

低频电刺激对不同动物血内激素水平的影响

俞发荣, 宁晓希, 俞文*, 谢明仁, 连秀珍, 李登楼, 张诗爽

(甘肃政法学院 甘肃省证据科学技术研究与应用重点实验室, 兰州 730070)

【摘要】 **目的** 探索低频电刺激对不同动物血内激素水平的影响。**方法** 分别给予中国树鼩、Wistar 大鼠、BALB/c 小鼠低频电刺激后,分别在 12、24、36 h 各取一组动物采血,用放射免疫法检测去甲肾上腺素(noradrenaline, NA)、内皮素(endothelin, ET)水平。**结果** 给予中国树鼩、Wistar 大鼠、BALB/c 小鼠低频电刺激后 12、24、36 h,NA、ET 水平比对照组显著升高($P < 0.01$),给予利血平后 24 h,再给予相同电刺激,NA、ET 水平比单纯电刺激组明显降低($P < 0.05 \sim 0.01$)。不同动物对同一刺激的应激敏感程度不同,敏感程度按照中国树鼩、Wistar 大鼠、BALB/c 小鼠的顺序依次降低。**结论** 低频电刺激能促进中国树鼩、Wistar 大鼠、BALB/c 小鼠 NA、ET 释放,利血平具有降低机体对低频电刺激的应激作用。

【关键词】 低频电刺激;激素;应激;中国树鼩;大鼠

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2015)03-0245-05

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2015.03.005

Effects of low frequency electrical stimulation on blood hormone levels in different animals

YU Fa-rong, NING Xiao-xi, YU Wen*, XIE Ming-ren, LIAN Xiu-zhen, LI Deng-lou, ZHANG Shi-shuang

(Key Laboratory of Evidence Science and Technology Research and Application,
Gansu Provincial Institute of Political Science and Law, Lanzhou 730070, China).

【Abstract】 **Objective** To study the effect of low frequency electrical stimulation on blood hormone levels in different animals. **Methods** At 12 h, 24 h and 36 h after low frequency electrical stimulation to Chinese tree shrews, Wistar rats, and BALB/c mice, respectively, the blood noradrenaline (NA) and endothelin (ET) levels were determined by radioimmunoassay (RIA). **Results** The blood NA and ET levels of electrical stimulation group were significantly higher than that in the control group ($P < 0.01$). At 24 h after reserpine treatment, the same electrical stimulation was given. The NA, ET levels were significantly decreased compared with that in the electrical stimulation group ($P < 0.05$ to 0.01). Different animals responded to the same electric stimulus differently, following the order of Chinese tree shrews > Wistar rats > BALB/c mice. **Conclusions** Low frequency electrical stimulation can promote the release of noradrenaline and endothelin in Chinese tree shrews, Wistar rats and BALB/c mice. Reserpine can reduce the stress induced by low frequency electric stimulation to the body.

【Key words】 Low frequency electrical stimulation; Hormone; Stress; Chinese tree shrews; Rats; Mice

【基金项目】 国家自然科学基金项目(31060283);国家社会科学基金项目(07BSH054);甘肃省基础研究创新群体项目(No. 145RJIA333);甘肃政法学院重点项目(GZF2014XZDLW18)。

【作者简介】 俞发荣(1959-),男,博士,研究员。研究方向:法医学、社会环境压力对人类健康的影响、药理学和毒理学实验及实验动物学。E-mail: yfr6340@gsli.edu.cn

【通讯作者】 俞文,副教授,E-mail: yw6137@gsli.edu.cn

社会环境因素对人类行为生理和健康影响的研究,是目前生命科学与人口健康研究的重要课题之一。随着社会的高速发展,工作和生活节奏不断加快,时代对人类的要求也愈来愈高,人类将更多地处于应激之中,应激对人类的危害也将不断加剧。机体在遭遇紧急情况时,如恐惧、惊吓、焦虑、创伤或失血等情况,交感神经活动加强,去甲肾上腺素(noradrenaline, NA)、肾上腺素(adrenaline, A)的分泌量大大增加。NA、A 作用于中枢神经系统细胞膜受体,激活腺苷酸环化酶,将三磷酸腺苷(ATP)催化生成环-磷酸腺苷(cAMP),cAMP 激活蛋白激酶 A(PKA),使蛋白质磷酸化,产生细胞反应,从而提高机体的兴奋性,使机体处于警觉状态,反应灵敏,以适应在应急情况下的需要,或使机体发病^[1],甚至猝死^[2]。内皮素(endothelin, ET)是调节心血管功能的重要因子,对维持基础血管张力与心血管系统稳态起重要作用。内皮素是迄今为止发现的作用最强的缩血管物质。并且缩血管升血压效应还可反射性引起心率抑制,造成心肌供血不足、代谢紊乱,内皮素(ET)与去甲肾上腺素是引起猝死的关键因素,在应激损伤过程中具有至关重要的作用。

本文给予中国树鼩、Wistar 大鼠、BALB/c 小鼠低频电刺激,观察相同刺激对不同种类动物应激反应的程度,探索 NA、ET 在应激损伤中的作用,为法医学病理学研究和应激损伤案例分析提供参考资料。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

中国树鼩(滇西亚种, *Tupaia belangeri chinensis*^[3]), 90 只, 雄性, 体重 120 ~ 125 g, 购于中国科学院昆明动物研究所【SCXK(滇)K2013-0003】。SPF 级 Wistar 大鼠, 90 只, 雄性, 体重 200 ~ 210 g。SPF 级 BALB/c 小鼠, 90 只, 雄性, 体重 20 ~ 22 g, 大、小鼠均购于甘肃省中医学院科研实验中心【SCXK(甘)2011-0001】。

1.1.2 试剂

利血平:批号:130406, 广东邦民制药厂有限公司生产;去甲肾上腺素(NA)、内皮素(ET)放免检测试剂盒,北京北免东雅生物技术研究所生产。

1.1.3 仪器

GC-1200 γ 计数放免仪:美国 Picker 公司制造;Dossy-2H 多通路生理参数采集存储仪:购于成都达

硕生物科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组

选取中国树鼩、SPF 级 Wistar 大鼠、BALB/c 小鼠各 90 只。中国树鼩在实验室饲养笼(250 cm × 150 cm × 150 cm 连接 50 cm × 30 cm × 20 cm 休息室)内饲养,每笼 5 只;Wistar 大鼠、BALB/c 小鼠在独立通气笼(individual ventilated cages, IVC)内饲养,自由饮水进食,人工光照 12 h。实验室温度 18 ~ 22℃, IVC 内温度(22 ± 0.2)℃,湿度 55% ~ 65%,适应 7 d。每种动物按体重随机各分为 3 组,每组 30 只。电刺激组(给予脉冲直流电刺激^[4])。利血平组(各组在饮水中加入利血平 2mg/100mL,次日给予电刺激,刺激条件同电刺激组)。

1.2.2 动物实验、标本采集和检测

实验前,每只动物均剃去左侧前、后肢体毛各约 1.0 mm × 1.0 mm,实验时,将 Dossy-2H 多通路生理参数采集存储仪皮肤电极片(面积 0.7 mm × 0.7 mm)粘贴于去毛处,外用尼龙带扎紧。对照组和实验组分别在实验(电刺激)后 12、24、36 h 各取 10 只动物(各组采血前禁食 6 h,不禁水),用乙醚吸入麻醉,从心脏采血 1 mL,3000 r/min 离心 10 min,分离血清,冻存待测。全部血清用 GC-1200 γ 计数放免仪检测 NA、ET 水平。

1.3 统计学分析

实验数据采用 SPSS 17.0 软件进行统计学处理。低频电刺激对动物血激素水平的影响用百分比表示,组间差异采用单因素方差分析,用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 低频电刺激对中国树鼩血激素水平的影响

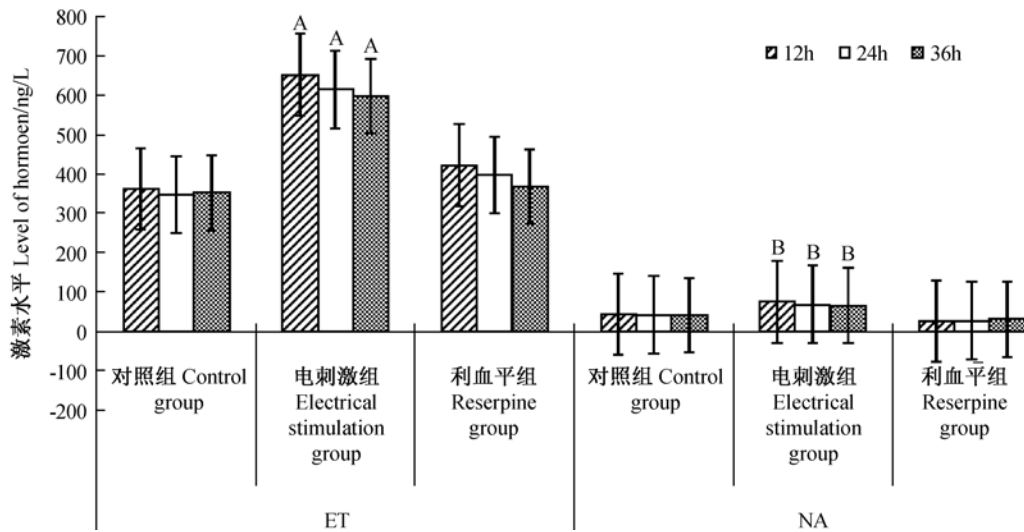
电刺激后 12、24、36 h 检测,电刺激组中国树鼩血内皮素(ET)水平比对照组分别升高了 79.84%、77.03%、69.52% ($P < 0.01$);利血平组(先给予利血平,再给予相同的低频电刺激)中国树鼩血 ET 水平比电刺激组分别降低了 35.19%、35.38%、33.80% ($P < 0.01$);电刺激组中国树鼩血 NA 水平比对照组分别升高了 72.51%、64.99%、60.48% ($P < 0.01$),利血平组中国树鼩血 NA 水平比电刺激组分别降低了 65.38%、59.56%、52.60% ($P < 0.01$)。见图 1。

2.2 低频电刺激对 Wistar 大鼠血激素水平的影响

电刺激后 12、24、36 h 检测,电刺激组 Wistar 大

鼠内皮素 (ET) 水平比对照组分别升高了 68.05%、47.30%、24.28% ($P < 0.01$); 利血平组 Wistar 大鼠血 ET 水平比电刺激组分别降低了 32.54%、26.85%、14.28% ($P < 0.05 \sim 0.01$); 电刺激组 Wist-

ar 大鼠血 NA 水平比对照组分别升高了 66.12%、53.62%、44.39% ($P < 0.01$), 利血平组 Wistar 大鼠血 NA 水平比电刺激组分别降低了 69.84%、65.10%、60.38% ($P < 0.01$)。见图 2。

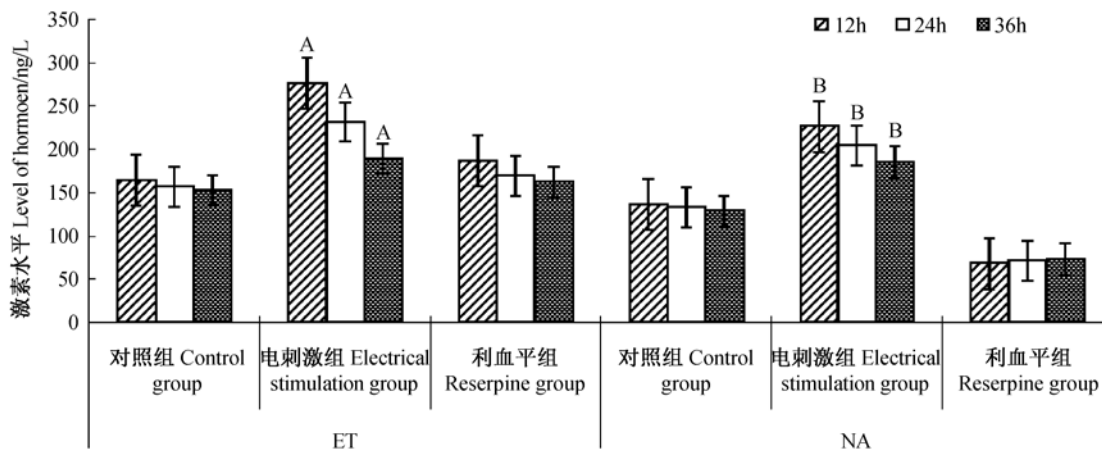


注: ET. 与对照组比^A $P < 0.01$; NA. 与对照组比^B $P < 0.01$ 。

图 1 低频电刺激对中国树鼩血激素水平的影响

Note. ET: ^A $P < 0.01$, vs. the control group; NA: ^B $P < 0.01$, vs. the control group.

Fig. 1 Effect of low frequency electrical stimulation on blood hormone levels in the Chinese tree shrews.



注: ET. 与对照组比^A $P < 0.01$; NA. 与对照组比^B $P < 0.01$ 。

图 2 低频电刺激对 Wistar 大鼠血激素水平的影响

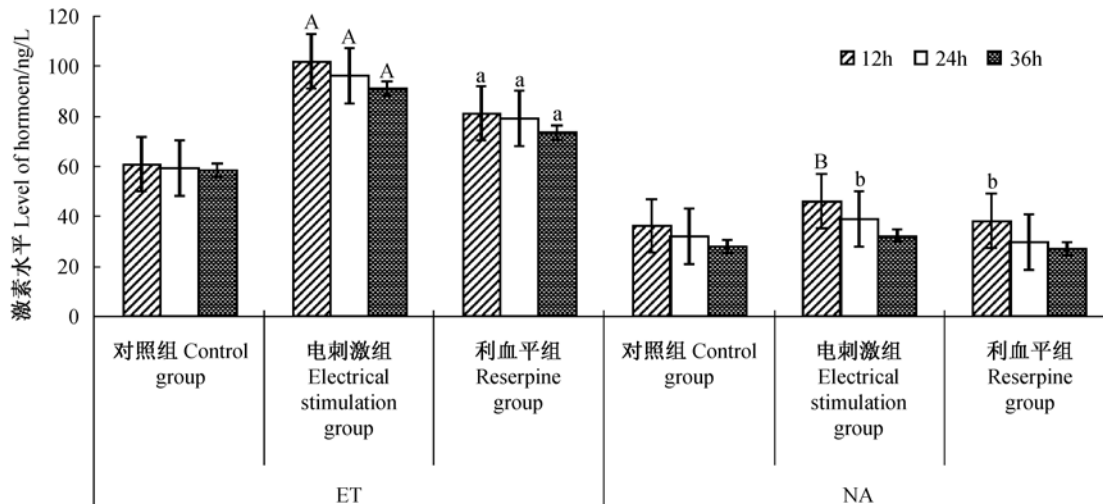
Note. ET: ^A $P < 0.01$, vs. the control group; NA: ^B $P < 0.01$, vs. the control group.

Fig. 2 Effect of low frequency electrical stimulation on blood hormone levels in the Wistar rats

2.3 低频电刺激对 BALB/c 小鼠血激素水平的影响

电刺激后 12、24、36 h 检测, 电刺激组 BALB/c 小鼠血内皮素 (ET) 水平比对照组分别升高了 67.39%、62.57%、55.59% ($P < 0.01$); 利血平组 BALB/c 小鼠血 ET 水平比电刺激组分别降低了

20.44%、17.82%、19.27% ($P < 0.05 \sim 0.01$); 电刺激组 BALB/c 小鼠血 NA 水平比对照组分别升高了 27.58%、21.72%、14.83% ($P < 0.05$), 利血平组 BALB/c 小鼠血 NA 水平比电刺激组分别降低了 17.25%、24.18%、16.04%。见图 3。



注:ET. 与对照组比^A $P < 0.01$, ^a $P < 0.05$; NA. 与对照组比^B $P < 0.01$, ^b $P < 0.05$ 。

图3 低频电刺激对 BALB/c 小鼠血激素水平的影响

Note. ET: ^A $P < 0.01$, ^a $P < 0.05$, vs. the control group; NA: ^B $P < 0.01$, ^b $P < 0.05$, vs. the control group.

Fig. 3 Effect of low frequency electrical stimulation on blood hormone levels in the BALB/c mice

3 讨论

为了探索社会环境压力对人们身心健康的影响,很多学者对相关的动物模型进行了长期的研究,发现慢性环境刺激使中国树鼩血象^[5]、血激素水平^[6]、生殖系统^[7]发生病理性变化。慢性束缚应激能引起大鼠学习记忆能力降低^[8]、肠功能紊乱^[9],热刺激造成小鼠肝脏、十二指肠和空肠严重损伤^[10]。反复电刺激清醒状态下大鼠上矢状窦^[11],大鼠出现抑郁的行为。旋转刺激能引起大鼠促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone)、促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin releasing hormone)水平升高^[12],激发肾上腺皮质激素的释放,增进抵抗力。高浓度的 NA 加速内皮细胞合成并释放内皮素(ET)和血小板活化因子(platelet-activating factor)^[13]。升高的 ET 不仅本身有强烈的缩血管作用,而且增强 NA 的缩血管作用^[14]。睾酮(testosterone)水平下降^[15],可使大鼠血管内皮受损,ET 释放增加^[16]。NA、ET 的过度分泌,在引起血管收缩的同时加剧血小板的激活并释放血栓素(thromboxane),活化的血小板因子(PAF)又可进一步促进内皮细胞释放 ET,PAF 加速血小板集聚,引起心、脑血管痉挛和血栓形成,造成机体损伤、发病甚至猝死。本文实验结果显示,给予中国树鼩、Wistar 大鼠、BALB/c 小鼠电刺激后,各组动物血 NA、ET 水平均显著升高(均 $P < 0.01$)。给予利血平后再给予相同的电刺激后 12 h 测定,各组动物 NA、ET 水平比电

刺激组明显降低($P < 0.05 \sim 0.01$),其中 ET 降低程度依次为中国树鼩(35.38%) > Wistar 大鼠(32.54%) > BALB/c 小鼠(20.44%)。实验结果表明,在应激反应中,因应激原种类、动物种属、性别、生理状态、应激状态的不同而有所差异;社会环境刺激能显著增加机体(人、动物)血液中 NA、ET 水平;NA、ET 参与高血压、心脏病乃至猝死的病理过程;利血平能阻碍体内 NA 的合成和释放,使交感-肾上腺髓质轴和下丘脑-垂体-性腺轴的兴奋降低,缓解了机体对应激损伤的反应,对机体有保护作用。

参 考 文 献

- [1] 刘水平,陈玉川,郭薇,等. 挤压伤大鼠血浆内皮素含量与心脏损伤的关系[J]. 中山医科大学学报, 2002, 23(1): 27-28.
- [2] 李军杰,叶平,骆雷鸣,等. 慢性应激与血清皮质醇、肾上腺素和去甲肾上腺素的关系[J]. 解放军医学院学报, 2010, 31(6): 558-559.
- [3] 王应祥. 中国树鼩的分类研究[J]. 动物学研究, 1987, 8(3): 213-230.
- [4] 俞发荣,连秀珍,张振南,等. 即刻刺激对中国树鼩体内 DA、cMAP、cMGP 水平的影响[J]. 中国法医学杂志, 2014, 29(6): 548-550.
- [5] 连秀珍,张红梅,谢明仁,等. 慢性环境刺激对中国树鼩行为方式的影响[J]. 生态科学, 2012, 31(6): 666-670.
- [6] 俞发荣,常青云,连秀珍,等. 生活环境条件对中国树鼩血激素水平和心理行为的影响[J]. 中国实验动物学报, 2014, 22(3): 62-66.

(下转第 255 页)

