论著

文章编号:1000-5404(2010)05-0414-04

# 慢性强迫游泳抑郁模型大鼠类 P300 电位的变化

高 东[1,2],韩明飞[1],郑 重[1],蒋晓江[2],周华东[2],孙学礼[1] (610041 成都,四川大学华西医院心理卫生中心[1];400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所神经内科[2])

**[摘要]** **目的** 探讨大鼠慢性强迫游泳抑郁模型类 P300 电位改变及其与行为变化的关系。**方法** 将 40 只 SD 雄性大鼠均分为 4 组:强迫游泳 7 d 模型组(S1 组)、强迫游泳 14 d 模型组(S2 组)和 2 组对照组(C1 组、C2 组)。观察大鼠体质量、旷场实验和液体消耗实验等行为学指标。在麻醉状态下采用听觉 oddball 模式刺激诱发大鼠类 P300 电位,测定 N1、N2、P3 潜伏期和 P3 波幅。对大鼠类 P300 电位变化和行为学检测指标进行相关性分析。**结果** 模型组大鼠与对照组相比体质量增长率降低($F=253.60$, $P<0.01$),蔗糖水摄入率下降($F=128.38$, $P<0.01$),旷场实验中水平得分($F=124.73$, $P<0.01$)和垂直得分($F=41.09$, $P<0.01$)减少,修饰次数($F=15.04$, $P<0.01$)增加。与对照组比较,S1 组和 S2 组 P3 潜伏期显著延长[S1 组:(469.7±30.69)ms,S2 组:(498.9±25.54)ms,C1 组:(389.6±49.43)ms,C2 组:(378.5±39.77)ms;$F=71.534$, $P<0.01$],P3 波幅明显降低[S1 组:(19.60±10.62)μV, S2 组:(16.00±11.98)μV,C1 组:(28.30±22.63)μV,C2 组:(28.70±10.71)μV,$F=5.187$,$P=0.029$]。P3 潜伏期和多项行为学指标呈显著负相关,而与修饰行为呈显著正相关($r=0.475$, $P=0.002$)。P3 波幅与水平得分呈显著正相关($r=0.366$, $P=0.020$),而与修饰次数呈显著负相关($r=-0.343$, $P=0.030$)。**结论** 慢性强迫游泳应激诱发大鼠出现明显抑郁行为,同时抑郁模型大鼠类 P300 电位发生异常改变,提示抑郁模型大鼠表现情绪障碍的同时可能伴有认知功能损害。

**[关键词]** 抑郁;事件相关电位,P300;强迫游泳;大鼠

**[中图法分类号]** R-332; R338.8; R749.4 **[文献标志码]** A

# Changes of P300-like potential in rats of depression following repeatedly forced swim stress

Gao Dong[1,2], Han Mingfei[1], Zheng Zhong[1], Jiang Xiaojiang[2], Zhou Huadong[2], Sun Xueli[1] ([1]Mental Health Center, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan Province, 610041; [2]Department of Neurology, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042, China)

**[Abstract]** Objective To explore whether there are abnormalities of P300-like potential in stressed rats following repeatedly forced swim stress. Methods Forty male rats were randomly divided into 4 groups, the control groups (Control-1 and Control-2) and the stress groups (Stress-1 and Stress-2). Rats in stress groups were administered to repeatedly forced swim for 7 or 14 d respectively. Body weight gain, saccharin preference test and open field test were performed. After being anesthetized with urethane, P300-like potential were evoked by the oddball auditory stimulation. Deviant sounds were presented in a homogenous series of standard sounds. Results Our results of behavioral tests displayed less body weights and less saccharine solution intake in stressed group rats and significant effects of stress on the number of crossing squares, the duration of rearing and the number of grooming in open field test. Prolonged P3 latencies and decreased P3 amplitudes of P300-like potentials were found in the stressed rats. Moreover, there were significant correlations between parameters of P300 (including P3 latency and P3 amplitude) and a serial of behavioral traits. Conclusion This study provides an important evidence of changes of P300-like potential in depressed rats following repeatedly forced swim stress. Based on this study, event related potentials should be taken into consideration and applied as the useful tools in the research work of depressed animal models.

**[Key words]** depression; event-related potentials, P300; forced swim stress; rats

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30770778). Corresponding author: Sun Xueli, E-mail: sunxueli58@163.com

**[基金项目]** 国家自然科学基金(30770778)

**[通信作者]** 孙学礼,E-mail: sunxueli58@163.com

抑郁症的发病与应激密切相关,因此应激抑郁模型是研究抑郁症最适合的动物模型之一,慢性强迫游泳作为应激条件可诱发大鼠出现明显的抑郁行为[1]。目前除通过动物行为学特征评价抑郁模型外,缺乏其他有效评价手段。事件相关电位(event related potentials, ERPs)与认知功能以及情绪变化密切相关。本实验采用oddball被动模式诱发并记录慢性强迫游泳抑郁模型大鼠的类P300电位,分析类P300电位各项参数与大鼠行为学指标的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及分组

16~18周雄性SD大鼠40只,体质量160~180 g,由成都中医药大学医学实验室动物中心提供。所有实验大鼠单独饲养,室温(21±1)℃,12 h的光/暗循环(08:00-20:00为光照时间),自由饮食饮水。实验开始前7 d为适应期,每天给予大鼠5 min的抚摸适应。适应期后实验大鼠均分成4组:强迫游泳7 d模型组(S1组)、强迫游泳14 d模型组(S2组)和2组对照组(C1组:7 d对照组、C2组:14 d对照组)。除了必要的鼠笼清洁外,对照组大鼠不做任何处理和干扰。通过体质量测定、液体消耗实验和旷场评分观察大鼠行为改变。

### 1.2 造模方法

抑郁模型组大鼠在蓝色不透光的塑料桶(高50 cm,直径30 cm,水深30 cm)中进行强迫游泳。造模时间上午08:00-10:00,1次/d,5 min/d,水温(10±0.5)℃。S1组连续强迫游泳7 d,S2组连续进行14 d。为避免大鼠适应,每天变换游泳的顺序,每2只大鼠强迫游泳后换水1次。

### 1.3 行为学实验

1.3.1 体质量增长 各组大鼠体质量测量3次:适应期前、适应期后(基线值)以及强迫游泳后(S1、C1组大鼠在第8天;S2、C2组大鼠在第15天)。各组大鼠体质量增长率计算公式为:(第8天的体质量-基线值)/基线值×100%和(第15天的体质量-基线值)/基线值×100%。

1.3.2 液体消耗实验 各组大鼠液体消耗实验测定2次:适应期后(基线值)和强迫游泳后(S1、C1组大鼠在第8天;S2、C2组大鼠在第15天)。在适应期给予大鼠纯水和1%蔗糖水各1瓶进行适应,为了避免大鼠对饮水位置的偏好,每12小时更换1次饮水瓶位置。在强迫游泳后第7天和第14天10:30分别给予所有大鼠50 g纯水和50 g 1%蔗糖水各1瓶,24 h后记录纯水和蔗糖水的消耗量。计算蔗糖水摄入率公式为:蔗糖水消耗量/(蔗糖水消耗量+纯水消耗量)×100%。为避免禁水对实验结果的干扰,大鼠在实验过程中不禁水。

1.3.3 旷场实验 各组大鼠旷场实验测定2次:时间同1.3.2。各组大鼠在测量液体消耗和称体重后进行旷场实验。旷场实验在安静的房间内进行,所用的仪器是1个底面为76 $cm^2$、被分成相等的25个方格、高为40 cm、没有顶盖的木箱,上有40 W灯泡。每只大鼠先被放在旷场的中央格,人工记录大鼠在5 min内的各项得分。水平得分(也称为自主运动):定义为大鼠水平穿越的方格数,规定大鼠3个爪子以上进入同一格记为1分;垂直得分(也称为探索行为):定义为以2个后爪支撑身体,3个前爪离开底面;修饰得分即用前爪或嘴清洗后爪、面部、身体和生殖器的次数。每只大鼠旷场实验后对旷场进行清洗。

### 1.4 类P300电位记录和数据处理

大鼠类P300电位通过4通道肌电图/诱发电位仪(Nihon Kohden公司,日本)记录。各组大鼠在造模后次日15:00记录类P300电位。腹腔内注射乌拉坦(Sigma公司)1.2 g/kg后,挤压大鼠尾巴,大鼠没有甩尾反应表明麻醉成功。记录针电极插于中缝后囟的头皮肌肉中,参考针电极置于鼻尖,另一针电极插入大鼠尾部作为地线。实验中大鼠的肛温维持在(37±1)℃。类P300采用听觉oddball模式刺激诱发,在80%的标准刺激(2 000 Hz、95 dB、120 ms)中,随机插入20%的偏离刺激(1 000 Hz、60 dB、120 ms)。记录类P300电位的灵敏度10 μV/Div,分析时间100 ms/Div,每次测试叠加20次。测定N1、N2和P3波峰潜伏期和N1-P3波峰-谷值(P3波幅)。对每组10只大鼠的原始类P300电位进行平均叠加。

### 1.5 统计学分析

数值以$\bar{x}\pm s$表示,采用SPSS 11.5统计软件进行数据分析。对行为学基线数值进行方差分析;对其他行为学数据及类P300有关参数进行两因素(应激和时间)方差分析,对方差分析有显著差异的指标继续行组间成对$t$检验比较。采用Pearson相关对类P300有关参数和各行为学指标进行相关性分析。

## 2 结果

### 2.1 行为学测试结果

基线水平比较结果显示,各组的体质量增长率、液体消耗实验和旷场实验各指标的基线值无统计学差异($P>0.05$)。与对照组大鼠比较,模型组大鼠造模后体质量增长率显著降低($F=253.60$,$P<0.01$);液体消耗实验显示强迫游泳应激显著减少大鼠蔗糖水摄入率($F=128.38$,$P<0.01$);S2组与S1组比较,蔗糖水摄入率下降显著($P<0.01$);抑郁模型组和对照组之间的摄水量无差异;旷场实验发现强迫游泳应激显著减少大鼠水平得分($P<0.01$)和垂直得分($P<0.01$),增加大鼠修饰次数($P<0.01$),见表1。

**表1 各组大鼠的行为学指标比较**($n=10$,$\bar{x}\pm s$)

| 组别 | 体质量增长率(%) | 液体消耗实验 | | 旷场实验 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 摄水量(g) | 蔗糖水摄入(%) | 水平得分 | 垂直得分 | 修饰次数 |
| C1组 | 21.18±3.09 | 14.39±2.64 | 76.21±2.84 | 55.80±14.51 | 9.10±1.45 | 18.80±8.59 |
| S1组 | 12.74±2.16[a] | 14.83±3.56 | 63.14±3.88[a] | 20.50±9.74[a] | 3.60±2.37[a] | 26.00±9.49 |
| C2组 | 36.12±4.09 | 16.23±3.13 | 74.84±3.69 | 54.70±11.43 | 8.30±3.27 | 19.50±8.89 |
| S2组 | 12.22±3.22[b,c] | 16.19±3.40 | 53.18±7.57[b,c] | 11.90±7.26[b] | 3.30±2.91[b] | 33.20±6.91[b] |

a:$P<0.01$,与C1组比较;b:$P<0.01$,与C2组比较;c:$P<0.01$,与S1组比较

### 2.2 类P300电位

对照组和模型组大鼠P300的平均波形比较见图1。各组动物N1、N2潜伏期无显著差异($P>0.05$)。与对照组比较,模

型组大鼠 P3 潜伏期明显延长($F=71.534$, $P<0.01$),P3 波幅明显降低($F=5.187$, $P=0.029$),但 S2 组与 S1 组比较,P3 潜伏期和 P3 波幅无统计学差异($F=0.583$, $P=0.450$; $F=0.116$, $P=0.735$)。见表 2。

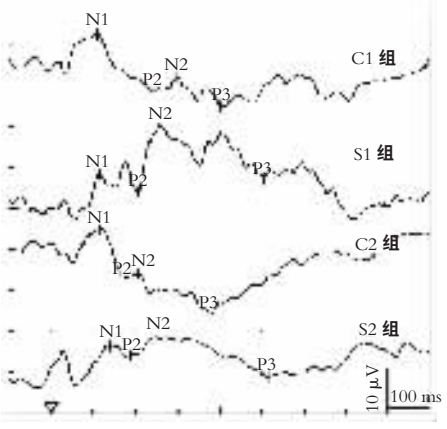



**图 1　各组大鼠类 P300 电位的平均波形**

**表 2　各组大鼠类 P300 电位的 N1、N2、P3 潜伏期和 P3 波幅比较**($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

| 组别 | N1 潜伏期(ms) | N2 潜伏期(ms) | P3 潜伏期(ms) | P3 波幅(μV) |
|---|---|---|---|---|
| C1 组 | 95.80±25.52 | 236.8±60.55 | 389.6±49.43 | 28.30±22.63 |
| S1 组 | 117.00±44.28 | 252.1±63.74 | 469.7±30.69[a] | 19.60±10.62 |
| C2 组 | 93.50±35.96 | 236.0±61.51 | 378.5±39.77 | 28.70±10.71 |
| S2 组 | 103.00±37.88 | 280.0±64.06 | 498.9±25.54[b] | 16.00±11.98[c] |

a: $P<0.01$,与 C1 组比较;b: $P<0.01$,c: $P<0.05$,与 C2 组比较

### 2.3　类 P300 电位有关参数与各行为学指标相关性分析

Pearson 相关分析结果显示,P3 潜伏期和多项行为学指标之间有显著的负相关,而与修饰次数呈显著正相关($r=0.475$, $P=0.002$)。P3 波幅与水平得分呈显著正相关($r=0.366$, $P=0.020$),而与修饰次数呈显著负相关($r=-0.343$, $P=0.030$)。见表 3。

**表 3　类 P300 电位和行为学指标的 Pearson 相关性分析**

| 参数 | 体质量增长率 | 蔗糖水摄入率 | 水平得分 | 垂直得分 | 修饰次数 |
|---|---|---|---|---|---|
| P3 潜伏期 | | | | | |
| $r$ | −0.711 | −0.764 | −0.605 | −0.563 | 0.475 |
| $P$ | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | 0.002 |
| P3 波幅 | | | | | |
| $r$ | 0.250 | 0.271 | 0.366 | 0.160 | −0.343 |
| $P$ | 0.119 | 0.090 | 0.020 | 0.325 | 0.030 |

## 3　讨论

采用动物模型模拟抑郁症患者的症状非常困难,但抑郁症状的内在表型可以通过抑郁动物模型的行为学改变进行再现和评价[2]。研究[3,4]显示液体消耗实验中蔗糖水摄入减少可反应抑郁症的快感缺失,而旷场评分能测定和评价啮齿类动物的自主运动、探索行为和修饰行为,这些行为与动物应对新环境的情绪和动力状态有关[3,5]。本研究液体消耗实验结果显示慢性强迫游泳应激减少大鼠蔗糖水摄入率($F=128.38$, $P<0.01$),表明抑郁模型组大鼠出现抑郁的核心症状即快感缺失。与对照组比较,抑郁模型组大鼠在旷场实验中出现自主运动、探索行为减少和修饰行为增加等行为学变化。本结果还显示抑郁模型组大鼠体质量增长率下降($F=253.60$, $P<0.01$)。这与既往相关研究[1,4,6,7]报道一致,表明强迫游泳大鼠抑郁模型制作成功。

由于抑郁症患者常出现包括学习、记忆、注意和执行功能等认知功能的障碍,ERPs(如 P300 电位等)能敏感地反映抑郁症患者情绪状态和认知功能[8-10]。P300 电位可反应大脑的信息处理和认知过程,如工作记忆、自动和控制信息加工、定向控制反应等[11-13]。目前事件相关电位 P300 常用于抑郁症的临床研究,但缺乏对于抑郁动物模型 P300 电位的研究报道。

近年来国外研究[14,15]报道大鼠在麻醉状态下可诱发出失匹配负波(mismatch negativity, MMN),表明麻醉状态下大鼠可以对标准-偏离听觉刺激进行自动加工反应。此外,临床中昏迷患者亦可记录较为完整的事件相关电位波形[16]。诸多证据表明尽管麻醉状态可能影响事件相关电位的波幅,但麻醉大鼠接受被动模式听觉刺激后可产生完整的类 P300 电位波形[17]。为避免采用手术埋藏电极对大鼠脑功能的影响及可能产生的应激反应,本实验采用颅外针电极记录类 P300 电位。实验结果显示对照组大鼠类 P300 电位波形分化好于抑郁模型组。与对照组比较,模型组大鼠 P3 波潜伏期显著延长,强迫游泳应激对 P3 潜伏期有显著影响($F=71.534$, $P<0.001$)。另一方面,应激组大鼠 P3 波幅与对照组比较也明显降低($F=5.187$, $P=0.029$)。S1 和 S2 组 P3 潜伏期和 P3 波幅无显著差异表明在慢性强迫游泳的第 7 天类 P300 电位已经出现明显异常变化(早期出现)。本研究中 P3 潜伏期和 P3 波幅的变化结果与大多数抑郁症患者的临床报道相一致[18,19]。上述研究结果表明 P3 潜伏期和波幅是测定和评价抑郁大鼠模型认知功能障碍的指标之一,证实类 P300 电位可作为抑郁动物模型的评价手段。

本研究还发现抑郁模型大鼠 P3 潜伏期和 P3 波幅与体质量增长率、蔗糖水摄入率以及旷场实验等行为学指标变化指呈显著相关关系,表明应激模型大鼠的抑郁症状和认知功能障碍同时伴随出现。与近年来研究报道抑郁症患者的临床表现相一致[8-10]。

本研究采用被动模式 P300 电位对慢性强迫游泳抑郁大鼠模型进行脑电活动评价,为抑郁症的相关动物实验研究提供了简便易行的实验技术方法和重要的类 P300 电位数据资料。在此研究基础上,我们认为在

今后的抑郁动物实验研究中,ERPs 应该被考虑作为有效的评估和检测工具。

**参考文献:**

[1] Qi, X, Lin W, Li J, *et al*. The depressive-like behaviors are correlated with decreased phosphorylation of mitogen-activated protein kinases in rat brain following chronic forced swim stress[J]. Behav Brain Res, 2006, 175(2): 233 - 240.

[2] Deussing J M. Animal models of depression[J]. Drug Discovery Today: Dis Models, 2006, 3(4): 375 - 383.

[3] Brenes-Saenz J C, Villagra O R, Fornaguera-Trias J. Factor analysis of Forced Swimming test, Sucrose Preference test and Open Field test on enriched, social and isolated reared rats[J]. Behav Brain Res, 2006, 169(1): 57 - 65.

[4] Slattery D A, Markou A, Cryan J F. Evaluation of reward processes in an animal model of depression[J]. Psychopharmacology (Berl), 2007, 190(4): 555 - 568.

[5] Koplik E V, Salieva R M, Gorbunova A V. The open-field test as a prognostic criterion of resistance to emotional stress in Wistar rats[J]. Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova, 1995, 45(4): 775 - 781.

[6] Rygula R, Abumaria N, Flugge G, *et al*. Anhedonia and motivational deficits in rats: impact of chronic social stress[J]. Behav Brain Res, 2005, 162(1): 127 - 134.

[7] Schneider T, Popik P. Increased depressive-like traits in an animal model of premenstrual irritability[J]. Horm Behav, 2007, 51(1): 142 - 148.

[8] Benoit G L, Fortin S, Lemelin L, *et al*. Selective attention in major depression: clinical retardation and cognitive inhibition[J]. Can J Psychol, 1992, 46(1): 41 - 52.

[9] Ebmeier K, Rose E, Steele D. Cognitive impairment and fMRI in major depression[J]. Neurotox Res, 2006, 10(2): 87 - 92.

[10] Hugdahl K, Rund B R, Lund A, *et al*. Attentional and executive dysfunctions in schizophrenia and depression: evidence from dichotic listening performance[J]. Biol Psychiatry, 2003, 53(7): 609 - 616.

[11] Muller-Gass A, Campbell K. Event-related potential measures of the inhibition of information processing: I. Selective attention in the waking state[J]. Int J Psychophysiol, 2002, 46(3): 177 - 195.

[12] Dolu N, BaYar-Eroglu C, Ozesmi C, *et al*. An assessment of working memory using P300 wave in healthy subjects[J]. International Congress Series, 2005, 1278(1): 7 - 10.

[13] Polich J, Kok A. Cognitive and biological determinants of P300: an integrative review[J]. Biol Psychol, 1995, 41(2): 103 - 146.

[14] Eriksson J, Villa A E. Event-related potentials in an auditory oddball situation in the rat[J]. Biosystems, 2005, 79(1 - 3): 207 - 212.

[15] Tikhonravov D, Neuvonen T, Pertovaara A, *et al*. Effects of an NMDA-receptor antagonist MK-801 on an MMN-like response recorded in anesthetized rats[J]. Brain Res, 2008, 1203: 97 - 102.

[16] Daltrozzo J, Wioland N, Mutschler V, *et al*. Predicting coma and other low responsive patients outcome using event-related brain potentials: a meta-analysis[J]. Clin Neurophysiol, 2007, 118(3): 606 - 614.

[17] Ehlers C L, Somes C, Thomas J, *et al*. Effects of neonatal exposure to nicotine on electrophysiological parameters in adult rats[J]. Pharmacol Biochem Behav, 1997, 58(3): 713 - 720.

[18] Reza M F, Ikoma K, Ito T, *et al*. N200 latency and P300 amplitude in depressed mood post-traumatic brain injury patients[J]. Neuropsychol Rehabil, 2007, 17(6): 723 - 734.

[19] Hetzel G, Moeller O, Erfurth A, *et al*. The impact of the selective monoamine reuptake inhibitors reboxetine and citalopram on visually-evoked event-related potentials in depressed patients[J]. Pharmacopsychiatry, 2004, 37(5): 200 - 205.

(**收稿**:2009-07-31;**修回**:2009-11-05)

(编辑 汪勤俭)

## 《第三军医大学学报》征订启事

《第三军医大学学报》为国内外公开发行的综合性医药卫生类学术期刊,被国内各大检索系统和《美国化学文摘》(CA)、《俄罗斯文摘杂志》(PЖ)、《波兰哥白尼索引》(IC)、世界卫生组织《西太平洋地区医学索引》(WPRIM)等国际知名检索系统收录,两度被评为国家期刊奖百种重点期刊和中国百种杰出学术期刊,为中国精品科技期刊、中国科技论文统计源期刊、中国自然科学类核心期刊和中国科学引文数据库(CSCD)核心库收录期刊。主要刊载国内外医学领域(军事医学、基础医学、临床医学、药学、预防医学、检验医学、生物医学工程等)所取得的新理论、新成果、新经验、新技术、新方法。读者对象主要为从事医药卫生工作的中高级科研、医疗、教学机构人员和高等医药院校师生。

本刊创刊于1979年,半月刊,国际标准大16开本,96页,105 g铜版纸彩色双胶印刷,国内邮发代号:78 - 91,国外邮发代号:M6529。

可在当地邮局订阅,也可来函我刊编辑部办理邮购,免收邮寄费(邮局汇款,请勿电汇)。每期定价15元,全年共360元。欢迎投稿,欢迎订阅。

**地 址**:重庆市沙坪坝区高滩岩正街30号《第三军医大学学报》编辑部 **邮 编**:400038

**联系人**:唐素芳,王 勇 **电 话**:(023)68752187

**网 址**:http://aammt.tmmu.com.cn/ E-mail:aammt@mail.tmmu.com.cn