

实验性眩晕动物模型的建立

傅继华^①, 余书勤, 刘 军, 李萍萍, 张媛媛

(中国药科大学生理学教研室, 南京 210009)

摘 要 目的 建立一种操作简单、切实可行的实验性眩晕动物模型, 以便于抗眩晕药物的研究。方法 选用昆明种小鼠, 通过训练使其建立起逃避电击反射, 然后通过旋转使动物产生眩晕, 以旋转后逃避电击反射完成所需的时间(潜伏期)作为衡量眩晕时间长短的指标。结果 用天麻素、盐酸地芬尼多及对照组对该方法进行验证。结果显示, 该模型能有效地反映以上抗眩晕药物及对照组的药效作用。结论 该模型能够很好地反映动物眩晕程度及眩晕时间的变化, 可有效地应用于抗眩晕药物的研究。

关键词 实验性眩晕动物模型; 逃避电击反射; 潜伏期; 眩晕时间

中图分类号: R965.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-5048(2002)06-0518-03

位听系统发生病变或患有美尼尔氏症及某些心血管疾病等均可导致眩晕。临床检查一般通过病人主诉及观察实验性眩晕导致眼震颤敏感性的改变来诊断。据文献报道^[1,2], 判断动物因旋转等因素是否产生眩晕, 也可通过记录其眼震颤电图来实现, 实验动物常选用豚鼠。但在具体操作中存在如下问题: 豚鼠的眼震颤电位很小, 需将其放大几万至几十万倍才能明显记录到, 而如此大的放大倍数几乎无法避免其他生物电及外界干扰的影响; 其次实验时由于首先使动物产生了实验性眩晕(常采用旋转或温度刺激内耳等方法), 记录眼震颤电图时动物不肯配合, 挣扎、翻转等必然产生大幅度电位干扰, 使得眼震颤电图的有效记录变得十分困难。因此, 通过记录动物眼震颤电图来判断眩晕产生的程度及眩晕时间的长短, 在实际应用中难以实现, 我们也未发现用此方法进行药物研究的报道。通过长期实验摸索, 我们建立了一个实验性眩晕动物模型, 该模型设计了一个方便易行的记录动物眩晕时间的实验方法, 能够较好地应用于药物研究。

1 材料与方法

1.1 材 料

1.1.1 动物及药品 健康昆明种小鼠, 体重: 20~25 g, 雌雄兼用, 以雄性为主, 随机分组。天麻素(昆明制药有限公司), 盐酸地芬尼多片(眩晕停片, 湖南省株洲湘江药业股份有限公司)。

1.1.2 可调速动物眩晕产生仪 用 SHZ-88 水浴恒温振荡器(泰兴电机厂)的直流调速电机改制, 在其直流调速电机前加一个调速器, 使旋转速度 0~440 r/min 自由可调, 再在电机上连一个方形金属盒, 大小(长×宽×高): (17×17×13) cm(图 1)。

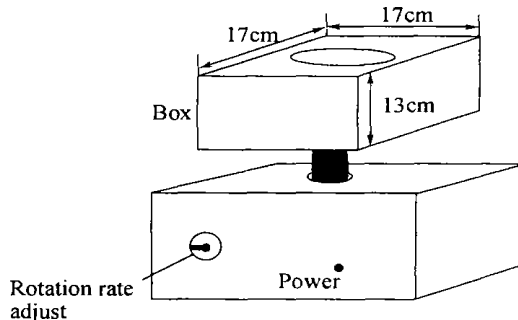


Fig 1. Adjustable rotation rate vertigo-making instrument

1.1.2 逃避电击反射训练仪 将一调压变压器经导线及开关连接上逃避电击反射训练箱制作成逃避电击反射训练仪(图 2)。逃避电击反射训练箱用直径 17 cm, 高 10 cm 圆柱形透明有机玻璃盒制作, 带盖。底部铺设铜片电栅栏(铜片宽 3.5~4.5 mm, 电栅栏间距 3.0~4.0 mm); 从盖上悬空下挂一小凳, 凳宽 1.0 cm, 长 4.0 cm, 凳离电栅栏高度 4.5~5.0 cm。该训练仪的规格是经反复多次试验后确定的合理结构。

1.2 实验方法

1.2.1 逃避电击反射训练 经反复试验, 训练所用刺激电压选择: 35 V~40 V, 50 Hz 交流电。训练时,

^① 收稿日期: 2002-04-24 * 通讯作者 Tel: 025-3271324

将小鼠放入逃避电击反射训练箱,给以电刺激,动物会在训练箱内挣扎蹦跳以逃避电击,当其发现下挂的小凳时会跳上小凳以逃避电击。只要动物跳上小凳并保持 30 s 以上就算一次训练成功。经过反复训练,动物能建立起逃避电击反射(一给以电击,动物立即有目标地跳上小凳)。连续训练 3 次为 1 遍,连续 3 d 以上,每天上、下午各训练 1 遍以巩固其反射,直至建立起稳定且牢固的逃避电击反射。

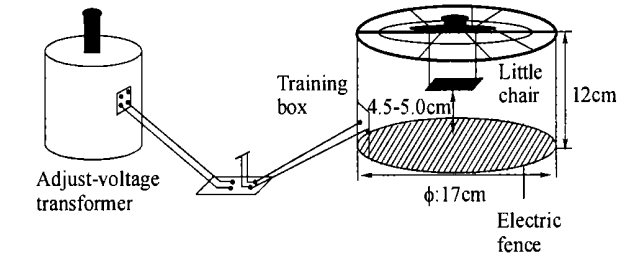


Fig 2 Reflex of escaping lightening stroke's training box

1. 2. 2 眩晕测试 将已牢固建立逃避电击反射的小鼠首先进行一次逃避电击反射训练,然后放入动物眩晕产生仪,以 360~ 390 r/min 转速匀速旋转 1 min,骤停,立即将动物放入逃避电击反射训练仪,并给以电击。由于旋转使动物产生了眩晕,可发现动物不能把握方向,无法控制肢体运动,表现为步态不稳、转圈、翻滚等,从而无法跳上小凳以逃避电击。只有当眩晕基本结束已基本恢复清醒后动物才能够跳上小凳以逃避电击。有的动物虽已爬上小凳,但由于仍处于眩晕状态,会重新跌落下来而被电击。规定:只有当动物跳上小凳并保持 30 s 以上不再跌落才算完成一次逃避电击反射;如果 30 s 内又从小凳跌落则表明眩晕状态未结束,没有完成逃避电击反射。将动物放入电击箱到最终完成一次逃避电击反射所需要的时间称为潜伏期。因此,正常已建立起牢固的逃避电击反

射的动物其潜伏期为零,而当动物旋转后由于产生了眩晕就会有一定时间的潜伏期。眩晕程度越大,眩晕时间越长,所测得的潜伏期必然也越长,故潜伏期可用来衡量动物旋转后眩晕时间的长短。

经反复试验:在以上旋转条件下,多数小鼠的潜伏期在 30 s~ 250 s 之间,个别动物潜伏期小于 30 s 或大于 250 s。潜伏期在 30 s~ 250 s 的小鼠实验中潜伏期较稳定,规律性好,适合于药物研究。

2 结果

取已经牢固建立逃避电击反射的小鼠首先给药前测量旋转后的逃避电击反射潜伏期(转速 390 r/min 分钟,每次旋转 1 min),共测量 3 次,前后两次测量间隔 30 min 左右,以给药前 3 次测量结果的平均值作为给药前结果。然后 iv 天麻素 100.0 mg/kg, po 盐酸地芬尼多片 6.5 mg/kg 及 iv 生理盐水(NS)0.40 ml/20 g。每组动物数见表 1。iv 给药后 15, 45, 75, 105, 150, 195 min 分别测量旋转后逃避电击反射的潜伏期;po 给药从给药后 45 min 开始测量旋转后逃避电击反射的潜伏期。结果以潜伏期及相对变化率表示(见表 1)。

结果表明,对照组所测结果给药前后无明显差异,而天麻素及盐酸地芬尼多片给药后一段时间内潜伏期明显缩短,与对照组比较有非常显著或显著差异($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),表现出抗眩晕作用。且盐酸地芬尼多的药效时间长于天麻素。

3 讨论

3.1 注意事项

行为实验所得数据往往离散性较大,对操作过程细节要求高。但本实验如果能严格按规范操作,所得数据能做到可靠、一致、离散性小。我们经过长期摸索

Tab 1. The anti-vertigo results of gastrodine(GAST) and hydrochloic acid diphenidol(HAD) on the animal model of experimental vertigo($\bar{x} \pm s$)

Groups	Dose (mg/kg)	n	Pre and post administration vertigo period(s) and relative variation rate(%)						
			Before dose (min)	Record time (min) after dose					
				15	45	75	105	150	195
GAST	100.0(iv)	11	95.9±25.4	48.4±19.4** (-50.3±12.4**)	70.4±24.4* (-27.0±14.9*)	85.2±36.0 (-12.2±24.7)	85.8±35.8 (10.7±32.6*)	102.3±43.6 (8.1±36.6)	95.3±38.1 (-1.2±23.6)
Control	NS(iv)	14	90.7±27.0	90.7±27.0 (13.1±57.5)	103.2±41.3 (21.9±58.5)	100.3±32.1 (16.1±46.1)	104.8±36.7 (18.2±32.7)	94.3±33.0 (7.1±34.4)	92.2±38.8 (3.9±27.1)
HAD	6.5(po)	13	98.1±24.0	32.5±13.7** (-64.7±19.9**)	34.4±13.4** (-64.2±12.6**)	77.3±38.0 (-20.6±32.0**)	99.7±36.8 (6.1±38.2)	102.6±23.7 (5.1±11.9)	

* $P > 0.05$, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$ vs control

发现以下几点对实验结果影响较大: (1)给药前必须建立起牢固的逃避电击反射,可于上、下午各训练 1 次,连续训练至少 3 d 以上。保证使动物一受到电击就有目标地跳上小凳,而不是乱蹦之后跳上小凳。并于第 1 次眩晕测试开始前 2~4 h 强化训练一遍逃避电击反射; (2)潜伏期测试时,需保证电栅栏与动物脚趾间导电良好,可在每次测试前用 1% 盐水湿纱布擦拭电栅栏,动物的尿液及粪便应及时清理干净,使动物每次所受到的电击强度保持均匀; (3)每次把动物放入逃避电击反射训练仪训练时,必须将动物放在笼的边缘,头朝外; (4)一批动物在进行过一次眩晕药物研究后,不宜在短时间内再反复使用。我们发现,若将已进行过一次药物研究的动物,在 3~5 d 内再进行第 2 遍眩晕测试,则所测数据就比较混乱,且多数动物出现明显的适应现象,表现为潜伏期明显缩短、前后所测几次潜伏期离散性变大; (5)应选择健康、活泼、体力好的小鼠,体重在 23 g 左右为佳。实验时发现,体重小、体力差的动物,由于制造眩晕及电击时消耗较多体力,前后几次所测潜伏期明显离散,数据不可靠; (6)本实验选择雄性动物比较适宜,因雄性动物体力明显好于雌性,潜伏期测试时耐力好,结果可靠。

3.2 模型优缺点分析

3.2.1 优点 方法简单易行,不需要贵重、复杂仪

器,结果重复性好,所得数据稳定、规律性好;所测潜伏期能较好地反映动物眩晕时间的长短;实验时使用小鼠作为实验动物,成本低,饲养管理方便

3.2.2 缺点 潜伏期并不完全等于眩晕时间,实验时可发现:当动物爬上小凳时,眩晕可能并未完全消除,可观察到动物在小凳上摇摆晃动。但眩晕越大、眩晕时间越长,潜伏期也必然越大,这是可以肯定的,实验结果也表明潜伏期能够反映动物的眩晕程度;电击对动物的精神状态可能有一定影响,并由此可能影响眩晕时间。

由实验结果可见,该模型用于评价抗眩晕药物是可行的。模型在天麻素及盐酸地芬尼多给药后均显示出明确、肯定的药效作用,且给药后药效随时间推移逐渐消失。而对照组所测实验结果,给药前后比较稳定。

参考文献

- [1] 龚树生 (Gong SS), 汪吉宝 (Wang JB), 旋转实验诱发豚鼠眼震电图描记法的建立 [J]. 临床耳鼻喉科杂志, 1992, 6: 212-215.
- [2] 柯国欣 (Ke GX), 黄艳艳 (Huang YY), 张茂春 (Zhang MC) 等. 豚鼠诱发眼震测试结果 [J]. 上海实验动物科学, 1997, 17 (3): 130-132.

Establishment of Animal Model of Experimental Vertigo

FU Ji-Hua, YU Shu-Qin, LIU Jun, LI Ping-Ping, ZHANG Yuang-Yuang

Department of Physiology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

ABSTRACT **AIM** To establish a practical animal model of experimental vertigo. The model can be used for the study of the anti-vertigo drugs. **METHODS** To choose the healthy mice. Firstly, to set up the reflex of escaping lightening stroke by trained mouse; secondly, to make it vertiginous by rotation. The vertigo period is the latent period which is the time of to fulfill the reflex of escaping lightening stroke after the rotation. **RESULTS** We proved the model effectiveness on gastrodine, diphenidol hydrochloride and the control. The results showed that the model could reflect the potency of the anti-vertigo drugs and the control mentioned above. **CONCLUSION** The model is successful, easy to operate, stable, and reliable. This can reflect well the variation of vertigo level and vertigo period of animal, which can be effectively used in the research of the anti-vertigo drugs.

KEY WORDS Animal model of experimental vertigo; Reflex of escaping lightening stroke; Latent period; Vertigo period