

慢性应激大鼠血清肿瘤坏死因子- α 、 白细胞介素-6 的变化及其对心率和血压的影响

徐艳秋, 王洪巨

[摘要]目的:观察慢性应激大鼠血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)的变化,以及其对血压、心率的影响。方法:选用健康雄性 SD 大鼠 40 只,随机分 2 组。对照组 10 只不给予任何刺激,实验组 30 只参照 Katz 方法制作慢性应激模型。采用 ELISA 测定每只大鼠血清 TNF- α 、IL-6 的水平,并记录血压和心率。结果:与对照组比较,实验组大鼠旷场活动性降低($P < 0.01$),血清 IL-6、TNF- α 水平显著增高($P < 0.05$),血压增高、心率加快($P < 0.01$)。结论:慢性应激影响大鼠的情感行为,可以升高大鼠血清 TNF- α 、IL-6 水平,并影响血压、心率。

[关键词] 应激; 肿瘤坏死因子- α ; 白细胞介素-6; 血压; 心率; 大鼠

[中国图书资料分类号] R 363 [文献标识码] A

Change of serum tumor necrosis factor- α and interleukin-6 and its influence on the heart rate and blood pressure of rats with chronic stress

XU Yan-qiu, WANG Hong-ju

(Department of Vasculocardiology, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233004, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the changes of serum tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) and their influence on the blood pressure and heart rates of rats by establishing models of chronic stress. **Methods:** Forty healthy male SD rats were randomly divided into two groups. Control group ($n = 10$) were not given any incentives, and the experimental group ($n = 30$) were established models of chronic stress with Katz method. Serum TNF- α and IL-6 levels of the rats were measured by enzyme-linked immunoassay and the blood pressure and heart rates were recorded. **Results:** Compared with the control group, the open field activity of the rats with chronic stress decreased ($P < 0.01$), serum IL-6 and TNF- α levels increased ($P < 0.05$), the blood pressure was elevated and the heart rate speeded ($P < 0.01$). **Conclusions:** Stress may affect the emotional behavior, increase the serum IL-6 and TNF- α levels and influence the blood pressure and heart rates of the rats.

[Key words] stress; tumor necrosis factor- α ; interleukin-6; blood pressure; heart rates; rats

随着社会的发展,生活节奏加快,工作繁重和心理压力加重,人们常面临各种心理应激。适度的应激可以提高人体的免疫力和对外界的适应能力,而长期的慢性应激则可导致亚健康状态甚至疾病的发生。近年来,慢性应激在冠心病的形成、发展中所起的作用逐步受到重视^[1]。本研究通过制作慢性应激大鼠模型,观察慢性应激状态下大鼠血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)的变化及其情感行为、血压、心率变化,以探讨慢性应激对心率、血压的影响及可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 成年雄性 SD 大鼠 40 只,体重 200 ~ 250 g,由蚌埠医学院实验动物中心提供。在室温 22 ~ 26 °C 安静环境下,光暗周期为 12 h/12 h(光照时间为 7:00 ~ 19:00)的条件下饲养于笼中,自由进食和饮水。适应 1 周后开始实验。随机分为对照组 10 只(5 只/笼),慢性应激实验组 30 只(5 只/笼)。

1.2 造模方法 采用 Katz 等^[2]慢性轻度不可预见性应激抑郁(chronic unpredictable mild stress, CUMS)模型并略加改动,实验组动物接受 6 周的随机刺激,包括限制(自制塑料瓶,直径 7 ~ 9 cm,长 22 cm,一端敞小口,一端是活动式的大口,容器内大鼠可以翻身滚动但是不可以前后左右移动):每周 2 次,每次 2 h;禁水:每次 24 h,每周 1 次;禁食:每次 24 h,每周 1 次;夹尾:1 min,每周 1 次;拥挤:10 只/笼,每周 1 次,每次 12 h;昼夜颠倒:每周

[收稿日期] 2010-04-28

[基金项目] 安徽省教育厅自然科学基金资助项目(KJ2008B318)

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 心血管内科,安徽 蚌埠 233004(现工作于安徽省宿州市立医院 心内科, 234000)

[作者简介] 徐艳秋(1971-)女,硕士,主治医师。

[通讯作者] 王洪巨,博士,硕士研究生导师,副教授。E-mail: wanghongju@163.com

1次,每次24h。每天随机安排1种刺激,且每种刺激不连续出现,使动物不能预料刺激的发生。对照组不予任何刺激。连续6周后对实验组和对照组进行行为学评分。

1.3 行为学评分 进行旷场行为测定。将动物置于100 cm × 100 cm × 50 cm、周壁为黑色、底面分成面积相等的25方格的旷场中。摄像记录动物3 min的行为,以穿越底面的格子数为水平活动得分(大鼠1/2以上的身体进入方格计1分),以直立的次数为垂直活动得分(大鼠后肢性站立计1分)。观察清洁运动次数、中央格停留时间及粪便粒数。观察完毕,彻底清洁旷场后再进行下只大鼠的实验。

1.4 观察大鼠血压、心率的变化情况 大鼠末次应激后24h,依次腹腔注射20%乌拉坦5 ml/kg麻醉后,气管插管,采用左颈总动脉插管,连接LMS-2B

二道生理记录仪,记录收缩压、舒张压、心率数值。

1.5 血清学指标检测 血压、心率测量后,立即从胸主动脉各采血2 ml,低温分离血清(4℃,3000 r/m离心10 min),血清置于低温(-20℃)EP管中保存,用于测定IL-6、TNF-α水平。IL-6、TNF-α试剂盒购自德国Virion Serion公司,采用酶联免疫吸附试验方法测定IL-6、TNF-α水平,严格按照说明书操作。

1.6 统计学方法 采用t检验。

2 结果

2.1 2组大鼠旷场实验结果比较 与对照组相比,实验组大鼠的水平运动和垂直运动得分降低,中央格停留时间延长,修饰次数减少,粪便粒数增多($P < 0.01$) (见表1)。

表1 2组大鼠旷场实验行为学测试比较($\bar{x} \pm s$)

分组	n	水平运动得分	垂直运动得分	中央格停留时间(s)	修饰次数	粪便粒数
对照组	10	45.10 ± 5.23	18.40 ± 2.37	2.36 ± 1.16	3.83 ± 2.02	2.40 ± 1.58
实验组	30	20.17 ± 4.28	7.67 ± 2.28	5.17 ± 1.64	1.40 ± 1.35	4.17 ± 1.15
t	—	15.09	12.77	5.00	4.33	3.83
P	—	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

2.2 2组大鼠血压、心率比较 实验组大鼠收缩压、舒张压显著高于对照组($P < 0.01$),心率比对照组显著加快($P < 0.01$) (见表2)。

表2 2组大鼠血压、心率结果比较($\bar{x} \pm s$)

分组	n	收缩压(kPa)	舒张压(kPa)	心率(次/分)
对照组	10	13.27 ± 1.83	9.19 ± 1.68	295.00 ± 40.80
实验组	30	19.06 ± 1.42	13.19 ± 1.32	360.70 ± 45.59
t	—	10.38	7.75	15.95
P	—	<0.01	<0.01	<0.01

2.3 2组大鼠血清IL-6、TNF-α水平比较 实验组大鼠血清IL-6和TNF-α水平均高于对照组($P < 0.05$) (见表3)。

表3 2组大鼠血清IL-6、TNF-α水平比较($\bar{x} \pm s$; pg/ml)

分组	n	IL-6	TNF-α
对照组	10	17.72 ± 3.53	32.19 ± 7.92
实验组	30	21.86 ± 4.72	38.79 ± 7.08
t	—	2.54	2.48
P	—	<0.05	<0.05

3 讨论

本实验中实验组大鼠慢性应激后出现水平运动减少和垂直运动得分降低,中央格停留时间延长,修饰次数减少,粪便粒数增多,这些行为改变表明应激大鼠较对照组紧张程度增加,活动明显受限,兴趣丧失和认知能力减退,呈现明显抑郁状态。大鼠的这些表现同人类慢性心理社会应激后表现的行为、兴趣改变具有相似性,进一步提示慢性应激可能导致人类的亚健康状态甚至抑郁的产生。

细胞因子是由淋巴细胞、巨噬细胞等免疫细胞分泌的调节免疫应答的信号分子,在维持神经内分泌、免疫系统的功能方面起重要作用。研究^[3]表明,抑郁症患者血中细胞因子水平与病情严重程度及下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴的活性成正相关。细胞因子和HPA轴具有双向调节作用^[4]。慢性应激时交感神经及肾素-血管紧张素系统(RAS)的激活细胞因子分泌增加,细胞因子也有增强HPA轴活动的作用。IL-6和IFN-α可促进杏仁核和海马释放加压素和促肾上腺皮质激素释放激素(CRH),还可通过HPA轴刺激下丘脑、垂体合成释放CRH和促肾上腺皮质激素(ACTH)^[5]。慢性应激时机体通过RAS和HPA轴的激活来调节并完成

对应激的适应^[6]。RAS 和 HPA 轴激活,去甲肾上腺素分泌增加,通过旁分泌或自血流直接与淋巴细胞的受体结合,激活淋巴细胞,从而使 IL-6、TNF- α 分泌增加。RAS 激活后,血管紧张素 II 分泌增加,可通过核因子- κ B 诱导 IL-6 基因表达,引起 IL-6 水平升高^[7]。同时慢性应激时糖皮质激素的长期增高可使巨噬细胞的糖皮质激素受体敏感性降低,而使巨噬细胞产生炎症因子增加^[8]。本实验结果提示,慢性应激引起 HPA 轴的激活,引发炎症反应,从而使细胞因子 IL-6、TNF- α 分泌增加。

慢性应激时通过自主神经系统和 HPA 轴的激活,儿茶酚胺释放增加,引起血压升高,心率加快,这是一种生理保护性机制。而持久的应激状态,交感张力反复增高,导致体内儿茶酚胺长期升高,机体则产生一系列病理变化。遗传和行为因素并不能完全解释高血压的发展,社会心理因素也可能发挥了重要作用,暴露于慢性应激已成为高血压的可能危险因素^[9]。本研究表明,慢性应激时,精神紧张度增加,血压升高,心率加快,血清炎症因子 IL-6、TNF- α 水平升高,这些因素均可能对心血管系统产生一定的影响,并可能促成心血管事件的发生、发展。毕竟动物模型和人类的具体情况还有一定的差距,不能完全运用动物模型来解释人类的疾病过程,还需要进一步的研究寻求慢性应激对人类心理、行为的影响及策略。

[参 考 文 献]

- [1] Andersen BL, Farrar WB, Golden-Kreutz D *et al.* Distress reduction from a psychological intervention contributes to improve health for cancer patients[J]. *Brain Behav Immun* 2007 21(7): 953-961.
- [2] Katz RJ, Roth KA, Carroll BJ. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression[J]. *Neurosci Biobehav Rev* 1981 5(2): 247-251.
- [3] Capuron L, Hauser P, Hinze-Selch D *et al.* Treatment of cytokine-induced depression[J]. *Brain Behav Immun* 2002, 16(5): 575-580.
- [4] Goshen I, Yirmiya R. Interleukin-1: central regulator of stress responses[J]. *Front Neuroendocrinol* 2009 30(1): 30-45.
- [5] Berthold-Losleben M, Himmerich H. The TNF- α system: functional aspects in depression, narcolepsy and psychopharmacology[J]. *Curr Neuropharmacol* 2008 6(3): 193-202.
- [6] Banach M, Markuszewski L, Zaslowska J, *et al.* The role of inflammation in the pathogenesis of atherosclerosis[J]. *Przegl Epidemiol* 2004 58(4): 663-670.
- [7] Schieffer B, Schieffer E, Hilfiker-Kleiner D. Expression of angiotensin II and interleukin 6 in human coronary atherosclerotic plaques: potential implications for inflammation and plaque instability[J]. *Circulation* 2000 101(12): 1372-1378.
- [8] Maes M, Meeus H, Bosmans E, *et al.* Increased plasma concentrations of interleukin-6, soluble interleukin-6, soluble interleukin-2 and transferrin receptor in major depression[J]. *J Affect Disord* 1995 34(4): 301-309.
- [9] Spruill TM. Chronic psychosocial stress and hypertension[J]. *Curr Hypertens Rep* 2010 12(1): 10-16.

(本文编辑 章新生)

(上接第 126 页) 因子等刺激后均能释放 HMGB-1^[8]。Wang 等^[9]报道 HMGB-1 作为一种重要的炎症介质介导了内毒素的致死效应。正丁酸钠抑制 NF- κ B 信号转导可能是阻止 HMGB-1 释放至胞外的重要途径,其机制是正丁酸钠对 HMGB-1 去乙酰化的抑制效应^[10],那么正丁酸钠抑制内毒素诱导的小胶质细胞炎症,极可能是通过对 HMGB-1 的抑制作用。本实验干预组给予正丁酸钠预处理,血浆 HMGB-1 含量明显下降,其干预机制可能也是通过对 HMGB-1 去乙酰化的抑制效应。干预组家兔后期脑神经元变性坏死程度较模型组明显减轻,进一步说明 HMGB-1 在 DNS 的形成过程中发挥了重要作用。

[参 考 文 献]

- [1] Piantadosi CA. Carbon monoxide poisoning[J]. *Undersea Hyperb Med* 2004 31(1): 167-177.
- [2] Thom SR, Bhopale VM, Fisher D, *et al.* Delayed neuropathology after carbon monoxide poisoning is immune-mediated[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004 101(37): 13660-13665.
- [3] 赵天智,常耀明,李金声,等.急性 CO 中毒大鼠脑内的病理改变及白细胞介素-1 β 、 γ -干扰素表达的免疫组化研究[J]. *中华航海医学与高气压医学杂志* 2006 13(1): 26-29.

- [4] 吕晓宁,李金声,常耀明,等.急性 CO 中毒大鼠脑内 VCAM-1 表达 CD4⁺ T 淋巴细胞浸润规律的研究及高压氧干预后的变化[J]. *中国急救医学* 2007 27(3): 225-228.
- [5] 温韬,赵金恒.一种制备急性 CO 中毒迟发性脑病动物模型的新方法[J]. *中国工业医学杂志* 2003 16(3): 129-132.
- [6] Kim JB, Choi JS, Yu YM, *et al.* HMGB1, a novel cytokine-like mediator linking acute neuronal death and delayed neuroinflammation in the postischemic brain[J]. *J Neurosci* 2006 26(24): 6413-6421.
- [7] Huuskonen J, Suuronen T, Nuutinen T *et al.* Regulation of microglial inflammatory response by sodium butyrate and short-chain fatty acids[J]. *British J Pharmacol* 2004 141(5): 874-880.
- [8] Wang H, Vishnubhakat JM, Bloom O, *et al.* Proinflammatory cytokines (tumor necrosis factor and interleukin 1) stimulate release of high mobility group protein-1 by pituitary cells[J]. *Surgery* 1999 126(2): 389-392.
- [9] Wang H, Bloom O, Zhang M, *et al.* HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice[J]. *Science* 1999 285(5425): 248-251.
- [10] Quivy V, Van Lint C. Regulation at multiple levels of NF- κ B mediated transactivation by protein acetylation[J]. *Biochem Pharmacol* 2004 68(6): 1221-1229.

(本文编辑 刘璐)