

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.11.009

冷刺激诱导的弱精子症大鼠模型肾上腺轴与甲状腺轴功能改变的研究*

童卓云 斯依提·阿木提 潘晓南 侯鹏程 刘文娟 努尔比亚·阿力甫 阿地力江·伊明[△]

(新疆医科大学基础医学院人体解剖学教研室 新疆 乌鲁木齐 830011)

摘要 目的:研究冷刺激诱导建立的弱精子症模型大鼠 HPA 轴与 HPT 轴功能改变,探讨其生殖生物学意义。**方法:**取 28 只 SPF 级性成熟雄性 SD 大鼠随机分为正常对照组(N 组,12 只)与冷刺激组(C 组,16 只)。造模结束前对大鼠一般情况包括精神状态、体重、核心体温、尿量等进行检测。23 周后通过精子功能的评定筛选弱精子症大鼠并建立弱精子症组(CA 组),同时取外周血清、HPA 轴、HPT 轴相关组织;ELISA 法和放射免疫法测定各组大鼠外周血清 HPA、HPT 轴相关激素水平,并在光镜下观察 HPA 轴和 HPT 轴相关组织形态学改变。**结果:**与 N 组相比,CA 组大鼠反应迟钝,活动能力降低,夹尾试验评分显著降低,核心体温及尿量升高,差异显著($P<0.05$)。血清激素结果表现为 CA 组 EPI 显著升高,T3/T4 比值亦显著升高,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。光镜下可见 N 组各组织形态正常,与 N 组相比,CA 组下丘脑室旁核神经细胞增生,排列紊乱;垂体细胞水肿,血窦不明显,嗜酸性细胞增多;肾上腺以皮、髓质水肿改变为主;甲状腺滤泡萎缩,上皮细胞增生。**结论:**冷刺激诱导建立的弱精子症大鼠模型可发生 HPA 轴功能改变,呈现慢性应激反应现象,提示,HPA 轴功能改变参与该模型弱精子症的发生发展过程。

关键词:冷刺激;弱精子症;HPA 轴;HPT 轴

中图分类号:R-33;Q492;R322.7 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2020)11-2048-06

The Study about Adrenaline and Thyroid Axis Function Changes in Rat Model of Asthenospermia Induced by Cold Stimulation*

TONG Zhuo-yun, Siyiti·Amuti, PAN Xiao-nan, HOU Peng-cheng, LIU Wen-juan, Nuerbiya·Alifu, Adilijiang·Yiming[△]

(Department of Human Anatomy, College of basic Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, 830011, China)

ABSTRACT Objective: To explore the changes of HPA axis and HPT axis in rats with asthenozoospermia induced by cold stimulation, and its reproductive biology. **Methods:** Twenty-eight SPF-grade mature male SD rats were randomly divided into normal control group (N group, 12 rats) and cold stimulation group (C group, 16 rats). Before the end of modeling, the general conditions of rats including mental state, body weight, core body temperature and urine volume were recorded. After 23 weeks, the spermatozoa function was evaluated and the asthenozoospermia group (CA group) was established. At the same time, peripheral serum, HPA axis and HPT axis related tissues were collected. Then the levels of HPA axis and HPT axis related hormones of rats were detected by ELISA and radioimmunoassay. The morphological changes of HPA axis and HPT axis related tissue were observed under optical microscope. **Results:** Compared with N group, the response of rats in CA group was dull and the activity ability was decreased. The score of tail clamping test decreased significantly, while the core body temperature and urine volume increased significantly ($P<0.05$). The results of serum hormones showed that EPI and T3/T4 ratio in CA group were significantly higher than those in N group ($P<0.05$). Under optical microscope, the morphology of each tissue in group N was normal. Compared with group N, the hypothalamic paraventricular nucleus nerve cells in CA group proliferated and arranged in disorder; pituitary cell edema, blood sinus was not obvious, Hiirthle cell increased; adrenal edema was mainly in cortex and medulla; thyroid follicles atrophied and epithelial cells proliferated. **Conclusions:** The rats with asthenospermia induced by cold stimulation had the changes of HPA axis function and had the chronic stress. It is suggested that the function changes of HPA axis are participate in the occurrence and development of asthenospermia in this model.

Key words: Cold stimulate; Asthenospermia; HPA axis; HPT axis

Chinese Library Classification(CLC): R-33; Q492; R322.7 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)11-2048-06

前言

据美国生殖医学委员会统计,2015 年全球不孕不育症发病率为 8%-15%,其中男性因素占 30%-40^[1]。而亚洲地区由男

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81760786);新疆维吾尔自治区"十三五"重点学科(高原学科)项目(2050205)

作者简介:童卓云(1993-),女,硕士研究生,研究方向:弱精子症的机制研究,电话:13139912300,E-mail: tongzy2020@163.com

[△] 通讯作者:阿地力江·伊明,男,博士,教授,博士生导师,研究方向:生殖疾病的基础研究与转化,

E-mail: adljym@126.com,电话:13999886213

(收稿日期:2020-02-23 接受日期:2020-03-18)

性独立因素导致的不孕不育达 37 %^[2]。男性生育力很大程度上取决于精子功能,包括精子浓度、精子活力及精子活率。以精子活力降低为特点的弱精子症已成为降低男性生育力的主要危险因素^[3]。目前,在关于冷刺激对精子功能影响的研究中,多数学者主要通过冷水浸没^[4,5]、短期冷暴露^[6]等急性干预方式进行动物模型方面的报道,但以冷环境作为致病因素,模拟环境对机体的影响,对大鼠进行长期慢性刺激,研究其精子功能改变的相关研究鲜有报道。故,本团队前期工作中模拟寒冷气候环境模式,以长期冷刺激暴露方法成功建立了弱精子症大鼠模型,在综合评价精子功能改变的基础上,从下丘脑-垂体-性腺(Hypothalamic-pituitary-gonadal, HPG)角度开展了机制研究,并发现长期的冷刺激暴露可引起以 E2 水平显著升高为主要特征的 HPG 轴功能的紊乱,同时呈现 HPG 轴相关组织的病理性改变^[7]。虽然 HPG 轴在精子功能的调节中发挥关键作用,但是 HPG 轴与下丘脑-垂体-肾上腺(Hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA)轴和下丘脑-垂体-甲状腺(Hypothalamic-pituitary-thyroid, HPT)轴共同构成体内的神经-内分泌调节整体,之间存在密切的联系,因此,为阐释长期冷刺激是否能够引发慢性应激反应或甲状腺功能变化,并影响 HPG 轴功能改变的。我们在前期工作的基础上,进一步分析了该模型行为模式的改变,并对长期冷刺激诱导的弱精子症大鼠模型的 HPA 轴和 HPT 轴相关激素与形态学改变进行了进一步检测与观察,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 SPF 级清洁性成熟雄性 SD 大鼠 28 只,体重 190 ± 10 g(新疆医科大学动物实验中心提供)。

1.1.2 主要仪器与试剂 大鼠皮质酮(Corticosterone, CORT)、肾上腺素(Epinephrine, EPI)、去甲肾上腺素(Noradrenaline, NA)ELISA 试剂盒(武汉华美科技有限公司);三碘甲状腺原氨酸(Triiodothyronine, T3)、甲状腺素(Thyroxine, T4)、游离三碘甲状腺原氨酸(Free Triiodothyronine, FT3)、游离甲状腺素(Free Thyroxine, FT4)、促甲状腺素(Thyroid stimulating hormone, TSH)放免试剂盒(北京北方生物技术研究所有限公司); γ 放射免疫计数器(科大创新股份有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与造模 28 只 SPF 级清洁性成熟雄性 SD 大鼠随机分为正常对照组大鼠(N 组, 12 只),冷刺激建模组(C 组, 16 只),适应性饲养 1 周后进入造模。造模方式如下:N 组:正常温度环境(22 ± 2 °C)饲养,喂以标准饲料;C 组:冷环境(4 ± 0.5 °C, 每日 10:00-18:00)饲养,喂以标准饲料;23 周后经精子功能检测,根据 WHO 关于弱精子症中精液参数的规定:前向运动精子 <32 %或前向运动精子 + 非前向运动精子 <40 %进行弱精子症大鼠精子评定,选弱精子症大鼠并建立冷刺激弱精子症组(CA 组, 8 只)。

1.2.2 一般情况 取材前对大鼠体重、毛发、痛觉反射(夹尾试验)、肛温、尿量进行监测,观察各组大鼠行为学变化。其中,夹尾试验评定大鼠痛觉反射情况:纱布包裹组织钳,采用适度的相同力度夹持大鼠尾部后 1/3 处,判断大鼠痛觉水平,以无反应评定为 1 分,回头为 3 分,其余为 2 分。

1.2.3 取材 造模结束后,大鼠称重麻醉打开腹腔,于腹主动脉采血并留取血清后 -80 °C 冻存备用。N 组、CA 组大鼠下丘脑、肾上腺、甲状腺用新鲜配置的 4 %甲醛固定。

1.2.4 外周血清相关激素水平检测 实验开始前将血清置于冰上解冻,并将试剂盒提前 30 分钟置于室温平衡。参照放射免疫检测试剂盒说明书检测 T3、T4、FT3、FT4、TSH 在血清中的含量;参照 ELISA 试剂盒说明书检测 CORT、EPI、NA 在血清中的含量。

1.2.5 大鼠下丘脑、肾上腺、甲状腺组织形态学观察 组织经 4 %甲醛固定后进行组织酒精脱水、二甲苯透明和 60 °C 浸蜡,常规石蜡包埋、切片。HE 染色,光镜下观察各组组织形态学改变。

1.3 统计分析

采用 SPSS17.0 软件处理实验数据,组间比较采用 t 检验,率的比较采用卡方检验。结果均以($\bar{x} \pm s$)表示,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

模型组大鼠毛发无光泽,喜扎堆,精神萎靡,探索行为少,反应敏感性减退。夹尾试验评分显著低于 N 组($P < 0.05$)。CA 组大鼠体重与 N 组相比有所降低,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。与 N 组相比,CA 组肛温显著升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$),同时尿量显著增多($P < 0.05$),如表 1。

表 1 各组大鼠一般情况($\bar{x} \pm s$)
Table 1 General condition of rats in each group($\bar{x} \pm s$)

	N	CA
Clip-Tail test(score)	2.17 $\pm$ 0.27	1.13 $\pm$ 0.35*
Rectal temperature(°C)	37.32 $\pm$ 0.06	37.76 $\pm$ 0.11*
Weight(g)	526.9 $\pm$ 17.04	517.6 $\pm$ 21.08
Urine Volume(mL/rat)	7.71 $\pm$ 0.74	10.81 $\pm$ 1.15*

Note: compared with group N, * $P < 0.05$.

2.2 大鼠外周血清肾上腺功能相关激素含量结果

与 N 组相比,CA 组 EPI 显著升高($P < 0.05$),CORT、NA 未见显著差异。

2.3 外周血清甲状腺功能相关激素含量结果

与 N 组相比,CA 组甲状腺功能相关激素改变未见显著差异,T3/T4 比值显著升高($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠外周血清肾上腺相关激素水平变化($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Changes of peripheral serum adrenaline-related hormones in rats($\bar{x} \pm s$)

	N	CA
CORT(ng/mL)	3.77± 0.50	5.94± 1.12
EPI(pg/mL)	16.28± 1.98	27.79± 3.01*
NA(pg/mL)	1880.28± 325.34	1666.74± 179.10

Note: compared with group N, * $P<0.05$.

表 3 大鼠外周血清甲状腺相关激素水平($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Levels of thyroid related hormones in peripheral serum of rats($\bar{x} \pm s$)

	N	CA
T3 (ng/mL)	0.25± 0.03	0.28± 0.03
T4 (ng/mL)	37.69± 1.98	32.13± 3.16
FT3(fmol/mL)	1.72± 0.18	1.37± 0.13
FT4(fmol/mL)	6.98± 0.16	7.69± 0.70
TSH(μ U/mL)	0.68± 0.16	0.71± 0.13
T3/T4	0.0066± 0.0005	0.0097± 0.0009*

Note: compared with group N, * $P<0.05$.

2.4 HPA 轴与甲状腺轴相关组织形态结构

神经细胞规则排列整齐。与 N 组相比,CA 组神经细胞增生,排列紊乱,以长梭形神经细胞为主。

2.4.1 下丘脑室旁核 N 组下丘脑室旁核镜下组织结构正常,

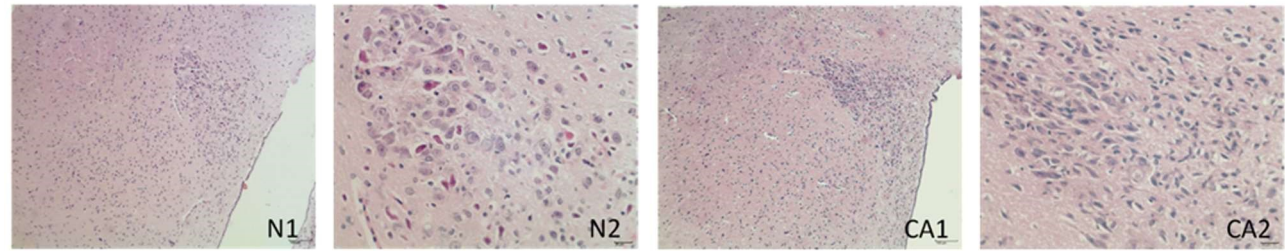


图 1 光镜下各组下丘脑室旁核 HE 染色结果

Fig.1 HE staining of Hypothalamus in rats with asthenospermia

N1: Hypothalamic paraventricular nucleus $\times 100$ in N group; N2: Hypothalamic paraventricular nucleus $\times 400$ in N group; CA1: Hypothalamic paraventricular nucleus $\times 100$ in CA group; CA2: Hypothalamic paraventricular nucleus $\times 400$ in CA group

2.4.2 垂体 N 组垂体组织结构正常,各细胞分布均匀;与 N 组相比,CA 组细胞水肿,血窦不明显,且嗜酸性细胞增多。

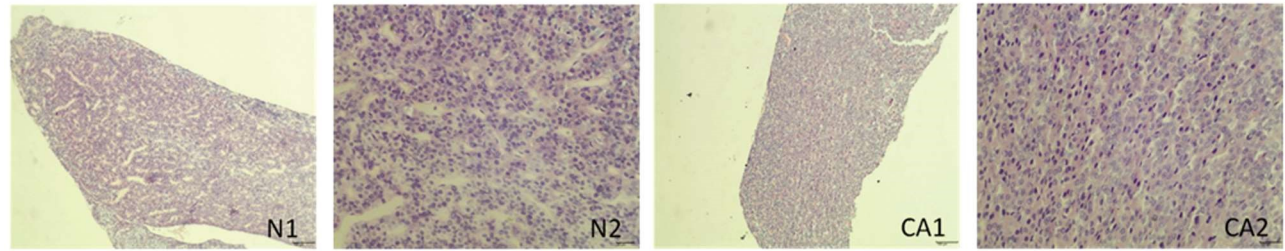


图 2 光镜下各组垂体 HE 染色结果

Fig.2 HE staining of Pituitary gland in rats with asthenospermia

N1: Pituitary gland $\times 100$ in N group; N2: Pituitary gland $\times 400$ in N group; CA1: Pituitary gland $\times 100$ in CA group; CA2: Pituitary gland $\times 400$ in CA group

2.4.3 肾上腺 N 组肾上腺光镜下组织形态结构正常,排列整齐。与 N 组相比,CA 组低倍镜下可见束状带排列紊乱,结构不清,可见毛细血管扩张;高倍镜可见束状带空泡样改变,髓质水肿,见图 3。

与 N 组相比,CA 组可见部分甲状腺滤泡萎缩、胶质排空,上皮细胞增生。

2.4.4 甲状腺 N 组甲状腺光镜下可见甲状腺滤泡富含胶质。

冷环境可显著降低哺乳动物生殖机能^[9],目前,冷环境诱导

3 讨论

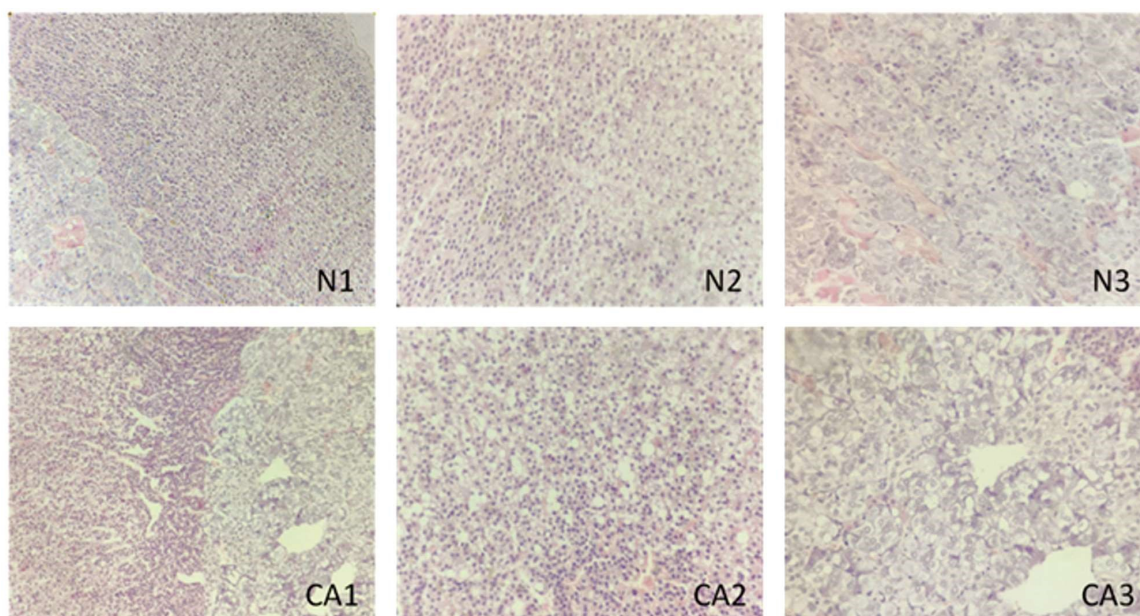


图3 光镜下各组肾上腺 HE 染色结果

Fig.3 HE staining of Adrenal gland in rats with asthenospermia

N1: Adrenal gland $\times 100$ in N group; N2: Adrenocortical $\times 400$ in N group; N3: Adrenal medulla $\times 400$ in N group; CA1: Adrenal gland $\times 100$ in CA group; CA2: Adrenal cortex $\times 400$ in CA group; CA3: Adrenal medulla $\times 400$ in CA group;

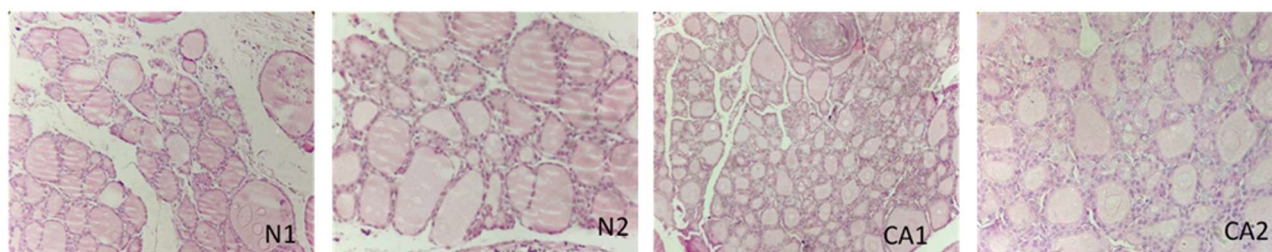


图4 光镜下各组甲状腺 HE 染色结果

Fig.4 HE staining of Thyroid gland in rats with asthenospermia

N1: Thyroid gland $\times 100$ in N group; N2: Thyroid gland $\times 400$ in N group; CA1: Thyroid gland $\times 100$ in CA group; CA2: Thyroid gland $\times 400$ in CA group

的大鼠模型的研究中普遍认为,冷刺激可显著降低大鼠附睾尾精子活力。究其原因,有学者认为是由短期冷环境暴露使能量自生殖发育转移至代谢优先引起生殖抑制^[6],或是因冷水浸泡导致的睾丸、附睾抗氧化失衡而削弱精子功能^[9],亦或是冷水浸泡引发急、慢性应激反应激活凋亡途径干扰生殖机能^[4]。然而,虽然冷环境暴露与冷水浸泡都通过增加血管收缩、代谢热产生和增加交感神经活动发挥作用,但研究表明,浸入 5℃ 的水中可能会在数小时内危及生命,而暴露于 0 至 5℃ 的冷环境中可存活数天^[10]。由此可见,冷刺激干预方式的不同,弱精子症的发展过程或结局可能存在一定差别,同时环境因素带来的影响更为长久且广泛。本研究前期通过 4±0.5℃ 冷环境刺激 23 周后成功建立弱精子症大鼠模型,精子活力、精子活率均显著降低,较好的拟合了弱精子症的发病机理。目前关于冷刺激如何诱导产生弱精子症的研究较少,其发病机制尚无较为系统的阐述,因此,通过多角度研究冷刺激诱导产生的弱精子症机制研究便尤为重要。

目前的研究中认为,处于慢性应激的大鼠具有以下表现:(1)行为模式改变,包括活动能力降低等抑郁样表现^[11]。(2)HPA 轴激活。此外,有研究报道,慢性应激反应还可引起大鼠

核心体温(肛温)升高^[12],痛觉迟钝^[13]及体重降低。本研究结果中大鼠的一般情况可以反应出模型组大鼠存在反应迟钝(痛阈降低)、倦怠少动(喜扎堆、尾部悬挂时反应、探索行为减少)、肛温增加等慢性应激反应改变。此外,本研究通过检测各组大鼠外周血清中 HPA 轴及 HPT 轴相关激素含量发现,CA 组 EPI 显著升高($P<0.05$),CORT 虽然较 N 组明显升高,但经统计学处理后,可见组间差异无统计学意义($P>0.05$),可能和样本含量有一定的关系,同时可见 NA 在 CA 组与 N 组织间亦无显著性差异($P>0.05$);甲状腺功能相关激素变化也无显著性差异($P>0.05$)。HPA 轴受下丘脑室旁核调控,分泌促肾上腺皮质激素释放激素作用于垂体,启动应激状态下一系列内分泌改变。除此之外,HPT 轴相关激素同样参与应激反应时机体的全身性反应^[14],与 N 组相比,CA 组下丘脑室旁核可见神经细胞增值及形态发生改变,同时垂体中嗜碱性细胞的减少,与 N 组相比,CA 组肾上腺束状带可见空泡变性,网状带较 N 组增宽且充血,髓质水肿;甲状腺上皮呈立方上皮略增厚,部分胶质排空明显。结果表明,该模型属于由冷刺激引发的冷应激性大鼠模型,同时,肾上腺功能的紊乱与该模型中大鼠弱精子症的发生密切相关。关于 HPT 轴而言,虽 CA 组甲状腺功能相关激素含量无

明显差异,但甲状腺形态改变说明 CA 组甲状腺滤泡分泌较为活跃。机体内所有 T4 及 20 % T3 由甲状腺滤泡产生,而大部分 T3 由 T4 转化而来。研究报道^[6]啮齿动物暴露于冷环境 T3 水平急性应激期显著增高,慢性应激期降低。因此,本研究结果中,CA 组较 N 组的 T3 升高,T4 降低未见显著性差异可能与冷刺激时间长短及样本含量有关。但 T3/T4 较 N 组显著升高,具体原因可能和 T3 向 T4 转变增多相关^[6],提示,该模型甲状腺功能亦发生一定改变,并且甲状腺功能改变在冷刺激诱导的大鼠弱精子症模型形成过程中也发挥一定作用。肾上腺作为内分泌腺,不仅产生盐皮质激素及少量雄激素,而且通过调节分泌产生糖皮质激素(CORT)、EPI 成为应激反应时的主要内分泌腺^[15]。同时,HPA 轴与 HPG 轴可分泌相关激素产生相互作用^[16,17]。而在前期的研究中,该模型大鼠黄体生成素、卵泡刺激素水平降低,这与国外研究的应激大鼠模型结果一致^[18],因此,我们认为应激反应在该模型大鼠弱精子症的形成过程中发挥首要作用,并由此影响大鼠神经-内分泌整体功能改变。

应激反应是机体处于特殊环境时,为“战斗”或“撤退”而作出的全身性反应。应激具有双相作用,包括急性应激源通过儿茶酚胺和糖皮质激素以及局部产生的免疫介质介导来激活获得性免疫应答。然而,在数周内长期暴露于同一应激源会产生相反的效果并导致免疫抑制^[19]。CORT 作为应激最经典的激素之一^[20],一般在应激发生的初期分泌增多以对抗机体处于特殊环境带来的全身性变化。但随着应激周期的延长,为抑制 CORT 持续升高而引起的自身损伤,CORT 在慢性应激中浓度降低^[21,22]。本研究结果中,CA 组 CORT 与 N 组相比无显著差异,与文献报道^[23,24]结果相似,其未在慢性应激人群及动物中观察到 CORT 的显著性改变,可能与应激周期长、HPA 轴反应性降低有关。报道称,应激初期,EPI 与 NA 大量分泌参与相应的生理反应^[25],而冷刺激时血管在 EPI 作用下内脏器官供血减少^[26]可能作为长期反复或高强度应激情况下产生弱精子症的原因之一。同时,EPI 升高与慢性应激反应有较强的相关性^[24],一方面,慢性应激反应可激活细胞凋亡致 Leydig 细胞的损伤和丧失^[27];另一方面,慢性冷应激会显著改变氧化还原状态^[9],使易受氧化应激的生殖细胞和精子造成损伤^[28]。此外,应激早期升高的 CORT 激活糖皮质激素受体,介导应激过程中精子功能损伤^[29],同时,升高的 CORT 抑制促性腺激素释放激素,引起黄体生成素与黄体生成素降低^[17,18],而升高的雌二醇进一步增强 HPA 轴的反应性^[30]。这与我们前期研究中 CA 组大鼠 HPG 轴的改变一致,说明冷刺激诱导建立的弱精子症大鼠模型 HPG 轴功能的改变与慢性应激反应中 HPA 功能改变相关。因此,我们认为,在冷刺激诱导弱精子症大鼠模型的形成过程中,长期冷刺激导致的冷应激反应是最为关键的,本研究中弱精子症大鼠诱发因素为冷刺激诱导的冷应激反应,结合应激反应可引起 HPG 轴相关激素水平的改变^[18],可以认为该模型大鼠 HPG 轴的改变与 HPA 轴激活有关,并因此导致 HPA 轴、HPG 轴、HPT 轴功能紊乱是弱精子症形成的核心内分泌机制,但在该模型中,冷刺激对精子功能的影响是产生直接损伤结果还是通过慢性应激反应发挥作用尚不清楚。

综上所述,冷刺激诱导的弱精子症大鼠模型其 HPA 轴及 HPT 轴功能出现不同程度紊乱并以 HPA 轴功能改变较为显

著,该模型大鼠形成弱精子症与二者功能改变而引发的慢性应激反应相关,同时结合前期研究,HPA 轴、HPG 轴、HPT 轴整体发生内分泌功能紊乱也可作为冷刺激诱导的弱精子症大鼠模型的发生机制之一,但是,在长期冷刺激条件下,慢性应激反应具体通过何种分子途径影响精子功能还需进一步研究。

参考文献(References)

- [1] Medicine, A.S.f.R. Diagnostic evaluation of the infertile female: a committee opinion[J]. Fertility Sterility, 2015, 103(6): 44-50
- [2] Agarwal, A., A. Mulgund, A. Hamada, et al. A unique view on male infertility around the globe[J]. Reproductive Biology & Endocrinology, 2015, 13(1): 1-9
- [3] Virtanen, H.E., N. Jørgensen, and J. Toppari Semen quality in the 21 (st) century[J]. Nature Reviews Urology, 2017, 14(2): 120
- [4] Juárez-Rojas, A.L., M. García-Lorenzana, A. Aragón-Martínez, et al. Intrinsic and extrinsic apoptotic pathways are involved in rat testis by cold water immersion-induced acute and chronic stress [J]. Systems Biology in Reproductive Medicine, 2015, 61(4): 211-221
- [5] E., E.J., H.D. L., S. A., et al. Cold-water immersion blunts and delays increases in circulating testosterone and cytokines post-resistance exercise[J]. Eur J Appl Physiol, 2019, 119(8): 1901-1907
- [6] Qiang, Z., L.Yi, Z. Xue-Ying, et al. Cold exposure inhibits hypothalamic Kiss-1 gene expression, serum leptin concentration, and delays reproductive development in male Brandt's vole (*Lasiopodomys brandtii*) [J]. Int J Biometeorol, 2015, 59(6): 679-691
- [7] 童卓云, 斯依提·阿木提, 刘文娟, 等. 冷刺激诱导弱精子症大鼠模型的建立与性腺轴改变的研究[J]. 新疆医科大学学报, 2020 [Epub ahead of print]
- [8] Benderlioglu, Z., J. Eish, Z.M.Weil, et al. Low temperatures during early development influence subsequent maternal and reproductive function in adult female mice [J]. Physiology & Behavior, 2006, 87 (2): 416-423
- [9] García-Díaz, E.C., L.E. Gómez-Quiroz, E. Arenas-Ríos, et al. Oxidative status in testis and epididymal sperm parameters after acute and chronic stress by cold-water immersion in the adult rat [J]. Systems Biology in Reproductive Medicine, 2015, 61(3): 1-11
- [10] Paal, P., H. Brugger, G. Kaser, et al. Surviving 6 days in a crevasse[J]. Lancet, 2013, 381(9865): 506
- [11] Scheich, B., K. Csekő, é. Borbély, et al. Higher susceptibility of somatostatin 4 receptor gene-deleted mice to chronic stress-induced behavioral and neuroendocrine alterations [J]. Neuroscience, 2017, 346: 320-336
- [12] A., H.K., J. P., N.R. G., et al. Surface temperature elevated by chronic and intermittent stress[J]. Physiol Behav, 2018, 191: 47-55
- [13] 徐秋颖, 韩佩玉. 肠易激综合征慢性轻度不可预见性应激联合脾胃湿热动物模型的建立及评价 [J]. 湖南中医杂志, 2015, 31(6): 157-159
- [14] 肖桃元, 可金星, 艾国平, 等. 创伤应激大鼠甲状腺肾上腺皮质形态学研究[J]. 第三军医大学学报, 2004, 26(13): 1130-1132
- [15] Ashley, Russell, Jeffrey, et al. Factors promoting vulnerability to dys-regulated stress reactivity and stress-related disease [J]. Journal of Neuroendocrinology, 2018, 30(10): e12641
- [16] Phumsatitpong, Chayarnom, Moenter, et al. Estradiol-Dependent

- Stimulation and Suppression of Gonadotropin-Releasing Hormone Neuron Firing Activity by Corticotropin-Releasing Hormone in Female Mice[J]. *Endocrinology*, 2018,159(1): 414-425
- [17] Cates, P.S., X.F. Li, et al. The Influence of 17 β -oestradiol on Corticotrophin-releasing Hormone Induced Suppression of Luteinising Hormone Pulses and the Role of CRH in Hypoglycaemic Stress-induced Suppression of Pulsatile LH Secretion in the Female Rat [J]. *Stress: The International Journal on the Biology of Stress*, 2004, 7(2): 113-118
- [18] Kirby, E.D., A.C. Geraghty, T. Ubuka, et al. Stress increases putative gonadotropin inhibitory hormone and decreases luteinizing hormone in male rats [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(27): 11324-11329
- [19] Dhabhar, F.S., W.B. Malarkey, E. Neri, et al. Stress-induced redistribution of immune cells-From barracks to boulevards to battlefields: A tale of three hormones - Curt Richter Award Winner [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2012, 37(9): 1345-1368
- [20] Wu, T.C., H.-T. Chen, H.-Y. Chang, et al. Mineralocorticoid receptor antagonist spironolactone prevents chronic corticosterone induced depression-like behavior [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2013, 38(6): 871-883
- [21] Girotti, M., T.W. Pace, R.I. Gaylord, et al. Habituation to repeated restraint stress is associated with lack of stress-induced c-fos expression in primary sensory processing areas of the rat brain [J]. *Neuroscience*, 2006, 138(4): 1067-1081
- [22] G, G., T. T, J. M, et al. psychophysiological correlates of organizational change and threat of unemployment among police inspectors [J]. *Integr Physiol Behav Sci*, 1999, 34(1): 30-42
- [23] Irie, M., A. Tsutsumi, I. Shioji, et al. Effort-reward imbalance and physical health among Japanese workers in a recently downsized corporation[J]. *Int Arch Occup Environ Health*, 2004, 77(6): 409-417
- [24] 李军杰. 慢性应激与血压、血糖、血脂、血清皮质醇、肾上腺素、去甲肾上腺素和 5-HTTLPR 的关系[D]. 中国人民解放军军医进修学院, 2010
- [25] McEwen, B.S. Central effects of stress hormones in health and disease: Understanding the protective and damaging effects of stress and stress mediators [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2008, 583(2-3): 174-185
- [26] Johnson, J.M. Mechanisms of vasoconstriction with direct skin cooling in humans[J]. *American Journal of Physiology Heart & Circulatory Physiology*, 2007, 292(4): 1690-1691
- [27] Hou, G., W. Xiong, M. Wang, et al. Chronic Stress Influences Sexual Motivation and Causes Damage to Testicular Cells in Male Rats [J]. *Journal of Sexual Medicine*, 2014, 11(3): 653-663
- [28] Jorge, P. Motility, viability, and calcium in the sperm cells [J]. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 2014, 60(2): 65-71
- [29] P., Z., W.X., Y.W., et al. Mechanisms of Stress-Induced Spermatogenesis Impairment in Male Rats Following Unpredictable Chronic Mild Stress (uCMS)[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(18): 4470-4486
- [30] Handa, R.J. and M.J. Weiser Gonadal Steroid Hormones and the Hypothalamo-Pituitary-Adrenal Axis[J]. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 2013, 35(2): 197-220

(上接第 2083 页)

- [22] Lee JJ, Pedley A, Hoffmann U, et al. Longitudinal Associations of Pericardial and Intrathoracic Fat with Progression of Coronary Artery Calcium (from the Framingham Heart Study)[J]. *Am J Cardiol*, 2018, 121(2): 162-167
- [23] Walker ME, Matthan NR, Lamon-Fava S, et al. A Western-Type Dietary Pattern Induces an Atherogenic Gene Expression Profile in the Coronary Arteries of the Ossabaw Pig [J]. *Curr Dev Nutr*, 2019, 3(5): nzz023
- [24] Maksymets T, Sorochka M, Bondarenko O, et al. Comparison of metabolic profile of obese non-diabetic patients with coronary artery disease depending on atorvastatin dose[J]. *Wiad Lek*, 2019, 72(5 cz 1): 846-850
- [25] 李健楠, 刘臣, 周鹏, 等. 联合应用阿司匹林和替格瑞洛的冠心病患者发生出血事件的临床观察 [J]. *中国循环杂志*, 2018, 33(9): 861-863
- [26] 胡量子, 肖莉. 银丹心脑通软胶囊对不稳定性心绞痛患者血脂的影响[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2011, 13(6): 561
- [27] 韩莹, 冯力, 李明星, 等. 替格瑞洛对冠心病血小板药物抵抗患者的治疗作用[J]. *中国老年学杂志*, 2014, 34(9): 2393-2394
- [28] Thondapu V, Kurihara O, Yonetsu T, et al. Comparison of Rosuvastatin Versus Atorvastatin for Coronary Plaque Stabilization [J]. *Am J Cardiol*, 2019, 123(10): 1565-1571
- [29] 朱勇, 张美春, 高孟秋, 等. 替格瑞洛与氯吡格雷对冠心病患者冠状动脉介入术后炎症因子的影响 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2016, 32(14): 1257-1260
- [30] 邢寻静, 秦玲, 唐明龙, 等. 替格瑞洛和氯吡格雷在老年冠心病患者抗血小板治疗中有效性及安全性的 Meta 分析 [J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2019, 45(1): 123-129