

Effects of Prenatal Stress on Anxiety of Behavior and Learning and Memory of Offspring Rats

Yinghong Jiang, Yiqiang Wang, Bo Lian, Gang Wang, Hongwei Sun, Nengzhi Jiang, Lin Sun*

Department of Psychology, Weifang Medical University, Weifang Shandong
Email: *linsun2013@wfmc.edu.cn

Received: Apr. 28th, 2016; accepted: May 13th, 2016; published: May 20th, 2016

Copyright © 2016 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

Objective: To determine the effect of prenatal chronic unpredictable mild stress (CUS) during the pregnancy on the behavior parameters of learning and memory and anxiety of the rat offspring. **Methods:** The prenatal CUS model was adopted. During pregnancy to fertility, the mothers of CUS group underwent two stimuli daily randomly (such as wet, 45° inclined cage, cage ban water feed, bound to stimulate, etc.); While the mothers of control group didn't deal with any processing. The offspring rats from each group were examined in Morris Water Maze at preadolescence (28 d) and postpubescence (49 d), and examined the spontaneous behavior and anxiety behavior by the open-field test at postpubescence (49 d). **Results:** CUS influences on growth of rat body weight ($F = 13.098$, $*P < 0.05$), in the middle of the puberty (42 d - 49 d), have bigger difference (42 d: $F = 1.000$, $**P < 0.001$; 47 d: $F = 0.173$, $**P < 0.001$), and there was no significant difference in the search for the platform of the incubation period between the offspring rats of stress group and offspring rats of control group offspring at preadolescence (28 d) and postpubescence (49 d) ($F = 0.246$, $P = 0.695$), while there was also a difference in the search strategy of straight and random patterns in postpubescence (49 d) offspring rats ($F = 4.016$, $*P < 0.05$). The horizontal and vertical mobility of the offspring rats of stress group was less than the offspring rats of control group, the difference is statistically significant (Crossing: $F = 0.1543$, $**P < 0.001$; Upright: $F = 1.764$, $P = 0.002$; Comb: $F = 1.287$, $**P < 0.001$). **Conclusion:** Prenatal stress will affect the development of the offspring rats memory cognitive, damage the ability of learning and memory of early childhood and adolescence, and easy to cause anxiety.

Keywords

Prenatal Stress, Chronic Mild Unpredictable Stress (CUS), Offspring Rats, Learning and Memory, Anxiety

*通讯作者。

产前应激对子代大鼠学习记忆及焦虑行为的影响研究

蒋英虹, 王义强, 连波, 王钢, 孙宏伟, 姜能志, 孙琳*

潍坊医学院心理学系, 山东 潍坊

Email: *linsun2013@wfmc.edu.cn

收稿日期: 2016年4月28日; 录用日期: 2016年5月13日; 发布日期: 2016年5月20日

摘要

目的: 探讨母鼠妊娠后经历慢性轻度不可预计应激对其子代学习记忆和焦虑行为的影响。方法: 应激组母鼠在怀孕时进行慢性应激干预, 每日随机选取两种刺激(如湿笼、禁水食、束缚刺激等); 而对照组母鼠不进行任何处理。子代大鼠于青春前期(28 d)和青春后期(49 d)进行Morris水迷宫试验; 并在青春后期(49 d)进行旷场实验。结果: 对照组子鼠相比, 应激组子鼠体重增长明显减缓($F = 13.098, *p < 0.05$), 在青春期中期(42 d~49 d)有较大的差异(42 d: $F = 1.000, **P < 0.001$; 47 d: $F = 0.173, **P < 0.001$); 青春前期(28 d)和青春后期(49 d)应激组子鼠在寻找平台的潜伏期较对照组没有明显差异, 在青春前期, 对照组与应激组子鼠在时间上并没有显著差异($F = 0.246, P = 0.695$), 但是在路程上具差异显著具有统计学意义($F = 4.016, *P = 0.002$); 而在青春后期, 对照组与应激组子鼠在时间和路程上都差异不显著, 无统计学意义; 并且应激组子鼠的水平活动能力与垂直活动能力明显少于对照组子鼠(穿格数: $F = 0.1543, **P < 0.001$; 直立次数: $F = 1.764, P = 0.002$; 梳理次数: $F = 1.287, **P < 0.001$)。结论: 产前应激会损伤子代大鼠的记忆认知的发展并导致幼儿期及青春期学习记忆能力的减退, 易引发焦虑情绪和行为。

关键词

产前应激, 慢性轻度不可预计应激, 子代大鼠, 学习记忆, 焦虑

1. 引言

应激(stress)是机体受到各种内外环境和社会、心理等因素一定程度伤害刺激时所表现的非特异性全身反应。随着现代工作和生活节奏加快, 妇女在妊娠期受到的应激也渐渐增多, 广泛的心理社会应激将会对母体和子代产生更为深远的影响, 比如造成怀孕母亲产生紧张、恐怖、焦虑、抑郁情绪等影响[1]。产前应激(Prenatal Stress, PS)作为应激中的一个特例, 其对子代的神经生物学及行为学影响受到了越来越多研究学者的重视[2] [3]。在调查研究中发现孕期应激与子代出生后的生理、认知以及情绪异常密切相关[4], 而且会造成子代精神病患病的增加[5]。还有学者研究提出产前应激能导致子代永久性的HPA轴功能的修饰和行为学的改变, 如: 行为学异常, 器官形态的改变以及其他内分泌异常, 对子代青春前期、青春后期以及老年期都产生影响[6]。

通常认为, 急性应激可逆性地影响机体的认知功能, 应激过后认知功能可以恢复; 而慢性应激的作用持续而长久的[7]。有研究表明[8], 人类受到长期、慢性、低强度的日常生活压力和应激是引发抑郁的主要原因, 并且妊娠期妇女更易受到日常生活压力和应激, 因此检测PS的行为改变显得尤其重要。慢

性轻度不可预计性应激(chronic unpredictable mild stress, CUS)动物模型从 Paul Willner [9]发明至今, 已被广泛用于抑郁障碍疾病的相关研究, 并且与其他动物模型相比更能模拟人类日常生活中所遭遇的各种刺激, 与临床抑郁症具有更强的病因学关联性, 对心理应激研究方面具有重大意义[10]。

本研究模拟孕期个体接受日常生活压力和应激, 建立母鼠产前应激的 CUS 动物模型, 研究母代大鼠产前应激致子代大鼠行为学发生何种的改变。通过探索子代从出生到青春期的一般生长发育、认知学习能力、精神行为, 揭示产前 CUS 对子代大鼠的心理行为学影响, 对妇女的优生优育和研究青少年青春期行为异常具有指导意义。

2. 材料和方法

2.1. 产前慢性轻度不可预计性应激模型建立

实验由潍坊医学院动物饲养中心提供 Wistar 大鼠, 采用成年雌性大鼠(250 g~300 g)和成年雄性大鼠晚 7:00 进行合笼, 次日进行阴道涂片, 以精子阳性作为妊娠第 0 天。将妊娠母鼠随机分为应激组和对照组。应激组母鼠接受慢性轻度不可预计性应激, 主要包括昼夜颠倒、关灯 3 h (10:00~13:00)、隔离居住、潮湿垫料(干净木屑加水, 充分混合直至潮湿后替换鼠笼内的垫料)、束缚(自制束缚桶, 塑料做成, 长 20 cm, 直径 10 cm, 头为直径 4 cm 的出气孔, 中干及尾部直径 8 cm, 尾部可开合, 4 h)、噪音、斜笼、禁水禁食 12 h, 每日随机抽取 2 种刺激, 直至子鼠出生。对照组母鼠保持正常饲养。两组子代大鼠自出生后每周进行体重测量, 且待产后 21 d 分笼, 并分别进行行为学实验检测。

2.2. 行为学检测

2.2.1. 测量体重

子鼠出生后每周均称量体重, 观察两组子鼠体重变化情况, 并记录好实验数据。

2.2.2. Morris 水迷宫

水迷宫实验主要测试动物对空间位置觉和方向觉的学习记忆能力[11]。实验开始时, 采用直径 150 cm 的圆形水桶, 水深 22 cm 左右, 在水平线处 2 cm 处放置一个直径为 8 cm 的圆台, 将大鼠头朝池壁放入水中, 放入位置随机抽取四个象限中央位置为四个起始位置之一。记录动物找到水下平台的时间(s)。在前几次训练中, 如果时间超过 90 s, 则引导子鼠找到平台, 让子鼠在平台上停留 10 s, 每只子鼠每天测量 1 次, 连续训练 3 d, 记录子鼠找到平台的平均时间及寻找平台的平均路程, 以此作为空间记忆的检测指标。

2.2.3. 旷场实验

实验开始前 30 分钟, 待动物安静下来后进行旷场实验。立方开敞白箱, 长 × 宽 × 高: 80 cm × 80 cm × 30 cm; 用电脑软件 smart 3.0 在底面划分为 25 块面积相等的正方格, 实验开始时, 将老鼠放在敞箱的一角, 保证每一次进入的位置相同。每次测量时间为 5 分钟, 记录下子鼠穿越的水平格子数(三爪均入方格记为一次)、后肢站立次数(两前爪腾空离地 1 cm 以上或者攀爬壁可计一次)和理毛次数、正中格停留时间、粪便粒。

2.3. 统计学处理

采用统计软件 SPSS 进行统计学处理, 所有的计量资料用算数平均数±标准差(Mean ± SD)表示; 以 * $P < 0.05$ 作为有统计学差异的标准, 体重数据分析采用重复测量资料的方差分析, 水迷宫及旷场数据各组样本间比较采用独立样本 t 检验, 水迷宫组内比较采用配对样本 t 检验。

3. 结果

3.1. 一般结果分析

在实验过程中, 对照组子鼠与应激组子鼠在日常行为及生活习性上有差异。应激组子鼠进食和进水量减少, 各项活动减少, 易急躁具有攻击行为, 活动范围减少, 皮毛失去光泽; 对照组大鼠活动正常, 皮毛舒展光亮。

3.2. 体重结果分析

子代大鼠分别于 7 d、14 d、21 d、28 d、35 d、42 d、49 d、56 d 进行体重的称量, 取其平均数 \pm 标准差(Mean \pm SD), 经重复测量资料的方差分析, 发现应激组子鼠体重与对照组子鼠差异具有统计学意义($F = 13.098, *P = 0.003$), 21 d 前对照组和应激组的子鼠体重没有明显的变化, 而 21d 后对照组的子鼠体重上升幅度大于应激组, 到 42 d ($F = 1.000, \#P < 0.001$)与 47 d ($F = 0.173, \#P = 0.001$)对照组与应激组的体重差异都显著, 具有统计学意义。此结果表明孕期处于慢性应激状态对子鼠体重增长有影响, 尤其对青春期中期(42 d~49 d)子鼠影响显著(见图 1)。

3.3. 水迷宫实验结果分析

两组子鼠在 28 d 和 49 d 进行水迷宫实验, 每次连续 3 d 并记录下大鼠在迷宫中总共游行的路程和找到平台的平均时间。两组子鼠在青春期前期(28 d)至青春期后期(49 d)所走的路程与所花费的时间都呈减少趋势, 但是差异不显著没有统计学意义。在青春期前期, 对照组与应激组子鼠在时间上并没有显著差异($F = 0.246, P = 0.695$), 但是在路程上具差异显著具有统计学意义($F = 4.016, *P = 0.002$); 而在青春期后期, 对照组与应激组子鼠在时间和路程上都差异不显著, 没有统计学意义(见图 2, 图 3)。

3.4. 旷场实验结果分析

对照组子鼠与应激组子鼠在一系列行为学观测指标如穿格数、直立、梳理、穿越正中格的时间等的比较, 对照组和应激组的穿格数($F = 0.1543, **P < 0.001$)、直立次数($F = 1.764, *P = 0.002$)、梳理次数($F = 1.287, **P < 0.001$)数据差异显著, 具有统计学意义, 两组对比应激组的水平活动能力与垂直活动能力都大于对照组的子鼠。而大便粒和正中格时间, 应激组大便粒数量多于对照组, 应激组穿过正中格时间小于对照组, 但差异不显著, 没有统计学意义(见表 1)。

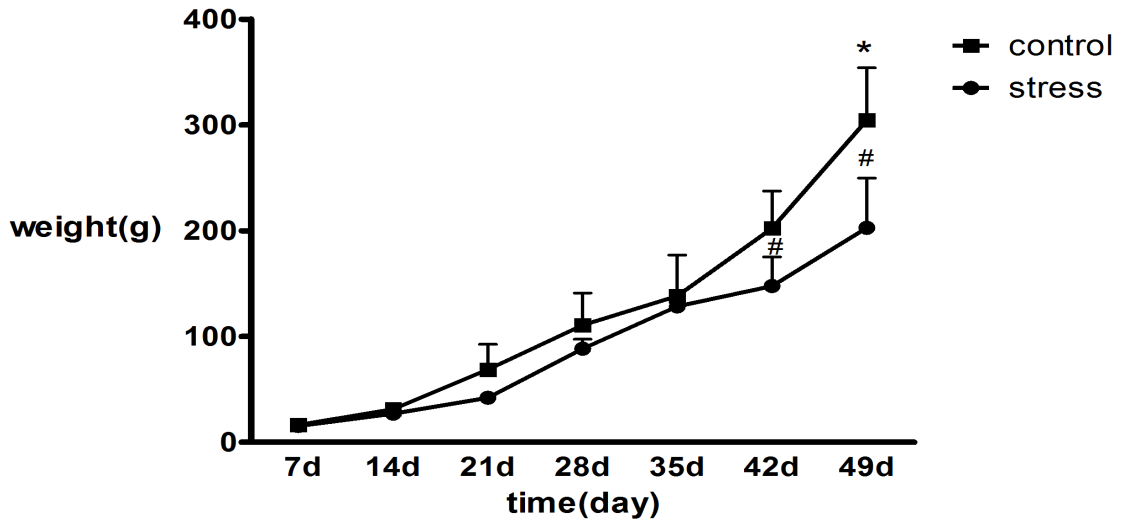
4. 讨论

本实验参考慢性不可预计的温和型应激模型和孤养模型[12], 并加以改进, 模拟现实生活中孕期个体接受日常生活压力和应激, 选取多种随机应激方式, 使其形成一种温和的不可预知的应激, 避免动物对同种刺激产生耐受性。动物实验虽然不能完全模拟出社会心理应激, 但本实验尽可能多的模拟怀孕母亲在现实生活中比较常见的产前应激现象, 如生活环境不良, 易受到惊吓, 饮食受限, 生活空间变小等。

选用母鼠均为初次妊娠, 应激组子鼠 10 只, 对照组子鼠 14 只符合统计学要求, 而且尽可能在完成实验的情况下采取最小只数, 符合伦理学要求。待产后 21 d 分笼, Eldridge, J. C 等验证公鼠的青春期是 39 d~47 d, 而母鼠的青春期是 34 d~38 d [13]。所以在子鼠的 21 d~56 d 进行行为学实验, 此时期为子鼠的幼儿期及青春期符合研究的时间段。

体重变化是实验动物的一个比较显著的变化指标, 也是实验者容易忽视的一个指标。子鼠出生后的 1 d~49 d 每周测量体重, 结果显示两组子代小鼠出生后体重均随着出生后天数的增加而增加, 但是应激组子鼠出生后体重增长显著迟于对照组子代小鼠, 且出生 21 d 后对照组体重与应激组体重差异显著, 具

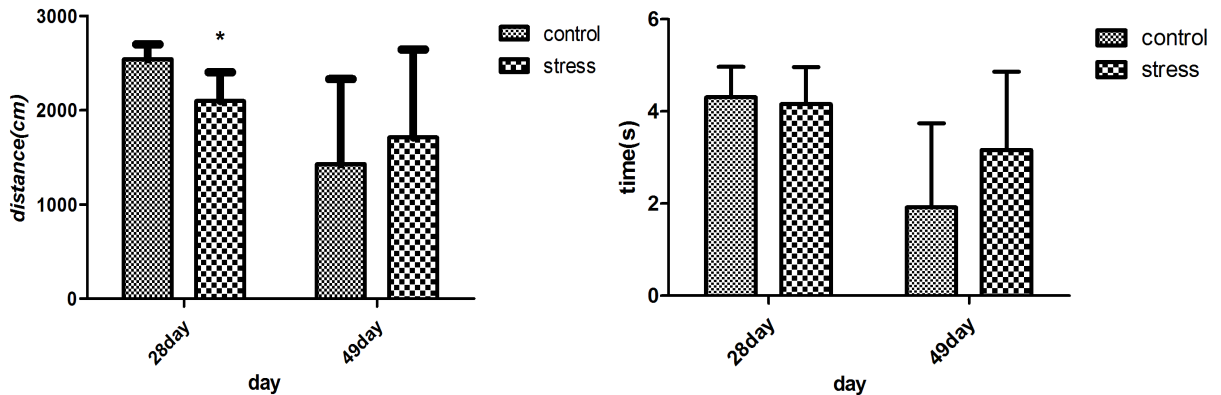
有统计学意义。并且在前 21 d 应激组与对照组的子鼠体重差异不大，到青春期后期应激组体重远小于对照组体重，差异具有统计学意义。结果说明产前慢性不可预计性应激会影响子代的发育，可能会对子代青春期的体重影响更明显，导致体重减轻。内外多项研究表明在慢性应激过程中，下丘脑 - 垂体 - 肾上



(* $P < 0.05$ vs 组间比较, # $P < 0.05$ vs 组内比较)

Figure 1. Body weights of control and stress groups

图 1. 对照组和应激组子鼠体重变化趋势图



(* $P < 0.05$ vs 对照组子鼠)

Figure 2. The water maze distance and latency of control and stress groups

图 2. 对照组与应激组子鼠水迷宫距离及潜伏期比较

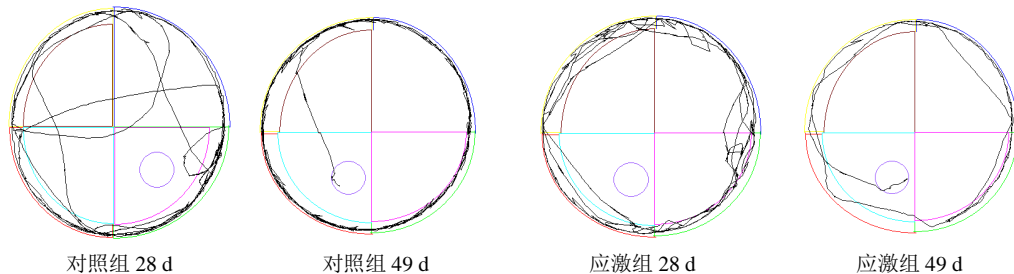


Figure 3. The water maze map of control and stress groups

图 3. 对照组和应激组小鼠水迷宫路线图

Table 1. The results of the Crossing, Upright, Comb, Defecate and the central-lattice time in the open-field test of the offspring rats in different groups**表 1.** 不同组别子代大鼠在旷场实验中的穿格数、直立、梳理、大便粒、正中格时间的比较(Mean \pm SEM)

	Control (n = 10)	Stress (n = 14)	F	P
穿格数	35.07 \pm 22.45	85.6 \pm 25.92	0.153	0.000**
直立	13.36 \pm 7.36	27.1 \pm 9.93	1.764	0.002*
梳理	1.29 \pm 1.14	4.5 \pm 1.51	1.287	0.000**
大便粒	1.8 \pm 2.74	3.57 \pm 3.11	0.005	0.155
正中格时间	0.14 \pm 0.36	0.1 \pm 0.32	0.373	0.176

(* $P < 0.05$, ** $P < 0.001$ vs 对照组)。

腺皮质轴(HPA)的激活和糖皮质激素(GC)持续增高[14]; 而肾上腺皮质激素在大鼠中主要是皮质酮(盐皮质激素), 已有研究表明注射皮质酮可以使机体对胰岛素的敏感性增加、食物的摄入减少, 从而使体重减轻[15]。此外还有研究认为孕期受到应激, “HPA 轴”被持续激活导致体内糖皮质激素水平增加, 过量糖皮质激素通过胎盘传递给胎儿, 通过胎儿的糖皮质激素受体进一步改变胞内基因表达, 最终导致子代发育的改变[16]。所以应激组的体重减轻可能由于母鼠受到慢性不可预计性应激, 导致体内糖皮质激素改变并且影响胎儿的糖皮质激素受体, 而过量的皮质酮会导致机体食物摄入减少, 体重减轻。

水迷宫实验在小鼠试验中常用于检测空间学习和记忆功能[17]。本实验采取 3 天短时间版本的水迷宫实验[18] [19]。旨在研究慢性轻度不可预计性应激对子鼠不同年龄阶段的空间学习记忆能力的影响。结果显示: 组内对比中, 同组的子鼠 28 d 与 49 d 相比差异都不显著, 但是找到平台所游的路程与找到平台所花费的时间 49 d 相比 28 d 要短, 说明可能经过经验学习后, 空间学习记忆能力有所提高; 在组间比较中, 在子鼠青春期前期(28 d), 对照组与应激组在时间上并没有显著差异, 但是在路程上具差异显著, 而在青春期后期(49 d), 对照组与应激组在时间和路程上都差异不显著, 没有统计学意义, 但是应激组找到平台所花费的时间和找平台所游得距离都大于对照组。慢性轻度不可预计性应激在不同年龄段对子鼠的空间学习能力产生影响, 可能会导致子鼠在青春期空间学习能力下降。以往已有慢性轻度不可预计性应激大鼠较正常大鼠显示出海马相关空间学习记忆功能明显受损[20] [21], 与本研究结果类似。同时另有孕期应激对子代影响的研究报导, 孕期应激能导致子代成年后空间学习记忆的损害, 且与海马神经再生受抑制密切相关[22]。研究发现, 空间学习记忆障碍的儿童在焦虑、强迫及攻击性方面显著高于正常儿童, 提示儿童情绪障碍和攻击行为可能与海马相关空间学习记忆缺陷相关[23]。所以产前慢性不可预计性应激影响子代的空间学习记忆能力, 同时也会进一步影响儿童及青春期的其他行为。

旷场实验是评价实验动物在新异环境中的探索行为, 是探究自发行为与焦虑行为的一种方法[24]。经过的格子数反应大鼠的兴奋性和活动度, 后肢站立的次数代表大鼠对陌生环境的适应能力[25]。本次实验中对照组和应激组的旷场实验穿过格子数与直立次数, 对照组的次数大于应激组的次数, 与 Vallee. M 的产期应激子代大鼠与对照组子代大鼠相比表现出更多探索行为即行走的总路程增多[26]实验结果一致。应激组的子鼠出现活动过度, 兴奋和焦虑的机制, 说明产前慢性不可预计性应激可能会导致子鼠出现活动量过多、焦虑易怒等异常行为。有实验表明, 孕中期开始每天给予 2 小时的束缚刺激(慢性不可预计性应激)可使子代的自主活动增加 40%~50% [27]。还有研究表明, 清洁次数(梳理)反映了大鼠对周围环境的警觉性和对自身的关注; 粪便粒数是大鼠紧张程度的表现[28]。本实验结果应激组梳理次数大于对照组, 同时应激组大便粒也多于对照组的, 说明受到产前慢性轻度不可预计应激的子鼠警觉性变强、紧张程度加深, 同时也说明焦虑程度较严重。

5. 总结和展望

综上所述, 产前慢性轻度不可预计性应激影响子代大鼠青春期的成长发育; 可能会损伤子代大鼠的记忆认知发展并导致幼儿期及青春期学习记忆能力的减退; 同时也会导致子代大鼠活动量增加, 出现焦虑样行为, 可能导致子鼠青春期精神行为异常几率增加。产前慢性轻度不可预计性应激是妊娠妇女不可避免的, 关注妇女的优生优育就不能忽视其妊娠期的应激; 而青春期是人类发展的第二个转折阶段, 同时也是生理和心理发展的一个重要阶段, 随着社会的发展关注青少年发展变得尤为重要。本实验探究产前应激对子代青春期的行为学影响, 同时也存在很多局限性。在未来研究中, 基于现有研究结果我们需要进一步检测脑内应激相关分子蛋白的表达水平如海马区以及前额叶皮层, 为产前应激对子代大鼠成长发育, 空间学习能力以及焦虑样行为提供更充分的分子生物学证据, 以及在未来研究中还需要对产后应激对子代的成年期以及老年期的神经心理行为影响再进行更深一步的纵向探索。

基金项目

山东省优秀中青年科学家科研奖励基金计划项目: BS2014YY043; 山东省自然科学基金项目: ZR2014CL012; 潍坊医学院科技创新研究基金项目: K1301011。

参考文献 (References)

- [1] Conrad, C.D. (2010) A Critical Review of Chronic Stress Effects on Spatial Learning and Memory. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, **34**, 742-755. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2009.11.003>
- [2] Kofman, O. (2002) The Role of Prenatal Stress in the Etiology of Developmental Behavioural Disorders. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **26**, 457-470. [http://dx.doi.org/10.1016/S0149-7634\(02\)00015-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0149-7634(02)00015-5)
- [3] Weinstock, M. (2005) The Potential Influence of Maternal Stress Hormones on Development and Mental Health of the Offspring. *Brain, Behavior, and Immunity*, **19**, 296-308. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2004.09.006>
- [4] King, S., Mancini-Marie, A., Brunet, A., Walker, E., Meaney, M.J. and Laplante, D.P. (2009) Prenatal Maternal Stress from a Natural Disaster Predicts Dermatoglyphic Asymmetry in Humans. *Development and Psychopathology*, **21**, 343-353. <http://dx.doi.org/10.1017/S0954579409000364>
- [5] Wadhwa, P.D., Sandman, C.A. and Garite, T.J. (2001) The Neurobiology of Stress in Human Pregnancy: Implications for Prematurity and Development of the Fetal Central Nervous System. *Progress in Brain Research*, **133**, 131-142. [http://dx.doi.org/10.1016/S0079-6123\(01\)33010-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0079-6123(01)33010-8)
- [6] Kapoor, A., Dunn, E., Kostaki, A., Andrews, M.H. and Matthews, S.G. (2006) Fetal Programming of Hypothalamo-Pituitary-Adrenal Function: Prenatal Stress and Glucocorticoids. *The Journal of Physiology*, **572**, 31-44. <http://dx.doi.org/10.1113/jphysiol.2006.105254>
- [7] 武捷, 宋天保, 张征宇, 等. 产前应激对子代大鼠学习记忆的影响[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2003, 24(6): 572-574.
- [8] Akil, H. (2005) Stressed and Depressed. *Nature Medicine*, **11**, 116-118. <http://dx.doi.org/10.1038/nm0205-116>
- [9] Paul, W. (1997) Validity, Reliability and Utility of the Chronic Mild Stress Model of Depression: A 10-Year Review and Evaluation. *Psychopharmacology (Berl)*, **134**, 319-329. <http://dx.doi.org/10.1007/s002130050456>
- [10] Anisman, H. and Matheson, K. (2005) Stress, Depression, and Anhedonia: Caveats Concerning Animal Models. *science & Biobehavioral Reviews*, **29**, 525-546. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2005.03.007>
- [11] Liu, Y.X., Hu, J.H. and Zhu, Q.G. (2008) A New Method to Make Water for the Morris Water Maze. *Laboratory Animal and Comparative Medicine*, **28**, 243-245.
- [12] Wang, Z., Hu, S.Y., Song, C.H., Peng, G.J. and Huang, C.Y. (2004) Effect of Baisong Tablet on Behavior and CORT, ACTH in Plasma of Chronic Stress Depression Rats. *Chinese Journal of Clinical Psychology*, **12**, 14-17.
- [13] Eldridge, J.C., Wetzel, L.T. and Tyrey, L. (1999) Estrous Cycle Patterns of Sprague-Dawley Rats during Acute and Chronic Atrazine Administration. *Reproductive Toxicology*, **13**, 491-499. [http://dx.doi.org/10.1016/S0890-6238\(99\)00056-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0890-6238(99)00056-8)
- [14] Cryan, J.F., Mombereau, C. and Vassout, A. (2005) The Tail Suspension Test as a Model for Assessing Antidepressant Activity: Review of Pharmacological and Genetic Studies in Mice. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **29**, 571-625. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2005.03.009>

- [15] Nilsson, C., Jennische, E., Ho, H.P., Eriksson, E., Björntorp, P. and Holmång, A. (2002) Increased Insulin Sensitivity and Decreased Body Weight in Female Rats After Postnatal Corticosterone Exposure. *European Journal of Endocrinology*, **146**, 847-854. <http://dx.doi.org/10.1530/eje.0.1460847>
- [16] Kapoor, A., Kostaki, A., Janus, C. and Matthews, S.G. (2009) The Effects of Prenatal Stress on Learning in Adult Offspring Is Dependent on the Timing of the Stressor. *Behavioural Brain Research*, **197**, 144-149. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2008.08.018>
- [17] Morris, R. (1984) Developments of a Water-Maze Procedure for Studying Spatial Learning in the Rat. *Journal of Neuroscience Methods*, **11**, 47-60. [http://dx.doi.org/10.1016/0165-0270\(84\)90007-4](http://dx.doi.org/10.1016/0165-0270(84)90007-4)
- [18] Jaffard, R.J., Bontempi, B. and Menzaghi, F. (2001) Theoretical and Practical Considerations for the Evaluation of Learning and Memory in Mice. *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience*, **FL**, 301-329.
- [19] Sun, L., Lam, W.P., Wong, Y.W., Lam, L.H., Tang, H.C., Wai, M.S., et al. (2012) Permanent Deficits in Brain Functions Caused by Long-Term Ketamine Treatment in Mice. *Human & Experimental Toxicology*, **30**, 1287-1296. <http://dx.doi.org/10.1177/0960327110388958>
- [20] Cuadrado-Tejedor, M., Ricobaraza, A., Del, R.J., Frechilla, D., Franco, R., Pérez-Mediavilla, A., et al. (2011) Chronic Mild Stress in Mice Promotes Cognitive Impairment and CDK5-Dependent Tau Hyperphosphorylation. *Behavioural Brain Research*, **220**, 338-343. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2011.01.005>
- [21] Conrad, C.D. (2010) A Critical Review of Chronic Stress Effects on Spatial Learning and Memory. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, **34**, 742-755. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpb.2009.11.003>
- [22] Lemaire, V., Koehl, M., Le, M.M. and Abrous, D.N. (2009) Prenatal Stress Produces Learning Deficits Associated with an Inhibition of Neurogenesis in the Hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **7**, 11032-11037.
- [23] 王庆雄, 静进, 蔡小梅, 等. 非言语型学习障碍儿童视觉空间认知特征与行为问题[J]. 中国心理卫生杂志, 2005, 19(1): 15-18.
- [24] 王维刚, 刘震泽, 吴文婷, 等. 小鼠动物实验方法系列专题(七)旷场实验在小鼠行为分析中的应用[J]. 中国细胞生物学学报, 2011, 33(11): 1191-1196.
- [25] Casu, M.A., Pisu, C., Sanna, A., Tambaro, S., Spada, G.P., Mongeau, R., et al. (2005) Effect of 9-Tetrahydrocannabinol on Phosphorylated CREB in Rat Cerebellum: An Immunohistochemical Study. *Brain Research*, **1048**, 41-47. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2005.04.053>
- [26] Vallée, M., Mayo, W., Dellu, F., Le, M.M., Simon, H. and Maccari, S. (1997) Prenatal Stress Induces High Anxiety and Postnatal Handling Induces Low Anxiety in Adult Offspring: Correlation with Stress-Induced Corticosterone Secretion. *The Journal of Neuroscience*, **17**, 2626-2636.
- [27] Martínez-Téllez, R.I., Hernández-Torres, E., Gamboa, C. and Flores, G. (2009) Prenatal Stress Alters Spine Density and Dendritic Length of Nucleus Accumbens and Hippocampus Neurons in Rat Offspring. *Synapse*, **63**, 794-804. <http://dx.doi.org/10.1002/syn.20664>
- [28] 王建醒, 周丽, 徐华锋, 等. 慢性应激大鼠抑郁模型的建立及其评价[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2006, 27(6): 644-646.