

A Methodological Review of Development and Assessment of Behavioral Models of Depression in Rats

Fahime Zavvari^{1, 2}, Fariba Karimzadeh^{3*}

¹Shefa Neuroscience Research Center, Khatam Alanbia Hospital, Tehran, Iran

²Department of Physiology, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³Cellular and Molecular Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Article Info:

Received: 24 Dec 2015

Accepted: 1 Feb 2016

ABSTRACT

Introduction: Depression is a chronic, multifactorial, and potentially life-threatening mental disorder that affects up to 20% of the worldwide population. Over several decades, numerous animal models have been established to study the underlying pathophysiology of depression and to test novel antidepressant treatment strategies. The criteria for identifying animal models of depression based on two principles: the side effects of antidepressants and responses to stress. Here, we summarized depression animal models, including learned helplessness, chronic mild stress, social defeat paradigms, and early life stress. Also, we reviewed the behavioral tests for screening antidepressants, such as forced swimming test, tail suspension test, sucrose preference test, open field test, elevated plus maze test, novelty-induced hypophagia, intracranial self-stimulation, and dark/light box test. **Conclusion:** The complexity of the depression and its etiologic as well as pathophysiological similarities with anxiety disorders challenge the developing of a comprehensive animal model that accurately reflect different aspects of depression. However, these animal models could so far help in a better understanding of the pathophysiology of depression.

Key words:

1. Depression
2. Animals
3. Rats

* **Corresponding Author:** Fariba Karimzadeh

E-mail: Fariba_karimzade@yahoo.com

مروری بر روش‌های ایجاد و ارزیابی مدل‌های رفتاری افسردگی در موش‌های صحرایی

فهیمه زواری^{۱،۲}، فریبا کریم زاده^{۳*}^۱مرکز تحقیقات علوم اعصاب شفا، بیمارستان خاتم الانبیاء، تهران، ایران^۲گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران^۳مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

اطلاعات مقاله:

تاریخ پذیرش: ۱۲ بهمن ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: ۳ دی ۱۳۹۴

چکیده

مقدمه: افسردگی یک اختلال روانی مزمن، چند عاملی و به طور بالقوه تهدید کننده زندگی است که بیش از ۲۰ درصد جمعیت دنیا را تحت تأثیر قرار می‌دهد. بیش از چندین دهه مدل‌های حیوانی متعددی برای مطالعه اصولی پاتوفیزیولوژی افسردگی و برای آزمایش راهبردهای درمانی جدید ضد افسردگی ایجاد شده است. معیار برای شناسایی مدل‌های حیوانی افسردگی مبتنی بر دو اصل است: عوارض جانبی ضد افسردگی و پاسخ‌ها به استرس. در اینجا ما مدل‌های حیوانی افسردگی، از جمله درماندگی آموخته شده، استرس مزمن ملایم، نمونه‌های شکست اجتماعی و استرس اوایل زندگی را خلاصه کردیم. همچنین ما آزمون‌های رفتاری برای غربالگری ضد افسردگی از قبیل: آزمون شنای اجباری، آزمون آویزان کردن از دم، آزمون ترجیح سوکروز، آزمون زمینه باز، آزمون پلاس ماز مرتفع، هاپیوفاژی ناشی از تازگی، خود تحریکی داخل مغزی و آزمون جعبه روشن و تاریک را بررسی می‌کنیم. **نتیجه‌گیری:** پیچیدگی افسردگی و سبب‌شناسی آن و نیز تشابهات پاتوفیزیولوژی با اختلالات اضطراب، ایجاد یک مدل حیوانی جامع که به درستی جنبه‌های متفاوت افسردگی را منعکس می‌کند به چالش می‌کشد. با این حال این مدل‌های حیوانی تاکنون توانسته‌اند در درک بهتر پاتوفیزیولوژی افسردگی کمک کنند.

کلید واژه‌ها:

۱. افسردگی
۲. حیوانات
۳. موش‌های صحرایی

* نویسنده مسئول: فریبا کریم زاده

آدرس الکترونیکی: Fariba_karimzade@yahoo.com

مقدمه

می‌دهند وقایع استرس‌زای زندگی همانند: قرار گرفتن در محیط جدید و یا از دست دادن مقام و موقعیت اجتماعی، با افزایش احتمال ابتلاء به افسردگی همراه می‌باشد. مبتنی بر این عقیده، مدل‌های جانوری جدید با استفاده از ایجاد آشفتگی اجتماعی به‌عنوان عامل استرس‌زا ایجاد شد (۵).

الگوی مقیم -متجاوز^۴ که مخصوص جوندگان می‌باشد، معمول‌ترین مدل استرس شکست اجتماعی^۵ است و از کشمکش اجتماعی بین اعضای یک گونه استفاده می‌کند تا در حیوان استرس روانی ایجاد کند. در این مجموعه آزمایشی ابتدا حیوانات آزمایشگاهی (که معمولاً از موش‌های صحرایی استفاده می‌شود) به مدت یک هفته به صورت انفرادی، دوتایی یا گروهی در یک قفس نگهداری می‌شوند تا قلمروشان مشخص شود. سپس یک موش نر (موش متجاوز) در قفس موش دیگری (موش مقیم) گذاشته می‌شود و به حیوانات اجازه داده می‌شود برای مدت از پیش تعیین شده‌ای با یکدیگر بجنگند و در این میان به ناچار یکی از آن‌ها به شدت دچار ضرب و جرح می‌شود. موش پیروز به‌عنوان غالب و موش شکست خورده به‌عنوان تابع در نظر گرفته می‌شود.

برای ایجاد مدل استرس حاد به حیوانات اجازه داده می‌شود تنها در یک وهله بجنگند. اما اگر به آن‌ها فرصت داده شود که در موارد متعدد متوالی در طی روزها یا هفته‌ها با هم بجنگند مدل استرس مزمن ایجاد می‌شود. در بعضی مدل‌ها، موش متجاوز به قفسی منتقل می‌شود که در آن فقط یک موش نر مقیم است، درحالی‌که در موارد دیگر به قفسی منتقل می‌شود که در آن علاوه بر موش مقیم نر، موش ماده‌ای نیز ساکن است. در همه مجموعه‌ها موش متجاوز به سرعت مورد حمله قرار گرفته و تحت انقیاد موش مقیم در می‌آید. موش تابع ممکن است به فرم تهدید در معرض استرس مزمن قرار گیرد. در این مدل، از قفسی با دو محفظه جداگانه که توسط درب کشویی سوراخ دار از جنس پلی اتیلن از هم جدا شده‌اند، استفاده می‌شود. با باز کردن درب کشویی به موش‌ها فرصت داده می‌شود یکبار با هم بجنگند و بعد، مدت‌ها موش تابع در محفظه کناری موش غالب نگه داشته می‌شود. به این ترتیب موش تابع برای مدت طولانی در معرض سیگنال‌های روانی استرس‌زا که توسط موش غالب ساطع می‌شود مانند: بو، صدا و دیدن موش غالب قرار می‌گیرد، بدون اینکه صدمه فیزیکی دیگری را تجربه کند (۶، ۷).

در این مدل آزمایشگاهی نمی‌توان از موش‌های ماده استفاده کرد زیرا موش‌های ماده برای حفظ قلمرو در الگوی شکست اجتماعی مقیم -متجاوز با یکدیگر نمی‌جنگند (۸). البته مطالعات اخیر توضیح داده‌اند که در صورتی از موش‌های ماده در مدل شکست اجتماعی می‌توان استفاده کرد که موش ماده مقیم پیر یا در دوران شیردهی باشد (۹). لازم به ذکر می‌باشد که در این مدل، زمان القاء استرس مهم است. دیده شده موش‌هایی که در فاز فعال زندگی هستند هنگامی که در معرض استرس اجتماعی قرار می‌گیرند علایم پاتوفیزیولوژیکی بیشتری

افسردگی یک اختلال شایع روانی پیچیده، چندعاملی، هتروژن و اغلب مزمن است که تقریباً ۱۲۰ میلیون نفر در سراسر جهان از آن رنج می‌برند (۱). این بیماری با ایجاد مشکلات عاطفی، رفتاری و جسمی موجب مختل شدن زندگی فرد بیمار می‌گردد. طبق گزارش انستیتو ملی سلامت روانی آمریکا، افرادی که دچار اختلال افسردگی هستند، علایم و نشانه‌های یکسانی ندارند. از علایم شایع افسردگی می‌توان به بی‌حوصلگی، ناتوانی از لذت بردن، احساس ناامیدی، گوشه‌گیری اجتماعی و احساس بی‌ارزش بودن، اختلال در تمرکز و ناتوانی در تصمیم‌گیری اشاره کرد. همچنین اختلالات خواب (بی‌خوابی، خواب زیاد یا ناراحت)، اختلالات خوردن (بی‌اشتهایی یا پرخوری)، یبوست، از دست دادن میل جنسی، دردهای مختلف مانند سردرد و درد قفسه سینه (بدون شواهدی از بیماری جسمی)، یکباره به گریه افتادن بدون توضیح مشخص، احساس گناه شدید به خاطر وقایع بی‌اهمیت یا خیالی، تحریک‌پذیری، بی‌قراری و در نهایت در صورت عدم درمان، اقدام به خودکشی از دیگر عوارض ابتلا به افسردگی می‌باشد (۲).

معمولاً دلیل ابتلا به افسردگی، ترکیبی از عوامل ژنتیکی، جسمی، محیطی و روانی می‌باشد. علاوه بر اختلالات ژنی و عادات ارثی، بعضی از عوامل زیست‌شناختی مانند بیماری‌های جسمی، اختلالات هورمونی، اختلالات ناقلین عصبی^۱ و مصرف بعضی داروها می‌توانند در بروز افسردگی نقش داشته باشند. در این میان تعداد وقایع استرس‌زا و ناراحت‌کننده زندگی فردی و اجتماعی نیز نقش به‌سزایی در بروز افسردگی دارد. داشتن زندگی چالش برانگیز و نگرانی‌ها و فشارهای روحی و روانی مداوم، سلامت ذهنی و روانی فرد را تحت تأثیر قرار می‌دهند و در نهایت او را افسرده می‌کنند (۳).

علی‌رغم تحقیقات گسترده انجام شده، فرایندهای نوروبیولوژیکی که منجر به افسردگی می‌شوند هنوز به خوبی شناخته نشده‌اند. در طی سالیان، جهت روشن شدن پاتوفیزیولوژی زمینه‌ساز افسردگی و آزمودن راهبردهای^۲ درمانی ضد افسردگی جدید، مدل‌های جانوری زیادی ایجاد شده‌اند که در این میان می‌توان مدل‌های ژنتیکی، اپتوژنتیکی، مدل‌های مبتنی بر اصلاح نژاد انتخابی، مدل‌های فارماکولوژیکی و ایجاد مدل افسردگی با قطع پیاز بویایی^۳ و یا اختلال در ریتم سیرکادین را نام برد. همچنین مدل‌های جانوری مبتنی بر قرار گرفتن در معرض استرس از پرکاربردترین مدل‌های مورد استفاده در تحقیقات افسردگی هستند (۴). در این مقاله به بررسی روش‌های ایجاد افسردگی مبتنی بر استرس پرداخته و سپس چگونگی ارزیابی افسردگی در مدل‌های حیوانی را مرور می‌کنیم.

استرس شکست اجتماعی

از نقطه نظر بیولوژیکی به نظر می‌رسد که محیط اجتماعی یک منبع قابل ملاحظه استرس است. یافته‌های محققان نشان

^۱ Neurotransmitters^۲ Strategies^۳ Olfactory bulbectomy^۴ Resident-intruder^۵ Social defeat stress

(۱۳). درماندگی آموخته یکی از اولین مدل‌هایی است که توسط مارتین سلیگمن و همکاران برای القای افسردگی در حیوانات به کار گرفته شد و بدین وسیله روشی برای مطالعه اثر استرس غیرقابل کنترل مهیا کردند (۱۴).

طرح آزمایشی کلاسیک این مدل شامل سه گروه می‌باشد که دو گروه آن کنترل است. گروه اول کنترل، تحت استرس با شوک الکتریکی قرار می‌گیرند که قابل کنترل با فرار کردن یا فشار دادن اهرمی است که جریان الکتریکی را قطع می‌کند. گروه دوم همان شوک را مشابه گروه اول دریافت می‌کنند با این تفاوت که شوک آن‌ها غیرقابل پیش‌بینی و غیرقابل کنترل است. گروه سوم (گروه دوم کنترل) با استرسی مواجه نمی‌شوند. در نهایت می‌توان گروه موش‌های مواجه با استرس غیرقابل کنترل را با موش‌های بدون استرس و موش‌های مواجه با استرس قابل کنترل مقایسه کرد. به طور کلی می‌توان گفت موش‌هایی که مدتی تحت استرس غیرقابل کنترل قرار می‌گیرند تلاشی برای فرار یا ممانعت از استرس نمی‌کنند. در این مدل، اختلال افسردگی که در پی قرار گرفتن در معرض استرس ایجاد می‌شود به واسطه خود استرس نمی‌باشد بلکه غیرقابل کنترل بودن استرس وارد شده عامل تعیین کننده می‌باشد (۱۵).

مدل‌های مبتنی بر استرس اوایل زندگی

این مدل بر مبنای مشاهداتی است که نشان می‌دهند تجربیات و حوادث ناگوار در دوران بحرانی تکامل (اوایل زندگی) سبب افزایش استعداد ابتلا به برخی بیماری‌ها در طول زندگی است. در دهه‌های اخیر مطالعات اپیدمیولوژیکی نشان داده‌اند که فاکتورهای محیطی در دوران قبل از تولد (جنینی) و یا بعد از تولد (نوزادی/کودکی) تأثیر به‌سزایی در ایجاد بیماری‌های روانی/عصبی همچون افسردگی دارد. تجربیات ناخوشایند در اوایل زندگی همچون از دست دادن پدر و مادر، بدرفتاری و کمبودهای عاطفی، ریسک ابتلا به اختلالات خلقی در دوران بعدی زندگی را افزایش می‌دهند.

مدل‌های مبتنی بر استرس اوایل زندگی ابتدا در جوندگان و پریمات‌ها ایجاد شد. جدایی از مادر یکی از معمول‌ترین روش‌ها برای ایجاد این مدل می‌باشد. جدایی تکرارشونده یا منفرد بچه موش‌ها از مادرشان منجر به اختلالات رفتاری و فیزیولوژیک می‌شود. اثرات سوء در جدایی تکرارشونده کمتر از محرومیت کامل است. چرا که نوزاد در مدل تکرارشونده در ساعاتی از وجود مادر بهره‌مند است و علاوه بر آن در زمانی که نوزاد در کنار مادرش قرار داده می‌شود مراقبت‌های مادری افزایش می‌یابد (۱۶).

یکی دیگر از روش‌های اخیر در القای استرس اوایل زندگی، محدود کردن مواد آشیانه و بستر موش‌ها می‌باشد. در بچه موش‌های این مدل با تغییر در سیستم هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال، سطح کورتیزول افزایش یافته و همچنین حافظه و یادگیری مرتبط با هیپوکامپ مختل می‌گردد (۱۷، ۱۸).

نسبت به موش‌هایی نشان می‌دهند که در زمان غیرفعال زندگی در معرض این استرس قرار گرفته‌اند (۱۰).

استرس خفیف مزمن

استرس خفیف مزمن (CMS) یکی از معتبرترین و واقع بینانه‌ترین مدل‌های ایجاد افسردگی است که بر روی علامت اصلی افسردگی یعنی عدم لذت بردن^۶ تمرکز می‌کند (۱۱). در این روش حیوانات به شکل غیرقابل پیش‌بینی در معرض یک سری از عوامل استرس‌زای^۸ ملایم قرار می‌گیرند.

کتز و هرش^۹ اولین کسانی بودند که مدل استرس مزمن را ایجاد کردند. این محققان از عوامل استرس‌زای شدیدی چون شوک الکتریکی، استرس تکان دادن، شنا در آب سرد و فشردن دم استفاده کردند. بر اساس نتایج آن‌ها بعد از القاء استرس، سطح کورتیکواسترون افزایش یافت و از طرفی کاهش تمایل به خوردن سوکروز، که نشان‌دهنده اختلال در لذت بردن و کاهش حساسیت به پاداش می‌باشد، ایجاد شد (۱۲). بر اساس این تحقیقات، ویلنر^{۱۰} برای دستیابی به شرایط واقعی‌تر القایی از عوامل استرس‌زای ملایم‌تر در مدت زمان طولانی‌تر استفاده کرد، بنابراین مدل استرس مزمن ملایم ویلنر که عوامل استرس‌زای زندگی انسانی را بهتر از مدل کتز تقلید می‌کرد جایگزین مدل کتز شد.

از جمله این عوامل استرس‌زا می‌توان مدت ایزوله کردن حیوان، نگهداری حیوان همراه با تعداد زیادی حیوان دیگر در یک قفس، محرومیت از آب یا غذا، اختلال در سیکل تاریکی/روشنایی، کج کردن قفس، مرطوب کردن بستر قفس و غیره را نام برد. زمان مواجهه با عوامل استرس‌زا از حداقل دو هفته تا چند ماه می‌باشد. مزیت روش استرس مزمن ملایم این است که تغییرات بلندمدت در پارامترهای رفتاری، نوروشیمیایی، نوروایمیون و نورواندوکراین در نمونه‌ها ایجاد می‌کند که شبیه اختلالات مشاهده شده در بیماران مبتلا به افسردگی می‌باشد (۱۱). نکته مهم‌تر اینکه در این روش عدم لذت بردن ایجاد می‌شود و از آنجایی که عوامل استرس‌زا غیرقابل پیش‌بینی می‌باشند و مرتباً شکل آن‌ها عوض می‌شود حیوان نمی‌تواند به آن‌ها خو گرفته و سازگاری پیدا کند. اختلال در حساسیت به پاداش ایجاد شده می‌تواند توسط مصرف مزمن (نه حاد) داروهای ضد افسردگی بهبود یابد. برای ارزیابی این مدل از آزمون مصرف سوکروز استفاده می‌شود که در ادامه بحث خواهد شد.

درماندگی آموخته

درماندگی و احساس درمانده بودن یکی از علائم اصلی افسردگی است. درماندگی آموخته (LH)^{۱۱} در انسان‌های افسرده بیانگر یک نقص رفتاری در کنترل محرک‌های آزاردهنده است که در مواجهه با محرک‌های آزاردهنده غیرقابل کنترل القاء می‌شود. به عبارت بهتر شخص افسرده برای خروج از شرایط ناگوار زندگی هیچ تلاشی نمی‌کند چرا که تلاش‌های قبلی او ناکام بوده‌اند و او یاد گرفته است که باید تسلیم عوامل ناخوشایند زندگی باشد

^۶ Chronic mild stress

^۷ Anhedonia

^۸ Stressors

^۹ Katz and Hersh

^{۱۰} Willner

^{۱۱} Learned helplessness

روش‌های ارزیابی افسردگی

آزمون شنای اجباری

آزمون شنای اجباری (FST)^{۱۲} یکی از معتبرترین و رایج‌ترین آزمون‌ها جهت بررسی افسردگی در جوندگان است. بر اساس نظریهٔ درماندگی آموخته شدهٔ مارتین سلیگمن در صورتی که حیوان در معرض استرس مداوم قرار گیرد و راه گریزی از آن نداشته باشد، رفته رفته امید به گریز را از دست داده و تحرک و فعالیت خود را متوقف می‌کند و درمانده و بی‌حرکت می‌گردد. روش آزمایش به این صورت است که ظرفی استوانه‌ای از جنس شیشهٔ آکرلیک به قطر ۴۵ و ارتفاع ۷۹ سانتی‌متر تا ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر از آب ۲۳-۲۴ درجهٔ سانتیگراد پر شده و حیوان به آرامی در آن قرار داده می‌شود. زمان این آزمون ۵ دقیقه می‌باشد و رفتار موش در این مدت ثبت می‌شود. به طور قراردادی قطع حرکات دست و پای موش و شناور شدن^{۱۳} آن را به‌عنوان بی‌حرکت^{۱۴} و مدت آن را به‌عنوان زمان بی‌حرکتی^{۱۵} در نظر می‌گیرند. ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمون جهت کسب تجربه^{۱۶} شنا کردن اجباری، حیوان به مدت ۱۵ دقیقه در آب قرار داده می‌شود (تصویر ۱)-(۱۹).

همان‌طور که ذکر شد این آزمون بازتاب دهندهٔ یک مرحله از یأس رفتاری در افسردگی می‌باشد، به گونه‌ای که موش‌های افسرده که امید کمتری دارند مدت زمان بی‌حرکتی بیشتری نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهند. تحقیقات نشان داده که استفاده از داروهای ضد افسردگی مدت زمان بی‌حرکتی را کاهش می‌دهد (۲۰).

لازم به ذکر است که بر اساس پروتکل مورد استفاده برای انجام این آزمون، ابعاد ظرف شیشه‌ای، حجم آب و نیز دمای آب می‌تواند متفاوت باشد.

آزمون زمینه باز

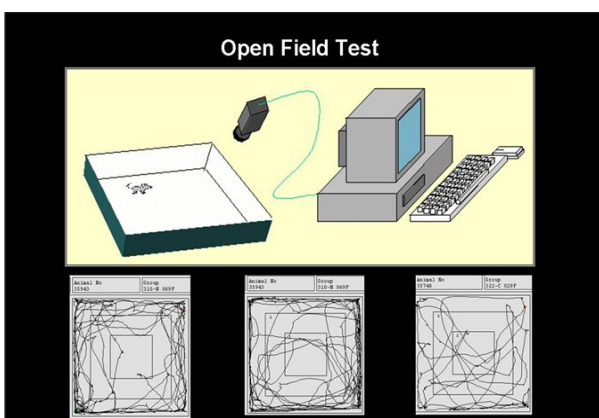
آزمون زمینه باز^{۱۷} ابتدا توسط هال^{۱۸} جهت ارزیابی احساسات و هیجان جوندگان پیشنهاد شد (۲۱). اما این آزمون برای

ارزیابی پاسخ‌های رفتاری مانند فعالیت حرکتی، بیش فعالی و رفتار جستجوگرانه و همچنین اندازه‌گیری اضطراب نیز استفاده شده است (۲۲). از آنجایی که در افسردگی میزان تحرک فرد کاهش می‌یابد از این آزمون برای ارزیابی میزان افسردگی استفاده می‌شود.

برای انجام این آزمون از یک جعبهٔ رو باز که کف آن توسط خطوطی به چندین مربع مساوی تقسیم‌بندی شده استفاده می‌شود. جنس، ابعاد، شکل و رنگ دستگاه و نیز تعداد تقسیم‌بندی‌های کف آن، بسته به پروتکل به کار رفته متفاوت می‌باشد. به‌عنوان مثال تعداد مربع‌های کف جعبه می‌تواند از ۹ تا ۲۵ مربع متفاوت باشد. پهنهٔ این جعبه به دو ناحیهٔ محیط و مرکز تقسیم می‌شود. به طور مثال: در تقسیم‌بندی ۲۵ تایی، ۹ مربع وسط به‌عنوان ناحیهٔ مرکزی و مربع‌های باقی‌مانده به‌عنوان نواحی حاشیه‌ای در نظر گرفته شده و با رنگی متفاوت، مشخص می‌شوند. حرکت و محل موش توسط دوربین دیجیتالی که در بالای جعبه تعبیه شده ردگیری و ثبت، و توسط نرم‌افزار مربوطه محاسبه و آنالیز می‌شود (تصویر ۲)-(۲۳).

برای انجام آزمون، حیوان را به آرامی و به صورت تصادفی در یکی از چهار گوشهٔ دستگاه قرار داده و اجازه می‌دهند تا محیط دستگاه را آزادانه به مدت ۵ دقیقه کاوش کند. در طول این مدت، رفتار موش از طریق دوربین قابل مشاهده است. بعد از انجام آزمون، موش‌ها به قفس‌هایشان منتقل شده و کف و دیواره‌های دستگاه هر بار توسط پنبهٔ آغشته به الکل ۷۰٪ برای جلوگیری از اثرات بوی برجای مانده از حیوان قبلی تمیز شده و اجازه داده می‌شود در بین هر آزمون خشک شود. طی ۲ روز متوالی این آزمون را تکرار کرده و میزان عبور از خطوط را ثبت و امتیازدهی می‌کنند.

افزایش در زمان گذرانده شده و تعداد ورود به مرکز می‌تواند به‌عنوان یک اثر شبه ضد اضطرابی محسوب شود، همچنین ورود به مربعات مرکزی به‌منظور ارزیابی رفتار جستجوگرانه استفاده می‌شود. کل مسافت طی شده و سرعت میانگین به‌عنوان شاخصی از فعالیت حرکتی در نظر گرفته می‌شوند (۲۴، ۲۵).



تصویر ۲- آزمون زمینه باز (۲۳).



تصویر ۱- آزمون شنای اجباری. چپ: موش در حال تلاش و شنا کردن. راست: موش شناور و بی‌حرکت (۱۹).

¹² Forced swimming test

¹³ Floating

¹⁴ Immobility behavior

¹⁵ Immobility time

¹⁶ Train

¹⁷ Open field test

¹⁸ Hall

¹⁹ Tail suspension test

مدت برای پیشگیری از احتمال خطا در آزمون جای ظرف آب و سوکروز هر ۱۲ ساعت تعویض می‌شود. بطری‌ها در ابتدا و انتهای هر دوره ۸ ساعته وزن می‌شوند تا میزان مصرف از آن‌ها محاسبه شود و در پایان چهارمین روز، نسبت سوکروز به کل حجم مصرفی سنجیده می‌شود. موش‌هایی که در معرض استرس ملایم مزمن قرار می‌گیرند، بعد از استرس هفتگی به مدت چند هفته، تمایل کمتری برای مصرف سوکروز دارند.



تصویر ۴- آزمون ترجیح سوکروز (۲۸).

اگر مواجهه با استرس قطع شود مصرف سوکروز پس از مدتی نرمال می‌شود. اما اگر استرس به شکل مزمن اعمال شود ممکن است ماه‌ها نیز در این شرایط (عدم لذت) بمانند. این روش یکی از مهمترین روش‌ها برای تشخیص افسردگی به دنبال استرس ملایم مزمن می‌باشد (۲۹، ۴).

لازم به ذکر است درصد سوکروز در محلول و مدت زمان انجام آزمون با توجه به پروتکل مورد استفاده می‌تواند متفاوت باشد.

خود تحریکی داخل مغزی

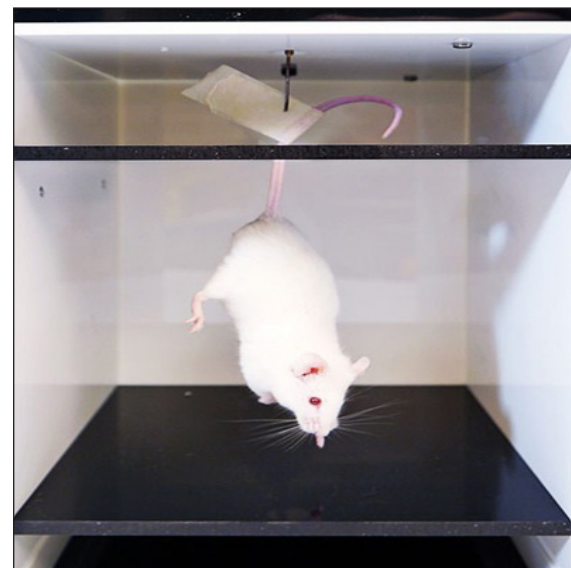
در سال ۱۹۵۴، آزمایش‌های میلنر و اولدز^{۲۳} نشان داد مراکز مغز وجود دارد که برای اعمال پاداشی تخصص یافته‌اند. در این آزمایش‌ها، تحریک الکتریکی مناطق ویژه‌ای از مغز باعث افزایش رفتار خود تحریکی می‌شد. از آن پس، مطالعاتی که با استفاده از خود تحریکی داخل مغزی (ICSS)^{۲۴} صورت گرفته، نشان داده است که مسیرهای سیستم پاداشی مغز وسیع هستند، به طوری که رفتار خود تحریکی را می‌توان با قرار دادن الکترود در مناطق مختلف مغز مانند هیپوتالاموس، ناحیه تگمنتوم شکمی (VTA)^{۲۵}، هسته اکومبنس (NAC)^{۲۶}، قشر سینگولای قدامی، آمیگدال، هیپوکامپ، قشر پیشانی، لوكوس سرلئوس و دسته پیش مغز میانی ایجاد نمود (۳۰). در روش خود تحریکی داخل مغزی، حیوان یاد می‌گیرد که با تحریک نواحی مربوط به پاداش، توسط الکترودهای تعبیه شده در داخل مغزش، مسیرهای مربوطه را فعال کند.

تحت عمل استرئوتاکی^{۲۷} الکترودهای دوقطبی از جنس فولاد

آزمون آویزان کردن از دم

آزمون آویزان کردن از دم (TST)^{۱۹} توسط محقق ایتالیایی به نام استرو^{۲۰} برای اندازه‌گیری تمایل به ناامیدی ابداع شد. در این روش موش را در اتاقکی از دم آویزان می‌کنند (تصویر ۳- (۲۶). معمولاً بعد از آویزان شدن، موش‌های سالم برای فرار و غلبه بر موقعیت ناراحت خود، شروع به تلاش و دست و پا زدن می‌کنند و به مدت حداقل ۱۰ تا ۳۰ دقیقه دوره‌هایی از تلاش و متعاقباً عدم تحرک خواهند داشت.

هر چه موش افسرده‌تر باشد تلاش کمتری برای فرار از حالت تعلیق خواهد داشت و در نتیجه بیشتر بی‌حرکت است به طوری که موش‌های افسرده بعد از حدود ۲ تا ۴ دقیقه دست از تلاش بر می‌دارند. در مدت آزمایش که حدود ۶ دقیقه می‌باشد، میزان بی‌حرکتی موش ثبت می‌شود. استفاده از داروهای ضد افسردگی پیش از انجام آزمون، می‌تواند بر افزایش تلاش موش تأثیر به‌سزایی داشته باشد (۲۷).



تصویر ۳- آزمون آویزان کردن از دم (۲۶).

آزمون ترجیح سوکروز

رفتار عدم لذت بردن که در افراد افسرده ایجاد می‌شود با آزمون ترجیح سوکروز^{۲۱} ارزیابی می‌شود. برای انجام این آزمون از دو ظرف، یکی محتوی آب و دیگری محتوی سوکروز ۲ درصد استفاده می‌شود (تصویر ۴- (۲۸). جهت کاهش دادن پاسخ استرسی به شرایط جدید، ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمون به مدت ۳ ساعت به موش اجازه داده می‌شود به طور آزادانه بین دو بطری یکی را برای نوشیدن انتخاب کند. بعد از خو گرفتن به محیط^{۲۲}، مدت زمان آزمون ۴ روز، روزی ۸ ساعت می‌باشد. در مدت آزمون، موش می‌تواند آزادانه یکی از بطری‌ها (آب یا محلول سوکروز) را برای نوشیدن انتخاب کند. در طی این

²⁰ Steru

²¹ Sucrose preference test

²² Habituation

²³ Milner and Olds

²⁴ Intracranial self-stimulation

²⁵ Ventral tegmental area

²⁶ Nucleus accumbens

²⁷ Stereotaxy

آزمون ماز مرتفع به علاوه شکل

آزمون ماز مرتفع به علاوه شکل (EPM)^{۲۹} برای ارزیابی رفتارهای مرتبط با اضطراب در مدل‌های جانوری با اختلالات سیستم عصبی مرکزی استفاده می‌شود. دستگاه ماز مرتفع به علاوه شکل از یک ماز به شکل به علاوه تشکیل شده که در ارتفاعی بالاتر از کف زمین قرار دارد. این ماز دارای چهار بازو و یک ناحیه مرکزی است که دو بازوی آن باز و دو بازوی دیگر بسته می‌باشد (تصویر ۶) - (۳۶). حیوان را به مدت ۵ دقیقه داخل ماز می‌گذارند به طوری که می‌تواند آزادانه بازوهای آن را جستجو کند. رفتار حیوان مورد آزمایش توسط یک دوربین فیلمبرداری که در بالای دستگاه نصب شده است ثبت و توسط سیستم ردیابی ویدئویی آنالیز می‌شود.

در پایان آزمون، درصد میزان زمانی که حیوان در بازوهای باز طی می‌کند نسبت به زمانی که در بازوهای بسته می‌گذراند محاسبه می‌شود. حیوانات مضطرب ترجیح می‌دهند بیشتر در بازوهای بسته بمانند و زمان کمتری را به جستجو در بازوهای باز می‌پردازند (۳۷).



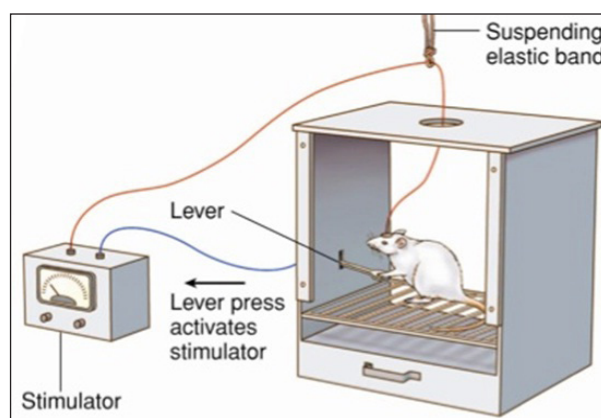
تصویر ۶- دستگاه پلاس ماز مرتفع (۳۶).

آزمون جعبه روشن و تاریک

آزمون جعبه روشن و تاریک^{۳۰} مبتنی بر خصوصیت ذاتی جوندگان در گریز از مناطق روشن و همچنین جستجوگری ذاتی آنان می‌باشد. جعبه روشن/تاریک شامل دو محفظه از جنس پلکسی گلاس می‌باشد که توسط تونل کوچکی به هم وصل شده‌اند. یکی از محفظه‌ها به رنگ سیاه و کاملاً تاریک و دیگری به رنگ سفید و روشن می‌باشد (تصویر ۷) - (۳۸). ابتدا موش در محفظه تاریک قرار داده می‌شود و از آنجا می‌تواند وارد محفظه روشن شده و آن را بازدید کند. میزان تأخیر در اولین ورود به محفظه روشن، زمان کلی که حیوان در محفظه روشن می‌گذراند و تعداد ورودش به محفظه روشن، در طی مشاهده به مدت ۵ دقیقه ثبت می‌شود. موش‌های سالم با حس

ضد زنگ به صورت یکطرفه در ناحیه تگمنتال شکمی (یا نواحی دیگر پاداش) قرار داده شده و با سیمان دندانپزشکی به استخوان جمجمه ثابت می‌شوند. الکترودها به یک دستگاه استیمولاتور با جریان ثابت وصل می‌شوند. طی یک دوره حدود ۲ تا ۳ هفته‌ای حیوانات یاد می‌گیرند که با فشردن بینی به یک ناحیه و یا با چرخاندن یک اهرم می‌توانند حس لذت را تجربه کنند. بعد از پایان دوره آموزش، ثبت داده‌ها انجام می‌شود (تصویر ۵) - (۳۱).

از آنجایی که افسردگی کاهش انگیزه، خستگی و کاهش انرژی را به دنبال دارد، موجب کاهش تمایل موش به تحریک الکترو و تجربه حس لذت می‌شود. این آزمون روشی مفید برای بررسی تأثیر داروهای ضد افسردگی می‌باشد (۳۲).



تصویر ۵- خود تحریکی داخل مغزی (۳۱).

آزمون هایپوفازی ناشی از تازگی

آزمون هایپوفازی ناشی از تازگی^{۲۸} برای ارزیابی میزان اضطراب و هیجانات در حیوانات استفاده می‌شود. تحقیقات نشان داده است اختلالات اضطرابی و افسردگی کاملاً وابسته به هم هستند و میزان هم‌زمان بودن بالایی دارند به طوری که لااقل در ۶۰٪ از افراد افسرده یک یا چند اختلال اضطرابی گزارش شده است. همچنین شواهد متعددی نشان می‌دهند که افسردگی و اختلالات اضطرابی ریسک فاکتورهای ژنتیکی مشترکی دارند، بنابراین ممکن نیست ساختارهای کاملاً متفاوتی در انسان و یا حیوانات نشان دهند (۳۳، ۳۴).

از این رو این آزمون در تحقیقات مربوط به افسردگی نیز استفاده می‌شود. هایپونوفازی به معنای کاهش تمایل به غذای ناشی از تازگی است و تحت تأثیر عوامل مختلف مانند غذای جدید، محیط آزمون جدید و یا ظرف غذای جدید برانگیخته می‌شود. در این آزمون حیوانات با شرایطی روبرو می‌شوند که باید بین مصرف غذای مورد علاقه‌شان در شرایط جدید و یا اجتناب از این شرایط انتخاب کنند. موش‌های مضطرب و افسرده نسبت به غذای موجود در ظرف غذای جدید و یا غذای موجود در محیط جدید بی تفاوت هستند. در این آزمون تأخیر و میزان مصرف غذا در شرایط جدید بررسی می‌شود (۳۵). محققان دریافتند که مصرف مزمن داروهای ضد افسردگی می‌تواند موجب کاهش هایپوفازی شود.

^{۲۸} Novelty-induced hypophagia test^{۲۹} Elevated plus maze test^{۳۰} Dark/light box

بالای افسردگی و تشابهات سبب شناسی^{۳۲} و پاتوفیزیولوژی زیادی که با اختلالات اضطرابی دارد شانس موفقیت در ایجاد مدل های حیوانی جامع که به درستی تأثیرات نسبی فاکتورهای دخیل در ایجاد افسردگی انسان را منعکس کنند ضعیف به نظر می رسد. اما به هر حال همین مدل های حیوانی توانسته اند تاکنون کمک شایانی در بهتر فهمیدن پاتولوژی زمینه این بیماری داشته باشند. همچنین مدل های حیوانی که به درمان با داروهای ضد افسردگی پاسخ می دهند برای مطالعه مکانیسم های عصبی درگیر در پاسخ به این داروها مفید می باشند. امروزه استفاده از مدل های حیوانی افسردگی، امید به درمان و یا پیشگیری از این بیماری را افزایش داده است. مدل های حیوانی باید از لحاظ علل ایجاد، پاتوفیزیولوژی و پاسخ به درمان با داروی ضد افسردگی شباهت زیادی به انسان داشته باشند (۴۱). مدل های افسردگی مبتنی بر استرس، همچون استرس خفیف مزمن، درماندگی آموخته و استرس اوایل زندگی، از مهم ترین روش های القای افسردگی می باشند.

بعد از القای افسردگی، با توجه به نوع مطالعه مورد نظر می توان با آزمون های رفتاری متفاوتی به ارزیابی میزان افسردگی در مدل های ایجاد شده و بررسی درمان های صورت گرفته بر روی آن ها پرداخت. این روش ها عبارتند از:

روش های مبتنی بر ناامیدی مانند: آزمون شنای اجباری و آزمون آویزان کردن از دم

روش های مبتنی بر جایزه مانند: آزمون تمایل به سوکروز و آزمون خودتحریکی داخل مغزی

روش های مبتنی بر اضطراب مانند: آزمون پلاس ماز مرتفع، آزمون جعبه باز، آزمون جعبه روشن/خاموش و آزمون هیپوفازی ناشی از تازگی

از نقاط ضعف مدل های افسردگی مبتنی بر استرس می توان به ضعف توجه به جنسیت اشاره نمود چرا که در اکثر قریب به اتفاق مطالعاتی که تاکنون صورت گرفته، تمرکز بر روی مدل های جانوری نر بوده است (۴۲) و این در حالی است که شیوع افسردگی در زنان دو برابر مردان می باشد. لذا در این زمینه بهتر است از سایر مدل های افسردگی از جمله مدل های ژنتیکی، اپتوژنتیکی، مدل های مبتنی بر اصلاح نژاد انتخابی، مدل های فارماکولوژیکی و ایجاد مدل افسردگی با قطع پیاز بویایی استفاده نمود.

کنجکاوی ذاتی تمایل بالایی به تجربه مکان های جدید دارند، لذا با تأخیر اندکی وارد محفظه روشن می شوند، اما موش های افسرده و مضطرب تمایل کمی به کاوش در مکان های نا آشنا دارند و ترجیح می دهند در محفظه تاریک بمانند. استفاده از داروهای ضد افسردگی تمایل موش های بیمار به محیط جدید را افزایش می دهند (۳۹).



تصویر ۷- جعبه روشن و تاریک (۳۹).

نتیجه گیری

افسردگی از جمله اختلالات روانی هتروژن است که با علایمی همچون ناامیدی، اضطراب، تحریک پذیری، نگرانی، بی انگیزگی، احساس گناه و درماندگی همراه می باشد. بر اساس آمارهای به دست آمده، سازمان بهداشت جهانی پیش بینی می کند که در سال ۲۰۲۰ افسردگی دومین جایگاه را در میان سایر بیماری ها داشته باشد (۴۰). علی رغم تحقیقات وسیع به عمل آمده، هنوز سؤالات زیادی در مورد بیماری زایی^{۳۱} و درمان این بیماری باقی مانده که باید پاسخ آن ها یافته شود که از علل آن دسترسی محدود به مدل های جانوری معتبر می باشد؛ چرا که بیماری های روانی همچون افسردگی با پیچیدگی مغز انسان مرتبط می باشند.

به علاوه بعضی علایم مرکزی همچون حالت افسرده، احساس بی ارزشی و فکرکردن مداوم به مرگ و خودکشی را در حیوانات آزمایشگاهی نمی توان نشان داد. بنابراین و با توجه به پیچیدگی

^{۳۱} Pathogenicity

^{۳۲} Etiology

1. Kessler RC, Bromet EJ. The epidemiology of depression across cultures. *Annu Rev Public Health*. 2013; 34: 119-38.
2. Beck AT, Alford BA. Depression: causes and treatment. 2nd ed. University of Pennsylvania Press. 2009.
3. Hammen C. Stress and depression. *Annu Rev Clin Psychol*. 2005; 1: 293-319.
4. Czeh B, Fuchs E, Wiborg O, Simon M. Animal models of major depression and their clinical implications. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2016; 64: 293-310.
5. Bjorkqvist K. Social defeat as a stressor in humans. *Physiol Behav*. 2001; 73(3): 435-42.
6. Hollis F, Kabbaj M. Social defeat as an animal model for depression. *ILAR J*. 2014; 55(2): 221-32.
7. Berton O, McClung CA, DiLeone RJ, Krishnan V, Renthal W, Russo SJ, et al. Essential role of BDNF in the mesolimbic dopamine pathway in social defeat stress. *Science*. 2006; 311(5762): 864-8.
8. Palanza P. Animal models of anxiety and depression: how are females different? *Neurosci Biobehav Rev*. 2001; 25(3): 219-33.
9. Holly EN, Shimamoto A, Debold JF, Miczek KA. Sex differences in behavioral and neural cross-sensitization and escalated cocaine taking as a result of episodic social defeat stress in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 2012; 224(1): 179-88.
10. Bartlang MS, Neumann ID, Slattery DA, Uschold-Schmidt N, Kraus D, Helfrich-Förster C, et al. Time matters: pathological effects of repeated psychosocial stress during the active, but not inactive, phase of male mice. *J Endocrinol*. 2012; 215(3): 425-37.
11. Willner P. Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiology*. 2005; 52(2): 90-110.
12. Katz RJ, Hersh S. Amitriptyline and scopolamine in an animal model of depression. *Neurosci Biobehav Rev*. 1981; 5(2): 265-71.
13. Pryce CR, Azzinnari D, Spinelli S, Seifritz E, Tegethoff M, Meinschmidt G. Helplessness: a systematic translational review of theory and evidence for its relevance to understanding and treating depression. *Pharmacol Ther*. 2011; 132(3): 242-67.
14. Seligman ME, Maier SF, Geer JH. Alleviation of learned helplessness in the dog. *J Abnorm Psychol*. 1968; 73(3): 256-62.
15. Drugan RC, Basile AS, Ha J-H, Healy D, Ferland RJ. Analysis of the importance of controllable versus uncontrollable stress on subsequent behavioral and physiological functioning. *Brain Res Protoc*. 1997; 2(1): 69-74.
16. Schmidt MV, Wang X-D, Meijer OC. Early life stress paradigms in rodents: potential animal models of depression? *Psychopharmacology (Berl)*. 2011; 214(1): 131-40.
17. Rice CJ, Sandman CA, Lenjavi MR, Baram TZ. A novel mouse model for acute and long-lasting consequences of early life stress. *Endocrinology*. 2008; 149(10): 4892-900.
18. Naninck EF, Hoeijmakers L, Kakava-Georgiadou N, Meesters A, Lazic SE, Lucassen PJ, et al. Chronic early life stress alters developmental and adult neurogenesis and impairs cognitive function in mice. *Hippocampus*. 2015; 25(3): 309-28.
19. Animal research. <http://www.fermons-le-ceds.org/en/animal-research/>.
20. Petit-Demouliere B, Chenu F, Bourin M. Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity. *Psychopharmacology (Berl)*. 2005; 177(3): 245-55.
21. Hall C, Ballachey EL. A study of the rat's behavior in a field. A contribution to method in comparative psychology. *Univ Calif Publ Psychol*. 1932; 6: 1-12.
22. Walsh RN, Cummins RA. The open-field test: a critical review. *Psychol Bull*. 1976; 83(3): 482-504.
23. CJ H. Animal models of depression. <http://psylab.idv.tw/animal%20models/open%20field%20test.jpg>.
24. Habr SF, Bernardi MM, Conceicao IM, Freitas TA, Felicio LF. Open field behavior and intra-nucleus accumbens dopamine release in vivo in virgin and lactating rats. *Psychol Neurosci*. 2011; 4(1): 115-21.
25. Brown RE, Corey SC, Moore AK. Differences in

measures of exploration and fear in MHC-congenic C57BL/6J and B6-H-2K mice. *Behav Genet.* 1999; 29(4): 263-71.

26. Tail suspension test. http://www.bioseb.com/bioseb/anglais/default/item_id=2_cat_id=1_Tail0Suspension0Test_source=news.php.

27. Cryan JF, Mombereau C, Vassout A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neurosci Biobehav Rev.* 2005; 29(4-5): 571-625.

28. Hamidi A. Comparison of animal models in enriched environments. <https://mazeengineers.com/comparison-animal-models-enriched-environments/>

29. Cline BH, Anthony DC, Lysko A, Dolgov O, Anokhin K, Schroeter C, et al. Lasting downregulation of the lipid peroxidation enzymes in the prefrontal cortex of mice susceptible to stress-induced anhedonia. *Behav Brain Res.* 2015; 276: 118-29.

30. Wise RA. Addictive drugs and brain stimulation reward. *Annu Rev Neurosci.* 1996; 19(1): 319-40.

31. Claffey P. Biological Foundations. <http://mikeclaffey.com/psyc2/notes-cog-motivation-emotion.html>.

32. Carlezon WA, Chartoff EH. Intracranial self-stimulation (ICSS) in rodents to study the neurobiology of motivation. *Nat Protoc.* 2007; 2(11): 2987-95.

33. Ohara K, Suzuki Y, Ochiai M, Tsukamoto T, Tani K, Ohara K. A variable-number-tandem-repeat of the serotonin transporter gene and anxiety disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 1999;

23(1): 55-65.

34. Helmuth L. In sickness or in health? *Science.* 2003; 302(5646): 808-10.

35. Dulawa SC, Hen R. Recent advances in animal models of chronic antidepressant effects: the novelty-induced hypophagia test. *Neurosci Biobehav Rev.* 2005; 29(4): 771-83.

36. Elevated plus maze. <http://www.stoeltingco.com/anymaze/video-tracking/bundles/elevated-plus-maze-any-maze-bundle.html>.

37. Walf AA, Frye CA. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nat Protoc.* 2007; 2(2): 322-8.

38. Stoelting Co. light/dark box. <http://www.stoeltingco.com/anymaze/mazes/anxiety-depression/light-dark-box.html>.

39. Chourbaji S, Urani A, Inta I, Sanchis-Segura C, Brandwein C, Zink M, et al. IL-6 knockout mice exhibit resistance to stress-induced development of depression-like behaviors. *Neurobiol Dis.* 2006; 23(3): 587-94.

40. Murray CJ, Lopez AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet.* 1997; 349(9064): 1498-504.

41. Willner P, Mitchell P. The validity of animal models of predisposition to depression. *Behav Pharmacol.* 2002; 13(3): 169-88.

42. Hua-cheng Y, Cao X, Das M. Behavioral animal models of de-pression. *Neurosci Bull.* 2010; 26(4): 327-37.