

小鼠游泳的计算机自动管理系统

龚梦鹃^{1*}, 刘新民², 王立为², 张煜³, 陈善广³

- (1. 广东药学院中药药理教研室, 广东 广州 510006;
2. 中国医学科学院中国协和医科大学药用植物研究所, 北京 100094;
3. 中国航天医学工程研究所, 北京 100094)

[摘要] 目的: 将计算机引入小鼠游泳测试仪, 为抗疲劳和抗抑郁药物的筛选和研究提供新的实验方法。方法: 通过摄像将小鼠在游泳测试箱内活动的视频信号传送给视频卡, 完成小鼠游泳的实时监视、图形显示、自动采样、存盘、结果自动辨别和打印的全套自动化管理。通过负重游泳和强迫游泳实验进行验证, 并与人工检测手段进行比较。结果: 小鼠游泳的计算机监控系统确实方便可行, 所获数据更为科学和客观。结论: 小鼠游泳的计算机自动管理系统可广泛用于抗抑郁和抗疲劳药物的研究。

[关键词] 计算机; 小鼠; 游泳; 抗疲劳; 抗抑郁

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)03-0039-04

Computer-Aided Automatic Control System for Measuring Swimming in Mice

GONG Meng-juan^{1*}, LIU Xin-ming², WANG Li-wei², ZHANG Yu³, CHEN Shan-guang³

- (1. Guangdong Pharmaceutical University, Guangdong Guangzhou 510006, China;
2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100094, China; 3. Institute of Space Medico-Engineering, Beijing 100094, China)

[Abstract] **Objective:** To Provide a new method for the screening and research of anti-fatigue and anti-depressive drugs. **Methods:** The computer-aided automatic control system for measuring swimming in mice can complete the task of real-time monitoring, automatically obtaining data and saving, printing, compared with the manual group in swimming tests. **Results:** The computer-aided automatic control system is useful for measuring swimming in mice and data obtained is scientific and objective. **Conclusion:** The computer-aided automatic control system for measuring swimming in mice can be widely used in the research of anti-fatigue and anti-depressive drugs.

[Key words] computer; mice; swim; anti-fatigue; anti-depressive

现代社会许多人因为过度疲劳、抑郁而处于亚健康状态, 严重影响了工作效率和生活质量。因此, 寻找有效的抗疲劳和抗抑郁中药是近年来卫生保健人员和中药研究者关注的热点。

游泳实验是抗疲劳和抗抑郁药物研究中最常用

的行为学实验方法^[1]。但目前主要是沿用一些常规仪器进行手工操作甚至肉眼观察^[2], 所获结果不够客观, 而且工作量大, 提取的信息量有限。这对于具有大量筛选工作的中草药药理研究来说尤其不适应。为此, 我们参考已有的计算机控制的学习记忆检测系统^[3-6], 首次就游泳实验, 引入计算机自动控制与图像分析处理技术, 以期抗疲劳、抗抑郁中草药药理研究提供一套计算机图像处理系统。

1 实验材料

1.1 药品 三勒浆(抗疲劳液), 成都三勒浆药业集

[收稿日期] 2007-07-11

[基金项目] 国家中医药管理局资助项目(04-05ZP08)

[通讯作者] * 龚梦鹃, Tel: 13560170939; E-mail: gongmengjuan@yahoo.com.cn

团四川华美制药有限公司,批号:0502002。

1.2 仪器 计算机 CPU: Pentium 2.4 GHz, 内存: 512 M, 硬盘: 80 G, 显卡: Geforce 4 MX 440; 显示器, Philips 15 英寸液晶显示器(1 024 × 768), 52X 三星 CD-ROM, Realtek AC' 97 声卡; 摄像机 CRE, PAL 制式, CCD 黑白相机; 镜头可变焦距为(3.5~ 8) mm; 视频图像卡, 大恒 CG-400 图像采集卡 768 × 576 像素; AD8 位: 0~ 255; 频率 25 帧/秒; 数据传输方式 DMA (直接内容存取); HP-1020 打印机; 游泳测试箱, 黑色铁皮制作的小圆桶 5 个, 尺寸为直径 27 cm, 高 40 cm。

1.3 动物 (22 ± 2) g 昆明种小鼠。中国医学科学院实验动物研究所提供。动物合格证号: SCXK(京) 2004-0001。

2 方法与结果

2.1 硬件设计 通过摄像机将小鼠在游泳测试箱内活动的视频信号传送给视频卡, 结果数据文件和轨迹文件可通过功能卡连接的打印机打印输出。见图 1。

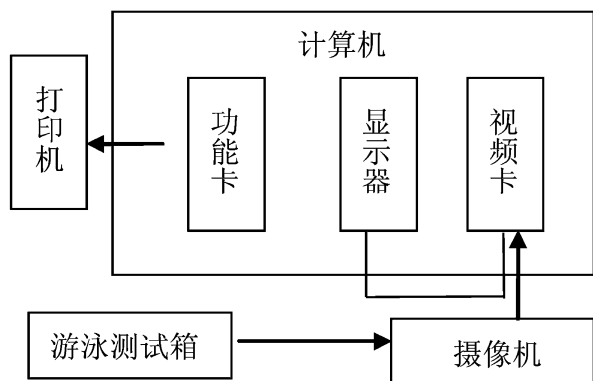


图 1 游泳在线检测分析处理系统的硬件连接图

Fig. 1 A diagram of hardware (Computer-based imaging processing system for swimming tests)

2.2 软件设计 基于中文 Windows2000/XP 操作系统, 利用 Microsoft Visual C++ 6.0 集成开发环境编程; 实施对大小鼠游泳行为表现的在线检测和分析。采用统一界面、统一风格和统一数据格式使界面友好、操作方便; 采用结构化、模块化设计使软件具有可维护性和可扩展性。

采用摄像技术, 利用软件控制, 使得小鼠在标定的范围内, 控制摄像机只辨认小鼠的活动信号。本软件在进行小鼠活动范围的标定后, 以红色辉度边缘作为动物的标记。将小鼠视为一个活动的质点, 在标定的范围内计算机只认可红色的活动质点, 这样可防止无关因素的干扰。设计框图简述如图 2。

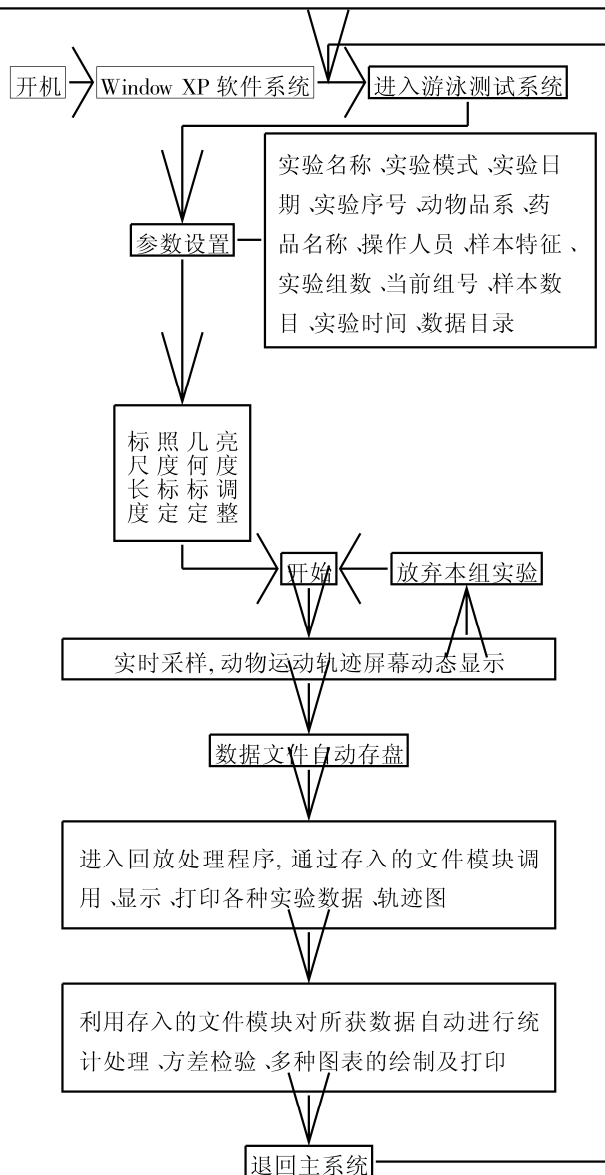


图 2 游泳在线检测分析处理系统的软件设计

Fig. 2 A diagram of software (Computer-based imaging processing system for swimming tests)

软件系统的主要功能如下:

(1) 一次允许同时进行 6 个样本的数据采集, 实时监测等处理工作。尤其用于大量筛选工作的中药药理研究。

(2) 强迫游泳实验中不动时间和游泳时间是判断药物抗抑郁作用的指标, 抗抑郁药物能明显缩短动物的不动时间, 延长游泳时间; 负重游泳实验中死亡潜伏期是判断药物抗疲劳作用的指标, 抗疲劳药物可以使动物的死亡潜伏期明显延长。本系统首次通过计算机提取以下实验指标: 游泳时间、不动时间、死亡潜伏期、游泳轨迹图。其中, 游泳定义为逃脱行为, 包括四处游动、四肢划动水面; 四肢不动漂浮于水面, 仅头部露出水面呼吸判断为不动状态; 动物沉入水中 10 s 不能浮出水面就判断为体力耗竭。

(3) 初始化时各种实验参数的设置使得该系统

具有强大的控制能力,且实验数据和轨迹可自动存盘,为将来进行统计处理和查看实验中的轨迹提供方便。

(4) 实验过程中可按需要分别终止单个样本或全部实验,这样可删除意外情况所致的误操作。

(5) 统计处理的自动统计和绘图制表功能使研究人员避免了繁重的手工操作,同时提高了实验结果的精度和准确度。

2.3 动物实验验证 运用计算机在线检测分析处理系统进行游泳实验的实时监测,人工与计算机同时记录小鼠的行为,将记录的结果进行比较分析,验证计算机在线检测系统与现有测试方法的吻合度和重现性。

实验 1 选取正常健康的小鼠,随机分为 3 组,常温组(27±2)℃、低温组(12±2)℃和高温组(42±2)℃。小鼠尾部负重(体重 8%)后,选用游泳计算机实时在线检测分析系统,进行实验,测试死亡时间。在计算机测试的同时肉眼进行观察,两者结果

表 2 温度对小鼠强迫游泳行为学变化的影响及人工与计算机采集数据比较(n=10, $\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of temperature on behavior of mice in forced swimming and comparison of experiment data acquired between the computer group and the manual group in mice(n=10, $\bar{x} \pm s$)

组别	不动时间(s)		相关系数	游泳时间(s)		相关系数
	人工	计算机		人工	计算机	
常温组	169.30±27.81	169.14±32.21	0.97	70.86±32.21	70.70±27.81	0.97
低温组	131.69±25.02 ²⁾	127.31±26.15 ²⁾	0.95	112.69±26.15 ²⁾	108.31±25.02 ²⁾	0.95
高温组	47.19±19.87 ³⁾	49.93±19.54 ³⁾	0.95	190.07±19.54 ³⁾	192.81±19.87 ³⁾	0.95

由表 1、表 2 可以看出,同一组动物人工测试与计算机测试的结果无差异,具有很好的相关性,这可从两者间的均值及标准差接近而得以验证(相关系数>0.95)。人工与计算机记录的结果均表明温度对游泳实验的影响较大,负重游泳实验中,低温和高温均会明显缩短动物的死亡潜伏期;强迫游泳实验中,低温和高温均显著性缩短动物的不动时间,延长游泳时间。这与以往的文献报道一致^[7,8]。

实验 3 健康正常的小鼠随机分为空白组、抗疲劳液低、中、高剂量组(5, 10, 20 mL·kg⁻¹),分别灌胃生理盐水、抗疲劳液,连续 2 周,末次给药 30 min 后,通过人工与计算机同时记录小鼠的死亡时间,结果见表 3。

应用市售的抗疲劳液进行系统可靠性的验证,如上表所示人工与计算机记录的结果无差异,且高剂量组可以明显延长小鼠的死亡时间。从轨迹图也

进行统计处理(表 1)。

表 1 人工与计算机记录的温度对死亡潜伏期的影响及人工与计算机采集数据比较(n=10, $\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of temperature on time when the mice die and comparison of experiment data acquired between the computer group and the manual group in mice(n=10, $\bar{x} \pm s$)

组别	死亡潜伏期(s)		相关系数
	人工	计算机	
常温组(27±2)℃	618.30±127.47	619.00±128.88	0.99
低温组(12±2)℃	215.70±64.54 ³⁾	216.10±63.84 ³⁾	0.99
高温组(42±2)℃	99.20±22.03 ³⁾	100.40±22.18 ³⁾	0.98

注:与常温组比较²⁾P<0.01, ³⁾P<0.001(下同)。

实验 2 健康正常的小鼠,雌雄兼用,随机分为 3 组,常温组(27±2)℃、低温组(12±2)℃和高温组(42±2)℃,进行强迫游泳实验。计算机测试的同时肉眼观察小鼠适应 2 min 后,4 min 内小鼠的行为,记录动物的不动时间和游泳时间,两者结果进行统计处理(表 2)。

可形象地表明此结果。

表 3 抗疲劳液对死亡潜伏期的影响及人工与计算机采集数据比较(n=10, $\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of anti-fatigue agent on time when the mice die and comparison of experiment data acquired between the computer group and the manual group in mice(n=10, $\bar{x} \pm s$)

组别	死亡潜伏期(s)		相关系数
	人工记录	计算机记录	
空白组	531.00±295.50	526.38±285.13	0.99
低剂量组	715.88±408.91	707.75±409.33	0.99
中剂量组	728.00±540.33	730.22±396.87	0.89
高剂量组	877.11±342.81 ¹⁾	878.89±337.62 ¹⁾	0.99

注:与空白组比较¹⁾P<0.05。

(下转第 45 页)

(上接第 41 页)

3 讨论

随着现代技术的发展和计算机的日益普及,中药研究在继承传统有效的测试方法的基础上,应尽可能的利用当今的先进技术和成果,使药理研究方法和手段尽可能排除人为因素的干扰,使之科学化、规范化。我们的实验结果初步表明计算机用于动物实验准确、方便、可行。计算机控制的小鼠游泳测试仪不仅测试样本数多,自动化程度高,实验结果真实、可靠。同时将实验结果以数据和图形表现出来,使提取出的信息量增大,获取的数据更为科学和合理。另外,只要将小鼠的游泳测试箱换成大鼠测试箱,本系统还适用于大鼠游泳实验测定,可广泛用于有关抗疲劳和抗抑郁药物的筛选和研究。由此可见,计算机的引入会进一步推动传统研究手段的更新和发展。

[参考文献]

[1] 韩雨梅, 邸慧君. 动物实验在抗疲劳中药研究中的应用现状[J]. 首都体育学院学报, 2003, 15(1): 93-98.

- [2] Tanaka M, Makamura F, Mizokawa S, *et al.* Establishment and assessment of a rat model of fatigue[J]. *Neurosci Lett*, 2003, 352(3): 159-162.
- [3] Holmes A, Wrenn CC, Harris AP, *et al.* Behavioral profiles of inbred strains on novel olfactory, spatial and emotional tests for reference memory in mice[J]. *Genes Brain Behav*, 2002, 1(1): 55-69.
- [4] 刘新民, 陈善广, 王圣平, 等. 益智中草药研究中的一种新方法[J]. *中草药*, 1998, 29(3): 174-177.
- [5] 程晓红, 易寄东, 刘玲爱, 等. 丙戊茶碱和左旋乙酰肉毒碱对改善老年大鼠水迷宫学习记忆行为的作用[J]. *中国行为医学科学*. 2004. 13(2): 138-139.
- [6] 高建义, 辛冰牧, 王宝珍, 等. 两种抗运动病药物对小鼠学习记忆能力的影响[J]. *解放军药科学报*, 2002, 18(2): 70-73.
- [7] Kitada Y, Miyauchi T, Satoh S. Effects of antidepressants in the rat forced-swimming test[J]. *Eur J Pharmacol*, 1981, 72: 145-152.
- [8] 王天芳, 张翠珍, 王琳, 等. 慢性疲劳综合征的中西医病理机制及其研究思路[J]. *北京中医药大学学报*, 1999, 22(5): 19-23.