

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.21.043

· 专论与综述 ·

应激模型的生理学基础及其比较研究进展*

高文婷^{1,2} 杨 策^{1△} 王海燕¹ 杜 娟¹ 蒋建新¹

(1 第三军医大学大坪医院野战外科研究所第四研究室 / 全军交通医学研究所 / 全军交通伤重点实验室 / 创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室 重庆 400042; 2 内蒙古科技大学第一附属医院 内蒙古 包头 014010)

摘要: 各种外界因素如创伤、手术、感染、缺氧、强光、噪音等通过一定强度作用于机体可以引起机体特异性和非特异性反应, 非特异性反应与刺激因素性质无直接关系, 称为应激(stress)。近年来, 随着社会的发展, 生活节奏的加快、自然环境和生活环境的恶化, 应激已经成为威胁人类健康的重要因素, 有关应激影响机体健康的研究备受国内外学者的重视, 而合适的应激动物模型的建立对应激研究的顺利开展有着重要意义。本文就目前应激动物模型的病理生理特点、种类、制作和评价方法等进行综述, 旨在为应激研究提供参考。

关键词: 应激; 下丘脑; 肾上腺; 动物模型

中图分类号: Q95-33; R-332 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2014)21-4160-04

Physiological Basis of the Stress Models and Their Progress
in Comparative Study*GAO Wen-ting^{1,2}, YANG Ce^{1△}, WANG Hai-yan¹, DU Juan¹, JIANG Jian-xin¹

(1 State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Department 4, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042, China; 2 The first affiliated hospital, Inner Mongolia Science and Technology University, Baotou, Inner Mongolia, 014010, China)

ABSTRACT: Various external factors, such as trauma, operation, hypoxia, highlight and noise, may result in the specific and non-specific reactions in our bodies to some extent. The non-specific reactions are not related to the stimulus characters. In recent years, stress has become one of the most serious factors threatening the people's health with the acceleration of life rhythm and deterioration of the environment. The stress related pathophysiological changes have gained much attention. Hence, the establishment of moderate animal models is of great importance for stress studies. In this review, we summarized the pathological basis of some stress models and compared the potential differences between them so as to supply the useful information for future stress research.

Key words: Stress; Hypothalamus; Adrenal; Animal models

Chinese Library Classification(CLC): Q95-33; R-332 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)21-4160-04

前言

外界的各种因素如创伤、手术、感染、缺氧、强光、噪音等通过一定强度作用于机体可以引起机体的两类反应, 一类是特异性反应, 如组织坏死、化脓、酸中毒等; 另一类是非特异性适应反应, 如心率增加、血液再分布、焦虑、恐惧等, 而这些反应与刺激因素性质无直接关系。H. Selye 最早把这种由各种内外环境刺激时所出现的非特异性全身反应称为应激(stress)^[1]。现有研究表明, 引起应激反应的因素主要包括 3 类, 一是外环境因素, 如缺氧、高温或低温环境、创伤等; 二是内环境因素, 包括低血糖、器官功能紊乱等; 三是心理、社会因素, 如恐惧、愤怒等。适度的应激有利于机体在紧急状态下战斗或逃避, 如果应激过于强烈, 则会引起病理变化, 对机体造成损伤甚至死亡。近年来,

随着社会的发展, 生活节奏的加快、自然环境和生活环境的恶化, 应激已经成为威胁人类健康的重要因素。调查发现, 我国遭受应激影响的人群比例迅速上升, 且受累人群范围也在不断扩大^[2]; 而美国约有 45% 的员工因应激引起各种各样的生理或心理问题^[3]。因此, 有关应激影响机体健康的研究越来越受到国内外学者重视, 而建立合适的应激动物模型对应激研究的顺利开展具有重要价值。

1 病理生理学基础

应激主要是由于应激原激活神经内分泌网络中两条关键的神经内分泌通路所引起的, 一是蓝斑 - 去甲肾上腺素能神经元(LC-NE)轴, 二是下丘脑 - 垂体 - 肾上腺皮质(HPA)轴。这两条轴的兴奋可以引起不同的或类似的中枢或外周效应(表 1)。

* 基金项目: 国家 973 重点基础研究计划课题(2012CB518102); 国家自然科学基金项目(31271242)

作者简介: 高文婷(1985-), 女, 医学硕士, 医师, 主要研究方向: 创伤应激与修复, E-mail: 752162673@qq.com

△ 通讯作者: 杨策, E-mail: sepsismd@126.com

(收稿日期: 2013-04-24 接受日期: 2013-05-22)

表 1 应激反应的主要表现
Table 1 The principal manifest of stress reaction

行为表现	生理表现	情绪表现
工作能力或效率下降	血压升高	焦虑或急躁不安
判断力降低、失误增多	肌肉紧张或僵硬	紧张感
思维缓慢或停顿	心跳、呼吸加快	易激惹
记忆力降低	手心出汗或发冷	恐惧、多疑
注意力下降或难以集中	紧张性头痛	倾诉增多
创造性工作能力下降	胃痛	抑郁
开始或增加饮酒或药物	低热	哭泣
吸烟或喝咖啡	食欲下降	冲动、敌意、斗争
生病或不适频率增加	尿频	自残或毁物
疲乏、缺乏活力与兴趣	睡眠困难或易醒	内疚、自责、自杀倾向
发生事故的频率增加	休息不好或萎靡	无价值感

1.1 蓝斑-去甲肾上腺素能神经元(LC-NE)轴

可引起兴奋、警觉及紧张、焦虑等情绪反应。应激通过蓝斑上行纤维激活 HPA 轴,产生一系列反应。蓝斑的下行纤维可以作用于去甲肾上腺素能神经,使血浆儿茶酚胺类物质浓度迅速增高,使血压升高、呼吸、心率加快,血液重新分布,食欲下降,胃应激性溃疡形成等。

1.2 下丘脑-垂体-肾上腺皮质(HPA)轴

适量促肾上腺素释放激素(CRH)升高可以促进适应反应,产生兴奋或愉快的情绪;但是 CRH 过量升高则可以导致适应障碍,引起焦虑、抑郁和食欲不振等不良反应。HPA 轴激活可以导致下游靶器官肾上腺皮质 GC 分泌增加,GC 可以对抗有害刺激,发挥对机体广泛的保护作用。但 GC 持续过量破坏免疫系统,对机体产生不利影响。

2 应激模型的种类及制备

由于致应激因素复杂多样,应激原的种类、强度、持续时间等均能影响机体对应激的反应,因此应激导致的机体反应多样,有的以躯体的反应为主,有的以心理变化为主,有的则两者皆有且难分主次,因此,有学者根据机体对应激原的不同反应,将动物模型分为躯体应激模型、心理应激模型和综合应激模型^[4]。

2.1 躯体应激模型

躯体应激模型有很多种,如冷应激、热应激、创伤应激、疲劳应激等,它们的共同特点是通过对机体结构和/或功能完整性的破坏,从而刺激中枢的神经轴产生一系列的病理生理反应,最终可导致动物神经或精神的改变,产生抑郁及认知或学习能力的衰退。

冷应激和热应激的造模方法是將动物置于低温(10℃)或高温(42℃)环境,动物因外界温度的剧变而产生应激。赵爱源等将健康雄性昆明小鼠置于 42℃ 的烤箱内连续应激 45 min,结果发现应激组小鼠的体重明显减轻,且学习记忆能力和体能明显受损^[5]。

疲劳应激是运动员及军警等体力职业人群所普遍面临的一种躯体应激,研究较多。目前常用的疲劳应激模型有强迫跑步模型和强迫游泳模型。Vihko 等强迫大鼠在自制跑台上进行

48 小时的连续作业,初步建立了疲劳应激动物模型,并观察到疲劳大鼠的觉醒能力被严重损害^[6]。人们利用鼠类的善攀爬天性,发明了滚轮运动,如 Helaine 等用规律的强迫性滚轮运动建立了大鼠的疲劳应激模型,且以自愿性滚轮运动作为对照,阐明了适量运动与过度运动所致疲劳应激对机体影响的差别^[7]。动物跑步机的应用使得实验参数得以更好的控制,可以通过调节跑步的速度、坡度和时间来控制应激强度。因啮齿类动物善于游泳,研究者们建立了强迫游泳模型。Pedreanez 等将小鼠置于水深 35 cm、25℃ 的恒温水箱中,使小鼠游泳至力竭(避免下沉)建立了比较直观的疲劳应激模型^[8]。根据实验需求可以调节水温增大应激强度,或者在小鼠尾部系以砝码等重物,通过增大小鼠的运动量从而增加应激强度。

严重创伤、烧伤等均可导致动物的应激反应,常用的动物模型有颅脑创伤、皮肤烧伤、肺撞击伤等。由于创伤部位的持续刺激,创伤应激较其他应激更为持久。张云东等利用右肺中部重度创伤合并右股骨中段骨折为模型研究严重创伤后大鼠下丘脑 CRH 的分布及含量变化,发现撞击伤后,室旁核和视上核的 CRH 明显增加;撞击伤后 60 min,下丘脑 CRH mRNA 含量明显增加,且呈逐渐增加的趋势,至 720 min 开始回落^[9]。

2.2 心理应激模型

根据心理应激因素和造模方式的不同,心理应激模型通常可分为情绪性应激模型、不可逃避性应激模型和心理冲突性应激模型等。

情绪性应激模型 主要利用动物存在与人类相似的恐惧、绝望、愤怒等情绪反应,通过施加一些社会性心理应激因素,使动物产生一些与人类类似的情绪反应。目前应用较为广泛的是愤怒心理应激模型和空瓶刺激应激模型。Sgoifo 等利用单独饲养的大鼠易出现攻击性,当放进入鼠时则出现攻击、愤怒的特点,将大鼠连续 10 天单独饲养并施以昼夜颠倒环境,使之产生领地归属感,在第 11 天当独养大鼠处于夜间兴奋状态时,将 1 只陌生大鼠放入独养大鼠笼内,独养大鼠即会因入侵鼠的侵入产生强烈的愤怒感和激越心理,由此构建了独养大鼠的愤怒社会心理应激模型^[10]。Izquierdo 等将大鼠进行定时喂水训练,在动物形成一定的条件反射后,开始无规律地将空水瓶在动物定时饮水时间提供给动物,给予动物空瓶刺激,动物因无法正

常进水而逐渐形成慢性情绪应激动物模型^[11]。

不可逃避性应激模型 模拟人类生活中无法避免的拥挤、噪音、挫折等生活环境及状态,将实验动物置于无法逃脱的环境中,如拥挤、电击、噪音、束缚等诱发其心理应激反应。其中以束缚模型比较常用,其方法为将小鼠包裹于塑料网布或置于50ml的离心管/塑料管中,限制小鼠头、躯干、四肢的活动但保持呼吸功能的完好。根据束缚时间的长短或束缚的环境不同,束缚模型又可分为长期慢性束缚和短期急性束缚、单纯束缚和复合束缚。短期连续束缚一般在12小时以下,长期束缚每天束缚几小时,持续几天至几周。短期束缚小鼠可产生强烈的应激反应,有文献表明,束缚15 min后血浆皮质酮水平即可明显升高^[12]。长期慢性束缚可使小鼠对应激产生耐受,皮质酮水平较急性应激偏低^[13]。复合束缚是在单纯束缚应激的基础上附加不良环境因素的刺激,如冰冷环境下的束缚、在水中束缚动物,该类模型主要用以研究环境因素对心理应激的影响。

心理冲突性应激模型 利用动物的与人类相似的心理冲突,模拟人们在生活中面对重大抉择时的心理冲突情景,其经典模型为惩罚性饮水实验^[14]。具体方法为将小鼠的饮水瓶或水槽与电路连接,通电时,小鼠饮水或饮食会遭到电击,不通电时则不会。电流随机接通或关闭会造成小鼠饮水或进食时心理冲突,从而产生焦虑愤怒情绪,拟合了人类产生心理冲突时所形成的应激状态。

旁观电击大鼠模型 是一种较为纯粹的心理应激模型,又称交流箱实验。具体方法为给交流箱底部的不锈钢电丝通电,电流2 mA,通电10 s,间隔50 s。处于足部电击组小鼠由于所处小室底部直接接触导电丝,因此受到电刺激。而心理应激组小鼠未受到电刺激,但可以感受到邻近电击组小鼠的挣扎、尖叫和跳跃等感官刺激信息,从而使其产生恐惧等情绪^[15]。

2.3 综合应激模型

在现实生活中,人们面对错综复杂的社会和自然环境,所受到的应激不可能是单一的,而是多种多样的,往往同时存在躯体应激与心理应激。Katz等在20世纪80年代初对此模型进行了一系列研究,大鼠经历了一系列的应激因子,如强烈噪音、强光刺激、长时间行为限制后表现出活动能力下降^[16]。Willner等对Katz等的方案进行了调整,一方面降低了应激因子的强度,另一方面则以测量快感缺乏作为模型成功与否的关键^[17]。综合应激模型的应激因子包括(1)昼夜节律的重新调整和光照性质的改变(闪光刺激、昼夜颠倒、间断光照);(2)食物和饮水供应的调整(禁食、禁水、空瓶放置);(3)居住环境的改变(单笼饲养、变换合笼饲养对象、鼠笼倾斜、潮湿垫料、冷热环境);(4)短时间内电击足底;(5)强迫游泳;(6)束缚应激;(7)高温环境;(8)噪音干扰;(9)陌生气味;(10)陌生异常物品(塑料杯、木勺、碎布片等)。将几种不同的应激因子在实验全程中应用,顺序随机,使动物不能预料刺激的发生。在此模型中,应激因子的多变性和不可预测性是模型制造成功的关键。

3 应激模型的评价指标

目前国际上较公认的评价应激模型的方法有两种,一是根据动物的行为改变进行评价,二是根据某些激素水平进行评价。行为学评价可大致分为3类:1、反映动物探究行为及情绪

反应的实验,包括旷场实验(Open Field)、高架迷宫实验(Elevated Maze)及新颖物体实验(Novel Object)等。2、反映动物抗争行为或绝望情绪的行为实验:如强迫性游泳实验(Forced Swimming)、悬尾实验(Tail Suspension)、获得性无助实验(Learned Helplessness)等。3、评价动物记忆力和学习能力的实验:目前常用的有跳台法(Step Down)、Morris水迷宫(Morris maze)、空间星形迷宫(Spatial radial arm maze)和非空间星形迷宫(Nonspatial radial arm maze)等。应激时可有多种激素水平的升高,比较常用的检测指标有促肾上腺皮质激素(ATCH)、血浆皮质酮、儿茶酚胺等。虽然人们建立了一些评价应激模型的方法,但是由于各个实验的实验目的、实验条件和环境的不同,目前还难以建立一个统一的量化评价标准,这使得应激模型的发展和应用受到限制。

4 各种应激模型比较

由于各种应激原的种类、性质、强度、时间的不同,其作用于机体和引起应激的作用通路可能不同,导致了机体对应激的反应也有所差别。躯体应激首先影响了动物的体能和活动能力,或是对动物身体结构、功能的完整性造成破坏,进而造成动物神经和精神的改变,最终可表现为抑郁及认知或学习记忆功能的衰退。心理应激与躯体应激反应不同,心理应激动物更多表现为心理紧张、焦虑、愤怒、抑郁并倾向于通过非特异的心理和生理行为反应表现出来,如束缚应激大鼠出现尖叫、胡须竖立、长期不动等行为表现^[18]。心理应激模型动物的某些递质释放变化与躯体应激模型动物明显不同,如与疲劳应激恰恰相反,慢性束缚应激大鼠血浆和下丘脑DA和5-HT含量明显降低^[19-22]。与躯体应激的影响相似,心理应激动物HPA轴功能明显亢进,但发生较为缓慢、持久,这可能与下丘脑室旁核CRH的mRNA表达增加有一反应准备过程相关^[23]。长期疲劳应激会导致机体免疫系统功能衰退;而对于短期疲劳应激目前则有不同看法,但近来逐渐倾向于认为短时间剧烈运动可使动物的免疫功能发生暂时性的下降,如淋巴细胞数量下降、自然杀伤细胞应答能力下降等,而撤除应激原数小时或几天其后其免疫功能可恢复正常。此外,目前研究认为心理应激对动物行为活动和学习记忆的影响随应激时程长短的不同而有不同表现:急性应激可导致动物行为活动增加,探寻新环境的欲望增强,空间记忆力增强;而慢性应激可导致动物行为活动减少,警觉性下降,记忆力减退,甚至导致神经衰弱综合征的形成。综合应激模型较单一因素应激模型可以更好的模拟现实中的应激刺激状况,但因其病因的复杂性给后续的数据分析带来困难。此外,应激动物的不同年龄、性别、种属等可导致不同的实验结果。因此选择应激模型时要根据实验目的来选择合适的应激模型。

5 展望

近年来,鉴于应激的多样性和机体反应的复杂性,应激模型研究已有明显进展。尽管不同类型的应激因素影响机体的起始环节可能不同,但最终都可引起机体神经内分泌免疫网络的平衡状态,因此,以神经、内分泌、免疫指标评价为导向,从不同应激因素与神经内分泌免疫网络平衡失调关系的角度进行应激动物模型研究具有良好的前景,这可能对揭示应激影响机体

的作用及其机制具有重要意义。

参考文献(References)

- [1] 韦有华, 汤盛钦. 几种主要的应激理论模型及其评价[J]. 心理科学, 1998, 21(5): 441-444
Wei You-hua, Tang Sheng-qin. Several main stress theories and their evaluation[J]. Psychological Science, 1998, 21(5): 441-444
- [2] 庄清. 应激、健康与应激管理 [J]. 中国运动医学杂志, 2004, 23(2): 226-228
Zhuang Qing. Stress, health and stress management [J]. Chinese Journal of Sports Medicine, 2004, 23(2): 226-228
- [3] Holmes SD, Krantz DS, Rogers H, et al. Mental stress and coronary artery disease: a multidisciplinary guide [J]. Prog Cardiovasc Dis, 2006, 49(2): 106-122
- [4] 谢兴振, 周文霞, 迟晓丽, 等. 应激动物模型研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2008, 17(16): 1375-1380
Xie Xing-zhen, Zhou Wen-xia, Chi Xiao-li, et al. Progress in research of an animal stress models [J]. Chinese Journal of New Drugs, 2008, 17(16): 1375-1380
- [5] 赵爱源. 两种热应激预处理对小鼠行为学的影响[J]. 武警医学院学报, 2009, 18(11): 922-925
Zhao Ai-yuan. Effect of different heat stress preconditioning on behaviors of mice [J]. Academiae Medicinae CPAPF, 2009, 18(11): 922-925
- [6] Vihko V, Salminen A. Acid hydrolase activity in tissues of mice after physical stress[J]. Comp Biochem Physiol B, 1983, 76(2): 341-344
- [7] Helaine MA, Ann EH, Szilvia N, et al. Exercise improves biomarkers of health and stress in animals fed ad libitum[J]. Physiol Behav, 2005, 84(7): 65-72
- [8] Pedreanez A, Arcaya JL, Carrizo E, et al. Forced swimming test increases superoxide anion positive cells and angio-tensin II positive cells in the cerebrum and cerebellum of the rat [J]. Brain Res Bull, 2006, 71(13): 18-22
- [9] 张云东. 大鼠胸部严重创伤后早期下丘脑 CRH 表达的实验研究 [J]. 创伤外科杂志, 2004, 6(3): 206-208
Zhang Yun-dong. Effect of severe traumatic injury on expression of corticotrophin-releasing hormone in the hypothalamus of rat [J]. Journal of Traumatic Surgery, 2004, 6(3): 206-208
- [10] Sgoifo A, Meerlo P. Animal models of social stress: implications for the study of stress related pathologies in humans [J]. Stress, 2002, 5 (1): 1-2
- [11] Izquierdo I, Mcgaugh JL. Effect of novel experiences on retention of inhibitory avoidance behavior in mice: The influence of previous exposure to the same or another experience [J]. Physiol Behav, 1987, 47(2): 109-115
- [12] Filaretova LP, Filaretov AA, Makara GB. Corticosterone increase inhibits stress-induced gastric erosions in rats[J]. Am J Physiol, 1998, 274(6): 1024-1030
- [13] Rademacher DJ, Meier SE, Shi L, et al. Effects of acute and repeated restraint stress on endocannabinoid content in the amygdala, ventral striatum, and medial prefrontal cortex in mice[J]. Neuropharmacology, 2008, 54(1): 108-116
- [14] Commissaris RL, Ardayefio PA, Mcqueen DA, et al. Conflict behavior and the effects of 8-OHDPAT treatment in rats selectively bred for differential 5-HT (1A)-induced hypothermia [J]. Pharmacol Biochem Behav, 2000, 67(1): 199-205
- [15] 贾克然. 单纯心理应激小鼠模型的建立及对行为、内分泌免疫功能的影响[J]. 免疫学杂志, 2009, 25(3): 329-332
Jia Ke-ran. Establishment of a single psychological stress model in mice and its effect on behavior and neuroendocrine immune function [J]. Immunological Journal, 2009, 25(3): 329-332
- [16] Katz R, Hersch S. Amitriptyline and scopolamine in an animal model of depression[J]. Neurosci Biobehav Rev, 1981, 5(2): 265-271
- [17] Willner P, Towell A, Sampson D, et al. Reduction of sucrose preference by chronic mild unpredictable stress and its restoration by a tricyclic antidepressant [J]. Psychopharmacology, 1987, 93 (3): 358-364
- [18] Guy Griebel, Jacques Simiand, Claudine Serradeil-Le Gal. Anxiolytic and antidepressant-like effects of the non-peptide vasopressin V1b receptor antagonist, the treatment of stress-related disorders [J]. PNAS, 2002, 99(9): 6370-6375
- [19] Bogaert M, Osting R, Toth M, et al. Effects of genetic background and null mutation of 5-HT1A receptors on basal and stress-induced body temperature: Modulation by serotonergic and GABAA-ergic drugs[J]. Eur J Pharmacol, 2006, 550(13): 84-90
- [20] Gerges NZ, Alzoubi KH, Park CR, et al. Adverse effect of the combination of hypothyroidism and chronic psychosocial stress on hippocampus-dependent memory in rats [J]. Behav Brain Res, 2004, 155(1): 77-84
- [21] Scaccianoce S, Delbianco P, Caricasole A, et al. Relationship between learning, stress and hippocampal brain-derived neurotrophic factor[J]. Neuroscience, 2003, 121(4): 825-828
- [22] Ishiwata H, Shiga T, Okado N. Selective serotonin re-uptake inhibitor treatment of early postnatal mice reverses their prenatal stress-induced brain dysfunction [J]. Neuroscience, 2005, 133 (4): 893-901
- [23] Samad N, Perveen T, Haider S. Inhibition of restraint-induced neuroendocrine and serotonergic responses by Buspirone in rats[J]. Pharmacol Rep, 2006, 58(5): 636-642