

将应激科学实验转化为病理生理学教学实验的探索与思考

刘瑛¹, 涂自智¹, 张华莉¹, 王慷慨¹, 王念¹, 王浩¹, 邹江¹, 刘可¹, 管茶香², 周勇², 肖献忠¹

1. 中南大学湘雅医学院病理生理学系, 长沙, 410078

2. 中南大学湘雅医学院生理学系, 长沙, 410078

摘要: 应激是病理生理学的一个经典教学内容, 但目前尚未开设应激相关内容的实验教学。因此, 中南大学湘雅医学院病理生理学系结合最近科学研究进展, 将应激科学实验转化为病理生理学教学实验, 首次设计了“应激对小鼠行为及学习记忆能力的影响”实验。本实验采用足底电击法复制小鼠急性应激模型, 采用旷场实验和 Morris 水迷宫实验来观察急性应激对小鼠情绪行为及学习记忆功能的影响并探讨其机制。通过本实验的探索, 期望能够使应激的科研与教学有机结合, 切实提高病理生理学课程的教学效果。

关键词: 应激, 病理生理学, 科学实验, 实验教学

Thinking and Exploration of Stress Scientific Experiment Transformations into Pathophysiological Teaching Experiment

LIU Ying¹, TU Zi-zhi¹, ZHANG Hua-li¹, WANG Kang-kai¹, WANG Nian¹, WANG Hao¹, ZOU Jiang¹, LIU Ke¹, GUAN Cha-xiang², ZHOU Yong², XIAO Xian-zhong¹

1. Department of Pathophysiology, Xiangya School of Medicine, Central South University, Changsha 410078, China

2. Department of Physiology, Xiangya School of Medicine, Central South University, Changsha 410078, China

Abstract: Stress is a classic teaching content of pathophysiology, but teaching experiment related to stress has not opened yet. In order to transfer stress scientific experiments into pathophysiological teaching experiment, we firstly designed an experiment named *influence of stress on behavior, learning and memory ability of mice* according to recent scientific research progress. This experiment adopts the foot shock method to replicate mice acute stress model, performs open field test and Morris water maze test to observe the effects of acute stress on emotional behavior, learning and memory function of mice and to explore its mechanism. Through the exploration of this experiment, stress teaching is expected to be combined with scientific research, and the teaching effect of pathophysiology may be effectively improved.

Key words: Stress, Pathophysiology, Scientific experiment, Teaching experiment

投稿日期: 2015-07-01; 修回日期: 2015-08-15

通讯作者: 肖献忠, E-mail: xiaoxianzhong@csu.edu.cn

基金项目: 湖南省普通高校教学改革研究项目(湘教[2013]23号); 中南大学开放式精品示范课堂(张华莉); 中南大学教学改革研究项目(刘瑛); 中南大学教学改革研究项目(张华莉); 中南大学教学改革研究项目(肖献忠)

病理生理学是以人体机能为主要研究对象, 研究疾病发生、发展规律及其机制的科学^[1]。作为基础医学的一门主干课程, 实验教学是病理生理学教学的一个至关重要的组成部分。不断充实和完善病

理生理学实验教学内容，加强病理生理学实验教学与科研实践的结合，能够切实促进病理生理学教学的发展，为学生后续的临床课程学习及学术研究打下坚实的基础。

应激(stress)是指机体在受到各种内外环境因素及社会心理因素刺激时所出现的非特异性全身性代偿反应^[1]，这一内容是病理生理学教学的一个经典内容。但是，目前在国内病理生理学中应激的教学只限于由教师向学生介绍课本上的理论知识，而没有开设应激相关内容的实验教学。这种抽象单一的教学方式，不利于学生对现有知识的理解和扩展，更不利于培养学生的创新思维、学习主动性及科研素质。因此，能否开展应激的实验教学，怎样开展应激的实验教学，成为我们在教学中思考的一个重要问题。

近年来随着社会的发展、环境的变化、生活节奏的加快以及旧医学模式向社会—心理—生物医学模式的转变，应激与疾病的关系越来越受到人们重视。近年来国内外在应激方面的科学研究取得了显著进展，并建立了多种较好模拟人类应激状态的动物研究模型，如采用负重游泳的方法建立了疲劳应激模型^[2]，采用束缚应激的方法建立了不可逃避性心理应激模型^[3]等。这些模型采用疲劳、束缚、噪声、电击等刺激因素来模拟人们生活中无法避免的疲劳、拥挤、环境嘈杂、挫折等生活状态，从而诱发动物心理及生理应激反应。这些动物模型及研究方法的成功建立，为应激科研实验向教学实验的转化提供了良好的条件。

因此，我们在改进病理生理学实验教学的过程中，结合多项基础科学研究取得的进展及其成果，将应激科学实验转化为病理生理学实验教学，设计了“应激对小鼠行为及学习记忆能力的影响”这一实验，并已编写入全国高等教育医学数字化规划教材《病理生理学电子书包》。该教学实验的具体设计如下：

1 实验目的的设计

神经-内分泌反应是应激发生的中心机制；当机体受到强烈刺激时，神经-内分泌系统的主要变化为蓝斑-交感-肾上腺髓质系统及下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴的强烈兴奋，明显影响机体的情绪行为及学习记忆能力^[1]。为了使学生对应激的这一发生机制有一个直观感性的认识和理解，我们将这个实验的实验目的设计为：观察急性应激对小鼠行为及学习记忆能力的影响。

2 实验内容的设计

结合每次教学实验一般只有4~6个学时这一现实情况，本实验采用足底电击的方法复制小鼠急性应激模型，该模型容易操作，所用时间短，比较适合用于学生实验。旷场实验是评价实验动物在新异环境中自主行为、探究行为与紧张度的一种方法^[4,5]。Morris水迷宫是一种研究空间学习记忆的模型，反映动物的空间学习记忆功能^[6]。因此，我们在本实验中采用这两种方法来观察急性应激对小鼠情绪行为及学习记忆功能的影响并讨论其机制。

3 实验动物的选取

在实验动物的选择上，本实验选择了易于获得、价格便宜，并且经过大量科学研究证实能够取得理想预期结果的成年昆明品系小鼠，6~8周龄，雌雄各半，体重18~20g，按体重随机分为急性应激组 and 对照组。

4 实验方法和观察指标的设计

在这个实验中，我们采用的关键方法和技术有3个。

4.1 单一急性应激原足底电击

对应激组小鼠实施足底电击^[7]，交流电压20V，电流0.6mA，间隔15s刺激一次，每次持续时间30s，一共30次；对照组小鼠不接触实验应激原。小鼠经应激后立即进行后续实验。

4.2 旷场实验

将小鼠放置于自制旷场实验箱的中央格，然后用摄像系统记录其3min内的活动情况。水平活动得分：小鼠跨过1格则记为1分，若其沿斜线行走，则以每5cm记为1分；垂直活动得分：以小鼠双足离开旷场实验箱底部为标志，无论其站立多长时间，以其放下双足记为1分。每次实验后清理干净小鼠留在箱内的粪便。采用盲法，在不知道具体分组情况下，经3位观察者观察录像后评分，取平均值。

4.3 Morris水迷宫实验

包括定位航行实验和空间搜索实验。

(1) 定位航行实验: 将小鼠分别从水迷宫的四个象限面向池壁放入水中。每次训练时间为 2 min, 每只小鼠训练 8 次。记录小鼠从入水至找到平台的逃避潜伏期。逃避潜伏期越短, 说明其学习记忆能力越强。

(2) 空间搜索实验: 移走平台, 以第三象限作为入水点将应激组 (或对照组) 小鼠放入水中自由游泳, 记录 2 min 内小鼠在各个象限的游泳时间, 测定小鼠对原平台 (目标象限) 的记忆能力。小鼠在第一象限 (目标象限) 的时间越长, 说明其学习记忆能力越强。

上述方法操作简单, 不需要复杂的仪器设备, 能够保证教学实验的顺利进行。

5 结语

21 世纪是生命科学世纪, 病理生理学是生命科学研究的重要基础, 是生命科学研究的前沿阵地。病理生理学实验教学在培养大学生创新能力方面, 具有其他教学不可替代的重要地位和作用。结合大量的科学研究成果, 我们设计了“应激对小鼠行为及学习记忆能力的影响”实验, 期望通过该实验的开设, 提高病理生理学课程的教学效果, 激发学生的学习情趣和热情, 拓宽学生视野, 增加学生对病理生理学这门课程的热爱; 培养学生严谨的科学态度和科研能力, 为今后从事科研活动打下良好的基础; 同时提高病理生理学教师的业务水平, 使自身知识得到不断更新, 自身素质和各项能力得到不断完善。今后, 我们还要继续深化病理生理学实验教学改革, 对传统实验内容进行必要的筛选补充, 调整教学内容, 改革教学方法, 将

科研意识贯穿教学全过程。这是实现基础医学实验教学改革的必由之路, 也是培养医学生综合素质和创新能力, 顺应医学教育现代化的需要。

参考文献

- [1] 肖献忠. 病理生理学 [M]. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2013.
- [2] Pedreanez A, Arcaya J L, Carrizo E, et al. Forced swimming test increases superoxide anion positive cells and angiotensin II positive cells in the cerebrum and cerebellum of the rat [J]. Brain Res Bull, 2006, 71 (13): 18-22.
- [3] Kusnecov A W, Zhou D, Shurin M R, et al. Exposure to physical and psychological stressors elevates plasma interleukin 6; relationship to the activation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis [J]. Endocrinol, 2005, 133 (6): 2523-2530.
- [4] 戴琳, 杨春. 单纯心理应激对 SD 大鼠行为及髌突软骨组织结构影响的实验研究 [J]. 昆明医科大学学报, 2013 (9): 1-6.
- [5] 贾克然, 郭刚, 刘开云, 等. 单纯心理应激小鼠模型的建立及对行为、内分泌免疫功能的影响 [J]. 免疫学杂志, 2009, 25 (3): 329-332.
- [6] 陈亚静, 史建勋, 张冠雄, 等. 急性应激对小鼠空间学习记忆功能及脑内 GDNF 表达的影响 [J]. 科技信息, 2012 (9): 24-25.
- [7] 宋倩, 孔宏, 张亚楠, 等. 急性应激对小鼠空间学习记忆功能及海马和前脑皮层 c-Fos 蛋白表达的影响 [J]. 曲阜师范大学学报 (自然科学版), 2009, 35 (4): 89-92.