设施设备

自记录动物挂杠持久度测试装置的研制

惠恩健,葛尔宁,盛振华,黄 真

(浙江中医药大学,杭州 310053)

【摘要】 **目的** 研制一种检测动物挂杠持久度的实验装置,用于相关医药研究中的动物静态抗疲劳实验。**方法** 采用 51 系列单片微机控制和记忆,光耦传感器、电磁水阀等组合控制电路和技术。**结果** 成功研制出一种适用于医学及药学研究领域的带微机控制和自记忆功能的动物挂杠持久度实验装置,经 28 例小白鼠实验证明,效果良好。**结论** 该实验装置为动物抗疲劳实验提供了一种全新的方法。

【关键词】 挂杠;医药研究;光耦电路;微机控制
【中图分类号】R331 R332 【文献标识码】A 【文章编号】1671-7856(2014) 07-0075-04
doi: 10.3969.j.issn.1671.7856. 2014.007.016

Development of an experimental instrument for testing the endurance of an animal hanging on a bar

HUI En-jian, GE Er-ning, SHENG Zhen-hua, HUANG Zhen
(Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

【**Abstract**】 **Objective** To develop an instrument that detects the endurance of an animal hanging on a bar during medical and pharmaceutical scientific experiments. **Methods** One pair of opto sensors were used for signal conversion. A solenoid valve device was used for water level. A 51-Series microcontroller was used to control the experimental setup and record the results. **Results** We have developed a microcontroller-based experimental instrument that can automatically detects the endurance of an animal hanging on a bar during medical and pharmaceutical scientific experiments. Our experimental results with 28 mice indicated that the applicability of the instrument is good. **Conclusion** The instrument provides an innovative tool for detecting the endurance of an animal.

【**Key words**】 Hanging on a bar; Medical and pharmaceutical research; Opto sensors; Microcontroller

动物用爪挂杠持久度实验同属于静态抗疲劳实验[1],可用在抗疲劳、抗抑郁等药物的研制及相关医学研究中。当动物在一个封闭的水池中游泳时,因恐惧或体力不支往往会寻找可以抓住的支撑点,而当四爪及臂不能支撑整个身体重量时又会放弃挂杠掉入水中,如此重复多次,最终放弃抓杠。挂杠时间和次数可用于评价研制药物的药效及相关医学作用。

这种让动物自然抓杠挂臂的实验方式可用于动物静态疲劳的检测,采用该方法测试动物抗疲劳能力目前国内外均未见报道,类似动物抗疲劳实验目前在业界有采用站线式、站杠式[1]等方法,对动物来讲,站立姿势较易做到,持久度可较长,一次实验时间相对较长,有时需要 24 h 以上,本文所述方

[作者简介]惠恩健(1987 -),男,硕士,药物分析专业,E-mail: qynh2006@126.com。
[通讯作者]葛尔宁(1957 -),男,研究员,医学仪器专业,E-mail: ge_er_ning@sina.com。

法与前两种的不同在于:本研究以动物多臂挂杠的姿势进行疲劳实验,相比前者难度增加,持久度降低,相应实验时间缩短。实验常用动物如小白鼠等的臂力有限,一次挂杠时间不会很长,如此可在水面上方加一活动细杠供其抓握,当小鼠抓住细杠时,让水位迅速下降,此时小鼠不再具浮力,体重全由爪和挂臂支撑,最多几分钟就会掉回水中,这时再让水位复位,如此重复可进行相应疲劳实验,相关自动检测装置可据此原理研制[1-3]。

1 材料和方法

1.1 实验材料

ICR 小鼠 28 只,雌雄各半,体重 15 ~ 25 g,由浙江中医药大学动物实验研究中心提供,上海西普尔-必凯实验动物有限公司【SCXK(沪)2013 - 0016】。浙江中医药大学动物实验研究中心实验动物【SYXK(浙)2013 - 0184】,10 L 娃哈哈桶装纯净水,购自杭州市玲玲饮用水商行(生产许可证编号:QS330006010302)。

1.2 实验装置研制方法

该装置整体构思和设计共分水池、传感部分、系统控制硬件、系统控制软件、面板按钮功能等 5 部分(图 1):

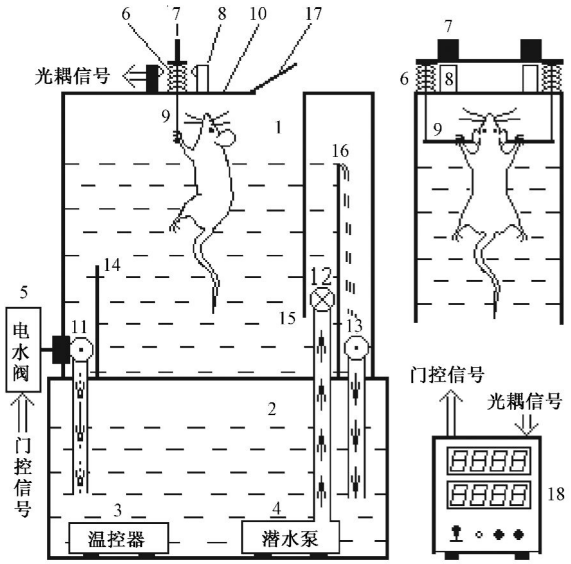
1.2.1 水池

水池由水槽 1 和蓄水池 2 两部分组成,1 尺寸为:高 15 cm × 长 15 cm × 宽 8 cm,上有一 8 × 7 cm^2 的活动盖 17,可供 40 ~ 15 g 重的小动物进出,下端开有 3 个进出水孔,11 为可控出水口,由控制器 18 经电水阀 5 控制,12 为进水口,由潜水泵 4 把 2 中的恒温水不停注入 1 中,13 为出水口,当 1 中水位满过隔板 C 16 时,由该出水口排入 2,隔板 A 14 的作用是当 5 打开,1 水位下降时,保持 1 中水位不低于 14 高度(出水口出水速度远高于进水速度),隔板 B 15 可将实验动物与进出水口隔离。

蓄水池 2 体积 2 倍于 1,内置可调温控器 3 和潜水泵 4。如图 1, 4 把 2 中的恒温水恒流注入 1,当 5 关闭时,1 中水位如满过 16,可经 13 排回 2,如此,可保持 1 中水位相对高位,实际设定高度为离横杠 9 约 1.2 cm 距离。当 5 打开时,1 中水位如满过 14,即可经 11 排回 2,如此,可保持 1 中水位相对低位。

1.2.2 传感部分

两对光耦 8 分别安装在上端盖板 10 的窄相两端,见图 1 右上,弹簧 6 使 8 处常开状态,当动物下拉横杠 9 时,带动光栏 7 下移,8 输出信号改变,释放 9 时,7 上移,8 输出信号复原。在 9 上方的盖板部位安装一排 LED 灯,位置与横杠平行,用磨砂玻璃盖住形成无影光带,便于动物寻找横杠。



注:1. 实验水槽; 2. 蓄水池; 3. 温控器; 4. 潜水泵; 5. 电水阀; 6. 弹簧; 7. 光栏; 8. 光耦; 9. 横杠; 10. 盖板; 11. 可控出水口; 12. 进水口; 13. 出水口; 14. 隔板 A; 15. 隔板 B; 16. 隔板 C; 17. 活动盖; 18. 控制器。

图 1 仪器结构图

Note: 1. Testing pool; 2. Tank; 3. Thermoregulator; 4. Submersidle pump; 5. Electric velev; 6. Spring; 7. Light ber; 8. Optocoupler; 9. Bars; 10. Cover; 11. Controllable outlet; 12. Intake; 13. Outlet; 14. Isolation plate A; 15. Isolation plate B; 16. Isolation plate C; 17. Movable cover; 18. Controller.

Fig. 1 Diagram of the structural of the instrument

1.2.3 系统控制硬件

由常用 51 系列单片机 AT89S51 为主控芯片加 TTL 功能电路和模拟放大电路等组成的复合控制器来控制光耦信号的接收、电水阀的开关并显示来自动物挂杠行为的实验信息。控制原理框图见图 2,具体电路线路图在此略去。

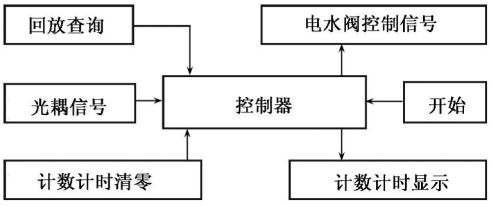


图 2 电路控制原理框图

Fig. 2 Diagram of the structural of control system

1.2.4 系统控制软件

系统软件主流程如图 3 所示,具体程序在此略去。

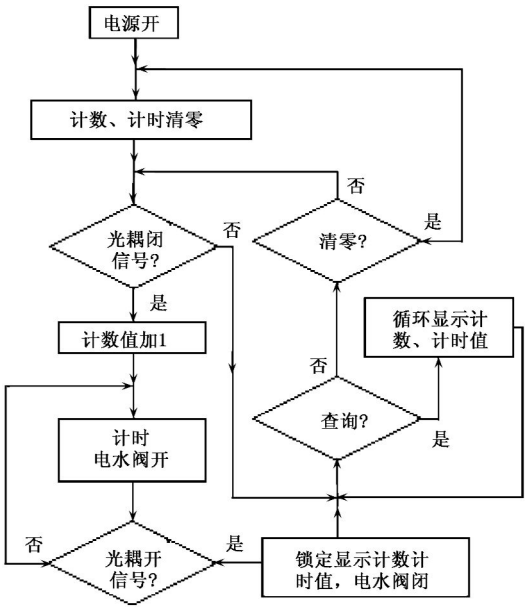


图 3　系统软件流程

Fig. 3　System Software

1.2.5　面板按钮功能

为简易操作,面板仅设上下两排 4 位 LED 显示(实时计数显示为上排右 2 位,查询序号显示为上排左 2 位,计时显示为下排 4 位)、控制器电源开关、查询按钮和清零按钮。

1.3　操作步骤

1.3.1　设置温控器温度,用纯净水加满储水箱,预热至设定温度后开启控制器电源开关,此时计数和计时显示自动清零,等待光耦信号到来;潜水泵把储水箱中清水源源注入实验水槽。待水位满过隔板 C 后,取小鼠,打开活动盖放入水槽中,盖上活动盖,实验开始。观察小鼠在光壁的水槽中来回游水,最终会因恐惧或疲劳去抓水槽中唯一可支撑物横杠,微小的负荷即可使横杠下移,同时带动光栏下移使光耦产生“闭”信号(横杠的两端都有光耦,两光耦信号以“或”门输出。),该信号经控制器使计数显示累加 1,并开始相应计时,同时让电水阀打开,槽中水位迅速下降至隔板 A 位,此时,小鼠处于无浮力状况下挂杠支撑,直至爪力或臂力不支掉入水中,同时横杠在弹簧的作用下和光栏同步上移,光耦产生“开”信号,并使电水阀关闭,槽中水缓缓上升至隔板 C 位。至此,一次计数计时过程结束,控制器等待下一“闭”信号的到来,如此多次循环,直至小鼠放弃抓杠。

1.3.2　按“查询”钮,上排左两位显示挂杠次序,下排 4 位显示相应的持久时间,按次序循环显示,按一次显示一组。计数最多可达 35 次,一次计时最长可达 9999 s。

1.3.3　按“清零”钮,所有信息清零,等待下一个“闭”信号的到来。

1.4　实验方法及测定指标

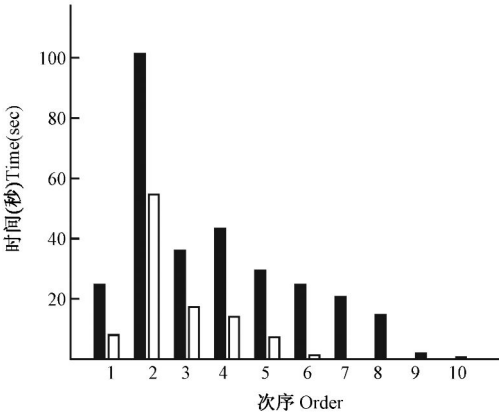
28 只小鼠共分 A、B 两组,每组 14 只,雌雄各半,A 组正常饲养,B 组实验前禁食不禁水 24 h。按 1.3 项所述操作,仪器将根据小白鼠的挂杠次数和相应挂杠持久时间自动记录,一只小鼠的实验时间可根据小鼠的体能及是否愿意多次挂杠来定,一只正常的小鼠一次实验会有 5 ~ 10 次挂杠,体力差的不超过 5 次就不再愿意抓杠。由上述实验方法分别测定 A、B 两组小鼠的挂杠次数和相应的挂杠持久时间。

1.5　统计方法

所测数据采用 SPPS 18.0 软件进行统计分析。实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,配对资料采用 t 检验,$P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2　结果

2.1　以柱状图的形式来表达实验结果,见图 4:黑柱表示 A 组 14 例小鼠在各次挂杠时的持久时间平均值,白柱表示 B 组 14 例小鼠在各次挂杠时的持久时间平均值,横坐标为挂杠次序,纵坐标为对应各次挂杠时的持久时间。



注:■:A 组; □:B 组。

图 4　A、B 组小鼠挂杠持久度实验结果

Note: ■: group A;　□: group B.

Fig. 4　Endurance of mice of group A and group B Testing records

2.2　表 1 所列为 2 组小鼠挂杠次数和挂杠持久时

间总和的平均值,由表 1 可知,禁食组平均挂杠次数、挂杠持久时间总和与正常组比较,均具有显著性差异($P < 0.05$)。

表 1 禁食对小鼠挂杠次数和持久时间的影响(n = 14)
Tab. 1 Influence of fasting for the frequency and the duration of mice hanging on a bar

组别 Groups	挂杠次数 Frequency of mice hanging on a bar	挂杠持久时间 Duration of mice hanging on a bar
正常组 Normal group	8.2857 ± 0.4500	303.9400 ± 22.4784
禁食组 Fasting group	4.7857 ± 0.2809 *	104.0500 ± 10.5647 *

注:与正常组相比,* $P < 0.05$.
Note: Compared with the normal group. * $P < 0.05$.

从实验结果看,两组小鼠的平均挂杠次数和相应挂杠持久时间差异明显,充分说明该实验方法及装置在动物抗疲劳测试实验中的适用性。

3 讨论

本文采用 51 系列单片微机控制和记忆系统结合光耦传感器、电控水阀等组合控制电路[4~7],研制了一种能自动记录小鼠在该实验环境中的挂杠次数及挂杠持久时间的装置。研制思路和检测方式具一定的创新性和先进性。作为该领域中的一种全新实验方法和理念,配以自动化检测手段,在业界可得到推广应用。

从上述实验结果可见,挂杠式动物抗疲劳实验的实验时间较短,实验观察小鼠一次挂杠时间不超过 3 min。经多次抓杠挂杠后最终放弃抓杠,所以,一只小鼠的实验时间一般不超出 2 h。

相对较冷的环境更适合该实验的进行,曾经试过在 26℃以上的水温和实验室环境进行该实验,结果效果不佳,原因是由于实验小鼠在一个较温和的水环境中游水会感到相对悠闲,紧张和恐惧度不高,抓杠的意愿较弱,有时几小时都不会去抓杠,如此,不利于实验的进行,22 ℃左右较合适。

该实验不宜选择太小的动物,如小于 15 g 的小白鼠,由于浮力的因素使小鼠挂杠时重力太小,带不动光栏下移,无法产生有效信号。

实验小鼠经几次挂杠后,经常会出现一抓杠就放弃的干扰动作,查询结果时如某次挂杠的对应时间为零,可视为一次误操作。

本装置需在相对平静平稳的环境下工作,震荡和过度倾斜会使水平面不稳,影响实验效果。在没有意外情况干扰的前提下(如断电等),仪器可连续工作 48 h。

参考文献:

[1] 葛尔宁,袁勇,应华忠等. 数据记忆动物疲劳测试仪的研制[J]. 中国比较医学杂志,2006,16(8):489 - 490.
[2] 葛尔宁,黄真. 头部位移检测法动物悬尾实验仪的研制[J]. 中国比较医学杂志,2012,22(8):58 - 61.
[3] 李萍,张池,张勃. AT89S51 单片机原理、开发与应用实例[M]. 北京:中国电力出版社,2008. 1 - 150.
[4] 葛尔宁. 数据记忆动物游泳测试仪的研制[J]. 中国比较医学杂志,2008,18(2):71 - 73.
[5] 余文芳,葛尔宁. 微机控制自动微容量测试仪的研制[J]. 中国比较医学杂志,2008,18(6):76 - 78.
[6] 袁勇,葛尔宁. 微机自动控制动物饮食行为检测仪的研制[J]. 中国比较医学杂志,2011,21(9):75 - 78.
[7] 余永权,汪明慧,黄英. 单片机在控制系统中的应用[M]. 北京:电子工业出版社,2005. 125 - 278.

〔修回日期〕2014-05-21