

胆固醇结石模型豚鼠灌胃给药方法探讨*

叶露^{1,2,3}, 周亚男^{1,2,3}, 丁珊珊^{1,3}, 李宇涛^{1,3},
赖新梅^{1,3}, 房盛懿^{1,2,3}, 闵莉^{1,3}[△]

(1. 福建中医药大学中医证研究基地, 福建 福州 350122;

2. 福建省 2011 中医健康管理协同创新中心, 福建 福州 350122;

3. 福建省中医健康状态辨识重点实验室 (福建中医药大学), 福建 福州 350122)

摘要: **目的** 介绍改良后的豚鼠灌胃方法, 为其他实验者在豚鼠灌胃方面提供借鉴。**方法** 普通级豚鼠 40 只, 雌雄各半, 在基于 CCKA 受体介导的 G 蛋白信号通路的胆囊胆固醇结石肝郁湿热分子生物学机制研究中建立胆固醇结石模型造模成功后, 运用了将灌胃针插入实验动物食管的灌胃方法 (传统灌胃方法) 及将灌胃针插入实验动物嘴角推入药物由其自主吞咽的灌胃方法 (改良后的灌胃方法), 监测运用两种灌胃方法灌胃后豚鼠的死亡率。

结果 与传统灌胃方法组比较, 改良后的灌胃方法的豚鼠死亡率明显偏低 ($P < 0.01$)。 **结论** 改良后的灌胃方法灌胃成功率高, 实用性强, 值得推广应用。

关键词: 豚鼠; 胆囊胆固醇结石; 灌胃; 方法

中图分类号: R285.5; R965

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2017)04-0047-04

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2017.04.011

经口给药是动物实验中一种常用的给药方法。经口给药有口服给药和灌胃给药两种方法。口服给药是直接药物添加到实验动物的食物或饮水中, 此种方法操作简便, 但不易控制给药的剂量。灌胃给药是借助器械直接将药物灌入到实验动物的胃中^[1], 此种方法可准确控制给药的剂量, 可以最大程度保证药物干预的准确性, 因此在动物实验中应用广泛。

豚鼠灌胃给药是豚鼠实验中最主要的给药途径, 但由于豚鼠口腔结构及豚鼠体型的特殊性, 以及豚鼠难固定等特点, 使得豚鼠灌胃较大鼠和小鼠困难。笔者曾在前期的实验中运用传统的豚鼠灌胃方法, 但灌胃效果不甚理想, 经不断改进后探索到新的灌胃方法, 灌胃效果有明显改善。现将灌胃传统方法与新方法进行比较, 结果如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物

普通级豚鼠 40 只, 雌雄各半, 体质量 300~500g,

由上海市松江区松联实验动物场提供, 动物质量合格证编号: 2007001105831, 动物生产许可证号码: SCXK(沪)2012-0011。所有豚鼠饲养于福建中医药大学实验动物中心普通级动物房, 12/12h 明暗周期, 室温 (23 ± 10)℃, 自由饮食水, 每 500mL 的饮用水加 100mg 水溶性维生素 C 片 1 片。适应性喂养 1 周, 无怀孕及不良反应, 且饮食、饮水正常者, 即可纳入实验。10mL 注射器, 16 号灌胃针。

1.2 药物制剂

本实验造模组灌胃用的药物是龙胆泻肝汤、柴胡疏肝散、龙胆泻肝汤加柴胡疏肝散的水煎剂, 正常对照组灌胃用的是生理盐水。给药剂量按照 1mL/100g 体质量计算。龙胆泻肝汤干预组: 龙胆草 6g, 柴胡 6g, 黄芩 9g, 栀子(酒)9g, 泽泻 9g, 木通 6g, 当归(酒)3g, 生地 6g, 生甘草 6g; 柴胡疏肝散干预组: 柴胡 6g, 白芍 4.5g, 枳壳 4.5g, 川芎 4.5g, 醋炒陈皮 6g, 香附 4.5g, 炙甘草 1.5g; 柴胡疏肝散加龙胆泻肝汤干预

* 基金项目: 国家自然科学基金(81603541); 福建省中青年教师教育科研项目(JA15253); 福建省 2011 中医健康管理协同创新中心项目

收稿日期: 2017-07-15

作者简介: 叶露(1989-), 女, 湖北英山人, 在读硕士研究生, 研究方向: 中医辨治内分泌疾病的理论与临床研究。

[△]通信作者: 闵莉, E-mail: ever-lily@163.com

组:前述两方合用。上述方药用文火煎煮 2 次,第 1 次 40min,第 2 次 30min,合并 2 次煎液后 4 层纱布过滤两次,旋转蒸发仪浓缩至含生药量分别为 0.32/mL (柴胡疏肝散)、0.6g/mL (龙胆泻肝汤)、0.92g/mL (柴胡疏肝散+龙胆泻肝汤)(按临床用药量的 7 倍计算)。2~8℃条件下保存备用,每日灌胃 1 次,连续灌胃 4 周。

1.3 灌胃操作

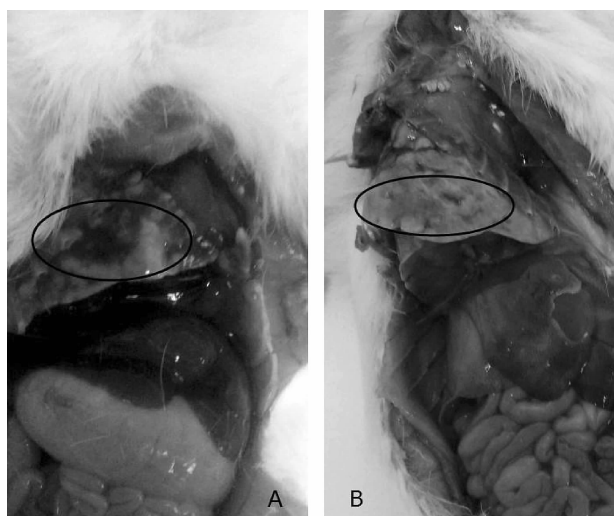
传统方法:助手取站立位,两手带乳胶手套用毛巾将豚鼠裹住采取垂直体位固定。具体步骤如下:①将毛巾平铺于桌面上,将豚鼠放于毛巾上,用毛巾将豚鼠裹住,使豚鼠的双前肢被包裹在毛巾里面,这样可以有效的降低豚鼠的挣扎程度,同时能有效的避免操作者被豚鼠抓伤。豚鼠的头部应暴露在空气中。②助手一手握住豚鼠双前肢位置,另一手握住豚鼠的双后肢或臀部,使豚鼠的身体呈一条直线^[2]。③操作者左手抓住豚鼠的头部少量皮毛以制动,保证豚鼠的头部与身体保持在一条直线上,先测量口角到最后肋骨之间的距离作为灌胃针插入的长度,右手持灌胃针,从豚鼠左侧口角插入口腔,与食管成一条直线,再将灌胃针沿上腭壁缓缓插入食管,如果豚鼠无挣扎,再缓慢推入药物,若挣扎剧烈或遇到阻力,抽出灌胃针重新插入^[3-9]。

改进方法:为降低豚鼠的灌胃后的死亡率,笔者改良了豚鼠灌胃的操作方法。具体步骤如下:①助手将豚鼠取坐立位放于笼盖上,使豚鼠处于自然蹲坐状态,用一手握住豚鼠的背部,使豚鼠无法走动。②操作者一手食指放于豚鼠咽部,另一手持灌胃针。将灌胃针沿豚鼠嘴角缓慢插入口腔 1~2cm,然后缓慢推入 0.5mL 药物,在感受到豚鼠有吞咽动作后,继续缓慢的适量推入药物,直至推入相应剂量的药物。此操作单人亦可以完成,以一手固定豚鼠,另一手持灌胃针灌药,操作方法同前。

2 结果

经上述方法灌胃,第 1 天上午灌胃后观察,1 只灌胃后即出现剧烈喷嚏、咳嗽、鼻腔出血,后出血量增多,2min 后死亡。3 只灌胃后有轻微的喷嚏,鼻腔有少量淡红色液体流出,4 只出现了轻微的颈斜,观察半小时后,该 7 只豚鼠活动量轻微减少,其他无明显异常。其余 32 只豚鼠无异常。对死亡豚鼠进行解剖发现其肺组织呈暗红色,肺部瘀血(见图 1A)。第 2

天上午发现,豚鼠死亡 9 只,将剩下的 30 只豚鼠按照原来的方法继续灌胃,手法上更加轻柔。经灌胃后,有 4 只出现轻度颈斜的症状,4 只出现鼻腔流出褐色液体(考虑是灌胃的药物),其他无明显异常。观察 20min 后发现,出现异常的 8 只逐步恢复正常。解剖 9 只死亡豚鼠发现肺脏颜色均改变,呈暗红色,提示有瘀血(见图 1B)。第 3 天上午发现死亡 10 只,经解剖发现肺脏的颜色有轻微改变,其他未见明显异常,考虑肺瘀血。由于前两天灌胃后均出现豚鼠死亡,且解剖均提示肺瘀血,笔者考虑可能由于灌胃时操作不当,误灌药物入肺或损伤咽部血管所致。故从第 3 天起,笔者运用改良后的灌胃方法给实验动物灌胃 4 周,每天 1 次,直至实验动物取材,实验动物死亡 3 只,经解剖肺部未见明显异常,死亡原因待查,其余 17 只均正常,灌胃期间偶有少数豚鼠出现吐药的现象,经提高药物浓度,减少灌药的剂量后未再次出现类似异常反应。



A. 灌胃后第 1 天 B. 灌胃后第 2 天

图 1 灌胃后死亡豚鼠解剖图

表 1 两种灌胃方法动物死亡率比较

组别	n	灌胃后死亡动物数	死亡率/%
传统灌胃方法	40	20	50
改良后灌胃方法	20	3	15*

注:与传统灌胃方法组相比,* $P < 0.01$

运用 SPSS20.0 进行统计学分析,组间差异比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。由表可知,传统灌胃方法组豚鼠 40 只灌胃后死亡 20 只,死亡率 50%;改良后灌胃方法组豚鼠 20 只灌胃后死亡 3 只,

死亡率 15%。传统灌胃方法组死亡率显著高于改良后灌胃方法组,具有差异具有统计学意义($P<0.01$)。

3 讨论

豚鼠作为实验动物,越来越广泛地被运用于各项研究当中。但由于豚鼠的特殊口腔结构和无尾的特性,故而豚鼠灌胃依然会出现很多问题。运用传统灌胃方法,将硬质灌胃针从豚鼠侧口角插入,沿上腭壁滑行插入食道灌药。其缺点主要有以下几方面:(1)灌胃针需要从市场上购买,或者是针头处焊有金属圆头,自制灌胃针^[10];购买灌胃针成本偏高,而自制灌胃针的安全性难以保证。(2)金属器具直接插入豚鼠的口腔食道,容易造成豚鼠口腔和食道的损伤。(3)沿上腭壁滑行插入食道灌药,不符合豚鼠的口腔解剖特点。经解剖发现,豚鼠的腔咽较狭窄,舌根处隆起呈台阶状,口腔中部上下左右四列臼齿,左右列呈前方向中线靠拢的前窄后宽的“八”字型,前端开口狭窄,咬合后上下列臼齿从两侧向中线挡在高台状舌根的前方^[11],故灌胃针插入时突然遇到的阻力多来自于舌根和四列臼齿,而非大家所认为的食道入口,此时若强行用力插入,轻则对豚鼠的食道造成损伤,豚鼠会出现斜颈的表现,重则误入气管,注入药物后,豚鼠会出现喷嚏、口鼻出血等表现后导致豚鼠当场死亡或间隔几个小时后死亡。笔者之前灌胃后豚鼠出现大量死亡,部分原因可能是在灌胃的过程中,遇到阻力强行插入而损伤了豚鼠的气管。(4)此种灌胃方法让豚鼠感到不适,容易挣扎,也给灌胃操作增加了难度。

相较于传统的灌胃方法,改进后的方法有以下优点。

(1)实验者可以单人操作,简便,较传统灌胃方法节省人力。因为豚鼠的吞咽动作肉眼可以看到,故在操作的过程中,操作者可一手持灌胃针,另一手按住豚鼠的背部以保定,在看到豚鼠有吞咽动作后,再推入药物。(2)灌胃时将豚鼠以坐立位置放,豚鼠不会出现强烈的不适感,自主吞咽不受影响,故不会剧烈挣扎,给灌胃提供了方便;(3)将灌胃针插入鼠的口腔 1~2cm,相当于至豚鼠的咽上方,不对豚鼠的咽部直接刺激或对豚鼠咽部的刺激较前明显减小,不会让豚鼠产生强烈的咽反射而排斥灌药,减少了豚鼠的对灌药的抵抗,对豚鼠的损伤较小;(4)让豚鼠自行吞咽药物,可以保证灌入的药物完全经食管进

入到了豚鼠的胃部,能避免药物误灌入气管,最大程度上降低了豚鼠由异物吸入引起的死亡率;(5)改进的方法中,提高药物的浓度,尽量减少灌入的药量避免了因药物灌入过量而导致豚鼠吐药的现象。实验中笔者观察到当灌入的药量超过豚鼠的灌胃总量时,豚鼠会拒绝药物的吞咽,或者将药物吐出。而资料显示,豚鼠的一次灌胃总量一般不超过 2mL/100g^[12-15],所以,提高药物浓度,尽量减少灌入的药物量也是很有必要的^[16]。

综上所述,经改良后的豚鼠灌胃方法,即将灌胃针插入豚鼠口腔 1~2cm,再缓慢推入少量药物,在观察到豚鼠有吞咽反应后,再逐渐推入药物。此种方法安全,实用性高,值得今后实验者在豚鼠灌胃中推广应用。

参考文献:

- [1] 何诚. 实验动物学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2013: 241.
- [2] 魏玉. 几种实验动物灌胃给药方法简介[J]. 上海实验动物科学, 2003, 23(3): 180.
- [3] 戴支凯. 大鼠及小鼠灌胃给药操作方法探讨 [J]. 现代医药卫生, 2015, 31(11): 1738-1740.
- [4] 赵明德. 常用小型实验动物灌胃给药技术方法介绍 [J]. 泸州医学院学报, 2004, 27(3): 258-259.
- [5] 王丽平, 陈芳, 刘琴, 等. 一种简易的实验兔灌胃方法 [J]. 中国比较医学杂志, 2015, 25(9): 50.
- [6] 王志芳, 周攀豪, 卢运勤, 等. 一种新的实验大鼠捉拿、灌胃方法[J]. 东方食疗与保健, 2015(10): 235.
- [7] 姚思君, 刘香君, 丁春慧, 等. 医学实验动物大鼠灌胃给药方法的改进[J]. 中国保健营养, 2016, 26(6): 34.
- [8] 方远书, 何忠平, 袁颖儿. 实验小鼠的灌胃给药技巧 [J]. 山东畜牧兽医, 2014, 35(10): 90.
- [9] 邱灿华, 李红宇, 林文健, 等. 实验动物常用灌胃方法及改进[J]. 医学信息, 2013, 26(6): 438-439.
- [10] 从宁, 韩朝, 迟放鲁, 等. 改良的豚鼠灌胃给药方法 [J]. 复旦学报(医学版), 2010, 37(2): 232-235.
- [11] 袁普卫, 王淦, 张东, 等. 豚鼠灌胃方法新改进[J]. 医学动物防制, 2014, 30(12): 1368-1369.
- [12] 孙敬方. 动物实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 164-213.
- [13] 王太一, 韩子玉. 实验动物解剖图谱[M]. 沈阳: 辽宁美术出版社, 辽宁科学技术出版社, 2000: 325-326.
- [14] 李凤奎, 王纯耀. 实验动物与动物实验方法学[M]. 郑

- 州: 郑州大学出版社, 2007: 307-322.
- [15] 胡建华, 姚明, 崔淑芳. 实验动物学教程[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2009: 149-159.
- [16] 鄢海燕, 邹纯才, 杨洋, 等. 小鼠最大灌胃量的研究[J]. 中国当代医药, 2015, 22(2): 4-6.
- (编辑: 徐建平)

Study on the Methods of Administration of Cholesterol in Cholesterol Guinea Pigs

YE Lu^{1,2,3}, ZHOU Yanan^{1,2,3}, DING Shanshan^{1,3}, LI Yutao^{1,3}, LAI Xinmei^{1,3}, FANG Shengyi^{1,2,3}, MIN Li^{1,3}

(1. Research Base of TCM Synorcme, Fujian University of Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China;

2. Fujian 2011 Collaborative Innovation Center of TCM; Fuzhou 350122, China;

3. Key Laboratory of TCM Health Status Identification(Fujian University of Chinese Medicine), Fuzhou 350122, China)

ABSTRACT: **Objective** The method of intragastric administration of improved guinea pigs was introduced, which can be used as reference for other guinea pigs gavage. **Methods** 40 ordinary guinea pigs, male and female half, based on the CCKA receptor-mediated G protein signaling pathway in the gallstones of cholesterol gallstones in the study of the mechanism of the establishment of cholesterol gallstones, after the modeling succeed, the use of the stent into the experimental animal esophageal feeding method (traditional gavage method) and the use of the intragastric needle into the experimental animal mouth into the drug by its own swallowing method(improved aftergrowth method), the mortality of guinea pigs after intragastric administration of two different gavage methods was monitored. **Results** Compared with the traditional gavage method, the mortality of the guinea pigs treated with the improved intragastric method was significantly lower ($P<0.01$). **Conclusion** The improved gastric gavage method has high success rate and practicability, so it is worth popularizing.

KEY WORDS: guinea pig; gallstone cholesterol; gavage; methods