

颅脑损伤后认知障碍大鼠模型制备及评价^{*}郭新荣¹ 马小卫²

(1. 陕西中医药大学针灸推拿学院, 西安 712046) (2. 陕西中医药大学教务处, 西安 712046)

摘要:目的 探索一种颅脑损伤后认知障碍动物模型的制备及评价。方法 健康雄性大鼠 (Sprague Dawley, SD) 60 只, 水迷宫筛选 48 只纳入实验, 随机分空白对照、模型对照和模型组。模型制备采用电子颅脑损伤仪 (electric Cortical Contusion Impactor, eCCI) 打击, 配合水迷宫筛选确定颅脑损伤 (Traumatic brain injury, TBI) 后认知障碍大鼠。观测大鼠生命体征、神经功能及运动功能; Morris 水迷宫实验; 测血清中 MMP-2、MMP-9、SOD、MDA 含量变化。**结果** 与空白组比较: 模型组生命体征稳定、各行为学指标均存在差异 ($P < 0.05$), 水迷宫实验潜伏期和空间探索实验结果均存在明显差异 ($P < 0.01$), 血清中 MMP-2、MMP-9、MDA 含量明显上升 ($P < 0.01$), SOD 明显下降 ($P < 0.01$)。**结论** 本模型制备策略能够较好模拟颅脑损伤后的认知障碍, 同时稳定性、重复性好、评价客观, 又易操作掌握, 可供同类研究时借鉴参考。

关键词: 颅脑损伤; 认知障碍; 模型制备; 实验动物

中图分类号: **文献标识码:** **文章编号:** 1006-6179(2019)05-0015-06

DOI: 10.3969/j.issn.1006-6179.2019.05.000

颅脑损伤 (Traumatic brain injury, TBI) 是临床常见创伤之一, 常导致意识丧失、失语、眩晕、头痛、认知障碍及各种神经功能障碍等^[1]。患者多以青壮年为主, 男性居多, 认知障碍 (Cognitive disorder, CD) 为多数患者伴有的最持久和最严重的症状之一, 特别是学习新知识的能力减退^[2-3], 给个人、家庭和社会带来了沉重负担^[4], 故对 TBI 认知功能障碍的有效防治引起了越来越多的医学研究者的关注^[5]。在科学研究工作中急需寻求一种能够较好模拟认知障碍, 同时稳定性、重复性好, 便于操作的动物模型平台及评价体系, 目前此方面研究较少, 本实验探索了 TBI 后认知障碍大鼠模型的制备及评价, 报道如下:

1 材料与方法

1.1 动物及分组

健康清洁雄性 SD 大鼠 60 只, 体质量 220 ~

240 g, 购自西安交通大学医学院实验动物中心, 合格证号: SCXK(陕)2012-003 号。自然光照, 自由饮水、进食, 温度 18~24 ℃、湿度 60%~70%, 严格按照 2006 年国家科技部颁布的《关于善待实验动物的指导意见》管理动物。动物适应性喂养 3 d, 水迷宫筛选不适合纳入实验的大鼠 12 只, 其余动物按随机数字表分为空白组 10 只, 假手术组 10 只, 模型组 28 只。

1.2 主要药品及试剂

戊巴比妥钠 (57-33-01); 盐酸利多卡因注射液 (161093); 注射用氨苄西林钠 (华北制药股份有限公司, 批号: D1604204, 0.5 g/支); Rat MMP-2、Rat MMP-9、Rat SOD、Rat MDA ELISA 检测试剂盒 (南京建成生物工程研究所)。

1.3 主要仪器

微型磨钻; 脑立体定位仪 (ST-3ND 型, 成都仪器厂); 电子颅脑损伤仪 (eCCI-6.3, 美国 VCU 大

收稿日期: 2019-04-23

^{*} 基金项目: 中国博士后科学基金资助项目 (No.2014M551038); 国家自然科学基金面上项目 (No.81674088); 陕西省教育厅 2016 年度专项科学研究计划 (No.16JK1199); 陕西中医药大学学科创新团队项目 (2019YL09)。

作者简介: 郭新荣 (1977—), 男, 副教授, 医学博士, 硕士研究生导师, 研究方向: 针灸治疗神经系统疾病的实验与临床研究。E-mail: gxr329@126.com

通信作者: 郭新荣 (1977—), 男, 副教授, 医学博士, 硕士研究生导师, 研究方向: 针灸治疗神经系统疾病的实验与临床研究。E-mail: gxr329@126.com



学);自动酶标仪(美国 Molecular Devices 公司 SpectraMax5);台式离心机(TL-4 型,湖南仪器仪表总厂离心机厂);恒温水浴锅(SHHW21.60A11 型,天津市泰斯特仪器有限公司);水迷宫(上海移数鼠博士, RD1101MWM-G)等。

1.4 各组动物处理

模型组:颅脑损伤动物模型制备:(1)术前禁食禁水 8 h;(2)腹腔内注射 2%的戊巴比妥钠(45 mg/kg)体质量进行麻醉;(3)将大鼠俯卧位固定于脑立体定向仪上;(4)头顶正中皮肤碘伏、酒精消毒,正中切开,剥离骨膜,暴露右顶骨;(5)利用脑立体定位仪进行定位,在冠状缝后 3 mm、中线右侧旁开 2.5 mm 处^[6]制作标记;然后以标记点为圆心、用微型磨钻钻半径为 2 mm 的骨窗,保持硬脑膜完整。利用游标卡尺进行测量确保所开骨窗直径为 4 mm,否则进行修整;(6)将大鼠移置到 eCCI 操作台上,进行打击(速度 4 m/s、深度 3 mm),撞击杆撞击硬膜,使脑组织产生瞬间形变;(7)打击后创面如有出血,用消毒干棉球进行压迫止血;后利用注射器向伤口处滴注 4 万单位硫酸庆大霉素 4~5 滴,用骨蜡封闭骨窗;(8)用 1.0 号手术线缝合头皮;(9)术后处理:缝合后立即用红霉素软膏涂抹缝合处及周围。将大鼠放在棉垫上,保持呼吸畅通,注意保暖,约 2~3 h,待大鼠完全苏醒后放回鼠笼中饲养;(10)术后抗感染:注射氨苄西林钠,每次用量 125 mg,生理盐水稀释后,腹腔注射,每日 1 次,连用 3 d。

空白组:不做任何处理。

假手术组:同模型组开颅,但不打击。

1.5 TBI 认知障碍动物模型筛选

待以上手术动物恢复 3 d 后,将模型组所有动物进行水迷宫实验(仅进行定位航行实验),将各自的总成绩计算,并排序。有研究^[7]指出 70%~80%的脑外伤幸存患者存在认知功能障碍,故本实验选取前 70%的动物纳入实验研究。

1.6 术后大鼠生命体征、神经功能及运动功能评价方法

1.6.1 观察实验大鼠受到外伤后出现的生命体征变化,并且记录打击后出血量的情况、呼吸、抽搐、意识障碍、致死情况。

1.6.2 神经行为能力^[8]:制作一个长 30 cm、宽 30 cm 的木板。参考 Faden 等使用的大鼠实验性颅脑创伤神经功能行为评分标准,具体评价标准:大鼠在 30 度倾斜板上保持位置的能力(包括垂直、左右

两侧水平三种方向);悬吊大鼠尾部,左右前肢屈曲能力;对抗左右两侧牵拉的能力。每项 0~5 分(重伤—正常),正常大鼠计分应为 15 分。

1.6.3 大鼠平衡功能试验^[8]:制作一根长 30 cm、宽 1.5 cm 的木条。当大鼠放置在木条上时,动物在木条上的平衡状态可作为评分条件。具体评分方法:1 分,平稳不动;2 分,比较平稳,稍微晃动;3 分,较大晃动;4 分,站在木条上一段时间后从悬挂在木条上掉下;5 分,站在木条上一段时间后从木条上掉下;6 分,无法站在木条上,立即从木条上掉下。评分越高,动物的平衡功能障碍越显著。

1.6.4 鼠行走试验:具体方法^[8]:行走试验是由一根长 100 cm、宽 1.5 cm 木条和一个长 20 cm、宽 15 cm、高 20 cm 木盒组成。动物听到噪声时,大鼠会从木条一端逃到另一端木盒中。正常大白鼠通过若干次训练,能在 5 s 之内完成这个过程。通过测试大鼠完成行走试验的时间来判断动物的运动功能,时间越长,动物运动功能障碍越明显。测量时使用智能手机上自带的秒表计时器计时测量。

1.7 Morris 水迷宫实验

1.7.1 定位航行实验:大鼠依次从 4 个象限进入水中,若 90 s 内爬上平台,记录所用时间;若 90 s 内未找到平台,潜伏期则记录为 90 s。连续训练 4 d,每日上、下午各 1 次。每次的游泳结果,取四个象限的逃避潜伏期之和。动物在造模后第 4 天开始水迷宫实验,持续 12 次。

1.7.2 空间探索实验:定位航行实验最后一次结束后 1 天的上午,撤除平台,将实验大鼠放入水中,观察、记录大鼠 90 s 内经过原平台所在区域次数。

1.8 血清 MMP-2、MMP-9、SOD 和 MDA 含量检测

待第 12 次水迷宫实验结束时,大鼠麻醉,腹主动脉取血,3 000 转/分离心,取血清,-20 ℃ 冰箱保存以供检测使用。ELISA 实验操作步骤按照试剂盒说明进行。结果判定:在 Excel 表中,以标准品浓度为横坐标、对应 A 值为纵坐标,绘制出标准品线性回归曲线,按曲线方程计算各样本浓度值。

1.9 统计方法

采用 SPSS 23.0 进行统计,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析;组间两两比较,方差齐性时采用 LSD 检验,方差不齐时采用邓尼特 C 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 术后大鼠生命体征、神经功能及运动功能结果

2.1.1 各组动物出血情况:根据 eCCI 不同强度打

击动物出血量情况,采用团队前期研究制定^[9]的分级标准,见表 1。

表 1 各组动物造模时出血情况

Table 1 Bleeding in each group during modeling

组别	动物总数/只	无出血/只	微量出血/只	轻量出血/只	中量出血/只	重量出血/只
空白组	10	10	0	0	0	0
模型组	28	13	8	1	3	3
假手术组	10	9	1	0	0	0

注:模型组造模过程中死亡 4 只,存活 24 只;假手术组死亡 2 只,存活 8 只
Note:In the model group, 4 rats died and 24 survived in the process of modeling; in the sham operation group, 2 rats died and 8 rats survived

2.1.2 打击时大鼠抽搐、术后呼吸情况和存活情况,见表 2。

表 2 各组动物造模后抽搐、呼吸情况和存活情况

Table 2 Convulsion, respiration and survival of animals in each group after modeling

组别	动物总数/只	呼吸次数平均值/min	伴有抽搐/只	死亡情况/只
假手术组	8	64.50±4.31	0	2
模型组	24	56.33±5.21 [#]	9	4

注:与假手术组比较,[#]*P* < 0.01
Note: Compared with the Sham operation group, [#]*P* < 0.01

2.1.3 神经功能行为能力:术后当日,术后 3 日,实验结束时检测各组动物的行为学能力(见表 3),方法参考文献^[10]。

表 3 各组动物神经行为能力评分比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 3 Comparison of neurobehavioral abilities of animals in each group ($\bar{x}\pm s, n=8$)

时间	空白组	假手术组	模型组
术后当日	15	8.11±1.22	5.75±1.33
术后 3 日	15	15	10.40±1.98 [#]
实验结束时	15	15	13.00±1.91 [*]

注:与术后当日比较,[#]*P* < 0.01;与术后 3 日比较,^{*}*P* < 0.01
Note: compared with the postoperative day, [#]*P* < 0.01; compared

with the postoperative day, ^{*}*P* < 0.01

2.1.4 大鼠平衡功能

术后当日,术后 3 日,实验结束时检测各组动物平衡功能结果,见表 4。

表 4 各组动物平衡能力评分比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 4 Comparison of balance ability of animals in each group ($\bar{x}\pm s, n=8$)

时间	空白组	假手术组	模型组
术后当日	1	3.44±0.89	4.35±1.23
术后 3 日	1	1	3.40±0.68 [#]
实验结束时	1	1	2.17±0.58 [*]

注:与术后当日比较,[#]*P* < 0.01;与术后 3 日比较,^{*}*P* < 0.01
Note: compared with the postoperative day, [#]*P* < 0.01; compared

with the postoperative day, ^{*}*P* < 0.01

2.1.5 大鼠行走试验:术后当日,术后 3 日,实验结束时检测各组动物行走功能情况。测量时使用智能手机上自带的秒表计时器,见表 5。说明正常动物均能够在 5 秒内完成行走试验。

表 5 各组行走试验的时间(s)比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 5 Comparison of walking test in each group ($\bar{x}\pm s, n=8$)

时间	空白组	假手术组	模型组
术后当日	3.20±0.69	7.97±1.11	13.22±2.07
术后 3 日	3.10±0.72	4.07±0.42	9.75±1.73 [#]
实验结束时	3.34±0.62	3.35±1.02	6.42±2.26 [*]

注:与术后当日比较,[#]*P* < 0.01;与术后 3 日比较,^{*}*P* < 0.01
Note: compared with the postoperative day, [#]*P* < 0.01; compared

with the postoperative day, ^{*}*P* < 0.01

2.2 Moriss 大鼠水迷宫评价

2.2.1 大鼠水迷宫潜伏期实验:结果见表 6,图 1。

2.2.2 空间探索实验:结果见表 7。

2.3 血清中认知障碍标志物 MMP-2、MMP-9、SOD、MDA 含量

2.3.1 MMP-2、MMP-9 蛋白含量:当动物实验终止时,腹主动脉抽血,对各组动物血清中的 MMP-2、MMP-9 含量进行了检测,结果:与空白组比较,模型组血清 MMP-2、MMP-9 含量明显上升(*P* < 0.01),而假手术组含量没有变化(*P* > 0.05),见表 8。

表 6 大鼠水迷宫潜伏期时间比较 (x±s,n=5)

Table 6 Comparison of latency of water maze in rats (x±s,n=5)						
组别	第 1 次	第 2 次	第 3 次	第 4 次	第 5 次	第 6 次
空白组	80.59± 5.64	75.25± 2.51	73.21±6.64	68.47± 4.03	64.12± 8.03	53.06± 4.14
假手术组	82.09±12.69 [*]	80.99± 6.14 [*]	69.82±4.09 [*]	63.08± 4.15 [*]	59.66± 6.36 [*]	59.84± 6.91 [*]
模型组	96.93± 6.88 [#]	100.27±10.10 [#]	96.63±3.83 [#]	94.60±12.74 [#]	92.91±10.37 [#]	89.78±12.34 [#]
组别	第 7 次	第 8 次	第 9 次	第 10 次	第 11 次	第 12 次
空白组	49.86± 2.38	52.98± 6.74	50.28±6.17	48.87± 5.43	42.42± 3.27	40.17± 4.05
假手术组	55.37± 5.73 [*]	48.97± 5.24 [*]	46.14±3.65 [*]	43.01± 3.61 [*]	46.90± 8.47 [*]	44.22± 6.42 [*]
模型组	87.44±10.09 [#]	88.43±15.52 [#]	86.63±7.23 [#]	79.06±17.20 [#]	86.28± 6.94 [#]	84.74±12.46 [#]

注:与空白组比较,[#]P<0.01;^{*}P>0.05
Note: compared with the blank group,[#]P<0.01;^{*}P>0.05



图 1 水迷宫典型轨迹图
Fig.1 typical path of water maze

表 9 血清中 SOD、MDA 含量的情况 (x±s,n=8)

Table 9 content of SOD and MDA in serum (x±s,n=8)		
组别	SOD/(μmol/L)	MDA/(μmol/L)
空白组	74.69±9.91	2.54±0.62
假手术组	76.53±12.09 [#]	2.18±1.09 [#]
模型组	47.59±17.13 [*]	5.61±2.42 [*]

注:与空白组比较,[#]P>0.05;与空白组、假手术组比较,^{*}P<0.01

Note: Compared with the blank group,[#]P>0.05; Compared with blank group and sham operation group,^{*}P<0.01

表 7 各组大鼠穿过平台所在位置数 (x±s,次)

Table 7 number of positions of rats in each group passing through the platform (x±s, times)		
组别	动物数/只	第 14 日
空白组	9	7.22±1.20
假手术组	5	7.20±0.83 [*]
模型组	12	3.92±1.56 [#]

注:与空白组比较,[#]P<0.01;^{*}P>0.05
Note: compared with the blank group,[#]P<0.01;^{*}P>0.05

表 8 血清中 MMP-2、MMP-9 含量的情况 (x±s,n=8)

Table 8 contents of MMP-2 and MMP-9 in serum (x±s,n=8)		
组别	MMP-2/(ng/mL)	MMP-9/(ng/mL)
空白组	0.45±0.11	7.89±0.86
假手术组	0.46±0.11 [#]	8.04±3.03 [#]
模型组	1.63±0.88 [*]	11.14±2.83 [*]

注:与空白组比较,[#]P>0.05;与空白组、假手术组比较,^{*}P<0.01

Note: Compared with the blank group,[#]P>0.05; Compared with blank group and sham operation group,^{*}P<0.01

2.3.2 血清中 SOD、MDA 含量:当动物实验终止时,腹主动脉抽血,对各组动物血清中的 SOD、MDA 含量进行了检测,结果:与空白组比较,模型组血清 SOD 含量明显下降 (P<0.01),MDA 含量明显上升 (P<0.01),而假手术组 SOD、MDA 含量均没有变化 (P>0.05)。见表 9。

3 讨论

本研究选用动物模型制备的基本方法笔者已发表过相关研究论文^[11];团队近年一直使用本造模方法,该方法稳定,可靠性较强。本次为了进一步研究 TBI 后认知功能障碍的发生,在原有模型基础上引入了水迷宫筛选。结合水迷宫研究结果,我们发现模型组动物与空白组、假手术组比较水迷宫实验潜伏期大大延长、空间探索实验也表现较差,确实发生了认知功能障碍;同时,空白组和假手术组比较没有差异,这说明除打击导致颅脑损伤外,手术等操作没有造成影响。同时,实验也对大鼠生命体征、神经功能行为学及运动功能进行了研究,结果显示:SD 大鼠颅脑受到手术、外力打击后,动物出血量增加,呼吸减慢,死亡动物数也随之增加。于打击后当日动物苏醒后,对其神经功能、平衡能力、行走能力进行了评价,显示结果与空白组比较,造模组有显著性差异,假手术组也有差异。造模后第 3 日进行评估,假手术组神经功能、平衡、行走能力均明显恢复;但是,模型组动物神经功能、平衡、行走能力虽然均有明显恢复,但是仍然存在显著性差异。当实验结束时,模型组动物神经功能、平衡、行走能力均明显改善,同

术后 3 日点比较,均有明显改善,但是,与正常组比较,仍然存在差异。结果说明这一模型制备策略稳定可靠,可供同类研究使用。

进一步实验选择了具有认知障碍标志物的公认指标基质金属蛋白酶 2(MMP-2)、基质金属蛋白酶 9(MMP-9)、氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)进行研究。MMP 是一组锌离子依赖的内肽酶家族^[12],目前已发现人类 MMPs 有 20 多种,其中 MMP-2、MMP-9 是 MMPs 家族的核心成员,与阿尔茨海默病(AD)的关系密切,影响其发生发展;近年来成为一种认知功能障碍的标志物,越来越多地被应用在认知障碍的研究中。SOD 是细胞内生的氧自由基清除剂可以清除体内代谢产生的氧自由基;MDA 是氧自由基作用于细胞膜脂的产物,其浓度变化能够间接反映氧自由基的含量变化,两者作为细胞代谢的一对研究指标,已经是目前已经被许多研究所公认的结果。许多学者^[13-14]将 SOD、MDA 作为研究颅脑损伤认知功能的重要观察指标之一。本研究将血清中 MMP-2、MMP-9、SOD 和 MDA 作为 TBI 后认知障碍标志物进行观察,是否能得到理性的效果呢?在实验中,探索 TBI 后认知障碍的动物模型制备效果,结果发现模型组动物血清中 MMP-2、MMP-9、MDA 含量明显升高,但是,假手术组和空白组均表达低水平,且两组之间比较没有差异;发现模型组动物血清中 SOD 含量明显下降,同样,假手术组和空白组均表达一般水平,且两组之间比较没有差异。这些观察结果证明了 TBI 后认知障碍大鼠血清中 MMP-2、MMP-9、SOD 和 MDA 含量确实发生了变化;同时也说明我们使用血清中这 4 种物质的含量变化作为 TBI 后认知障碍观察标志物是可行的;也从一定程度证明我们制备的 TBI 后认知障碍的有效可靠性。

综上,本实验研究了 TBI 后认知功能大鼠模型制备的策略和评价方法,使用水迷宫筛选、检测血清中 MMP-2、MMP-9、SOD、MDA 的含量等是可靠度较高的评价方法,本模型制备方法操作可行,结果可

靠,可供同类研究应用。

参 考 文 献

[1] Arango-Lasprilla J C, Ketchum J M, Cifu D, *et al.* Predictors of Extended Rehabilitation Length of Stay After Traumatic Brain Injury[J]. Arch Phys Med Rehabil, 2010, **91**(10): 1495-1504.

[2] Fleminger S, Oliver D L, Lovestone S, *et al.* Head injury as a risk factor for Alzheimer's disease: the evidence 10 years on; a partial replication[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2003, **74**(7), 857-862.

[3] Andruszkow H, Urner J, Deniz E, *et al.* Subjective impact of traumatic brain injury on long-term outcome at a minimum of 10 years after trauma - first results of a survey on 368 patients from a single academic trauma center in Germany[J]. Patient Safety in Surgery, 2013, **7**(1): 32-39.

[4] 袁强, 胡锦. 颅脑创伤经济负担研究进展[J]. 中国预防医学杂志, 2012, **13**(2): 85-88.

[5] Schiff N D. Recovery of consciousness after brain injury: a mesocircuit hypothesis[J]. Cell Trends in Neurosciences[J], 2009, **33**(1): 1-9.

[6] 大鼠脑立体定位图谱[M] (The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates). George Paxinos, Charles Watson 著, 诸葛启钊主译. 北京: 人民卫生出版社, 第 3 版, 2005.

[7] 何敏. 心理护理干预对脑外伤综合征患者康复的影响观察[J]. 中外医疗, 2012, **17**(12): 152-154.

[8] 江基尧. 现代颅脑损伤学(第 3 版)[M]. 上海: 第四军医大学出版社, 2010.

[9] 郭新荣. 不同时机针刺介入对 TBI 模型大鼠脑神经元的保护作用及机理研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2013.

[10] 江基尧. 现代颅脑损伤学(第 3 版)[M]. 上海: 第四军医大学出版社, 2010.

[11] 王瑞辉, 郭新荣, 吴涛, 等. 使用电子颅脑损伤仪器制备大鼠颅脑损伤动物模型[J]. 中华实验外科杂志, 2014, **31**(3): 675-676.

[12] Lynch C C. Matrix metalloproteinases as master regulators of the vicious cycle of bone metastasis[J]. Bone, 2011, **48**(1): 44-53.

[13] 李婷, 梁舒婷, 廖美爱, 等. 川芎对衰老小鼠组织 SOD、GSH-Px、MDA 及学习记忆的影响[J]. 医学理论与实践, 2017, **30**(18): 2661-2662.

[14] 赵荣, 刘江伟, 许永华, 等. 姜黄素对沙漠干热环境中暑大鼠脑损伤的保护作用研究[J]. 实验动物科学, 2016, **33**(6): 21-24.



Establishment and Evaluation of a Rat Model of Cognitive Impairment after Traumatic Brain Injury

GUO Xinrong¹, MA Xiaowei²

(1. *Acupuncture and Massage Department, Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 712046, China*)

(2. *Department of Teaching management Affairs, Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 712046, China*)

Abstract: Objective To explore the preparation and evaluation of an animal model of cognitive impairment after Traumatic brain injury. **Method** Sixty healthy male SD rats and the remaining 48 rats after water maze screening were randomly divided into blank control group, model control group and model group. The electric Cortical Contusion Impactor was used to attack the model and water maze screening was used to determine the cognitive impairment rats after TBI. The changes of vital signs, nerve function and motor function, Morris water maze test, contents of MMP-2, MMP-9, SOD and MDA were observed. **Result** Compared with the blank group, there were significant differences in vital signs and behavioral indicators ($P < 0.05$), latency of water maze test and space exploration test ($P < 0.01$), serum MMP-2, MMP-9 and MDA levels ($P < 0.01$), and SOD levels ($P < 0.01$). **Conclusion** The model preparation scheme proposed in this paper can simulate the cognitive impairment after craniocerebral injury, and has good stability, reproducibility, **Objective** evaluation, and better operation of animal model platform and evaluation system, which is worthy of reference in similar studies.

Key words: cognitive impairment; Traumatic brain injury; model preparation; experimental animals

(上接第 14 页)

Correlation between SNP Loci of SLC1A2 and the Activity Level of Labrador and Golden Retriever

MA Xuena, BAI Jing, CHEN Shuting, LUO Dong, LI Yachan, ZHOU Zijuan,
WANG Fujing, WANG Aiguo, WANG Jingyu

(*Laboratory Animal Center, Dalian Medical University, Dalian 116044, China*)

Abstract: Objective To determine the correlation between the SNP loci of SLC1A2 and the activity level of Labrador and Golden Retriever for selection of effective genetic biomarkers. **Method** Ninety-nine dogs (80 Labrador and 19 Golden) were selected from the Chinese guide dog training center of Dalian. The activity levels of the dogs were evaluated by Passive Test. Venous bloods of the dogs was collected and the genomic DNA was isolated from white blood cells. Three SNP loci of SLC1A2 gene, T129C, T1549G, and T471C, were detected by PCR/sequencing method. Finally, the correlations between activity level and genotypes were analyzed. **Result** The T129C and T1549G loci of SLC1A2 gene were not polymorphic. The T471C locus had three genotypes: T/T, T/C and C/C. There was no significant correlation between the three genotypes of T471C and the activity level, sex, and breed ($P > 0.05$). There was also no significant correlation between the activity level and the breed. However, there was significant correlation between activity level and sex ($P = 0.049$). **Conclusion** There is no significant correlation between SNP loci of SLC1A2 gene and activity levels of Labrador and Golden Retriever.

Key words: Labrador; Golden Retriever; SLC1A2; SNP; Activity level