

运动对慢性心理应激大鼠行为及血清皮质醇、IL-2、IL-8的影响

张银娥, 宋辉, 杨惠芳*, 朱玲勤, 旺岭, 赵利华, 田晓梅

(宁夏医学院公共卫生学院, 宁夏 银川 750004)

摘要: 目的 研究运动对慢性心理应激大鼠行为及血清皮质醇、IL-2、IL-8的影响 方法 建立慢性心理应激模型, 进行6周游泳训练; 通过旷场实验及悬尾实验观察各组大鼠在应激及运动调节前后的行为学变化; 测定血清皮质醇、IL-2、IL-8的含量。结果 (1) 应激组大鼠血清皮质醇含量显著高于对照组 ($P < 0.01$), 而IL-2、IL-8含量显著低于对照组 ($P < 0.05$); 60 min 运动组血清皮质醇含量显著低于对照组 ($P < 0.05$), 而血清IL-2和IL-8含量均显著高于对照组 ($P < 0.05$); 应激+30 min 运动组、应激+60 min 运动组血清皮质醇含量显著低于应激组 ($P < 0.01$), IL-2和IL-8含量显著高于应激组 ($P < 0.01$)。 (2) 旷场实验结果显示, 与对照组相比, 应激组大鼠中央格停留时间最长, 穿梭次数、直立次数及修饰时间最少, 有统计学意义; 与应激组相比, 应激+30 min 运动组及应激+60 min 运动组均存在统计学意义 ($P < 0.01$)。 (3) 悬尾实验结果显示, 应激组大鼠静止时间最长, 挣扎次数最少, 与对照组相比有统计学意义 ($P < 0.01$); 与应激组相比, 应激+30 min 运动组及应激+60 min 运动组均存在统计学意义 ($P < 0.01$)。结论 慢性心理应激可引起大鼠行为异常, 可能与HPA轴释放过量皮质醇, 从而使免疫功能受到抑制有关。适量运动能够调节HPA轴适应性, 降低皮质醇的过量释放, 维持免疫功能稳定, 调节心理应激水平。

关键词: 慢性心理应激; 运动; 皮质醇; 白细胞介素-2 (IL-2); 白细胞介素-8 (IL-8); 行为学

中图分类号: R13 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2007)02-0079-04

Effect of exercise on behavior and serum cortisol, IL-2, IL-8 in rats under chronic psychological stress

ZHANG Yin-e, SONG Hui, YANG Hui-fang*, ZHU Ling-qin, WANG Ling, ZHAO Li-hua, TIAN Xiao-mei

(Department of Preventive Medicine, Ningxia Medical College, Yinchuan 750004, China)

Abstract Objective To study the effect of exercise on behavior and serum levels of cortisol, interleukin-2 (IL-2) and interleukin-8 (IL-8) in rats under chronic psychological stress. **Method** SD rats under chronic psychological stress were given swim-training for 6 weeks, then observing their ethological changes by open-field test and tail-suspension test, and the contents of cortisol, IL-2 and IL-8 in serum of rats were also detected. **Result** (1) The serum IL-2 and IL-8 levels of chronic psychological stress group were significantly lower than that of control group ($P < 0.05$), while their cortisol level was significantly higher than that of control group ($P < 0.01$). The serum IL-2 and IL-8 levels in 60 min exercise group were significantly higher than that in control group ($P < 0.05$), while the serum cortisol level was significantly lower than that in control group ($P < 0.05$), but the serum IL-2 and IL-8 levels in both exercise groups, whether 30 min or 60 min, were significantly higher than that in stress group ($P < 0.01$), and the cortisol level was significantly lower than that in stress group ($P < 0.01$). (2) The open-field test showed that there was remarkable difference between chronic stress group and the control group, the tail suspension test had the same result. **Conclusion** Chronic psychological stress might induce abnormal behavior of rats, which might related to that the overrelease of cortisol from hypothalamic-pituitary-adrenocortical (HPA) axon, thereby induce the inhibition of immune function; while proper exercise could improve the adaptation of HPA axon, reduce the release of cortisol, which could be the possible mechanism of maintaining the stability of immune function and regulate psychological stress level.

Key words: Chronic psychological stress; Exercise; Cortisol; Interleukin-2; Interleukin-8; Ethology

日趋激烈的社会竞争对职业人群提出了前所未有的挑战, 导致日益加剧的职业紧张, 即职业应激 (occupational stress)。长期在应激状态下生活可导致机

体抗病能力下降, 从而产生多种疾病, 这可能是机体神经内分泌系统功能紊乱、免疫系统功能下降的一种反映。本研究通过制作慢性心理应激动物模型, 以运动训练进行调节, 探讨运动训练对慢性心理应激大鼠行为、神经内分泌及免疫功能的影响, 为寻找职业应激的干预措施提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及喂养

收稿日期: 2006-06-06; 修回日期: 2006-08-12

基金项目: 宁夏自然科学基金 (NZ0539); 教育部科学技术研究重点项目 (206162)

作者简介: 张银娥 (1974-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 职业与健康。

* 通讯作者。

健康雄性SD大鼠54只,体重220~260 g(由宁夏医学院实验动物中心提供)。随机分为6组:对照组、心理应激组、30 min运动组、60 min运动组、应激+30 min运动组和应激+60 min运动组,每组9只,分笼饲养,每笼4~5只。动物自由摄食、饮水,饲养环境温度18~22℃,湿度40%~70%,自然昼夜节律光照。

1.2 实验方法

1.2.1 实验分组和运动方案 (1)对照组:平时不运动也不应激;(2)心理应激组:采用慢性束缚制动法,每天6 h,连续21 d;(3)30 min运动组:第1周每天适应训练10 min,然后每天无负重游泳1次,每次30 min,每周5 d,共6周;(4)60 min运动组:第1周每天适应训练30 min,然后每天无负重游泳1次,每次60 min,每周5 d,共6周;(5)应激+30 min运动组以及(6)应激+60 min运动组:应激方式与心理应激组相同,运动方式分别与30 min、60 min运动组相同。游泳运动采用玻璃缸游泳池150 cm×60 cm×70 cm,水深60 cm,约为大鼠身长2倍,水温(30±1)℃。

1.2.2 应激模型 以慢性束缚制动的方法制作慢性心理应激动物模型。将大鼠束缚于自制的束缚盒中,每天6 h,连续21 d。应激加运动模型组于运动训练后3周再进行束缚加运动3周。

1.2.3 行为学测定

1.2.3.1 大鼠一般行为 观察各组大鼠的行为,包括形态变化(精神状态、皮毛、黏膜及耳廓色泽,休息时的姿势,眼裂大小等情况)及异常行为表现(如动物的反抗触摸、叫声、惊跳、逃跑、遗尿、遗便、洗脸、直立、挠抓等情绪性成分行为发生的次数),隔天记录1次。

1.2.3.2 旷场实验(open-field test) 末次应激后24 h内,各组大鼠进行旷场实验。实验在暗光、无噪声的环境下进行,将大鼠置于100 cm×100 cm×50 cm、周壁为黑色、底面分成面积相等的25方格的黑白相同的旷场实验箱,采用双盲法观察5 min,记录(1)潜伏期:大鼠在中央格停留时间,(2)穿行格数:三爪以上跨入临格的次数,(3)直立次数:两前爪腾空1 cm以上或攀附墙壁次数,(4)修饰次数:清洁理毛次数,(5)粪便粒数。

1.2.3.3 悬尾实验 末次应激后24 h内,各组大鼠进行悬尾实验。实验在暗光、无噪声的环境下进行,操作者握住大鼠的尾巴根部1/3处,将大鼠头部向下,固定在大鼠悬尾架上,采用双盲法观察6 min,

记录(1)不动时间:大鼠处于完全放松静止不动状态的累积时间;(2)挣扎次数:大鼠由倒挂向上翻转的总次数。

1.3 取材

大鼠末次刺激后,依次用10%水合氯醛(300 mg/kg)腹腔注射麻醉后心尖取血6 ml,迅速低温离心分离血清(4℃,3 000 r/min,10 min),用于测定血清皮质醇、IL-2、IL-8含量。

1.4 指标检测

血清皮质醇、IL-2、IL-8含量检测采用放射免疫法,试剂盒购于天津洁瑞公司,具体操作严格按照说明书。

1.5 数据处理

用SPSS 11.5软件进行统计分析,结果以均值和标准差($\bar{x} \pm s$)表示,以两因素方差分析检验组间差异及其交互作用,显著性水平为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 运动训练对大鼠血清皮质醇、IL-2、IL-8的影响

由表1可见,应激组血清皮质醇含量显著高于对照组($P<0.01$),应激+30 min运动组和应激+60 min运动组血清皮质醇含量显著低于应激组($P<0.05$)。应激组血清IL-2、IL-8含量显著低于对照组($P<0.01$, $P<0.05$);30 min和60 min运动组血清IL-2含量显著高于对照组($P<0.01$);应激+30 min运动组和应激+60 min运动组血清IL-2、IL-8含量显著高于应激组($P<0.01$)。60 min运动组血清IL-8含量显著高于对照组($P<0.05$)。

表1 各组大鼠血清皮质醇、IL-2、IL-8的测定结果($\bar{x} \pm s$)

ng/ml				
分组	大鼠(只)	皮质醇	IL-2	IL-8
对照组	9	8.29±0.78	1.57±0.68	1.44±0.32
应激组	9	19.02±2.79**	0.99±0.43*	0.93±0.51*
30 min运动组	9	6.34±2.55△△	2.74±0.20**△△	1.45±0.25
60 min运动组	9	5.28±1.66*△△	3.53±0.45**△△	1.99±0.44*△△
应激+30 min运动组	9	11.76±2.73**△△	1.86±0.82△△	1.73±0.68△△
应激+60 min运动组	9	10.51±4.69*△△	2.17±0.79*△△	1.78±0.45△△

与对照组相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与应激组相比, △ $P<0.05$ △△ $P<0.01$, 下表同。

2.2 旷场实验测定结果

表2可见,应激组大鼠的潜伏期(中央格停留时间)明显长于对照组($P<0.01$);穿行格数、直立次数、修饰时间显著减少($P<0.01$),粪便粒数显著增加($P<0.05$)。与对照组相比运动组潜伏期缩短,穿行格数、直立次数、修饰时间显著增加。与应激组相比,应激+30 min运动组和应激+60 min运动组潜伏期缩短,穿行格数、直立次数、修饰时间显著增加。

表 2 各组大鼠旷场实验行为学测定结果

分组	潜伏期 (s)	穿格数 (个)	直立次数 (次)	修饰时间 (s)	粪便粒数
对照组	3.04±1.06	48.33±6.98	14.22±2.11	54.72±12.75	2.44±1.94
应激组	6.32±0.99**	21.50±2.42**	6.60±3.95**	30.22±7.73**	4.40±0.70*
30 min 运动组	2.77±0.76△△	59.33±8.14	15.11±1.76△△	66.92±11.38**△△	1.11±1.05△△
60 min 运动组	2.57±1.09△△	68.33±12.28*	20.00±3.84**△△	72.34±14.16*△△	0.83±1.17△△
应激+30 min 运动组	5.17±1.14**△△	42.78±3.93△△	12.11±1.62△△	45.97±14.02**△△	1.50±2.33△△
应激+60 min 运动组	4.56±1.19**△	39.89±3.82△△	13.22±3.19△△	52.72±11.25**△△	1.77±2.40△△

2 3 悬尾实验测定结果

由表 3 可见,与对照组相比,应激组挣扎次数显著减少 ($P<0.01$),静止时间显著增长 ($P<0.01$),60 min 运动组挣扎次数显著增加 ($P<0.05$),静止时间显著减少 ($P<0.05$)。与应激组比,应激+30 min 运动组和应激+60 min 运动组挣扎次数显著增加 ($P<0.01$),静止时间减少。

表 3 各组大鼠悬尾实验行为学测定结果

分组	大鼠 (只)	静止时间 (s)	挣扎次数
对照组	9	144.71±19.20	45.89±7.64
应激组	9	185.69±27.05**	27.90±8.77**
30 min 运动组	9	135.80±18.91△△	52.67±3.71△△
60 min 运动组	9	113.98±10.80**△△	55.44±5.00**△△
应激+30 min 运动组	9	155.35±21.75△	39.67±8.73△△
应激+60 min 运动组	9	151.41±19.78△	40.00±5.59△

3 讨论

旷场实验是反映大鼠在新环境中的探究行为及情绪的较为经典的方法,可用来测试动物中枢神经系统的“兴奋”或“抑郁”状态^[1]。穿格数及直立次数表示大鼠的探究行为,修饰(理毛)时间反映了大鼠对环境警觉性的高低,中央格停留时间表示启动活动的潜伏期,排便量反映了紧张恐惧状态。本实验结果显示,应激组大鼠空间认知能力降低,对新环境的适应能力减弱,紧张程度显著高于对照组,表明大鼠在陌生环境中的自主活动和探究行为减少,表现为抑郁样。鼠尾悬挂实验也能反映动物的“失望”情绪及“抑郁”状态^[2],用于观察大鼠为克服不正常体位而进行挣扎的体力及心理疲劳程度,是较为经典的反映大鼠心理抑郁程度的行为学评定方法。本实验结果显示,应激组大鼠挣扎次数减少,静止时间增加,表现为抑郁样。应激组大鼠一般状况表现为神态倦怠、扎堆懒动、皮毛无光泽、饮食量减少,体重平均增长速度及平均进食量均显著下降。根据旷场实验、悬尾实验及血清测定结果,说明本实验慢性心理应激动物模型制作成功。

研究表明,体育运动对人的心理健康具有积极的影响,经常从事体力活动的人患精神疾病的比率明显低于很少进行体力活动的人^[3],身体锻炼能有效的改

善抑郁、焦虑等心理障碍,因此体育锻炼成为了适合现代人健身、健心的方法。本研究显示,经过适量的运动训练,应激+30 min 运动组和应激+60 min 运动组与应激组相比,潜伏期显著缩短,穿格数、直立次数、修饰时间显著增加,悬尾实验中挣扎次数显著增加、静止时间显著减少。说明适量的运动训练能有效改善慢性心理应激引起的大鼠抑郁样行为。

应激反应的主要特征是增强神经内分泌反应,其中以下丘脑-垂体-肾上腺皮质(HPA)轴终端的肾上腺皮质分泌的应激激素-糖皮质激素(glucocorticoids, GCs)增高为显著特征。IL-2 是一种主要由活化的 T 淋巴细胞产生的细胞因子,它具有促进 T 细胞增殖分化,增强 T 细胞、NK 细胞活性,诱导干扰素生成的作用,IL-2 水平的高低是机体细胞免疫的重要标志。IL-8 是一种趋化因子,由单核细胞、巨噬细胞等产生,也可由活化的 T 细胞产生,主要作用是趋化和激活中性粒细胞、嗜碱性粒细胞和 T 淋巴细胞等。本实验结果显示,应激组大鼠血清皮质醇水平显著升高,而 IL-2、IL-8 水平显著降低,提示长期慢性心理应激引起 HPA 轴反应性失衡,释放过量的皮质醇,而皮质醇具有明显的免疫抑制作用,使淋巴细胞的功能降低,机体免疫功能受到抑制。

有研究表明,皮质醇变化与运动强度和运动量之间有一定的量变关系,适度的身体锻炼对皮质醇的释放有良性的调节作用^[4]。本实验结果显示,60 min 运动组血清皮质醇水平显著低于对照组,应激+30 min 和应激+60 min 运动组其血清皮质醇水平均显著低于应激组,说明适宜的运动训练能减少 HPA 轴释放过量皮质醇,对抗心理应激引起的 HPA 轴功能紊乱。有学者报道,为期 4 周的中小负荷运动能够有效地降低机体内源性 β-EP 的释放,使应激大鼠外周 NK 细胞的数量增加,血清 IL-2 水平显著升高^[3]。本实验结果显示,30 min 运动组和 60 min 运动组血清 IL-2、IL-8 水平均显著高于对照组;应激+30 min 和应激+60 min 运动组血清 IL-2、IL-8 水平均显著高于应激组,提示适量运动训练对大鼠慢性心理应激导致的血清 IL-2、IL-8 的抑制具有改善作用。(下转第 85 页)

有 RV/TLC 同时增高, 则肯定有肺气肿存在^[7]。曾有文献报道煤工尘肺病变早期肺功能可完全正常^[8]。但随着病情进展渐出现以阻塞性为主的混合性通气功能障碍, 表现为 FEV₁、FVC、FEV₁/FVC%、VC、MVV 均降低, 而单纯限制性通气功能障碍少见。并发肺气肿时 TLC 和 RV 及 RV/TLC% 增加。当肺纤维化明显, 尤其出现进行性大块纤维化时, 肺弥散功能可明显下降, 表现为 DL_{CO} 下降明显。本研究结果支持上述观点, 并发现 64 排螺旋 CT (或 HRCT) 肺气肿积分值与上述肺功能检测指标有很好的正或负相关。

本研究有 RV 伴 RV/TLC% 增高者诊断肺气肿 54 例, 结果 64 排螺旋和 HRCT 均有 52 例 (96.30%) 诊断肺气肿。这说明 64 排螺旋 CT 和 HRCT 在检出肺气肿上和肺功能有相似的敏感性。本研究结果还显示了在 42 例肺功能正常者中经 64 排螺旋 CT 和 HRCT 检查分别有 23 例 (54.76%) 和 28 例 (66.67%) 检出了肺气肿, 这和 Sanders 等^[9] 报告的在 35 例肺功能正常者中 CT 检出了 24 例 (69%) 肺气肿的结果基本一致。虽然在 64 排螺旋 CT (或 HRCT) 得分上绝大多数为轻度肺气肿, 但可以说明 64 排螺旋 CT (或 HRCT) 能检出肺功能检查不能诊断的早期肺气肿。肺气肿的 CT 定性和定量诊断标准, 经与病理对照, 证实两者之间有极密切的相关性^[10-11], 说明目前应用的 64 排螺旋 CT (或 HRCT) 诊断煤工尘肺肺气肿是可靠的, 利用 64 排螺旋 CT (或 HRCT) 进行肺气肿分级是可行的。

出现 64 排螺旋 CT (或 HRCT) 和肺功能结果上差异的原因除与肺功能表现不典型有关外, 还与肺气肿发生的部位有关。上肺野是肺气肿功能改变中的“安静”区, 即可以有肺气肿改变, 而肺功能无改变^[4], 这种肺气肿改变可由 CT 检出。

3.2 HRCT 有较高的影像分辨率, 有助于在肺小叶水平上对肺气肿作 CT 病理分型。小叶中心型肺气肿在常规 CT 上常不能被识别, HRCT 在肺气肿诊断上较常规 CT 更有优势^[4]。64 排螺旋 CT 较常规 CT 比较

其对比度和空间分辨等方面都有很大提高。在肺气肿诊断上, 由于有较高的对比度和空间分辨率, 它也能将低密度的正常肺组织和更低密度的气肿样肺组织区分出来。本研究发现, 64 排螺旋 CT 和 HRCT 两种检查方法在肺气肿检出率无明显差异, 认为两者在诊断肺气肿方面有相同效果。

综上所述, 我们认为 64 排螺旋 CT (或 HRCT) 检查均可作为一种接近活体组织与形态学的显示方法, 在确定肺气肿的存在与程度方面比肺功能更敏感、更特异, 在定性的同时还可作定量评估, 是诊断煤工尘肺阻塞性肺气肿的一种较好方法, 而肺气肿的早期发现可使患者得到及时的治疗, 提高生存质量。

参考文献:

- [1] Snider GL, Kleinerman J, Thurlbeck WM, et al. The definition of emphysema: report of a national heart, lung and blood institute division of lung diseases workshop [J]. Am Rev Respir Dis, 1985, 132 (1): 182-185.
- [2] Stem EJ, Webb WR. Dynamic imaging of lung morphology with ultrafast high-resolution computed tomography [J]. J Thorac Imaging, 1993, 8 (4): 273-282.
- [3] 潘纪成, 侯希忠, 许军, 等. 肺气肿的 CT 诊断 [J]. 中华放射学杂志, 1989, 23 (4): 225-226.
- [4] 潘纪成, 吴国庚, 陈起航, 等. 肺气肿的诊断: CT 和肺功能检查的比较 [J]. 中华放射学杂志, 1995, 29 (10): 680-683.
- [5] 中华医学会呼吸病学分会. 慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 诊治规范 (草案) [J]. 中华结核和呼吸杂志, 1997, 20 (4): 199-203.
- [6] 李德鸿. 尘肺病 [M]. 北京: 人民日报出版社, 2004. 150-168.
- [7] 肖立才, 符晖, 宁景春. CT 对阻塞性肺气肿诊断价值的探讨 [J]. 衡阳医学院学报, 2000, 28 (3): 259-260.
- [8] 侯显明, 于润江. 间质性肺病 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003. 299-302.
- [9] Sanders G, Nath PH, Bailly WC. Detection of emphysema with computed tomography: correlation with pulmonary function tests and chest radiography [J]. Invest Radiol, 1988, 23 (4): 262-266.
- [10] Hruban RH, Meziane MA, Zerhouni EA, et al. High resolution computed tomography of inflation-fixed lungs: pathologic-radiologic correlation of centrilobular emphysema [J]. Am Rev Respir Dis, 1987, 136 (4): 935-940.
- [11] Sten EJ, Frank MS. CT of the lung in patients with pulmonary emphysema: diagnosis, quantification and correlation with pathologic and physiologic findings [J]. AJR, 1994, 162 (4): 791-798.

(上接第 81 页)

可以增强 T 细胞的功能, 增加细胞因子的分泌, 提高机体免疫力, 减缓慢性心理应激对机体的损害, 说明适量运动训练对心理应激大鼠的免疫功能有较好的保护作用。

参考文献:

- [1] 徐叔云, 卞如廉, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 642-643.

- [2] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994. 669.
- [3] Hassmn P, Koivula N, Untela A. Physical exercise and psychological well-being: a population study in Finland [J]. Prev Med, 2000, 30 (1): 17-25.
- [4] Sutton JR. Hormonal adaptations to exercise [M]. Exercise fitness and health: A consensus of current knowledge. Philadelphia: WB Saunders Company, 1990: 217-215.
- [5] 颜军, 尹建春, 孙开宏, 等. 强迫游泳和冷刺激对大鼠 IL-2 和 β -EP 的影响 [J]. 中国心理卫生杂志, 2002, 16 (12): 811-813.