

注血量致大鼠急性硬膜下血肿模型稳定性的探讨

王 键, 龙子江, 任振兴, 陆松侠, 高华武, 田丽娜

(安徽中医药大学, 合肥 230031)

【摘要】 目的 探讨不同体积的自体血液致大鼠硬膜下血肿模型稳定性的影响。**方法** 将大鼠随机分为假手术组和 300 μL 、500 μL 、700 μL (即分别向硬膜下注射 300 μL 、500 μL 、700 μL 的自体血液)模型组。分别于术后第 2、4、6、8、10、14 天, 每组各取 6 只, 以腹主动脉取血, 取脑组织, 并采用酶联免疫吸附 (ELISA) 方法测定各组大鼠血浆中 NSE、S100B 蛋白的含量。**结果** 与假手术组比较, 300 μL 组血液的 NSE 在第 2、4 天时显著增加 ($P < 0.01$), 在第 6、8 天时渐渐减少 ($P < 0.05$), 说明血肿开始消散, 在第 10、14 天时恢复到接近假手术组 ($P > 0.05$); 500 μL 组和 700 μL 组的 NSE 含量在第 2、6、8、10、14 天时都显著升高 ($P < 0.01$), 而在第 4 天时升高不明显 ($P > 0.05$)。300 μL 组血液的 S100B 蛋白含量在第 4 天时较高 ($P < 0.01$), 在第 2、6 天时较低 ($P < 0.05$), 在第 8、10、14 天时含量接近假手术组 ($P > 0.05$), 说明血肿自行消散, 损伤自行修复; 500 μL 组和 700 μL 组的 S100B 蛋白含量一直处于较高的状态 ($P < 0.05$)。**结论** 相对于 300 μL 组和 700 μL 组, 500 μL 组下的大鼠急性硬膜下血肿模型稳定性更好, 能够更好的应用于大鼠急性硬膜下血肿的实验研究。

【关键词】 注血量; 大鼠; 急性硬膜下血肿模型; 稳定性; NSE; S100B 蛋白

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2015) 09-0045-06

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2015.009.008

Stability of acute subdural hematoma in rats developed by subdural injection of different volumes of autologous blood

WANG Jian, LONG Zi-jiang, REN Zhen-xing, LU Song-xia, GAO Hua-wu, TIAN Li-na
(Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China)

【Abstract】 Objective To explore the stability of rat models of subdural hematoma prepared by subdural injection of different volumes of autologous blood. **Methods** The rats were randomly divided into sham group (36), 300 μL blood group, 500 μL blood group, and 700 μL blood group (each group 60 rats). The rats of model groups received subdural injection of 300 μL , 500 μL , or 700 μL autologous blood, respectively. At the postoperative 2nd, 4th, 6th, 8th, 10th, 14th days, blood samples were taken from the abdominal aorta, and the brains were taken out for gross examination and taking photographs, six rats were used for each time. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was performed to determine the content of serum NSE and S100B proteins in the rats in each group. **Results** Compared with the sham operation group, the serum NSE in the 300 μL group was significantly increased at the 2nd and 4th days ($P < 0.01$), and then gradually reduced at the 6th and 8th days ($P < 0.05$), indicating that the hematoma began to disappear, and at the 10th and 14th days returned to a similar level of the sham operation group ($P > 0.05$). In the 500 μL and 700 μL blood groups, the NSE contents at 2nd, 6th, 8th, 10th and 14th days were significantly increased ($P < 0.01$), but not significantly increased at the 4th day ($P > 0.05$). The content of S100B protein in the 300 μL blood group was

significantly higher at the fourth day ($P < 0.01$), lower at the 2nd and 6th days ($P < 0.05$), and at 8th, 10th and 14th days was similar to that in the sham operation group ($P > 0.05$ for all), indicating that the hematoma disappeared gradually, and the damages repaired. The S100B protein content of the 500 μL and 700 μL blood groups was constantly kept at a higher level ($P < 0.05$). **Conclusions** Compared with the 300 μL and 700 μL blood groups, the rat model of subdural hematoma developed by subdural injection of 500 μL autologous blood is the best, and can be used for studies of rat subdural hematoma.

【Key words】 Subdural injection; Rat; blood; Acute subdural hematoma; Stability; NSE; S100B protein

硬膜下血肿是由于多种原因导致颅内出血并聚集于硬膜下腔所形成的一种常见的神经外科疾病^[1,2]。由于其可呈多发性,并常伴脑实质损伤或与别种血肿合并发生。临床上,局灶性颅脑损伤中硬膜下血肿占 10% ~ 20%,是脑疝常见的病因之一。急性硬膜下血肿在病因,病情转变等方面仍然存在许多问题亟待解决,但是因为缺少稳定、标准的硬膜下血肿动物模型,致使目前对硬膜下血肿的机制研究多停留于收集和分析临床样本资料,由此可见实验动物模型的建立,在硬膜下血肿研究中占有重要地位,其对明确损伤机制,评价治疗效果,寻找新的治疗方法,判断预后等起着关键作用。通过对文献的调研发现在造模过程中向硬膜下注入的自体血的量各不相同,有注入 300 μL 、500 μL 以及 700 μL 不等,结合本实验室前期的实验研究发现在注入 300 μL 自体血液时,在第 6 天左右血肿已经基本消散,不能很好的模拟临床表现,同时为药物研究带来很多不明确性。神经元特异性烯醇化酶 neuron specific enolase (NSE)^[3-5]、S100B^[6] 蛋白是两种存在于神经元和星形胶质细胞内的特异性蛋白,正常情况下,由于脑细胞和血脑屏障的完整性,NSE 和 S100B 蛋白在外周血中表达浓度很低,当颅脑损伤时,神经元细胞和血脑屏障受到损伤,NSE、S100B 蛋白将不同程度地释放进入外周血,其在血浆中浓度与脑损伤程度密切相关。因此,本实验研究通过采用注射自体血的方法向大鼠硬膜下腔注射不同剂量的自体血液,对比各注血量模型大鼠在注血后第 2、4、6、8、10、14 天时的血肿消散情况,结合各时间点血浆中 NSE 和 S100B 蛋白含量的比较,来探讨注血量对模型稳定性的影响,以期获得一种更精确、更贴近该病病理生理情况的动物实验模型。

1 实验材料

1.1 动物

健康 SD 大鼠 216 只,体重(200 $\pm$ 20) g,雄性,由安徽省实验动物中心提供,许可证号:SCXK(皖)

2011-002。实验动物使用许可证号是:SYXK(皖)2011-007。

1.2 药品和试剂

大鼠神经特异性烯醇化酶(NSE) 96T:南京建成分装进口;大鼠 S100B 蛋白(S-100B) 96T:南京建成分装进口。

1.3 仪器设备

RT-6000 酶标仪:雷杜;JW3021HR 离心机:安徽嘉文;GL-88B 漩涡混合器:其林贝尔仪器制造公司;0.5-10 μL 移液器:Eppendorf;200 μL 移液器:Eppendorf;1000 μL 移液器:Eppendorf;Strong-204 牙科钻:Saeshin 公司;50-300 μL 排枪:Eppendorf;DNP-9052BS-III 电热恒温箱:上海三发。

2 实验方法

2.1 动物分组

大鼠适应性饲养 7 d 后随机分为假手术组(36 只)和 300 μL 、500 μL 、700 μL (即分别向硬膜下注射 300 μL 、500 μL 、700 μL 的自体血液)模型组(各 60 只)。假手术组不注射自体血液,其余步骤同造模步骤。

2.2 模型建立

取 SD 大鼠,腹腔注射 3.5% 水合氯醛,麻醉后将大鼠头部固定于脑立体定向仪上,常规备皮消毒,行顶部正中直切口,长约 0.50 cm,偏右侧剥离头皮及肌层,显露右侧冠状缝与矢状缝;楔形高速钻头于右侧冠状缝,矢状缝右侧旁开 3.00 mm 处钻一直径 0.90 mm 骨窗,采集股静脉血 1 mL 以 50 $\mu\text{L/s}$ 速度经微量注射器注入硬膜下腔隙,分别于 300 μL 组注入 300 μL 血液,500 μL 组为 500 μL 血液,700 μL 组注入 700 μL 血液,进针过程应避免针尖刺穿蛛网膜,假手术组同样进行上述手术处理但不注射自体血液。造模过程中用加热毯保持 37℃ 为大鼠保持体温,接呼吸机,防止因在注血过程中对大鼠脑部的刺激引起的呼吸暂停导致的死亡。

2.3 动物处死、取材

造模后分别于第 2、4、6、8、10、14 天处理各组大鼠,每次各组各取 6 只。用 3.5% 的水合氯醛腹腔注射麻醉,腹主动脉取血,收集血液 8 mL,4℃,3 000 r/min 离心 15 min,取上清液 -20℃ 保存以待检测。

2.4 检测指标

2.4.1 各剂量组模型死亡率比较:对造模过程中大鼠的成活与死亡情况进行统计,录入表格。

2.4.2 不同注血剂量各时间点的血肿大小:每次大鼠腹主动脉取血后断头剥离颅骨暴露脑部,取下并拍照记录血肿消散情况。

2.4.3 血浆中 NSE、S100B 蛋白含量的测定:血浆中 NSE、S100B 蛋白含量的测定,统一由安徽中医药大学药理实验室检测。

2.5 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行统计学处理。死亡率比较采用卡方检验,各组 NSE 和 S100B 含量的比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 不同注血量组的成活率比较

对造模过程中大鼠的成活与死亡情况进行统计,做出死亡分布表,见表 1。计算成活率,做卡方检验,结果显示总体具有差异 ($P < 0.05$),见表 2。

3.2 不同注血量组自体血液在造模过程中的消散情况

由实验结果表明,与假手术组相比,300 μ L 剂量组在第 6 天已经开始消散在第 8 天已完全消失,而 500 μ L 和 700 μ L 剂量组始终都有血肿出现,且

700 μ L 剂量组有较大量的血肿保留(图 1~4,见封三)。

3.3 不同注血量组自体血液对急性硬膜下模型大鼠血浆中 NSE 含量的影响

由检测结果表明,假手术组大鼠血浆中 NSE 含量基本平衡在浓度为 650 μ g/L。与假手术组比较,各注血量组相应时间点的 NSE 含量对比如下:300 μ L 组 24 h 后大鼠血浆中 NSE 含量显著上升 ($P < 0.01$),第 4 天达到峰值,差异有显著性 ($P < 0.01$),第 6、8 天时 NSE 含量有所下降,但差异仍有显著性 ($P < 0.05$),第 10、14 天时已经下降到接近于假手术组水平;500 μ L 组和 700 μ L 组 24 h 后大鼠血浆中 NSE 含量显著上升 ($P < 0.01$),第 4 天下降致最低 ($P < 0.05$),第 6、8 天内一直上升,差异有显著性 ($P < 0.01$),第 10、14 天开始平稳,且差异仍具有显著性 ($P < 0.01$)。

对同一时间点的各组之间对比结果如下:第 2 天时,300 μ L、500 μ L、700 μ L 组与假手术组相比有显著性 ($P < 0.01$),700 μ L 组与 300 μ L 组相比差异有显著性 ($P < 0.01$);第 4 天时,300 μ L 组与假手术组相比差异有显著性 ($P < 0.01$),700 μ L 组与假手术组相比差异也有显著性 ($P < 0.05$),500 μ L 和 700 μ L 与 300 μ L 组相比差异有显著性 ($P < 0.01$);第 6 天时,300 μ L、500 μ L、700 μ L 组与假手术组相比差异有显著性 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$);第 8 天时,300 μ L、500 μ L、700 μ L 组与假手术组相比差异有显著性 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$),500 μ L 组与 300 μ L 组相比差异有显著性 ($P < 0.05$),700 μ L 组与 500 μ L 组相比有显著性 ($P < 0.05$);第 10 天时,500 μ L、700 μ L 组与假手术组相比差异有

表 1 急性硬膜下血肿造模中大鼠的死亡分布

Tab. 1 Distribution of death of the rats during acute subdural hematoma modeling

组别 Groups	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天	第 7 天	第 8 天	第 9 天	第 10 天	第 11 天	第 12 天	第 13 天	第 14 天
假手术组	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
300 μ L 组	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
500 μ L 组	5	2	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
700 μ L 组	11	5	3	0	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0

表 2 不同剂量组造模成功后死亡率的比较

Tab. 2 Comparison of the mortality of rats after successful modeling by injection of different dose of autologous blood

组别 Groups	成活数(<i>n</i>)成活率 Survived rats and survival rate	死亡 Death	χ^2	<i>P</i>
300 μ L 组(a)	54 (90%)	6 (10%)	13.877	0.001 *
500 μ L 组(b)	50 (83.7%)	10 (16.7%)		
700 μ L 组(c)	38 (66.7%)	22 (36.7%)		

显著性($P < 0.01$, $P < 0.01$), 500 μL 、700 μL 组与 300 μL 组相比差异有显著性($P < 0.01$, $P < 0.01$); 第 14 天时, 500 μL 、700 μL 组与假手术组相比差异有显著性($P < 0.01$, $P < 0.01$), 500 μL 、700 μL 组与 300 μL 组相比差异有显著性($P < 0.01$, $P < 0.01$)。见图 5。

3.4 不同注血量组自体血液对急性硬膜下模型大鼠血浆中 S100B 含量的影响

由检测结果表明, 假手术组大鼠血浆中 S100B 含量基本平衡在浓度为 26 $\mu\text{g/L}$ 。现以假手术组相应时间点的 S100B 含量为对照, 与各注血量组不同时间点的 S100B 含量进行对比: 300 μL 组 48 h 后大鼠血浆中 S100B 含量显著上升($P < 0.05$), 96 h 达到峰值, 差异有显著性($P < 0.01$), 第 6 天时含量有所下降, 但仍具有显著性($P < 0.05$) 第 14 天已经下降到接近假手术组水平; 500 μL 组 48 h 后大鼠血浆中 S100B 含量显著上升($P < 0.05$), 96 h 下降至第 1 个低谷, 与假手术组相比仍有显著性($P < 0.05$), 第 6 天上升, 到第 8 天达到峰值, 与假手术组相比具有显著性($P < 0.01$), 第 10 天下降至第二个低谷与假手术组相比仍有显著性($P < 0.05$)。700 μL 组 48 h 后大鼠血浆中 S100B 含量显著上升($P < 0.05$), 96 h 有所下降, 差异具有显著性($P < 0.01$), 第 6 天下降至低谷, 与假手术组相比差异不明显, 在这之后其含量开始上升并在第 10 天达到峰值, 差异有显著性($P < 0.01$), 第 14 天又有所下降, 但差异仍有显著性($P < 0.01$)。

对同一时间点的各组之间做对比结果如下: 第 2 天时, 300 μL 、500 μL 、700 μL 组与假手术组相比差异有显著性($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$), 500 μL 和 700 μL 组与 300 μL 组相比差异有显著性($P < 0.05$, $P < 0.01$); 第 4 天时, 300 μL 和 500 μL 组与假手术组相比差异有显著性($P < 0.01$, $P <$

0.05); 第 6 天时, 300 μL 和 500 μL 组与假手术组相比差异有显著性($P < 0.01$, $P < 0.05$), 700 μL 组与 500 μL 组相比差异有显著性($P < 0.05$); 第 8 天时, 300 μL 和 500 μL 组与假手术组相比差异有显著性($P < 0.01$, $P < 0.05$), 500 μL 组与 300 μL 相比有差异显著性($P < 0.01$), 700 μL 组由于 500 μL 组相比差异有显著性($P < 0.01$); 第 10 天时, 500 μL 和 700 μL 组与假手术组相比差异有显著性($P < 0.05$, $P < 0.01$), 700 μL 组与 300 μL 相比差异有显著性($P < 0.01$), 700 μL 组由于 500 μL 组相比差异有显著性($P < 0.01$); 第 14 天时, 500 μL 和 700 μL 组与假手术组相比差异有显著性($P < 0.01$), 500 μL 和 700 μL 组与 300 μL 相比差异有显著性($P < 0.01$) (图 6)。

4 讨论

NSE 占颅内全部可溶性蛋白的 1.5%。其含量从高到低依次为脑、脊髓、周围神经节, 而后的 NSE 水平远低于颅内, 相差 10~100 倍。免疫组化法观察到脑损伤前 NSE 仅存在于神经元细胞浆内, 损伤后 NSE 从损伤的神经元内“漏出”, 跨过受损的血脑屏障进入体循环, 因而可在外周血中检测到 NSE 浓度明显升高。S100B 蛋白对中枢神经系统的胶质细胞和雪旺氏细胞具有高度特异性, S100B 在其他组织含量很低, 其脑内主要分布于星形胶质细胞、雪旺细胞、某些神经元细胞等, S100B 蛋白分子正常情况不能通过血脑屏障, 但颅脑损伤后, 脑组织的损伤导致脑细胞和血脑屏障的破坏, 使血 S100B 蛋白迅速升高, 如有继发性损伤, 血脑屏障进一步破坏, 胶质细胞破坏引起 S100B 蛋白外溢, 其含量变化与临床症状、体征及影像学改变密切相关, 为判断脑损伤严重程度的良好指标。

通过本实验研究表明, 假手术组大鼠血浆中的

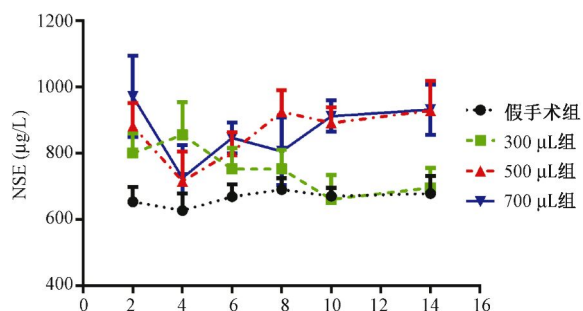


图 5 各组大鼠血浆中 NSE 的含量

Fig. 5 The contents of NSE in plasma of rats

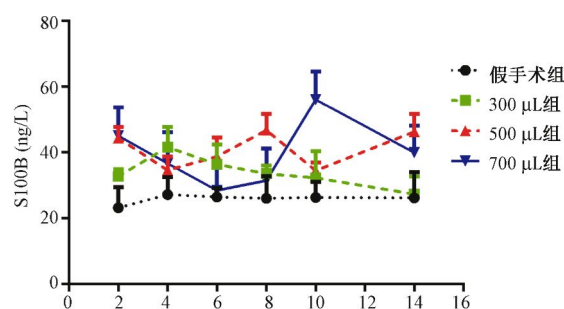


图 6 各组大鼠血浆中 S100B 的含量

Fig. 6 The contents of S100B in plasma of rats

NSE 含量水平基本平衡,维持在 $650 \mu\text{g/L}$, $300 \mu\text{L}$ 组大鼠造模成功后血浆 NSE 含量显著上升并于 4 d 到达高峰与假手术组的第一个时间点比较差异具有显著性,第 6 天时已经下降到接近与假手术组水平,这与大脑血肿观察到的结果相符,第 10、14 天在大脑中已经观察不到血肿存在,表明血肿已经自行消散,这对于药物干预来研究其对硬膜下血肿消散的影响已经失去了意义; $500 \mu\text{L}$ 和 $700 \mu\text{L}$ 组在大鼠造模成功后血浆 NSE 含量显著上升,在第 4 天下降至低谷,随后一直上升,说明血肿在第 4 天机体的应激反应使得血肿发生转归,随后继续上升可能是由于血肿导致的持续性继发性损伤所造成,严重影响神经元细胞和 BBB 的完整性,这与临床的发病情况相吻合。

对比各时间点各组的 NSE 含量发现,在造模成功后第 2 天各组的 NSE 含量均显著高于假手术组, $500 \mu\text{L}$ 组和 $700 \mu\text{L}$ 组也显著高于 $300 \mu\text{L}$ 组, $700 \mu\text{L}$ 组与 $500 \mu\text{L}$ 组相比无显著性差异,第 4 天时 $300 \mu\text{L}$ 组的含量高于假手术组,具有显著性差异,而 $500 \mu\text{L}$ 组和 $700 \mu\text{L}$ 组均显著低于假手术组,这可能与机体的失代偿有关,第 6 天时各组对比假手术组均有显著性差异,第 8 天时,各组对比假手术组仍然具有显著性,但是 $300 \mu\text{L}$ 组含量已经大大降低, $500 \mu\text{L}$ 组的含量显著高于 $300 \mu\text{L}$ 组和 $700 \mu\text{L}$ 组,第 10 天时 $300 \mu\text{L}$ 组的 NSE 含量已经基本与假手术组相当,无统计学差异,而 $500 \mu\text{L}$ 组和 $700 \mu\text{L}$ 组的含量相当,均显著高于 $300 \mu\text{L}$ 组,第 14 天时 $500 \mu\text{L}$ 和 $700 \mu\text{L}$ 组的含量仍相当,均显著高于 $300 \mu\text{L}$ 组,说明从第 8 天开始 $300 \mu\text{L}$ 组血肿所造成的影响已经基本消失,而 $500 \mu\text{L}$ 组和 $700 \mu\text{L}$ 组继发性的损伤还在持续。

对模型大鼠血浆中 S100B 含量的分析表明:假手术组大鼠血浆中的 S100B 含量水平基本平衡,维持在 $26 \mu\text{g/L}$, $300 \mu\text{L}$ 组大鼠造模成功后血浆 S100B 含量显著上升并于第 4 天时到达高峰与假手术组的第一个时间点比较具有显著性差异,第 6 天时已经下降到与假手术组水平相近,这与大脑血肿观察到的结果相符,第 10、14 天在大脑中已经观察不到血肿存在,表明血肿已经自行消散,这对于药物干预来研究其对硬膜下血肿消散的影响已经失去了意义; $500 \mu\text{L}$ 和 $700 \mu\text{L}$ 组大鼠,造模成功后血浆 S100B 含量显著上升, $500 \mu\text{L}$ 组在第 4 天下降至第 1 个低谷,随后一直上升至第 10 天出现第 2 个

低谷,亦说明血肿在第 4 天机体的应激反应使得血肿发生转归,随后继续上升可能是由于血肿导致的持续性继发性损伤所造成,严重影响神经元细胞和 BBB 的完整性,这与临床的发病情况相吻合。而 $700 \mu\text{L}$ 组的 S100B 含量在第 6 天达到低谷后一直上升。

对比各时间点各组的 S100B 含量发现,在造模成功后第 2 天时,各组的 S100B 含量均显著高于假手术组, $500 \mu\text{L}$ 组和 $700 \mu\text{L}$ 组也显著高于 $300 \mu\text{L}$ 组, $700 \mu\text{L}$ 组与 $500 \mu\text{L}$ 组相比无显著性差异,第 4 天时 $300 \mu\text{L}$ 组的含量高于假手术组具有显著性,第 6 天时各组对比假手术组均有显著性差异,造模成功后第 8 天时,各组对比假手术组仍然具有显著性,但是 $300 \mu\text{L}$ 组含量已经大大降低, $500 \mu\text{L}$ 组的含量显著高于 $300 \mu\text{L}$ 组和 $700 \mu\text{L}$ 组,第 10 天时 $300 \mu\text{L}$ 组的 S100B 含量已经基本与假手术组相当,差异无统计学意义,而 $500 \mu\text{L}$ 组和 $700 \mu\text{L}$ 组的含量相当,均显著高于 $300 \mu\text{L}$ 组,但 $700 \mu\text{L}$ 组要高于 $500 \mu\text{L}$ 组且具有显著性差异,第 14 天时 $500 \mu\text{L}$ 和 $700 \mu\text{L}$ 组的含量仍相当,均显著高于 $300 \mu\text{L}$ 组,说明从第 8 天开始 $300 \mu\text{L}$ 组血肿所造成的影响也已经基本消失,而 $500 \mu\text{L}$ 组和 $700 \mu\text{L}$ 组继发性的损伤仍然在持续。

通过对比 NSE 和 S100B 含量在造模成功后各组与假手术组相应时间点的比较以及各时间点组间的比较,我们发现 $500 \mu\text{L}$ 组和 $700 \mu\text{L}$ 组更接近临床的病理情况,由于 $700 \mu\text{L}$ 组的死亡率明显高于 $500 \mu\text{L}$ 组,而 $500 \mu\text{L}$ 组与 $300 \mu\text{L}$ 的死亡率无显著差异,综上所述,此次研究确定 $500 \mu\text{L}$ 的自体血致大鼠急性硬膜下血肿模型的稳定性较好,为最佳造模剂量。

参考文献:

- [1] Lee CH, Kang DH, Hwang SH, et al. Spontaneous rapid reduction of a large acute subdural hematoma [J]. J Korean Med Sci, 2009, 24:1224-1226.
- [2] Baechli H, Behzad M, Schleenberger M, et al. Blood constituents trigger brain swelling, tissue death, and reduction of glucose metabolism early after acute subdural hematoma in rats [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2010, 30: 576-558.
- [3] Gyorgy A, Ling G, Wingo D, et al. Time-dependent changes in serum biomarker levels after blast traumatic brain injury [J]. J Neurotrauma, 2011, 28(6): 1121-1126.
- [4] 郭广宏,王建柱,丁慧,等. ELISA 法检测肿瘤相关抗原神经元特异性烯醇化酶的方法学评价[J]. 标记免疫分析与临

- 床, 2009, 16(4): 247-249.
- [5] 张刚利, 张汉伟. NSE 在颅脑损伤中的临床意义[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2010, 2(37): 161-163.
- [6] 朱成, 束汉, 生王淮, 等. S100B 蛋白检测在颅脑损伤患者

中的意义[D]. 蚌埠市科学技术协会, 2012 年度学术年会论文集. 2012;233000; 288-290.

[修回日期]2015-08-07



一种简易的实验兔灌胃方法

王丽平, 陈芳, 刘琴, 朱以良, 陈利锋, 王俊伟, 张宜

(广州军区武汉总医院, 湖北 武汉 430070)

实验兔传统的灌胃方法是使用压舌板或木制开口器从实验兔一侧口角插入口腔, 使实验兔咬住开口器, 然后将 8 号橡皮导尿管经开口器中部的小孔缓缓向食道插入胃中进行给药操作。这种方法经常因为操作不当, 将插管误插入气管而导致家兔迅速死亡。

本实验结合止血钳和大鼠灌胃针, 建立一种简便易操作的实验兔灌胃方法。该方法使用大鼠灌胃针插入比较容易, 而且在长期的灌胃中, 通常不会损伤到实验兔的咽部和食管, 可以极大减少因灌胃操作不当造成的实验兔死亡。

方法: (1) 将实验兔放入固定盒中, 实验助手将实验兔面朝实验者, 竖直抱起固定盒, 尽量将固定盒和与身体平行, 兔头呈自然位或向背部仰起时, 喉门呈开放状。(2) 实验者左手持 20 cm 弯止血钳, 止血钳的弯头朝向实验者, 从实验兔左侧口角穿入, 紧贴其门牙横穿出右侧嘴角, 微张开止血钳

将实验兔的口腔打开。(3) 实验者右手持注射器, 通过张开的止血钳空隙, 将灌胃针头顺着实验兔的舌面插向其食管腔, 针头大概进入一半时, 可看见实验兔自然吞咽动作, 随着其吞咽动作将注射器内的药液缓缓推入(图 1)。灌胃速度要适当, 太急实验兔吞咽不及, 易从嘴角漏出药液。

本实验通过实验兔固定盒来代替传统的手抓取固定法, 避免实验兔在灌胃过程中因喉部不适而引起的剧烈挣扎, 能够保证实验兔在灌胃过程中固定的呈向背部仰起, 喉门呈开放状, 顺应其自然吞咽时给药; 使用 16 号大鼠灌胃针替换 8 号橡皮导尿管, 避免了误插入气管而导致的家兔死亡, 遵循了实验动物的“3R”原则, 极大地减少了实验兔的不适感; 使用弯止血钳来代替压舌板或木制开口器, 不需要人工制作木制开口器, 使灌胃过程更加简单易操作。



图 1 简便易操作的实验兔灌胃方法

Fig. 1 The simplified gastric gavage technique in rabbit