



帕金森病大鼠模型运动行为测评方法的研究进展

魏翔, 刘晓莉*

(北京师范大学体育与运动学院, 北京 100875)

【摘要】 帕金森病(Parkinson's disease, PD)是以静止性震颤、肌强直、动作迟缓、姿势平衡障碍为主要临床特征的神经退行性疾病。动物模型实验是PD研究的重要组成方面,针对PD动物模型运动行为的评价不仅有利于阐述PD的发病原因及发病机制,而且有利于判定新型治疗方法的疗效。本文以偏侧6-OHDA大鼠模型为研究对象,着重介绍非药物诱导行为学测试方法对PD大鼠运动功能障碍进行测试与评价的研究进展。

【关键词】 帕金森病; 大鼠; 运动功能; 行为学测试

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2015) 02-0209-07

Doi: 10. 3969/j. issn. 1005 - 4847. 2015. 02. 020

Progress of behavioral tests in rat models of Parkinson's disease

WEI Xiang, LIU Xiao-li

(College of Physical Education and Sports, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

【Abstract】 Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disorder primarily characterized by resting tremor, muscular rigidity, akinesia and postural reflex impairment. Behavioral tests of PD in animal models are essential for understanding the pathogenesis of PD as well as for the development and testing of potential therapeutics. Here we mainly use the 6-hydroxydopamine (6-OHDA)-induced rat model, to introduce a review on the research progress in non-drug-induced behavioral tests of motor function in PD rats.

【Key words】 Parkinson's disease; Rat; Motor function; Behavioral tests

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是由于黑质-纹状体系统中多巴胺(dopamine, DA)能神经元退行性病变而引发的中枢神经系统疾病。目前, PD的发病原因尚不明确,但普遍认为其发病源于年龄老化,环境因子,先天易感基因携带等多种因素的作用^[1]。PD的临床症状以运动功能障碍为主^[1-3],包括静止性震颤、肌强直、动作迟缓及姿势平衡障碍。PD的病理学特征表现为中脑黑质DA能神经元缺失,黑质细胞质内出现一种嗜酸性包涵体(Lewy小体)^[1]。虽然PD是目前唯一已知死亡细胞类型、细胞聚集位置及相关通路与生理机能的神经退行性疾病,但包括药物治疗、神经核团损毁术、脑深部电刺

激术、神经组织移植治疗、干细胞移植治疗^[4]、基因治疗、物理治疗在内的多种治疗手段均不能最终治愈疾病^[5]。因而,针对PD动物模型的研究在阐释PD发病机制及寻求新型治疗方法中具有重要的意义。

1 偏侧帕金森病大鼠模型

PD动物模型的制备以灵长类与啮齿类动物为主,虽然灵长类模型在模拟生理病理特征及临床表象方面更接近人类PD,但考虑到其制备成本,目前科研实验中仍以啮齿类模型(化学损毁,机械物理损毁,转基因造模)的应用为主^[6-8]。

[基金项目]国家自然科学基金资助项目(项目编号:31340025)。

[作者简介]魏翔(1988-)男,硕士研究生,专业:运动人体科学。Email: wxdhpedu10@126.com。

[通讯作者]刘晓莉,女,教授,研究方向:体育保健与康复。Email: xiaoli@bnu.edu.cn。

1970 年 Ungerstedt^[9]首次报道了利用脑立体定向注射 6-羟基多巴胺(6-hydroxydopamine, 6-OHDA)损毁大鼠黑质 DA 能神经传导束制备大鼠偏侧帕金森病模型的方法。鉴于 6-OHDA 不能有效地透过血脑屏障,故需要直接注射于黑质 - 纹状体束(nigrostriatal tract),注射位点可选取^[6]:(1)黑质致密部(substantia nigra pars compacta, SNpc);(2)内侧前脑束(median forebrain bundle, MFB);(3)纹状体(striatum, STR)。与 PD 患者所表现的双侧脑半球 DA 系统损伤不同,6-OHDA 噬齿类模型多选择一侧损毁,以规避因双侧损毁而带来的诸多副作用及高死亡率^[8]。通过注射位点及剂量的变化,6-OHDA 模型可有效地模拟早期 PD(DA 能神经元损耗 50% ~ 80%)与晚期 PD(DA 能神经元损耗大于 90%)^[1,6,10]。6-OHDA 噬齿类模型亦包含下述诸多优点^[1,7,8]:(1)实验个体可进行解剖、生化分析,模拟多种 PD 生化特征;(2)模型症状稳定、持久,可量化损伤的位点及损伤程度;(3)偏侧 PD 模型本身的损伤侧与健侧可进行比较分析;(4)可进行量化的药物诱导旋转行为检测;(5)造模技术简单易行且成本低廉。综上所述,6-OHDA 噬齿类模型仍是 DA 能神经元细胞凋亡机制及多种治疗方法研究的首选。

2 PD 大鼠模型药物诱导的行为学测试

众所周知,PD 是以运动功能障碍为主要临床特征的神经系统疾病,而行为学作为神经系统功能输出的终路,其相关研究不仅可直观、定性、定量地反映 PD 模型的外显症状表象,还可及时同步地推测 PD 模型的生理生化改变,并准确、有效地评估各类治疗方法在改善 PD 模型行为功能方面的成效。

药物诱导的旋转行为是偏侧 6-OHDA 损伤大鼠模型(以下简称 PD 大鼠)的重要特征之一,同时也是最早用于 6-OHDA 模型的行为学测试方法^[9,11]。以阿朴吗啡(apomorphine)为代表的 DA 受体激动剂(可引起动物向健侧旋转)和以安非他命(amphetamine)为代表的 DA 释放制剂(使动物向损毁侧旋转)的使用最为普遍^[1,8]。实践中,常以 30 min 内阿朴吗啡诱导的一侧旋转圈数(向健侧旋转圈数减去向损毁侧旋转圈数 ≥ 210 r)作为衡量 PD 大鼠模型成模的标准(此时黑质 DA 损耗量 ≥ 80%)^[12],且常以阿朴吗啡诱导的一侧旋转圈数的减少作为评价左旋多巴(L-dopa)类药物治疗效果的标准之一^[13]。尽管药物诱导的旋转行为测试已广泛地应用于评估黑质 - 纹状体的损伤程度及诸多治疗策略的效果,

但随着 PD 基础研究的不断深入,药物诱导的行为学测试亦显现出其自身不可避免的种种缺陷与应用范围的局限性,例如:(1)药物诱导的行为学测试无法精确反映 PD 模型的运动功能障碍^[14,47];(2)STR 内 DA 损耗低于 80% 时,阿朴吗啡无法有效地诱导旋转行为^[12];而 PD 临床运动障碍多在 STR 内 DA 能神经元损耗 60% ~ 80% 出现时^[15];(3)反复使用 DA 能激动剂(如阿朴吗啡)所引发的副作用可能混淆行为学测试的结果^[16,17];(4)药物诱导的行为学测试无法有效地评估某些治疗方法对 PD 的改善效果,例如神经移植^[18]。

3 PD 大鼠模型非药物诱导的行为学测试

近些年来,为了弥补药物诱导的行为学测试方法存在的种种缺陷,满足日益增长的基础研究需求,诸多非药物诱导行为学测试方法相继被应用于 PD 模型的感觉运动功能、精细运动功能、自主运动功能及运动协调性的测试与评价。

3.1 PD 大鼠模型自发性感觉运动功能的测试

3.1.1 圆筒测试

Schallert 等^[20]率先使用圆筒测试(cylinder test)观察 PD 大鼠在进行竖直 - 横向运动时前肢运动的不对称性。实验在安静、昏暗的室内进行。将两端开口的透明树脂玻璃圆筒(内径 20 cm, 高 30 cm)置于水平桌面上,在圆筒一端放置摄像机以记录大鼠前肢触碰筒壁的活动,另一端呈一定角度放置镜面,以确保动物在背对摄像机时依然可以记录到其前肢的活动情况。测试持续 3 ~ 10 min,然后由第三方计数大鼠站立时每侧前肢分别触碰筒壁的次数(包括在筒壁上的移动步伐)和两侧前肢同时触碰筒壁的次数(同时或交替)。将数据代入公式:[同侧(未受损侧)肢体触碰次数 + 0.5 两侧同时触碰次数(同时或交替)] / 前肢触碰总次数(同侧 + 对侧 + 两侧同时)计算。计算结果为 0.5 时表示动物在触碰筒壁时均等地使用了两侧前肢,得分高于 0.5 时表示动物更依赖于未受损侧前肢,得分低于 0.5 则表示动物更依赖于受损侧前肢。诸多研究表明,圆筒测试可间接地反映损毁侧 STR 内 DA 含量轻度^[1],中度^[19],重度^[20]的损伤情况。此外,O'Dell^[21],Tajiri 等^[22]通过圆筒测试测评了 PD 大鼠在接受运动干预后前肢运动不对称性的变化情况,提示运动可以改善 PD 大鼠前肢运动功能的缺陷。

3.1.2 网格测试

网格测试(grid-walking test)又称脚步错误测试

(foot-fault test), 已证实网格测试可有效地测评啮齿类 PD 模型的感觉运动功能障碍^[23]。Chao 等^[24]使用自制金属网格(41 cm × 41 cm, 每单元格 3.5 cm × 3.5 cm, 测试架高 41 cm)协同高速摄像机记录了 PD 大鼠在网格上的行为, 观察指标包括: 前、后肢脚步滑落; 总步数; 启动时间; 外周区域停留时长及移动距离等以分析 PD 大鼠的精细步态, 协调性及肢体放置的准确性。研究发现, STR 及 MFB 偏侧染毒大鼠均出现对侧前肢滑落次数增加的现象, 而经由 L-dopa 治疗后对侧前肢的滑落次数显著降低。上述结果提示, 网格测试不仅可用于评价 PD 大鼠的感觉运动功能障碍, 而且可有效测评药物治疗后 PD 大鼠感觉运动功能障碍的改善状况。

3.1.3 提升躯体摇摆测试

Borlongan 等^[25]首次将提升躯体摇摆测试(elevated body swing test, EBST)用于评价偏侧黑质 6-OHDA 染毒大鼠的运动不对称行为。筛选无偏移摇摆行为的大鼠作为实验对象, 将大鼠置于树脂玻璃箱中(40 cm × 40 cm × 35.5 cm)2 min, 待其适应环境后, 从大鼠尾根 1 英寸处将其躯干提起, 使其头部距地约 1 英寸, 保持静止(大鼠躯干未向左或右偏移开竖直轴 10°时为垂直位), 当大鼠头部向左侧或右侧偏移垂直位时视为摇摆行为。在进行每一次摇摆活动之前, 大鼠的躯干必须恢复至垂直位后方可再次记录, 如其向某一方向连续摇摆而未恢复至垂直位时, 仅记录为 1 次摇摆行为。测试中大鼠超过 5 s 仍未恢复至垂直位或是爬抓其尾部, 立即将其放回箱中, 待恢复自然状态后再次测试。当大鼠超过 5 s 仍未开始摇摆, 可轻捏尾部以诱导活动。测试由一人手持大鼠, 另一人计时并记录摇摆的方向及频率, 为期 45 s, 测试结果用向左或右侧偏移的次数除以偏移总次数所得的百分比表示其向左或右侧偏移的比率。研究发现, PD 大鼠不仅出现显著的躯体偏移摇摆行为, 且偏移方向与阿朴吗啡诱导旋转方向一致, 偏移摇摆行为与阿朴吗啡诱导的旋转行为之间存在显著的正相关^[25]。Roghani 等^[26]发现, EBST 可评价 PD 早期阶段出现的运动不对称行为, 但很难区分黑质 - 纹状体系统不同剂量染毒后发生的运动不对称行为^[27]。且鼠种、鼠龄、药物注射的剂量以及注射位点选取的不同均有可能影响早期 PD 大鼠 EBST 的测试结果^[28]。

3.2 PD 大鼠模型精细运动功能的测试

3.2.1 蒙托亚阶梯测试

上肢技巧性伸触是人类在婴儿时期形成的精细运动^[29]。研究发现 PD 患者存有明显的技巧性伸

触缺陷, 而 PD 大鼠模型也存在这一行为缺陷^[30]。尽管啮齿类动物主要依靠嗅觉判定物体的方位, 而人类则依赖视觉, 但二者在骨骼、肌肉的使用以及在运动的神经调控方面基本一致^[1,31]。

Montoya 利用其自主设计的阶梯测试首次测评了 PD 大鼠在执行技巧性伸出及抓取作业时, 两侧前肢独立执行精细运动的情况, 后命名为蒙托亚阶梯测试(Montoya staircase test)^[32]。测试设备由三部分组成: 透明树脂玻璃测试箱(285 mm × 60 mm × 90 mm); 木质站台(210 mm × 21 mm × 48 mm)置于测试箱内底部中央, 站台顶部表面加装一平板(210 mm × 27 mm × 2 mm), 以防止大鼠沿站台两侧墙壁提取食物; 站台前端左、右两侧各嵌入一分离式阶梯, 每个阶梯共有 7 阶, 每阶(14 mm × 14 mm × 6 mm)表面有一直径 12 mm, 深度 3 mm 的凹槽以放置食物小球。测试时, 将大鼠置于站台平板的上方, 记录 15 min 内大鼠一侧前肢从每层台阶上抓取食物及进食的过程, 并计数食物小球遗留在各层台阶上的数量。此后, Wishaw^[33]与 Kloth 等^[34]分别引入高速摄像分析技术与色彩小球, 对 PD 大鼠执行精细运动时前肢, 后肢及躯干损伤的特征进行更为准确的定性、定量分析。目前, 蒙托亚阶梯测试已广泛应用于 PD 大鼠模型建立以及各种治疗方法效果的测评^[1,31,41]。

3.2.2 单个小球伸触测试

单个小球伸触测试(single-pellet reaching test)由食物托盘测试(food tray task)演变而来, 旨在测评啮齿类动物的技巧性伸触能力^[35]。测试设备为一封闭透明树脂玻璃空箱(45 cm × 13.1 cm × 40 cm), 箱体正前方距底部上 4 cm 横置一水平树脂板(13.1 cm × 3 cm × 1 cm)与箱体额状面相互垂直。箱体额状面中间自上而下开一宽 1.3 cm 空隙, 大鼠前肢可由此空隙伸出。横板距空隙两内缘 1.5 cm 处各有一放置食物小球的凹槽(直径 5 mm, 深 1.5 mm)供大鼠从中抓取食物^[36]。正式测试前大鼠接受 2 周预训练, 每天抓取 20 个食物小球(重约 190 mg), 使大鼠熟悉测试环境的同时习得抓取小球的技能。训练中, 待大鼠完成一次抓取并回到箱体后方进食后再放入下一粒小球, 以确保每次伸触抓取动作的独立性。训练中可用特定手镯固定大鼠的一侧前肢(手镯仅阻止大鼠前肢伸出空隙而不影响其他功能), 以确定大鼠的优势侧肢并最大限度地鼓励、巩固其优势侧肢的伸触抓取活动。当大鼠用优势侧肢迅速、准确地完成 20 个小球的定位、伸触、抓取、收回、进食动作时标志预训练成功。正式

测试时,由高速摄像机记录大鼠每侧前肢 20 次抓取小球的活动过程,将前肢准确伸出空隙抓取小球后收回进食定义为“成功”,记“0”分;如果动作执行有轻微异常,但仍可完成整套动作,记“1”分;如果动作无法执行,记“2”分。最后计算总得分^[37]。或将每套动作的完成划分为“成功”、“失败”,最终代入公式:总成功率(%) = (“成功”次数/20) × 100 计算其前肢伸触抓取活动的成功率^[38]。Wishaw 等^[37-39]利用高速摄像机对 PD 大鼠的前肢伸触及躯体姿势调整活动做出了更为详尽的定性分析,清晰地界定出大鼠在执行技巧性前肢伸触运动时依次执行了:定位;前肢举起;爪收缩;指向;前伸;爪张开;掌旋前(手掌向下);抓取;掌旋后 I;掌旋后 II;释放。Wishaw 指出一侧 STR DA 损耗不仅损伤其对侧前肢的技巧性运动,同时其同侧的前肢在执行掌旋前及旋后动作时亦出现障碍,但随着同侧前肢的代偿性使用,障碍逐渐得到恢复。此外,Wishaw 指出 PD 大鼠存有明显的姿势调整障碍,即大鼠执行正常活动时前、后肢的“对角线模式”消失,取而代之的是借助损伤同侧后肢的支撑以获得姿势调整^[37,38,40]。上述结果提示:(1)技巧性运动不同于一般意义的自发性运动或感觉运动,暗示运动皮质-基底神经节系统在调控、执行运动时存在不同;(2)姿势调整并非躯体的被动行为,而是先于前肢伸触行为的主观既定活动;(3)同侧前肢的损伤表明双侧黑质-纹状体之间可能存在某种联系;(4)同侧前肢的使用及姿势调整异常的出现表明受损机体存有代偿行为;(5)行为学训练可能促进肢体技巧性运动功能的恢复。此后,Wishaw 通过对 PD 患者技巧性运动研究^[30,31,42],阐明人类、灵长类与啮齿类动物在技巧性运动方面具有同源性,这不仅肯定了 PD 动物实验研究的价值意义,同时对技巧性运动测试在人类 PD 患者运动功能评价方面的应用提供了富有远见的启发。

3.3 PD 大鼠模型感觉运动整合功能的测试

3.3.1 步态测试

运动不能与步态障碍是 PD 的主要临床症状, Schallert 等^[43]首先使用“调整步态测试”(adjusting steps test)评估 PD 大鼠在人为改变其躯体重心时,自主调整前肢步态以使躯体恢复姿势稳定的能力。测试开始,实验者用一手托起大鼠的后肢及躯干,使躯体悬空,另一只手固定大鼠的左侧前肢,令右侧前肢支撑躯体于桌面上。人为移动大鼠躯干重心不断向前,记录右侧前肢做出调整步伐的次数,同理测试左侧前肢调整步伐的次数,每侧前肢均测试 3 次,每

次 10 s。测试中可以直接观察到单侧黑质-纹状体受损大鼠的对侧前肢在躯体重心发生改变时呈现的拖拽步态。结果取 3 次测试的平均值代入公式:[同侧步数/(同侧步数 + 对侧步数) - 对侧步数/(同侧步数 + 对侧步数)] 计算^[44]。Olsson 等^[45]对 Schallert 的方案做出改进,增加了前肢步进发起时间、步进长度、正手调整步态及反手调整步态的测试。Olsson 指出正、反手调整步态测试不易受实验员、鼠种、环境变化的影响,因而在评价 PD 大鼠运动不能及步态障碍方面更为准确。Kirik 等^[46]研究发现 STR 内酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH) 阳性纤维密度损耗到达 60% ~ 70% 时,大鼠出现前肢步态障碍。而 Chang 等^[47]在其研究中指出,一侧 MFB 注射 6-OHDA 后前肢步态的障碍并不与黑质-纹状体系统内 DA 的损耗程度呈线性相关,而是在 DA 损耗超过 80% 时才出现,即 DA 损耗大于 80% 是产生前肢步态障碍的阈值。二者在阈值界定方面的分歧可能是由于药物注射位点及测定指标的选择不同而造成的。

3.3.2 触须诱导前肢前伸测试

Schallert 等^[20]利用正常大鼠在躯体悬空时可以快速、准确地前伸前肢以触碰其同侧触须所感知到的物体这一特性,用触须诱导前肢前伸测试(vibrissae-elicited forelimb placing test)来测评 PD 大鼠的感觉运动功能及本体感觉功能。测试时,实验者用手托起大鼠躯体令其四肢悬空并确保其受测一侧前肢活动自由,然后向前移动大鼠头部靠近桌缘,用左侧(或右侧)触须上下往复地摩擦桌面一角,观察同侧前肢前伸够触桌面的情况,左右侧各测试 10 次。测试间歇,允许大鼠四肢同时接触桌面以减少其挣扎、肌肉紧张以及悬空而产生的压力。如大鼠未能快速、准确地前伸受测前肢触碰桌面以回应同侧触须感受到的刺激则视为触碰失败,结果用触碰成功次数除以测试次数的百分比表示。研究发现^[48],当 STR 内 DA 损耗超过 80% 时,受损前肢同侧或对侧的触须刺激均不能诱发患肢的前伸行为,反之,未受损侧前肢均能够前伸以回应其同侧或对侧的触须刺激,从而证实了 PD 大鼠前肢运动障碍主要源于运动功能的损伤而非感觉功能。Tiller-son^[49]与 Ciucci 等^[50]相继发现,运动可以改善 PD 大鼠触须诱导前肢前伸行为的障碍。Anstrom 等^[50]将触须诱导前肢前伸作为一种运动方式(感觉-运动训练),发现 PD 大鼠在染毒前、后即刻接受大量、重复的触须诱导前肢前伸训练会对其受损侧前肢的行为功能起到有益的影响。

3.4 PD 大鼠模型平衡能力与协调性的测试

3.4.1 转筒测试

1997 年, Rozas 等^[52]首次使用转筒测试(rotarod test)评价 PD 大鼠的基本运动能力。转筒测试仪的构成包括:(1) 直径 7~8 cm 的转筒;(2) 驱动转筒所需的马达(供调节转速);(3) 固定于转筒上的隔档(供多只大鼠同时测试);(4) 底座托盘(防止大鼠摔伤);(5) 外接电脑(设定转速,记录掉落时间)。测试前对大鼠进行 1~2d 的预训练,使大鼠可从实验者手中自行登上转筒并学习伴随转筒旋转行进的技能,同时尽可能减少因适应仪器、环境而产生的压力。正式测试时,大鼠从实验者手中自行登上转筒,头部方向与转筒旋转方向相反,以确保向前运动时可以停留在旋转的转筒上。测试从最低转速开始(5 r/min),逐渐提速,记录大鼠停留在转筒上的时长(每个时速至多 5 min)。变更速度期间需要休息 20~30 min,以减缓压力和疲劳。正式实验以连续 3d 测试作为一个周期。测试结果用“ORP 值”(overall rod performance)表示^[53]。Rozas 发现:(1) 随着转筒转速的增加,因黑质-纹状体系统受损而引发的运动缺陷愈加明显;(2) PD 大鼠在注意力受到干扰时更易从转筒上掉落,暗示其很难执行同时性任务;(3) 转筒测试可以有效地识别偏侧 6-OHDA 染毒后黑质-纹状体系统的最大程度损伤与部分损伤;(4) 转筒测试可用于评价治疗的效果。Whishaw 等^[54]使用转筒测试连同高速摄像技术定性地分析了 PD 大鼠的姿势异常及前、后肢步态异常。Ogura 等^[54]利用转筒测试研究发现,相比于运动功能的调控,技巧性行为的获取与感觉运动的习得更易受 DA 损伤的影响。目前,转筒测试已广泛应用于评价啮齿类 PD 模型感觉运动协调障碍、运动学习损伤及各种治疗方法的效果^[56,57]。

3.5 PD 大鼠模型自主运动功能的测试

3.5.1 旷场测试

自主运动减少与动作迟缓是 PD 的主要临床特征^[1],为了测评 PD 大鼠自发性自主运动损伤的情况,研究者采用了旷场测试(open field test)^[58]。旷场由黑色木制箱(60 cm × 60 cm × 40 cm)构成,其中央顶部悬置一台摄像机并连接电脑,于暗光下记录大鼠在旷场中的活动,包括:旋转行为;探索行为;自主运动;站立;修饰行为等,测试结果由配套软件处理分析。Fornaguera 等^[58]通过评价 PD 大鼠在旷场测试中的行为学变化推测 STR 内 DA 的损耗水平。孙建栋等^[59]结合旷场测试证明鱼藤酮在建立 PD 大鼠模型方面的可行性。Ferro 等^[60]研究比较

了大鼠黑质部双侧注射 6-OHDA 与 MPTP 在建立 PD 早期模型中的行为学差异。另有诸多研究借助旷场测试来评估各种治疗方法对 PD 大鼠运动功能的治疗效果^[61~63]。

4 小结

综上所述,诸多研究者在实践中依据其研究的需求与特点,选用了不同类型的行为学方法对 PD 大鼠的运动功能进行测评。文中所提到的每一种行为学测试方法在其实际应用中均存有优劣,依据本实验室采用上述方法对偏侧 6-OHDA 大鼠模型运动功能进行行为学评价方面的经验,建议研究者们在选择运动行为测试方法时,应根据研究目的、对象和研究内容甄别筛选;选择方法时以简便可行,检测指标有效、稳定,且测试结果不宜受主观因素干扰的测试方法为优。同时,应明辨各类型行为学测试方法自身的局限性以及因实验对象(如:动物品系),测试环境(如:昼夜习性),实验人员的不同而可能产生的结果差异。此外,还要注意反复测试时可能存在的习得或忽略行为(如:学习记忆能力的影响),多重测试叠加时可能存在的交互影响等隐含影响因素,这样方可提高实验结果的准确性与可靠性。

参 考 文 献

- [1] Pienaar IS, Lu BW, Schallert T. Closing the gap between clinic and cage: sensori-motor and cognitive behavioural testing regimens in neurotoxin-induced animal models of Parkinson's disease [J]. Neurosci Biobeh Rev, 2012, 36: 2305~2324.
- [2] Meredith GE, Kang UJ. Behavioral models of Parkinson's disease in rodents: a new look at an old problem [J]. Mov Disord, 2006, 21(10): 1595~1606.
- [3] Petzinger GM, Fisher BE, McEwen S, et al. Exercise-enhanced neuroplasticity targeting motor and cognitive circuitry in Parkinson's disease [J]. Lancet Neurol, 2013, 12: 716~726.
- [4] 屈新辉, 谢旭芳, 周超, 等. 自体骨髓干细胞移植治疗帕金森病 32 例 [J]. 中国医药导报, 2013, 30: 48~50.
- [5] Meissner WG, Frasier M, Gasser T, et al. Priorities in Parkinson's disease research [J]. Nature Rev Drug Disc, 2011, 5(10): 377~393.
- [6] Duty S, Jenner P. Animal models of Parkinson's disease: a source of novel treatments and clues to the cause of the disease [J]. Br J Pharmacol, 2011, 164: 1357~1391.
- [7] Hirsch MA, Farley BG. Exercise and neuroplasticity in persons living with Parkinson's disease [J]. Eur J Phys Rehabil Med, 2009, 45: 215~229.
- [8] 陈生弟, 乐卫东, 陈先文, 等. 帕金森病 [M]. 北京:人民卫生出版社, 2006, 116~124.
- [9] Ungerstedt U, Arbuthnott GW. Quantitative recording of rotational behavior in rats after 6-hydroxy-dopamine lesions of the nigro-

- triatal dopamine system [J]. *Brain Res*, 1970, 24: 485–493.
- [10] Bove J, Perier C. Neurotoxin-based models of Parkinson's disease [J]. *Neuroscience*, 2012, 211: 51–76.
- [11] Ungerstedt U. Adipsia and aphagia after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system [J]. *Acta Physiol Scand [Suppl]*, 1971, 376: 95–122.
- [12] Deumens R, Blokland A, Prickaerts J. Modeling Parkinson's disease in rat: an evaluation of 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway [J]. *Exp Neurol*, 2002, 175: 303–317.
- [13] Meijide AD, Cheda BV, Gil PG, et al. Effect of chronic treatment with angiotensin type 1 receptor antagonists on striatal dopamine levels in normal rats and in a rat model of Parkinson's disease treated with L-DOPA [J]. *Neuropharmacology*, 2014, 76: 156–168.
- [14] Gerlach M, Riederer P. Animal models of Parkinson's disease: an empirical comparison with the phenomenology of the disease in man [J]. *Neural Transm*, 1996, 103: 987–1041.
- [15] Lang AE, Obeso JA. Challenges in Parkinson's disease: restoration of the nigrostriatal dopamine system is not enough [J]. *Lancet Neurol*, 2004, 3: 309–316.
- [16] Klug JM, Norman AB. Long-term sensitization of apomorphine-induced rotation behavior in rats with dopamine deafferentation or excitotoxin lesions of the striatum [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 1993, 46: 397–403.
- [17] Bevan P. Repeated apomorphine treatment causes behavioral supersensitivity and dopamine D2 receptor hyposensitivity [J]. *Neurosci Lett*, 1983, 35: 185–189.
- [18] Norman AB, Wyatt LM, Hildebrand JP, et al. Sensitization of rotation behavior in rats with unilateral 6-hydroxydopamine or kainic acid-induced striatal lesions [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 1990, 36: 755–759.
- [19] Ariano MA, Grissell AE, Littlejohn FC, et al. Partial dopamine loss enhances activated caspase-3 activity: differential outcomes in striatal projection systems [J]. *J Neurosci Res*, 2005, 82: 387–396.
- [20] Schallert T, Fleming SM, Leasure JL, et al. CNS plasticity and assessment of forelimb sensorimotor outcome in unilateral rat models of stroke, cortical ablation, parkinsonism and spinal cord injury [J]. *Neuropharmacology*, 2000, 39: 777–787.
- [21] O'Dell SJ, Gross NB, Fricks AN, et al. Running wheel exercise enhances recovery from nigrostriatal dopamine injury without inducing neuroprotection [J]. *Neuroscience*, 2007, 144: 1141–1151.
- [22] Tajiri N, Yasuhara T, Shingo T, et al. Exercise exerts neuroprotective effects on Parkinson's disease model of rats [J]. *Brain Res*, 2010, 1310: 200–207.
- [23] Silvestrin RB, Oliveira LF, Batassini C, et al. The footfault test as a screening tool in the 6-hydroxydopamine rat model of Parkinson's disease [J]. *J Neurosci Methods*, 2009, 177: 317–321.
- [24] Chao OY, Pum ME, Li JS, et al. The grid-walking test: assessment of sensorimotor deficits after moderate or severe dopamine depletion by 6-hydroxydopamine lesions in the dorsal striatum and medial forebrain bundle [J]. *Neuroscience*, 2012, 202: 318–325.
- [25] Borlongan CV, Sanberg PR. Elevated body swing test: a new behavioral parameter for rats with 6-hydroxydopamine induced hemiparkinsonism [J]. *J Neurosci*, 1995, 15(7): 5372–5378.
- [26] Roghani M, Behzadi G, Baluchnejadmojarad T. Efficacy of elevated body swing test in the early model of Parkinson's disease in rat [J]. *Physiol Behav*, 2002, 76: 507–510.
- [27] Baluchnejadmojarad T, Roghani M. Evaluation of functional asymmetry in rats with dose-dependent lesions of dopaminergic nigrostriatal system using elevated body swing test [J]. *Physiol Behav*, 2004, 82: 369–373.
- [28] Yuan H, Sarre S, Ebinger G, et al. Histological behavioural and neurochemical evaluation of medial forebrain bundle and striatal 6-OHDA lesions as rat models of Parkinson's disease [J]. *J Neurosci Methods*, 2005, 144: 35–45.
- [29] Sacrey LA, Whishaw IQ. Development of collection precedes targeted reaching: resting shapes of the hands and digits in 1-6-month-old human infants [J]. *Behav Brain Res*, 2010, 214: 125–129.
- [30] Whishaw IQ, Suchowersky O, Davis L, et al. Impairment of pronation, supination, and body co-ordination in reach-to-grasp tasks in human Parkinson's disease (PD) reveals homology to deficits in animal models [J]. *Behav Brain Res*, 2002, 133: 165–176.
- [31] Klein A, Sacrey LA, Whishaw IQ, et al. The use of rodent skilled reaching as a translational model for investigating brain damage and disease [J]. *Neurosci Biobeh Rev*, 2012, 36: 1030–1042.
- [32] Montoya CP, Campbell-Hope LJ, Pemberton KD, et al. The "staircase test": a measure of independent forelimb reaching and grasping abilities in rats [J]. *J Neurosci Methods*, 1991, 36: 219–228.
- [33] Whishaw IQ, Woodward NC, Miklyaeva E, et al. Analysis of limb use by control rats and unilateral DA-depleted rats in the Montoya staircase test: movements, impairments and compensatory strategies [J]. *Behav Brain Res*, 1997, 89: 167–177.
- [34] Kloth V, Klein A, Loetrich D, et al. Colour-coded pellets increase the sensitivity of the staircase test to differentiate skilled forelimb performances of control and 6-hydroxydopamine lesioned rats [J]. *Brain Res Bull*, 2006, 70: 68–80.
- [35] Whishaw IQ, O'Connor WT, Dunnett SB. The contributions of motor cortex nigrostriatal dopamine and caudate-putamen to skilled forelimb use in the rat [J]. *Brain*, 1986, 109: 805–843.
- [36] Metz GAS, Whishaw IQ. Skilled reaching an action pattern: stability in rat (*Rattus norvegicus*) grasping movements as function of changing food pellet size [J]. *Behav Brain Res*, 2000, 116: 111–122.
- [37] Miklyaeva EI, Castaneda E, Whishaw IQ. Skilled reaching deficits in unilateral dopamine-depleted rats: impairments in movement and posture and compensatory adjustments [J]. *J Neurosci*, 1994, 14(11): 7148–7158.

- [38] Vergara-Aragon P, Gonzalez C, Whishaw IQ. A novel skilled-reaching impairment in paw supination on the “good” side of hemi-Parkinson rat improved with rehabilitation [J]. *J Neurosci*, 2003, 23(2): 579–586.
- [39] Whishaw IQ, Zeeb F, Erickson C, et al. Neurotoxic lesions of the caudate-putamen on a reaching for food task in the rat: acute sensorimotor neglect and chronic qualitative motor impairment follow lateral lesions and improved success follows medial lesions [J]. *Neuroscience*, 2007, 146: 86–97.
- [40] Miklyaeva EI, Woodward NC, Nikiforov EG, et al. The ground reaction forces of postural adjustments during skilled reaching in unilateral dopamine-depleted hemiparkinson rats [J]. *Behav Brain Res*, 1997, 88: 143–152.
- [41] Klein A, Metz GA, Papazoglou A, et al. Differential effects on forelimb grasping behavior induced by fetal dopaminergic grafts in hemiparkinsonian rats [J]. *Neurobiol Dis*, 2007, 27: 24–35.
- [42] Sacrey LA, Alaverdashvili M, Whishaw IQ. Similar hand shaping in reaching-for-food (skilled reaching) in rats and humans provides evidence of homology in release, collection, and manipulation movements [J]. *Behav Brain Res*, 2009, 204: 153–161.
- [43] Schallert T, De Ryck M, Whishaw IQ, et al. Excessive bracing reactions and their control by atropine and L-DOPA in an animal analog of parkinsonism [J]. *J Exp Neurol*, 1979, 64: 33–43.
- [44] Tillerson JL, Cohen AD, Philhower J, et al. Forced limb-use effects on the behavioral and neurochemical effects of 6-hydroxydopamine [J]. *J Neurosci*, 2001, 21(12): 4427–4435.
- [45] Olsson M, Nikkhah G, Bentlage C, et al. Forelimb akinesia in the rat Parkinson model: differential effects of dopamine agonists and nigral transplants as assessed by a new stepping test [J]. *J Neurosci*, 1995, 15(5): 3863–3875.
- [46] Kirik D, Rosenblad C, Bjorklund A. Characterization of behavioral and neurodegenerative changes following partial lesions of the nigrostriatal dopamine system induced by intrastriatal 6-hydroxydopamine in the rat [J]. *Exp Neurol*, 1998, 152: 259–277.
- [47] Chang JW, Wachtel SR, Young D, et al. Biochemical and anatomical characterization of forepaw adjusting steps in rat models of Parkinson’s disease: studies on medial forebrain bundle and striatal lesions [J]. *Neuroscience*, 1999, 88(2): 617–628.
- [48] Woodlee MT, Asseco-Garcia AM, Zhao X, et al. Testing forelimb placing “across the midline” reveals distinct, lesion-dependent patterns of recovery in rats [J]. *Exp Neurol*, 2005, 191: 310–317.
- [49] Tillerson JL, Caudle WM, Reveron ME, et al. Exercise induces behavioral recovery and attenuates neurochemical deficits in rodent models of Parkinson’s disease [J]. *Neuroscience*, 2003, 119: 899–911.
- [50] Ciucci MR, Ma ST, Kane JR, et al. Limb use and complex ultrasonic vocalization in a rat model of Parkinson’s disease: deficit-targeted training [J]. *Parkinsonism Related Disord*, 2008, 14: 172–175.
- [51] Anstrom KK, Schallert T, Woodlee MT, et al. Repetitive vibrissae-elicited forelimb placing before and immediately after unilateral 6-hydroxydopamine improves outcome in a model of Parkinson’s disease [J]. *Behav Brain Res*, 2007, 179: 183–191.
- [52] Rozas G, Garcia JL. Drug-free evaluation of rat models of parkinsonism and nigral grafts using a new automated rotarod test [J]. *Brain Res*, 1997, 749: 188–199.
- [53] Rozas G, Guerra MJ, Garcia JL. An automated rotarod method for quantitative drug-free evaluation of overall motor deficits in rat models of parkinsonism [J]. *Brain Res Protoc*, 1997, 2: 75–84.
- [54] Whishaw IQ, Li K, Whishaw PA, et al. Distinct forelimb and hind limb stepping impairments in unilateral dopamine-depleted rat; use of the rotarod as a method for the qualitative analysis of skilled walking [J]. *J Neurosci Methods*, 2003, 126: 13–23.
- [55] Ogura T, Ogata M, Akita H, et al. Impaired acquisition of skilled behavior in rotarod task by moderate depletion of striatal dopamine in a pre-symptomatic stage model of Parkinson’s disease [J]. *Neurosci Res*, 2005, 51: 299–308.
- [56] Monville C, Torres EM, Dunnett SB. Comparison of incremental and accelerating protocols of the rotarod test for the assessment of motor deficits in the 6-OHDA model [J]. *J Neurosci Methods*, 2006, 158: 219–223.
- [57] Fang X, Sugiyama K, Akamine S, et al. Improvements in motor behavioral tests during deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in rats with different degrees of unilateral parkinsonism [J]. *Brain Res*, 2006, 1120: 202–210.
- [58] Fornaguera J, Schwarting RW. Early behavioral changes after nigro-striatal system damage can serve as predictors of striatal dopamine depletion [J]. *Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatr*, 1999, 23: 1353–1368.
- [59] 孙建栋, 范玉和, 刘岩, 等. 帕金森病模型大鼠中脑α-突触核蛋白增加 [J]. 中国药理学通报, 2010, 26(1): 73–77.
- [60] Ferro MM, Bellissimo MI, Anselmo-Franci JA, et al. Comparison of bilaterally 6-OHDA- and MPTP-lesioned rats as models of the early phase of Parkinson’s disease: histological, neurochemical, motor and memory alterations [J]. *J Neurosci Methods*, 2005, 148: 78–87.
- [61] Aguiar Jr. AS, Araujo Al, Cunha TR, et al. Physical exercise improves motor and short-term social memory deficits in reserpinated rats [J]. *Brain Res Bull*, 2009, 79: 425–457.
- [62] Mabandla MV, Kellaway LA, Daniels WM, et al. Effect of exercise on dopamine neuron survival in prenatally stressed rats [J]. *Metab Brain Dis*, 2009, 24: 525–539.
- [63] Antipova V, Hawlitschka A, Mix E, et al. Behavioral and structural effects of unilateral intrastriatal injections of botulinum neurotoxin A in the rat model of Parkinson’s disease [J]. *J Neurosci Res*, 2013, 91: 838–847.