

3 种干预方法对焦虑大鼠高架十字迷宫行为的影响

闫清伟¹, 田青^{2*}

(1. 西藏民族学院体育学院, 陕西 咸阳 712082; 2. 西藏民族学院教育学院, 陕西 咸阳 712082)

[摘要] **目的:**比较研究不同干预方法对焦虑大鼠高架十字迷宫(EPM)实验相关行为指标的影响。**方法:**对 60 只 SD 雄性大鼠随机分组,即 A 组(安静对照组 10 只)、模型组(M0 组 50 只),对 M0 组进行 21 d 的随机不可预知的焦虑刺激造模,同期 A 组不加干预;造模结束后随机将 M0 组分为 5 组进行 28 d 恢复,即 M1 组(模型恢复组,色拉油 4.0 g·kg⁻¹·d⁻¹ ig)、M2 组(模型运动组,色拉油 4.0 g·kg⁻¹·d⁻¹ ig)、M3 组(模型卵油组,卵油 4.0 g·kg⁻¹·d⁻¹ ig)、M4 组(模型运动卵油组,卵油 4.0 g·kg⁻¹·d⁻¹ ig)、M5 组(模型安定组,安定 2.0 mg·kg⁻¹·d⁻¹ ig),每组 10 只,恢复期末所有组进行 EPM 实验,测大鼠 5 min 开臂运动时间、开臂运动距离、进入开臂次数。**结果:**开臂运动时间 M2, M3, M4 依次为(185.3 ± 10.8), (176.8 ± 10.6), (177.6 ± 11.1) s 明显高于 M1(145.4 ± 21.6) s;开臂运动距离依次为 M2, M3, M4(975.5 ± 27.1), (945.7 ± 19.7), (947.1 ± 18.9) cm 明显高于 M1(732.9 ± 18.9) cm;进入开臂次数 M2, M3, M4 依次为(10.9 ± 2.4), (11.3 ± 1.5), (11.6 ± 1.1) 次,明显高于 M1(7.7 ± 1.5) 次,(均 $P < 0.05$)。**结论:**28 d 恢复期后,运动、卵油、运动卵油复合法对焦虑行为有明显改善,运动组恢复最佳,但自然恢复手段在 28 d 内无明显效果。

[关键词] 高架十字迷宫实验; 行为学指标; 不同干预方法; 抗焦虑; 比较研究

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)19-0225-04

[doi] 10.11653/syfy2013190225

Effects of 3 Kind Intervention Methods on the Behavior of Anxiety Rats in the Elevated Plus Maze Test

YAN Qing-wei¹, TIAN Qing^{2*}

(1. Physical Education College of Tibet University for Nationalities, Xianyang 712082, China;

2. College of Education of Tibet University for Nationalities, Xianyang 712082, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the impact of different interventions on the behavior indicators of anxiety rats within the Elevated Plus Maze test (EPM). **Method:** Sixty SD male rats were randomized to group A (quiet control group, 10 rats) and model group (group M0, 50 rats). Group M0 received 21d randomal and unpredictable anxiety stimuli for modeling, while at the same time group A received no intervention. Then group M0 was randomly divided into five groups, including model recovery group, Salad oil 4.0 g·kg⁻¹·d⁻¹ ig (M1), model exercise group, Salad oil 4.0 g·kg⁻¹·d⁻¹ ig (M2), model Rana egg oil group, 4.0 g·kg⁻¹·d⁻¹ ig (M3), model exercise-Rana egg oil group, 4.0 g·kg⁻¹·d⁻¹ ig (M4), model drug control group, Diazepam 2.0 g·kg⁻¹·d⁻¹ ig (M5), 10 rats in each group. With different recovery methods each group would have a 28d recovery, and at the end of the recovery, all groups received a EPM (elevated plus maze) experiment, and behavioral indicators were collected to compare the differences. **Result:** The open arm movement time in group M2, M3 and M4 was (185.3 ± 10.8), (176.8 ± 10.6), (177.6 ± 11.1) s, which was significantly higher than that of M1 (145.4 ± 21.6) s. The open arm movement distance (cm) of M2, M3 and M4 was (975.5 ± 27.1), (945.7 ± 19.7),

[收稿日期] 20130313(024)

[基金项目] 西藏民族学院青年科研基金(11myQ27)

[第一作者] 闫清伟, 硕士, 讲师, 从事运动人体科学及运动心理学研究, E-mail: yan2004@126.com

[通讯作者] * 田青, 硕士, 讲师, 从事实验心理学及健康心理学研究, Tel: 18089190536, E-mail: tianqing306@126.com

(947.1 ± 18.9) cm, which was significantly higher than that of M1 (732.9 ± 18.9) cm; the open arm entries of M2, M3 and M4 were (10.9 ± 2.4), (11.3 ± 1.5), (11.6 ± 1.1), which was significantly higher than that of M1 (7.7 ± 1.5), (each $P < 0.05$). **Conclusion:** After a 28 d recovery period, exercise, Rana egg oil, and exercise-Rana egg oil methods could significantly relieve anxiety behavior, the exercise group recovered best, but the natural recovery means had no significant effect after 28 days.

[**Key words**] EPM experiments; behavioral indicators; different intervention methods; anti anxiety; comparative study

焦虑症是近年来罹患率较高的一种心理疾患,严重影响了人们的正常生活。对于焦虑的治疗心理学家和医学工作者主要采用心理结合药物治疗,但临床显示,该方法在抗焦虑过程中利弊参半,因此急需探索更为合理的抗焦虑方法。焦虑分为特质焦虑和状态焦虑,学术界所做的相关动物实验研究大多以抗状态焦虑为主,对于特质焦虑的动物实验研究较少,本研究将通过动物实验模拟特质焦虑,比较运动、药物、运动药物复合法、自然恢复等不同方法对焦虑大鼠高架十字迷宫(Elevated Plus Maze, EPM)实验行为的影响。

1 材料

1.1 动物 成年 SD 大鼠 60 只,体重 180 ~ 220 g,均购自陕西中医研究所实验动物饲养中心,生产许可证号 SCXK(陕)2007-004。

1.2 药物 中国林蛙卵油(中国林蛙又称哈士蟆, *Rana temporaria chensinensis* David)简称卵油,购于沈阳药科大学药学院(20090430),地西洋(DZP,简称安定)购于北京益民药业有限公司(20100520),色拉油购于山东龙大植物油有限公司(20100412)。

1.3 仪器 高架十字迷宫(EPM)(上海移数信息科技有限公司),大鼠实验跑台(东西仪科技有限公司)。

2 方法

2.1 动物分组及给药 大鼠 60 只,自由饮食适应 1 周后,开始实验。本实验分造模期 21 d,恢复期 28 d,共计 49 d。造模期将大鼠随机分为 A 组(安静组 10 只)和模型组(M0 组 50 只),A 组自由饮食至 21 d,自实验 22 d 开始给予安慰剂色拉油作为安静对照至恢复期末。同期 M0 组先进行为期 21 d 的焦虑模型刺激,自第 22 d 开始将 M0 组随机分为 5 组,模型恢复组即(M1 组)、模型运动组(M2 组)、模型卵油组(M3 组)、模型运动卵油组(M4 组)、模型安定组(M5 组),每组 10 只,各组进入恢复期进行不同干预方法的恢复:即 M1 为自然恢复,同时给安慰剂色拉油作为模型对照;M2 组采用单纯运动干预;M3 组采用单纯卵油干预;M4 组采用运动卵油复合干

预;M5 组采用传统抗焦虑药物地西洋干预作为阳性对照。用药剂量为中国林蛙卵油 $4.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ig,安定 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ig,色拉油 $4.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ig。

2.2 造模 本实验造模方法参照相关文献^[1-4],并作适当改进。主要采用不可预知的情绪应激法来进行为期 21 d 的焦虑造模。主要包括捆尾悬挂实验、天敌应激实验、禁水、禁食、24 h 光照、24 h 黑暗、倾斜等 7 种应激刺激。每天随机采取一种刺激,连续 21 d。在造模期对模型组大鼠进行单笼孤养。

在造模后的恢复期采取不同手段的恢复措施进行干预,各组在整个恢复期均自由饮食,另外在恢复期每日定期对 M3 组和 M4 组进行卵油 $4.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ig,于此同时给予 A 组、M1 组、M2 组 $4.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ig 的色拉油 ig,而对 M5 组给予典型抗焦虑药物安定(地西洋) $2.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ig 作为阳性药物对照。对 M2 组进行的运动干预方案为:有氧跑台训练,5 d/周,共 4 周,前 3 d 为适应性训练,速度为 $10 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$,时间为 10 min,以后运动时间和速度隔日交替增加,递增时间为 5 min,递增速度为 $1 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$ 。运动速度增至 $20 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$,运动持续时间增至 60 min 后维持该强度和运动量^[5]。

于整个恢复期结束后采用国际通用 EPM 实验评价各组焦虑情况,时间为 5 min,测定各组大鼠开臂运动时间、开臂运动距离、进入开臂次数等行为学相关指标^[4]。

2.3 统计学处理 所有实验数据运用 Microsoft Excel 及 SPSS 13.0 for Windows 软件进行处理,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据进行组间单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 不同干预方法对焦虑模型大鼠 EPM 中开臂运动时间、距离及进臂次数的影响 经 28 d 不同方法干预后各组大鼠 EPM 指标结果显示:与 A 组比较显示:M1 组开臂运动时间、开臂运动距离、进入开臂次数均明显减少,差异均具有显著性($P < 0.05$);

M2组、M3组、M4组、M5组开臂运动时间、开臂运动距离、进入开臂次数均达A组水平,差异均无显著性。

与M1组相比:M2组、M3组、M4组、M5组开臂运动时间、运动距离、进入开臂次数均比M1组增加,差异均具有显著性($P < 0.05$),见表1。

表1 不同方法干预28d时大鼠EPM实验开臂运动时间、运动距离、进入开臂次数比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	开臂运动时间/s	开臂运动距离/cm	进入开臂数/次
A 安静对照	-	183.4 ± 16.3	957.0 ± 84.9	11.5 ± 2.4
M1 模型恢复	-	145.4 ± 21.6 ¹⁾	732.9 ± 18.9 ¹⁾	7.7 ± 1.5 ¹⁾
M2 模型 + 运动	-	185.3 ± 10.8 ²⁾	975.5 ± 27.1 ²⁾	10.9 ± 2.4 ²⁾
M3 模型 + 卵油	4.0	176.8 ± 10.6 ²⁾	945.7 ± 19.7 ²⁾	11.3 ± 1.5 ²⁾
M4 模型 + 运动 + 卵油	4.0	177.6 ± 11.1 ²⁾	947.1 ± 18.9 ²⁾	11.6 ± 1.1 ²⁾
M5 模型 + 安定	0.002	179.7 ± 12.4 ²⁾	951.6 ± 28.6 ²⁾	12.1 ± 1.3 ²⁾

注:与安静对照组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型恢复组比较²⁾ $P < 0.05$ 。

3.2 不同干预方法对焦虑模型大鼠EPM开臂运动时间、距离及进臂次数影响变化率的比较 不同组别实验大鼠经28d不同方法干预后,EPM指标变化率比较结果显示出一定差异,但M2、M3、M4 3组间差异无统计学显著性。相应指标由大到小排序为:

开臂运动时间:M2组 > A组 > M4组 > M5组 > M3组 > M1组;开臂运动距离:M2组 > A组 > M4组 > M5组 > M3组 > M1组;进入开臂次数:M5组 > M4组 > A组 > M3组 > M2组 > M1组。见表2。

表2 不同方法干预28d时EPM中运动时间、距离、进臂次数变化率的影响

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	变化率/% (排序)		
		开臂运动时间	开臂运动距离	进入开臂次数
A 安静对照	-	+2.09(2)	+0.57(2)	-4.56(3)
M1 模型恢复	-	-17.71(6)	-22.99(6)	-36.43(6)
M2 模型 + 运动	-	+3.17(1)	+2.51(1)	-9.79(5)
M3 模型 + 卵油	4.0	-1.58(5)	-0.62(5)	-6.64(4)
M4 模型 + 运动 + 卵油	4.0	-1.13(4)	-0.49(4)	-4.15(2)
M5 模型 + 安定	0.002	0.00(3)	0.00(3)	0.00(1)

4 讨论

焦虑症是一种常见的心理疾病,目前临床上治疗主要采用心理手段及药物手段,其中药物以西药居多。西药在抗焦虑方面有明显效果,但副作用较多。学者们已开始寻求更有效的方法,文献中报道了一些中草药在抗焦虑方面有一定疗效,且副作用小。郭花玲等^[6]研究证实:黄连能明显增加小鼠高架十字迷宫开臂进入次数及开臂滞留时;周宁娜等^[4]认为:解虑安神汤具有明显抗焦虑作用;王守勇等^[7]认为:酸枣仁汤有一定的抗焦虑功效;蔡洪信等^[8]认为:白香丹胶囊抗焦虑作用可能与其能恢复额区皮层的GABA_B-R表达及功能有关。

近年来有研究报道,中国林蛙卵油有良好的抗焦虑功效,如:彭飞等通过小鼠实验证实中国林蛙卵油有明显的中枢抑制作用^[9];佟岩等证实卵油对小鼠有明显的抗焦虑作用^[10]。但这些研究都局限于

对状态焦虑症状的缓解。

本实验用21d焦虑刺激模拟特质焦虑,经28d恢复期,EPM结果显示,M3、M4两组大鼠焦虑程度均明显低于M1组,达到A组水平。说明卵油对长期焦虑刺激引起的拟特质焦虑症状同样有改善作用。分析认为:这可能与卵油的复合成分有关,现已证实中国林蛙卵油含有多种氨基酸、多种不饱和脂肪酸、多种微量元素及维生素,含有孕激素、雌激素等,这种复合成分可能会影响到大鼠脑内GABA的含量变化,从而起到抗焦虑作用。

目前有学者提出,体育运动在抗焦虑方面可能有着明显的作用。如:符明秋等^[11]认为焦虑障碍与大学生的身体锻炼时间存在负相关。李学碧^[12]证实有锻炼习惯的学生焦虑水平显著低于无锻炼习惯者。何颖、季浏^[13]研究发现:16周身体锻炼能显著降低大学生抑郁焦虑水平。宋海燕等^[14]证实体育

疗法对中、重度焦虑症具有较好干预效果。李梅等^[15]证实体育运动能明显缓解绝经期妇女的抑郁焦虑情绪。也有研究证实慢跑、游泳等有氧运动能改善心境和减少应激状态^[16-17]。本实验数据显示: M2 组大鼠焦虑程度明显低于 M1 组, 已达到 A 组水平, 证实有氧跑台运动对长时间焦虑应激后大鼠的焦虑症状有明显的改善功效。这可能与有氧运动能改善机体相应生化指标有关。

本实验发现: 与 A 组相比各模型组均表现出不同程度的恢复, 但 M1 组恢复程度明显较弱, 差异有显著性, 说明自然恢复 28 d 不足以使焦虑大鼠行为恢复正常; M2, M3, M4 等 3 组已恢复至 A 组水平, 说明单纯运动干预、单纯卵油干预、运动卵油复合干预对于本实验焦虑大鼠的恢复是有效的。M2, M3, M4 3 组恢复效果组间比较虽未表现出统计学差异, 但数据却表现出不同的变化趋势。理论上推测: 运动与卵油复合干预效果应好于单纯的运动干预和单纯的卵油干预效果, 而本研究中 EPM 各指标变化率及排序结果并不支持这一推测, 由此提示: 对焦虑症状的干预效果, 卵油干预法与运动干预法的效果并不完全遵循数学中的加法原理。实验结果比较显示: 采用单纯运动干预方法恢复的焦虑大鼠探究行为高于单纯卵油法和运动卵油复合法。有学者对重症抑郁病人研究发现: 体育运动组抑郁症复发率明显低于药物组和运动药物组^[18]。本研究似乎支持了这一结论。

因此认为: 单纯运动干预、单纯卵油干预、运动卵油复合干预对长期心理刺激引发的大鼠焦虑行为均有明显的改善效果, 且单纯运动组效果最优; 自然恢复组焦虑大鼠行为未恢复至正常水平。对于各种干预方法的具体作用原理及单纯运动干预效果优于单纯卵油法和运动卵油复合法的内部机制, 本实验未能进行详细解释, 有待后续研究。

[参考文献]

[1] 周奇志, 赵纪岚, 蔡定钧, 等. 电针对慢性情绪应激焦虑大鼠中枢单胺递质与 γ -氨基丁酸失衡的调节作用[J]. 中华中医药杂志, 2008, 23(10): 926.
[2] 徐海洋, 周奇志, 王薇, 等. 电针对慢性情绪应激焦虑模型大鼠行为学影响的研究[J]. 四川中医, 2007, 25(5): 97.

[3] 孙君辉, 凌沛学, 蒋秋燕, 等. 焦虑大鼠模型的应用及研究进展[J]. 食品与药品, 2011, 13(11): 438.
[4] 周宁娜, 何晓山, 曹东, 等. 解虑安神汤对社会隔离焦虑小鼠行为学及脑内 ALLO 水平的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(13): 185.
[5] 肖明珠, 郭庆芳. 动物运动性疲劳方法学研究之一: 不同刺激方法对大鼠跑台运动疲劳及恢复糖代谢的影响[J]. 中国运动医学杂志, 1998, 17(4): 334.
[6] 郭花玲, 崔瑛, 李阳阳, 等. 黄连对小鼠焦虑行为影响的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(15): 169.
[7] 王守勇, 谢鸣, 王欣. 酸枣仁汤组分与抗焦虑效用的相关性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(3): 104.
[8] 蔡洪信, 许莉莉, 殷慧敏, 等. 白香丹胶囊对焦虑情绪模型大鼠额区皮层 γ -氨基丁酸 B 受体和腺苷酸环化酶表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(13): 134.
[9] 彭飞, 余虹, 徐峰, 等. 中国林蛙卵油的中枢抑制作用[J]. 沈阳药科大学学报, 2002, 19(3): 204.
[10] 佟岩, 徐峰, 陈侠, 等. 中国林蛙的抗焦虑作用[J]. 沈阳药科大学学报, 2004, 21(1): 41.
[11] 符明秋, 周喜华. 大学生抑郁与体育锻炼、父母教养方式的相关研究[J]. 体育科学, 2004, 6(24): 49.
[12] 李学岩. 大学生身体锻炼对心理健康的影响[J]. 中国临床康复, 2002, 6(7): 1968.
[13] 何颖, 季浏. 不同的体育锻炼类型对大学生抑郁水平的影响及其心理中介变量(Body-esteem)的研究[J]. 体育科学, 2004, 24(5): 32.
[14] 宋海燕, 李志清, 余世和, 等. 大学生心理障碍(抑郁症, 焦虑症, 强迫症)的体育干预治疗[J]. 体育学刊, 2010, 17(7): 51.
[15] 李梅, 孙红兵. 体育运动对围绝经期妇女抑郁焦虑情绪及改良 Kupperman 评分的影响[J]. 社区医学杂志, 2010, 8(7): 28.
[16] 于新凯, 左群, 赛因贺西格, 等. 游泳运动对慢性心理应激大鼠延髓内皮素及其受体的影响[J]. 上海体育学院学报, 2008, 32(1): 39.
[17] 尹剑春. 适宜运动训练对反复心理应激大鼠海马脑源性神经营养因子的影响[J]. 天津体育学院学报, 2009, 24(1): 75.
[18] 季浏, 殷恒娟, 颜军. 体育心理学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2011: 95.

[责任编辑 聂淑琴]