DOI:10.16016/j.1000-5404.1994.05.022

一种用于大鼠被动回避行为训练的多功能条件反射箱

A multi-function box for conditioned reflex training of passive avoidance behavior of rats

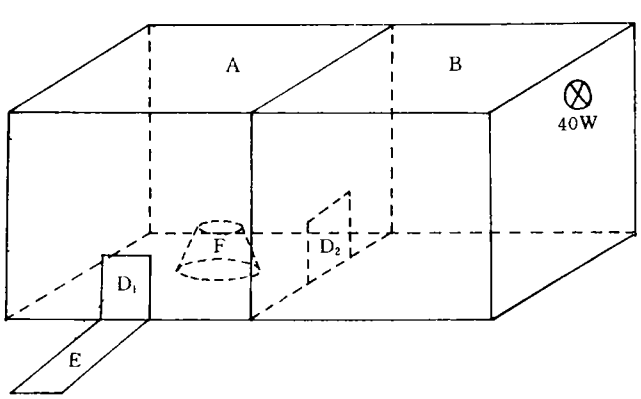
隋建峰 熊 鹰 张长城 (第三军医大学基础部生理教研室) 630038

近年来,许多新技术、新方法被用于大脑的高级功能——学习与记忆的研究,使该领域成为脑功能研究最活跃的方面。但是,行为模式依然是学习和记忆最基本最重要的研究手段。迄今为止,被广泛采用的动物行为研究模式有以下几种[1~4]:(1)经典的条件反射;(2)回避行为的条件反射[如步入(step through)、步下(step down)实验];(3)逃避行为的条件反射(包括主动逃避、被动逃避);(4)迷宫行为的条件反射(如T型迷宫及Y型三等分辐射式迷宫);(5)操作式条件反射,等等。其中回避行为的条件反射(回避学习)具有反射箱制作比较简单、而动物的训练与测试又有简便、快速、准确等优点,因而其应用甚为广泛。为此,我们制作了一种多功能条件反射箱,试图一箱多用,满足大鼠的"跳板"(步入)、"避暗"和"跳台"(步下)三种实验的需要。

1 材料与方法

1.1 多功能条件反射箱的结构

多功能条件反射箱用5 mm厚灰色硬塑料板制成,分为A、B两室,大小均为25 cm×20 cm×30 cm,顶盖可以开启,详见附图所示。D_1、D_2为可开闭的两门洞,D_1位于A箱正中靠底边,D_2位于室间隔正中靠底边,其大小以大鼠刚能通过为宜。E、F分别为可以装卸的跳板及跳台,跳板从D_1底边水平伸出并垂直于A箱正面,其规格为22 cm×5.8 cm;跳台位于A箱底中央,其高度为6 cm,顶面直径为5.5 cm,B箱为明箱,其侧壁装有40 W灯泡及开关,用于作避暗实验。A、B两箱底均设平行铜条,以备通电刺激鼠爪用。



附图 多功能条件反射箱示意图

A、B——箱体,各为25 cm×20 cm×30 cm;D_1、D_2——门洞,刚适宜大鼠通过;E——跳板,5.8 cm×22 cm;F——跳台,高6 cm,顶面直径5.5 cm;40 W——灯泡功率。

1.2 多功能条件反射箱的使用

1.2.1 跳板法:将三用箱平放在高60 cm的桌边,跳板完全悬空,关闭D_2,打开D_1,将清醒大鼠尾对D_1门洞平放在跳板上,大鼠此时的正常反应为惊慌、探究,并很快找到并穿过门洞进入A箱,这段时间记为潜伏期L_1;关闭D_1并用适宜电压或电流电击鼠爪2~5 s,24 h后重复测定大鼠在跳板上停留的潜伏期,记为L_2,正常时L_2大于L_1,可研究不同因素对L_2的影响。

1.2.2 跳台法:将大鼠置于跳台上,当它跳至铜条时便给予电击,从置于台上到跳至台下的时间记为潜伏期L_1,24 h后重复测定大鼠在跳台上的被动停留时间,记为潜伏期L_2,以此作为反应其记忆能力的指标,并可研究不同因素对L_2的影响。

1.2.3 避暗法:将大鼠置于B箱内,打开D_2关闭D_1,开灯。间隔潜伏期L_1后大鼠将经D_2进入A箱以避光。关闭D_2并电击鼠爪2~5 s,24 h后重新将大鼠放于B箱,大鼠将延长进入A箱的潜伏期(L_2)以避免电击(避暗),可比较不同因素对L_2的影响。

2 结果与讨论

2.1 短暂性脑缺血对大鼠记忆能力的影响

我们分别用改进的跳板和跳台实验对双侧颈动脉结扎60 min大鼠的记忆能力变化进行了研究,结果如下。从附表结果可以看出,跳板法更能灵敏地反应出短暂脑缺血对大鼠记忆能力的损害作用。

2.2 多功能箱的制作

以被动回避行为研究大鼠的学习和记忆能力时,依据的首要条件是大鼠有正常的步入或步下的本能,失去这一点,则实验结果没有任何意义。一般说来,只要反射箱制作合理,正常大鼠对暗箱或跳台都表现出正常的步入或步下反应。因此,多功能箱的制作最值得注意的问题便是跳板和跳台的尺寸规格。跳板太宽或跳台顶面过大均不能给放置在跳板或跳台的大鼠造成

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

足够的威胁，影响其正常的步入或步下反应。过窄或过小则大鼠容易从板上或台上掉下，影响实验；跳板离地高度及跳台本身的高度在制作时应亦考虑上述因素。跳板长度以不影响大鼠在板上转身为宜，太长不利于大鼠迅速进入门洞。本文提供的跳板、跳台制作规格充分考虑了上述因素。

附表 短暂性脑缺血对大鼠步入、步下记忆潜伏期的影响（$\bar{x}\pm s$）

记忆实验	步入				步下			
术后时间	24 h	48 h	72 h	1 W	24 h	48 h	72 h	1 W
对照组	5.0±1.1	4.7±1.9	3.8±2.1	1.0±0.7	5.0±1.6	4.5±1.8	3.7±0.9	3.3±1.4
缺血组	3.3±1.8※	3.0±1.3※	1.8±1.6※	0.9±0.4	3.5±1.0※	3.9±1.4	3.4±2.1	2.8±0.8

※：与对照组比较 $P<0.05$

2.3 训练方法

被动回避反应的训练有“一次性学习”法（one trial learning）及“5 min 训练法”[4~6]，两者的训练时间长短虽然不同，但均以测定动物训练后第2天的步入或步下潜伏期（Lst/Lsd）作为记忆指标。也有作者以测定训练后第2天动物5 min内的受电击次数（即步入或步下次数）作为记忆指标，但是，动物受电击的过程是一学习过程，在记忆测试过程给予电击，显然，因有学习因素的影响，此时的测定结果不能单一地反应记忆能力，因此，建议仍以测定 Lst/Lsd 作为记忆指标为好。此外，记录5 min训练过程中动物的受电击的次数（即步入或步下次数）还可以作为学习指标，用于动物学习能力（记忆获得能力）的研究。

值得提出讨论的是，无论用上述那种方法训练，在观测训练后第2天对照组与实验组的记忆潜伏期差异时，均未考虑两组在学习过程中记忆获得的差异（即学习能力的差异），而这本身可以影响动物24 h后的记忆提取，为此，我们建议，在单纯进行记忆研究时可以采取以下训练方法：在5～10 min时间内反复训练，直到使每一个动物的 Lst 或 Lsd 都达到5 min为止，以此作为学会标准，然后，于训练后24 h重新测定 Lst 或 Lsd 变化。显然，这样做可以避免因学习能力不同造成的24 h后的 Lst 或 Lsd 值差异。在采用穿梭箱主动回避反应（AAR）测试大鼠的记忆能力时，采用的方法与此类似，即首先通过连续训练使动物 AAR 正确率达到80%并连续保持3 d，以此作为学会标准，然后开始测试其记忆消退情况以反应其记忆保持的能力[7]。

跳板实验、避暗实验及跳台（步下）实验均为测定大鼠的被动回避反应，跳板法及避暗法均属于步入实验，但是，大鼠在跳板上的行为不同于简单的“避暗”反应，两者有明显差异。多功能条件反射箱的完成使我们有可能在训练环境与条件一致的情况下对这三种训练方法加以比较。初步的观察发现：跳板法可以更为灵敏地反应大鼠学习与记忆能力，其步入潜伏期的个体间差异亦较小，跳台法则次之，而避暗法灵敏性较差。究其原因可能是：①所采用的大鼠对光线刺激不敏感，因而其正常的“避暗”（步入）反应差，个体间差异大，造成了实验的误差；②大鼠停留在完全悬空与暴露的跳板上，除了自然光线的刺激外，暴露及悬空对大鼠的威胁更为有效，其此时的“步入”反应较停留在跳台上的大鼠的“步下”欲望更为强烈，因此，结果更为准确。

关键词 学习；记忆；条件反射

中图法分类号 R338.61

参考文献

1 Bures J, Wise Y. Techniques and basic experiments for the study of brain and behavior. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Comp, 1973: P91

2 林庶芝，沈 政. 咖啡因对大鼠穿梭、操作行为和脑代谢的影响. 中国药理学报，1992，13(2)：143～146

3 刘仁义，林 超，杜雨苍. 精氨酸加压素类似物对大鼠学习记忆的促进作用. 中国药理学报，1990，11(2)：97～100

4 Pan Si-Yuan. Circadian effects of scopolamine on memory, exploratory behavior, and muscarinic receptors in mouse brain. Acta Pharmacologica Sinica，1992，13(4)：323～326

5 张丹参，张 力，张士善. 侧脑室注射L－脯氨酸对小鼠学习记忆的影响. 中国药理学通报，1993，9(3)：194～196

6 V Haroutunian, R Mantin, GA Campbell, et al. Cysteamine-induced depletion of central somatostatin－like immunoactivity: effects on behavior, learning, memory and brain neurochemistry. Brain Research，1987，403：234～242

7 熊 鹰，张长城，张光辉，等. 冲击伤对大鼠条件回避反应习得和保持的影响. 中国病理生理杂志，1993，9(4)：541～544

（收稿：1993-11-23；修回：1994-07-24）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net