论著

文章编号:1000-5404(2007)14-1368-03

# 慢性情绪应激对大鼠卵巢功能影响的初步观察

程 湘[1],徐 辉[2],艾国平[2],粟永萍[2],谢荣凯[1],陈正琼[1],吴家燕[1] (第三军医大学:[1]新桥医院妇产科,重庆 400037,[2]军事预防医学院防原医学教研室,全军复合伤研究所,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室,重庆 400038)

**提 要:目的** 观察慢性情绪应激对大鼠卵巢功能的影响。**方法** 以不确定性空瓶饮水刺激作为情绪应激源,考察20 d的慢性情绪应激对雌性大鼠行为、脾脏指数、动情周期和血中FSH、LH、$E_2$和P含量的影响。**结果** 慢性情绪应激明显诱发雌性大鼠的攻击行为,增加脾脏指数,差异非常显著($P<0.01$)。慢性情绪应激延长雌性大鼠的动情周期,差异非常显著($P<0.01$),但对卵巢指数没有显著影响($P>0.05$)。慢性情绪应激减少雌性大鼠血中$E_2$含量,差异非常显著($P<0.01$),而对血中P含量没有显著影响($P>0.05$);同时慢性情绪应激后大鼠血中FSH和LH含量下降,差异非常显著($P<0.01$)。**结论** 慢性情绪应激影响大鼠卵巢分泌功能,该模型可用于情绪应激对生殖内分泌影响的研究。

**关键词**:情绪应激模型;卵巢;性激素;动情周期

**中图法分类号**:R339.22;R395.1 **文献标识码**:A

# Ovarian function in rat model of chronic emotional stress

CHENG Xiang[1], XU Hui[2], AI Guo-ping[2], SU Yong-ping[2], XIE Rong-kai[1], CHEN Zheng-qiong[1], WU Jia-yan[1] ([1]Department of Obstetrics and Gynecology, Xinqiao Hospital, Chongqing 400037, [2]State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Institute of Combined Injury, College of Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

**Abstract**: **Objective** To observe the effect of chronic emotional stress on ovarian function in rats. **Methods** The uncertain empty bottle stress was used as a source of emotional stress, and 20 day stress was carried out in 20 female SD rats aged 3 months. Another 20 rats were used as controls. The behavior changes and estrous cycle were observed. The serum levels of FSH, LH, $E_2$ and P were determined. **Results** The chronic emotional stress could increase attacking behavior and splenic index significantly ($P<0.01$), and prolong the estrous cycle significantly ($P<0.01$), but had no influence on ovarian index ($P>0.05$). It could decrease serum FSH, LH and $E_2$ levels significantly ($P<0.01$), but had no effect on P levels ($P>0.05$). **Conclusion** The chronic emotional stress can influence the ovarian endocrine secretion in rats. This model may be used to study the influence of chronic emotional stress on generative endocrine secretion.

**Key words**: chronic emotional stress; ovary; sex hormones; estrous cycle

情绪应激与人类疾病的发生发展关系非常密切。女性妇科疾病的发生发展与情绪障碍关系尤为密切。我们以往在临床上观察到妇科疾病部分患者同时还伴有情绪障碍[1]。随着医学模式的转变,人们越来越重视心理因素对疾病的影响,迫切需要研究情绪应激导致躯体疾病的发病机制。但利用人体进行情绪障碍与生殖内分泌异常发病关系的研究受到很大限制,建立合适的动物模型有助于研究的深入。目前对情绪应激机制的研究,较多采用的是以不确定性空瓶饮水刺激作为应激源的情绪应激模型,观察神经递质和免疫反应分子等的变化。为了解情绪应激对生殖内分泌的影响,本研究以不确定性空瓶饮水刺激作为情绪应激源观察了慢性情绪应激对大鼠卵巢功能的影响,考察该模型用于情绪应激对生殖内分泌影响研究的可行性。

**基金项目**:创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室开放课题(2004)
Supported by the Open Fund of State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury (2004)

**作者简介**:程 湘(1963-),女,重庆市人,博士,副主任医师,副教授,主要从事女性内分泌和肿瘤方面的研究。电话:(023)68774542

**通讯作者**:粟永萍,电话:(023)68752279, E-mail:supy2003@yahoo.com.cn

**收稿日期**:2006-07-05;**修回日期**:2006-09-14

## 1　材料与方法

### 1.1　动物

健康成年 SD 雌性大鼠 40 只,购于第三军医大学实验动物中心,约 3 月龄,体质量 175 ~ 215 g,每笼饲养 4 只。控制室温(20 ~ 22 ℃)和定时照明(8:00 ~ 20:00)。动物自由饮水和摄食,适应实验环境 1 周,期间每日取出动物行阴道细胞涂片。适应期后进行定时饮水训练 1 周,每日上午 8:00 和下午 17:00 分别饮水 30 min,之后开始进行实验。

### 1.2　实验方法

将动物按随机数字表法分成 2 组:实验组和对照组各 20 只。实验组在每天 2 次定时饮水的时间按随机数字表法确定空瓶刺激时间,持续 20 d;对照组每日定时饮水 2 次,每次 30 min,动物不确定性空瓶刺激给予顺序见表 1。

### 1.3　动物行为分析

每次实验期间(30 min)观察动物的 3 种行为。行为观察内容包括攻击(咬或者攻击空瓶或笼子)、探究(前后左右的运动和光顾水瓶所在位置)以及修饰行为(梳理皮毛和洗脸)。出现 1 次计为 1 分,将实验最后 3 d 的平均得分用于统计分析。

### 1.4　卵巢指数和脾脏指数测定

动物放血处死,取脾脏和卵巢称质量,计算脾脏指数和卵巢指数。脾脏指数 = 脾脏质量(mg)/体质量(g),卵巢指数 = 卵巢质量(mg)/体质量(g)。

**表 1　动物不确定性空瓶刺激 20 d 给予顺序**

| 时间 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 上午 | N | N | N | E | E | N | E | E | N | N | N | E | N | N | N | E | E | E | N | N |
| 下午 | E | E | N | N | N | E | N | N | E | E | E | N | E | E | N | N | N | N | N | E |

N:正常饮水;E:空瓶刺激

### 1.5　血清性激素含量的测定

取血后立即离心分离血清,4 ℃冰箱保存。磁性分离酶联免疫吸附法测定雌二醇($E_2$)、孕激素(P)、促卵泡素(FSH)和黄体生成素(LH)的含量。

### 1.6　大鼠动情周期观察

取自制微细棉签蘸以生理盐水后,轻轻于大鼠阴道内旋转 1 圈,立即涂片,用 95% 酒精固定 5 min,HE 染色,显微镜下观察。动情周期确定:于动情前期见大量有核上皮细胞,动情期见大量无核角化细胞,动情后期见角化细胞和白细胞以及少许有核上皮细胞,动情间期见大量白细胞。

### 1.7　统计学分析

数据采用 SPSS 11.0 统计软件进行 $t$ 检验。

## 2　结果

### 2.1　慢性情绪应激对雌性大鼠 3 种行为和脾脏指数的影响

应激期间,实验组大鼠的攻击行为和探究行为明显多于对照组,而修饰行为明显少于对照组,差异非常显著($P<0.01$)。实验组的脾脏指数高于对照组,差异非常显著($P<0.01$)。见表 2。

**表 2　慢性情绪应激对雌性大鼠 3 种行为和脾脏指数的影响**

| 组别 | $n$ | 攻击行为(分) | 探究行为(分) | 修饰行为(分) | 脾脏指数(mg/g) |
|---|---|---|---|---|---|
| 实验组 | 20 | 0 | 0.5 ± 0.1 | 6.6 ± 0.1[a] | 2.59 ± 0.23[a] |
| 对照组 | 20 | 5.4 ± 0.7 | 6.1 ± 0.8 | 0.4 ± 0.1 | 1.90 ± 0.15 |

a:$P<0.01$,与对照组比较

### 2.2　慢性情绪应激对雌性大鼠动情周期、卵巢指数和的血中性激素含量影响

应激期间,实验组的大鼠动情周期时间长于对照组,差异非常显著($P<0.01$)。实验组的大鼠卵巢指数和对照组相似,差异不显著($P>0.05$)。实验组的大鼠血中 $E_2$、FSH 和 LH 的含量均低于对照组,差异非常显著($P<0.01$),而实验组的大鼠血中 P 含量与对照组相似,差异不显著($P>0.05$)。见表 3。

**表 3　慢性情绪应激对雌性大鼠动情周期、卵巢指数和性激素水平的影响($\bar{x} \pm s$)**

| 组别 | 周期数 | 周期日数 | 卵巢指数 | $E_2$(pg/ml) | P(ng/ml) | FSH(mIU/ml) | LH(mIU/ml) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 实验组 | 40 | 4.14 ± 0.41 | 0.453 ± 0.076[a] | 28.05 ± 7.63[a] | 25.25 ± 6.95 | 0.74 ± 0.41[a] | 0.54 ± 0.46[a] |
| 对照组 | 37 | 6.86 ± 3.62 | 0.447 ± 0.092 | 42.39 ± 13.03 | 19.61 ± 8.76 | 1.96 ± 1.02 | 1.07 ± 0.68 |

a:$P<0.01$,与对照组比较

## 3　讨论

情绪应激与人类疾病的关系非常密切。当出现情绪应激的时候,机体会发生神经、内分泌和免疫系统等的综合应答反应,而人对应激的认知还会进一步影响机体的应答反应。一次强烈的情绪应激或者长期慢性情绪应激影响了人类的身心健康,对生殖内分泌系统也可能有不良的影响,导致包括功能失调性子宫出血、不孕、闭经、性功能低下等在内的多种妇科疾病[2-4]。我们以往对在妇科咨询门诊就诊的部分患者进行抑郁

和焦虑障碍发病情况的调查，发现合并有抑郁和/或焦虑障碍的约占50%。患者一般都伴有睡眠障碍、情绪低落、紧张不安、心慌不适等症状。对合并有抑郁/焦虑的盆腔炎患者，进行抗抑郁/抗焦虑和消炎的综合治疗方法，可以收到较好的治疗效果[5]。很多妇科内分泌疾病都与性激素水平异常有关。女性患者发生情感性精神障碍后，性激素的变化更为复杂。国外 Young 等[6]报道女性抑郁障碍患者的血清雌二醇水平显著低于正常对照。我们对绝经期抑郁障碍患者进行补充雌激素配合抗抑郁治疗，收到了较好的治疗效果[2]。国内的贺建华等[7]研究则发现女性更年期抑郁症患者血浆 FSH、LH 和 $E_2$ 水平与正常对照组比较无显著性差异，而李强等[8]检测女性抑郁症患者血中性激素水平并进行分析，发现 FSH 和 RPL 明显高于对照组，其他性激素水平两组间无显著差异。因此，情绪障碍对女性性激素分泌及其功能的影响以及发生机制，目前尚不清楚。

疾病的体外实验模型是研究其机制的重要手段。体外模型包括动物模型和器官、组织及细胞培养模型。目前对应激的行为和生理过程的研究主要以动物为对象，建立了多种以生理性应激刺激为应激源的动物模型，采用的是躯体应激方法，如束缚、悬吊、噪音、电击、冷热刺激、制动等[9,10]。在这些研究中，大多数观察的是神经递质和免疫功能的变化，较少的研究观察了不同躯体应激刺激对动物动情周期的影响。连晓媛等[11]采用逐渐增加悬吊时间的方法制成应激模型，观察到该应激刺激使雌性小鼠性周期紊乱，血浆雌二醇水平降低，提示生理性应激刺激影响了小鼠的卵巢内分泌功能。而在以心理性应激刺激为应激源的动物模型中，主要采用的是以不确定性空瓶饮水刺激作为情绪应激的方法。该模型中，情绪应激诱发出明显的攻击行为，激活了 HPA 轴和交感神经系统，减少了特异性抗体的产生和血白细胞数目，较好的模拟了人类的情绪应激反应，类似于人类的愤怒和焦虑情绪反应，是目前应用较广泛的慢性情绪应激模型[12]。尚少见利用该模型进行慢性情绪应激刺激对生殖内分泌影响的研究报道。

本研究初步观察了不确定性空瓶刺激这一慢性情绪应激刺激对大鼠卵巢功能的影响，结果表明该类情绪应激使大鼠产生了明显的攻击性行为，表明动物在实验过程中诱发了不良情绪，类似于人类的愤怒或者焦虑。同时脾脏指数较对照组增加，提示免疫系统结构或者功能可能也发生明显变化，其在情绪不良影响躯体发病过程中的作用尚不清楚。慢性情绪应激刺激对卵巢指数没有产生明显的影响，但卵巢分泌的雌激素减少，大鼠的动情周期明显延长，表明慢性情绪应激影响了大鼠卵巢的内分泌功能，该模型适合进行慢性情绪应激对生殖内分泌影响的研究。我们同时还观察到给予大鼠不确定性空瓶刺激这一慢性情绪应激刺激后，大鼠血中 FSH 和 LH 含量也明显减少。推测可能是情绪障碍通过下丘脑-垂体-卵巢轴影响了卵巢的分泌功能，也可能通过其他途径，需要深入研究。已知雌性动物和妇女性腺活动与大脑功能密切相关。雌激素水平异常是妇科多种疾病的发病环节，了解情绪障碍导致卵巢激素特别是雌激素分泌异常的过程，将有助于阐明妇科多种疾病的神经内分泌机制。

**参考文献：**


[1] 程 湘，王 欣，王 智，等. 妇科疾病患者情绪障碍伴发情况的调查与治疗分析[J]. 重庆医学，2004，33(11)：1707－1708.

[2] 程 湘，陈正琼，谢荣凯，等. 盐酸氟西汀联合雌激素治疗绝经期抑郁症的临床观察[J]. 重庆医学，2005，34(5)：721－722，724.

[3] 卢 莉，李建平，薛云珍，等. 情绪反应、个性特征与月经失调的关系[J]. 中国心理卫生杂志，2005，19(3)：156－158.

[4] 马增香，陈子江，唐 蓉，等. 肥胖型多囊卵巢综合征患者焦虑和抑郁状况的研究[J]. 中国行为医学科学，2004，13(6)：651.

[5] 程 湘，陈正琼，谢荣凯，等. 68例慢性盆腔炎合并抑郁/焦虑患者的心理特点及治疗效果研究[J]. 第三军医大学学报，2005，27(11)：1148－1150.

[6] Young E A，Midgley A R，Carlson N E，*et al*. Alteration in the hypothalamic-pituitary-ovarian axis in depressed women[J]. Arch Gen Psychiatry，2000，57(12)：1157－1162.

[7] 贺建华，李舜伟，张以文，等. 更年期情感障碍妇女血浆去甲肾上腺素含量和血清促性腺激素、雌二醇水平的观察[J]. 中华精神科杂志，1996，29(1)：39－42.

[8] 李 强，尚翠侠，马现仓，等. 抑郁症患者的性激素分析[J]. 中国神经精神疾病杂志，1999，25(5)：271－273.

[9] Setnik B，De-Souza F G，D'Almeida V，*et al*. Increased homocysteine levels associated with sex and stress in the learned helplessness model of depression[J]. Pharmacol Biochem Behav，2004，77(1)：155－161.

[10] 彭炜瑛，缪利英，钱萍萍. 心理应激动物模型的建立[J]. 医学理论与实践，2002，15(6)：625.

[11] 连晓媛，丁 岩，张均田. 应激性生殖内分泌功能低下动物模型[J]. 中国新药杂志，1999，8(10)：673－675.

[12] 林文娟，王玮雯，邵 枫. 慢性情绪应激对大鼠行为、神经内分泌和免疫反应的影响：一个新的情绪应激模型[J]. 科学通报，2003，48(9)：926－929.


（编辑 薛国文）