

孕期慢性应激对不同性别仔鼠情绪损伤的影响

陈小惠^{1a,1b}, 马淑琴², 刘红娅^{1a,1b}, 戚发秋^{1a,1b}, 付有娟^{1a,1b}, 赵枫^{1a,1b}, 关素珍^{1a,1b}

1. 宁夏医科大学 a. 公共卫生与管理学院 b. 宁夏环境因素与慢性病控制重点实验室, 宁夏 银川 750004
2. 宁夏医科大学总医院, 宁夏 银川 750001

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2021.21117

摘要:

[背景] 研究表明孕期应激会影响胎儿及子代的生长发育, 这种影响存在性别差异, 但研究结果有较大争议, 且对孕期应激致不同性别仔鼠情绪损伤研究甚少。

[目的] 观察孕期慢性应激对不同性别仔鼠情绪损伤影响的差异。

[方法] 将 32 只 SD 雌鼠随机分为模型组和对照组 (每组 16 只); 24 只雄鼠分为模型交配组 (16 只) 和对照交配组 (8 只)。模型组采用单笼饲养方式和慢性不可预知温和应激 (CUMS) 进行 28 d 的随机应激, 包括: 热水浴 5 min、冰水浴 5 min、夹尾 2 min、拥挤 24 h、潮湿垫料 24 h、摇晃鼠笼 30 min, 狭小空间束缚 2 h。每日进行一种应激, 一周内相同的应激刺激方式不重复出现。在应激前 1 天和应激第 1、7、14、21、28 天对两组母鼠进行内眦静脉采血, 离心分离血浆, 用¹³¹I 放射性免疫法测定血浆皮质酮浓度。在仔鼠出生后第 21 天 (PND21), 每组各随机抽取 16 只 (雌雄各半) 为研究对象。在 PND28、PND42 测定仔鼠的血浆皮质酮浓度, 在 PND42 测定仔鼠情绪损伤情况。

[结果] 在应激第 14、21、28 天, 模型组母鼠血浆皮质酮浓度 [(394.02±97.40)、(444.12±90.43)、(463.71±107.75) μg·L⁻¹] 高于对照组母鼠 [(285.63±81.64)、(341.78±48.39)、(320.42±84.76) μg·L⁻¹] (均 $P < 0.05$)。雌性模型仔鼠组在 PND28 和 PND42 的血浆皮质酮浓度 [(543.30±90.21)、(530.76±83.10) μg·L⁻¹] 均高于同性别对照仔鼠组 [(397.77±64.27)、(325.78±61.03) μg·L⁻¹] (均 $P < 0.05$)。雌性模型仔鼠组蔗糖偏好实验的液体总消耗 [(10.74±1.28) mL]、糖水消耗 [(5.50±1.30) mL] 和 1%蔗糖偏好百分比 [(20.36±3.41)%] 低于同性别对照仔鼠组 [(13.74±2.06) mL、(8.56±2.04) mL 和 (62.11±8.05)%] (均 $P < 0.05$)。雄性模型仔鼠组旷场实验的水平得分、垂直得分以及清洁次数均低于雄性对照仔鼠组 (均 $P < 0.05$)。雌性、雄性模型仔鼠组悬尾实验的静止持续时间 [(126.95±39.88)、(70.24±28.98) s] 均长于同性别的对照仔鼠 [(54.30±24.99)、(38.63±18.91) s] (均 $P < 0.05$), 且雌性模型仔鼠组静止持续时间更长 ($t=3.253, P=0.006$)。在强迫游泳实验的不动持续时间上, 雌性模型仔鼠 [(7.97±6.66) s] 长于同性别的对照仔鼠组 [(1.85±2.12) s] ($t=2.478, P=0.037$)。PND42 时, 雌性仔鼠血浆皮质酮与液体总消耗、糖水消耗、1%蔗糖偏好百分比呈负相关 ($r=-0.621, r=-0.728, r=-0.699; P < 0.05$), 与静止持续时间和不动持续时间呈正相关 ($r=0.571, r=0.712; P < 0.05$), 而雄性仔鼠血浆皮质酮与 PND42 时情绪各项指标未见相关性 (均 $P > 0.05$)。

[结论] 孕期慢性应激致仔鼠的情绪发生损伤, 雌性仔鼠表现出抑郁样情绪。

关键词: 孕期应激; 慢性应激; 仔鼠; 情绪损伤; 性别差异

Effects of chronic stress during pregnancy on sex-specific offspring emotional damage CHEN Xiaohui^{1a,1b}, MA Shuqin², LIU Hongya^{1a,1b}, QI Faqiu^{1a,1b}, FU Youjuan^{1a,1b}, ZHAO Feng^{1a,1b}, GUAN Suzhen^{1a,1b} (1.a. School of Public Health and Management b. Key Laboratory of Environmental Factors and Chronic Disease Control, Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China; 2. General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750001, China)

Abstract:

[Background] Studies have shown that stress during pregnancy can affect the growth and development of fetuses and offspring, and this effect has sex differences, but the results are controversial, and there are few studies on the emotional damage of offspring of different sexes caused by stress during pregnancy.

基金项目

2020 年度宁夏高等学校科学研究项目 (NGY2020031)

作者简介

陈小惠 (1996—), 女, 硕士生;
E-mail: 15775815257@163.com

通信作者

关素珍, E-mail: guansz_nx2017@sina.com

伦理审批

已获取

利益冲突

无申报

收稿日期

2021-03-28

录用日期

2021-05-18

文章编号

2095-9982(2021)11-1263-07

中图分类号

R114

文献标志码

A

►引用

陈小惠, 马淑琴, 刘红娅, 等. 孕期慢性应激对不同性别仔鼠情绪损伤的影响[J]. 环境与职业医学, 2021, 38(11): 1263-1269.

►本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2021.21117

Funding

This study was funded.

Correspondence to

GUAN Suzhen,

E-mail: guansz_nx2017@sina.com

Ethics approval

Obtained

Competing interests

None declared

Received

2021-03-28

Accepted

2021-05-18

► To cite

CHEN Xiaohui, MA Shuqin, LIU Hongya, et al. Effects of chronic stress during pregnancy on sex-specific offspring emotional damage[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2021, 38(11): 1263-1269.

► Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2021.21117

[Objective] This experiment is designed to observe the effect of chronic stress during pregnancy on emotional damage of offspring of different sexes.

[Methods] Thirty-two SD female rats were randomly divided into a model group and a control group (16 rats in each group), 24 male rats were divided into a model mating group ($n=16$) and a control mating group ($n=8$). Each rat of the model group was reared in a single cage and received chronic unpredictable mild stress (CUMS) for 28 d, including hot water swimming for 5 min, cold water swimming for 5 min, tail pinching for 2 min, crowding for 24 h, moist bedding for 24 h, cage shaking for 30 min, and space restriction for 2 h. One stressor was administered daily and the same stressor did not repeat within 7 d. Blood was collected from the endocanthal vein of the two groups of female rats 1 d before and 1, 7, 14, 21, and 28 d after stress, the plasma was separated by centrifugation, and ^{125}I radioimmunoassay was used to measure plasma corticosterone concentration. On postnatal day 21 (PND21), 16 offspring rats (half male and half female) were randomly selected from each group, their plasma corticosterone concentration was measured on PND28 and PND42, and their emotional damage was measured on PND42.

[Results] The plasma corticosterone levels of dams in the model group on the 14th, 21th, and 28th days of stress $[(394.02\pm 97.40), (444.12\pm 90.43), \text{ and } (463.71\pm 107.75) \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}]$ were higher than those in the control group $[(285.63\pm 81.64), (341.78\pm 48.39), \text{ and } (320.42\pm 84.76) \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}]$ (all $P<0.05$). On PND28 and PND42, the plasma corticosterone levels in the female model offspring group $[(543.30\pm 90.21) \text{ and } (530.76\pm 83.10) \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}]$ were higher than those in the female control offspring group $[(397.77\pm 64.27) \text{ and } (325.78\pm 61.03) \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}]$ (both $P<0.05$). In the sugar water preference test, the total fluid consumption $[(10.74\pm 1.28) \text{ mL}]$, sugar water consumption $[(5.50\pm 1.30) \text{ mL}]$, and 1% sucrose preference percentage $[(20.36\pm 3.41) \%]$ in the female model offspring group were lower than those in the female control offspring group $[(13.74\pm 2.06) \text{ mL}, (8.56\pm 2.04) \text{ mL}, \text{ and } (62.11\pm 8.05) \%]$ (all $P<0.05$). In the open field test, the horizontal score, vertical score, and cleaning times of the male model offspring group were lower than those of the male control offspring group (all $P<0.05$). In the tail suspension test, the immobility time of the female and male model offspring groups $[(126.95\pm 39.88) \text{ and } (70.24\pm 28.98) \text{ s}]$ was longer than the control offspring groups of the same sex $[(54.30\pm 24.99) \text{ and } (38.63\pm 18.91) \text{ s}]$ (both $P<0.05$), and the duration of immobility time in the female model offspring group was longer ($t=3.253, P=0.006$). In the forced swimming test, the immobility time of the female model offspring group $[(7.97\pm 6.66) \text{ s}]$ was longer than that of the female control offspring group $[(1.85\pm 2.12) \text{ s}]$ ($t=2.478, P=0.037$). On PND42, the plasma corticosterone level of female offspring was negatively correlated with total fluid consumption, sugar water consumption, and 1% sucrose preference percentage ($r=-0.621, r=-0.728, r=-0.699$; $P<0.05$), and positively correlated with immobility time in the tail suspension test and immobility time in the forced swimming test ($r=0.571, r=0.712$; $P<0.05$). However, there was no correlation between plasma corticosterone and emotional indicators on PND42 in male offspring ($P>0.05$).

[Conclusion] Chronic stress during pregnancy causes emotional damage to the offspring, and female offspring show depression-like behaviors.

Keywords: stress during pregnancy; chronic stress; offspring; emotional damage; sex difference

越来越多的研究表明,胚胎发育时期是子代生长发育的最关键时期之一。在该时期,母体受到的应激因素可通过塑造各个系统结构和功能发育,从而影响胚胎及子代的生长发育,这种影响可能是长期甚至永久的^[1]。流行病学实验和动物实验研究均表明,孕期接触各种应激会诱导母体下丘脑-垂体-肾上腺(hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA)轴持续激活,从而分泌过量的糖皮质激素。而过量的糖皮质激素可透过胎盘屏障进入胎儿体内,干扰胎儿HPA轴在易损期的发展^[2-3]。有研究发现母鼠孕期应激,雌性仔鼠下丘脑分泌的促肾上腺皮质激素释放激素 mRNA 水平增加,而雄性降低^[4],孕期接触不良生活事件与后代精神分裂症谱系障碍的风险,男性后代的风险更高^[5]。可见孕期应激对子代健康的影响可能与子代性别相关,但目前结果仍有较大争议^[6],且少有孕期慢性应激对不同性别子代情绪损伤差异的研究,因此本研究重点从性别的角度探讨孕期慢性应激对子代情绪损伤影响的差异。

1 对象与方法

1.1 实验动物

实验动物是由宁夏医科大学实验动物中心提供的 SPF 级 SD 大鼠,其中雌鼠 32 只,体重 240~270 g,随机平均分为模型组和对照组,模型组采用单笼饲养,对照组则每笼 4 只饲养;雄鼠 24 只,体重 300~350 g,同期将雄鼠随机分为模型交配组 16 只和对照交配组 8 只,两组均每笼 4 只,正常条件饲养。实验动物使用许可证:SYXY(宁)2020-0001。经宁夏医科大学实验动物中心实验动物福利伦理委员会审核后,实验过程符合要求,可进行实验(批准号:IACUC-NYLAC-2020-068)。

1.2 建立孕期慢性应激大鼠模型

选择慢性不可预知温和应激(chronic unpredictable mild stress, CUMS)^[7]模型和单笼饲养的方式建立动物模型。模型组母鼠接受 28 d 的应激,每日于早晨(10:00—12:00)接受一种随机应激刺激,一周内相同的

应激刺激方式不重复出现。结合现有的实验条件,采用了热水浴 5 min(温度为 45℃),冰水浴 5 min(温度为 4℃),夹尾 2 min,拥挤 24 h(于早晨 10 点进行,到次日早晨 10 点结束,然后再接受下一种应激),潮湿垫料 24 h(同上),摇晃鼠笼 30 min,狭小空间束缚 2 h)。在应激第 7 天,模型交配组雄鼠与模型组母鼠按 1:1 进行合笼交配,对照组雄鼠与对照组母鼠按 1:2 进行合笼交配。于第 2 天早晨 7 点检查阴栓确认是否受孕,受孕后,将雌雄分离,按原有的饲养方式饲养,待孕 18 d 后分笼喂养。

两组母鼠分别在应激前 1 天以及应激第 1、7、14、21、28 天进行内眦静脉采血,置于冰中暂存,然后离心分离血浆,放置-80℃冰箱保存。首先采用¹³¹I 皮质醇放射免疫试剂盒(北京北方生物技术研究所,中国)测定血浆皮质醇质量浓度(后称“浓度”)后,按照公式 $\rho_{\text{皮质酮}}=50 \times \rho_{\text{皮质醇}}$ 算出母鼠的血浆皮质酮浓度。判断母鼠处于应激状态的标准:在应激实验开始后,相同的时间点,模型组母鼠血浆皮质酮浓度高于对照组,且差异有统计学意义($P < 0.05$)。

1.3 仔鼠分组

孕鼠生产的当天为出生后第 0 天(postnatal day 0, PND0),在 PND21 时,进行编号分组,模型组和对照组分别按照窝内的只数和性别比例各随机抽取 16 只仔鼠(雌雄各半)为研究对象。在 PND28 和 PND42 时,仔鼠(模型组 16 只,对照组 16 只;雌雄各半),按上述方法进行采血后,测定血浆皮质酮浓度;在 PND42 时,通过蔗糖偏好、旷场、高架十字、悬尾、强迫游泳相关实验测定仔鼠(模型组 16 只,对照组 16 只;雌雄各半)的情绪反应。

1.4 仔鼠情绪反应测定

蔗糖偏好实验^[7]。使用蔗糖分析纯(天津市大茂化学试剂厂,中国)配制 1%蔗糖水。在正式开始之前,对实验动物进行适应含糖饮水的训练,每笼分别放置 1 个装有 1%蔗糖水的水瓶和 1 个装有普通水的水瓶 24 h 后,禁食禁水 24 h,次日进行正式实验,观察指标包括:纯水消耗量、糖水消耗量、液体总消耗量、1%蔗糖偏好百分比。1%蔗糖偏好百分比=(糖水消耗量/液体总消耗量)×100%。该实验是检测抑郁的一个典型症状——快感缺失的经典实验。

旷场实验^[7]。旷场实验箱高为 50 cm,底边长 100 cm,内壁涂黑,底面被分为 25 个(4 cm×4 cm)小格。开始时将实验动物放在旷场的正中间,记录其 5 min 内的

行为表现,包括:动物 3 爪以上跨入的格子数为水平运动得分,后肢站立次数为垂直运动得分,清洁次数(动物洗脸、梳毛等动作)。该实验用以评价动物自发活动、紧张度及焦虑状态。

高架十字实验^[8]。高架十字实验箱由两条相对开放臂、两条相对闭合臂及相对开放的中央区三部分组成,各臂的长、宽均为 50 cm×10 cm,中央区大小为 10 cm×10 cm。将实验动物放置在相对开放的中央区后,记录其 5 min 内的行为表现,包括:开放臂和闭合臂滞留时间以及进入各臂的次数。该实验用以评价动物紧张度、焦虑状态。

悬尾实验^[8]。将距大鼠尾尖约 5 cm 处呈倒悬状态固定于悬尾实验箱上,头部保持与实验台面距离约为 20 cm,观察实验动物 6 min 内静止持续时间。该实验用以评价动物是否出现“抑郁样”情绪。

强迫游泳实验^[9]。将实验动物置于装有高 30 cm,温度为(22±1)℃水的透明圆柱装置中,让其游泳 5 min,记录实验动物低速运动持续时间以及不动持续的时间。该实验用以评价动物是否出现“抑郁样”情绪。

上述除蔗糖偏好实验,其余实验均使用小动物行为记录分析系统 3.0(深圳市瑞沃德生命科技有限公司,中国)进行。在实验过程中,上一只实验动物测试完,用 75%酒精擦拭实验装置,避免装置中残留的实验动物气味对下一只实验动物造成干扰。

1.5 统计学方法

数据分析采用 SPSS 22.0 软件,本研究数据均呈正态分布,用 $\bar{x} \pm s$ 进行统计描述,用重复测量资料的方差分析对母鼠血浆皮质酮进行分析,两组间的比较采用 t 检验,用 Pearson 相关进行相关性分析。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 孕期慢性应激模型的确认及孕产情况

经重复测量的方差分析,模型组和对照组母鼠血浆皮质酮浓度整体存在差异($F=41.399, P > 0.001$)。模型组母鼠所产仔鼠只数(11.00±5.48)、窝重[(50.53±26.86)g]和仔鼠雌雄比例(2.51±2.37)与对照组母鼠[10.25±3.50、(58.05±11.50)g和 1.78±1.67]差异均无统计学意义($t_{\text{只数}}=0.231, P=0.825$; $t_{\text{窝重}}=-0.515, P=0.623$; $t_{\text{雌性比例}}=0.455, P=0.650$)。同一时间点比较,在应激第 14、21、28 天,模型组母鼠血浆皮质酮浓度[(394.02±97.40)、(444.12±90.43)、(463.71±107.75)μg·L⁻¹]高于对照组母鼠[(285.63±81.64)、(341.78±48.39)、(320.42±

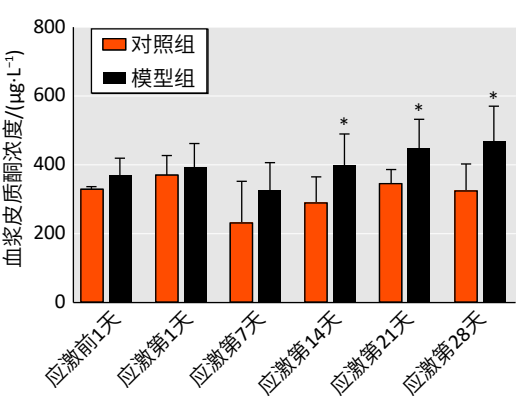
84.76) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$]($t_{14\text{d}}=2.412, P=0.031; t_{21\text{d}}=2.822, P=0.017; t_{28\text{d}}=2.956; P=0.011$)。提示模型组母鼠在孕期处于应激状态。见图 1。

2.2 仔鼠血浆皮质酮浓度变化

在 PND28 和 PND42 时, 雌性模型仔鼠组的血浆皮质酮浓度均高于同性别的对照仔鼠组(均 $P>0.05$), 而雄性仔鼠两组未发现差异(均 $P>0.05$)。见表 1。

2.3 仔鼠情绪变化

2.3.1 蔗糖偏好实验指标 实验观察到, 雌性模型仔鼠组的液体总消耗、糖水消耗、1%蔗糖偏好百分比均低于同性别的对照仔鼠组(均 $P>0.05$); 而雄性模型仔鼠组的各项指标较同性别的对照仔鼠组差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。见表 2。



[注] *: 与对照组比较, $P<0.05$ 。
图 1 各个时间点母鼠血浆皮质酮浓度变化
Figure 1 Changes of plasma corticosterone concentration of female rats at various time points

表 1 孕期慢性应激对仔鼠血浆皮质酮浓度的影响

Table 1 Effect of chronic stress during pregnancy on plasma corticosterone level of offspring rats

分组	雌性				雄性			
	对照仔鼠组 (n=8)	模型仔鼠组 (n=8)	t	P	对照仔鼠组 (n=8)	模型仔鼠组 (n=8)	t	P
PND28	397.77±64.27	543.30±90.21	3.716	0.003	430.04±38.59	464.92±161.55	0.594	0.569
PND42	325.78±61.03	530.76±83.10	5.623	0.001	229.28±93.51	299.83±105.55	1.415	0.179

单位 (Unit): $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

表 2 孕期慢性应激对仔鼠情绪相关指标的影响

Table 2 Effect of chronic stress during pregnancy on emotion-related indicators of offspring rats

指标	雌性				雄性			
	对照仔鼠组 (n=8)	模型仔鼠组 (n=8)	t	P	对照仔鼠组 (n=8)	模型仔鼠组 (n=8)	t	P
蔗糖偏好实验								
液体总消耗/mL	13.74±2.06	10.74±1.28	-3.493	0.005	12.67±1.16	12.73±1.52	-0.471	0.647
纯水消耗/mL	5.18±1.07	5.24±1.17	0.112	0.912	5.04±0.56	5.12±0.61	0.268	0.793
糖水消耗/mL	8.56±2.04	5.50±1.30	-3.583	0.004	7.71±1.30	7.60±1.13	-0.174	0.865
1%蔗糖偏好百分比/%	62.11±8.05	51.31±8.70	-2.576	0.022	59.53±6.20	58.36±3.32	0.080	0.937
旷场实验								
水平得分	70.71±15.50	62.88±29.46	-0.666	0.516	64.38±19.18	36.29±18.18	-3.006	0.009
垂直得分	12.02±4.59	12.50±7.41	0.155	0.879	12.50±7.41	7.08±5.11	-2.627	0.023
清洁次数	2.40±1.20	2.65±1.14	0.426	0.676	3.10±1.22	1.75±0.99	-2.442	0.029
高架十字实验								
进入闭合臂的次数	17.17±6.67	16.79±3.78	-0.138	0.892	12.58±5.26	13.29±4.91	0.277	0.785
进入开放臂的次数	7.12±3.21	6.08±2.27	-0.750	0.467	5.83±3.73	5.62±5.56	-0.088	0.931
闭合臂停滞时间/s	233.12±19.67	229.75±22.15	-0.322	0.752	243.25±14.67	247.50±43.10	0.264	0.798
开放臂停滞时间/s	27.56±10.69	30.61±12.87	0.516	0.614	23.04±14.80	18.39±23.92	-0.468	0.649
悬尾实验								
静止持续时间	54.30±24.99 [*]	126.95±39.88 [#]	4.365	0.001	38.63±18.91	70.24±28.98	2.584	0.024
强迫游泳实验								
不动持续时间	1.85±2.12	7.97±6.66	2.478	0.037	3.79±2.05	7.83±9.71	1.150	0.285
低速运动持续时间	51.00±18.64	58.53±27.32	0.664	0.531	35.68±9.78	46.50±15.78	1.672	0.121

[注] *: 与雄性对照仔鼠相比, $P>0.05$; #: 与雄性模型仔鼠相比, $P<0.05$ 。

2.3.2 旷场实验指标 与雌性对照仔鼠组相比,同性别的模型仔鼠组在旷场实验的各指标均未观察到差异(均 $P>0.05$);而雄性模型仔鼠组的水平得分、垂直得分以及清洁次数均低于雄性对照仔鼠组(均 $P>0.05$)。见表 2。

2.3.3 高架十字实验指标 与同性别的对照仔鼠组相比,雌性、雄性模型仔鼠组在进入闭合臂的次数、进入开放臂的次数、闭合臂停滞时间和开放臂停滞时间各指标均未发现差异(均 $P>0.05$)。见表 2。

2.3.4 悬尾实验指标 雌性、雄性模型仔鼠组的静止持续时间长于同性别的对照仔鼠组(均 $P>0.05$)。进一步比较发现,对照仔鼠组雌性和雄性仔鼠差异无统计学意义($t=1.414, P=0.181$),而模型仔鼠组雌性仔鼠的静止持续时间长于雄性仔鼠,差异有统计学意义($t=3.253, P=0.006$)。见表 2。

2.3.5 强迫游泳实验指标 在低速运动持续时间上,与同性别的对照仔鼠组相比,雌性、雄性模型仔鼠组均未出现差异(均 $P>0.05$)。在不动持续时间上,雌性模型仔鼠组长于同性别的对照仔鼠组($P>0.05$),而雄性仔鼠两组间未发现差异($P>0.05$)。见表 2。

2.4 仔鼠血浆皮质酮与情绪各指标的相关性

PND28 时,未观察到雌性、雄性仔鼠血浆皮质酮与 PND42 时情绪各项指标的相关性(均 $P>0.05$);PND42 时,观察到了雌性仔鼠血浆皮质酮与液体总消耗、糖水消耗、1%蔗糖偏好百分比呈负相关($P>0.05$),与悬尾实验的静止持续时间和强迫游泳不动持续时间呈正相关($P>0.05$),而未观察到雄性仔鼠血浆皮质酮与 PND42 时情绪各项指标的相关性(均 $P>0.05$)。见表 3。

表 3 仔鼠血浆皮质酮与 PND42 时情绪各指标的相关分析

Table 3 Correlation analysis of plasma corticosterone and emotion-related indicators in offspring rats

指标	雌性		雄性	
	PND28	PND42	PND28	PND42
蔗糖偏好实验				
液体总消耗	-0.430	-0.621 [*]	0.149	-0.040
纯水消耗	0.144	0.233	-0.072	0.337
糖水消耗	-0.495	-0.728 ^{**}	0.186	-0.170
1%蔗糖偏好百分比	-0.456	-0.699 ^{**}	0.342	-0.199
旷场实验				
水平得分	-0.079	0.074	-0.180	-0.483
垂直得分	-0.103	0.184	-0.177	-0.259
清洁次数	-0.054	0.317	-0.152	-0.303

续表 3

指标	雌性		雄性	
	PND28	PND42	PND28	PND42
高架十字实验				
进入闭合臂的次数	-0.089	0.231	0.067	0.054
进入开放臂的次数	-0.127	0.187	0.008	-0.098
闭合臂停滞时间	0.147	-0.284	0.010	-0.160
开放臂停滞时间	-0.056	0.181	-0.055	0.242
悬尾实验				
静止持续时间	0.407	0.571 [*]	-0.061	0.272
强迫游泳实验				
不动持续时间	0.332	0.712 ^{**}	-0.330	-0.078
低速运动持续时间	0.068	0.327	0.308	-0.030

[注]*: $P<0.05$; **: $P<0.01$ 。

3 讨论

大量研究将血浆皮质醇(人为皮质醇,啮齿类动物为皮质酮)作为母体产前应激的生物标记物^[10]。本实验通过建立孕期慢性应激大鼠模型,结果显示在应激第 14、21、28 天模型组母鼠的血浆皮质酮浓度高于对照组,表明母鼠处于应激状态,与赵枫^[11]的研究中孕期应激母鼠血浆皮质酮升高结果一致。目前流行病学研究表明,孕期的应激会增加低体重儿的出生率以及流产等一系列不良妊娠结局^[12],而在此次研究中模型组母鼠所产仔鼠只数、窝重与对照组母鼠无差异,所产仔鼠的雌雄比例两组间也未观察到差异,其可能原因与种属品系差异有关。

孕期应激能影响胎儿 HPA 轴的发育,从而影响后代的健康。本研究发现,在 PND28 和 PND42 时,雌性模型仔鼠组的血浆皮质酮浓度高于同性别对照仔鼠组,而雄性仔鼠两组间没有差异,提示孕期慢性应激能干扰雌性仔鼠 HPA 轴的生长发育,使雌性仔鼠处于高皮质酮状态,Dean 等^[13]的也观察到了类似结果。

产前母体处于应激状态会使胎儿暴露于高皮质醇状态,并可能影响其神经功能和结构的发育^[14],增加了子代罹患精神疾病(焦虑、抑郁)的风险^[15]。而越来越多的研究发现产前母体应激对子代的影响,不同性别子代表现出不同不良后果结局^[16-17]。本研究通过分析不同性别仔鼠的情绪变化发现:在蔗糖偏好实验中,雌性模型仔鼠组的液体总消耗、糖水消耗、1%蔗糖偏好百分比均低于同性别的对照仔鼠组,而雄性仔鼠两组间未观察到差异,提示孕期慢性应激降低了雌性仔鼠对幸福的反应能力,出现快感消失;在旷场实验中,雌性模型仔鼠组与同性别的对照组各指标上未发现差异,而雄性模型仔鼠组的水平得分、垂直得分

以及清洁次数均低于同性别的对照仔鼠组,提示孕期慢性应激能致雄性仔鼠在新异环境中探索行为减少,表现出紧张、焦虑等情绪反应;在悬尾实验中,雌性、雄性模型仔鼠组的静止时间均长于同性别的对照仔鼠组,雌性仔鼠的静止时间较雄性仔鼠更长,雌性仔鼠表现出更多的绝望状态;同样在强迫游泳实验中,孕期慢性应激能致雌性仔鼠表现出行为绝望状态,而雄性仔鼠则未观察到此现象。

在此次实验中,发现孕期应激对雌性、雄性仔鼠情绪损伤均有影响,雌性仔鼠表现出抑郁样行为;而雄性仔鼠表现出焦虑样行为。相关研究也发现,孕期应激能使雄性子代产生焦虑样行为,但在雌性子代并未观察到焦虑样行为^[18]。孕期应激使雌性仔鼠出现抑郁样行为,其机制可能与雌性后代HPA轴的功能更易受到孕期慢性应激的影响有关^[4],在本实验中也发现了血浆皮质酮浓度与反映情绪的指标存在相关性,经孕期慢性应激后,雌性仔鼠处于高血浆皮质酮状态,而对雄性仔鼠没有影响。动物实验研究表明,孕期应激能降低雌性后代单胺类神经递质5-羟色胺(与情感情绪有关的神经递质)的表达水平^[19-20]。此外,脑海马区是与孕期慢性应激致子代情绪损伤相关的脑区,海马甘丙肽(galanin, GAL)能抑制海马区释放兴奋性氨基酸递质^[21],而脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)能促进脑海马区突触的可塑性^[22]。而有研究发现,孕期应激能使雌性仔鼠的脑海马区的BDNF mRNA表达水平显著下降, GAL mRNA表达水平增高^[23]。而雄性仔鼠更多地表现出焦虑样行为,这可能与雄性激素的改变有关^[24]。此外有研究发现,雌性胎盘功能在孕期应激时受到的损害变化明显,而对雄性胎盘功能影响不大^[25],提示孕期应激对胎盘功能的损害可能是影响不同性别子代情绪损伤的重要因素之一。

综上,本研究显示孕期慢性应激致仔鼠的情绪发生损伤,雌性仔鼠表现出抑郁样情绪。但实验中存在的一些不稳定因素可能影响实验结果,如在应激过程中不能保证所有母鼠在同一天(而是在一段时间内)受孕成功,虽然每一只母鼠均接受了28d的应激,但应激结束后,后怀孕的母鼠具有一段调节恢复时间,同时导致了实验动物受孕前刺激时间和孕后刺激时间不完全一致,因此在今后动物实验研究中需改进这一实验设计缺陷。此外在今后的动物实验研究中还需要明确具体的机制,并进行流行病学研究,进一步为研究孕期慢性应激致子代情绪损伤的性别差异提供科学依据。

参考文献

- [1] 王双慧, 朱琳, 陈立. 母亲产前应激对子代神经心理发育影响的研究进展[J]. *教育生物学杂志*, 2021, 9(1): 65-69.
WANG S H, ZHU L, CHEN L. Research progress on influence of maternal prenatal stress on neuropsychological development of offspring[J]. *J Bio-Educ*, 2021, 9(1): 65-69.
- [2] ZHU P, WANG W S, ZUO R J, et al. Mechanisms for establishment of the placental glucocorticoid barrier, a guard for life[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(1): 13-26.
- [3] CHEN Y W, HE Z, CHEN G H, et al. Prenatal glucocorticoids exposure and fetal adrenal developmental programming[J]. *Toxicology*, 2019, 428: 152308.
- [4] GARCÍA-CÁCERES C, LAGUNAS N, CALMARZA-FONT I, et al. Gender differences in the long-term effects of chronic prenatal stress on the HPA axis and hypothalamic structure in rats[J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2010, 35(10): 1525-1535.
- [5] FINEBERG A M, ELLMAN L M, SCHAEFER C A, et al. Fetal exposure to maternal stress and risk for schizophrenia spectrum disorders among offspring: differential influences of fetal sex[J]. *Psychiatry Res*, 2016, 236: 91-97.
- [6] VAN DEN HOVE D L A, KENIS G, BRASS A, et al. Vulnerability versus resilience to prenatal stress in male and female rats; Implications from gene expression profiles in the hippocampus and frontal cortex[J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2013, 23(10): 1226-1246.
- [7] 赵谦, 王安娜, 高雪松, 等. 慢性不可预知性温和应激致抑郁样大鼠模型的研究进展[J]. *实验动物与比较医学*, 2020, 40(4): 344-353.
ZHAO Q, WANG A N, GAO X S, et al. Research progress in depression-like rat model induced by chronic unpredictable mild stress[J]. *Lab Anim Comp Med*, 2020, 40(4): 344-353.
- [8] STUKALIN Y, LAN A, EINAT H. Revisiting the validity of the mouse tail suspension test: Systematic review and meta-analysis of the effects of prototypic antidepressants[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2020, 112: 39-47.
- [9] LLOYD K R, REYES T M. Treading water: mixed effects of high fat diet on mouse behavior in the forced swim test[J]. *Physiol Behav*, 2020, 223: 112965.
- [10] KIM M Y, KIM G U, SON H K. Hair cortisol concentrations as a biological marker of maternal prenatal stress: A systematic review[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2020, 17(11): 4002.
- [11] 赵枫, 刘志宏, 付有娟, 等. 丰富环境对孕期慢性应激大鼠子代海马IGF-II和NF-κB表达的干预研究[J]. *环境与职业医学*, 2020, 37(3): 274-280.
ZHAO F, LIU Z H, FU Y J, et al. Intervention of enriched environment on expressions of IGF-II and NF-κB in hippocampus of offspring of rats with chronic stress during pregnancy[J]. *J Environ Occup Med*, 2020, 37(3): 274-280.
- [12] ROSA M J, NENTIN F, BOSQUET ENLOW M, et al. Sex-specific associations between prenatal negative life events and birth outcomes[J]. *Stress*, 2019, 22(6): 647-653.
- [13] DEAN F, MATTHEWS S G. Maternal dexamethasone treatment in late gestation alters glucocorticoid and

- mineralocorticoid receptor mRNA in the fetal guinea pig brain[J]. *Brain Res*, 1999, 846(2): 253-259.
- [14] BEIJERS R, BUITELAAR JK, DE WEERTH C. Mechanisms underlying the effects of prenatal psychosocial stress on child outcomes: beyond the HPA axis[J]. *Eur Child Adolesc Psychiatry*, 2014, 23(10): 943-956.
- [15] VAN DEN BERGH BR H, DAHNKE R, MENNES M. Prenatal stress and the developing brain: Risks for neurodevelopmental disorders[J]. *Dev Psychopathol*, 2018, 30(3): 743-762.
- [16] DIPIETRO JA, VOEGTLINE KM. The gestational foundation of sex differences in development and vulnerability[J]. *Neuroscience*, 2017, 342: 4-20.
- [17] CARPENTER T, GRECIAN SM, REYNOLDS RM. Sex differences in early-life programming of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in humans suggest increased vulnerability in females: a systematic review[J]. *J Dev Orig Health Dis*, 2017, 8(2): 244-255.
- [18] SAID N, LAKEHAYLI S, BATTAS O, et al. Effects of prenatal stress on anxiety-like behavior and nociceptive response in rats[J]. *J Integr Neurosci*, 2015, 14(2): 223-234.
- [19] 关素珍, 宁丽, 徐仙, 等. 孕期慢性应激对子鼠情绪及海马组织中单胺类神经递质的影响[J]. *环境与职业医学*, 2016, 33(9): 849-853.
- GUAN SZ, NING L, XU X, et al. Effects of maternal chronic stress during pregnancy on emotion and hippocampal monoamine neurotransmitters of offspring rats[J]. *J Environ Occup Med*, 2016, 33(9): 849-853.
- [20] HIROI R, CARBONE DL, ZULOAGA DG, et al. Sex-dependent programming effects of prenatal glucocorticoid treatment on the developing serotonin system and stress-related behaviors in adulthood[J]. *Neuroscience*, 2016, 320: 43-56.
- [21] LANG R, GUNDLACH AL, HOLMES FE, et al. Physiology, signaling, and pharmacology of galanin peptides and receptors: three decades of emerging diversity[J]. *Pharmacol Rev*, 2015, 67(1): 118-175.
- [22] GUAN SZ, NING L, TAO N, et al. Effects of maternal stress during pregnancy on learning and memory via hippocampal BDNF, Arc (Arg3.1) expression in offspring[J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2016, 46: 158-167.
- [23] 徐涛, 董柯梦, 王彤, 等. 甘丙肽及其受体在孕期应激大鼠新生子代前额叶皮层和海马脑区表达的性别差异[J]. *生殖医学杂志*, 2018, 27(6): 566-572.
- XU T, DONG KM, WANG T, et al. Gender difference of galanin and its receptors expression in prefrontal cortex and hippocampus in prenatal stress rat offspring[J]. *J Reprod Med*, 2018, 27(6): 566-572.
- [24] BALE TL. Sex differences in prenatal epigenetic programming of stress pathways[J]. *Stress*, 2011, 14(4): 348-356.
- [25] CLIFTON VL. Sexually dimorphic effects of maternal asthma during pregnancy on placental glucocorticoid metabolism and fetal growth[J]. *Cell Tissue Res*, 2005, 322(1): 63-71.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 王晓宇)

· 告知栏 ·

关于假冒《环境与职业医学》编辑和诈骗邮件的声明

近期发现有个人或机构通过电子邮件和微信冒用《环境与职业医学》编辑身份,以组稿或确认稿件信息名义,请求添加作者的微信;以稿件转让为由,广发邮件进行诈骗,涉及学术不端行为。此类行为严重侵犯本刊的学术声誉,我们对此表示深恶痛绝。本刊严正声明,《环境与职业医学》杂志是一本优秀的学术期刊,绝无此类买卖稿件等有损学术声誉的行为。希望广大作者和专家不要上当受骗。

另外,我们也特此郑重声明:本刊编辑不会以私人微信添加作者帐号,所有编辑均使用以 scdc.sh.cn 为后缀的邮箱,请作者务必注意甄别。

本刊网址: www.jeom.org; 微信公众号: 环境与职业医学; E-mail: jeom@scdc.sh.cn; 电话: 021-62084529!

提醒: 不要轻易点开网址链接,不要扫码或添加来路不明的微信号,不要向假冒个人或机构转账或发送稿件。如有疑问,请及时与编辑部沟通确认。

《环境与职业医学》编辑部

2021 年 11 月 25 日