

单一情绪刺激与复合情绪刺激对肝郁证 动物模型作用的比较

石亮¹, 孙佳惠³, 孙蓉²

(1. 山东中医药大学, 山东 济南 250355; 2. 山东省中医药研究院, 山东 济南 250014;
3. 中国海洋大学医药学院, 教育部海洋药物重点实验室, 青岛 266003)

【摘要】 **目的** 比较单一情绪刺激与复合情绪刺激对肝郁证动物模型的影响, 以期筛选出一种更加贴近临床肝郁证候表现的造模方法。**方法** 通过前期筛选, 分别建立夹尾法, 四肢捆绑法和颈部带枷法的单一造模模型和三种方法复合造模的模型。建立肝郁证人与大鼠证候对照表以及肝郁证大鼠证候赋分表, 结合中医证候指标、一般观察、体重指标、阳性药物反证以及体内激素指标的测定, 以验证造模结果。**结果** 正常组大鼠生长状况良好; 模型组大鼠主要表现为急性应激躁狂和慢性应激抑郁, 粪便干、少、小, 多数出现眼睛暗红、脱毛、呼吸急促的症状, 大鼠体重增长率降低, 下丘脑 CRH 水平、血浆 CORT、ACTH 水平与正常对照组相比显著升高, 且复合造模组成模效果效果明显优于单一造模组; 阳性药物组经药物治疗后其症状明显好转, 各指标也趋近正常组。**结论** 使用夹尾、四肢捆绑和颈部带枷复合情志造模法构建肝郁证大鼠模型周期短、稳定性好、成功率高, 模型动物表现与临床肝郁证证候有较高的一致性。

【关键词】 情绪刺激, 肝郁证, 大鼠模型

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2017) 04-0082-07

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2017.04.014

Comparison of the effects of single emotional stimulus and complex emotional stimuli on the rat model of liver depression syndrome

SHI Liang¹, SUN Jia-hui³, SUN Rong²

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China;

2. Shandong Academy of Chinese Medicine, Jinan 250014;

3. School of Medicine and Pharmacy, Ocean University of China; Key Laboratory of Marine Drugs, Ministry of Education. Qingdao 266003)

【Abstract】 **Objective** To compare the effects of single and complex emotional stimuli on animal model of liver depression syndrome, in order to find out an animal model of liver depression syndrome with more similar clinical manifestations. **Methods** Based on the previous screening work, different methods, i. e. tail clamping, limb binding, putting a cangue on the neck, were used respectively, or using the three methods in combination to establish rat models of liver depression syndrome. A comparison table of human and rat liver depression syndrome was prepared, a mark sheet of evaluation criteria was made, general condition was observed and body weight was measured, and positive response to drugs

【基金项目】 国家重大新药创制重大专项课题: 中药复方药理学研究与药效评价关键技术(2009ZX09502-015); 山东省自主创新和成果转化项目(2014ZZCX02104); 国家自然科学基金面上项目(81374059); 泰山学者工程专项经费资助(NS201511107)。

【作者简介】 石亮, 男, 在读硕士研究生, 中药药理学专业, Tel: 15562459772, Email: shiliangbest@163.com。

【通讯作者】 孙蓉, 女, 研究员, 博导, 研究方向: 中药药理与毒理, Tel: 0531-82949849, Email: sunrong107@163.com。

and changes of hormonal levels were evaluated to identify whether the models were established successfully. **Results** Rats in the control group grew well and showed no abnormalities. There were lots of abnormal phenomena in the model group especially in the complex emotional stimulus modeling group. They were maniac with acute stress or depressive with chronic stress, had dry hair, small and less feces, many of the rats had hair loss, red eyes and shortness of breath symptom. They showed a significantly lower body weight gain and higher levels of CRH in hypothalamus and plasma ACTH and CORT. The manifestations were much more severe in the complex-emotional stimuli-induced model group than that in the single-stimulus prepared model groups. The drug-treated group showed considerable alleviation of the symptoms and improvement of the parameters closing to normal levels. **Conclusions** Establishing the rat model of stagnation of liver depression syndrome by complex emotional stimuli modeling method has good stability, with a short preparation period and high success rate, and presenting a better consistence with clinical liver stagnation of depression syndrome, so as to provide a suitable tool for TCM research.

【Key words】 Emotional stimulus; Liver stagnation; Depression syndrome; Rat model

肝郁证是我国传统中医诊断中较为常见的证候之一。近年来,为了探讨肝郁证的实质,为更好地临床实践提供理论依据,深化中医客观化研究,将中医客观化研究进一步深入到传统中医理论,解决中西医脱节的问题,国内各位专家学者对肝郁证的发病机理、用药机理等进行了大量的研究,并取得了较大的进展。自 1971 年开始,肝郁证研究进入模拟医学动物模型阶段。

肝郁证动物模型的复制,是围绕肝郁证的一系列实验成败与否的关键所在,探究符合中医理论又具备可实施性的造模方法,并建立科学的模型评价体系是至关重要的^[1]。但如何从中医理论的角度,使用科学恰当的方法建立适宜于中药活性评价的肝郁证模型,这种方法要具备一定的可行性、稳定性与较好的重复性,如何寻求合适的指标对模型进行评价,这种指标要具备严谨性与特异性,以上两点,一直以来都是众多学者研究的重点与难点。

1 材料

1.1 实验动物

Wistar 大鼠,雄性,体重(180~220)g,适龄、健康。购于山东大学动物中心,生产许可证证号:SCXK(鲁)20130009。

实验动物饲料(鼠),许可证号:SCXK(鲁)20130014。动物使用许可证号:SYXK(鲁)20130001。

1.2 实验药物

柴胡舒肝丸(药都制药股份有限公司,批号:141101)。

1.3 实验试剂

试剂 CORT、CRH、ACTH 检测试剂盒,均购于南京建成生物研究所,批号:20141231

1.4 实验仪器

自制颈部枷:铝片拼合到一起构成外围呈 5 cm × 5 cm 的正方形,中间为半径 1.5 cm 的圆形,侧边可开合以便于调节大小,如图 1 所示。镊子:用纱布包缠镊子尖端,精密电子天平(梅特勒·托利多有限公司),DDL-5 型低速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂),UV-2102 型紫外分光光度仪(中美合资尤尼柯有限公司),F-820 血液分析仪装置(ABXmicos 60),HH-S 恒温水浴锅(江苏金坛市医疗仪器厂)。



图 1 颈部枷

Fig. 1 Picture of the neck cangue

2 实验方法

将大鼠随机分为 9 组,每组 10 只,分别为空白对照组,捆绑造模组,捆绑造模阳性药物组,带枷造模组,带枷造模阳性药物组,夹尾造模组,夹尾造模阳性药物组,复合情志造模组,复合情志造模阳性药物组。

捆绑造模组:每日用绷带捆绑大鼠四肢影响其正常行走,大鼠属于夜晚活动较多的物种,因此每日下午五点捆绑,经 1 夜后第 2 天早上八点取下。

带枷造模组:根据购进大鼠的体型,设计并委托商家制作了一批铝制枷锁,两片铝片拼合到一起构成外围呈 5 cm × 5 cm 的正方形,中间为半径 1.5 cm 的圆形,侧边可开合以便于调节大小。每日为老鼠带枷,前 5 日白天带枷,并且随着造模时间的推进逐渐增加带枷时间,从第 6 日开始整夜带枷,以期更大程度地影响大鼠的日常行为从而取得更好的造模效果。

夹尾造模组:每日使用用纱布包缠过的镊子来回数次夹大鼠的尾巴,力度以不对老鼠造成伤害为前提,令老鼠感到郁怒不适而不得发。

复合情志造模组:每日白天为老鼠带枷,随着造模时间的推进逐渐增加带枷时间,到造模后期改为整晚带枷。每天晚上用绷带细条束缚大鼠双后肢,使其行走困难、活动受限。另外,配合夹尾法,每日使用用纱布包缠过的镊子来回数次夹大鼠的尾巴,力度以不对老鼠造成伤害为前提,令老鼠感到郁怒不适而不得发。

对捆绑造模阳性药物组,带枷造模阳性药物组,夹尾造模阳性药物组和复合情志造模阳性药物组,每日按照临床等效量的二倍量 3.6 g/kg 给药。

3 评价方法

3.1 中医证候指标

我们将人体肝郁主次证候与大鼠的表现进行了对应(表 1),采用分级赋分的方法,以中医主次证对应大鼠的表现为依据,制定了肝郁证模型证候指标赋分表(表 2)

根据赋分表指标,每两天对大鼠的精神状态、

呼吸、尾部瘀斑、毛发、眼睛、眼周、粪便等进行观察,分别赋分并记录,最后计算出每只大鼠的总积分,并对各组之间进行 *t* 检验看是否存在显著性差异。

3.2 体重指标

每两日对大鼠进行一次称重,记录体重变化,并对各组大鼠的体重变化率进行比较。

3.3 体液指标

根据近年来国内外学者的研究结果,肝郁证大鼠体内下丘脑促肾上腺皮质激素(CRH)、血浆促肾上腺皮质激素(ACTH)和皮质酮(CORT)水平相较于正常大鼠有较为明显的变化^[2],因此我们选取此三项指标对大鼠进行测定,从而对造模结果进行验证。

两周造模后,对大鼠进行眼球取血,4℃ 3 000 r/min 离心 10 min 后取上清液备用,-20℃ 以下进行保存,待测 ACTH、CORT;另快速剖取大鼠脑组织,置入沸腾的 0.85% 氯化钠溶液中煮 5 min,然后分离下丘脑,称重之后放在玻璃匀浆管中,再加入 1 mol/L HCl 1 mL,进行充分匀浆,倒入塑料指形管,室温放置 100 min 以使生物胺充分溶解于酸中,加入 1 mol/L NaOH 0.8 mL 以中和酸,最后以 4 000 r/min 离心 10 min,取上清液后 -20℃ 保存,待测 CRH。最后按照免疫试剂盒上的规定要求使用放射免疫法进行测定。

3.4 统计学方法

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 11.5 统计软件对各组参数进行单因素方差分析。进行组间比较, $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

表 1 人体-大鼠肝郁证诊疗标准对照表

Tab. 1 Comparison table of the diagnosis and treatment standards of human and rat liver depression syndromes

证候指标 Syndrome indexes	中医诊断 Traditional Chinese medicine diagnosis	大鼠表现 Rat expression
主症 The main symptom	1 情绪抑郁 Emotional depression	倦怠,饮食渐少,少动扎堆,运动迟缓 Lassitude, eating less, hypokinesia, slow movement
	2 善叹息 Often sigh	呼吸变化 Respiratory changes
	3 胸肋或少腹胀满窜痛(肝失疏泄) Chest pain or lower abdominal distension (liver stagnation)	粪便干燥、形小,数量减少 Dry, small and less feces
	4 焦虑不安,烦躁 Anxiety, restlessness	易怒,易醒 Irritable, easy to wake up
	5 妇女痛经闭经(肝郁气滞,血行不畅) Dysmenorrhea, amenorrhea (liver qi stagnation, poor blood flow)	皮毛枯黄,毛发脱落,尾巴出现瘀斑,眼部出现淤血 Yellow fur, hair loss, tail ecchymosis, eye congestion
次症 Secondary symptoms	6 神思迟钝 Slow thinking	眼睛无神,眼睛呈现暗红乃至深红色 Eyes glazed, showing dark red and deep red eyes

表 2 适用于肝郁证模型大鼠证候积分评价量表
Tab.2 Evaluation table of the syndrome indexes of liver depression syndrome in the rats

证候项目 Syndrome items	正常: 0 Normal: 0	轻度异常: 1 Mild abnormality: 1	中度异常: 2 Moderately abnormal: 2	明显异常: 3 Obviously abnormal: 3
精神状态 Mental status	活动迅速, 眼光有神 Fast movement, Bright and piercing eyes	懒动, 自发活动减少 Lazy, less spontaneous activity	精神倦怠 Mental fatigue	逃避, 攻击行为明显减少 Escape, significantly reduced aggressive behavior
呼吸 Breathing	无明显变化 No significant changes	轻微急促 Slight shortness	呼吸急促 Ecphysestis	呼吸减少 Decreased respiration
眼睛 Eyes	红亮有神 Bright and red eyes	淡红 Pink	深红 Deep red	暗红 Dull-red
尾部瘀斑 Tail ecchymosis	无瘀斑 No ecchymosis	轻度瘀斑 Mild ecchymosis	中度瘀斑 Moderate ecchymosis	重度瘀斑 Severe ecchymosis
腹部 Abdomen	无变化 Unchanged	稍肿胀 Slight distention	中度肿胀 Moderate distention	明显肿胀 Obvious distention
毛 Hair	白色柔顺, 细密有光泽 White soft, fine luster	部分变黄色, 稍乱, 显干燥 Partly yellow, slightly messy and dryness	大部分黄色, 杂乱, 干燥 Most of the yellow, messy, dry	枯黄, 有脱毛现象 Yellow, depilation
食水 Water drinking	无变化 Unchanged	略有减少 Slightly reduced	中度减少 Moderately reduced	明显减少 Significantly reduced
粪便 Feces	大便成形, 粪质柔软 Stool forming, soft stool	略有稀溏, 少部分不成形 Slightly loose, little forming	明显稀溏, 部分不成形 Obviously loose, partly forming	稀溏, 完全不成形 Loose, not forming

4 实验结果

4.1 中医证候赋分

由图 2 可看出, 造模第 14 天复合造模组总证候积分明显高于其他组, 且与复合造模阳性药组差别明显, 另外, 三种单一情志造模法中, 捆绑造模组积分最高, 其次是带枷组, 最后是夹尾组, 但捆绑阳性

药组积分并无明显下降, 证明捆绑造模所形成的证候可能并不是很符合肝郁证。

由图 3 可看出, 复合造模组总证候积分在第 4 天开始即明显高于其他各组, 且增长迅速, 而其他三组证候积分增长相对较为平缓。另外, 复合造模组证候积分到后期趋于平缓, 证明其具有一定的稳定性。此图说明复合情志造模法周期短、肝郁证

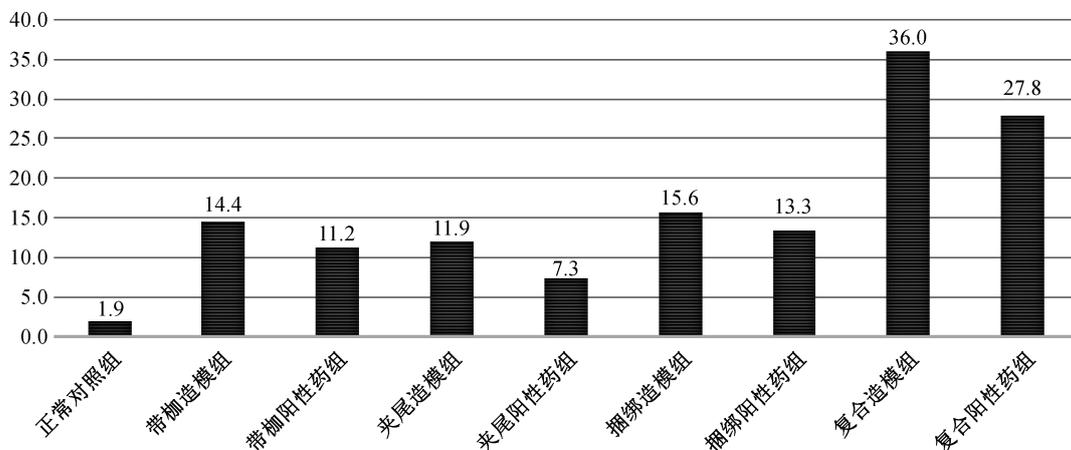


图 2 第 14 天各组大鼠中医证候总积分

Fig.2 The total scores of TCM Syndromes of the D14 rats

症状显著、稳定性好的优势。图 4 各组大鼠体重变化情况

4.2 体重

由图 4 可看出:(1)复合模型组体重变化率从第四日开始就明显低于其他各组,而其他三种单一情志造模组仅略低于正常对照组,证明复合情志造模法造模周期短,效果较好;(2)复合造模阳性药物组体重变化率高于复合造模组,证明造模结果与肝郁证证候相符合;(3)在三种单一情志造模法中带枷造模组的体重变化率最低,且带枷阳性药组体重变化率有所提高,证明三种方法中带枷法造模效果最好。(4)夹尾造模组与夹尾阳性药组的体重变化率差别不大,证明所用阳性药并不能很好地对模型证候进行治疗,即夹尾法并不能很好地复制肝郁证模型。

4.3 相关指标

使用放射免疫法对下丘脑促肾上腺皮质激素(CRH)、血浆促肾上腺皮质激素(ACTH)和皮质酮(CORT)进行测定,结果如表 3 所示。

由表 3 可以看出,复合情志造模组的 CRH、ACTH、CORT 的水平较空白对照组均差异有非常显著性,这表明模型组大鼠处于交感神经系统较为亢奋的状态,这与临床中肝郁证患者的植物神经功能检查结果也是一致的。另外,复合情志造模阳性药物组与复合情志造模组的 CRH、ACTH、CORT 水平同样具有非常显著性差异,这证明阳性药物对于动物模型的症状是有治疗作用的。

5 讨论

中医认为抑郁是情志内伤导致肝气郁结,进而引起脏腑气机失调所致,以情志抑郁、胸胁或少腹胀痛等为辨证的主要依据。肝郁证候临床诊断标准中的证候条目包括:(1)肝经所过部位经气阻滞引起的症状:包括胁肋胀痛或窜痛,乳房、或少腹胀满疼痛,胸闷,善太息等;(2)情志失常,主要表现为精神抑郁,烦躁易怒;(3)咽部异物感,或颈部瘰疬、瘰疬,或肋下肿块,病情轻重与情绪变化的关系密切。

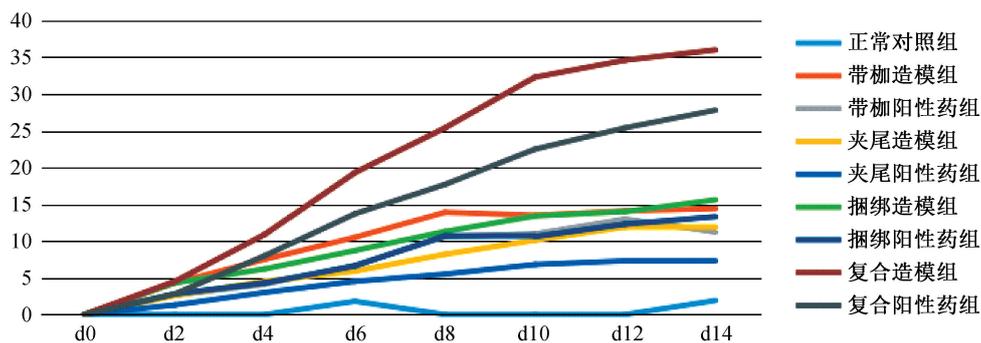


图 3 各组大鼠中医证候总积分变化趋势

Fig. 3 The change trend of total scores of TCM syndrome in the rats

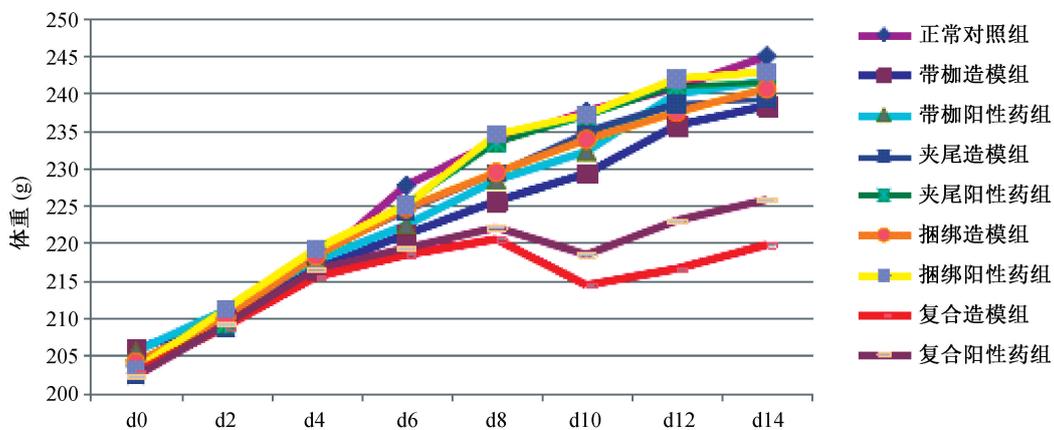


图 4 各组大鼠体重变化情况

Fig. 4 Changes of body weight in rats in the each group

表 3 CRH、ACTH、CORT 水平比较 ($\bar{X} \pm s, n = 10$)
Tab. 3 Comparison of CRH, ACTH and CORT levels in the rats

组别 Groups	下丘脑促肾 上腺皮质激素 CRH (pg/mL)	血浆促肾上腺 皮质激素 ACTH (pg/mL)	皮质酮 CORT (pg/mL)
空白对照组 Blank control group	25.8 ± 4.5	23.6 ± 2.3	7.9 ± 1.5
捆绑造模组 Binding model	30.7 ± 4.0 *	30.5 ± 3.9 ***	13.3 ± 2.3 ***
捆绑造模阳性药物组 Binding model plus positive drug group	29.4 ± 2.2 *	25.5 ± 2.3	9.6 ± 2.0
带枷造模组 Neck cangue model	33.0 ± 2.6 ***	27.4 ± 2.9 **	12.7 ± 2.6 ***
带枷造模阳性药物组 Neck cangue and positive drug model group	27.7 ± 3.0	24.1 ± 2.9	9.9 ± 1.7 **
夹尾造模组 Tail clamping model	29.3 ± 1.4 *	30.7 ± 3.6 ***	13.7 ± 2.2 ***
夹尾造模阳性药物组 Tail clamping and positive drug model group	28.8 ± 2.0	27.0 ± 3.6 *	9.8 ± 1.7 **
复合情志造模组 Compound emotional stimulation model	39.8 ± 4.3 ***	36.3 ± 3.5 ***	18.5 ± 2.5 ***
复合情志造模阳性药物组 Compound emotional stimulation and positive drug model group	27.3 ± 2.7	26.6 ± 2.3 *	9.7 ± 2.7

注:与空白对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

Note. Compared with the blank control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

目前多数学者认为肝郁证是负性情绪心理应激状态下神经中枢调节机制发生紊乱而导致的多系统病理改变^[3],其发病机制与 HPA 轴功能亢进密切相关;持续应激状态使下丘脑-垂体-肾上腺轴强烈兴奋,下丘脑合成和分泌 CRH 增多,刺激垂体合成分泌更多的 ACTH,促进肾上腺分泌糖皮质激素 GC 增多,GC 与海马内糖皮质激素受体 (GR) 结合造成海马及蓝斑等处损伤,导致情绪低落、困倦乏力、兴趣丧失等^[4];长期应激状态使 HPA 轴持续亢进,将严重影响人体身心健康、导致抑郁症症状^[5]。柴胡舒肝丸具有具有疏肝理气,消胀止痛之功效,为治疗肝郁证要药,可改善 CRH、ACTH、CORT 水平,说明本模型与临床证候吻合度较好。

中医认为肝与情志的关系最为密切,并在心理应激调节中起着决定作用^[6],临床上将慢性心理应激相关疾病归属于中医“郁证”的范畴,基本治则为疏肝理气解郁^[7],慢性应激刺激造模法也常被用作抑郁症动物模型和中医肝郁证动物模型制备^[8-10]。由于肝郁证临床病因病机复杂,因此,单一情绪刺激造模法不能与临床实际相吻合,不能准确地发现药物活性和开展药效评价。本实验从中医肝郁证病因病机为指导,临床表现为背景,提出肝郁证动物模型评价指标构成,通过证候赋分、体重、体液指标、阳性药反证等一系列评价技术,验证模型的成

功率,发现模型具有成模时间短、与临床证候吻合度高、可行性好,证候表现稳定的特点,为进一步探讨肝郁证的本质,开展疏肝解郁中药的创新药发现提供实验模型。对于复合因素造模条件及各个条件参数变化对成模的影响及动物因素对模型的干扰等问题,还值得我们进一步深入探讨。

参考文献:

[1] 张军会,李铭,李智辉. 肝郁证动物模型造模方法与判定标准纵览 [J]. 山西中医, 2012, 28(8): 51-53.
 [2] 刘建鸿,姚凝,王淳,等. 肝郁证与下丘脑-腺垂体-肾上腺皮质轴和肝组织过氧化损伤的实验研究 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2008, 16(5): 302-304.
 [3] 赵博,柴丽,吴大梅,等. 复合多因素方法复制肝郁脾虚证动物模型的实验研究 [J]. 成都中医药大学学报, 2013, 36(3): 10-14.
 [4] 周魁明,王凌燕,肖靓宜,等. 隔药饼灸对功能性消化不良肝郁脾虚模型大鼠血清 CRH、ACTH、CORT 及胃排空率的影响 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26(12): 3039-3042.
 [5] 杜雅薇,王玉来,尹岭,等. 柴胡舒肝散对肝郁证模型大鼠行为学及血液 ACTH、CORT 的影响 [J]. 现代中医临床, 2010, 17(2): 1-3.
 [6] 李峰,杨维益,梁嵘,等. 从中医学看肝脏调节应激反应的作用 [J]. 北京中医药大学学报, 1998, 21(1): 20-22.
 [7] 李宝玲. 抑郁症的中医药研究进展 [J]. 中医杂志, 2001, 42(9): 566-567.
 [8] 王雪琦,路长林,李丽云. 大鼠抑郁模型的脑磁共振成像研

究 [J]. 中华精神科杂志, 1999, 32(1): 12-14.

考 [J]. 中医学报, 2006, 34(4): 44-46.

[9] 金光亮, 南睿, 郭霞珍. 慢性应激肝郁证大鼠模型的建立

[J]. 北京中医药大学学报, 2003, 26(2): 18-21.

[修回日期]2017-01-11

[10] 任路, 李浩. 关于肝郁证动物模型研究现状及存在问题的思

(上接第 68 页)

1 麻醉吹管套装

自制可瞄准麻醉吹管, 见图 1。主体为一根长 1.2 m、内径 18 mm、外径 25 mm 的 PVC 管^[5], 上面装有激光定位仪。通过多次调节定位仪, 使光束与 PVC 管的轴心平行, 并测取光斑中心与轴心的距离。

麻醉吹针, 见图 2。由注射器、单侧孔针头、橡皮筋、实心橡皮胶头和毛线构成。普通 5ml 注射器剪去双翼, 用实心橡皮胶头封住针头侧孔, 以橡皮筋为动力, 毛线做尾羽。

2 讨论

对于初次制作或使用麻醉吹管的科研人员要注意以下几点: ①麻醉吹管不能短于 1 米, 要保证吹针有足够的加速距离; ②实心橡皮胶头要松紧合适。太松则会漏药, 太紧则无法后退, 即使针尖刺破皮肤, 药液也无法射出^[6]; ③毛线做的尾羽要大小合适。尾羽过小或稀疏, 会导致吹针在吹管内封闭不严、漏气, 吹出无力; 尾羽过大, 则会增大摩擦阻力, 远距离麻醉时会影响射程。④针头安装牢固, 切勿对向人员。

吹管麻醉操作, 只需一名实验人员进入动物饲养间, 打开激光定位仪, 准确地在小型猪耳后颈部肌肉吹注, 完成基础麻醉, 效果满意。从未误伤眼、

耳等其他部位。整个过程省时省力, 可避免因个体受惊嘶吼而惊扰其他动物。偶见几例动物会因注射部位肿胀、疼痛, 有搔扒动作。可能因单侧孔针头注射, 导致局部药品聚集, 肌肉肿胀, 导致疼痛。可改用双侧孔针头或将麻醉合剂分装两个吹针中, 以避免局部肌肉的快速肿胀。吹管麻醉技术, 在中、大型实验动物和野生动物麻醉中均可使用, 值得推广。

参考文献:

[1] 薛纪秀, 马艳辉, 叶新, 等. 小型猪血流动力学模型在麻醉医生培养中的可行性[J]. 中华医学杂志, 2013, 93(041): 3302-3305.

[2] 宋兵, 邢旺, 柳德斌, 等. 异氟烷静吸复合麻醉与小剂量氯胺酮全静脉麻醉在小型猪瓣膜修复术中的应用[J]. 四川大学学报: 医学版, 2010(5).

[3] 王利民, 郑园娜, 杨国灵, 等. 陆眠宁 II 复合麻醉在小型猪牙种植实验中的效果观察[J]. 中国血液流变学杂志, 2012, 22(002): 212-213.

[4] 周生才, 张秀兰, 石晶, 等. 实验动物麻醉的应用研究(附 1000 例报告)[J]. 腹腔镜外科杂志, 2013, 8: 031.

[5] 王继军. 兽用简易吹管注射器的制作与使用方法[J]. 农村养殖技术, 2006, 9: 033.

[6] 贾开健, 荆文学, 彭伟. 兽用简易吹管注射器的制作[J]. 畜牧兽医杂志, 2006, 2(25): 59.

[修回日期]2016-12-07