

不同应激方式对模拟高原环境下大鼠海马单胺递质的影响

马文涛, 邓自和, 杨来启, 何明, 吴兴曲, 张彦, 张建侠

(解放军第三医院精神科, 陕西 宝鸡 721004)

【摘要】 目的:探讨心理和生理应激对模拟高原低压低氧环境下的大鼠海马单胺递质含量的影响。方法:雄性 SD 大鼠随机分为对照组(Con 组)、低氧组(Hy 组)、心理应激(2 次/d)组(Ps1 组)、心理应激(2 次/d×2 天)组(Ps2 组)、心理应激(2 次/d)+低氧组(Ps1+Hy 组)、心理应激(2 次/d×2 天)+低氧组(Ps2+Hy 组)、生理应激(2 次/d)组(Ph1 组)、生理应激(2 次/d×2 天)组(Ph2 组)、生理应激(2 次/d)+低氧组(Ph1+Hy 组)和生理应激(2 次/d×2 天)+低氧组(Ph2+Hy 组)。心理和生理应激都采用旁观电击(CB)的方法。用高效液相色谱-电化学检测法(HPLC-ECD)测定用推挽灌注收集的海马灌流液中的去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)和 5-羟色胺(5-HT)的含量。结果:①与 Con 组比较,Hy、Ps1+Hy 和 Ph2+Hy 组的 NE 含量均显著降低 ($P<0.01$, 0.05 和 0.01); 与 Hy 组比较,Ps2+Hy 和 Ph1+Hy 组的 NE 含量均显著增高 ($P<0.01$ 和 0.05)。②与 Con 和 Hy 组比较,Ph1+Hy 组的 5-HT 含量均显著升高 ($P<0.01$ 和 0.05)。③与 Con 和 Hy 组比较,Ph1+Hy 组的 DA 含量均显著升高 ($P<0.01$)。结论:心理和生理应激皆能显著影响低压低氧环境下大鼠海马单胺递质的含量。**【关键词】** 应激;低氧;海马;推挽灌注;单胺递质

中图分类号: R395.1

文献标识码: A

文章编号: 1005-3611(2008)05-0492-03

Effects of Different Stresses on Hippocampal Monoamine Level in Rat Under Simulated High-altitude Hypobaric Hypoxia

MA Wen-tao, DENG Zi-he, YANG Lai-qi, et al

Department of Psychiatry, 3rd Hospital PLA, Baoji 721004, China

【Abstract】 Objective: To examine the effects of psychological and physiological stress on hippocampal extracellular monoamine content under simulated high-altitude hypobaric hypoxia. **Methods:** The male SD rats were randomly divided into ten groups: control(Con group), hypoxia(Hy group), psychological stress (twice/day) (Ps1group), psychological stress (twice/day×2day) (Ps2 group), psychological stress (twice/day) + hypoxia(Ps1+Hy group), psychological stress (twice/day×2day) +hypoxia (Ps2+Hy group), physiological stress (twice/day) (Ph1group), physiological stress (twice/day×2day) (Ph2 group), physiological stress(twice/day) + hypoxia(Ph1+Hy group), physiological stress(twice/day×2day) + hypoxia(Ph2+Hy group). The contents of norepinephrine(NE), dopamine (DA) and 5-hydroxytryptamine(5-HT) in extracellular fluid of hippocampus collected by push-pull perfusion were determined by high performance liquid chromatography with electrichemical detection (HPLC-ECD). **Results:** ①Compared with the Con group, the content of NE was significantly lower in Hy, Ps1+Hy and Ph2+Hy groups ($P<0.01$, 0.05 , 0.01 , respectively); Compared with the Hy group, it was significantly higher in Ps2+Hy and Ph1+Hy groups ($P<0.01$, 0.05 , respectively). ②Compared with the Con and Hy group, the content of 5-HT was significantly higher in Ph1+Hy group ($P<0.01$, 0.05 , respectively). ③Compared with the Con and Hy group, the content of DA in extracellular fluid of hippocampus was significantly higher in Ph1+Hy group($P<0.01$). **Conclusion:** Psychological and physiological stress had significant influence on hippocampal monoamine content in rat brain.

【Key words】 Stress; Hypoxia; Hippocampus; Push-pull perfusion; Monoamine

高原低氧能引起机体应激,能对脑功能造成显著的改变,可改变大脑的生物化学过程,特别是神经递质的代谢,其中单胺神经递质对缺氧非常敏感^[1];心理和生理应激同样能影响脑内的单胺递质代谢^[2],但心理和生理应激对低氧环境下脑内单胺递质的影响尚缺乏相关研究。因此,本研究通过建立心理和生理应激动物模型,探讨应激状态下的大鼠在模拟高原低压低氧环境下脑内单胺递质含量的变化。由于海马是边缘环路的中枢组件,控制着认知和行为反应;是整合应激的心理和生理反映的关键部位^[3]。因

此,我们用推挽灌注的方法观察心理和生理应激后,在模拟高原低压低氧环境下,大鼠海马单胺递质含量的变化;同时测定血浆皮质酮水平,以判断下丘脑-垂体-肾上腺皮质(HPA)轴的功能状态。

1 对象与方法

1.1 动物

成年雄性 SD 大鼠 80 只,体重 180-230 g,由第四军医大学实验动物中心提供。随机分成对照组(Con 组)、低氧组(Hy 组)、心理应激(2 次/d)组(Ps1

组)、心理应激(2 次/d×2d)组(Ps2 组)、心理应激 (2 次/d)+低氧组 (Ps1+Hy 组)、心理应激 (2 次/d×2 天)+低氧组(Ps2+Hy 组)、生理应激(2 次/天)组(Ph1 组)、生理应激(2 次/d×2d)组(Ph2 组)、生理应激 (2 次/d)+低氧组 (Ph1+Hy 组) 和生理应激 (2 次/d×2d)+低氧组 (Ph2+Hy 组), 每组各 8 只。在光/ 暗周期为 12/ 12h (光照时间 7:00-19:00) 的条件下饲养。

1.2 模拟高原低压低氧的方法

低氧处置为把大鼠置于模拟海拔 6000m 低压舱内 24h。具体参见马文涛^[1]的报道。

1.3 应激方法

1.3.1 心理应激动物模型 心理应激动物模型采用旁观电击模型,由 Noguchi 的方法^[4]稍加改进。旁观电击箱为塑料制品,被分成四个部分。电击室(交叉部分)中的大鼠进行电击刺激,电压 60-80 伏,每次电击持续 5s,间隔 25s,共刺激 30min;旁观室(对应的交叉部分)中的大鼠为心理应激大鼠。

1.3.2 生理应激动物模型 旁观电击模型中的电击室中的大鼠作为生理应激模型动物,各生理应激组为单独进行的电刺激大鼠。

Ps1 组和 Ph1 组大鼠为每天早 9:00-9:30 和下午 4:30-5:00 各刺激一次;Ps2 组和 Ph2 组大鼠采用上述方法,刺激 2d。Ps1+Hy 组、Ps2+Hy 组、Ph1+Hy 组和 Ph2+Hy 组大鼠在按上述方法应激后立即放入低压舱内持续 24h。

1.4 推挽灌流法收集海马细胞外液

各组处理后的大鼠,立即在戊巴比妥钠(40 mg/kg,ip) 麻醉后,固定于立体定位仪上(江湾 I 型脑立体定位仪,上海),按 Paxinos 等^[5]大鼠立体定位图谱确定右侧腹侧海马坐标。收集海马细胞外液方法具体参见马文涛^[1]的报道。

1.5 高效液相色谱-电化学测定

1.5.1 仪器 美国 Waters 高效液相色谱仪;M460 电化学检测器;M745B 数据处机;510 泵;U6K 进样器。

1.5.2 试剂及检测 具体参见马文涛^[1]的报道。

1.6 血浆皮质酮水平的测定

用放免方法测定血浆皮质酮(CORT)水平,具体参见马文涛^[1]的报道。

1.7 统计学方法

实验结果用 SPSS 13.0 统计软件分析。实验数据采用双因素方差分析(因素 A:1.平原,2.高原;因素 B:0.无应激,1.心理应激 2 次/天,2.心理应激 2 次/天×2 天,3.生理应激 2 次/天,4.生理应激 2 次/天×2 天);组间比较采用单因素方差分析。

2 实验结果

2.1 各组间 CORT 水平的比较

因素 A 主效应显著(F=48.39,P<0.01);因素 B 主效应显著(F=4.20,P<0.01);两因素之间存在交互效应(F=5.90,P<0.01)。各实验组均显著高于 Con 组(P 均<0.01)。见附表。

附表 各组大鼠各项实验数据比较

组别	例数	CORT (μg/ml)	NE (pg/ 50 μl)	DA (pg/50 μl)	5-HT (pg/ 50 μl)
Con	8	0.84 ± 0.29	1209.20 ± 282.01	23.64 ± 15.22	53.35 ± 27.89
Hy	8	2.59 ± 0.59**	813.82 ± 196.13**	19.95 ± 4.29	82.66 ± 23.36**
Ps1	8	1.72 ± 0.50**	1164.80 ± 59.48	34.06 ± 19.89	48.42 ± 10.25
Ps1+Hy	8	1.72 ± 0.38**	969.02 ± 227.59***	20.22 ± 18.44	93.46 ± 46.35***
Ps2	8	2.36 ± 0.29**	1075.09 ± 85.40	35.02 ± 18.45	53.14 ± 7.38
Ps2+Hy	8	2.11 ± 0.45**	1103.68 ± 270.59 ^{△△}	22.86 ± 10.03 [#]	86.22 ± 35.55***
Ph1	8	2.04 ± 0.47**	1008.16 ± 142.57	29.47 ± 13.00	55.83 ± 8.32
Ph1+Hy	8	1.89 ± 0.58**	990.33 ± 93.69 ^{△△}	63.91 ± 26.31 ^{**△△}	134.19 ± 51.51 ^{**△△}
Ph2	8	2.54 ± 0.86**	1132.59 ± 172.78	30.93 ± 13.67	72.12 ± 12.98
Ph2+Hy	8	2.58 ± 0.70**	610.81 ± 104.09 ^{**△△}	10.73 ± 7.36 [*]	41.93 ± 13.39 ^{△△}
F		9.86	10.02	6.08	7.19
P		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

注:与 Con 组相比:*P<0.05,**P<0.01;与 Hy 组相比:△P<0.05,△△P<0.01;与 Ph2+Hy 组相比:#P<0.05,##P<0.01

2.2 各组间海马细胞外液 NE 水平比较

因素 A 主效应显著(F=36.24,P<0.01);因素 B 主效应显著(F=5.20,P<0.01);两因素之间存在交互效应 (F=8.29,P<0.01)。与 Con 组比较,Hy、Ps1+Hy 和 Ph2+Hy 组均显著降低 (P 分别<0.01,0.05 和 0.01)。与 Hy 组比较,Ps2+Ph 和 Ph1+Hy 组均显著增高(P

分别<0.01 和 0.05);Ph2+Hy 组显著降低(P<0.01)。与 Ph2+Hy 组比较,Ps1+Hy、Ps2+Ph 和 Ph1+Hy 组均显著增高(P 均<0.01)。见附表。

2.3 各组间海马细胞外液 5-HT 水平比较

因素 A 主效应显著(F=17.66,P<0.01);因素 B 主效应显著(F=3.16,P<0.05);两因素之间存在交互效

应 ($F=8.61, P<0.01$)。与 Con 组比较, Hy、Ps1+Hy、Ps2+Hy 和 Ph1+Hy 组均显著升高(P 均 <0.01)。与 Hy 组比较, Ph1+Hy 显著增高 ($P<0.05$); Ph2+Hy 组显著降低 ($P<0.01$)。与 Ph2+Hy 组比较, Ps1+Hy、Ps2+Ph 和 Ph1+Hy 组均显著增高(P 均 <0.01)。见附表。

2.4 各组间海马细胞外液 DA 水平比较

因素 B 主效应显著($F=6.19, P<0.01$); 两因素之间存在交互效应 ($F=6.80, P<0.01$)。与 Con 组比较, Ph1+Hy 组显著升高 ($P<0.01$); Ph2+Hy 组显著降低 ($P<0.05$)。与 Hy 组比较, Ph1+Hy 组显著增高 ($P<0.01$)。与 Ph2+Hy 组比较, Ps2+Ph 和 Ph1+Hy 组均显著增高(P 分别 $<0.05, 0.01$)。见附表。

3 讨 论

本实验结果显示, 各处理组大鼠的 CORT 水平均明显高于对照组, 说明各处理组大鼠都处于一种应激状态。进舱前施加心理或生理性应激的大鼠, 血浆 CORT 水平未进一步升高, 说明低压低氧环境已经使机体的 HPA 轴功能达到高激活状态, 这与有关的报道相类似^[6]。

单独给予低氧应激 24h 后, 大鼠海马细胞外液中 NE 的含量明显降低, 与有关报道一致^[7], 可能是由于酪氨酸羟化酶的活性降低^[8], 导致 NE 含量的减少, 说明 NE 对低氧敏感^[7]。随着入舱前给予应激强度的增加, Ps2+Hy 组的大鼠海马细胞外液中的 NE 含量显著高于 Hy 组。说明一定强度的心理应激可增加低氧环境下的机体交感神经活性, 增加 NE 的释放, 其对 NE 系统的影响可能有别于低氧。Py1+Hy 组大鼠海马细胞外液中 NE 的含量显著高于低氧组, 而随着入舱前给予生理应激强度的进一步的增加, Py2+Hy 组大鼠海马细胞外液中 NE 的含量显著低于对照组和低氧组, 说明海马内的 NE 合成不足, 可能被耗竭。这并不是说明机体交感活性的降低, 而是提示中枢 NE 功能的紊乱。正如前述, 外周的皮质酮水平的升高, 说明机体 LC/NE 系统也处于激活状态, 其在外周的效应是一直存在的, 这可能有别于 NE 在海马内的功能改变。

单独给予低氧应激 24 小时后, 大鼠海马细胞外液中 5-HT 的含量显著升高, 与有关报道一致^[9]。由于在低氧环境下, 色氨酸羟化酶的活性也是降低的^[8], 海马内的 5-HT 含量仍然增高, 可能是由于色氨酸羟化酶的活性在低氧环境下没有完全被抑制、5-HT 的重摄取被抑制, 低氧仍能刺激 5-HT 神经元释放一定的 5-HT。随着给予的生理应激强度的增加,

Ph1+Hy 组大鼠海马细胞外液中 5-HT 含量显著高于 Hy 组, 说明生理性的应激可进一步增加低氧环境下的 5-HT 神经元活性, 增加 5-HT 的释放。随着给予生理应激强度的进一步的增加, Ph2+Hy 组的大鼠海马细胞外液中 5-HT 的含量显著低于进舱前给予其它应激的处理组, 但与正常对照组无明显差异, 说明海马内的 5-HT 的含量达到稳定水平。由于海马接受的 5-HT 神经元神经末梢含有释放抑制神经递质的 GABA 神经纤维, 对应激反应起到负反馈调节作用^[10], 提示模拟低压低氧环境下海马细胞外液中 5-HT 含量的升高是机体的适应性反应, 可能降低高原环境和应激引起的机体损害。

单独给予低氧应激后大鼠海马细胞外液内的 DA 含量未见明显变化, 说明, 虽然酪氨酸羟化酶的活性也是降低的, 可减少 DA 的含量, 低氧仍可能刺激 DA 神经元释放一定的 DA、重摄取的减少以及细胞膜的损坏, 导致 DA 的漏出, 从而使海马内的 DA 含量暂时维持正常水平。进舱前给予生理性应激 (如 Ph1+Hy 组), 才能引起大鼠海马细胞外液内的 DA 进一步释放; 随着给予生理性应激强度的进一步加大 (如 Ph2+Hy 组), 海马内的 DA 含量显著低于正常组。以上结果提示, 海马内的 DA 系统对低氧和心理性应激不敏感; 增加生理性应激的强度, DA 也存在耗竭的趋势。

本实验结果显示, 随着进舱前给予的应激强度的增加 (生理性应激 $>$ 心理性应激), 在模拟低压低氧环境下大鼠海马细胞外液中 NE、DA 和 5-HT 的含量都有逐渐升高, 然后再降低的趋势。说明心理和生理性应激对低压低氧环境下大鼠海马细胞外液中的单胺递质影响的差别在于应激强度的不同。

本研究显示, 应激和低氧对各项指标 (CORT、NE、DA、5-HT) 均存在交互作用, 说明两者对各项指标具有叠加和/或协同效应, 提示降低机体的应激反应将有助于预防高原低氧环境下机体出现的生理功能障碍。

参 考 文 献

- 1 马文涛, 郑健. 模拟高原低氧应激对大鼠海马单胺递质代谢的影响. 中国行为医学科学, 2006, 15(2): 107-108
- 2 Funada M, Hara C. Differential effects of psychological stress on activation of the 5-hydroxytryptamine- and dopamine-containing neurons in the brain of freely moving rats. Brain Research, 2001, 901: 247-251
- 3 Fuchs E, Flu'gge G. Chronic social stress: Effects on limbic brain structures. Physiology and Behavior, 2003, 79(3): 417-427

启动积极情绪组的被试的反应变慢,反应时延长,错误率增加,而启动消极情绪组的被试的反应变快,反应时缩短,错误率减少。此结果说明图片和词语的情绪启动效应明显,这与以往的研究是一致的^[4]。

但以往有研究者发现似乎图片比文字引起的启动效应更明显,Hermans^[5]等的研究分别以图片和英语单词作为刺激材料,结果发现在其他条件相同的情况下,当以图片为刺激材料时,采用命名任务发生了情绪启动效应,而当以单词为刺激材料时却没有得出情绪的启动效应,似乎图片的启动效应优于词汇。也有研究者发现^[4],以阈上掩蔽的方式呈现图片和汉语词语时,图片启动和文字启动时间特点基本一致,图片启动的效果略好于文字启动的效果。而本实验以阈下方式呈现启动刺激,发现图片和词语之间的差异不显著,说明词语与图片具有效力相当的情绪启动价值,这是否可能与汉字本身的特点有关?汉语的情绪词是一类包含了概念意义和情绪意义的特殊词汇,它具有情绪与认知双重性^[6-8],而且汉字是一种“象之以形”的表象符号,具有“象形”性——即汉字本身具有部分“图形”的特点,因而与图片的情绪效价更为接近。

另外,以自我的主观情绪感受为评定情绪的指标时,结果表明积极词语和图片都具有明显的启动效应,但消极词语和图片与中性组比较未达到显著差异,即自我“觉察”不到自我已“染上了”消极情绪,这与既往某些研究的结果似乎不大一致^[4]。既往研究大多数的情况是以阈下方式呈现刺激时是以对不认识的词汇或人物背影做偏好判断(投射)作为观察启动效应指标,而以阈上方式呈现刺激时则以主观评定方式检验启动效应^[3,9]。本次研究以阈下方式呈现刺激,而以自我评定作为观察指标,它反映的应该是自我不一定能察觉到的(阈下)但已被染上的情绪(内隐情绪)。当积极情绪启动后其强度随时间的推

移有明显的上升趋势,则可能上升到意识水平,而消极情绪启动后的强度则随时间的推移出现快速下降的趋势^[10],则没能达到意识水平,所以用自我评定法不能检验出消极情绪的启动效应。但既往研究以投射方式检验出了消极情绪的启动效应^[3],这是否意味着阈下情绪启动宜采用投射方式而不宜采用自我评定检验?这其中究竟存在何种深层次的心理机制,惟待日后进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Musch J. Affective Priming www. Psychologie. Uni-bonn. de/sozial/forsch/thesis.htm, 2003. 12, 15
- 2 Fazio RH, et al. On the Automatic Activation of Attitudes. *Journal of personality and Social Psychology*, 1986, 50(2): 229-238
- 3 Murphy ST, Zajonc RB. Affect, cognition and awareness: Affective priming with optimal and suboptimal stimulus exposures. *Journal of Personality and Social Psychology*, 1993, 64:723-739
- 4 郑希付. 不同情绪模式图片的和词语刺激启动的时间效应. *心理学报*, 2004, 36(5): 545-549
- 5 Hermans D, De Houwer J, Smeesters D, et al. Affective priming with associatively unrelated primes and targets. *Fachgruppe Sozialpsychologie*, 1997, 6:96-115
- 6 彭聆韵,胡治国,刘宏艳,等. 词汇阅读中情绪调节的神经机制. *科学通报*, 2006, 51(4): 420-426
- 7 Hermans D, Houwer JD, Eelen P. A time course analysis of the affective priming effect. *Cognition and Emotion*, 2001, 15(2):143-165
- 8 Houwer JD, Hermans D, Eelen P. Affective and identity priming with episodically associated stimuli. *Cognition and Emotion*, 1998, 12(2):145-169
- 9 杨丽珠,蒋重清,刘颖. 阈下情绪启动效应和 Stroop 效应之对比实验研究. *心理科学*, 2005, 28(4): 784-787
- 10 郑希付. 不同情绪模式的图片刺激启动效应. *心理学报*, 2003, 35(3): 352-357

(收稿日期:2008-03-12)

(上接第 494 页)

- 4 Noguchi T, Yoshida Y, Chiba S. Effects of psychological stress on monoamine systems in subregions of the frontal cortex and nucleus accumbens of the rat. *Brain Research*, 2001. 91-100
- 5 Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. New York: Academic Press, 1997. 37-39
- 6 Wang TY, Chen XQ, Du JZ, et al. Corticotropin-releasing factor receptor type 1 and 2 mRNA expression in the rat anterior pituitary is modulated by intermittent hypoxia, cold and restraint. *Neuroscience*, 2004, 128(1):111-119
- 7 Mongeau R, Blier P, de Montigny C. The serotonergic and noradrenergic systems of the hippocampus: Their interactions and the effects of antidepressant treatments. *Brain Res Brain Res Rev*, 1997, 23(3):145-195

- 8 Li R, Bao G, el-Mallakh RS, et al. Effects of chronic episodic hypoxia on monoamine metabolism and motor activity. *Physiol Behav*, 1996, 60(4):1071-1076
- 9 Hedner T, Lundborg P. Regional changes in monoamine synthesis in the developing rat brain during hypoxia. *Acta Physiol Scand*, 1979, 106(2):139-143
- 10 Khvatova EM, Rubanova NA, Prudchenko IA, et al. Effects of delta-sleep inducing peptide (DSIP) and some analogues on the activity of monoamine oxidase type A in rat brain under hypoxia stress. *FEBS Lett*, 1995, 368(2):367-369
- 11 Fuller RW. The involvement of serotonin in regulation of pituitary-adrenocortical function. *Front Neuroendocrinol*, 1992, 13(3):250-270

(收稿日期:2008-02-27)