

不同研究条件对BALB/C小鼠强迫游泳实验的影响

乔向阳¹,王晓英²,刘宏云¹

(1.西安市第九医院新丰精神病院,陕西 西安 710004;

2.西安市东方医院精神科,陕西 西安 710043)

【摘要】 目的 研究不同条件对BALB/C小鼠强迫游泳实验的影响,对该品系小鼠抑郁模型的敏感性、有效性、可靠性进行探索。方法 将不同性别、体重相近的BALB/C小鼠放置在相同的饲养、实验环境下,通过设置不同研究参数(昼夜和水温),对强迫游泳行为进行观察分析。结果 ①雌雄小鼠间的不动时间差异无统计学意义,然而雄性小鼠的阳性结果数多于雌性;②在昼夜节律变化的强迫游泳试验中BALB/C小鼠白天的不动时间显著长于夜间的不动时间;③BALB/C小鼠在22℃水温的不动时间显著长于在12℃、32℃水温的不动时间。结论 为增加强迫游泳实验的敏感性、可靠性,应选择雄性BALB/C小鼠在白天进行试验,在22℃水温下更容易产生抑郁样行为。

【关键词】 BALB/C小鼠;强迫游泳实验;性别;昼夜节律;水温

【中图分类号】 R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2012)02-024-03

Effect of different conditions on forced swimming test in BALB/C Mice. QIAO Xiang-yang¹, WANG Xiao-ying², LIU Hong-yun¹. 1. Xinfeng Mental Health Center of Xi'an Railway Hospital, Xi'an 710004, Shaanxi, CHINA; 2. Dongfang Hospital of Xi'an City, Xi'an 710004, Shaanxi, CHINA

【Abstract】 Objective To study the effect of different conditions on forced swimming test in BALB/C mice, and to provide guidance to enhance the sensitivity, validity and reliability of mice model of depression. **Methods** The immobility time of BALB/C mice under different conditions (circadian rhythm, water temperature) were investigated. **Results** The immobility time of BALB/C mice during the daytime is significantly longer than that at night. The differences of the immobility time between male and female mice showed no statistically significant difference, but positive results in male mice was significantly more than that in female mice. The immobility time under water temperature of 22℃ is significantly longer than that under water temperature of 12℃ or 32℃. **Conclusion** To increase the sensitivity and reliability, the forced swimming test should be taken during the daytime in male BALB/C mice. BalB/C mice are more prone to depression under water temperature of 22℃.

【Key words】 BALB/C mice; Forced swimming test; Gender; Circadian rhythm; Water temperature

抑郁症动物模型有着与人类抑郁症较高的相似性,被广泛用于抑郁症的基础与临床研究^[1-2]。自从20世纪70年代Porsolt等设计并应用强迫游泳实验研究药物的抗抑郁效应以来,作为一种快速、简便,具有较高可信度的动物模型,强迫游泳试验被广泛应用于抗抑郁药的筛选和评价以及抑郁症机制的研究中^[3-4]。但是,目前实验方法学和文献对小鼠强迫游泳的实验条件的报道并不统一。以往的研究表明:众多因素例如性别、品系和实验装置都可能影响小鼠在强迫游泳模型中的表现,这给后续研究者带来很大的不便。为此,本研究通过选择近交系(BALB/C)小鼠对不同性别、昼夜间、不同水温条件下强迫游泳行为的观察,深入探讨性别、昼夜节律以及水温等因素对基础状态下小鼠强迫游泳模型的影响,为后续实验提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 BALB/C小鼠共88只,其中雌

性32只,雄性56只,每4只小鼠同笼饲养。小鼠随机进行分组,每8只为一组,各组间的小鼠体重差异均无统计学意义。饲养条件:室温(22±1)℃;日光灯采光,光暗周期12/12(光照时间为7:00 a.m.~19:00 p.m.);动物自由获取食物和水。实验动物由西安交通大学医学院动物中心提供。

1.2 实验方法 实验前5 d,实验者每天抓摸小鼠6 min使其适应搬弄和触摸。强迫游泳实验前将小鼠放入实验室适应30 min。强迫游泳实验的时间为:白天8:30~11:30,夜间:20:30~23:30。实验时,将小鼠放入缸底直径15.8 cm、高24.5 cm、水深10 cm的透明有机玻璃缸中,水温分别取(12±1)℃、(22±1)℃、(32±1)℃,每缸1只,缸周围用不透明铁框隔离。对小鼠在缸中游泳情况进行摄像,共6 min。实验结束后观察并记录后4 min内小鼠的累计不动时间。不动时间是指小鼠在水中停止挣扎呈漂浮状态,或者仅

有细小的肢体运动以保持头部在水面上。每只动物实验结束后擦干小鼠并换水。对不同性别、水温及昼夜间小鼠的不动时间进行比较时,只保证单一变量,其他非研究因素均相同。

1.3 统计学方法 应用SPSS13.0软件包进行数据分析,采用t检验进行独立样本均数间的两两比较,采用One-Way ANOVA以及Bonferroni检验进行三个独立样本均数间的比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 性别对小鼠强迫游泳实验结果的影响 体重相近BALB/C小鼠在保证昼夜节律、水温等其他因素相同的情况下,进行强迫游泳实验,结果表明雌雄小鼠之间不动时间差异无统计学意义($P > 0.05$),见图1。

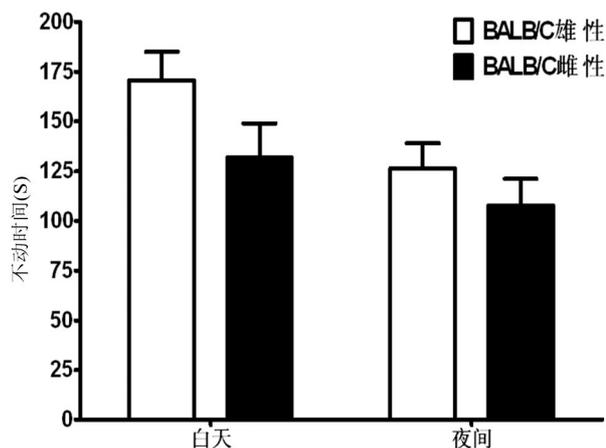


图1 性别对BALB/C小鼠强迫游泳实验不动时间的影响

2.2 昼夜节律对BALB/C小鼠强迫游泳实验结果的影响 体重无差异的BALB/C雄鼠和雌鼠在其他因素相同的情况下,分别在昼夜进行强迫游泳实验,结果发现BALB/C雄鼠白天的不动时间明显长于夜间($P < 0.05$),见图2。

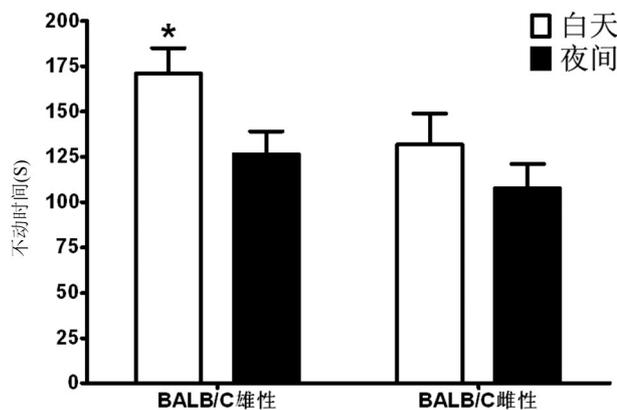


图2 昼夜节律对BALB/C小鼠强迫游泳实验不动时间的影响

注: *表示白天和夜间的平均不动时间差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 水温对小鼠强迫游泳实验结果的影响 保

证其他因素相同的情况下,对于体重相近的BALB/C雄鼠在晚上进行的、不同水温条件下强迫游泳的实验结果表明:水温对BALB/C雄性小鼠的不动时间有显著影响($P < 0.05$)。BALB/C雄性小鼠在22℃水温的不动时间长于其在12℃、32℃水温的不动时间,见图3。

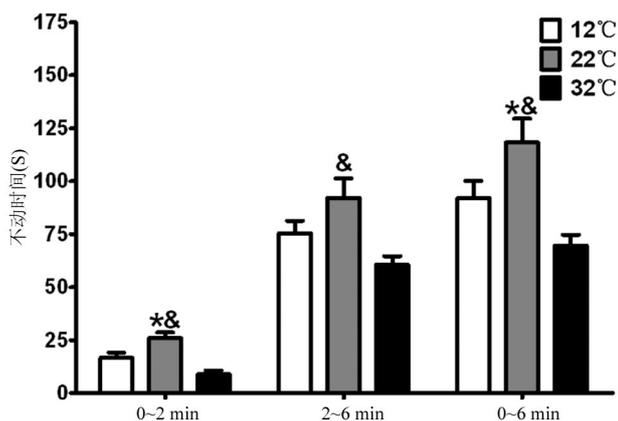


图3 水温对小鼠强迫游泳实验不动时间的影响。

注: 其中*表示12℃和22℃水温下BALB/C小鼠不动时间差异有统计学意义($P < 0.05$), &表示32℃和22℃水温下小鼠不动时间差异有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论

小鼠强迫游泳实验时,小鼠被迫在一个相对局限的空间内游泳,在一定时间内经历不断泳动试图逃生到漂浮不动放弃逃脱(即“行为绝望”)的外显行为类似于人类抑郁症的临床表现^[5]。尽管强迫游泳实验被广泛应用于抑郁症的基础研究以及抗抑郁效应的评价,然而到目前为止,各个实验室的实验条件标准并不统一,为了增强抑郁小鼠行为的敏感性、有效性和可靠性,需要考虑的因素很多。本实验采用的10 cm水深既能够保证小鼠的后爪能够刚刚接触水底又不能使其支撑住身体,这样的设计在保证动物身体平衡的条件下避免了溺水现象的出现。如果想深入研究小鼠游泳和爬壁时间,可以适当增加玻璃缸的直径和水深^[6]。另外,实验中应保证各组间小鼠的年龄无明显差异,年龄这一变量可用体重来间接反映。有研究表明青年小鼠与老年小鼠间的不动时间差异有统计学意义,且对抗抑郁药的敏感性也有很大不同^[6]。保证环境安静也是强迫游泳实验所必需,实验小鼠之间宜用不透明铁框相隔,未实验的小鼠应与实验小鼠隔离,每次实验完毕均应换水并清洗玻璃缸,这些措施可以有效避免环境因素对实验结果的影响^[7]。除此以外,有研究表明限制动物饮食以及饲养方式对小鼠强迫游泳行为均有一定影响^[8]。

本次实验选择水温、昼夜节律和性别作为主要研究因素,观察它们对强迫游泳实验基础数据的影响。

本研究发现BALB/C小鼠在不同水温下其不动时间有明显的差异。12℃水温下小鼠的抑郁行为出现的最早,这可能是由于低温会抑制小鼠的中枢神经系统,同时小鼠为了保持体温的稳定会尽量减少代谢,反映为在水中较早出现抑郁样行为^[6]。成年小鼠在生理情况下体温保持37℃~39℃,而环境温度改变时,动物体温也会相应进行调节。在22℃水温下,小鼠的不动时间明显长于在32℃水温下的不动时间。这可能是因为32℃与小鼠生理体温相近,对小鼠的刺激较小,不动时间也相对较短。

本研究结果还表明,在没有干预因素的状态下,同品系中雄鼠的阳性结果明显多于雌鼠。以往的研究也发现使用不同性别的动物会对强迫游泳实验有一定的影响。丙咪嗪和帕罗西汀对雄鼠和雌鼠都具有抗抑郁效应,不过所需剂量有差异^[9]。FVB雌鼠较雄鼠在同样条件下漂浮时间更短^[10]。究其原因,可能是由于雌鼠相比雄鼠而言有着更为复杂的生理周期,且易受该周期的影响。雌鼠的生理周期对实验结果产生的干扰,使得实验条件的单一变量对实验的结果影响增大。本研究提示:要使强迫游泳的结果更加灵敏、稳定可靠,宜选择雄鼠进行实验。

小鼠属于啮齿类夜行性动物,神经内分泌因素导致其在白天的活动度明显少于夜间。然而,以往生物节律因素对小鼠强迫游泳行为的影响存在争议。有研究表明C3H/Hen小鼠在中午的强迫游泳不动时间明显比早上和下午长^[11]。而BALB/C小鼠和C57BL/6J小鼠在中午、初夜和午夜的不动时间无明显差异^[12]。根据以往的研究结果结合本次实验发现认为,昼夜节律对小鼠会产生一定影响,小鼠白天的不动时间明显长于夜间的不动时间,在白天小鼠更容易产生抑郁样行为。昼夜节律对小鼠强迫游泳实验的影响程度因小鼠品系不同而异。要增加小鼠强迫游泳的灵敏性,宜在白天进行实验。

综上所述,尽管强迫游泳实验有一定的局限性,并受到多种因素的影响,但作为一种简单易行的抑郁

症研究和抗抑郁药筛选的动物模型仍具有很强的应用价值。本实验针对影响小鼠强迫游泳行为的昼夜节律、性别、以及水温等主要因素进行了一些有益的探索,后续还需研究品系间的差异。

参考文献

- [1] 王玮文,邵枫,刘美,等.慢性应激损害大鼠信号逆学习能力:一种新的T型水迷宫检测方法[J].中国神经精神疾病杂志,2009,35(1):43.
- [2] 刘永峰,闵苏,董军,等.无抽搐电休克治疗大鼠抑郁症与海马氨基酸通路的关系[J].中国神经精神疾病杂志,2009,35(4):239-240.
- [3] Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments [J]. Nature, 1977, 266: 730-732.
- [4] 杨福中,施慎逊.强迫游泳实验研究应用及进展[J].上海精神医学,2009,21(3):188-190.
- [5] 马行,库宝善,姚海燕,等.对抑郁模型小鼠强迫游泳实验方法的探讨[J].徐州医学院学报,2005,25(3):230-233.
- [6] Petit-Demouliere B, Chenu F, Bourin M. Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity [J]. Psychopharmacology (Berl), 2005, 177: 245-255.
- [7] 吴俊芳,刘恣.现代神经科学研究方法[M].北京:中国协和医科大学出版社,2006:973-974.
- [8] Cryan JF, Valentino RJ, Lucki I. Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test [J]. Neurosci Biobehav Rev, 2005, 29: 547-569.
- [9] Voikar V, Koks S, Vasar E, et al. Strain and gender differences in the behavior of mouse lines commonly used in transgenic studies [J]. Physiol Behav, 2001, 72: 271-281.
- [10] Alonso SJ, Castellano MA, Afonso D, et al. Sex differences in behavioral despair: relationships between behavioral despair and open field activity [J]. Physiol Behav, 1991, 49: 69-72.
- [11] Dubocovich ML, Mogilnicka E, Areso PM. Antidepressant-like activity of the melatonin receptor antagonist, luzindole (N-0774), in the mouse behavioral despair test [J]. Eur J Pharmacol, 1990, 182: 313-325.
- [12] Raghavendra V, Kaur G, Kulkarni SK. Anti-depressant action of melatonin in chronic forced swimming-induced behavioral despair in mice, role of peripheral benzodiazepine receptor modulation [J]. Eur Neuropsychopharmacol, 2000, 10: 473-481.

(收稿日期:2011-07-25)