文章编号:1000-5404(2005)21-2151-03

论著

长时连续作业对大鼠觉醒能力的损害作用

樊双义[1],谌小维[1],樊宏孝[1],张春青[1],吴 毅[1],薛 丽[1],郑 健[2],胡志安[1] (第三军医大学:[1]基础医学部基础医学教学实验中心,重庆 400038,[2]新桥医院神经内科,重庆 400037)

提 要:目的 建立长时连续作业大鼠模型,并研究长时连续作业对大鼠觉醒能力的影响。**方法** 采取跑台训练方式,使大鼠连续作业两个昼夜周期(48 h),随后测试其夜间的行为状态分布模式、觉醒时间、直立次数以及主动回避行为,以此探索长时连续作业对大鼠觉醒能力的影响作用。**结果** 跑台训练较好地模拟了长时连续作业过程中多种复杂的干扰因素,包括机体运动因素、脑力活动因素、应激和精神紧张因素以及睡眠剥夺因素等;大鼠经过连续作业后,其夜间的行为活动、觉醒时间、警觉能力以及认知功能显著减少或者降低。**结论** 长时连续作业可明显损害大鼠的觉醒能力。

关键词:长时连续作业;疲劳;觉醒;大鼠
中图法分类号:R338.63;R442.9;R749.99 **文献标识码**:A

Impairment of rat awake activities by long-term continuous operations

FAN Shuang-yi[1] CHEN Xiao-wei[1], FAN Hong-xiao[1], ZHANG Chun-qing[1], WU Yi[1], XUE Li[1], ZHENG Jian[2], HU Zhi-an[1] ([1]Experimental Center, College of Medicine, [2]Department of Neurology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To establish a rat model of long-term continuous operations, and investigate the effects of long-term continuous operations on rat awake activities. Methods Rats exercised for two circadian cycles using a treadmill protocol. Subsequently, the effects of long-term continuous operations on rat awake activities were investigated by testing the changes in distribution of behavioral activities, wakefulness time, rearing numbers and shuttle-training active avoidance response time during the subjective day. Results The treadmill protocol was an available way for simulating combined influences in long-term continuous operations circumstance, including physical exercise, cognitive performance, stress and anxiety, and sleep deprivation. Our observations suggested that the alertness levels markedly depressed after long-term continuous treadmill exercise. Conclusion Long-term continuous operations have a deleterious effect on rat awake activities.

Key words: long-term continuous operations; fatigue; wakefulness; rat

现代社会中,很多人需要长时间连续的工作,例如长途司机连续驾驶、连续军事作业等。这些超昼夜周期的工作以及强制性无睡眠或少睡眠的工作势必会对操作人员的行为能力和认知功能造成严重影响,从而降低工作效率[1,2]。如何提高长时连续作业人员的工作效率是当今医学研究亟待解决的重要课题。据文献报道,长时连续作业过程中,人体常常面临多种因素的影响,主要包括体力因素、脑力因素(包括精神心理应激因素)和睡眠剥夺因素等[3]。在本实验中,我们首先通过建立大鼠长时连续作业模型,成功地模拟了连续作业过程中的多种影响因素,随后进一步揭示了长时连续作业对大鼠觉醒能力的影响作用。

1 材料与方法

1.1 动物

健康成年雄性SPF级SD大鼠60只,由第三军医大学实验动物中心提供,体质量(250±10) g。室内环境:明-暗周期12 h:12 h(早上7:00开始给予光照),自然光照,温度24~26 ℃。动物自由饮水、摄食。

1.2 脑电记录

大鼠均安放皮层脑电(electrocorticogram, ECoG)记录电极。戊巴比妥钠麻醉(30 mg/kg,腹腔注射)后,大鼠头部固定于江湾Ⅰ型C立体定向仪框架上,调整门齿沟平面高度使其比耳间线平面低2.4 mm。将铜质螺丝钉分别通过颅骨埋入额叶(前囟后1 mm,中线旁4 mm)和顶叶皮层(前囟后5.5 mm,中线旁4 mm)(参照Paxinos-Watson图谱[4]),以接触到硬脑膜为度,用于记录皮层脑电活动。脑电极以牙科水泥固定于颅骨

基金项目:第三军医大学军事医学创新科研基金资助项目(XJYY200310)
Supported by the Innovative Funds for Military Medicine of Third Military Medical University (XJYY200310)
作者简介:樊双义(1965-),男,山西省运城市人,硕士研究生,主治医师,主要从神经病学方面的研究,现在新桥医院神经内科。电话:(023)68775167
通讯作者:胡志安,电话:(023)68753704, E-mail: zhianhu@yahoo.com.cn
郑 健,电话:(023)68755613
收稿日期:2005-09-20;修回日期:2005-11-01

上。手术结束后，动物在上述室内环境中恢复2周。脑电记录时，记录导线与脑电极相连，然后接入RM6240多道生理信号采集处理系统（成都仪器厂）。参数设置：高频滤波30 Hz，时间常数0.3 s。脑电信号经放大器放大，滤去干扰波，连入A/D板，将记录信号转换为数字信号，此信号输入微机进行处理。

1.3 长时连续作业方法

实验共分为2组：①作业组：大鼠30只，进行长时连续跑台作业，随后分别测试其行为状态分布模式（$n=8$）、觉醒时间（$n=8$）、直立次数（$n=8$）以及主动回避行为（$n=6$）；②对照组：不进行跑台作业，置于鼠笼中，自由活动，进食水时间及其他处理因素与作业组一致（$n=30$）。

长时连续作业在小动物跑台（天津体育学院运动医学研究所提供）上进行。作业过程为：20 min作业+20 min作业暂停，作业和作业暂停视为1个周期。跑台参数设定：作业时坡度0°，速度15 m/min；作业暂停时坡度0°，速度7 m/min。作业暂停过程中，跑台速度较为缓慢，由于跑道长约1 m，则动物可每次可最多有9 s的运动暂停时间，此时运动因素影响作用降到最低，而只是达到睡眠剥夺的目的，因此我们把此过程称为作业暂停。整个过程连续给予电刺激，刺激强度20 V，频率60 Hz，一旦动物进入电刺激区则会受到电击，迫使其继续运动。每4个周期后将动物置于笼中给予自由活动，自由摄食水15 min。作业前所有动物均未进行过跑台适应训练。

本实验采用连续48 h（两个昼夜周期）作业模式，即（18+6）h×2模式，每个昼夜周期包括作业阶段和休息阶段两个部分：①跑台作业阶段：第1天19:00至第2天13:00（18 h），进行跑台作业训练；②休息阶段：第2天13:00～19:00（6 h），置于鼠笼中，自由活动，自由摄食水。

1.4 觉醒能力评价方法

通过四项指标评价动物的觉醒能力，即大鼠觉醒期间（19:00～07:00）的行为状态分布模式、觉醒时间、直立次数以及穿梭箱主动回避行为测试。

观察者经过培训后，通过视频监视器（Vetter，Model 620）对大鼠夜间行为状态进行12 h连续观察和记录；睡眠状态主要通过ECoG进行判断：δ波（0.25～4 Hz）通常可作为慢波睡眠（NREM睡眠）的判定指标[5]。在本实验中，我们根据文献[6]将大鼠觉醒行为分级简化为6级：⓪睡眠；①闭眼，但未入睡；②头部和腹部均贴于地；③腹部贴于地；④活动（包括理毛、头部运动等）；⑤运动（包括走动、摄食及饮水等）。另外，直立次数单独进行计算，以此作为警醒能力的判定指标[6]。直立的判定标准为：大鼠前腿离地站立，站立高度达到身体最大高度的2/3。

大鼠穿梭箱主动回避行为装置（第三军医大学生理学教研室提供）分为两室，由拱形小门相通，两室底分别通以交流电作为非条件刺激；两室壁各有一灯，为条件刺激。实验时将鼠置于室内适应2 min后，由微机控制铜栅通电和灯光，按设定程序自动训练大鼠主动回避反应的习得情况，每天训练20次，共训练2 d。主动回避反应习得程序为：条件刺激持续10 s，其后5 s同时给予非条件刺激，当仅有条件刺激出现时，大鼠就逃至另外一室，判断为主动性回避反应，否则判为错误。

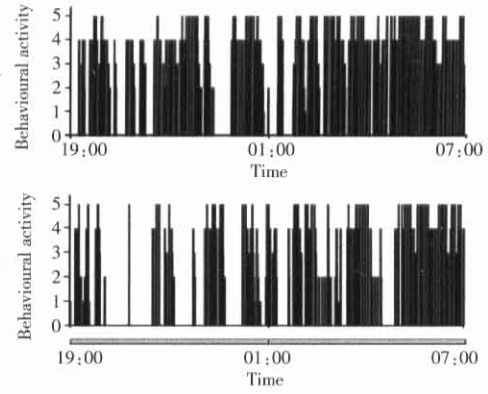
1.5 统计学处理

采用SPSS 10.0软件进行t检验和χ^2检验。

2 结果

2.1 长时连续作业对大鼠行为模式的影响

首先连续12 h观察大鼠夜间的行为状态，并将记录的行为按前述六个等级进行分类统计，以直方图表示。如图1所示，经过48 h连续作业训练之后，与对照组比较，大鼠夜间的活动明显减少（$n=8$，$P<0.05$）。该结果提示，长时连续作业可显著降低机体的行为活动水平。



A: Control animal; B: Treadmill-treated animal; 0: Asleep; 1: Eyes close; 2: Head and body resting on floor; 3: Body resting on floor (head raised off from floor, but not engaged in any activity); 4: Activity (including grooming *etc.*); 5: Horizontal locomotion (including feeding, drinking *etc.*)

图1 长时连续作业后大鼠夜间行为活动的分布情况

Fig 1 Distribution of behavioural activity during the subjective day after long-term continuous operations

2.2 长时连续作业对大鼠觉醒时间的影响

长时连续跑台作业结束后，记录大鼠夜间12 h的觉醒时间。结果显示，对照组平均觉醒时间（552±25）min与实验组觉醒时间（462±21）min比较，两组结果有显著性差异（$n=8$，$P<0.05$）。因此，经过长时连续作业后，大鼠觉醒时间明显减少。

2.3 长时连续作业对大鼠警醒能力的影响

我们将夜间直立次数作为判定大鼠觉醒能力的重要指标。当跑台作业结束后，连续记录大鼠夜间的直立次数。结果表明，实验组直立次数（10±4）次明显少于对照组（35±6）次（$n=8$，$P<0.05$）。因此，长时连续作业之后，大鼠警醒能力显著下降。

2.4 长时连续作业对大鼠认知功能的影响

长时连续作业后，将动物进行两天穿梭箱主动回避行为测试，测试均在夜间21:00进行。结果显示，无论是在作业训练结束后的第1天[平均反应时间为（8.6±2.2）s]，还是在第2天[（7.1±2.5）s]，实验组大鼠反应能力均明显弱于对照组[（5.3±1.9）s]，（$n=6$，$P<0.05$）。因此，长时连续作业可以降低机体的认知能力。

3 讨论

建立长时连续作业动物模型对于长时连续作业相

关问题的深入研究有着非常重要的意义。然而，由于在长时间连续作业过程中，机体常常要面临多种复杂的干扰因素，试图在同一模型中模拟各种因素较为困难，因此，国内外至今少见一种合适的长时作业动物模型[7]。在本实验中，我们合理利用传统的小动物跑台装置，并以此为基础建立长时连续作业大鼠模型。该装置以及我们自行设计的连续作业模式较好地包含了各种干扰因素，如长时运动因素、躲避电刺激的脑力活动因素（条件反射）、电刺激所致的应激和精神紧张因素以及睡眠剥夺因素等，从而较好地模拟了多种复杂的作业环境[3]。

现有的文献大多只是单纯描述一种或是两种因素对动物觉醒能力的干扰作用，而长时连续作业所包含的复合因素对动物觉醒能力的影响作用却报道较少。例如，睡眠研究者只是集中于探索睡眠剥夺对动物的觉醒行为和认知能力的影响[8]。在本实验中，我们通过测试大鼠夜间的行为模式、觉醒时间、警醒能力以及认知功能来检测长时间连续作业对大鼠觉醒能力的影响。结果显示，长时连续作业训练后，大鼠的觉醒能力以及认知功能明显下降。因此，我们的研究明确地揭示了长时连续作业过程中的各种复杂因素对动物觉醒能力的损害作用。然而，这种损害作用与单一因素（如睡眠剥夺、疲劳和应激等）对觉醒能力的影响作用的不同之处还有待进一步研究。

长时连续作业大鼠模型的成功建立，为研究如何防护长时连续作业所致健康问题以及如何提高作业人员工作效率奠定了良好的基础。进一步地，我们试图将长时连续作业对觉醒能力的影响作为切入点，随后的问题便是长时连续作业通过何种机制损害机体觉醒能力，以此寻找解决长时连续作业相关问题的有效途径。

参考文献：

[1] Porrino L J, Daunais J B, Rogers G A, *et al*. Facilitation of task performance and removal of the effects of sleep deprivation by an ampakine (CX717) in nonhuman primates[J]. PLoS Biol, 2005, 3(9):e299.

[2] Lieberman H R, Bathalon G P, Falco C M, *et al*. Severe decrements in cognition function and mood induced by sleep loss, heat, dehydration, and undernutrition during simulated combat[J]. Biol Psychiatry, 2005, 57(4): 422-429.

[3] Gomez Merino D, Drogou C, Chennaoui M, *et al*. Effects of combined stress during intense training on cellular immunity, hormones and respiratory infections[J]. Neuroimmunomodulation, 2005, 12(3):164-172.

[4] Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates[M]. 3rd ed. San Diego: Academic Press, 1997. F22,40.

[5] Beranek L, Obal F Jr, Taishi P, *et al*. Changes in rat sleep after single and repeated injections of the long-acting somatostatin analog octreotide [J]. Am J Physiol, 1997, 273(4 Pt 2): R1484-R1491.

[6] Espana R A, Plahn S, Berridge C W. Circadian-dependent and circadian-independent behavioral actions of hypocretin/orexin[J]. Brain Res, 2002, 943(2): 224-236.

[7] Hursh S R, Redmond D P, Johnson M L, *et al*. Fatigue models for applied research in warfighting[J]. Aviat Space Environ Med, 2004, 75 (3 Suppl): A44-A53.

[8] Everson C A, Smith C B, Sokoloff L. Effects of prolonged sleep deprivation on local rates of cerebral energy metabolism in freely moving rats [J]. J Neurosci, 1994, 14(11 Pt 2): 6769-6778.

（编辑　薛国文）

（上接2147页）

3　讨论

附加固位沟可以提高基牙粘结总面积和抗剪切力粘结面积，增加固位力，特别是牙冠短小的患牙。固位附沟的侧壁可以有效的阻挡全冠旋转，防止脱位。半解剖式牙尖牙尖斜度约为20°，上下颌牙尖有一定的锁结关系[3]，既有较高的咀嚼效能，又减小了侧向张力，降低冠脱落的几率。经观察，上述两种方法临床制备简单，易采用。

联冠修复固位效果最佳，但受邻牙条件限制，不能广泛应用。如选好适应证，将取得一举两得的效果。良好固位力的获得有赖于牙冠高度及制备后相互平行的轴壁[4]。牙体预备较单冠复杂，操作水平要求高。

加宽颈部肩台可增加修复体抗旋转脱位，延长临床牙冠也可以加强固位力。对于龈下颈缘的预备，有研究认为边缘线置于龈沟内的深度避免延伸至上皮附着区[5,6]。此方法操作难度大，肩台的深度肉眼观察有误差，当边缘到达龈沟底时，会引发较严重的龈炎[2]。临床观察，采用此方法修复的成功率仅为75%，对口腔卫生习惯不好的患者慎用。

关键词：固位型；半解剖式牙尖；联冠；肩台
中图法分类号：R783.3　　文献标识码：B

参考文献：

[1] Parker M H, Calverley M J, Gardner F M, *et al*. New guidelines for preparation taper[J]. J Prosthodont, 1993, 2(1): 61-66.

[2] Tarnow D, Stahl S S, Magner A, *et al*. Human gingival attachment responses to subgingival crown placement. Marginal remodelling[J]. J Clin Periodontol, 1986, 13(6): 563-569.

[3] 徐君伍. 口腔修复学[M]. 第4版. 北京：人民卫生出版社，2000. 205.

[4] 陈　群，周主碧. 短冠磨牙的嵌体冠修复[J]. 口腔医学纵横杂志，2000, 16(2): 115-116.

[5] Goodacre C J, Campagni W V, Aquilino S A. Tooth preparations for complete crowns: an art form based on scientific principles[J]. J Prosthet Dent, 2001, 85(4): 363-376.

[6] 李卡如，徐　昙，吴拓宇. 改良颌间支点牵引法矫治个别后牙锁𬌗12例[J]. 郑州大学学报(医学版)，2004, 39(5): 917-918.

（编辑　陈聪连）