·神经内科专栏·

焦虑预处理加重 MPTP 诱导的急性 PD 小鼠运动行为损害

苑晓阳[1]，顾 平[1*]，刘俊骞[1]，仇福成[1]，李 冬[1]，吕俊丽[2]
（1.河北医科大学第一医院神经内科，河北 石家庄 050031；2.河北省邯郸市中心医院神经内科，河北 邯郸 056000）

［摘 要］ **目的** 探讨焦虑预处理对 1-甲基-4-苯基-1，2，3，6-四氢吡啶（1-methyl-4-phenyl-1，2，3，6-tetrahydropridine，MPTP）诱导的急性帕金森病（Parkinson disease，PD）模型小鼠运动、情绪和认知的影响。**方法** 将 68 只 13 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠随机分为对照组、焦虑预处理组、急性 PD 模型组、焦虑预处理的急性 PD 模型组，每组 17 只，通过旷场实验，高架十字迷宫实验，爬杆试验和水迷宫实验以及黑质－纹状体酪氨酸羟化酶阳性（tyrosine hydroxylase positive，TH＋）神经元的变化，探究焦虑预处理对 PD 小鼠运动、情绪、认知及多巴胺神经元的影响。**结果** 焦虑预处理后第 2 天高架十字迷宫实验显示，焦虑预处理组开臂进入次数占总进臂次数百分比（percentage entries of open arm entries，OE%）和开臂滞留时间占总进臂时间百分比（percentage time spent on open arms，OT%）少于对照组，急性 PD 模型组 OE%和 OT%少于焦虑预处理的急性 PD 模型组（$P<0.05$）。焦虑预处理后第 6 天高架十字迷宫实验显示，4 组的 OE%和 OT%比较差异均无统计学意义（$P>0.05$）。焦虑预处理后第 5 天行旷场实验，4 组在中心路程百分比、时间百分比、穿格次数百分比比较差异均无统计学意义（$P>0.05$）。焦虑预处理后第 7 天爬杆实验显示，与对照组、焦虑预处理组和急性 PD 模型组比较，焦虑预处理的急性 PD 模型组爬杆时间增加（$P<0.05$）。焦虑预处理后第 8～13 天水迷宫实验显示，与对照组和焦虑预处理组比较，焦虑预处理的急性 PD 模型组的小鼠的寻台潜伏期较长，目标平台象限的滞留时间短，运动路程较长，穿越平台次数较长（$P<0.05$）。急性 PD 模型组和焦虑预处理的急性 PD 模型组黑质 TH＋神经元数少于对照组和焦虑预处理组，差异有统计学意义（$P<0.05$）。焦虑预处理的急性 PD 模型组黑质 TH＋神经元数与急性 PD 模型组比较差异无统计学意义（$P>0.05$）。急性 PD 模型组的纹状体 TH＋神经元的平均光密度值（mean optical density，MOD）值低于对照组，焦虑预处理的急性 PD 模型组低于焦虑预处理组（$P<0.05$）。**结论** 焦虑预处理可能在一定程度上损害 MPTP 诱导的急性 PD 模型的纹状体多巴胺能神经元，并可加重小鼠运动功能损害。

［关键词］ 帕金森病；焦虑预处理；运动功能；认知功能 doi：10.3969/j.issn.1007-3205.2024.03.011
［中图分类号］ R742.5 ［文献标志码］ A ［文章编号］ 1007-3205(2024)03-0313-09

Anxiety preconditioning exacerbates motor behavior impairment in mice with MPTP-induced acute Parkinson′s disease

YUAN Xiao-yang[1]，GU Ping[1*]，LIU Jun-qian[1]，QIU Fu-cheng[1]，LI Dong[1]，LYU Jun-li[2]
（1.*Department of Neurology，the First Hospital of Hebei Medical University，Shijiazhuang* 050031，*China*；2.*Department of Neurology，Handan Central Hospital，Hebei Province，Handan* 056000，*China*）

［**Abstract**］ **Objective** To investigate the impact of anxiety preconditioning on movement，emotion and cognition in an1-methyl-4-phenyl-1，2，3，6-tetrahydropridine（MPTP）-induced

［收稿日期］2022－11－21
［基金项目］河北省自然科学基金面上项目（H2015206495）；河北省卫健委重点科技研究计划（20200122）；河北省青年自然科学基金项目（H2020206163）
［作者简介］苑晓阳（1985－），女，河北邯郸人，河北医科大学第一医院主治医师，医学博士，从事神经内科疾病诊治研究。
* 通信作者。E-mail：gpwh2000@126.com

Parkinson's disease (PD) mice model. **Methods** Sixty-eight healthy male C57BL/6J mice (aged 13 weeks) were randomly divided into 4 groups: control group ($n=17$), anxiety preconditioning group ($n=17$), acute PD model group ($n=17$), and acute PD model with anxiety preconditioning group ($n=17$). Based on open field test, elevated plus maze test, pole climbing test, water maze test and changes of tyrosine hydroxylase positive (TH+) neurons in the nigra-striatum, the effects of anxiety preconditioning on motor, emotion and cognition and dopaminergic neurons of PD mice were investigated. **Results** On the 2nd day after anxiety preconditioning, the elevated plus maze test showed that the percentage of open arm entries (OE%) and open arm retention time (OT%) in the anxiety preconditioning group were lower than those in the control group. The OE% and OT% in the acute PD model group were lower than those in the acute PD model with anxiety preconditioning group ($P<0.05$). On the 6th day after anxiety preconditioning, the elevated plus maze test showed no statistically significant difference in OE% and OT% among the four groups ($P>0.05$). On the 5th day after anxiety preconditioning, an open field test was conducted, and there was no significant difference in the percentage of center distance, time, and number of grid crossings among the four groups ($P>0.05$). On the 7th day after anxiety preconditioning, the pole climbing test showed that compared with the control group, anxiety preconditioning group, and acute PD model group, the pole climbing time of the acute PD model with anxiety preconditioning group increased ($P<0.05$). On the 8th to 13th day after anxiety preconditioning, the water maze test showed that compared with the control group and anxiety preconditioning group, the mice in the acute PD model with anxiety preconditioning group had a longer latency for seeking the platform, a shorter retention time in the target platform quadrant, a longer exercise distance, and a larger number of platform crossings ($P<0.05$). The number of TH+neurons in the substantia nigra of the acute PD model group and the acute PD model with anxiety preconditioning group was lower than that of the control group and the anxiety preconditioning group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). There was no statistically significant difference in the number of TH+ neurons in the substantia nigra between the acute PD model with anxiety preconditioning group and the acute PD model group ($P>0.05$). The mean optical density (MOD) of TH+neurons in the striatum of the acute PD model group was lower than that of the control group, and lower in the acute PD model with anxiety preconditioning group than in the anxiety preconditioning group ($P<0.05$). **Conclusion** Anxiety preconditioning could probably to some extent damage striatum dopaminergic neurons and aggravate the damage of the motor function in MPTP-induced acute PD mice.

[**Key words**] Parkinson's disease; anxiety preconditioning; motor function; cognitive function

帕金森病(Parkinson's disease,PD)是中老年常见的中枢神经系统退行性变性疾病之一,主要病理改变是中脑黑质多巴胺(Dopamine,DA)能神经元进行性丢失,致使黑质-纹状体系统DA分泌显著减少。当黑质DA能神经元数目减少超过50%时,纹状体DA含量减少70%以上[1],临床上就会出现运动迟缓、震颤、肌强直、姿势平衡障碍等运动症状;此外,PD也常出现焦虑、抑郁、认知功能障碍等非运动症状[2-3]。研究[4]显示,PD伴发焦虑的平均发病率达30%以上。尽管焦虑和抑郁情绪障碍是PD的常见并发症,但大多数研究都集中在抑郁上,这表明焦虑可能是PD中被低估的情绪障碍[5]。目前认为焦虑不仅是PD运动障碍所引发的心理反应,也是PD的一种临床表现。研究[4]显示,PD患者在运动症状出现前很长时间,甚至数年前即可出现焦虑症状,然而至今研究[6]多停留在PD并发焦虑对PD运动和运动并发症的影响,而对出现PD之前就患有焦虑的研究报道相对较少;对干预焦虑是

否会延缓患者进展成PD或改善PD患者的症状也尚不清楚。因此,本研究旨在探讨焦虑预处理对急性PD模型小鼠焦虑情绪、运动功能、学习记忆能力和DA能神经元的影响。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器　主要试剂1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropridine,MPTP)(0896)购自Sigma公司;TH抗体(ab137721);β-actin(20536-3、1-AP)购自Proteintech公司;山羊抗兔荧光二抗(A23920-1)购自Abbkine公司;SABC免疫组织化学染色试剂盒(SA1022)购自博士德生物公司。主要仪器高架十字迷宫、上海欣软饮水电击实验系统(Vogle test system)、旷场试验箱及Morris水迷宫(上海欣软信息科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组　13周龄清洁级雄性C57BL/6J小鼠68只,体重23.0～30.0 g(北京华阜康生物科技股份有限公司提供)。根据《河北医科大学动物管理条例》在标准环境下饲养[12 h昼/夜循环,室温(22+2)℃]并自由饮水、摄食。将上述68只小鼠随机分为4组,每组17只。对照组不作任何处理;焦虑预处理组采用改良Vogel饮水冲突法结合束缚手段进行预处理;急性PD模型组采用腹腔注射MPTP制作急性PD模型小鼠;焦虑预处理的急性PD组在焦虑预处理后第3天给予小鼠MPTP药物。

本实验相关操作通过河北医科大学动物伦理委员会的批准。

1.2.2 动物模型制备　焦虑预处理模型的建立:Vogel饮水冲突法结合束缚应激制备焦虑模型。Vogel饮水冲突实验中,小鼠首先禁水48 h,然后单独置于装有饮水装置的电击箱设备中,实验设置为记录每10 min内,持续2 s的0.4 mA的电击强度的模式进行检测。即小鼠每饮水20次,电栅对其进行1次0.4 mA足底电击,持续2 s,记录10 min内小鼠的舔水次数。束缚实验:将小鼠置于50 mL标准离心管内,离心管底部尖端位置有直径2 mm的数十个小孔用于通气,每只小鼠于上午9:00～10:00束缚1 h。

实验流程如下:禁水24 h→饮水电击箱适应20 min,给水10 min→禁水43 h后束缚1 h→禁水48 h后第1次饮水电击实验,实验结束后给水10 min→禁水67 h后束缚1 h→禁水72 h后第2次饮水电击实验→禁水91 h后束缚1 h→禁水96 h后第3次饮水电击实验,制备焦虑预处理模型。

急性PD模型的建立:PD组小鼠腹腔注射MPTP(4 g/L),按体重20 mg/kg,共4次,每次间隔2 h,制备急性PD模型。MPTP注射后5～15 min内小鼠出现震颤、弓背、竖尾、竖毛、后肢张开、步态不稳,呼吸急促,且随着给药次数的增加,其行为学出现时间越来越快,越来越明显。以上症状常在30 min内缓解,24 h内基本恢复。

焦虑预处理的急性PD模型的建立:焦虑预处理模型制备后第1天小鼠通过高架十字迷宫实验验证,若焦虑模型成功则第2天进行急性PD制备。

1.2.3 小鼠行为学检测　高架十字迷宫实验:将小鼠放入高架"十"字的中央,头朝向开放臂,记录5 min内小鼠进入两种臂区的次数和时间。以开放臂进入次数占总进臂次数百分比(percentage entries of open arm entries,OE%)和开放臂滞留时间占总进臂时间百分比(percentage time spent on open arms,OT%)为指标。于焦虑预处理后第2天及第6天进行检测。旷场实验:焦虑预处理后第5天进行。小鼠放入旷场底部中心区内,记录小鼠在中心区与外周区的时间百分比、路程百分比和穿格次数百分比作为焦虑的指标。

1.2.4 小鼠运动功能检测　焦虑预处理后第7天参照文献进行爬杆实验[7]。每只小鼠3次,间隔30 min,取3次平均值。

1.2.5 小鼠认知功能的检测　焦虑预处理后8～13 d进行Morris水迷宫实验。①定位航行试验:通过对小鼠寻台潜伏期重复测量检测小鼠空间学习能力。②探索训练:于最后一次获得性训练结束后的第2天,撤掉平台,开始60 s的探索训练。记录小鼠在目标象限所滞留的时间、路程和穿越平台的次数,检测小鼠空间记忆能力。

1.2.6 小鼠黑质－纹状体系统多巴胺能神经元检测　小鼠行为学检测完成后,每组取3只小鼠进行免疫组织化学染色,观察黑质－纹状体TH+神经元变化。小鼠用2%(0.02 g/mL)水合氯醛1.5 mL腹腔注射麻醉后,断头取脑。脑组织采取固定、脱水、浸蜡、包埋、切片(5 μm)、免疫组织化学染色,观察黑质－纹状体内TH+神经元数目。具体步骤如下:各组切片经脱蜡、脱水、热修复、封闭、TH抗体(1:2 000)4 ℃孵育过夜。次日,山羊抗兔IgG室温孵育30 min,DAB显色,固定,封片。每只小鼠黑质取头、中部、尾端5张切片,在×200镜下计数TH+神经元个数,取平均数。同样,每只小鼠取纹状体

头、中部、尾端 5 张切片，使用 Nikon 80I 显微镜，NIS Elements BR 3.0 数码成像软件，×400 镜下采集图像，Image-Pro-Plus 计算纹状体 TH＋神经元的平均光密度值(mean optical density，MOD)，等于积分光密度比总面积的比值。

1.3 统计学方法 应用 SPSS 21.0 统计软件分析数据。计量资料比较采用单因素方差分析、LSD-t 检验、SNK-q 检验。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 焦虑预处理对小鼠情绪的影响 焦虑预处理后第 2 天高架十字迷宫实验显示，焦虑预处理组 OE%和 OT%少于对照组，急性 PD 模型组 OE%和 OT%少于焦虑预处理的急性 PD 模型组，差异有统计学意义($P<0.05$)。焦虑预处理后第 6 天高架十字迷宫实验显示，4 组的 OE%和 OT%比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。焦虑预处理后第 5 天行旷场实验，4 组在中心路程百分比、时间百分比、穿格次数百分比比较差异均无统计学意义($P>0.05$)，见表 2。表明焦虑预处理后焦虑预处理的急性 PD 模型组小鼠同焦虑预处理组小鼠一样，均存在明显的焦虑情绪，焦虑预处理模型制备成功，且在第 5 天后均不存在明显焦虑抑郁情绪。

2.2 焦虑预处理对小鼠运动功能的影响 焦虑预处理后第 7 天爬杆实验显示，与对照组、焦虑预处理组和急性 PD 模型组比较，焦虑预处理的急性 PD 模型组爬杆时间增加，差异有统计学意义($P<0.05$)，表明焦虑预处理加重急性 PD 模型小鼠运动功能的损害，见表 3。

表 1 高架十字迷宫检测焦虑预处理第 2 天、第 6 天各组小鼠焦虑情绪

Table 1 Elevated plus maze test to detect anxiety moods in different groups on the 2nd and 6th day of anxiety preconditioning

($n=17, \bar{x}\pm s$)

组别	OE%		OT%	
	第 2 天	第 6 天	第 2 天	第 6 天
对照组	26.20±0.56	27.10±0.75	13.80±1.24	10.45±8.23
焦虑预处理组	15.20±1.60*	25.00±1.41	8.14±0.75*	8.56±1.46
急性 PD 模型组	28.86±1.93	27.58±1.13	14.14±1.04	7.11±2.14
焦虑预处理的急性 PD 模型组	16.90±0.96#	26.30±1.29	8.96±0.42#	7.23±1.68
F 值	121.470	0.426	59.790	10.135
P 值	<0.001	0.737	<0.001	0.312

* P 值<0.05 与对照组比较 # P 值<0.05 与急性 PD 模型组比较(SNK-q 检验)

表 2 旷场实验检测焦虑预处理第 5 天各组小鼠焦虑抑郁情绪比较

Table 2 Comparison of anxiety and depression in different groups on the 5th day of anxiety preconditioning by open field test

($n=17, \bar{x}\pm s$)

组别	中心距离百分比	中心时间百分比	中心穿格次数百分比
对照组	14.36±1.01	24.94±0.87	35.82±0.79
焦虑预处理组	12.20±0.68*	24.00±0.95*	32.98±0.55*
急性 PD 模型组	15.40±1.36	25.50±1.22	36.66±0.55
焦虑预处理的急性 PD 模型组	15.00±1.58#	25.54±0.72#	31.40±1.16#
F 值	2.678	4.281	1.948
P 值	0.080	0.057	0.160

* P 值<0.05 与对照组比较 # P 值<0.05 与急性 PD 模型组比较(SNK-q 检验)

表 3 爬杆检测焦虑预处理各组小鼠运动功能的比较

Table 3 Comparison of motor function in anxiety preconditioning groups measured by pole climbing test

($n=17, \bar{x}\pm s$)

组别	爬杆时间(s)
对照组	11.08±0.50
焦虑预处理组	10.26±0.70
急性 PD 模型组	11.06±0.48
焦虑预处理的急性 PD 模型组	15.70±0.93*#△
F 值	53.744
P 值	<0.001

* P 值<0.05 与对照组比较 # P 值<0.05 与焦虑预处理组比较 △P 值<0.05 与急性 PD 模型组比较(SNK-q 检验)

2.3 焦虑预处理对小鼠学习、记忆的影响 焦虑预处理后第 8～13 天水迷宫实验显示，与对照组和焦虑预处理组比较，焦虑预处理的急性 PD 模型组的小鼠的寻台潜伏期较长，目标平台象限的滞留时间短，运动路程较长，穿越平台次数较长，差异有统计学意义($P<0.05$)；与急性 PD 模型组比较，以上指标差异均无统计学意义($P>0.05$)，表明焦虑预处理对急性 PD 模型小鼠记忆能力无明显影响，见表 4。

表4　水迷宫实验检测焦虑预处理各组小鼠学习、记忆功能比较

Table 4　Comparison of learning and memory function of anxiety preconditioning groups by water maze test

($n=17, \bar{x}\pm s$)

组别	定向航行实验		空间搜索实验	
	寻台潜伏期(s)	目标平台象限滞留时间(s)	运动路程(m)	穿越平台次数(次)
对照组	30.33±0.56	18.90±0.80	39.00±0.01	4.00±0.32
焦虑预处理组	31.17±0.44	20.20±0.68	35.50±1.53	5.24±0.79
急性PD模型组	35.64±0.78	14.12±0.72	29.14±0.73	2.42±0.38
焦虑预处理的急性PD模型组	35.56±0.78*#	12.14±0.46*#	27.74±1.16*#	2.50±0.40*#
F 值	11.940	64.870	224.680	47.790
P 值	0.026	<0.001	<0.001	<0.001

*P 值<0.05 与对照组比较　#P 值<0.05 与焦虑预处理组比较(SNK-q 检验)

2.4　焦虑预处理对小鼠黑质－纹状体 TH＋神经元的影响　焦虑预处理后第14天行TH免疫组织化学染色，焦虑预处理组与对照组小鼠黑质TH＋神经元形态一致，神经元排列致密、整齐，胞核饱满，核仁清晰。急性PD模型组和焦虑预处理的急性PD模型组小鼠黑质残留TH＋神经元皱缩，不饱满，梭形改变，突起减少。

急性PD模型组和焦虑预处理的急性PD模型组黑质TH＋神经元数少于对照组和焦虑预处理组，差异有统计学意义($P<0.05$)。焦虑预处理的急性PD模型组黑质TH＋神经元数与急性PD模型组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。急性PD模型组的纹状体TH＋神经元的MOD值低于对照组，焦虑预处理的急性PD模型组低于焦虑预处理组，差异有统计学意义($P<0.05$)，见表5，图1。

表5　免疫组织化学染色检测焦虑预处理对各组小鼠黑质－纹状体TH＋神经元影响的比较

Table 5　Comparison of the effects of anxiety preconditioning on nigro-striatum TH＋ neurons in each group by immunohistochemical staining

($n=17, \bar{x}\pm s$)

组别	黑质TH＋神经元数(个)	纹状体TH＋神经元的MOD($\times10^{-2}$)
对照组	16.70±0.21	6.20±0.20
焦虑预处理组	15.00±0.32	5.10±0.14
急性PD模型组	8.04±0.10*#	4.91±0.07*
焦虑预处理的急性PD模型组	8.00±0.06*#	4.80±0.05#
F 值	156.410	74.210
P 值	<0.001	<0.001

*P 值<0.05 与对照组比较　#P 值<0.05 与焦虑预处理组比较(SNK-q 检验)

3　讨　论

焦虑是PD常见的情绪症状，可长期伴随PD患者，并对患者的运动能力、疾病发生、发展及预后产生影响，严重损害患者的生活质量及增加照料者的负担[8]。焦虑症状可能是PD本身神经化学变化的结果，也可能是患者对疾病压力的心理反应。在大多数患者中，焦虑和抑郁同时存在[5]，但是焦虑常常被忽视，而焦虑在PD患者中的高患病率提示了早期检测和识别PD患者焦虑的重要性[4]。因此，研究焦虑情绪对PD患者的影响至关重要。

焦虑动物模型是将动物置于一系列实际的或潜在的应激性情境中，使其产生焦虑情绪[9]。理想的动物模型是能够模拟人类情绪障碍，并且具有与人相似的病理、生化机制。目前常用的一种焦虑动物模型是条件反射的模型，常用的是Vogel饮水冲突实验[10-11]，利用禁水小鼠对水的需求心理与饮水时遭受电击打的恐惧心理之间的矛盾冲突行为，很好的模拟了人类的焦虑反应，常用来建立焦虑动物模型[12-13]。

本研究显示C57BL/6J小鼠禁水24 h、48 h后多无明显烦渴，同时经典的Vogel饮水冲突实验后小鼠出现焦虑情绪，但维持时间很短，多在1 h左右缓解。有报道[14-15]显示短时间、天数少的束缚刺激使小鼠产生焦虑情绪，长时间，天数多的束缚刺激则产生抑郁情绪，并且束缚可使小鼠身体水分消耗增多，进而增加禁水后小鼠对水的渴求。故本实验采用改良Vogel饮水冲突实验结合短时间束缚应激制造焦虑预处理模型。

常用的焦虑模型是基于回避冲突情境诱导动物形成相反动机状态而产生的持久的心理改变，利用动物暂时性、生理性焦虑行为的改变评价，一般造模结束后，随着时间推移动物焦虑行为趋向缓解[12,16]。本研究中，焦虑预处理后第2天高架十字迷宫结果显示，焦虑预处理组和焦虑预处理的急性PD模型组小鼠，其OE%和OT%的比值明显减少，表明小鼠存在明显的焦虑情绪。但是焦虑预处理后第5～6天，旷场和高架十字迷宫结果一致显示焦虑预处理组、急性PD模型组和焦虑预处理的急性PD

模型组小鼠无焦虑、抑郁情绪，表明即使采用上述方法诱导的小鼠模型，焦虑情绪随实验时间延长，不能维持到整个行为学结束，故仅能看作是焦虑预处理模型而非焦虑模型，即证明了本研究成功制作焦虑预处理模型，且焦虑预处理对急性 PD 模型小鼠的情绪无明显影响。众所周知，由于焦虑模型建立的特点，普遍存在稳定性差、假阳性结果以及与临床上病理性焦虑有偏差，因此需要更多的实验加以佐证。

焦虑情绪不仅影响着患者的用药依从性，还作为一种心理应激源通过神经、心理作用于大脑皮质、脑干网状系统等部位，反射性加重神经递质紊乱，进而加重运动功能障碍[17]。本研究显示第 7 天焦虑预处理的急性 PD 组小鼠爬杆时间显著延长，而焦虑预处理的正常小鼠和 MPTP 注射所致的急性 PD 组小鼠爬杆时间均正常，表明焦虑预处理显著加重运动功能损伤。研究[18]表明急性 PD 小鼠模型的行为学及纹状体 DA 含量可随时间推移而呈现自发性恢复的趋势，但黑质内 DA 能神经元的数目却仍在缓慢减少。脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor，BDNF)是中枢神经系统中分布最广泛的神经营养因子，BDNF 及其酪氨酸激酶受体 B(tyrosine kinase receptor B，TrkB)通路对神经递质分泌和神经元重塑都有重要的调节作用。研究[7,19]证实，长期焦虑可使脑内 BDNF 及其 TrkB 受体减少，而使神经纤维可塑性降低，纹状体 DA 神经纤维重塑减少，DA 神经元分泌 DA 神经递质减少，从而加重 PD 小鼠运动功能损害，且在一段时间内难以恢复。

焦虑情绪可以影响患者的学习、记忆能力，适度的焦虑可以提高学习能力[20]。本研究显示，焦虑预处理小鼠的寻台潜伏期显著缩短，学习能力升高，空间搜索阶段较正常小鼠无明显改变，记忆能力无变化，这与 Pizarro 等[21]研究结果，应激能增加脑组织中 HSP70 的表达，且 HSP70 的表达水平与学习能力呈正相关结果一致，说明短暂适度焦虑可提高小鼠学习能力。然而 Zheng 等[20]研究显示，应激也可通过损伤小鼠门冬氨酸受体导致小鼠空间学习、记忆能力降低，说明不同应激引起不同神经递质的改变，对小鼠学习、记忆能力影响不同。研究[7,22]显示，BDNF 对学习和记忆能力有重要的影响。BDNF 参与学习发生后数小时内海马中心持久性存储的关键和不同大脑区域多种类型记忆的巩固[22]。焦虑预处理引起海马区 BDNF 减少，促使海马区记忆持久性存储能力下降，信息巩固不能，同时也会引起海马神经元氧化磷酸化过程紊乱，最终导致整体记忆能力下降[23]。记忆是一个整合的过程，需要翻译、编码、存储和检索，而学习是记忆获取信息的初始阶段，因此对学习过程的影响不大，解释了本研究中相对于急性 PD 组，焦虑预处理的急性 PD 组小鼠 Morris 水迷宫实验的平台象限滞留时间、路程和穿台次数减少更多，提示焦虑预处理可能加重 PD 模型小鼠记忆能力的损害。另外，本研究显示焦虑预处理组小鼠寻台潜伏期缩短，而焦虑预处理的急性 PD 组小鼠较 PD 组的寻台潜伏期却有一定程度的增加，这可能与小鼠经受刺激不同导致体内 BDNF 的多少有关。有研究[24]显示，较小的、短时间的焦虑应激可使脑内 BDNF 增加，相反，较大的、反复或者长时间焦虑应激可导致脑内 BDNF 减少。本研究中焦虑预处理组小鼠所受刺激相对较小，焦虑预处理的急性 PD 组小鼠所受刺激相对较大，因此，焦虑预处理组小鼠脑内 BDNF 增加，学习记忆能力提高，焦虑预处理的急性 PD 组小鼠脑内 BDNF 降低，学习记忆能力减低相关，这有待进一步证实。

焦虑预处理后脑组织损伤是一个动态变化过程。Sun 等[25]研究显示，焦虑与 DA 能神经系统有关，DA 在 PD 的焦虑中起着关键作用。在 PD 患者中，DA 水平的恢复和维持平衡来自于 5-HT 和 NE 神经元。而 DA 还负责抑制蓝斑(locus coeruleus，LC)神经元的放电率，PD 中 DA 的缺乏导致 LC 的放电率增加，从而抑制 5-HT 神经元的合成和释放，从而提高 PD 患者的焦虑水平[6]。本研究显示，焦虑预处理组小鼠纹状体中 TH＋神经元的 MOD 明显下降，但黑质中 TH＋神经元数未见明显改变，说明焦虑预处理使脑内纹状体 DA 含量降低，影响了黑质多巴胺神经元释放 DA 或损伤了纹状体多巴能神经元的纤维，但这种损伤较轻，未达到出现临床症状的程度，所以小鼠无临床表现。Bartlett 等[26]研究显示，左旋多巴治疗的 PD 小鼠可改变脑内 5-HT、NE 从而调节小鼠焦虑症状，间接说明 DA 减少也可导致小鼠产生焦虑情绪。在本研究中，单独的焦虑预处理对纹状体 DA 能神经元却有损伤作用，而焦虑预处理的急性 PD 组小鼠相较于急性 PD 组小鼠黑质－纹状体多巴胺能神经元和神经轴突受损程度差异无统计学意义($P>0.05$)，这可能由于焦虑预处理的急性 PD 组小鼠在给予 MPTP 后严重损伤黑质－纹状体多巴胺能神经元和神经轴突，导致 DA 大量降低，代偿性引起脑内多种脑内神经营养因子如 BDNF 增加，抵消了焦虑预处理引起的

损伤作用[4,27]。

本研究还有一些不足：①只观察了7 d时焦虑预处理对急性PD模型的运动功能的影响，应该延长观察时间，观察其远期影响；②缺少相关脑区单胺类神经递质水平的测定，相关机制研究不够深入；③未进行焦虑预处理对慢性PD模型的影响的研究。因此，应该建立慢性焦虑情绪的小鼠模型，观察慢性焦虑刺激对急性和慢性PD模型的影响可能更具有临床意义。

综上所述，从目前的研究来看，焦虑在PD中的发病机制、影响因素仍不明确。焦虑患者体内存在多种生化物质的改变，而这些递质之间，与PD引起改变的神经递质互为关联，相互协调，相互拮抗，形成庞大而复杂的体系，需要进一步更为细致地研究。此外，一些可用于PD并发焦虑早期诊断的无创性方法如测评量表还需完善和研究证实。临床医师需培养敏锐的洞察力，及早显示患者焦虑情绪障碍对疾病的影响，以免误诊而延误治疗。（本文图见封三）

[参考文献]

[1] Li H, Liang S, Yu Y, et al. Clinical experience of comprehensive treatment on the balance function of Parkinson's disease[J]. Med, 2020, 99(19): e20154.

[2] Weintraub D, Mamikonyan E. The neuropsychiatry of parkinson disease: a perfect storm[J]. Am J Geriatr Psychiatry, 2019, 27(9): 998－1018.

[3] 陈宁，隋云鹏，孟凡刚.帕金森病早期SNCA基因Ala53Thr碱基替换对小鼠模型嗅球组织中内源性代谢产物表达的影响[J].中国现代神经疾病杂志，2021，21(6)：493－501.

[4] Carey G, Görmezoğlu M, de Jong JJA, et al. Neuroimaging of anxiety in parkinson's disease: a systematic review[J]. Mov Disord, 2021, 36(2): 327－339.

[5] Kwok JYY, Kwan JCY, Auyeung M, et al. Effects of mindfulness yoga vs stretching and resistance training exercises on anxiety and depression for people with parkinson disease: a randomized clinical trial[J]. JAMA Neurol, 2019, 76(7): 755－763.

[6] Khatri DK, Choudhary M, Sood A, et al. Anxiety: An ignored aspect of Parkinson's disease lacking attention[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 131: 110776.

[7] 苑晓阳，刘俊骞，顾平，等.艾司西酞普兰对MPTP诱导的急性帕金森病模型小鼠运动和认知功能的作用[J].中国神经免疫学和神经病学杂志，2020，27(6)：460－465.

[8] Ray S, Agarwal P. Depression and anxiety in parkinson disease[J]. Clin Geriatr Med, 2020, 36(1): 93－104.

[9] Kraeuter AK, Guest PC, Sarnyai Z. The elevated plus maze test for measuring anxiety-like behavior in rodents[J]. Methods Mol Biol, 2019, 1916: 69－74.

[10] Bach DR. Cross-species anxiety tests in psychiatry: pitfalls and promises[J]. Mol Psychiatry, 2022, 27(1): 154－163.

[11] Morel C, Montgomery SE, Li L, et al. Midbrain projection to the basolateral amygdala encodes anxiety-like but not depression-like behaviors[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 1532.

[12] Mufford MS, van der Meer D, Andreassen OA, et al. A review of systems biology research of anxiety disorders[J]. Braz J Psychiatry, 2021, 43(4): 414－423.

[13] Fuzzati-Armentero MT, Cerri S, Blandini F. Peripheral-central neuroimmune crosstalk in parkinson's disease: what do patients and animal models tell us? [J]. Front Neurol, 2019, 10: 232.

[14] Kim S, Hong KB, Kim S, et al. Creatine and taurine mixtures alleviate depressive-like behaviour in Drosophila melanogaster and mice via regulating Akt and ERK/BDNF pathways[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 11370.

[15] Singh S, Tripathy S, Rawat A, et al. Pre-clinical investigations of therapeutic markers associated with acute and chronic restraint stress: a nuclear magnetic resonance based contrast metabolic approach[J]. Nanotheranostics, 2023, 7(1): 91－101.

[16] Richter-Levin G, Stork O, Schmidt MV. Animal models of PTSD: a challenge to be met[J]. Mol Psychiatry, 2019, 24(8): 1135－1156.

[17] Fan JQ, Lu WJ, Tan WQ, et al. Effectiveness of acupuncture for anxiety among patients with parkinson disease: a randomized clinical trial[J]. JAMA Netw Open, 2022, 5(9): e2232133.

[18] Foley PB, Hare DJ, Double KL. A brief history of brain iron accumulation in Parkinson disease and related disorders[J]. J Neural Transm (Vienna), 2022, 129(5/6): 505－520.

[19] Ewelina P, Adrianna W, Anna G, et al. BDNF as a promising therapeutic agent in Parkinson's disease[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(3): 1170.

[20] Zheng JJ, Zou R, Huang S, et al. Enriched environment rearing from birth reduced anxiety, improved learning and memory, and promoted social interactions in adult male mice[J]. Neurosci, 2020, 442: 138－150.

[21] Pizarro JM, Haro LS, Barea-Rodriguez EJ. Learning associated increase in heat shock cognate 70 mRNA and protein expression[J]. Neurobiol Learn Mem, 2003, 79(2): 142－151.

[22] Yu KW, Wang CJ, Wu Y, et al. An enriched environment increases the expression of fibronectin type Ⅲ domain-containing protein 5 and brain-derived neurotrophic factor in the cerebral cortex of the ischemic mouse brain[J]. Neural Regen Res, 2020, 15(9): 1671－1677.

[23] Li YJ, Yang LP, Hou JL, et al. Prenatal stress impairs postnatal learning and memory development via disturbance of the cgmp-pkg pathway and oxidative phosphorylation in

the hippocampus of rats[J]. Front Mol Neurosci, 2020, 13: 158.

[24] Dionisie V, Ciobanu AM, Toma VA, et al. Escitalopram targets oxidative stress, Caspase-3, BDNF and MeCP2 in the hippocampus and frontal cortex of a rat model of depression induced by chronic unpredictable mild stress[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(14): 7483.

[25] Sun F, Lei Y, You J, et al. Adiponectin modulates ventral tegmental area dopamine neuron activity and anxiety-related behavior through AdipoR1[J]. Mol Psychiatry, 2019, 24(1): 126－144.

[26] Bartlett MJ, Flores AJ, Ye T, et al. Preclinical evidence in support of repurposing sub-anesthetic ketamine as a treatment for L-DOPA-induced dyskinesia[J]. Exp Neurol, 2020, 333: 113413.

[27] Han Z, Wang Y, Qi L, et al. Differential association of serum BDNF with poststroke depression and poststroke anxiety[J]. Arch Phys Med Rehabil, 2020, 101(8): 1355－1366.

（本文编辑：何祯）