涂仕娟,陈鹏,杨红亚. “鼠衣秋千式”大鼠温针灸固定方法的研究与探索［J］. 中国比较医学杂志, 2021, 31(5): 128-132.
Tu SJ, Chen P, Yang HY. Fixation method for needle warming moxibustion treatment on swinging rats bound with coat［J］. Chin J Comp Med, 2021, 31(5): 128-132.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2021.05.021

“鼠衣秋千式”大鼠温针灸固定方法的研究与探索

涂仕娟[1],陈　鹏[2],杨红亚[1*]

(1.成都中医药大学基础医学院,成都　611137; 2.成都中医药大学医学与生命科学学院,成都　611137)

【摘要】　目的　为大鼠温针灸治疗提供一种操作简便的固定装置和方法。**方法**　用旧布料制作鼠衣,利用大鼠喜暗喜钻洞习性使其进入鼠衣并固定;用 S 形挂钩将固定好的大鼠悬挂于布带条上,使其处于荡秋千式悬挂状态,治疗部位穴位充分暴露;根据选穴,对大鼠进行温针灸治疗;从操作时间、动物反应等方面比较“鼠衣秋千式”和束缚固定法。**结果**　与束缚法相比,“鼠衣秋千式”固定法只需 1 人即可完成操作,固定单只大鼠所需时间显著缩短($P<0.01$);大鼠在固定、悬挂以及温针灸治疗过程应激反应较小,无烫伤、死亡等情况发生,治疗中掉针大鼠所占比例为 10.00%,而束缚组为 60.00%;取穴方便,温针灸治疗能够顺利进行。**结论**　“鼠衣秋千式”大鼠温针灸固定方法与其他固定方法相比,具有能减少大鼠应激反应、节约人力、操作简便、固定装置大小易调节等优点,是一种较为适用于各种体型的大鼠四肢部位温针灸的固定方法。

【关键词】　温针灸;鼠衣秋千式;束缚法;固定方法;大鼠
【中图分类号】R-33　　**【文献标识码】**A　　**【文章编号】**1671-7856(2021) 05-0128-05

Fixation method for needle warming moxibustion treatment on swinging rats bound with coat

TU Shijuan[1], CHEN Peng[2], YANG Hongya[1*]
(1.Basic Medical College, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China.
2.Medical and Life Science College, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137)

【Abstract】　Objective　To provide a straightforward fixation device and method for needle warming moxibustion treatment on rats. **Methods**　A coat was made for the rat from old cloth. Using the natural tendency of rats to like darkness and seek holes, the rat was bound in the coat. Bound rats were then hung on a cloth strip with S-shaped hooks to provide a swing, which completely exposed the acupoints for treatment. Rats were treated with needle warming moxibustion. We compared operation time and animal reaction between swinging rats bound with coat and bound rats only. **Results**　Compared with the bondage method , the swinging method with rats bound with coat fixation required only one person to complete the operation, and the time required to fix one rat was significantly shorter ($P < 0.01$). There was a minimal stress reaction in the process of binding, hanging, and needle warming moxibustion treatment. The needle drop rate was 10%, while in the bound group it was 60%. There was no scalding or death in the swinging rats. Thus, the needle warming moxibustion treatment was successfully administered. **Conclusions**　Compared with the existing holder, the fixation method

[**基金项目**]国家自然科学基金(81403299);四川省卫生厅科研项目(130312);成都中医药大学“杏林学者”学科人才提升计划项目(QNXZ2019008)。
[**作者简介**]涂仕娟(1993—),女,硕士研究生,研究方向:膝骨关节炎的温针灸疗效机制研究。E-mail: 1148217370@qq.com
[**通信作者**]杨红亚(1982—),女,副教授,硕士生导师,研究方向:中西医结合基础。E-mail: yhy6018@163.com

of needle warming moxibustion treatment on swinging rats bound with coat can reduce the stress response of rats and minimize manpower. It is easy to adjust the size of device, convenient to select acupoints, and is easy to operate. It is a more applicable method for needle warming moxibustion in the limbs of all types of rats.

【**Keywords**】 needle warming moxibustion; swinging rats bound with coat; bondage; fixation method; rats

针灸作为中医学体系里的独特分支,除秉承中医整体调节和辨证论治的优势外,更具备操作简便、起效迅速、物理刺激不良反应小等特点[1],随之而来的针灸疗效机制研究是目前中医学研究的热点之一。动物模型为针灸疗效机制研究提供了良好的载体,大鼠是针灸机制研究中最常用的动物之一。但是目前对大鼠针灸实验固定方法的研究较少,常用的固定方法有束缚法[2]、束袋法[3]、鼠筒法[2,4]、输液瓶固定法[5]、置高台法[6]等。课题组在进行膝骨关节炎(knee osteoarthritis, KOA)模型大鼠温针灸治疗时曾尝试这些固定方法,结果发现此类方法存在大鼠应激反应强烈、取穴部位受限、掉针、仅适合特定部位单纯针刺,不适用于针灸治疗、固定器型号只适用于限定体重动物等局限性。因此,选择一种操作简便,又能减少针灸治疗中动物应激反应的固定方法,是针灸机制研究中面临的一个关键问题。

如何减少大鼠固定和治疗过程的应激反应呢?笔者联想到荡秋千时双腿悬空、足部无着力点、下肢无法发力的体验,受此启发,反复实践后设计了一种大鼠温针灸的“鼠衣秋千式”固定方法,以 KOA 模型大鼠为实验对象,观察固定及治疗过程动物的应激反应,并评估该方法的适用范围,同时与温针灸治疗中常用的束缚法进行对比。结果显示,“鼠衣秋千式”固定法中的大鼠在固定及温针灸治疗过程中应激反应较小,四肢部位穴位充分暴露,1 名实验人员即可独立完成对大鼠的固定和治疗,操作简便。现将“鼠衣秋千式”固定装置的制作及使用方法介绍如下,供各位同仁参考。

1　材料和方法

1.1　实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 60 只,体重(250±20) g,7 周龄,来源于湖南斯莱克景达实验动物有限公司[SCXK(湘)2019-0004],饲养于成都中医药大学科研创新中心屏障环境动物房[SYXK(川)2020-124]。本实验通过成都中医药大学实验动物福利伦理审查(2019-14),并严格按照动物使用的减少、优化、替代“3R”原则进行设计。

1.2　主要试剂与仪器

废弃的白大褂(或旧衣料),剪刀,缝衣针,缝衣线,3 mm×400 mm 的自锁式塑料尼龙扎带,长 3 m、宽 15 cm 布带条 1 根,S 形小号挂钩若干,50 mm 规格的长尾夹,小号镊子,帆布手套,乳胶手套(海门市扬子医疗器械有限公司);1 mL 一次性无菌注射器(成都市新津事丰医疗器械有限公司);0.9%氯化钠注射液(四川科伦药业股份有限公司);碘乙酸钠(MIA)(美国 Sigma-Aldrich 公司);宠物电推剪(型号:RFCZ-572,九江亨利电器有限公司);0.25 mm×25 mm 华佗牌一次性无菌针灸针(苏州医疗用品厂有限公司);1.2 cm×1.5 cm 的小艾炷(湖南省高圣生物有限公司);碘酒(四川金山制药有限公司);75%乙醇(山东安捷高科消毒科技有限公司),硬纸板,打火机,艾灰盒。

1.3　实验方法

1.3.1　动物分组

大鼠适应性喂养 2 周后,选取体重(400±20) g 的大鼠采用碘乙酸钠(MIA)膝关节腔注射的方法复制 KOA 模型[7-9],关节腔注射同等体积无菌生理盐水的大鼠设置为空白组。饲养环境日光灯 12 h 明暗更替照明,安静且通风,温度(23±2)℃,相对湿度 50%~70%,大鼠自由摄食饮水。

1.3.2　固定装置制作及使用方法

(1)制作方法

将清洁后的旧白大褂衣料缝制成摊开尺寸为 50 cm×13 cm 的筒状鼠衣,用剪刀在上面分别开 2 个 φ2.5 cm 和 φ3.5 cm 的孔,用以掏出大鼠的前后肢,大小两孔之间距离为 17 cm,见图 1。

(2)使用方法

造模 2 周后,筛选复制成功的 KOA 大鼠模型进行温针灸治疗[10-12],其中 20 只大鼠采用常规的束缚法固定,20 只大鼠采用“鼠衣秋千式”固定。每只大鼠温针灸治疗每日 1 次,5 次为 1 个疗程,共 2 个疗程,疗程间间隔 2 d。

①鼠衣固定

操作者戴好手套,将大鼠置于粗糙的台面上,左手抓住鼠尾向后轻拉,右手将鼠衣的一端口打开,利用大鼠喜暗喜钻洞的习性,将其置于鼠衣口

处,大鼠会自行钻入其中,见图 2。当大鼠钻到鼠衣中间时,头部则完全被鼠衣覆盖。左手隔着鼠衣迅速握住大鼠躯干,找到上肢与躯干连接处,拇食中三指从腹部方向夹持住大鼠两侧的肩胛骨,右手掏出大鼠的两前肢。在左手掌心与大鼠的躯干间留出缝隙,将尼龙扎带从缝隙中穿过,围绕鼠衣一周将大鼠前端固定,见图 3。最后采用相似的方法固定大鼠身体后端,使其双侧后肢位于鼠衣外面。完成上述操作后,观察大鼠是否出现张口呼吸、反应剧烈等情况,根据动物反应调整尼龙扎带束缚的松紧。针灸组大鼠体型体重相似,测量束缚大鼠所用尼龙扎带围绕身体前端及后端一周所需的长度,并用记号笔对新扎带做标记,有助于快速有效地固定下一只大鼠。操作熟练之后 1 人完成此固定过程约需要 1 min。

②秋千式悬挂

取一段 3 m 长的布带条,每隔 8 cm 左右剪 1 个小孔,用来放置 S 型挂钩以悬挂大鼠。将布带条两端固定于实验室墙角两侧的墙壁,布带条距离地面高度约为 70 cm,以实验人员坐在凳子上操作舒适省力为宜。在大鼠前肢和后肢对应部位的鼠衣上分别开孔,用 S 型挂钩悬挂于布带条上对应的孔内,使大鼠悬挂于布带条上,处于“荡秋千”微微摆动的状态。借助 S 形挂钩调节大鼠身体前后端与布带条之间距离,使大鼠头部在上,身体与地面呈 45 度倾斜,见图 4。最后用长尾夹收紧大鼠后肢根部的鼠衣,以充分暴露取穴部位。操作熟练后 1 人完成悬挂过程约需要 30 S。

③温针灸治疗

大鼠针灸侧腿部皮肤剃毛后,穴区用碘酒消毒后再以 75%的乙醇脱碘,定位,毫针针刺腧穴,进针深度为 5~7 mm。将艾炷置于针柄,点燃艾炷下端,每次 30 min,进针前在毫针上穿上隔热纸板以防止温针灸过程烫伤大鼠,见图 5。治疗过程多数大鼠处于闭目休息状态,针灸治疗过程较为顺利,见图

图 1 鼠衣成品图

Figure 1 Finished design of rat's coat

图 2 大鼠钻进鼠衣

Figure 2 Rat getting into coat

图 3 固定大鼠

Figure 3 Rat being fixed

图 4 秋千式悬挂

Figure 4 Swinging rats

6。治疗结束后,取针和隔热纸板,出血部位按压止血、消毒。剪开尼龙扎带,解开大鼠的束缚,将其放回鼠笼。

1.3.3　“鼠衣秋千式”固定法与束缚法的比较

从完成操作所需实验人员数量、单只大鼠固定所需时间、大鼠在固定及温针灸治疗时的反应等方面比较“鼠衣秋千式”固定法与束缚固定法。

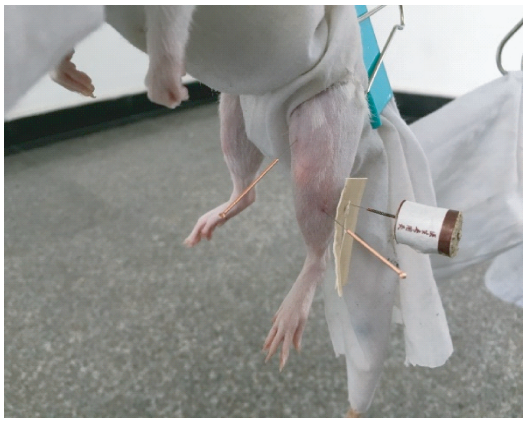

图 5　温针灸治疗

Figure 5　Needle warming moxibustion treatment

图 6　温针灸治疗中的大鼠

Figure 6　Rat in needle warming moxibustion treatment

1.4　统计学方法

采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析,实验数据以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,以 $P<0.05$ 时表示差异具有统计学意义。

2　结果

2.1　不同固定方法固定单只大鼠所需实验人员数量及时间的对比

完成大鼠固定和治疗所需实验人员数量以及固定单只大鼠所需时间如表 1 所示。可见,与束缚组相比,采用“鼠衣秋千式”法 1 人即可完成固定和温针灸治疗;固定单只大鼠所需时间显著减少($P<0.01$)。

2.2　温针灸治疗中不同固定方法组大鼠的反应对比

温针灸治疗过程,不同固定方法组大鼠的反应见表 2。“鼠衣秋千式”固定组有 2 只大鼠在首次绑缚时候出现了较激烈的反应,占实验组大鼠总数的比例为 10.00%,在随后的 9 次固定操作中,其应激反应逐渐减弱。束缚组有 7 只大鼠在操作中出现了

表 1　不同方法固定单只大鼠所需人数、时间的对比($\bar{x} \pm s$, $n=20$)

Table 1　Comparison of the number of people and time required for fixing a single rat by different methods

组别 Groups	完成操作所需人数(人) Number of people required	单只大鼠固定时间(s) Time of fixing single rat
鼠衣秋千式组 Swinging rats bound with coat Group	1	89.20±3.93*
束缚组 Bound rats Group	2	110.85±15.64

注:与束缚组(对照组)比较,* $P<0.01$。

Note. Compared with the bound rats Group (control group), * $P<0.01$.

表 2　温针灸治疗中不同固定方法中大鼠的反应对比($n=20$)

Table 2　Comparison of rats' reactions in different fixation methods in needle warming moxibustion

组别 Groups	剧烈挣扎大鼠数量(只) Number of struggling rats	剧烈挣扎大鼠所占比例(%) Percent of struggling rats	治疗中掉针大鼠数量(只) Number of rats with needle drop during treatment	掉针大鼠所占比例(%) Percent of rats with needle drop during treatment	操作中死亡大鼠数量(只) Number of rats died during operation	死亡大鼠所占比例(%) Percent of rats died during operation
鼠衣秋千式组 Swinging rats bound with coat Group	2	10.00	2	10.00	0	0
束缚组 Bound rats Group	7	35.00	12	60.00	6	30.00

反应激烈、呼吸急促、烫伤等情况,所占比例为35.00%。“鼠衣秋千式”固定组大鼠未出现攻击咬伤操作人员情况,而束缚组大鼠在操作中有挣脱束缚、攻击操作人员行为;“鼠衣秋千式”固定组大鼠在整个温针灸 2 个疗程治疗中,未见烫伤和死亡,有 2 只大鼠出现掉针情况,而束缚组中则有 12 只大鼠出现了挣扎掉针情况,占比高达 60.00%,有 6 只大鼠在捆绑或治疗过程中死亡,占比达 30.00%。

3 讨论

“鼠衣秋千式”大鼠温针灸固定装置制作简单、操作简便,只需 1 个实验人员即可完成全部操作。与束缚固定法相比,该固定方法能减少所需操作人员数量,缩短固定单只大鼠的时间,有效地提高了实验效率;大鼠在固定以及温针灸治疗中的挣扎情况得到显著缓解,掉针大鼠数量减少,未发生烫伤、咬伤操作人员等情况;鼠衣秋千式大鼠在 2 个疗程的温针灸治疗中未出现死亡情况。“鼠衣秋千式”大鼠温针灸固定法,能使大鼠治疗部位穴位暴露充分,操作安全简便,且能提升工作效率,是一种较为适用于大鼠四肢部位温针灸的固定方法。

理想的大鼠针灸固定方法应具有取穴方便、无应激刺激、操作安全简便等特点,但就目前而言基本上难以完全做到。为了尽可能降低固定对大鼠造成的应激反应对实验结果的影响,课题组通过研究文献、观察大鼠习性,结合荡秋千体验,反复实践改良后设计了“鼠衣秋千式”固定法。

与其他大鼠针灸固定方法相比,该法具有以下优点:第一、充分利用了大鼠喜欢黑暗环境和喜欢钻洞的生活习性,在其头部被鼠衣覆盖的情况下进行固定,有效地降低了大鼠被固定时的应激反应,且鼠衣能缓冲和分散固定时产生的束缚力,防止了大鼠的窒息死亡;第二、被“秋千式”悬挂于布带条上的大鼠由于四肢和趾部无着力点无法发力,在整个 30 min 的温针灸治疗过程中比较安静,多数大鼠处于闭目睡觉状态,配合度较高,切实避免了剧烈挣扎导致的烫伤、攻击操作人员等情况发生,保证了针灸时效的稳定性;第三、大鼠四肢部位穴位暴露充分,便于治疗。此方法既适合于单纯针刺治疗,也适用于温针灸治疗;第四、鼠衣尺寸可调整,固定装置适用范围较广,不仅适用于各种体型的大鼠,还可用于小鼠、豚鼠等动物;第五、实验人员熟练操作后固定和悬挂一只大鼠约需要 1.5 min,且不需助手即可单独完成,提升了工作效率。另外,该固定方法还具有取材方便、制作简单、操作灵活等特点。

“鼠衣秋千式”大鼠温针灸固定方法也存在一定的局限性,该法主要适用于动物四肢部位取穴治疗,而对于头部、背部以及腹部的针灸治疗,则需要对鼠衣进行改良。课题组将继续改良和优化该固定方法,以期操作更简便,适用治疗的部位更广,并进一步降低固定时实验动物的应激反应对针灸疗效的干扰作用。

参考文献:

[1] 陈琳, 吴巧凤, 柏琳, 等. 基于不同分子水平探讨针刺改善心肌缺血的机制 [J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(1): 199-202.

[2] 姜会真, 金晓飞, 闫丽萍, 等. 针刺干预大鼠研究中固定方法的探讨 [J]. 山西中医学院学报, 2019, 20(3): 169-171, 176.

[3] 曹朝霞, 刘安国, 严兴科, 等. 一种简易大鼠针刺固定器的制作和使用方法 [J]. 甘肃中医药大学学报, 2018, 35(5): 24-26.

[4] 李洋洋, 蔺耐荣, 黄银兰, 等. 新型大鼠针刺固定器的制作和使用方法 [J]. 针刺研究, 2016, 41(5): 466-468.

[5] 刘保新, 陈廖斌, 汪晖. 介绍一种简易的大鼠固定装置 [J]. 中国比较医学杂志, 2008, 18(3): 75-76, 插 1.

[6] 王宇, 宁友, 王培育, 等. 大鼠针刺置高台固定方法 [J]. 上海针灸杂志, 2012, 31(5): 289-292.

[7] Kelly S, Dunham JP, Murray F, et al. Spontaneous firing in C-fibers and increased mechanical sensitivity in A-fibers of knee joint-associated mechanoreceptive primary afferent neurons during MIA-induced osteoarthritis in the rat [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2012, 20(4): 305-313.

[8] 吴强, 郑倩华, 蒋一璐, 等. 膝骨性关节炎动物模型选择与制备的比较 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(5): 125-130.

[9] 王明建, 巨少华, 刘攀旺, 等. 木瓜蛋白酶、碘乙酸钠和Ⅱ型胶原蛋白酶致膝骨关节炎大鼠模型的对比研究 [J]. 四川医学, 2020, 41(2): 126-131.

[10] Morais SV, Czeczko NG, Malafaia O, et al. Osteoarthritis model induced by intra-articular monosodium iodoacetate in rats knee [J]. Acta Cir Bras, 2016, 31(11): 765-773.

[11] Pritzker KP, Gay S, Jimenez SA, et al. Osteoarthritis cartilage histopathology:grading and staging [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2006, 14(1): 13-29.

[12] 肖昆林, 张蕊, 孙红, 等. 单碘乙酸诱导 SD 大鼠膝骨性关节炎模型在不同时间点与疾病进程的评价 [J]. 实验动物与比较医学, 2020, 40(1): 47-52.

〔收稿日期〕2020-08-11