

• 基础研究 •

睡眠剥夺对大鼠血清促肾上腺皮质激素、促甲状腺激素及皮质醇的影响

张亚晶 卢才义 高磊

【摘要】 目的 观察不同睡眠剥夺时间对大鼠血清促肾上腺皮质激素(ACTH)、促甲状腺激素(TSH)及皮质醇(CORT)的影响。方法 将大鼠随机分为正常笼养组(CC),大平台实验组(TC),睡眠剥夺1d、3d、5d和7d组,采用改良多平台睡眠剥夺法(MMPM)建立睡眠剥夺模型,取大鼠下腔静脉血,采用化学发光免疫法测定血清中ACTH、TSH、CORT的含量。结果 选60只大鼠进行实验,最后纳入48只大鼠进入结果分析。与CC组、TC组相比较,随着睡眠剥夺时间的延长,大鼠血清ACTH、TSH及CORT含量先呈升高趋势,随后分别在剥夺睡眠第3、5、5天时达到峰值,然后呈逐渐降低趋势。结论 睡眠剥夺能够应激性地激活大鼠下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴,使大鼠血清中ACTH、TSH、CORT的含量随睡眠剥夺时间的变化产生波动。

【关键词】 睡眠剥夺;大鼠;促肾上腺皮质激素;促甲状腺激素;氢化可的松

Effect of sleep deprivation on serum adrenocorticotropin, thyrotropin and cortisol in rats

ZHANG Yajing, LU Caiyi, GAO Lei

Institute of Geriatric Cardiology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

【Abstract】 Objective To observe the effect of sleep deprivation for different periods of time on serum adrenocorticotropin (ACTH), thyrotropin (TSH) and cortisol (CORT) in rats. Methods Sixty rats were randomized into 6 groups: normal cage control group (CC), tank control group (TC), sleep deprivation for 1, 3, 5 and 7d groups. Sleep deprivation rat model was established by "Modified Multi-Platform Method (MMPM)". Blood was got from the inferior vena cava, and the concentrations of ACTH, TSH and CORT in serum were evaluated by chemiluminescence immunoassay. Results Sixty rats were enrolled into the experiments, and 48 rats entered the final analysis. Compared with the CC group and TC group, with increasing deprivation of sleep time, ACTH, TSH and CORT were increased at first, attained the peak values on days 5 of sleep deprivation and then their concentrations gradually decreased. Conclusion Hypothalamus-pituitary-adrenal axis of rats can be activated by sleep deprivation, this makes the concentration of ACTH, TSH and CORT fluctuate with the change of sleep deprivation time.

【Key words】 sleep deprivation; rats; adrenocorticotropin; thyrotropin; cortisol

在生活节奏日益加快、工作压力不断激增的当今社会,人们面临着越来越多的各类应激事件,引发睡眠障碍性疾病并导致睡眠剥夺发生率明显升高,从而广泛影响机体各系统生理功能,造成生理节律的紊乱,严重影响人们的生活质量,成为日益突出的医疗及公共卫生问题,此外,突发的自然灾害及战争条件下引起的被动睡眠剥夺,也成为造成非正常或非战斗减员的重要因素之一。

睡眠剥夺(sleep deprivation)一词起源于对持

续/连续工作状态导致的睡眠缺失的描述,后逐渐发展成为一个独立的概念,具体指人因环境的或自身的原因丧失了所需要的睡眠量的过程和状态。睡眠剥夺是一种典型的内源性应激源^[1],机体对内源性应激源的作用主要通过下丘脑-垂体-肾上腺皮质系统分泌的应激激素来调节并完成对应激的适应^[1]。目前一般多采用血清促肾上腺皮质激素(adrenocorticotropin, ACTH)、促甲状腺激素(thyrotropin, TSH)、皮质醇(cortisol, CORT)等激素水平作

收稿日期:2008-12-05

基金项目:解放军总医院科技创新基金(项目编号:07CX306)资助项目

作者单位:100853 北京市,解放军总医院老年心血管病研究所

作者简介:张亚晶,女,1980年10月生,甘肃镇原人,在读博士研究生。Tel:010-66937934, E-mail: littlestar301@yahoo. cn.

为评价应激程度的指标^[2~5],由于 ACTH、TSH 和 CORT 是调节机体物质与能量代谢和提高机体适应性的关键激素,故研究不同睡眠剥夺时间条件下,ACTH、CORT 和 TSH 激素水平的变化,有可能为控制睡眠剥夺后不良反应找到新的途径。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 60 只清洁级健康成年雄性 Sprague-Dawley 大鼠,体重 300~350g,购自军事医学科学院实验动物中心。将大鼠随机分为 6 组,每组 10 只:正常笼养组(normal cage control,CC);大平台实验组(tank control,TC);睡眠剥夺 1、3、5、7d 组。

1.2 主要实验仪器 Centaur 全自动化学发光免疫分析仪,Immulite 全自动化学发光免疫分析仪,GL-20CT-II 高速冷冻离心机。

1.3 睡眠剥夺模型的建立 采用改良多平台睡眠剥夺法(MMPM)睡眠剥夺模型^[6~8]。实验箱为 70cm×50cm×40cm 塑料水箱,其内分别设置 5 个直径 6.3cm、高 8cm 的平台,各平台之间间距为 15cm。平台周边注满水,水温保持在 22℃左右,水面低于平台约 1.0cm。大鼠在平台上可自由进食饮水,并可在平台间自由活动。若其睡眠,会因肌张力松弛而垂头触水或落入水中惊醒。为排除隔离和水环境造成的影响,设立 TC 实验组,其平台大小为 30cm×18cm,大鼠在平台上有一定活动空间,可以睡眠,其他环境与实验组相同。睡眠剥夺期间持续 40W 日光灯照射,每天更换箱中的水。CC 组,自然昼夜光照,饲养条件同睡眠剥夺组。实验前将一组实验所需大鼠放至一只笼中饲养,熟悉适应环境 1 周。

1.4 大鼠血清 ACTH、TSH 及 CORT 含量测定 各组大鼠在相应时间点以 20%乌拉坦 0.6~0.8ml/kg 麻醉,在小动物实验台上仰卧固定大鼠,使用碘酒棉球消毒大鼠胸部及腹部皮肤,迅速剪开腹部皮肤,掀开大网膜,轻轻拨开肝脏及小肠组织,露出下腔静脉。取 10ml 一次性注射器,使针尖与下腔静脉呈 15°角,于下腔静脉与肾静脉分叉上端进针,抽取大鼠静脉血约 5ml,然后迅速将静脉血轻柔转移至 5ml 消毒 EP 管内,静置 15min,以 4000r/min 离心 15min,离心后用 200μl 移液器轻柔将上清移至 2ml 消毒 EP 管内,迅速放入-20℃冷冻保存。血清 CORT、TSH 由 Centaur 全自动化学发光免疫分析仪直接测定,血清 ACTH 由 Immulite 全自动化学

发光免疫分析仪直接测定。

1.5 统计学数据分析 用 SPSS 13.0 进行统计分析,所有资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间采用完全随机设计单因素方差分析,LSD 法进行多组间两两均数比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

实验共选取 60 只大鼠,但由于自然、实验操作等原因,最后共纳入 48 只大鼠进行结果分析,每组 8 只。

2.1 ACTH 含量 CC 组、TC 组、睡眠剥夺 1d 和 3d 组 4 组之间无显著性差异($P > 0.05$),该 4 组分别与睡眠剥夺 5d 和 7d 组相比差异均有显著性。随着睡眠剥夺时间的延长,大鼠血清 ACTH 含量,先呈现轻微升高的趋势,并在睡眠剥夺 3d 时达到最高值,之后呈明显的下降趋势(表 1,图 1)。

2.2 TSH 含量 TC 组、睡眠剥夺 1d、3d、5d 和 7d 组与 CC 组相比均有显著性差异;睡眠剥夺 1d、3d、5d 和 7d 组与 TC 组相比差异具有显著性。随着睡眠剥夺时间的延长,TSH 含量先呈逐渐升高趋势,至睡眠剥夺 5d 时达到最高值,之后逐渐降低(表 1,图 1)。

2.3 CORT 含量 睡眠剥夺 1d、3d、5d 和 7d 组与 CC 组相比均有显著性差异;睡眠剥夺 3d、5d 和 7d 组与 TC 组相比差异具有显著性。随着睡眠剥夺时间的延长,CORT 含量先呈逐渐升高趋势,至睡眠剥夺 5d 时达到最高值,之后逐渐降低(表 1,图 1)。

表 1 不同睡眠剥夺时间大鼠血清 ACTH、TSH 和 CORT 变化情况($\bar{x} \pm s$)

组别	ACTH(pmol/L)	TSH(mU/L)	CORT(nmol/L)
CC	104±30	0.19±0.06	30±5
TC	99±26	0.19±0.06*	35±4
SD 1d	106±22	0.35±0.12**	39±5*
SD 3d	112±15	0.55±0.11**	48±5**
SD 5d	71±18**	0.90±0.12**	55±8**
SD 7d	41±18**	0.79±0.17**	43±12**

注:SD:睡眠剥夺。* $P < 0.05$ vs CC; * $P < 0.05$ vs TC

3 讨论

本实验采用“改良多平台睡眠剥夺法”建立动物模型,对大鼠进行不同时间的睡眠剥夺。考虑到水环境、限制活动以及隔离等也可能成为大鼠应激原^[9],除 CC 组外,还设立了 TC 实验组,以排除上述因素对实验结果的影响。本研究发现,随着睡眠

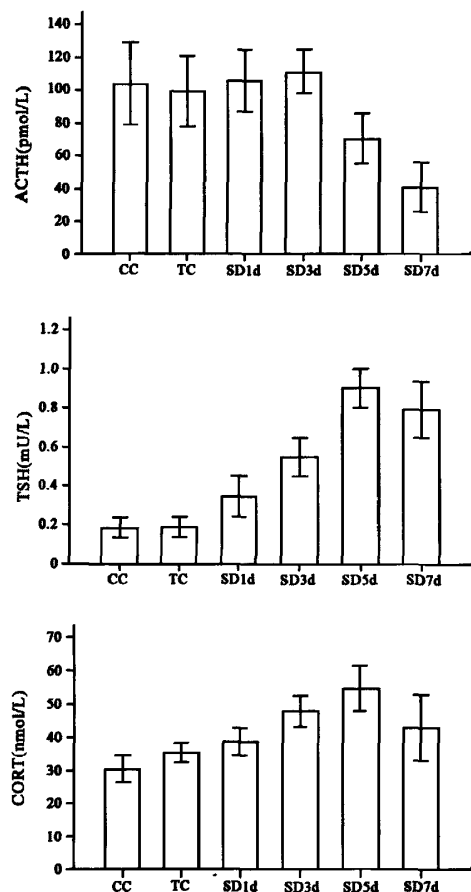


图1 不同睡眠剥夺时间对大鼠心肌氧化应激指标变化趋势图

剥夺时间的延长,大鼠血清 ACTH 含量先呈轻微升高的趋势,并在睡眠剥夺 3d 时达到最高值,之后呈明显的下降趋势;TSH、CORT 含量先呈逐渐升高趋势,至睡眠剥夺 5d 时达到最高值,之后逐渐降低。一般情况下,大鼠在受到睡眠剥夺应激刺激后,下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴激活,引起脑干网状结构激动,诱导下丘脑兴奋,通过分泌促肾上腺皮质激素释放激素,激发 ACTH 生成增多,ACTH 在钙离子存在的条件下,作用于肾上腺皮质,刺激糖皮质激素分泌,引起 CORT 分泌增多^[10~12],激活下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴,进一步促进垂体分泌 ACTH,从而形成刺激相应激素释放的反馈环路,这是机体对应激性刺激产生的一种有效的特异性防御反应。但是,根据本研究数据结果显示分析,可能随着睡眠剥夺时间的延长,造成刺激程度过于强烈或刺激时间过长时,机体的调节能力不足以作出适度反应,就会在某些环节或水平上出现反应低下(或过度),使得 ACTH、TSH、CORT 含量出现先升高后降低的波动变化趋势,并可能由此引发应激紊乱^[13,14],影响

损伤器官恢复,导致损伤加重。

目前,相关研究显示,机体在长期应激状态下出现血中 CORT 浓度下降,并认为这是因为在应激状态下,机体出现垂体-肾上腺轴功能增强,ACTH 及 CORT 浓度升高,但当应激持续存在时,这种调节能力终将减弱,甚至出现肾上腺皮质功能减退的现象^[15]。Spiegel 等^[16]观察发现,经过 6d 的部分睡眠剥夺,TSH 的分泌峰值会明显降低,总量也减少了 30%;唾液中游离 CORT 浓度的分析显示,在睡眠剥夺情况下,CORT 的分泌量增加了约 1/6。还有一些研究提示,下丘脑-垂体-肾上腺轴调节功能异常和唾液或血 CORT 水平与心血管危险因素关系密切,如有研究^[18]显示,唾液 CORT 水平与体重指数、腹部矢状直径、腰臀比、空腹血糖和胰岛素、甘油三酯呈正相关。以上研究均表明,睡眠剥夺造成的应激性刺激,能够激活下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴,并刺激相关激素分泌,且随着剥夺程度及时间的变化,分泌水平呈波动性变化。

综上所述,本研究通过测定不同睡眠剥夺时间刺激后大鼠血清 ACTH、TSH、CORT 含量,并对其进行统计学分析,归纳总结出不同睡眠剥夺时间对下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴的影响,发现血清 ACTH、TSH、CORT 分泌水平应激性波动趋势,以此反映睡眠剥夺造成的大鼠下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴应激程度及其随时间变化发展趋势。为深入探索睡眠剥夺对机体造成损伤的规律,制定防治策略,寻求新的防治途径,预防突发事件造成的人员损伤等提供了理论依据。

参考文献

- [1] 李伟,陈家旭,杨建新,等. 疏肝、健脾、补肾复方对慢性束缚应激大鼠行为学和免疫功能的影响. 中国实验动物学报, 2003, 11: 33-37.
- [2] 严进,王春安,叶阿莉,等. 躯体性和心理性应激对大鼠血浆皮质酮变化的影响. 心理学报, 1991, 4: 418-425.
- [3] Handa RJ, Nunley KM, Lorens SA, et al. Androgen regulation of adrenocorticotropin and corticosterone secretion in the male rat following novelty and foot shock stressors. *Physiol Behav*, 1994, 55: 117-124.
- [4] Gerra G, Zaimovic A, Mascetti GG, et al. Neuroendocrine responses to experimentally-induced psychological stress in healthy humans. *Psychoneuroendocrinology*, 2001, 26: 91-107.
- [5] Gerra G, Zaimovic A, Zambelli U, et al. Neuroendocrine responses to psychological stress in adolescents with anxiety disorder. *Neuropsychobiology*, 2000, 42:

- 82-92.
- [6] Palma BD, Gabriel A Jr, Bignotto M, et al. Paradoxical sleep deprivation increases plasma endothelin levels. *Braz J Med Biol Res*, 2002, 35:75-79.
 - [7] Dou W, Zhao ZX, Miao MY, et al. The effect of sleep deprivation on cognitive and cerebraalm itochondrial respiratory function in rats. *Neurosci Bull*, 2005, 21: 204-209.
 - [8] Suchecki D, Tufik S. Social stability attenuates the stress in the modified multiple platform method for paradoxical sleep deprivation in the rat. *Physiol Behav*, 2000, 68:309-316.
 - [9] Ayas NT, White DP, Manson JE, et al. A prospective study of sleep duration and coronary heart disease in women. *Arch Intern Med*, 2003, 163:205-209.
 - [10] Jaferi A, Bhatnagar S. Corticosterone can act at the posterior paraventricular thalamus to inhibit hypothalamic-pituitary-adrenal activity in animals that habituate to repeated stress. *Endocrinology*, 2006, 147: 4917-4930.
 - [11] Campagne DM. Should fertilization treatment start with reducing stress? *Hum Reprod*, 2006, 21: 1651-1658.
 - [12] Mitsushima D, Takase K, Funabashi T, et al. Gonadal steroid hormones maintain the stress-induced acetylcholine release in the hippocampus: simultaneous measurements of the extracellular acetylcholine and serum corticosterone levels in the same subjects. *Endocrinology*, 2008, 149:802-811.
 - [13] 王莹, 杨祖铭, 朱海娟, 等. 外源性褪黑素对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠血浆促肾上腺皮质激素和皮质酮的影响. *实用儿科临床杂志*, 2008, 23:430-432.
 - [14] Choi DC, Evanson NK, Furay AR, et al. The anteroventral bed nucleus of the stria terminalis differentially regulates hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis responses to acute and chronic stress. *Endocrinology*, 2008, 149:818-826.
 - [15] 刘雁峰, 王天芳, 杨维益, 等. 复合应激因素致大鼠促肾上腺皮质激素和皮质酮含量变化的研究. *中国医药学报*, 2000, 15:72-73.
 - [16] Spiegel K, Leproult R, Van Cauter E, et al. Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. *Lancet*, 1999, 354:1435-1439.
 - [17] 吴木潮, 黄宾协, 黎锋, 等. 代谢综合征患者血清和尿皮质醇水平与心血管危险因素的关系. *广东医学*, 2006, 27: 206-207.

(上接第 50 页)

- [6] 吴培和, 裴的善. 冠心病异位放射痛 22 例误诊分析. *现代诊断与治疗*, 2001, 12:240-242.
- [7] Rathore SS, Mehta RH, Wang Y, et al. Effects of age on the quality of care provided to older patients with acute myocardial infarction. *Am Med J*, 2003, 114:307-315.
- [8] Every NR, Frederick PD, Robinaon M, et al. A comparison of the Nationnal Registry of Myocardial Infarction 2 with the Cooperative Cardiovascular Project. *J Am Coll Cardiol*, 1999, 33:1886-1894.
- [9] Pantoni L, Lammie A. Cerebral small vessel disease: pathological and pathophysiological aspects in relation to vascular cognitive impairment. In: Erkinjuntti T, Gauthier S, eds. *Vascular cognitive impairment*. London: Martin Duniz Publishers, 2002. 1115-1134.
- [10] Hayden GE, Brady WJ, Pollack M, et al. Electrocardiographic manifestations diagnosis of atrioventricular block in the emergency department. *J Emerg Med*, 2004, 26:95.
- [11] Pollack CV Jr, Braunwald E. 2007 update to the ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction; implications for emergency department practice. *Ann Emerg Med*, 2008, 51:591-606.
- [12] Antman EM, Anbe DT, Armstrong PW, et al. ACC/AHA guidelines for the management of patients with ST elevation myocardial infarction—executive summary; a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 1999 Guidelines for the Management of Patients with Acute Myocardial Infarction). *Circulation*, 2004, 110:588-636.
- [13] 胡大一. 美国心脏协会 2006 年学术年会热点报道. *中国实用内科杂志*, 2007, 3: 222-224.
- [14] Singh M, Mathew V, Garratt KN, et al. Effect of age on the outcome of angioplasty for acute myocardial infarction among patients treated at the Mayo Clinic. *Am J Med*, 2000, 108:187-192.
- [15] Kyriakides ZS, Kourouklis S, Kontaras K. Acute coronary syndromes in the elderly. *Drugs Aging*, 2007, 24:901-912.
- [16] 邱蔚六. 临床决策需要辩证思维. *医学与哲学: 临床决策论坛版*, 2006, 27:1-2.