

睡眠剥夺诱发氧化应激反应研究进展

江 波,赵忠新* (第二军医大学长征医院神经内科,上海 200003)

[摘要] 睡眠剥夺作为一种应激源,类似于饥饿、缺氧等,可造成机体正常生理功能紊乱,引起免疫功能下降、学习记忆能力下降及情绪障碍等。氧化应激普遍存在于细胞内,与衰老、阿尔茨海默病、帕金森病等多种神经系统变性疾病相关。目前有研究表明睡眠剥夺可通过多种途径诱发机体的氧化应激,具体包括睡眠剥夺后导致能量消耗代谢及自由基的增多、机体抗氧化能力降低以及通过内质网应激间接引起氧化应激三条途径,本文就此作一综述。

[关键词] 睡眠剥夺;氧化应激

[中图分类号] R 395.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2007)02-0201-03

Oxidative stress induced by sleep deprivation: an update

JIANG Bo, ZHAO Zhong-xin* (Department of Neurology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China)

[ABSTRACT] Sleep deprivation, as a stress just like starvation and anoxia, can induce the physiological function changes, such as emotion disorders, cognition disorders, and immune disorders. Oxidative stress is common in cells and is closely related to aging, Alzheimer disease, Parkinson diseases, etc. Previous studies showed that sleep deprivation could induce oxidative stress via different pathways, namely, the increase of the metabolic rate and free radicals, the depress of antioxidant ability, and the indirect effects of endoplasmic reticulum stress. In this review we summarize the recent progress on the above fields.

[KEY WORDS] sleep deprivation; oxidative stress

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28(2): 201-203]

现代社会中人们睡眠时间呈逐渐减少趋势,许多情况如工作、疾病等因素常导致睡眠剥夺(sleep deprivation, SD),睡眠剥夺已成为睡眠障碍的一种表现形式。睡眠剥夺对机体可造成危害,临床及动物试验均表明睡眠剥夺可引起一系列综合征:进食增多及体重下降,能量消耗增多,血清儿茶酚胺类激素增多,免疫功能下降及条件性致病菌感染机会增加等^[1-3],晚期可出现致命性败血症^[4]。氧化应激普遍存在于细胞内,与多种神经系统变性疾病相关,近年来有不少有关睡眠剥夺与氧化应激关系的研究,本文综述如下。

1 细胞的氧化及抗氧化系统

细胞主要的氧化物包括活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)及活性氮簇(reactive nitrogen species, RNS), ROS主要是线粒体电子链传递中的副产品,同时也与烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶、黄嘌呤氧化酶等有关, RNS主要与一氧化氮合酶有关^[5-6]。机体的抗氧化防御系统主要包括抗氧化酶和抗氧化复合物,抗氧化酶包括超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidases GSH-PX)、过氧化氢酶及谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GSH-R)等,其中 SOD 又包括含铜、锌超氧化物歧化酶(Cu/Zn-SOD)及含锰超氧化物歧化酶(Mn-SOD)。抗氧化复合物主要包括还原型谷胱甘肽、维生素 C、维生素 E 及食物中的黄酮类等^[7]。另外机体内的一部分游

离氨基酸、多肽及蛋白质在维持较高浓度时可发挥低水平的抗氧化活性^[8]。正常情况下机体内的氧化物与抗氧化系统保持着动态的平衡。当各种因素导致 ROS 等自由基生成过多或抗氧化防御系统功能降低, ROS 等可对细胞脂质、蛋白质、DNA 等造成氧化破坏,引起氧化应激^[8]。

2 睡眠剥夺与氧化应激产物的关系

目前有证据表明睡眠剥夺可诱发机体的氧化应激。Silva 等^[9]利用多平台技术对大鼠进行 72 h 睡眠剥夺后发现睡眠剥夺组海马脂质过氧化物丙二醛(maleic dialdehyde, MDA,被认为是一种氧化应激的敏感标记物)水平较对照明显增多,而褪黑素或维生素 E 等抗氧化剂可降低睡眠剥夺组海马 MDA 水平^[10]。国内唐庆娟等^[11]利用转盘法给以大鼠连续 72 h 完全睡眠剥夺后发现血浆 MDA 增多,提示机体受到氧化损害,De oliveria 等^[12]对 Wistar 大鼠进行 96 h 选择性快速眼动睡眠剥夺(REM-SD)后发现既往已经建立的氧化应激的重要指标——血浆硫代巴比妥酸反应物质(thio-

[基金项目] 上海市科技发展基金(024119029);第二军医大学长征医院“十一五”“三重三优”学科人才建设计划基金。Supported by the Shanghai Science & Technology Development Foundation (024119029) and the Key Superior Program of Changzheng Hospital.

[作者简介] 江 波,硕士,主治医师。

E-mail: jiangbo304@126.com

* Corresponding author. E-mail: zhaozx@medmail.com.cn

barbituric acid reactive substances, TBARS)/谷胱甘肽^[13], 睡眠剥夺组明显高于对照组。

3 睡眠剥夺诱发氧化应激的机制

关于睡眠剥夺诱发氧化应激的机制主要有以下几种:

(1)睡眠剥夺后能量代谢增加导致 ROS 等自由基产生过多。(2)机体抗氧化防御系统能力降低。(3)睡眠剥夺后内质网应激间接激活氧化应激等。本文就上述几个方面分别加以叙述。

3.1 能量代谢及自由基产量的增加 许多研究表明睡眠剥夺后机体处于高代谢状态,能量消耗增加,临床表现为进食增多及体质量下降等^[1,14-16],同时也有报道认为睡眠剥夺可引起糖原的减少及自由基产量的增加^[17]。Everson 等^[18]发现大鼠 REM-SD 10 d 时进食量较剥夺前增加了 77%,剥夺 10 d 恢复睡眠 2 d 后体质量仍较剥夺前减少了 16%。Koban 等^[19]发现大鼠 REM-SD 20 d 时平均食物摄入较剥夺前增加了 120%,平均丧失了其剥夺前体质量的 11%,同时与代谢有关的指标氧消耗较基线增加了 66%,由此证明 REM-SD 大鼠代谢率明显增高。同时血浆中的一种降低食欲的激素瘦素(leptin)在睡眠剥夺时受到抑制,导致了进食过量的进一步发展,解偶联蛋白 1(uncoupling protein 1,UCP1,一种线粒体内部的膜蛋白)作为一种调节代谢亢进的物质,可使棕色脂肪组织中线粒体质子势产生的能量作为热量消散而取代了 ATP 的形成,在 REM-SD 大鼠中明显增多^[19]。对人类睡眠剥夺的研究也发现了类似的结果,Spiegel 等^[20]对 12 个青年男性进行 2 d 的部分睡眠剥夺后发现与对照组相比睡眠剥夺组血浆中 leptin 减少了 18%,而与促进食欲有关的激素 ghrelin 增加了 28%。Taheri 等^[21]的研究也发现睡眠时间的减少可引起 leptin 的减少及 ghrelin 的增多。Netchiporouk 等^[22]在对自由活动大鼠的观察中发现觉醒较睡眠状态具有更高的基础代谢率。Bonnet 等^[23]在对慢性失眠患者的代谢率研究中发现慢性失眠患者的氧消耗较对照组有明显增加。Maquet^[23]发现主要依靠线粒体呼吸作用的脑的能量代谢在清醒时明显高于 NREM 睡眠。Cirelli^[24]在对睡眠剥夺影响脑基因表达的研究中发现在 3~11 h 的自然觉醒或睡眠剥夺时与能量代谢有关的编码细胞色素氧化酶 I 及 I 型葡萄糖载体的基因表达上调,考虑为机体为满足觉醒或睡眠剥夺时增加的能量代谢需求而作出的适应性调整。睡眠剥夺后引起的能量代谢增高必然导致线粒体电子链传递中因电子泄露产生的 ROS 增加,当其超过抗氧化防御系统功能的上限即可引起氧化应激。

3.2 机体抗氧化防御系统能力降低 睡眠剥夺后可引起抗氧化防御系统能力降低。D'Almeida 等^[25]使用改良多平台技术在在大鼠睡眠剥夺 96 h 后发现睡眠剥夺组鼠下丘脑谷胱甘肽水平与环境对照及空白对照组相比分别下降了 18% 及 31%,丘脑谷胱甘肽水平与空白对照组相比也有明显下降。Ramanathan 等^[26]对大鼠进行了 5~11 d 不等的 REM-

SD,发现海马及脑干的 Cu/Zn-SOD 酶活性较对照组明显下降,而在氧化应激条件下过量的 ROS 具有抑制 SOD 活性的能力^[27],考虑 Cu/Zn-SOD 酶活性下降可能与睡眠剥夺后过量产生的 ROS 有关,由此可能形成正反馈循环加速 ROS 的聚集对蛋白等造成氧化损伤。Silva 等^[9]利用多平台技术对大鼠进行 72 h 睡眠剥夺后发现睡眠剥夺组与对照组相比海马谷胱甘肽总量减少的同时氧化型谷胱甘肽(oxidized glutathione,GSSG)/GSH 增高。唐庆娟等^[11]利用转盘法给以大鼠连续 72 h 完全睡眠剥夺后发现血浆 GSH 减少,谷胱甘肽过氧化物酶及谷胱甘肽还原酶活性降低,提示机体抗氧化能力降低。Everson 等^[18]发现大鼠 REM-SD 5 d 及 10 d 时,肝脏谷胱甘肽总量均较对照组下降了 30%,同时过氧化氢酶活性在睡眠剥夺 5 d、10 d 时较对照组分别下降了 23% 及 36%。上述研究表明睡眠剥夺可引起抗氧化酶及抗氧化复合物的减少,机体抗氧化防御能力下降。

3.3 内质网应激交叉激活氧化应激 既往研究表明睡眠剥夺可引起内质网应激(endoplasmic reticulum stress,ERS)^[28],我科睡眠实验室先前的工作也有类似发现。目前有证据表明内质网应激可激活氧化应激。Tu 等^[29]报道内质网可通过二硫键氧化还原方式直接产生 ROS。Haynes 等^[30]使用 ROS 敏感的荧光染色技术发现在内质网应激持续存在时细胞 ROS 产生明显增多,其认为细胞在发生内质网应激时通过未折叠蛋白反应(unfolded protein response,UPR)减轻损害,严重的、持续的 ERS 可导致 UPR 持续激活,此时细胞通过内质网上 UPR 调控的氧化蛋白折叠及线粒体 2 种途径引起 ROS 产生过多,持续的 ERS 及增加的 ROS 可引起线粒体功能紊乱,导致线粒体产生 ROS 增多,同时细胞内的谷胱甘肽在减少不稳定的及错误折叠的二硫键时受到消耗,氧化物与抗氧化能力的失衡最终引起氧化应激损害,内质网介导的蛋白降解(ER-associated protein degradation,ERAD)有助于减轻氧化应激损害。Harding 等^[31]的研究也认为持久的 ERS 可引起酵母及哺乳动物细胞的氧化应激。上述研究结果与 Merad-Boudia 等^[32]报道的谷胱甘肽的减少可引起线粒体功能紊乱及 ROS 产生增多相符合。

综上所述,睡眠剥夺后可通过自由基产生过多、细胞抗氧化能力降低途径及内质网应激途径引起氧化应激。目前有部分学者对睡眠剥夺后引起氧化应激持否定态度,主要考虑目前的实验条件无法完全排除其他实验因素对结果的干扰,如水平平台睡眠剥夺模型中的水刺激、固定化刺激及寒冷刺激等因素也可作为应激因素对实验结果产生影响,同时睡眠剥夺选择性引起不同脑区抗氧化能力下降的具体机制等问题仍不明了,上述问题需要在以后的研究中加以明确。

[参考文献]

- [1] Rechtschaffen A, Bergmann B M. Sleep deprivation in the rat: an update of the 1989 paper[J]. Sleep, 2002, 25: 18-24.
- [2] Everson C A, Toth L A. Systemic bacterial invasion induced by sleep deprivation[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physi-

- ol,2000, 278: 905-916.
- [3] Bonnet M H, Arand D L. Insomnia, metabolic rate and sleep restoration[J]. *J Intern Med*, 2003,254: 23-31.
- [4] Everson C A, Crowley W R. Reductions in circulating anabolic hormones induced by sustained sleep deprivation in rats[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2004, 286:1060-1070.
- [5] Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function[J]. *Physiol Rev*, 2002,82:47-95.
- [6] Murrant C L, Reid M B. Detection of reactive oxygen and reactive nitrogen species in skeletal muscle [J]. *Microsc Res Tech*, 2001,55: 236-248.
- [7] Schulz J B, Lindenau J, Seyfried J, et al. Glutathione, oxidative stress and neurodegeneration [J]. *Eur J Biochem*, 2000, 267:4904-4911.
- [8] Ran Q T, Liang H Y, Gu M J, et al. Transgenic mice overexpressing glutathione peroxidase 4 are protected against oxidative stress-induced apoptosis [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279: 55137-55146.
- [9] Silva R H, Abilio V C, Takatsu A L, et al. Role of hippocampal oxidative stress in memory deficits induced by sleep deprivation in mice[J]. *Neuropharmacology*, 2004,46:895-903.
- [10] Abilio V C, Vera JA, Ferreira L S, et al. Effects of melatonin on orofacial movements in rats [J]. *Psychopharmacology*, 2002, 161:340-347.
- [11] 唐庆娟, 陶凯忠, 胡森森, 等. 72小时睡眠剥夺大鼠的氧化应激[J]. *中国行为医学科学*, 2003, 12:500.
- [12] De oliveira A C, D'Almeida V, Hipolide D C, et al. Sleep deprivation reduces total plasma homocysteine levels in rats [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2002,80:193-197.
- [13] Videla L A, Smok G, Troncoso P, et al. Influence of hyperthyroidism on lindane-induced hepatotoxicity in the rat [J]. *Biochem Pharmacol*, 1995,50:1557-1565.
- [14] Papakonstantinou E, Ryan D H, Harris R B. Dietary fish oil does not protect rats exposed to restraint or sleep deprivation stress [J]. *Physiol Behav*, 2003,78: 759-765.
- [15] Suchecki D, Tufik S. Social stability attenuates the stress in the modified multiple platform method for paradoxical sleep deprivation in the rat [J]. *Physiol Behav*, 2000,68: 309-316.
- [16] Youngblood B D, Zhou J, Smagin G N, et al. Sleep deprivation by the "flower pot" technique and spatial reference memory [J]. *Physiol Behav*, 1997,61: 249-256.
- [17] McEwen B S. Sleep deprivation as a neurobiologic and physiologic stressor: Allostasis and allostatic load [J]. *Metabolism*, 2006, 55(10 Suppl 2): S20-S23.
- [18] Everson C A, Laatsch C D, Hogg N. Antioxidant defense responses to sleep loss and sleep recovery [J]. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol*, 2005,288:374-383.
- [19] Koban M, Swinson K L. Chronic REM-sleep deprivation of rats elevates metabolic rate and increases UCP1 gene expression in brown adipose tissue [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2005,289:68-74.
- [20] Spiegel K, Tasali E, Penev P, et al. Brief communication: sleep curtailment in healthy young men is associated with decreased leptin levels, elevated ghrelin levels, and increased hunger and appetite [J]. *Ann Intern Med*, 2004,141: 846-850.
- [21] Taheri S, Lin L, Austin D, et al. Short sleep duration is associated with reduced leptin, elevated ghrelin, and increased body mass index (BMI) [J]. *Sleep*, 2004, 27 (Suppl): A146-A147.
- [22] Netchiporouk L, Shram N, Salvert D, et al. Brain extracellular glucose assessed by voltammetry throughout the rat sleep-wake cycle [J]. *Eur J Neurosci*, 2001,13:1429-1434.
- [23] Maquet P. Functional neuroimaging of normal human sleep by positron emission tomography [J]. *J Sleep Res*, 2000,9: 207-231.
- [24] Cirelli C. Functional genomics of sleep and circadian rhythm: invited review: how sleep deprivation affects gene expression in the brain: a review of recent findings [J]. *J Appl Physiol*, 2002,92:394-400.
- [25] D'Almeida V, Lobo L L, Hipolide D C, et al. Sleep deprivation induces brain region-specific decreases in glutathione levels [J]. *Neuroreport*, 1998,9:2853-2856.
- [26] Ramanathan L, Gulyani S, Nienhuis R, et al. Sleep deprivation decreases superoxide dismutase activity in rat hippocampus and brainstem [J]. *Neuroreport*, 2002,13:1387-1390.
- [27] Yunoki M, Kawauchi M, Ukita N, et al. Effects of lecithinized SOD on sequential change in SOD activity after cerebral contusion in rats [J]. *Acta Neurochir Suppl*, 1998,71:142-145.
- [28] Naidoo N, Giang W, Raymond J, et al. Sleep deprivation induces the unfolded protein response in mouse cerebral cortex [J]. *J Neurochem*, 2005, 92:1150-1157.
- [29] Tu B P, Weissman J S. Oxidative protein folding in eukaryotes: mechanisms and consequences [J]. *J Cell Biol*, 2004, 164:341-346.
- [30] Haynes C M, Titus E A, Antony A. Cooper degradation of misfolded proteins prevents ER-derived oxidative stress and cell death [J]. *Molecular Cell*, 2004,15:767-776.
- [31] Harding H P, Zhang Y, Zeng H, et al. An integrated stress response regulates amino acid metabolism and resistance to oxidative stress [J]. *Mol Cell*, 2003,11:619-633.
- [32] Merad-Boudia M, Nicole A, Santiard-Baron D, et al. Mitochondrial impairment as an early event in the process of apoptosis induced by glutathione depletion in neuronal cells: relevance to Parkinson's disease [J]. *Biochem Pharmacol*, 1998,56: 645-655.

[收稿日期] 2006-09-04

[修回日期] 2007-01-15

[本文编辑] 曹静