

40 Hz 声光刺激对创伤诱发大鼠焦虑样行为的干预作用*

尹佳怡^{1,2+}, 杲修杰²⁺, 张鑫垚^{1,2}, 郑鹏芳², 李小芳², 王 瑞^{1△}, 崔 博^{1,2△}

(1. 山东第一医科大学 山东省职业卫生与职业病防治研究院, 济南 250062; 2. 军事科学院军事医学研究院环境医学与作业医学研究所, 天津 300050)

【摘要】 目的: 探讨 40 Hz 声光刺激对创伤后应激障碍(PTSD)的焦虑样症状改善作用及其可能的分子机制。**方法:** 将 30 只 SD 大鼠随机分为 Control 组、PTSD 组、PTSD+40 Hz 组, 每组 10 只。采用 SPS&S 方法构建 PTSD 模型。PTSD+40 Hz 组大鼠在构建模型后, 施加声光刺激 40 Hz 7 d。应用高架迷宫(EPM)和旷场试验(OFT)评估各组大鼠焦虑样行为, Western blot 方法检测大鼠皮层和海马中 BDNF、TrkB、Synapsin I 和 PSD95 的蛋白表达水平, 实时荧光定量(RT-PCR)方法检测皮层和海马中 BDNF mRNA 表达水平, 免疫荧光实验检测 BDNF 在皮层和海马中的分布情况。**结果:** 与 Control 组比较, PTSD 组大鼠在旷场试验中运动总距离和在中央区域停留时间明显下降($P < 0.05$), PTSD 组大鼠在高架十字迷宫试验中进入开放臂次数占总进入次数百分比降低, 运动总距离明显下降($P < 0.05$)。且海马、皮层脑区 BDNF、TrkB、PSD95、Synapsin I 蛋白表达水平显著降低($P < 0.01$), BDNF 的 mRNA 的表达水平显著降低($P < 0.01$), 免疫荧光结果显示 BDNF 在 CA1、DG 和 PFC 脑区表达减少; 与 PTSD 组比较, PTSD+40 Hz 组大鼠在旷场试验中总路程和在中央区域停留时间明显上升($P < 0.05$), 在高架十字迷宫试验中总路程和进入开放臂次数占总进入次数百分比明显上升($P < 0.05$), 皮层、海马中 BDNF、TrkB、PSD95、Synapsin I 蛋白表达水平明显升高($P < 0.05$), BDNF 的 mRNA 的表达水平显著上升($P < 0.05$), 免疫荧光结果显示 BDNF 在 CA1、DG 和 PFC 脑区表达增加。**结论:** 40 Hz 声光刺激可能通过调节 BDNF-TrkB 信号通路, 改善皮层和海马中相关的神经元突触可塑性, 从而缓解 PTSD 所致的焦虑样行为。

【关键词】 创伤后应激障碍 (PTSD); 40 Hz 声光刺激; BDNF; TrkB; PSD95; Synapsin I; 大鼠

【中图分类号】 R131

【文献标识码】 A

【文章编号】 1000-6834(2024)01-034-006

【DOI】 10.12047/j.cjap.6349.2022.078

Effects of 40 Hz multisensory stimulation on trauma-induced anxiety-like behavior in rats

YIN Jia-yi^{1,2+}, GAO Xiu-jie²⁺, ZHANG Xin-yao^{1,2}, ZHENG Peng-fang², LI Xiao-fang²,
WANG Rui^{1△}, CUI Bo^{1,2△}

(1. Shandong First Medical University, Shandong Academy of Occupational Health and Occupational Medicine, Jinan 250062;

2. Institute of Environmental and Operational Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Tianjin 300050, China)

【ABSTRACT】 Objective: To investigate the effects of 40 Hz acousto-optical stimulation on anxiety like symptoms of post-traumatic stress disorder (PTSD), with emphasis on the possible molecular mechanism stimulation. **Methods:** Thirty SD rats were randomly divided into three groups: Control group, PTSD group and PTSD+40 Hz group, ten rats in each group. The SPS&S model was established in the rats of the PTSD group and PTSD+40 Hz group and, then PTSD+40 Hz group rats were stimulated with 40 Hz acousto-optical stimulation for 7 days. The behavior of anxiety was tested by elevated plus maze (EPM) and open field test (OFT). The expressions of brain-derived neurotrophic factor (BDNF), tyrosine kinase receptor B (TrkB), synapsin I and postsynaptic density protein 95 (PSD95) in the rat prefrontal cortex (PFC) and hippocampus (HIP) were detected by Western blot. The mRNA transcription level of BDNF genes in the PFC and HIP was verified by real-time quantitative PCR (RT-PCR) and the distribution of BDNF in the PFC and HIP was determined by immunofluorescence. **Results:** Compared with the Control group, in the OFT the total distance and the time spending in the center, and in the EPM the total distance were decreased significantly ($P < 0.05$), the number of entering into the open arm as a percentage of the total number of entering in two arms was decreased, and the expression levels of BDNF, TrkB, PSD95, Synapsin I protein in HIP and PFC, and the mRNA expression level of BDNF were reduced significantly ($P < 0.01$), the immunofluorescence expression of BDNF was reduced in CA1, DG and PFC in the PTSD group rats; Compared with the PTSD group, the total distance and the time spending in the center in OFT ($P < 0.05$), the total distance and the number of entering into the open arm as a percentage of the total number were increased significantly ($P < 0.05$), the protein expression levels of BDNF, TrkB, PSD95, Synapsin I in the PFC and HIP, the mRNA expression level of BDNF were increased significantly ($P < 0.05$), and the immunofluorescence expression of BDNF was increased significantly in CA1, DG and PFC in the PTSD+40 Hz group rats. **Conclusion:** 40 Hz acousto-optical

stimulation improves the formation of anxiety-like symptoms in rats with PTSD, which may be related to the synaptic plasticity influenced by BDNF-TrkB signaling pathway.

【KEY WORDS】 post-traumatic stress disorder; 40 Hz multisensory stimulation; BDNF; TrkB; PSD95; Synapsin I; rat

创伤后应激障碍 (post-traumatic stress disorder, PTSD) 是由自然灾害、交通事故、刑事暴力、虐待等创伤性事件带来的一种持续、严重的精神障碍^[1]。PTSD 的症状包括闪回和侵入性记忆、回避与创伤相关的线索、认知上的负面变化和亢奋。PTSD 患者通常会出现抑郁症、焦虑症和药物滥用障碍, 统称为 PTSD 共病^[2]。目前认为 PTSD 的发病与恐惧记忆的消退障碍有关, 可能与脑源性神经生长因子 (brain-derived nerve growth factor, BDNF) 所致突触可塑性功能异常有关, 但目前尚不明确, 因此有关 PTSD 的发病机制尚需进一步探索。

当前缓解 PTSD 疾病的治疗策略主要是心理治疗、认知行为治疗和药物治疗。心理治疗和认知行为治疗对症状严重的患者治疗效果欠佳, 药物治疗包括抗抑郁药和抗焦虑药物, 目前药物治疗疗效甚微、且副作用严重^[3], 因此迫切需要一种新的治疗方法以减轻 PTSD 的共病和症状。

物理刺激对于神经系统功能改善具有明确作用。研究表明, 早期经颅进行光调节干预措施可以预防创伤后应激障碍样病变^[4]。经颅磁刺激大鼠前额叶皮层 (prefrontal cortex, PFC) 能消退与创伤有关的记忆, 改善大鼠的 PTSD 症状^[5]。近期研究显示, 40 Hz 非侵入性声光刺激可有效改善神经元活性, 调节神经可塑性, 增强突触连接强度^[6]。鉴此, 本课题组推测 40 Hz 声光刺激可能通过改变神经突触的可塑性改善 PTSD 症状。

SPS&S (single prolonged stress and foot-shock) 方法构建 PTSD 模型的大鼠行为变化包括焦虑、觉醒和恐惧认知的升高, 以及空间记忆和社会互动的受损^[7]。由于 SPS&S 模型引发的大鼠行为障碍、生理反应和内分泌水平与 PTSD 症状极其相似。因此本研究建立 SPS&S 大鼠 PTSD 模型, 将 40 Hz 视觉闪烁加声学刺激应用于 PTSD 大鼠模型。拟通过探讨 40 Hz 声光刺激对 PTSD 所导致的神经行为的影响, 探讨其作用机制和关键靶点, 为 PTSD 无创式治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

DAPI、BSA、TritonX-100 (北京博奥拓达科技有限公司)、PBS (北京索莱宝科技有限公司)、脑源性神经生长因子 (BDNF)、抗体突触后致密蛋白 95 (PSD95, 英国 Abcam 公司)、山羊抗兔 IgG 荧光抗体、山羊抗鼠 IgG 荧光抗体、封片剂、酪氨酸激酶原肌球蛋白相关激酶 B (TrkB) 抗体、神经突触素 I (Synapsin I) (美国 Bioworld 公司)、荧光显微镜 (日本 Olympus 公司)、荧光定量 PCR 仪 (美国 ABI 公司)。

1.2 实验动物与分组

清洁级成年雄性 SD 大鼠 30 只, 体重 160 ~ 180 g (购自北京华阜康生物科技股份有限公司, 动物生产许可证号: SCXK (京) 2019-0008, 实验动物质量合格证编号 NO. 110322210101964676)。大鼠饲养于安静环境下, 温度 (25±2) °C, 湿度 (55±15) %, 自由摄食和饮水, 光照 12 h/12 h 昼夜交替, 适应性饲养 7 d 后随机分为对照组、PTSD 组和 PTSD+40 Hz 组 (n=10)。完成分组后将对照组在动物房内正常饲养不施加任何刺激。实验过程中对动物的处置符合动物伦理学标准 (环境医学与作业医学研究所伦理审查编号: IACUC of AMMS-04-2020-061)。

1.3 SPS&S 模型

分组后第 1 日, 在 9:00 AM-3:00 PM 依次对 PTSD 组和 PTSD+40 Hz 组进行以下刺激: (1) 在束缚仓内固定大鼠 2 h; (2) 在长 95 cm、宽 75 cm、高 65 cm 水箱内注入深 45 cm 的水, 强制大鼠游泳 20 min, 捞出后吹干, 恢复 15 min; (3) 乙醚麻醉, 直到大鼠肢体收缩反应消失, 失去意识; (4) 待大鼠清醒后将其置于电击箱中, 给予足部 0.8 mA 电流刺激 15 次, 每次刺激持续 4 s, 刺激间隔 4 s。

1.4 40 Hz 声光刺激

PTSD 造模后, 每天 10:00 AM-11:00 AM 对 PTSD+40 Hz 组大鼠进行灯光加声音刺激, 连续刺激 7 d。40 Hz 视觉闪烁以及声音刺激方案如下: 将大鼠置于安静的暗室中, 使用本室自制的声光学刺激装置进行刺激 (专利号: ZL202022526166.0), 刺激频率为 40 Hz^[8], 光照强度为 550 lux^[9], 声音刺激强度为 60 dB^[10]。

*【基金项目】山东省科技厅重点研发计划项目 (2017GSF218042); 军事科学院研究项目 (JK20202A020453)

【收稿日期】2022-07-29 【修回日期】2022-09-28

△【通讯作者】Tel: 13075308745, 13821388321; E-mail: 13075308745@163.com, iamcuib@sina.com. +: 为共同第一作者

1.5 旷场试验

旷场试验(open field test, OFT):旷场试验利用 PTSD 大鼠即有对开阔新环境的探究特性,又有对中央区域活动产生的恐惧心理,由此可观察大鼠产生的焦虑心理^[11, 12]。构建模型后第 7 日,在安静的环境下分别将三组大鼠放在一个旷场(100 cm×100 cm×50 cm)中,场地被平均分成 25 个单元格,每次将大鼠分别轻轻地放置在同一位置,保持头部朝向同一方向,允许每只大鼠自由探索新环境 5 min,跟踪摄像机记录大鼠走过的总距离、在中央区域运动的时间判断大鼠的焦虑行为,在中央区域运动的时间减少表明大鼠的焦虑样行为加重。每次实验后,用 75% 的酒精清理盒子,避免气味影响下一只大鼠的行为。

1.6 高架十字迷宫

高架十字迷宫(elevated plus-maze, EPM)利用啮齿类动物对新环境的探究习性,与对高悬开臂的恐惧心理形成矛盾冲突,来评价大鼠的焦虑状态^[13]。高架十字迷宫:构建模型后第 7 日,提前 30 min 将 3 组大鼠移入实验室,大鼠适应环境后,将每只大鼠分别置于开放臂和闭合臂的中心区域(10 cm×10 cm),头部朝向开放臂,在两臂内自由活动。分析大鼠 5 min 内在两臂的运动路程和大鼠进入开放臂的次数占进入双臂的次数百分比,进入开放臂的次数越低,大鼠的焦虑样行为越明显。

1.7 蛋白质印迹试验

第 8 日处死 3 组大鼠,取大鼠前额叶大脑皮层和海马组织,置于液氮中保存。实验时取出冻存各组样品,按比例加入蛋白裂解液后研磨,4℃ 12 000 r/min 离心 10 min。取上清加入 5×SDS 上样缓冲液,100℃ 水浴 10 min。使用 SDS-PAGE 凝胶电泳后,转移到 PVDF 膜上。加入一抗后 4℃ 孵育过夜,使用 TBST 清洗 3 次,加入辣根过氧化物酶标记的抗鼠/抗兔二抗,滴加 ECL 发光液,用荧光化学发光凝胶成像系统成像,ImageJ 软件(V1.8.0)计算灰度值,以目的条带与 GAPDH 条带灰度值的比值表示目的蛋白的相对表达量。

1.8 实时荧光定量 RT-PCR

利用 Trizol 法提取各组大鼠海马和皮层内 RNA,应用紫外分光光度计测其浓度和纯度,260/

280 值为 1.8~2.0,经逆转录后得到 cDNA,-20℃ 冻存储备用。以海马内 BDNF 的 cDNA 为模板进行荧光实时定量 PCR 检测,以 GAPDH 作为内参。委托上海生工生物公司合成引物(引物序列:BDNF 上游引物:5'-CCGGTATCCAAAGGCCAACT-3',下游引物:5'-CTGCAGCCTT TGGTGTA-3';GAPDH 上游引物:5'-TGCCACTCAGAAGACTGTGG-3' 下游引物:5'-GGATGCAGGGATGATGTTCT-3'),采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算 mRNA 表达水平。

1.9 免疫荧光染色

将石蜡切片进行脱蜡处理,依次浸泡在二甲苯中 3 min,无水乙醇 5 min,85% 酒精 5 min,75% 酒精 5 min,蒸馏水洗 5 min 后,进行抗原修复,之后置于 PBS 中洗涤 3 次。TritonX-100 通透液通透 30 min,BSA 封闭 30 min,加入 BDNF 一抗 4℃ 孵育过夜, PBS 洗涤 5 min,二抗孵育 50 min,DAPI 避光室温孵育 10 min,抗荧光淬灭封片剂封片,DAPI 染出的细胞核在激发光下为蓝色,BDNF 阳性表达为相应荧光素标记的红光。采用荧光显微镜观察、拍照后 4℃ 保存。

1.10 统计学处理

实验数据以均值±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,统计处理用 SPSS 25.0 软件进行分析,采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)比较各组组间差异,组间两两比较采用最小显著性差异法(Least Significant Difference, LSD)。

2 结果

2.1 40 Hz 声光刺激对 PTSD 大鼠行为学的影响

在旷场试验中,与对照相比,PTSD 组大鼠 5 min 内在旷场内水平活动距离显著减少($P<0.05$)、中央停留时间显著减少($P<0.01$);与 PTSD 组相比,PTSD+40 Hz 组大鼠水平活动距离显著增加($P<0.05$)、中央停留时间显著增加($P<0.01$)。在高架十字迷宫测试中,与对照相比,PTSD 组大鼠总路程显著减少($P<0.05$),进入开臂次数的百分比降低但差异无显著性;与 PTSD 组相比,PTSD+40 Hz 组大鼠运动的总路程以及进入开放臂的次数显著增加($P<0.05$,表 1)。

Tab. 1 Behavioral results of the rats ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Group	OFT		EPM	
	Total distance (cm)	Duration in center(s)	Total distance (cm)	Open arm entries (%)
Control	6379.43±1941.49	8.53±3.03	2323.81± 678.66	0.39±0.22
PTSD	4353.46±1668.53*	2.65±1.81**	1133.33± 770.05*	0.16±0.24
PTSD+40 Hz	6621.10± 987.84 [#]	8.35±4.45 ^{##}	2276.65±1198.44 [#]	0.56±0.37 [#]

PTSD: Post-traumatic stress disorder; OFT: Open field test; EPM: Elevated plus-maze

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs control group; [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.05$ vs PTSD group

2.2 40 Hz 声光刺激对 PTSD 大鼠海马、皮层 BDNF 表达的影响

与对照组比较, PTSD 组大鼠的海马与皮层中大鼠的 BDNF 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$); 与 PTSD 组相比, PTSD+40 Hz 组 BDNF 蛋白的表达水平在皮层中显著增加 ($P < 0.01$)、在海马中表达水平显著上升 ($P < 0.05$)。与对照组相比 PTSD 组 BDNF 基因 mRNA 转录水平显著降低 ($P < 0.01$); 与 PTSD 组比较, PTSD+40 Hz 组 BDNF 基因 mRNA 转录水平显著增加 ($P < 0.05$, 图 1, 表 2)。大鼠海马和皮层内 BDNF 免疫荧光表达, 镜下可见 BDNF 的阳性表达主要分布于海马 CA1 区、海马齿状回 (dentate gyrus, DG)、皮层中, 在 PTSD 组中 BDNF 的荧光强度降低, 经 40 Hz 声光刺激后海马 CA1 区、海马齿状

回 (dentate gyrus, DG) 和皮层内 BDNF 的表达均比 PTSD 增加 (图 2)。

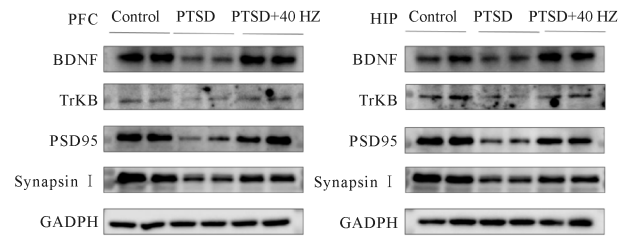


Fig. 1 Protein expressions of BDNF and related factors in the cortex and hippocampus ($n=6$)

PFC: Prefrontal cortex; HIP: Hippocampus; BDNF: Brain-derived nerve growth factor; PTSD: Post-traumatic stress disorder

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs PTSD group

Tab. 2 The relative protein and mRNA expression levels of BDNF ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Group	BDNF protein/GAPDH		BDNF mRNA/GAPDH	
	PFC	HIP	PFC	HIP
Control	1.00 ± 0.10	1.00 ± 0.24	1.00 ± 0.09	1.00 ± 0.09
PTSD	0.54 ± 0.21**	0.54 ± 0.15**	0.81 ± 0.07**	0.86 ± 0.06**
PTSD+40 Hz	0.90 ± 0.19##	0.84 ± 0.17#	0.93 ± 0.07#	0.96 ± 0.04#

PFC: Prefrontal cortex; HIP: Hippocampus; BDNF: Brain-derived nerve growth factor; PTSD: Post-traumatic stress disorder; TrkB: Tyrosine kinase receptor B; PSD95: Postsynaptic density protein 95

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs PTSD group

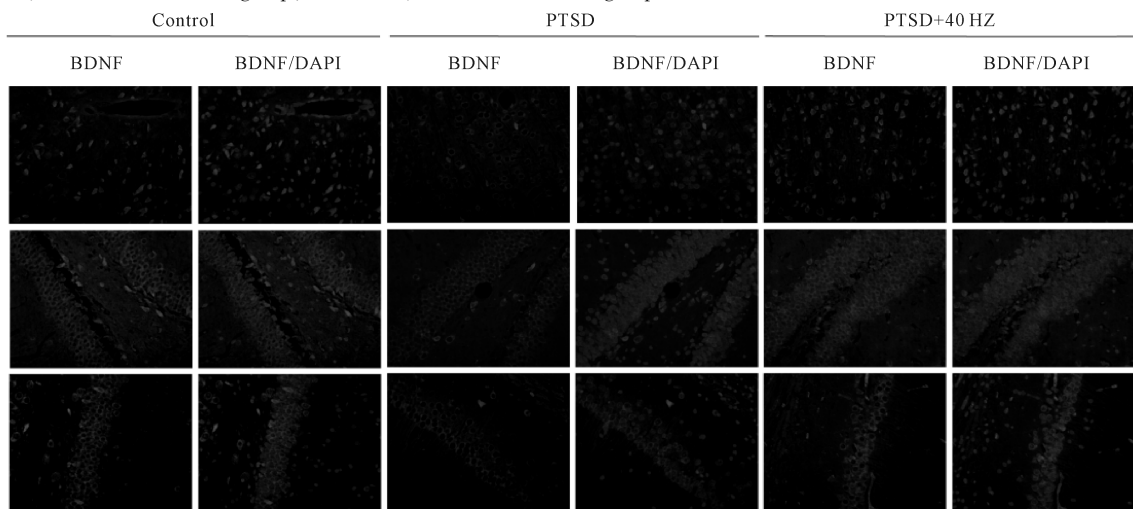


Fig. 2 Effects of 40 Hz acousto-optical stimulation on the expression of BDNF immunofluorescence in PTSD rat (Immunofluorescence $\times 200$)

DG: Dentate gyrus; PTSD: Post-traumatic stress disorder

2.3 40 Hz 声光刺激对 PTSD 大鼠皮层、海马中 BDNF 受体及突触相关蛋白表达的影响

与对照相比, PTSD 组皮层和海马组织中中高亲和力受体酪氨酸激酶原肌球蛋白相关激 B (tyrosine kinase receptor B, TrkB) 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$)。与 PTSD 大鼠相比, PTSD+40 Hz 组皮层中 TrkB 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$)。与对照组

相比, PTSD 组大鼠的海马与皮层中大鼠的突触后密度蛋白 95 (postsynaptic density protein 95, PSD95)、神经突触素 I (synapsin I) 蛋白表达显著降低 ($P < 0.01$), 与 PTSD 组相比, PTSD+40 Hz 组 PSD95 蛋白表达水平显著增加 ($P < 0.05$)、Synapsin I 的蛋白表达水平显著增加 ($P < 0.01$) 且恢复到对照组水平 (图 1, 表 3)。

Tab. 3 The relative protein expression levels of TrkB, PSD95 and Synapsin I ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Group	PFC			HIP		
	TrkB/GAPDH	PSD95/GAPDH	Synapsin I /GAPDH	TrkB/GAPDH	PSD95/GAPDH	Synapsin I /GAPDH
Control	1.00±0.16	1.00±0.15	1.00±0.17	1.00±0.18	1.00±0.18	1.00±0.12
PTSD	0.55±0.19**	0.64±0.16**	0.62±0.16**	0.60±0.15**	0.66±0.10**	0.60±0.17**
PTSD+40 Hz	0.96±0.29 [#]	0.92±0.21 [#]	0.98±0.17 ^{##}	0.86±0.15 [#]	0.90±0.17 [#]	0.94±0.20 ^{##}

PFC: Prefrontal cortex; HIP: Hippocampus; PTSD: Post-traumatic stress disorder; PSD95: Postsynaptic density protein 95; TrkB: Tyrosine kinase receptor B

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$ vs PTSD group

3 讨论

PTSD 是由于重大创伤性事件引发的机体心理及生理功能性障碍,通常伴随焦虑和抑郁症状^[14],由于其发病机制和治疗方法尚不明确。因此本研究基于 SPS&S 法构建 PTSD 动物模型,研究出 40 Hz 声光刺激可有效缓解 PTSD 所致的焦虑样行为,发现其机制可能是通过调节 BDNF-TrkB 信号通路,改善皮层和海马中神经元突触可塑性。

与其他研究人员的结果一致^[15],本实验行为学结果表明,模型组大鼠在旷场实验和高架十字迷宫实验中表现出与恐惧消退障碍有关的明显的焦虑样症状,SPS&S 动物模拟类似 PTSD 的行为,本实验中又利用 40 Hz 声光刺激,发现声光刺激可显著抑制这些行为学症状,证明 40 Hz 声光刺激有效改善模型大鼠的 PTSD 样症状。

BDNF 被认为是联想学习和记忆巩固的关键生物学分子。目前认为 PTSD 发病机制与 BDNF 有关,其主要功能是促进神经元增殖和生存、改善突触可塑性、促进恐惧记忆消退。BDNF 主要在皮层和海马中表达,海马体和前额叶皮层是导致 PTSD 行为异常的大脑区域,海马是恐惧记忆形成与巩固的神经基础,也是学习记忆密切相关的脑区,参与应激反应的调节^[16],受损后会致恐惧消除障碍^[17],前额叶皮质则是恐惧反应的调节中枢,在恐惧消退中发挥重要作用^[18],因此研究皮层海马中 BDNF 的表达尤为重要;有的研究显示,在创伤后应激障碍模型海马中的 BDNF 的 mRNA 表达下降,而海马中 BDNF 蛋白表达上升^[19],有的研究显示 BDNF 在皮层和海马中的 mRNA 和蛋白表达水平一致。本研究中 SPS&S 大鼠模型皮层和海马中 BDNF 的 mRNA 和蛋白水平表达水平的趋势一致,证明 PTSD 的发病可能是由于 BDNF 基因表达下降导致 BDNF 蛋白表达的不足引起,也进一步说明 40 Hz 声光刺激可能是通过上调海马、皮层脑区 BDNF 基因表达水平从而促进 BDNF 的蛋白表达水平表达增加,从而有效干预 PTSD 大鼠的恐惧消退障碍,改善焦虑样症

状,本研究结果为 PTSD 疾病提供 BDNF 这一有效的治疗靶点。

多种精神疾病发病均与 BDNF 信号通路相关,本实验 PTSD 模型大鼠中 TrkB 蛋白表达减少,并伴随 PSD95 和 Synapsin I 蛋白水平下降,BDNF 主要与 TrkB 结合,启动细胞内下游信号通路,在各种精神疾病患者死后大脑海马和前额皮质区域,BDNF 和 TrkB 的 mRNA 和蛋白质水平发生显著变化^[20],并且 BDNF-TrkB 信号级联与突触可塑性高度相关^[21]。PSD95 作为突触后膜胞质面细胞骨架网内最主要的细胞骨架蛋白,在突触结构、功能和可塑性等方面发挥重要作用^[22]。Synapsin I 是突触囊泡特异的外侧膜蛋白质,参与中枢神经系统突触连接的形成和维持,能调节神经递质的释放,且在突触可塑性的发生过程中具有重要作用^[23]。TrkB、PSD95 和 Synapsin I 蛋白水平下降会导致突触可塑性的下降,影响在恐惧记忆形成过程,从而引起恐惧记忆消退障碍,导致 PTSD 症状的产生。尽管已有研究证实 BDNF 信号通路参与神经突触的调节,但突触可塑性是否参与 40 Hz 声光刺激对 PTSD 大鼠模型焦虑样症状的改善尚不清楚。本研究中明确 40 Hz 声光刺激后可有效增加 BDNF 受体的蛋白表达及突触可塑性相关蛋白的表达。由此可以推测 40 Hz 声光刺激激活 BDNF-TrkB 信号通路从而改善神经元突触可塑性。

40 Hz 声光刺激作为一种治疗精神疾病的新兴疗法,在阿尔兹海默症病中已取得治疗效果且病人耐受性良好,能够激发海马和皮层脑区小胶质细胞的反应,促进淀粉样蛋白清除,进而维持神经突触的数量和正常状态。因此在 PTSD 疾病应用中仍需要进一步研究 40 Hz 声光刺激上调 BDNF 表达是否与小胶质细胞有关以及检测 TrkB、PSD95 和 Synapsin 的 mRNA 的表达水平,判断是否存在基因水平的改变调控蛋白表达水平。综上所述,40 Hz 声光刺激显著缓解 PTSD 焦虑样行为异常,BDNF-TrkB 信号通路对突触可塑性的改变可能参与其分子机制,40 Hz 声光刺激可能成为治疗 PTSD 疾病的新疗法。

【参考文献】

- [1] Javidi H, Yadollahie M. Post-traumatic stress disorder [J]. *Int J Occup Environ Med*, 2012, 3(1): 2-9.
- [2] Brady KT, Killeen TK, Brewerton T, et al. Comorbidity of psychiatric disorders and posttraumatic stress disorder [J]. *J Clin Psychiat*, 2000, 61: 22-32.
- [3] Hoskins M, Pearce J, Bethell A, et al. Pharmacotherapy for post-traumatic stress disorder: systematic review and meta-analysis [J]. *Br J Psychiatry*, 2015, 206(2): 93-100.
- [4] Li Y, Dong Y, Yang L, et al. Transcranial photobiomodulation prevents PTSD-like comorbidities in rats experiencing underwater trauma [J]. *Transl Psychiat*, 2021, 11(1): 270.
- [5] Isserles M, Tendler A, Roth Y, et al. Deep transcranial magnetic stimulation combined with brief exposure for posttraumatic stress disorder: A prospective multisite randomized trial [J]. *Biol Psychiat*, 2021, 90(10): 721-728.
- [6] Zheng L, Yu M, Lin R, et al. Rhythmic light flicker rescues hippocampal low gamma and protects ischemic neurons by enhancing presynaptic plasticity [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 3012.
- [7] Richter-Levin G, Stork O, Schmidt MV. Schmidt animal models of PTSD: a challenge to be met [J]. *Mol Psychiatry*, 2019, 24(8): 1135-1156.
- [8] Cardin JA, Carlén M, Meletis K, et al. Driving fast-spiking cells induces gamma rhythm and controls sensory responses [J]. *Nature*, 2009, 459(7247): 663-667.
- [9] Adaikkan C, Middleton SJ, Marco A, et al. Gamma entrainment binds higher-order brain regions and offers neuroprotection [J]. *Neuron*, 2019, 102(5): 929-943. e928.
- [10] Martorell AJ, Paulson AL, Suk HJ, et al. Multi-sensory gamma stimulation ameliorates Alzheimer's-associated pathology and improves cognition [J]. *Cell*, 2019, 177(2): 256-271.
- [11] Rubin DC, Berntsen D, Bohni MK. A memory-based model of posttraumatic stress disorder: evaluating basic assumptions underlying the PTSD diagnosis [J]. *Psychol Rev*, 2008, 115(4): 985-1011.
- [12] Yamamoto S, Morinobu S, Takei S, et al. Single prolonged stress: toward an animal model of posttraumatic stress disorder [J]. *Depress Anxiety*, 2009, 26(12): 1110-1117.
- [13] Golub Y, Mauch CP, Dahlhoff M, et al. Consequences of extinction training on associative and non-associative fear in a mouse model of posttraumatic stress disorder (PTSD) [J]. *Behav Brain Res*, 2009, 205(2): 544-549.
- [14] Hou L, Qi Y, Sun H, et al. Applying ketamine to alleviate the PTSD-like effects by regulating the HCN1-related BDNF [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiat*, 2018, 86: 313-321.
- [15] Serova LI, Nwokafor C, Van Bockstaele EJ, et al. Single prolonged stress PTSD model triggers progressive severity of anxiety, altered gene expression in locus coeruleus and hypothalamus and effected sensitivity to NPY [J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2019, 29(4): 482-492.
- [16] 牛江涛, 张泽国, 曹瑞, 等. 四逆散对 PTSD 及睡眠障碍大鼠海马 CA1/CA3 区神经元动作电位的影响 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2018, 34(4): 363-366.
- [17] Tovote P, Fadok JP, Lüthi A. Neuronal circuits for fear and anxiety [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2015, 16(6): 317-331.
- [18] Yang FC, Liang KC. Interactions of the dorsal hippocampus, medial prefrontal cortex and nucleus accumbens in formation of fear memory: difference in inhibitory avoidance learning and contextual fear conditioning [J]. *Neurobiol Learn Mem*, 2014, 112: 186-194.
- [19] Chang SH, Yu YH, He A, et al. BDNF protein and BDNF mRNA expression of the medial prefrontal cortex, amygdala, and hippocampus during situational reminder in the PTSD animal model [J]. *Behav Neurol*, 2021, 2021: 6657716.
- [20] Pandey GN, Ren X, Rizavi HS, et al. Brain-derived neurotrophic factor and tyrosine kinase B receptor signalling in post-mortem brain of teenage suicide victims [J]. *Int Neuropsychopharmacol*, 2008, 11(8): 1047-1061.
- [21] 刘煜鑫, 闫东. 右美托咪定对大鼠海马神经元生长发育的影响及其机制 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2019, 35(1): 69-73.
- [22] Han M, Ban JJ, Bae JS, et al. UV irradiation to mouse skin decreases hippocampal neurogenesis and synaptic protein expression via HPA axis activation [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 15574.
- [23] Masliah E, Terry R. The role of synaptic proteins in the pathogenesis of disorders of the central nervous system [J]. *Brain Pathol*, 1993, 3(1): 77-85.