



失眠增加心血管病致病因子的研究

袁蓉^{1,2}, 王阶¹, 郭丽丽¹, 林飞¹

(1. 中国中医科学院广安门医院, 北京 100053; 2. 北京中医药大学, 北京 100029)

【摘要】 **目的** 观察睡眠剥夺(sleep deprivation, SD)对大鼠心血管病致病因子的影响,初步为中医安神治疗心血管病机制的研究提供基础实验依据。**方法** 16只大鼠随机均分为空白对照组(control check, CC)和睡眠剥夺组(SD)。测量CC组及SD组大鼠SD前、SD后2 d、5 d、7 d体重及心电图,并眼球取血测血清褪黑素(MT)、内皮素-1(ET-1)、炎症相关因子白介素6(IL-6)、肿瘤坏死因子(TNF- α)等。**结果** 与SD前比较,SD组大鼠体重明显减轻,CC组大鼠体重明显增加,SD后5 d及7 d,SD组大鼠体重与CC组比较明显减轻($P < 0.05$);与CC组比较,SD组大鼠SD后5 d TNF- α 升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$);随SD时间的延长心率逐渐增快,QTc间期逐渐延长,MT逐渐降低,ET-1、IL-6、TNF- α 逐渐升高,7 d时两组的各指标差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 长期失眠可使体重减轻,心率明显加快,QTc间期延长,褪黑素水平降低,内皮素和炎症因子升高,增加心血管病致病因子,为进一步研究安神中药对心血管病的作用提供基础实验支持。

【关键词】 睡眠剥夺;冠心病;心率;内皮;炎症

【中图分类号】 R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2015) 07-0007-04

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2015.007.002

Effect of insomnia on rat cardiovascular disease factors

YUAN Rong^{1,2}, WANG Jie¹, GUO Li-li¹, LIN Fei¹

(1. Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China;

2. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

【Abstract】 **Objective** Investigate the effect of insomnia on cardiovascular disease factors and offer the experimental evidence for treating cardiovascular disease with traditional Chinese medicine tranquillization methods. **Methods** Sixteen Wistar rats were randomly divided into two groups named sleep deprivation (SD) group and normal control check (CC) group. Body weight and electrocardiogram were recorded and serum concentrations of melatonin (MT), endothelin-1 (ET-1), IL-6 and TNF- α were tested before SD and 2 days, 5 days, 7 days after SD. **Results** Body weight decreased in SD group while increased in CC group. Compared with CC group, body weight of SD rats decreased significantly in 5 days and 7 days after SD ($P < 0.05$). Compared with CC group, TNF- α increased significantly in 5 days ($P < 0.05$). With the time, heart rate accelerate and QTc were prolonged, MT decreased while ET-1, IL6, TNF- α increased significantly in 7 days after SD ($P < 0.05$). **Conclusion** Long term insomnia would decrease body weight and MT, while increase heart rate, QTc, ET-1 and inflammatory factors, which increase cardiovascular disease factors. It provided the experimental evidence for the study on traditional Chinese medicine tranquillization methods in the treatment of cardiovascular disease.

【Key words】 Sleep deprivation; Coronary heart disease; Heart rate; Endothelium; Inflammation

[基金项目] 科技部“重大新药创制”专项(2012ZX09102-201-006)。

[作者简介] 袁蓉(1991-),女,硕士生,研究方向:心血管。E-mail: yuanrong427@163.com。

[通讯作者] 王阶(1956-),男,主任医师,博士生导师,研究方向:中西医结合心血管, E-mail: wangjie0103@126.com。

失眠是心血管疾病风险的独立预测因子,已成为亚临床心脏疾病的标志^[1],大规模的人群调查已发现失眠和逐渐增高的心梗、心衰的危险因素相关^[2-4],失眠可引起机体的神经内分泌紊乱,交感神经兴奋,内源性激素分泌紊乱,内皮功能紊乱等^[5],可能影响心血管病相关的心率、内皮功能、炎症反应及同时与睡眠相关的褪黑素水平,而心率是心肌耗氧量的最主要决定因素,也是心血管疾病的独立危险因素^[6];内皮素对血管收缩,心肌缺血,血管损伤均会产生影响^[7];心血管疾病的发生、发展和转归也与炎症反应有着密切的关系;褪黑素可影响心血管系统,具有抗高血压、调节脂代谢、抗心肌损伤及保护血管内皮的作用^[8]。因此,本研究利用“小平台水环境法”制备大鼠睡眠剥夺模型,观察不同睡眠剥夺时间对心血管病相关的心率、内皮素、褪黑素及炎症因子的影响,试图为中医安神法治疗心血管病的机制研究提供实验基础。

1 材料和方法

1.1 实验仪器及材料

Power Lab 4/30 多导生理记录仪,澳大利亚 AD 公司产品;Lab Chart 6 软件,澳大利亚 AD 公司产品;大鼠内皮素放射免疫分析药盒,批号 S20083014;大鼠褪黑素酶连免疫分析药盒,批号 CSB-E11315r;IL-6 酶联免疫分析药盒,批号 EK3061-48T;大鼠 TNF- α 酶联免疫分析药盒,批号 EK3821,均购于优科卓越生物技术(北京)有限公司。

1.2 动物分组及睡眠剥夺 sleep deprivation (SD) 模型的建立

SPF 级 Wistar 雄性大鼠 16 只,体重 270 ~ 290 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司【SCXX(京)2012-0001】,实验在广安门医院实验动物中心动物实验设施进行【SYXK(京)2014-0041】,并按实验动物使用的 3R 原则给予人道关怀。适应性饲养 3 d 后随机分为睡眠剥夺组(SD 组)和空白对照组(control check,CC),每组 8 只。利用“小平台水环境法”制备大鼠睡眠剥夺模型。用直径 80 cm 的水箱,底部放置 12 个高 6 cm、直径 3 cm 的圆形小平台,每个平台间隔距离 15 cm,箱内注有水,水面低于平台 1 cm,顶部用铁丝网盖住,大鼠不能逃脱但可自由进食、饮水。大鼠可在平台间自由活动,但当进入睡眠时,由于骨骼肌的松弛使大鼠掉入水中而惊醒,造成睡眠剥夺。每日换水添食,室温保持

23℃ ~ 25℃。将 SD 组大鼠置于 24 h 拟光照环境中,进行连续 7 d 的睡眠剥夺;CC 组模拟正常作息时间,饲养在每天 12 h 拟光照,12 h 黑暗的环境中,不给予任何干预,正常饲养。每日定时记录大鼠的饲养环境的温度以及观察 SD 组、CC 组大鼠在行为、反应能力,进食及皮毛光泽等方面的差异,并于 SD 前及 SD 后 2、5、7 d 进行称重,心电图(ECG)检查和眼球取血检测。

1.3 心电活动检查

所有大鼠于 SD 前、SD 后 2、5、7 d 固定大鼠,在清醒状态下多导生理记录仪连接大鼠肢体记录心电图并进行分析,于 Lab Chart 6 上记录心率并计算校正的 QTc 间期,QTc = QT/ \sqrt{RR} 。

1.4 血清检测

所有大鼠于 SD 前、SD 后 2、5、7 d 眼球取血 1 mL 于 EP 管内,静置 40 min,3500 r/min 离心 10 min 后取上清液冻存于 -80℃ 冰箱保存待测。按试剂盒说明书用 ELISA 法检测褪黑素(MT)、内皮素-1(ET-1)、白介素 6(IL-6)、肿瘤坏死因子(TNF- α) 的浓度。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 17.0 软件进行分析,所有数据以均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠睡眠剥夺后一般状态观察

CC 组大鼠正常,精神状态良好,活动自如。SD 组大鼠睡眠剥夺 2 d 时兴奋性增高,对刺激反应敏捷;5 d 时兴奋性增高,狂躁,至睡眠剥夺第 7 天,大鼠表现出狂躁,易“激惹”,出现尖叫,撕咬,攻击行为,精神状态差,消瘦,皮毛无光泽。

2.2 睡眠剥夺对体重影响

与 SD 前比较,SD 组大鼠体重明显减轻,SD 后 5、7 d,SD 组与 CC 组比较体重明显减轻, $P < 0.01$,均有显著性差异。

2.3 心电活动检查结果 CC 组正常大鼠心电图无明显变化,SD 组大鼠心电图表现出心率增快,QT 间期延长,且随剥夺时间延长而心率加快,QTc 逐渐延长,7 d 时两组比较 $P < 0.01$,有显著性差异。

2.4 血清检测结果 SD 组大鼠 ET-1、IL-6、TNF- α 水平随时间的延长而逐渐升高,7 d 时两组比较差异有统计学意义;MT 水平随时间延长而逐渐降低,7 d 时两组比较差异具有统计学意义。

表 1 睡眠剥夺 (SD) 对体重的影响
Tab. 1 The effect of sleep deprivation on the weight

组别 Groups	N	SD 前 Before SD	SD2d 2days after SD	SD5d 5days after SD	SD7d 7 days after SD
CC	8	291.03 ± 4.26	294.00 ± 15.64	313.88 ± 22.34	331.63 ± 23.83
SD	8	292.14 ± 4.38	298.75 ± 8.62 *	281.25 ± 15.55 **	271.88 ± 14.75 **

注:与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note:Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表 2 睡眠剥夺 (SD) 对心率和 QTc 的影响
Tab. 2 The effect of sleep deprivation on HR and QTc

组别 Groups	N	心率 (HR)				QTc			
		SD 前 Before SD	SD2d 2days after SD	SD5d 5days after SD	SD7d 7 days after SD	SD 前 Before SD	SD2d 2days after SD	SD5d 5days after SD	SD7d 7 days after SD
CC	8	458.53 ± 50.56	466.50 ± 72.14	477.38 ± 48.61	386.63 ± 67.75	0.48 ± 0.05	0.49 ± 0.02	0.49 ± 0.03	0.50 ± 0.03
		440.00 ± 38.64	460.50 ± 72.80	496.75 ± 77.15	532.00 ± 51.75 **	0.49 ± 0.04	0.51 ± 0.06	0.53 ± 0.08	0.65 ± 0.03 *

注:与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note:Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表 3 睡眠剥夺 (SD) 对内皮素和褪黑素的影响
Tab. 3 The effect of sleep deprivation on endothelin and melatonin

组别 Groups	N	内皮素 endothelin				褪黑素 melatonin			
		SD 前 Before SD	SD2d 2days after SD	SD5d 5days after SD	SD7d 7 days after SD	SD 前 Before SD	SD2d 2days after SD	SD5d 5days after SD	SD7d 7 days after SD
CC	8	40.67 ± 7.02	38.64 ± 2.35	40.90 ± 6.87	37.90 ± 4.27	0.53 ± 0.06	0.52 ± 0.16	0.55 ± 0.16	0.60 ± 0.10
		42.59 ± 11.37	44.57 ± 10.03	47.01 ± 6.13	49.78 ± 6.66 **	0.57 ± 0.09	0.53 ± 0.22	0.49 ± 0.15	0.42 ± 0.10 *

注:与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note:Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表 4 睡眠剥夺 (SD) 对 IL-6 和 TNF- α 的影响
Tab. 4 The effect of sleep deprivation on IL-6 and TNF- α

组别 Groups	N	IL-6				TNF- α			
		SD 前 Before SD	SD2d 2days after SD	SD5d 5days after SD	SD7d 7 days after SD	SD 前 Before SD	SD2d 2days after SD	SD5d 5days after SD	SD7d 7 days after SD
CC	8	61.45 ± 30.24	61.40 ± 25.64	61.48 ± 34.53	61.43 ± 20.73	91.26 ± 15.36	90.78 ± 16.25	91.37 ± 8.64	90.30 ± 21.39
		61.47 ± 29.34	65.43 ± 31.25	70.36 ± 35.95	79.25 ± 39.07 *	92.07 ± 27.90	112.10 ± 26.25	135.03 ± 24.25 **	145.07 ± 25.54 **

注:与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note:Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

3 讨论

本实验针对心血管病相关的心率、内皮素,以及 IL-6、TNF- α 等炎症因子和具有保护作用的褪黑素进行研究,寻找睡眠剥夺后与心血管病相关的致病因子的改变,结果显示睡眠剥夺 7 d 时机体出现各种病理变化,说明失眠可导致心血管病致病因子变化而增加心血管风险,为安神中药治疗心血管病

提供基础研究数据。

快速心率是心血管病的独立危险因素,并成为心肌缺血和心律失常的危险因素^[6]。睡眠剥夺影响了固有生物节律使机体处于应激状态,自主神经功能紊乱,持久的交感神经兴奋可能会加快心率,对心脏自主神经平衡产生影响,致室颤阈降低,同时 QT 间期延长容易诱发尖端扭转性室速,易引起室颤、晕厥、猝死^[9]。本实验研究发现睡眠剥夺 7 d

时心率增快,QT 间期延长,与对照组比较均有统计学差异,说明失眠可能通过交感神经兴奋引起心率加快,损伤心肌细胞导致部分心肌复极时间延长,QT 间期延长,从而易诱发心律失常。

血管内皮功能在心血管系统中起着重要作用。内皮损伤,各种炎性细胞聚集、浸润,平滑肌细胞和成纤维细胞增生迁移,血管内皮细胞释放 ET-1 可导致血管舒缩功能失调、血小板凝聚等病理生理改变,促进动脉粥样硬化和血栓形成^[10]。其中内皮素的升高在冠状动脉粥样硬化及缺血性心脏病发生、发展中有重要作用,并且会影响心梗、心衰、高血压的预后^[11]。因此本实验研究发现 SD 后 7 d 时内皮素显著升高,说明失眠可损伤内皮功能,引起一系列高血压、动脉粥样硬化、血栓形成等病理变化而增加心血管风险。

炎症反应是机体对损伤因子所产生的防御反应,与高血压、动脉粥样硬化等心血管疾病有关。IL-6 作为前炎症细胞因子,可通过体液和细胞免疫功能影响炎症和组织损伤,在炎症反应中起核心调节作用,是动脉粥样硬化的重要炎症因子;TNF- α 作为前炎症细胞因子可调节脂类代谢,影响内皮功能,并刺激自身和 IL-6 的表达,与动脉粥样硬化的形成密切相关,其浓度与病情严重程度成正比,因此 IL-6、TNF- α 等炎症标志物的水平能够预测冠心病病情及病变程度^[12]。本实验研究发现 SD 后 7 d IL-6 和 TNF- α 均显著升高,说明失眠可通过炎症损伤作用于心血管系统。

褪黑素作为影响睡眠的重要激素与心血管疾病有着密切联系。褪黑素不仅可以直接调节心血管系统的活动,还可影响其他所有激素的分泌间接调节心血管系统的活动,有着抗应激、抗氧化、抑制炎症反应的作用^[8]。因此本实验研究发现中褪黑素在睡眠剥夺 7 d 时显著下降,说明失眠可损伤心血管系统的保护作用,各种危险因素之间相互影响,构成一个复杂的网络,通过多种途径影响心血管病的发生、发展和预后。

综上,本实验证实了失眠可通过加快心率,延长 QT 间期,升高内皮素和炎症因子,减少褪黑素等多途径增加心血管病致病因子。失眠时交感神经过度兴奋,可能引起儿茶酚胺分泌增加,血小板黏附聚集性增强,血液粘滞度增加,增加血栓形成危险因素^[10]。目前中医药在调节失眠引起的危险因素方面有良好优势,可作用于心肌膜上各种离子通

道,影响心肌细胞膜受体及酶类,影响自主神经功能,改善心率,抗心律失常^[13],调节内皮功能,抗炎、抗氧化,多途径多靶点预防血栓形成、动脉粥样硬化等发生^[14],因此,本实验为进一步探讨失眠对心血管病的影响机制及中医安神方药干预研究提供了基础数据和参考资料,而其具体机制仍需进一步研究。

参考文献:

- [1] Irwin MR, Ziegler M. Sleep deprivation potentiates activation of cardiovascular and catecholamine responses in abstinent alcoholics [J]. *Hypertension*, 2005, 45(2): 252 - 257.
- [2] Laugsand LE, Vatten LJ, Platou C, *et al.* Insomnia and the Risk of Acute Myocardial Infarction; A Population Study [J]. *Circulation*, 2011, 124(19): 2073 - 2081.
- [3] Janszky I, Ahnve S, Ljung R, *et al.* Daylight saving time shifts and incidence of acute myocardial infarction - Swedish Register of Information and Knowledge About Swedish Heart Intensive Care Admissions (RIKS-HIA) [J]. *Sleep Med*, 2012, 13(3): 237 - 242.
- [4] Tofield A. Insomnia linked to increased risk of heart failure [J]. *Eur Heart J*, 2013, 34(24): 1771.
- [5] Mullington JM, Haack M, Toth M, *et al.* Cardiovascular, Inflammatory, and Metabolic Consequences of Sleep Deprivation [J]. *Prog Cardiovasc Dis*, 2009, 51(4): 294 - 302.
- [6] 朱绍民,张庆,程真霞. 冠心病与静息心率相关性研究[J]. *中国现代药物应用*, 2012, (6) 1: 23 - 25.
- [7] 李培武,伏旭,傅仲学. 内皮素受体及其受体拮抗剂在心血管疾病中的作用[J]. *中国现代应用药学*, 2014, 31(3): 376 - 379.
- [8] 王鹏,李海涛,白华. 褪黑素与心血管疾病相关性研究进展[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2009, 1(2): 115 - 116.
- [9] 郭敬宾,何非,宋旭东. 部分睡眠剥夺对健康大鼠心电图活动及血管内皮功能的影响[J]. *解放军医学杂志*, 2010, 35(6): 691 - 695.
- [10] 张亚晶,卢才义. 睡眠剥夺对心血管系统的影响及其研究进展[J]. *中华老年多器官疾病杂志*, 2008, 7(6): 529 - 532.
- [11] 王蕾,曹长春. 心血管疾病的血浆内皮素变化及其临床意义[J]. *中外医疗*, 2010, 15(1): 15 - 16.
- [12] 刘虹,徐庆科,夏伟. 冠心病与炎症因子 IL-6、IL-8、IL-10、hs-CRP 及 TNF 的相关性研究[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2011, 19(9): 1446 - 1448.
- [13] 苏丹,牛小麟,宋安齐. 中药抗心律失常的现状与展望[J]. *现代中西医结合杂志*, 2011, 20(25): 3246 - 3248.
- [14] 王令淳,李七一. 冠心病内皮功能紊乱的中医药诊治进展[J]. *南京中医药大学学报*, 2009, 25(3): 238 - 240.

[修回日期] 2015-06-10