

论著

一种辅助改善记忆保健食品功能评价的动物模型

卜兰兰^{1,2}, 石哲², 孙秀萍^{2,3}, 刘新民², 赵明耀¹, 高江晖^{2,4}

(1. 郑州大学基础医学院 病理生理教研室, 河南 郑州 450001;

2. 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193;

3. 山东中医药大学, 山东 济南 250355; 4. 暨南大学, 广东 广州 510632)

摘要:目的 为辅助改善记忆类保健食品的功能评价提供新的动物模型。方法 使用滚筒睡眠干扰仪对小鼠进行不同时间(5、10、15 d)睡眠干扰后,用自主活动仪检测自主活动,水迷宫、避暗试验检测认知功能。结果 干扰5 d组小鼠的自主活动、水迷宫定位航行和空间探索、避暗训练和检测各指标与对照组比较,差异无统计学意义;干扰10 d组与对照组比较,自主活动总路程、平均速度、运动总时间增加,水迷宫定位航行潜伏期从第4 d起增加,空间探索穿台次数的差异无统计学意义,避暗训练错误次数、潜伏期、暗室路程增加,避暗检测的差异无统计学意义;干扰15 d组与对照组比较,自主活动差异无统计学意义,水迷宫定位航行潜伏期增加、空间探索穿台次数减少,避暗训练错误次数、潜伏期、暗室时间、暗室路程增加,明室时间显著减少,避暗检测差异无统计学意义。结论 采用本法,干扰5 d对小鼠自主活动和认知功能无影响,干扰10 d影响小鼠自主活动、损害其空间学习和避暗学习能力,干扰15 d不影响小鼠自主活动、损害其空间学习记忆和避暗学习能力,可为辅助改善记忆类保健食品的功能评价提供新的动物模型。

关键词: 辅助改善记忆;保健食品;自主活动;水迷宫;避暗;ICR小鼠

中图分类号: TS218 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-8456(2011)05-0402-05

An animal model for evaluating the effect of memory improvement assisted by functional foods

Bu Lanlan, Shi Zhe, Sun Xiuping, Liu Xinmin, Zhao Mingyao, Gao Jianghui

(Department of Pathophysiology, Basic Medical College, Zhengzhou University,
Henan Zhengzhou 450001, China)

Abstract: Objective To provide an animal model for the evaluation of memory improvement assisted by functional foods. **Methods** The behavior performance of mice after sleep interruption (SI) by a rotating drum for 5, 10 and 15 days were inspected by Open Field test (OF), Morris Water Maze test (MWM) and Dark Avoidance test (DA). **Results** The activities and cognitive ability of mice were not different between 5d SI group and 5d control group. Comparing the 10d SI group with 10d control group, the total distance, movement speed, total duration of movement in OF were increased, and the latency of place navigation in MWM was increased from Day 4, but there was no difference on the number of crossing in target quadrant. Error times, latency and distance in dark box were increased, but there was no difference in testing course. There was no difference on the activities of 15d SI group and 15d control group in OF, while for the 15d SI group, the latency from Day4 in MWM was increased, and the number of crossing in target quadrant was decreased in spatial probe course. Error times, latency, time and distance in dark box were increased, and the time in light box was significantly decreased in training course of DA, but there was no difference in testing course. **Conclusion** There was no effect of SI on spontaneous activities and cognition in mice after 5 d SI; Spontaneous activity was affected, and both spatial learning ability in MWM and learning ability in DA were impaired after 10 d SI; Spontaneous activity was not affected, while both spatial learning & memory in MWM and learning ability in DA were impaired after 15 d SI. The method could be used for establishing animal models in the evaluation of memory improvement effects of functional foods.

Key words: Memory improvement effects; functional food; spontaneous activity; Morris water maze; dark avoidance; ICR mice

收稿日期: 2011-01-24

基金项目: 国家科技重大专项新药创制(2009ZX09502-014, 2009ZX09103-336); 国家自然科学基金(30973888)

作者简介: 卜兰兰 女 硕士生 研究方向为神经药理学 E-mail: bulanlan216@163.com

通信作者: 刘新民 男 教授 研究员 博士生导师 E-mail: liuxinmin@hotmail.com

赵明耀 男 教授 硕士生导师 E-mail: zmy66@zzu.edu.cn

辅助改善记忆是国家受理评审的保健食品功能之一^[1]。目前对辅助改善记忆类保健食品的功能评价除人体试食试验外,还有正常动物或学习记忆损害模型动物试验^[2]。学习记忆损害动物模型常见的有 β 淀粉样蛋白(A β)模型、东莨菪碱模型、衰老动物模型、损伤模型等^[3]。这些模型常用于药效学研究。本实验采用滚筒法对小鼠进行5、10、15 d睡眠干扰,旨在通过观察滚筒法不同时长睡眠干扰对小鼠自主活动、水迷宫学习记忆和避暗学习记忆能力的影响,为辅助改善记忆保健食品功能评价提供新的动物模型。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

ICR小鼠,SPF级,120只,雄性,5~6周龄,购自军事医学科学院实验动物中心,许可证号[SCXK(军)2007-004]。在SPF级动物房适应性饲养3 d后实验,合格证号[SYXK(京)2003-0009]。

采用随机数法将动物分为12组(水迷宫组:A,5 d睡眠干扰组;B,5 d对照组;C,10 d干扰组;D,10 d对照组;E,15 d干扰组;F,15 d对照组。避暗组:G,5 d干扰组;H,5 d对照组;I,10 d干扰组;J,10 d对照组;K,15 d干扰组;L,15 d对照组),分笼饲养,每组10只,自由摄食饮水。实验室安静,温度24℃,12 h照明/12 h黑暗环境(8 AM开灯)。动物饲养管理和实验操作符合《北京市实验动物管理条例》等法规和实验动物伦理要求。该试验经中国医学科学院药用植物研究所伦理委员会批准。

1.2 实验仪器

小鼠自主活动实时检测分析处理系统、小鼠Morris水迷宫计算机自动控制和图像分析处理系统、小鼠避暗实验检测系统、大小鼠睡眠干扰仪均由中国航天员科研训练中心与中国医学科学院药用植物研究所联合研发。

1.3 实验方法

1.3.1 睡眠干扰实验

大小鼠睡眠干扰仪由滚筒和控制机箱组成。设定控制参数,使滚筒以不同模式转动对滚筒内饲养动物进行不同时长睡眠干扰。方案如下:

每天3 h(8~11 AM),连续3 d滚筒适应(1 min/r,间隔5 min)后,将所有干扰组动物放入滚筒(8 AM),滚筒以1 min/r间隔5 min模式^[4]运转并开始计时。5 d时间到(8 AM),取出A、B、G、H组进行自主活动检测后,A、B组进行水迷宫定位航行实验,G、H组进行避暗训练。当天检测结束,将干扰组放回滚筒中继续进行睡眠干扰,对照组放回对照

圆筒内饲养。如此直至相应行为学检测结束。10、15 d组检测方案同5 d组。

1.3.2 自主活动检测

小鼠自主活动实时检测分析处理系统^[5]由一个封闭箱体(80 cm×80 cm×155 cm)、4个可移动锥桶(底直径30 cm,上口直径40 cm,高60 cm)和图像采集分析系统组成。检测时,将小鼠沿壁放入桶内,设定参数后开始实验。软件自动采集分析动物10 min内运动轨迹,通过总路程、平均速度、运动总时间、静息总时间反映动物自主活动情况。

1.3.3 水迷宫实验

小鼠Morris水迷宫计算机自动控制和图像分析处理系统在本实验室原有仪器^[6]基础上开发,由一个不锈钢喷塑圆柱形水池(直径100 cm,高38 cm)和图像采集分析系统组成。平台直径6 cm,高14 cm。按东西南北将水池划分为4象限(NE,SE,SW,NW),象限池壁圆弧中点为动物入水点。向池中注水并用墨汁调黑保证目标准确识别。软件记录动物游泳轨迹,用于指标提取和分析。

1.3.3.1 定位航行

Day1-5:平台固定于NE象限中心,水面下1.5 cm。实验室物品及人员位置固定作为小鼠空间参照物。每天训练3次,每次从不同入水点(SE、SW、NW)将动物面向池壁放入水中。检测时间90 s,在台上停留超过2 s视为寻台成功,每次测试前将动物放在台上适应10 s(前适应),测试完毕无论寻台是否成功均将其放在台上适应10 s(后适应)。将动物入水到寻台成功所需时间记作潜伏期,寻台失败潜伏期记90 s。用潜伏期评价动物空间学习能力。

1.3.3.2 空间探索

Day6:撤去平台,从实台所在象限对角象限SW入水。以90 s内穿台次数评价动物空间记忆能力。

1.3.4 避暗实验

小鼠避暗实验检测系统^[7]由避暗测试箱和图像采集分析系统组成。避暗测试箱为封闭结构,内含两个测试箱,每个测试箱分明暗两室(20 cm×12 cm×60 cm),两室之间均有一个小门(5 cm×3 cm),底部为可独立控制通断电的不锈钢栅栏,应用软件控制实验流程并自动分析动物活动信息,提取指标。

1.3.4.1 避暗训练

Day1:将动物放入明室自由活动5 min适应环境后取出。设置参数:再现模式B(摄像头识别到动物在暗室,暗室栅栏通电,动物离开,暗室断电)、刺激电压31 V、实验时间5 min。将动物放入暗室开始实验,动物遭受电击逃到明室。以5 min内错误

次数(第一次被电不计入错误次数),潜伏期(第一次从暗室到明室的时间)、暗室(错误区)时间、明室(安全区)时间、暗室路程评价动物避暗学习能力。

1.3.4.2 避暗检测

Day2:避暗训练后24 h进行。参数设置同前。将动物放入明室开始实验,以5 min内错误次数(进入暗室的次数),潜伏期(第一次从明室到暗室的时间)、暗室时间、明室时间、暗室路程评价动物避暗记忆能力。

1.4 统计学分析

采用SPSS 13.0软件进行统计分析,两组间比较

采用两独立样本t检验,数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 时差异有统计学意义。各表中均将处理天数相同的干扰组与对照组比较。

2 结果

2.1 睡眠干扰对小鼠自主活动的影响

5、15 d干扰组与对照组比较,各指标差异无统计学意义;10 d干扰组与对照组比较,总路程、平均速度、运动总时间增加($P < 0.05$),静息总时间减少($P < 0.05$),见表1。

表1 睡眠干扰对小鼠自主活动的影响

Table 1 Effects of sleep interruption on the spontaneous activities in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	总路程(cm)	平均速度(cm/s)	运动总时间(s)	静息总时间(s)
5 d 对照组	1622.18 ± 731.43	2.71 ± 1.23	122.92 ± 41.11	476.95 ± 41.08
5 d 干扰组	1539.30 ± 745.89	2.57 ± 1.23	112.76 ± 46.23	487.11 ± 46.23
10 d 对照组	1425.25 ± 671.48	2.38 ± 1.11	110.08 ± 37.92	489.81 ± 37.92
10 d 干扰组	2148.85 ± 828.20 ^a	3.58 ± 1.39 ^a	156.26 ± 43.35 ^a	443.62 ± 43.35 ^a
15 d 对照组	1668.12 ± 442.50	2.78 ± 0.73	126.90 ± 24.73	472.98 ± 24.73
15 d 干扰组	1721.70 ± 738.33	2.87 ± 1.23	131.21 ± 49.65	468.65 ± 49.65

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$ 。

2.2 睡眠干扰对小鼠水迷宫成绩的影响

2.2.1 定位航行

5 d干扰组与对照组比较,定位航行D1-D5潜伏期差异无统计学意义;10 d、15 d干扰组定位航行

D4、D5潜伏期增加($P < 0.05$),其中,10 d干扰组D5、15 d干扰组D4潜伏期显著增加($P < 0.01$),见表2。

表2 睡眠干扰对小鼠水迷宫(定位航行)潜伏期的影响

Table 2 Effects of sleep interruption on latency of MWM (place navigation) in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10, s$)

组别	潜伏期				
	D1	D2	D3	D4	D5
5 d 对照组	84.50 ± 10.75	77.45 ± 14.83	69.30 ± 19.26	73.55 ± 15.36	57.58 ± 20.90
5 d 干扰组	76.96 ± 15.68	61.71 ± 20.17	58.93 ± 18.66	64.37 ± 20.37	65.76 ± 19.61
10 d 对照组	64.01 ± 17.33	60.27 ± 19.01	53.52 ± 20.71	50.26 ± 19.71	39.77 ± 19.54
10 d 干扰组	68.79 ± 18.94	66.60 ± 18.78	65.41 ± 18.88	65.99 ± 20.24 ^a	74.54 ± 16.16 ^b
15 d 对照组	72.52 ± 16.92	54.60 ± 20.18	55.93 ± 18.53	47.95 ± 19.42	47.50 ± 20.30
15 d 干扰组	76.05 ± 14.70	65.46 ± 18.75	59.87 ± 20.87	69.48 ± 18.75 ^b	67.00 ± 18.34 ^a

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$ 。

2.2.2 空间探索

5 d、10 d干扰组与对照组比较,穿台次数差异无统计学意义;15 d干扰组与对照组比较,穿台次数减少($P < 0.05$)。见图1。

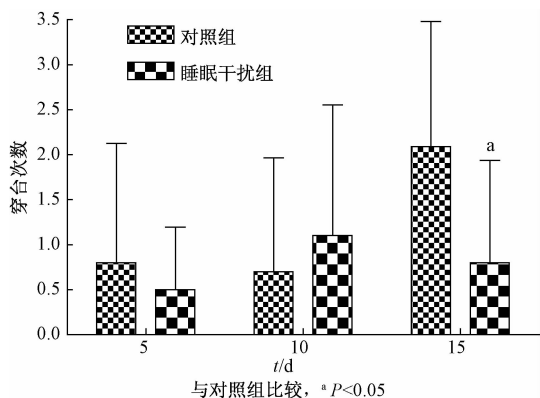


图1 睡眠干扰对小鼠水迷宫(空间探索)穿台次数的影响
Figure 1 Effects of sleep interruption on the number of crossing in target quadrant of MWM (spatial probe) in mice ($n = 10$)

2.3 睡眠干扰对小鼠避暗成绩的影响

2.3.1 避暗训练

5 d干扰组与对照组比较,各指标差异无统计学意义;10 d干扰组与对照组比较,错误次数、潜伏期、暗室路程增加($P < 0.05$);15 d干扰组与对照组比较,错误次数增加($P < 0.05$),潜伏期、暗室时间、暗室路程显著增加($P < 0.01$),明室时间显著减少($P < 0.01$),见表3。

2.3.2 避暗检测

5 d、10 d、15 d干扰组与对照组比较,错误次数、入暗潜伏期、暗室时间、明室时间、暗室路程差异无统计学意义,见表4。

3 讨论

目前,国家受理评审的保健食品功能项目名单中共有27项功能,辅助改善记忆功能为其中之一^[1]。对辅助改善记忆功能的保健食品的研究,按

表3 睡眠干扰对小鼠避暗训练的影响

Table 3 Effects of sleep interruption on DA (Training) in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	错误次数	潜伏期(s)	暗室时间(s)	明室时间(s)	暗室路程(cm)
5 d 对照组	3.20 ± 1.99	6.22 ± 3.35	34.28 ± 37.82	265.27 ± 37.92	168.30 ± 119.20
5 d 干扰组	3.70 ± 2.50	12.38 ± 12.74	37.74 ± 24.57	261.67 ± 24.51	202.18 ± 134.33
10 d 对照组	0.9 ± 1.30	2.70 ± 1.96	3.99 ± 3.29	295.54 ± 3.16	44.23 ± 37.98
10 d 干扰组	1.90 ± 0.98 ^a	4.61 ± 2.18 ^a	6.47 ± 5.31	293.16 ± 5.41	73.59 ± 37.35 ^a
15 d 对照组	1.50 ± 0.85	2.13 ± 2.47	2.96 ± 2.50	296.39 ± 2.66	54.58 ± 33.58
15 d 干扰组	3.00 ± 1.93 ^a	6.49 ± 3.42 ^b	12.43 ± 6.55 ^b	287.20 ± 6.70 ^b	130.32 ± 56.79 ^b

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$ 。

表4 睡眠干扰对小鼠避暗检测的影响

Table 4 Effects of sleep interruption on DA (Testing) in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	错误次数	入暗潜伏期(s)	暗室时间(s)	明室时间(s)	暗室路程(cm)
5 d 对照组	0.90 ± 0.73	0.64 ± 0.63	0.70 ± 0.66	298.81 ± 0.79	21.65 ± 19.26
5 d 干扰组	1.10 ± 0.32	2.40 ± 3.13	2.48 ± 3.13	297.02 ± 3.13	56.35 ± 54.52
10 d 对照组	0.40 ± 0.70	0.19 ± 0.44	0.51 ± 1.26	299.01 ± 1.39	8.47 ± 17.61
10 d 干扰组	0.50 ± 0.54	0.22 ± 0.28	0.22 ± 0.28	299.22 ± 0.54	8.68 ± 9.17
15 d 对照组	0.30 ± 0.47	0.11 ± 0.22	0.11 ± 0.22	299.41 ± 0.28	4.15 ± 6.70
15 d 干扰组	0.40 ± 0.51	0.10 ± 0.13	0.10 ± 0.13	299.32 ± 0.25	6.44 ± 8.32

照《保健食品功能学评价程序和检验方法》中“改善记忆作用”的原则及方法进行^[1,2]。研究虽常选用正常动物或学习记忆障碍模型动物^[8-10],但尚未见用于辅助改善记忆保健食品功能评价的经典动物模型报道。目前的学习记忆障碍动物模型如 $A\beta$ 模型、东莨菪碱模型、衰老模型等在药效学研究中应用较为广泛,可能因其损害较为严重而在辅助改善记忆保健食品功能评价中应用较少。大量文献表明,睡眠障碍与学习记忆受损关系密切^[11-14]。而在睡眠干扰模型制作中,小平台法因简单易行从而在国内得到广泛应用,但存在制动、频繁落水等应激刺激及造模时间过长可造成动物落水死亡等问题^[15,16]。本文采用的滚筒法不完全睡眠干扰使用计算机控制滚筒以模式(1 min/r,间隔 5 min)自动运转,在不干扰动物自由摄食饮水等生理活动的情况下对其进行睡眠干扰,刺激温和,适用于辅助改善记忆类保健食品功能评价的研究。

有研究表明,小平台法干扰 24、72、96 h 能引起动物认知功能减退^[16-18]。而滚筒法不同时间睡眠干扰对动物自主活动和认知功能的影响未见报道。本文的预实验参照小平台法时间(1、3、5 d)对小鼠进行睡眠干扰后,水迷宫和避暗试验显示,其学习记忆能力并未受到损害。之后的预实验延长睡眠干扰时间,发现 10、15 d 干扰后小鼠水迷宫和避暗试验表现出学习记忆受损。重复 5、10、15 d 睡眠干扰实验,所得结果与预实验结果一致。

本研究结果表明,干扰 5d 对小鼠自主活动无影响,干扰 10 d 自主活动兴奋性增加。有研究报道,小平台法干扰 5d 即引起动物自主活动兴奋性增

加^[19]。说明睡眠干扰一定时间会引起自主活动兴奋性增加,但采用不同干扰方法导致兴奋性发生时间有所差异。本研究结果显示,兴奋性发生时间比小平台法有所延迟,可能是采用的干扰方法较温和,动物受到应激较小所致。有研究显示,小平台法干扰后动物自主活动兴奋性增加与脑内多巴胺含量增加有关^[20]。滚筒法干扰 10 d 动物兴奋性增加可能与其相关,尚需进一步研究。干扰 15 d 对动物自主活动无影响,可能是因为动物对滚筒滚动已经产生了适应。延长干扰时间(超过 15 d)对动物自主活动有何影响,有待进一步研究。

本研究结果显示,使用滚筒法干扰 5 d 对小鼠水迷宫和避暗学习记忆没有影响,干扰 10 d 损害其水迷宫、避暗学习能力,干扰 15 d 除损害其水迷宫、避暗学习能力外,还损害其空间记忆能力。随着干扰时间延长,学习记忆能力损害加重。众所周知,水迷宫考察动物海马依赖性学习记忆。避暗是利用啮齿类动物趋暗避明习性设计的抑制性回避任务,该任务涉及到的关键脑区也包括海马^[21]。有研究表明,小平台法干扰 72 h 后,海马依赖性学习记忆受损可能与睡眠干扰后海马 CA1 区神经元兴奋性降低、CA1 区和齿状回 LTP(长时程突触增强)受抑制有关^[22];小平台法干扰 72 h 后,水迷宫和避暗认知功能减退与脑还原型谷胱甘肽和过氧化氢酶降低、乙酰胆碱酯酶水平升高、去甲肾上腺素和多巴胺水平降低相关^[23];干扰 3、5 d 大鼠学习能力下降与海马 NO 及 NOS 含量升高有关^[24];干扰 4、6 d 大鼠学习能力下降与海马乙酰胆碱含量降低有关^[25]。滚筒法干扰 10 d 以上损害小鼠水迷宫和避

暗认知功能以及随干扰时间延长损害加重可能与海马发生以上氧化应激和神经递质改变相关,有待进一步研究。干扰5 d对学习记忆能力无影响,可能是干扰方法温和且时间较短所致。避暗检测显示小鼠避暗记忆能力并未受损,这可能与动物遭受电击后获得的恐惧记忆会稳固保持较长时间有关^[21]。本法干扰15 d不但损害小鼠学习能力,还损害其记忆能力,且鉴于保健食品作用的缓和性和使用的长时性,15 d干扰可能更适于辅助改善记忆保健食品功能评价的研究。另外,小平台法干扰3 d^[22-24]、轻触法干扰30 d(3 h/d)^[26]损害动物学习记忆能力,与二者相比,本文采用的方法用时适中,刺激相对温和亦不耗费人力,可满足辅助改善记忆类保健食品功能评价研究的要求。

综上所述,应用滚筒法(1 min/r,间隔5 min)睡眠干扰5 d对小鼠自主活动和认知功能无影响,干扰10 d引起小鼠自主活动兴奋性增加、损害其空间定位学习和避暗学习能力,干扰15 d对小鼠自主活动无影响、损害其空间学习记忆能力和避暗学习能力。本实验结果提示,该法干扰15 d更适于辅助改善记忆保健食品功能评价的研究。滚筒法睡眠干扰可为辅助改善记忆保健食品功能评价提供新的动物模型。另外,鉴于该模型通过睡眠干扰达到损害学习记忆的目的,也适用于改善睡眠类保健食品功能评价的研究。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与评价技术规范[M]. 2003.
- [2] 严卫星,何来英.《保健食品功能学评价程序和检验方法》的有关技术问题[J]. 中国食品卫生杂志,1999,11(2):17-21.
- [3] 刘小莉,陈虹.阿尔茨海默病动物模型研究概况[J]. 山东医药,2007,47(11):76-77.
- [4] SHEN Xizhong, KOO MARCEL W L, CHO Chihin, et al. Sleep deprivation increase the expression of inducible heat shock protein 70 in rat gastric mucosa[J]. World J Gastroenterol, 2001, 7(4):496-499.
- [5] 王琼,买文丽,李翊华,等. 自主活动实时测试分析系统的建立与开心散安神镇静作用验证[J]. 中草药,2009,40(11):1773-1779.
- [6] 刘新民,陈善广,王圣平,等. 益智中草药研究中的一种新方法[J]. 中草药,1998,29(3):174-177.
- [7] 薛丹,陈善广,徐淑萍,等. 构建自动、智能及敏感度高的避暗实验检测系统[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2010,14(15):2778-2782.
- [8] 李晶. 鱼油制剂改善小鼠记忆作用的实验研究[J]. 食品科学,2004,25(10):301-304.
- [9] 彭欣莉,郑鸿雁,吕友权,等. 蚕蛹油改善小鼠记忆作用的实验研究[J]. 食品科学,2005,26(9):490-493.
- [10] 张晓喻,黎艳,雍彬,等. 复方绞股蓝皂甙改善小鼠学习记忆的研究[J]. 食品科学,2007,28(03):330-333.
- [11] WAFFORD K A, EBERT B. Emerging anti-insomnia drugs: tackling sleeplessness and the quality of wake time [J]. Nat Rev Drug Discov, 2008, 7(6):530-540.
- [12] REYNOLDS A C, BANKS S. Total sleep deprivation, chronic sleep restriction and sleep disruption [J]. Prog Brain Res, 2010, 185:91-103.
- [13] PATTI C L, ZANIN K A, SANDAY L, et al. Effects of sleep deprivation on memory in mice: role of state-dependent learning [J]. Sleep, 2010, 33(12):1669-1679.
- [14] KAHN-GREENE E T, KILLGORE D B, KAMIMORI G H, et al. The effects of sleep deprivation on symptoms of psychopathology in healthy adults [J]. Sleep Med, 2007, 8(3):215-221.
- [15] POKK P, VALI M. The effects of the nitric oxide synthase inhibitors on the behaviour of small-platform-stressed mice in the plus-maze test [J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2002, 26(2):241-247.
- [16] YOUNGBLOOD B D, ZHOU Jun, SMAGIN G N, et al. Sleep deprivation by the "flower pot" technique and spatial reference memory [J]. Physiol Behav, 1997, 61(2):249-256.
- [17] ALHAIDER I A, ALEISA A M, TRAN T T, et al. Chronic caffeine treatment prevents sleep deprivation-induced impairment of cognitive function and synaptic plasticity [J]. Sleep, 2010, 33(4):437-444.
- [18] WANG Guiping, HUANG Liuqing, WU Huijuan, et al. Calcineurin contributes to spatial memory impairment induced by rapid eye movement sleep deprivation [J]. Neuroreport, 2009, 20(13):1172-1176.
- [19] DOLORES M-G, WILLIAM O, JENNIFER L F, et al. REM sleep deprivation induces changes in coping responses that are not reversed by amphetamine [J]. Sleep, 2004, 27(4):609-617.
- [20] KELLER G, WESTERMANN KH, SCHMIDT J. The effects of REM sleep deprivation on the motor behavior of rats [J]. Biomed Biochim Acta, 1984, 43(3):365-370.
- [21] TINSLEY M R, QUINN J J, FANSELOW M S. The role of muscarinic and nicotinic cholinergic neurotransmission in aversive conditioning: comparing pavlovian fear conditioning and inhibitory avoidance [J]. Learn Mem, 2004, 11(1):35-42.
- [22] MCDERMOTT C M, LAHOSTE G J, CHEN Chu, et al. Sleep deprivation causes behavioral, synaptic, and membrane excitability alterations in hippocampal neurons [J]. J Neurosci, 2003, 23(29):9687-95.
- [23] KALONIA H, BISHNOI M, KUMAR A. Possible mechanism involved in sleep deprivation-induced memory dysfunction [J]. Methods Find Exp Clin Pharmacol, 2008, 30(7):529-35.
- [24] 吴兴曲, 杨来启, 王晓峰, 等. 睡眠剥夺对大鼠学习能力的影 响及机制初步研究 [J]. 解放军预防医学杂志, 2002, 20(4): 241-243.
- [25] 刘彤, 徐淑梅. 睡眠剥夺对大鼠学习能力和海马乙酰胆碱含量的影响 [J]. 临床和实验医学杂志, 2007, 6(3):12-13.
- [26] XU Zhiqiang, GAO Changyue, FANG Chuanqin, et al. The mechanism and characterization of learning and memory impairment in sleep-deprived mice [J]. Cell Biochem Biophys, 2010, 58:1.