

大鼠爬板实验装置的设计制作及其 在脑损伤实验中的应用

张黎黎¹, 田顺亮²

(1. 广西桂林医学院附属医院心胸外科, 桂林 541001; 2. 广西桂林医学院人体解剖学教研室, 桂林 541004)

【摘要】 目的 设计制作一种大鼠爬板实验装置, 以使科研工作者能轻松快捷地通过爬板实验检测大鼠脑损伤后神经功能的改变, 并提高实验数据的准确性。**方法** 将成年雄性 SD 大鼠随机分为 $T\beta_4$ 组、PBS 组和 sham 组。分别采用新装置和原装置对 3 组大鼠进行爬板实验, 检测记录术后 1~7d 的神经功能缺失评分, 并进行统计分析。结果 用新装置进行检测: $T\beta_4$ 组和 PBS 组的神经功能缺失评分均在逐步平缓下降, 5 d 后, 仍可检测到神经功能缺失; 两组之间的差异 ($P < 0.05$) 在 3 d 后, 均可检出。 $T\beta_4$ 组与 sham 组之间的差异 ($P < 0.05$), 前 3d 均可检出。 PBS 组与 sham 组之间的差异 ($P < 0.05$), 术后一直可以检出。用原装置进行检测: $T\beta_4$ 组和 PBS 组的神经功能缺失评分呈跳跃式下降, 5 d 后, 不再能检出神经功能缺失; 两组之间的差异 ($P < 0.05$), 只在第 4 天时检出。 $T\beta_4$ 组与 sham 组之间的差异 ($P < 0.05$), 只在前 2 d 检出。 PBS 组与 sham 组之间的差异 ($P < 0.05$), 只在前 4 d 检出。结论 新的实验装置制作简单, 实验操作便利; 可以提高实验数据的准确性, 能更好地检测出因实验因素所造成的统计学差异。

【关键词】 大鼠; 爬板实验; 脑损伤; 神经功能缺失评分

【中图分类号】 Q95-337; R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2012)06-0048-05

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2012.06.011

The Design and Making of an Experimental Apparatus for Rat Climbing Board Test and Application in the Rats with Cerebral Injury

ZHANG Li-li¹, TIAN Shun-liang²

(1. Department of Cardiothoracic Surgery, Affiliated Hospital, Guilin Medical University, Guilin 541001, China;

2. Department of Human Anatomy, Guilin Medical University, Guilin 541004, China)

【Abstract】 Objective To design and make an experimental apparatus so that the researchers can easily and quickly detect the neural function deficits of rats after cerebral injury by means of climbing board test, and to improve the precision of the experimental data. **Methods** The male adult SD rats were randomly divided into three groups: $T\beta_4$ group, PBS group and Sham group. From the 1st to the 7th day after operation, the new apparatus and the primary one were applied separately in the climbing board test to detect the neural function deficits of rats of the three groups. The nerve function loss score was recorded and analyzed by statistical methods. **Results** Results based on the new apparatus: Both the nerve function loss score of the $T\beta_4$ group and that of the PBS group decreased gradually, and the neural function deficits could still be detected five days later. The statistical difference ($P < 0.05$) between the two groups could be checked out three days later. The statistical difference ($P < 0.05$) between the $T\beta_4$ group and the Sham group could be detected in the earlier three days. The statistical difference ($P < 0.05$) between the PBS group and the Sham group could

[作者简介] 张黎黎 (1981 -), 女, 本科, 护师, 研究方向: 外科护理和心理护理。E-mail: summer238@163.com。

[通讯作者] 田顺亮 (1968 -), 男, 硕士, 副教授, 研究方向: 脑缺血和临床应用解剖学。E-mail: tianshunliang238@163.com。

be found during the seven days after operation. Results based on the primary apparatus: Both the nerve function loss score of the $T\beta_4$ group and that of the PBS group decreased sharply, and the neural function deficits couldn't be detected five days later. The statistical difference between the two groups could be found only at the 4th day. The statistical difference ($P < 0.05$) between the $T\beta_4$ group and the Sham group could be detected only in the earlier two days. The statistical difference ($P < 0.05$) between the PBS group and the Sham group could be found only in the earlier four days. **Conclusion** The new experimental apparatus is easily to be made and can be operated conveniently in experiment. It can increase the precision of experimental data, and has better function to detect the statistical differences resulted from the experimental factors.

【Key words】 Rat; Climbing board test; Cerebral injury; Nerve function loss score

在脑损伤实验中,常用大鼠作为实验动物建立脑损伤模型。大鼠脑损伤后,爬板实验是检测其神经功能改变的一种常用方法^[1,2]。在以往的试验中,爬板实验中多采用有机玻璃板外面蒙以丝网作为爬板^[3]。由于这种爬板缺少其它的附属装置,常需要 2 个人一起才能完成实验检测;而且由于爬板缺乏良好的固定支撑,常导致实验中爬板发生不必要的位置移动,实验数据误差较大;由于爬板只能向一端倾斜,放置鼠的位置和方向受到了限制,当测试过程中,大鼠出现了调头爬行,就须重新检测;当大鼠从爬板上滑脱到地面上时,会发生大鼠的逃逸、躲藏,难以找寻和捕捉,给实验带来很大的不便。

为了使科研工作者能轻松快捷地通过爬板实验检测大鼠脑损伤后神经功能的改变,并提高实验数据的准确性,防止实验中大鼠逃逸,特设计制作了一种经济实用的爬板装置,以保证实验检测的顺利进行。

1 材料和方法

1.1 爬板实验装置的制作材料和方法 (见图 1)

底槽的制作:选厚度为 1.5 cm 的木板,锯切成左右长 140 cm,上下高 20 cm 的底槽前板和底槽后板,以及左右长 140 cm,前后宽 20 cm 的底槽底板。用螺丝钉将底槽前板和底槽后板分别固定在底槽底板的前、后侧面上,制作成底槽。底槽两侧自然形成左、右两个缺口。

活动挡板的制作:选厚度为 1.5 cm 的泡沫塑料板,裁切成水平部:左右宽 6 cm,前后长 20 cm,垂直部:上下高 17 cm,前后宽 20 cm 的左挡板和右挡板。

活动挡板与底槽的连接:将左挡板和右挡板的水平部,沿着底槽底板分别经左缺口和右缺口推向底槽内,至两挡板的垂直部正好将底槽的左缺口和右缺口封闭。

竖杆的制作:选厚度为 1 cm 的木板,锯切成上

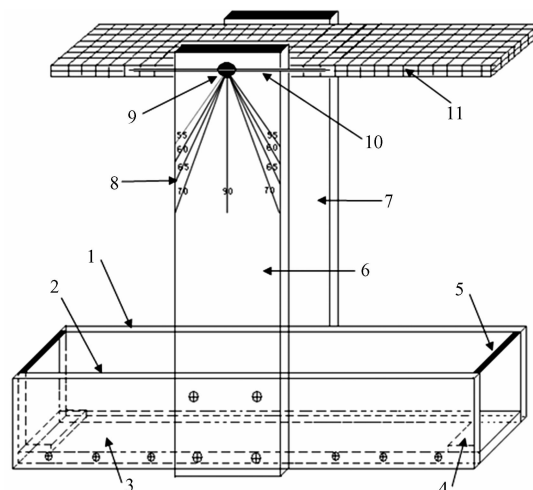


图 1 大鼠爬板实验装置示意图

Fig. 1 Sketch map of the experimental apparatus for rat climbing board test

注:1.底槽后板;2.底槽前板;3.底槽底板;4.活动挡板水平部;5.活动挡板垂直部;6.前竖杆;7.后竖杆;8.倾斜角刻度标示;9.转轴;10.指针;11.爬板

Note: 1. Posterior plate of basal box; 2. Anterior plate of basal box; 3. Bottom plate of basal box; 4. Horizontal part of movable baffle plate; 5. Vertical part of movable baffle plate; 6. Anterior vertical pole; 7. Posterior vertical pole; 8. Scale of slant angle; 9. Spin axis; 10. Pointer; 11. Climbing board

下高 58 cm,左右宽 10 cm 的前竖杆和后竖杆。在两竖杆上部距顶端 5 cm 处的中央位置,钻一直径为 0.42 cm 的孔,以孔为圆心,在孔的水平线下方用碳素笔做 55°、60°、65°、70°和 90°倾斜角刻度标示。

竖杆与底槽的连接:将前竖杆和后竖杆的下端分别与底槽前板和底槽后板侧面的下端对齐,并用螺丝钉将其相互连接。

爬板的制作:选乳白色,厚度为 1.5 cm 的高密度板,锯切成左右长 100 cm,前后宽 19 cm 的主板,将孔径为 0.2 cm × 0.2 cm 的钢丝网蒙于主板的上面,并拉紧钢丝网绕经主板的侧面至主板的下面。取一左右长 95 cm,前后宽 10 cm,厚 0.5 cm 的木板,借助于小铁钉将钢丝网的断端固定于木板和主

板的下面之间,制作成爬板。在爬板前、后两侧面的中央部各钻一直径 0.3 cm,深 2.1 cm 的小孔。

转轴的制作:选两个长 5 cm 的螺丝钉作为爬板装置的转轴。转轴盖直径 1 cm,上有一横贯转轴盖的“一”形凹槽,凹槽宽 0.12 cm,深 0.15 cm。转轴体部直径为 0.4 cm,长 4.8 cm,其中螺纹部长 2.3 cm,光滑部长 2.5 cm。

爬板借转轴与竖杆的连接:将爬板置于前竖杆和后竖杆上部之间,使爬板上的小孔与前竖杆和后竖杆上的孔相对齐。将两个转轴的转轴体分别穿过前竖杆和后竖杆上的孔到达爬板侧面上的小孔,经小孔,将转轴体的螺纹部旋入爬板内,从而将爬板与前竖杆和后竖杆连为一体,而转轴体部的光滑部则留置于前竖杆和后竖杆上的孔内。当爬板向左、右倾斜运动时,其转轴的光滑部作为轴心在孔内转动。

指针的制作:取一直径 0.08 cm,长 15 cm 的不锈钢丝,将两端用砂轮打磨圆滑即制作成指针。

指针与转轴的连接:将转轴的螺纹部经爬板侧面上的小孔旋入爬板后的最终状态是:爬板和转轴盖上的“一”形凹槽 23 均处于水平位。此时,将指针水平置入凹槽 3 内,并将两者焊接牢固。

1.2 爬板实验装置的使用方法

实验检测时,将左挡板和右挡板的水平部,沿着底槽底板分别经左缺口和右缺口向底槽内推进,至两挡板的垂直部正好将底槽的左缺口和右缺口封闭,使底槽形成只有上口开放的空间,可防止实验中滑入底槽内大鼠的逃逸;实验者一只手把持爬板的一端,使爬板处于水平位;另一只手将大鼠置放于爬板的另一端,使鼠头朝向爬板被手所持的一端;将爬板鼠尾所指向的一端缓缓向下倾斜,此时,指针随同转轴伴随着爬板的倾斜而转动,并在倾斜角刻度标示上,指示出相应的倾斜角;当大鼠从爬板上向下滑脱时,记录下此时指针所指示倾斜角。根据评分标准,按照倾斜角大小,得出神经功能缺失分值。将大鼠从底槽中取出,放回饲养笼;检测结束时,将左挡板和右挡板分别从底槽的左缺口和右缺口处拉出,清理底槽中的鼠便。

1.3 爬板实验装置的在大鼠脑缺血实验中的应用

1.3.1 动物分组

将 24 只体重 250 ~ 300 g 的成年雄性 SD 大鼠随机分为 3 组。大鼠均由中国军事医学科学院实验动物中心提供,SCXK-[军]2007-004)。SYXK(津)

2008-0005。

T β_4 组:首先采用线栓法制作大脑中动脉栓塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型,随后腹腔注射用 0.01 mol/L 的 PBS 溶解的胸腺素 β_4 (thymosine β_4 , T β_4) (北京诺思兰德生物技术有限公司),注射剂量为 5 mg/kg·w;

PBS 组:在 MCAO 的基础上,腹腔注射与 T β_4 同等量的 PBS;

sham 组:进行假手术。

1.3.2 MCAO 的制备方法

按 350 mg/kg 体重的剂量,对大鼠行 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉;将大鼠仰卧固定于温控动物手术台上,术中温度保持在 37℃ $\pm$ 0.5℃;剃去大鼠颈部体毛,用碘伏消毒颈部皮肤;于正中偏右侧 0.5 cm 纵切颈部皮肤,切口长 1.5 ~ 2 cm;将右侧的下颌下腺向右侧分离牵拉,向深层分离浅、深筋膜,清晰显现右侧的二腹肌后腹、肩胛舌骨肌和胸乳突肌;在三块肌所围成的三角内,解剖分离出右侧的颈总动脉、颈内动脉和颈外动脉,用 4-0 号黑色丝线分别牵拉固定三个动脉,注意保护与动脉相邻的迷走神经、颈神经以及颈部的交感神经等;依次在近心端结扎颈外动脉和颈总动脉;距颈总动脉分叉处约 0.3 cm 处,在颈总动脉壁上做尖端朝向近心端的“V”形切口;用 4-0 尼龙线制成线栓(用赖氨酸包被,长 2.5 cm,直径 0.17 mm,头端被烧灼成直径约 0.28 mm 的圆滑小球),经“V”形切口插入右颈总动脉,并经右颈内动脉向颅内推进,推进深度为线栓头端距颈总动脉分叉处约 1.8 cm $\pm$ 0.2 cm,此时可阻断右侧大脑中动脉的血流;在右颈内动脉近颈总动脉分叉处结扎颈内动脉,固定线栓以防脱落;剪去线栓留在血管外的部分;将颈部各结构复位,缝合颈部皮肤。

1.3.3 假手术方式

与实验组和对照组手术方法基本相同,所不同的是:假手术组线栓推进的深度为线栓头端距颈总动脉分叉处约 1 cm,右侧大脑中动脉仍可借助于大脑动脉环获得血供。

1.3.4 爬板实验检测

应用爬板实验装置,在术后 1 ~ 7 d 分别采用新装置和原装置检测各组大鼠的神经功能缺失评分。爬板实验的评分方法是以大鼠从爬板上开始滑落时,爬板的倾斜角为依据进行打分,标准为:0 分: $\geq$ 70°;1 分: $\geq$ 65°;2 分: $\geq$ 60°;3 分: $\geq$ 55°;4 分: $\geq$

50°;5 分: <50°。每只鼠重复 3 次,取平均分作为最终评分。

1.3.5 统计分析

在不同的时间点上,对 3 组大鼠的神经功能缺失评分进行方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

3 组大鼠分别采用新装置和原装置进行爬板实验,所检测的神经功能缺失评分见表 1。

3 讨论

3.1 新装置检测结果的分析

用新爬板实验装置所检测的结果显示,术后 1 d, sham 组也有一定的神经功能缺失,这可能是因为手术的影响,以及右侧颈总动脉结扎所引起右脑短暂少量缺血而引起的神经功能改变;但由于分布到右侧大脑的大脑前、中、后动脉并未受线栓的阻塞,仍可通过大脑动脉环从椎动脉及对侧的颈总动脉获得足够的血供,所以症状轻微,且在术后 2 d,神经功能缺失评分即为 0 分。在术后 1 d、2 d, Tβ₄ 组和 PBS 组神经功能缺失都比较严重,两者评分都明显高于 sham 组 ($P < 0.05$),但两者之间却无明显差异 ($P > 0.05$),这可能是:两组都经受了手术的打击和因大脑中动脉缺血所造成的脑损伤;随着时间的推移,两组神经功能缺失评分都在逐步降低,这与大鼠逐步从手术的打击和因大脑中动脉缺血所造成的脑损伤中逐步恢复相关。从术后 3 d 开始至术

后 7 d 的各时间点, Tβ₄ 组大鼠神经功能缺失评分都低于 PBS 组 ($P < 0.05$),且与 sham 组相比,评分虽比 sham 组高但无统计学意义 ($P > 0.05$),而 PBS 组则明显高于 sham 组 ($P < 0.05$),这说明 Tβ₄ 组的神经功能恢复要好于 PBS 组,原因可能是 Tβ₄ 具有抗炎、抗凋亡作用^[4],MCAO 后 Tβ₄ 对脑组织的保护作用而使神经功能得以较快的恢复。这样的结果同时说明,所设计的爬板实验装置可以良好地检测出大鼠脑损伤后神经功能缺失状况。但从术后 3 d 开始至术后 7 d 的各时间点, Tβ₄ 组大鼠神经功能缺失评分与 sham 组相比,评分虽比 sham 组高但无统计学意义 ($P > 0.05$) 这一结果看,爬板实验有一定的局限性,应结合其他的实验才能做出更精确的评定。但这只是爬板实验自身的局限性,而非新爬板装置的原因。

3.2 新装置和原装置检测结果的比较

Tβ₄ 组和 PBS 组的检测结果显示,用新装置的检测评分在逐步平缓下降,5 d 后,仍可检测到神经功能缺失,这比较切合大鼠术后功能逐步恢复的病理过程;用原装置的检测评分虽然也在逐步下降,但呈跳跃式下降,5 d 后均未能检出神经功能缺失。

将 Tβ₄ 组和 PBS 组的检测结果进行比较发现:采用新装置,3 d 后,均可检出两者之间的差异 ($P < 0.05$);采用原装置,3 d 时未检出差异 ($P > 0.05$),4d 时检出了差异 ($P < 0.05$),但随后均未能再检出两者之间的差异 ($P > 0.05$)。

将 Tβ₄ 组的检测结果与 sham 组进行比较发现:采用新装置,前 3 d,均可检出两组之间的差异 ($P <$

表 1 神经功能缺失评分 ($\bar{x} \pm s$)
Tab.1 Nerve function loss score ($\bar{x} \pm s$)

	1d		2d		3d		4d		5d		6d		7d	
	新装置 New apparatus	原装置 Primary apparatus	新装置 New apparatus	原装置 Primary apparatus	新装置 New apparatus	原装置 Primary apparatus	新装置 New apparatus	原装置 Primary apparatus	新装置 New apparatus	原装置 Primary apparatus	新装置 New apparatus	原装置 Primary apparatus	新装置 New apparatus	原装置 Primary apparatus
Tβ ₄ 组 Tβ ₄ group	3.00 ± 0.53a	2.00 ± 1.04a	2.00 ± 0.93 a	1.50 ± 1.20 a	0.88 ± 0.99 ab	0.38 ± 0.74	0.63 ± 0.92b	0.13 ± 0.35b	0.25 ± 0.46b	0 ± 0	0.25 ± 0.46b	0 ± 0	0.13 ± 0.35b	0 ± 0
PBS 组 PBS group	3.00 ± 0.76 a	2.88 ± 1.13 a	2.00 ± 0.76 a	1.63 ± 1.19 a	1.75 ± 0.46 a	1.13 ± 0.99a	1.75 ± 0.46 a	0.75 ± 0.71 a	1.38 ± 0.52 a	0 ± 0	1.00 ± 0.53 a	0 ± 0	0.88 ± 0.35 a	0 ± 0
Sham 组 Sham group	1.13 ± 0.83	0.75 ± 0.46	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

注:a 为在各时间点, Tβ₄ 组、PBS 组分别与 Sham 组相比, $P < 0.05$; b 为在各时间点, Tβ₄ 组与 PBS 组相比, $P < 0.05$
Note :a: At each time point, when the nerve function loss score of the Tβ₄ group and the PBS group was compared with that of the Sham group separately, $P < 0.05$; b: At each time point, when the nerve function loss score of the Tβ₄ group was compared with that of the PBS group, $P < 0.05$

0.05);采用原装置,只检出前 2 d 的差异($P < 0.05$),随后未能检出差异($P > 0.05$)。

将 PBS 组的检测结果与 sham 组进行比较发现:采用新装置,可检出两组间在术后一直存在着差异($P < 0.05$);采用原装置,只检出前 4 d 的差异($P < 0.05$),随后未能检出差异($P > 0.05$)。

对比发现,新装置的检测评分更符合术后大鼠的病理过程,评分更为准确,也能更有效地检测出因实验因素所造成的大鼠运动功能的差异。

3.3 新装置的有益之处

在实际应用中,发现新装置的有益之处在于:爬板借助于竖杆、底槽得到了稳固的支撑,实验操作得以简便,一个人即可完成实验检测。爬板可在稳固的框架上灵活转动,指针和倾斜角刻度也比较稳定,实验数据的准确性得以提高。装置的前、后两侧都设置有指针和倾斜角刻度标示,实验人员在装置的前、后都可进行实验操作和观察记录。爬板以中心部位为转轴,既能向左侧,也能向右侧行 90° 的倾斜,可确保不论大鼠处于爬板的哪一端,实验检测都可进行;即使鼠在检测过程中出现了调头现象,也可通过改变爬板的倾斜方向继续进行测试,实验操作非常便利。爬板装置配有底槽和活动挡

板,实验时,将挡板插入底槽两端,可防止滑落入底槽内大鼠的逃逸;实验结束时,拔出挡板,便于对底槽进行卫生清洁。爬板装置制作所需材料为常见的木板、泡沫塑料板、高密度板、钢丝网等,制作简单,经济实用。

参考文献:

- [1] 蔡光先,刘柏炎,赖鼎元,等. 神经干细胞移植对局灶性脑缺血大鼠神经功能的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2007, 17(24):2971-2973.
- [2] 徐鹏,付晓宇,仲维高. 人参皂甙 Rb1 对大鼠局灶性脑缺血脑组织胶质细胞源性神经营养因子 mRNA 表达的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2008, 17(23):3582-3585.
- [3] 魏尔清,朱朝阳,徐秋琴,等. 一种改进的小鼠局灶性脑缺血神经症状定量评价方法[J]. 生理学报, 2003, 55(6):742-747.
- [4] Allan L. Goldstein, Ewald H. et al. Thymosin β_4 : actin-sequestering protein moonlights to repair injured tissues [J]. 2005, 11(9):421-429.
- [5] Philp D, Kleinman HK. Animal studies with thymosin beta, a multifunctional tissue repair and regeneration peptide[J]. Ann N Y Acad Sci, 2010, 1194:81-86.

[修回日期]2012-03-20