠剥夺对心脑血管系统、神经系统、内分泌系统、免疫系统甚至泌尿系统均存在不利影响<sup>[2-6]</sup>,且睡眠剥夺能够诱导不同的生物学效应,例如促炎性细胞因子释放增加、神经自主控制改变、葡萄糖和脂质代谢改变及加速动脉粥样硬化等<sup>[7]</sup>。睡眠剥夺可引起消极情绪,使人产生焦虑、抑郁及其他异常的情绪,也被证实会诱发学习障碍与认知障碍。睡眠剥夺可进一步引发睡眠障碍,睡眠不足的问题在当今社会存在普遍性,是不容忽视的公共卫生问题<sup>[8]</sup>。

海马与人的精神活动关系十分密切。海马在焦虑行为的中枢调节中起重要作用,是抑郁障碍多重发病因素的共同交汇点。在压力或其他病理条件的影响下,海马是大脑区域中最易受到影响的区域。已有研究表明,睡眠剥夺对海马区的影响具有确定性,睡眠剥夺会影响海马体cAMP和mTOR信号转导,导致海马中树突棘减少<sup>[9]</sup>。同时睡眠剥夺的小鼠其海马中大多数蛋白磷酸化位点及磷酸肽的表达呈上调趋势<sup>[10]</sup>。但是这些改变是以独立的方式受到睡眠剥夺的影响,还是与别的因素相关联?为什么海马体如此容易受到睡眠剥夺的影响?是否与海马区氨基酸代谢及单胺类神经递质代谢相关?为了回答上述疑问,本研究拟对小鼠进行短期完全睡眠剥夺,分析24 h和48 h急性睡眠剥夺对海马区单胺类神经递质、氨基

酸代谢、小鼠行为及星形胶质细胞的影响,以及不同长时间的睡眠剥夺对海马脑区的影响是否具有差异。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

SPF级C57BL/6小鼠,体质量18~20 g,雄性,12周龄。购自杭州子源实验动物科技有限公司,动物许可证号:SCXK(浙)2019-0004。本动物实验通过伦理批准,伦理号为2021年105号。实验过程在保证动物够用的前提下,使用较少的动物。鼠抗GFAP(1:1 000, Millipore, MAB360, USA),山羊抗小鼠-HRP(1:2 000, KPL),红色荧光小鼠二抗(Alexa Fluor<sup>®</sup>555, 1:1 000, Invitrogen)。高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)-ECD检测系统(Thermo Fisher Scientific, USA): Thermo UniMate 3000 Pump 流速:0.2 mL/min; UniMate 3000 Autosampler, 4 °C, 进样10 μL; ESA Coulochem III Electrochemical Detector, 5041检测池电压350 mV, Guard Cell电压360 mV, Rang100 nA, Filter 5S; DIONEX Acclaim R Rapid Separation Liquid Chromatography(RSLC) 2.1×100 mm C<sub>18</sub> 2.2 μm; 柱温38 °C; Chromleon 6.9色谱工作站采集与分析数据<sup>[11]</sup>。HPLC流动相:90 mmol/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 50 mmol/L柠檬酸, 1.7 mmol/L 1-辛烯基琥珀酸酐, 50 mmol/L乙二胺四乙酸, 体积分数5%乙腈。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 睡眠剥夺动物模型的建立和分组

小鼠进入实验室适应环境48 h后进行实验。小鼠完

成适应性饲养后,适应糖水24 h,分别给予1瓶纯水和1瓶1%蔗糖水,第12小时交换蔗糖水瓶与纯水瓶位置,避免因位置偏好导致的糖消耗差异。小鼠随机分为3组,分别为正常对照组、睡眠剥夺24 h组和睡眠剥夺48 h组,每组10只。采用改良多平台水环境法对小鼠进行睡眠剥夺,睡眠剥夺装置是60 cm×50 cm×50 cm的水槽,内置10根直径为6 cm、高度为5 cm的木质圆柱,圆柱间距相同。对水槽内进行注水,水平面低于圆柱顶端1 cm,水温(24±1)℃。小鼠可以在圆柱平台之间自由来回活动,但是无法横跨趴在两根圆柱之间休息。由于圆柱直径较小,当小鼠进入快速眼动睡眠时,因肌张力下降,小鼠会触水或落入水中被唤醒,以此方法使小鼠保持清醒状态<sup>[12]</sup>。睡眠剥夺过程中小鼠进行正常喂食和饮水。睡眠剥夺24 h组小鼠从第1日上午08:30至第2日上午08:30进行完全睡眠剥夺,睡眠剥夺48 h组从第1日上午8:30至第3日上午8:30进行完全睡眠剥夺。为避免水质清洁程度对小鼠的影响,实验过程中每日更换1次装置内的水。对照组小鼠置于没有注水的相同装置,正常喂食和饮水。睡眠剥夺造模结束后,用吸水纸巾轻轻擦去小鼠身上的水迹,进行后续实验。

## 1.2.2 行为学实验

### 1.2.2.1 糖水偏好测试

睡眠剥夺造模结束后,实验小鼠禁食、禁水12 h后开始测试,12 h后分别对1%蔗糖水量和纯水量进行称重。采用蔗糖偏好值作为评价指标。蔗糖偏好值为蔗糖水消耗量(mL)与水的总消耗量(mL)的比值,其中水的总消耗量为蔗糖水(mL)与纯水消耗量(mL)之和。

### 1.2.2.2 旷场实验

旷场实验应用一个正方形箱体(50 cm×50 cm×50 cm)作为实验反应箱。箱体上方安置摄像头记录小鼠的活动轨迹。睡眠剥夺造模结束1 h后进行测试。开始时,将每只小鼠放置在角落中,让小鼠在箱体内自由探索6 min,记录后4 min的小鼠运动轨迹。每次实验后,清理小鼠的排泄物,用乙醇擦拭箱体内壁及缝隙,去除遗留气味。记录小鼠的运动轨迹及运动总距离作为分析指标。

### 1.2.2.3 强迫游泳实验

睡眠剥夺造模结束3 h后进行强迫游泳实验。将小鼠放置于圆形透明的玻璃缸(高20 cm,直径20 cm)中,水深15 cm,注入自来水,水温(24±1)℃。对小鼠进行强迫游泳应激6 min,记录其后4 min内游泳应激时不动时间。小鼠浮在水面不再挣扎或只进行肢体的微小活动,头部浮起的时间均记录为不动时间。每只小鼠进行强迫游泳

实验前,更换一次清洁的水。

### 1.2.2.4 悬尾法

睡眠剥夺造模结束5 h后进行悬尾实验。在小鼠尾巴末端2 cm处固定上胶带,将小鼠置于倒立位,通过尾部胶带将小鼠挂在距台面20 cm的挂钩上,让小鼠因正常活动受限制而产生挣扎。每只小鼠观察时间总计为6 min,记录时间为后4 min内小鼠静止不动时间。

## 1.2.3 小鼠海马区神经递质及氨基酸含量测定

行为学实验结束后,每组取7只小鼠,颈椎脱臼处死后迅速断头,剥离大脑置于冰台上,取出海马组织,立即称重,按10 μL/mg组织加入匀浆液(0.1 mol/L高氯酸,0.1 mmol/L EDTA二钠, DHBA 3.5×10<sup>-8</sup> mol/L),超声匀浆。4℃,20000 r/min离心30 min,离心两遍,取上清定量分装后置于-70℃冰箱中冻存待测。

每组取3只小鼠,对小鼠腹腔注射戊巴比妥钠(45 mg/kg)进行麻醉,确认麻醉效果后,自左心室灌注生理盐水至肺部发白,再灌注体积分数4%多聚甲醛。快速取出脑组织,置于体积分数4%多聚甲醛固定、过夜。20%蔗糖溶液脱水3 d,后用30%蔗糖溶液继续脱水4 d。以OCT胶包埋,Leica冰冻切片机切片,每片25 μm,置于甘油和PBS等比例混匀的溶液中,保存于-20℃。使用时提前0.5 h室温复温,倒入PBS挑出典型的海马区脑片,用PBS漂洗3次。脑片封闭选取0.3% Triton X-100的0.01 mmol/L PBS配制的5%BSA进行,1 h后倒去封闭液,不用清洗脑片,直接加入小鼠源性anti-GFAP一抗(1:1000, Millipore, #MAB360),由抗体稀释液配成,4℃过夜。将一抗吸出后, PBS进行漂洗3次。加入0.01 mmol/L PBS配制的红色荧光小鼠二抗(Alexa Flour®555, 1:1000, Invitrogen),在室温孵育1 h。PBS漂洗3次,采用含防淬灭剂的DAPI进行染核(Life, USA, #P36930),封片。体视学显微镜(Axiovert LSM510, Carl Zeiss Co.)下观察拍片计数,随后导入图像并处理。阳性细胞数计数采用体视学立体计数法,根据小鼠脑图谱划定海马区的目标区域,计数框为100 μm×100 μm。计数在20倍物镜下进行,焦平面以外的阳性细胞不列入计数,通过Stereo Investigator 7.0软件计GFAP阳性细胞的总数。

## 1.2.4 统计学方法

采用GraphPad Prism 7.0软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,所有计量资料符合方差分析条件(独立、正态、方差齐性),组间比较采用One-Way ANOVA检验,后进行post hoc检验,多个样本均数的两两比较采用Turkey法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。主要指标为单

胺类神经递质与氨基酸含量的测定。

## 2 结果

### 2.1 睡眠剥夺对小鼠行为学的影响

实验结果显示,与正常对照组相比,睡眠剥夺24 h组小鼠,糖水偏好率增加( $P<0.01$ )、强迫游泳及悬尾不动时间缩短( $P<0.05$ ),旷场总路线增加( $P<0.05$ );而睡眠剥夺

48 h组小鼠糖水偏好率降低( $P<0.01$ )、强迫游泳及悬尾不动时间增加( $P<0.05$ ),旷场总路线降低( $P<0.05$ )。睡眠剥夺24 h组与睡眠剥夺48 h组相比,行为学各指标差异有统计学意义( $P<0.001$ )。见图1。

### 2.2 睡眠剥夺对小鼠海马脑区单胺类神经递质的影响

见图2。小鼠海马单胺类HPLC检测结果显示,与正常对照组相比,睡眠剥夺24 h组5-HT含量呈上升趋势,但

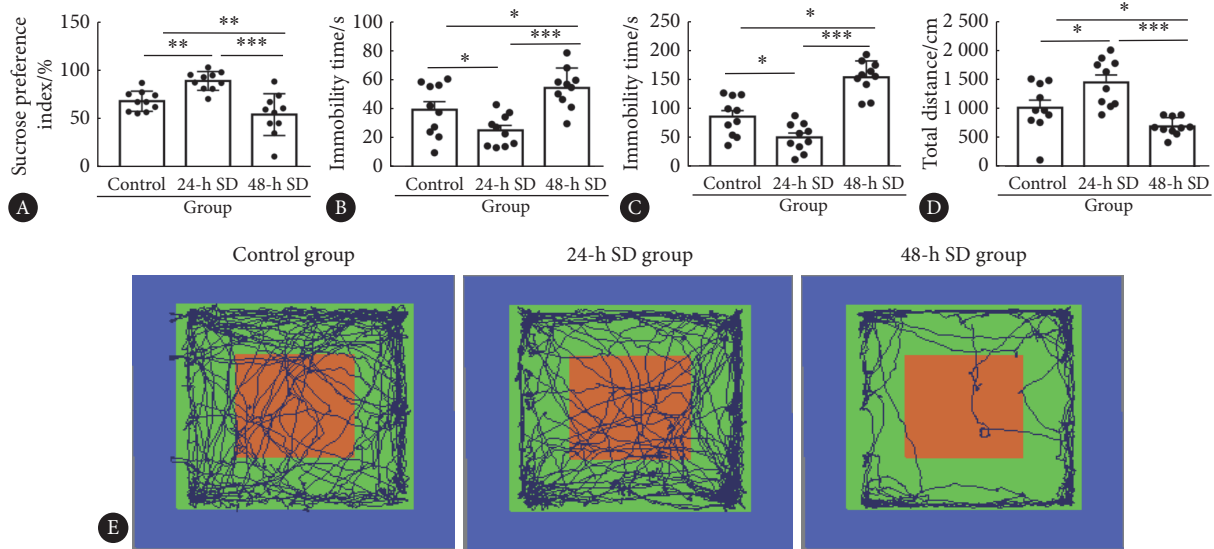


图 1 小鼠睡眠剥夺行为学实验比较结果

Fig 1 Effects of sleep deprivation on the behaviors of mice

A-D, Comparison of sucrose preference (A), the immobility time in forced swimming test (B) and the tail suspension test (C), and the total distance of movement in the open field test (D); E, tracks of the movement patterns of mice in open-field test box.  $n=10$  in each group. \*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$ , \*\*\*  $P<0.001$ .

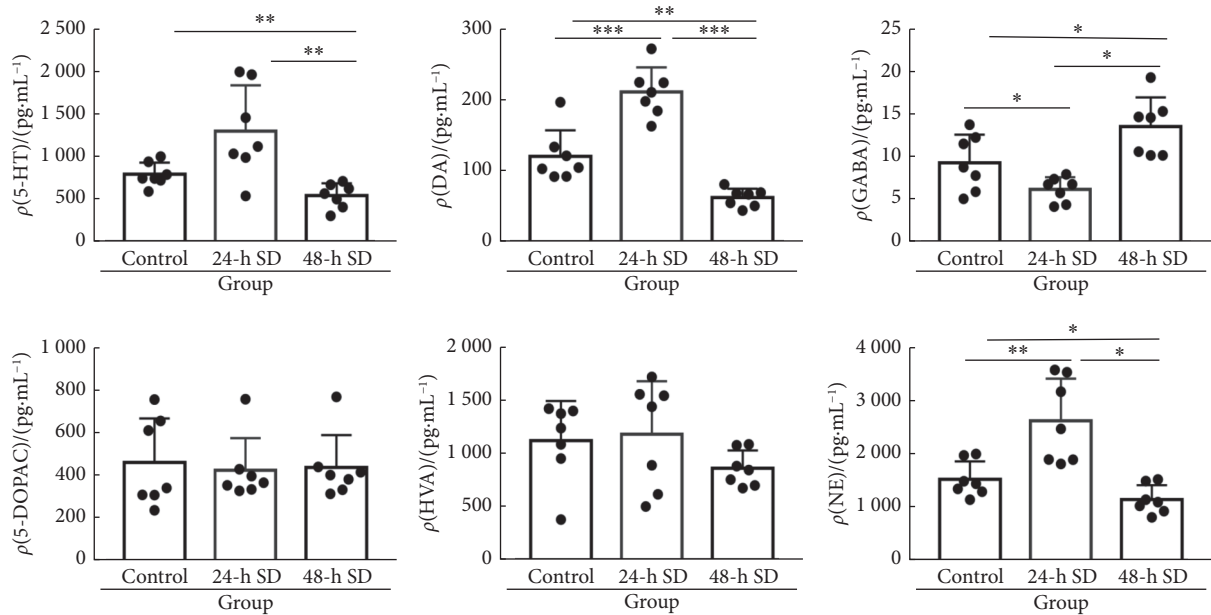


图 2 睡眠剥夺对小鼠海马区单胺类神经递质含量的影响

Fig 2 Effects of sleep deprivation on monoamine neurotransmitters in the hippocampus of mice

$n=7$  in each group. \*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$ , \*\*\*  $P<0.001$ . SD: sleep deprivation.

差异无统计学意义; DA含量升高( $P<0.001$ ), NE含量升高( $P<0.01$ ), GABA含量降低( $P<0.05$ )。睡眠剥夺48 h组, 小鼠海马区5-HT的含量较对照组则降低( $P<0.01$ ), DA含量降低( $P<0.01$ ), NE含量降低( $P<0.05$ ), GABA含量升高( $P<0.01$ )。两组睡眠剥夺组小鼠海马中5-DOPAC和HVA含量与正常组相比差异均无统计学意义。睡眠剥夺24 h组与睡眠剥夺48 h组相比较, 5-HT( $P<0.01$ )、DA( $P<0.0001$ )、NE( $P<0.05$ )及GABA( $P<0.05$ )的含量差异有统计学意义。

### 2.3 睡眠剥夺对小鼠海马脑区氨基酸类递质的影响

见图3。睡眠剥夺24 h组小鼠海马区Tau及Glu含量高于正常对照组( $P<0.05$ ), Asp与Ser水平与对照组差异无

统计学意义。睡眠剥夺48 h组小鼠海马区各氨基酸含量较与对照组差异无统计学意义。但睡眠剥夺48 h组与睡眠剥夺24 h相比, Tau及Glu含量下降, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

### 2.4 睡眠剥夺对小鼠海马脑区胶质细胞的影响

免疫荧光结果如图4所示, 对照组、睡眠剥夺24 h组与睡眠剥夺48 h组小鼠( $n=3$ )海马GFAP阳性细胞数量分别为(6823±417.6)个/cm<sup>2</sup>、(7733±554.7)个/cm<sup>2</sup>、(4993±968.3)个/cm<sup>2</sup>。睡眠剥夺24 h组小鼠的海马GFAP阳性细胞数量与对照组差异无统计学意义; 睡眠剥夺48 h组小鼠海马GFAP阳性细胞数量较对照组和睡眠剥夺24 h组均减少( $P<0.05$ )。

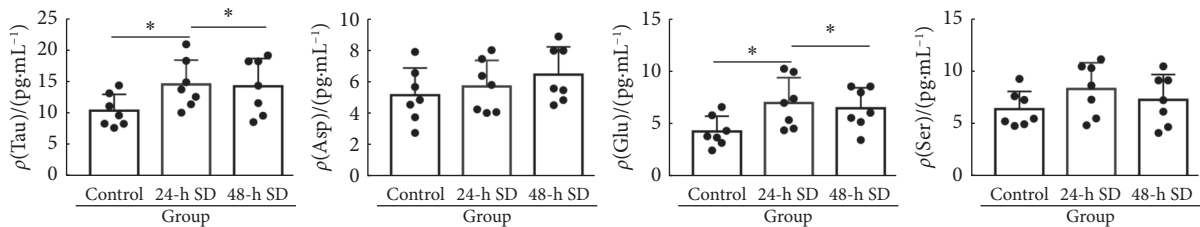


图3 睡眠剥夺对小鼠海马区氨基酸含量变化的影响

Fig 3 Effects of sleep deprivation on the levels of amino acids in the hippocampus of mice

$n=7$  in each group. \*  $P<0.05$ . SD: sleep deprivation.

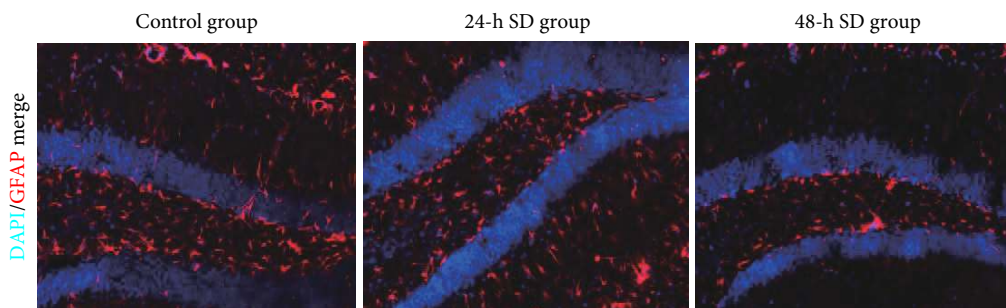


图4 小鼠海马脑区星形胶质细胞表达显微镜图(×200)

Fig 4 Microscopic images of astrocytes in the hippocampus of mice from each group (×200)

SD: sleep deprivation.

## 3 讨论

睡眠剥夺可以增加焦虑水平, 急性睡眠剥夺可使人产生更多的抑郁焦虑的负面情绪<sup>[13]</sup>。根据本研究行为学评价结果, 急性睡眠剥夺使小鼠产生焦虑或抑郁样行为改变。睡眠剥夺24 h的小鼠, 小鼠神经行为提示出一定的兴奋性, 呈焦虑紧张性状态。而睡眠剥夺48 h的小鼠, 出现快感缺失, 呈抑郁状态, 行为学各指标与睡眠剥夺24 h组差异显著。因此睡眠剥夺时间的不同对于小鼠焦虑抑郁样行为的影响不同。笔者推测随着睡眠剥夺时间

的延长, 小鼠负面情绪增强, 活动力、探索欲及求生欲下降, 由紧张焦虑状态转而呈抑郁状态。

本研究对小鼠海马脑区单胺类神经递质的检测结果, 进一步支持了行为学评价结果。DA和NE是儿茶酚胺, 神经兴奋性与DA释放呈正相关<sup>[14]</sup>。本研究中, 睡眠剥夺24 h的小鼠, 海马区DA浓度显著增加, 睡眠剥夺48 h后, DA浓度较对照组则呈现下降, 体现神经由兴奋到抑制的趋势。NE对中枢神经以兴奋作用为主<sup>[15]</sup>, 本研究中海马区NE与DA的水平变化趋势具有一致性。小鼠海马脑区NE水平由睡眠剥夺24 h升高到48 h后呈下降, 原因

可能因为小鼠在睡眠剥夺造模过程中频繁落水导致体力和精力大量消耗,从而造成脑内NE合成速度降低。5-HT在睡眠发生、维持过程中具有重要作用。本研究中,经过24 h到48 h睡眠剥夺,小鼠海马脑区5-HT水平呈现升高到下降的趋势。早期研究显示完全睡眠剥夺24 h的大鼠,其海马区5-HT水平呈升高,本实验结果具有一致性,但5-HT水平呈下降趋势变化只在一些长期睡眠剥夺研究中被报道<sup>[16]</sup>。本研究在急性短期睡眠剥夺期5-HT出现的这种代谢变化笔者分析可能是因为随着睡眠剥夺时间的延长,为了使机体保持清醒状态,小鼠海马区5-HT被及时地转化代谢,致使5-HT水平下降。本研究中睡眠剥夺48 h的小鼠,5-HT、DA和NE三种神经递质水平均下降显著,目前研究认为单胺类神经递质包括NE、DA、5-HT水平降低与抑郁症的发病相关<sup>[17]</sup>,根据实验中小鼠的变化,有理由相信这其中的联系。

值得注意的是,睡眠剥夺24 h小鼠5-HT含量呈现上升趋势,DA及NE水平显著升高,神经出现一定的兴奋性,继续进行睡眠剥夺后该兴奋性则转变为抑制性。20世纪70年代起,睡眠剥夺被提出是治疗改善重度抑郁症的方法之一。但直至目前,睡眠剥夺在抑郁症治疗中的作用仍缺乏充足证据。根据本实验小鼠经24 h睡眠剥夺后,小鼠在行为学及单胺类神经递质水平上所显示出的精神兴奋性的变化,短期急性完全睡眠剥夺可能具有抗抑郁作用,但深层机制及完整证据仍需进一步挖掘。

氨基酸维持大脑正常的兴奋及抑制效应。Glu为兴奋性氨基酸,当其水平上升在海马堆积可产生兴奋毒性,可诱导焦虑抑郁样行为<sup>[18]</sup>。张丽娟等<sup>[19]</sup>通过微透析证实,焦虑模型大鼠海马区Glu含量显著增加,GABA含量显著减少。本实验睡眠剥夺24 h小鼠,行为学呈焦虑紧张状态,Glu和GABA水平具有相同的趋势。对于抑郁模型大鼠的海脑区,既往研究结果显示Glu水平呈现升高,抑制性氨基酸Tau及GABA含量显著下降<sup>[20]</sup>。本研究中小鼠海马区Tau及Glu水平在经过48 h睡眠剥夺后,虽然与对照组相比呈上升,但随着睡眠剥夺时间的延长,Tau水平较睡眠剥夺24 h小鼠已显著下降。然而GABA水平显示上升,笔者考虑此时GABA为代偿性升高。

睡眠剥夺可以引起GFAP表达的升高,其机制在于睡眠剥夺能激活星形胶质细胞,从而影响了谷氨酸能信号转导的神经元与睡眠环路,对睡眠-觉醒造成影响,也可能是神经元应对睡眠剥夺的代偿作用<sup>[21]</sup>。本研究中,睡眠剥夺24 h后,GFAP阳性细胞数呈上升趋势。而睡眠剥夺48 h后,GFAP阳性细胞数量显著下降,与已有报道研究结果不同,笔者分析原因可能由于样本量较少所导致。

综上所述,急性睡眠剥夺对于小鼠的行为、海马区的单胺类神经递质和氨基酸类神经递质的代谢具有影响作用。不同的睡眠剥夺时间对于小鼠的影响具有差异。24 h睡眠剥夺可致使小鼠海马脑区5-HT、DA和NE含量上调,Glu和Tau含量上升,推测可能是小鼠海马脑区胶质细胞被激活、引起小鼠行为学焦虑样的改变;而睡眠剥夺48 h的小鼠,海马脑区5-HT、DA和NE含量呈现下调,Glu和Tau含量下降,小鼠海马脑区胶质细胞激活被抑制,引起小鼠行为学抑郁样的改变。然而,小鼠睡眠剥夺后所造成的代谢变化、星形胶质细胞数量增减及行为变化在睡眠恢复后是否能同样得到恢复尚未得知,与本研究代谢变化相关联的信号通路及分子机制仍需要继续探索。

\* \* \*

**作者贡献声明** 梁心负责论文构思、数据编审、正式分析、调查研究、研究方法、验证、初稿写作、审读与编辑写作,侯紫薇负责调查研究、研究方法和研究项目管理,陈蕾负责调查研究和研究方法,王宇涵负责正式分析、调查研究和研究方法,华可秀负责调查研究、研究方法和验证,孙一鸣负责论文构思、经费获取、研究方法、研究项目管理、提供资源、监督指导、审读与编辑写作。所有作者已经同意将文章提交给本刊,且对将要发表的本进行最终定稿,并同意对工作的所有方面负责。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参 考 文 献

- [1] NEWBURY C R, CROWLEY R, RASTLE K, *et al.* Sleep deprivation and memory: meta-analytic reviews of studies on sleep deprivation before and after learning. *Psychol Bull*, 2021, 147(11): 1215–1240. doi: [10.1037/bul0000348](https://doi.org/10.1037/bul0000348).
- [2] GRIMALDI D, CARTER J R, Van CAUTER E, *et al.* Adverse impact of sleep restriction and circadian misalignment on autonomic function in healthy young adults. *Hypertension*, 2016, 68: 243–250. doi: [10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06847](https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06847).
- [3] ZHANG Y, YANG Y, YANG Y, *et al.* Alterations in cerebellar functional connectivity are correlated with decreased psychomotor vigilance following total sleep deprivation. *Front Neurosci*, 2019, 13: 134. doi: [10.3389/fnins.2019.00134](https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00134).
- [4] SANGLE S R, TENCH C M, D'CRUZ D P. Autoimmune rheumatic disease and sleep: a review. *Curr Opin Pulm Med*, 2015, 21: 553–556. doi: [10.1097/MCP.0000000000000215](https://doi.org/10.1097/MCP.0000000000000215).
- [5] SHIGIYAMA F, KUMASHIRO N, TSUNEOKA Y, *et al.* Mechanisms of sleep deprivation-induced hepatic steatosis and insulin resistance in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2018, 315(5): E848–E858. doi: [10.1152/ajpendo.00072.2018](https://doi.org/10.1152/ajpendo.00072.2018).
- [6] HAO Q, XIE M, ZHU L, *et al.* Association of sleep duration with chronic kidney disease and proteinuria in adults: a systematic review and dose-response meta-analysis. *Int Urol Nephrol*, 2020, 52(7): 1305–1320. doi: [10.1007/s11255-020-02488-w](https://doi.org/10.1007/s11255-020-02488-w).
- [7] LIEW S C, AUNG T. Sleep deprivation and its association with diseases--

- a review. *Sleep Med*, 2021, 77: 192–204. doi: 10.1016/j.sleep.2020.07.048.
- [8] RACH B, BORN J. About sleep 's role in memory. *Physiol Rev*, 2013, 93(2): 681–766. doi: 10.1152/physrev.00032.2012.
- [9] HAVEKES R, ABEL T. The tired hippocampus: the molecular impact of sleep deprivation on hippocampal function. *Curr Opin Neurobiol*, 2017, 44: 13–19. doi: 10.1016/j.conb.2017.02.005.
- [10] XU M, LIU X, WANG Q, *et al.* Phosphoproteomic analysis reveals the effects of sleep deprivation on the hippocampus in mice. *Mol Omics*, 2022, 18(7): 677–685. doi: 10.1039/d2mo00061j.
- [11] YANG L C, BEAL M F. Determination of neurotransmitter levels in models of Parkinson's disease by HPLC-ECD. *Methods Mol Biol*, 2011, 793: 401–415. doi: 10.1007/978-1-61779-328-8\_27.
- [12] WANG X T, WANG Z X, CAO J, *et al.* Melatonin alleviates acute sleep deprivation-induced memory loss in mice by suppressing hippocampal ferroptosis. *Front Pharmacol*, 2021, 16(12): 708645. doi: 10.3389/fphar.2021.708645.
- [13] PIRES G N, BEZERRA A G, TUFIK S, *et al.* Effects of acute sleep deprivation on state anxiety levels: a systematic review and meta-analysis. *Sleep Med*, 2016, 24: 109–118. doi: 10.1016/j.sleep.2016.07.019.
- [14] MORRENS J, AYDIN Ç, JANSE Van RENSBURG A, *et al.* Cue-evoked dopamine promotes conditioned responding during learning. *Neuron*, 2020, 106(1): 142–153. doi: 10.1016/j.neuron.2020.01.012.
- [15] SONNEBORN A, GREENE R W. Norepinephrine transporter antagonism prevents dopamine-dependent synaptic plasticity in the mouse dorsal hippocampus. *Neurosci Lett*, 2021, 740: 135450. doi: 10.1016/j.neulet.2020.135450.
- [16] 刘鑫, 单铁强, 李伟, 等. 枸杞多糖对慢性睡眠剥夺大鼠大脑海马区5-羟色胺及其受体含量的影响. *职业与健康*, 2021, 37(18): 2476–2479. doi: 10.13329/j.cnki.zyyjk.2021.0616.
- [17] PEREZ-CABALLERO L, TORRES-SANCHEZ S, ROMEO-LOPEZ-ALBERCA C, *et al.* Monoaminergic system and depression. *Cell Tissue Res*, 2019, 377(1): 107–113. doi: 10.1007/s00441-018-2978-8.
- [18] 李春艳, 王宇红, 王华, 等. 抑郁合并失眠对大鼠HPA轴及下丘脑中氨基酸类和单胺类神经递质的影响. *中国药理学通报*, 2021, 37(6): 815–822. doi: 10.3969/j.issn.1001-1978.2021.06.014.
- [19] 张丽娟, 郭文成, 王艳艳, 等. 生与炒酸枣仁配伍对状态性焦虑模型大鼠行为学及单胺类和氨基酸类神经递质表达的影响. *中医药学报*, 2022, 50(2): 14–22. doi: 10.19664/j.cnki.1002-2392.220029.
- [20] 吴海芬, 朱春辉, 郭建友. 人参皂苷Rg1对抑郁症模型大鼠行为学及海马氨基酸的影响. *中国中药杂志*, 2012, 37(20): 3117–312. doi: 10.4268/cjcm20122024.
- [21] 谢光璟, 徐波, 夏婧, 等. 安寐丹对睡眠剥夺大鼠海马CA1区细胞结构及神经元损伤的保护作用. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(7): 26–32. doi: 10.13422/j.cnki.syfx.20220704.

(2023-06-04收稿, 2023-10-15修回)

编辑 吕熙



**开放获取** 本文遵循知识共享署名—非商业性使用

4.0国际许可协议(CC BY-NC 4.0), 允许第三方对本刊发表

的论文自由共享(即在任何媒介以任何形式复制、发行原文)、演绎(即修改、转换或以原文为基础进行创作), 必须给出适当的署名, 提供指向本文许可协议的链接, 同时标明是否对原文作了修改; 不得将本文用于商业目的。

CC BY-NC 4.0许可协议访问<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>。

© 2023 《四川大学学报(医学版)》编辑部 版权所有