

经验交流 ·

利用鼠类 HIE 模型进行医学实验的体会

黑明燕

(中南大学湘雅三医院儿科,湖南 * 长沙 410013)

[中图分类号] R-33 [文献标识码] E

新生儿缺氧缺血性脑病(HIE)是围生期发病率较高的一种疾病,也是导致神经系统中、远期后遗症的主要病因之一^[1]。目前国内、外对HIE的发病机制及治疗等方面的研究正在不断深入,利用HIE动物模型进行医学实验是普遍采用的研究方法,其中最常用的动物是大鼠和小鼠^[2,3]。对HIE的研究成果已以专著、文献等形式报道出来,但关于实验期间怎样与实验鼠类打交道的文章却很少,这一方面是由于研究人员的工作重点放在其研究的结果及意义上而忽视了在动物处理方面经验的总结和交流,另一方面也是由于国内目前这方面的经验尚不足。

1 鼠 HIE 模型特点

鼠HIE模型与其它鼠类模型试验有所不同:均为即将分娩的孕鼠或已出生几天的新生幼鼠及其母鼠,母鼠及幼鼠同笼,此时母鼠出于保护幼鼠的天性,攻击性强;HIE实验是应用出生7d左右的新生鼠进行的,具体的方法在文献中已有报道^[4,5],需将新生幼鼠自母鼠身边取出、放回、再取出、再放回,反复多次才能完成;实验结束后需将母鼠处死。

2 鼠 HIE 模型操作技巧

2.1 饲养环境

大、小鼠有基本相同的生活习性,饲养原则是相同的。大鼠抵抗力较强,但易受惊,受惊时表现凶恶,易咬人;小鼠则对温度、湿度敏感,对环境适应性差,不耐冷热^[3]。饲养期间除了要有足够的食物和水、注意通风、干燥和清洁外,尤其要注意保持安静及冬季采取足够的保暖措施,否则会因环境喧闹或

寒冷使孕鼠处于激惹状态,发生孕鼠只生很少的几只新生鼠或将刚出生的幼鼠咬死的现象,使实验室遭受不必要的经济损失且延长实验的时间。

2.2 抓取动物

饲养时间为减少实验室异味及保证实验动物的健康,要对动物笼进行定期的更换和清理,另外HIE实验本身也要求反复抓取动物。抓取的原则是保持安静,动作平稳,先抓母鼠,后抓新生鼠。如果先抓新生鼠,母鼠会被激惹而拼命保护幼鼠,甚至咬伤工作人员的手指。

抓取新生鼠时要注意在新笼放置新生鼠的部位,用手将在笼底的木屑拨弄成凹窝形,再在新生鼠周围放些旧笼中的木屑,这样可以防止新鲜木屑的气味干扰母鼠的嗅觉而使其不喂养甚至误杀了新生鼠。在整个实验过程中,要注意尽量使用一次性托盘搬运新生幼鼠而不是用手掌托取,这也是为也避免幼鼠沾染了人体的气味而使母鼠不认养或误杀了幼鼠。

另外,所有对幼鼠的实验操作都要在母鼠视线范围以外进行,这样做一方面符合人道主义观点,另一方面也减少了对母鼠的刺激。

2.3 动物标记

由于新生幼鼠个头小,因此最常用的方法是剪去其后肢相应的趾甲来作标记。曾有介绍应用0.5%酸性洋红和苦味酸水溶液涂擦皮毛标记成年大、小鼠的方法^[6],但由于易使母鼠误认为幼鼠身上的异味而抓挠、啃咬至误杀幼鼠而未应用于标记幼鼠。作者经多次试验,发现在新生鼠的后胯处用黑色标记笔标记0.5cm大小的阿拉伯数字并不会导致母鼠误杀幼鼠。这个方法便于工作人员直接观察和准确抓取所需的实验动物。但为保险起见,仍

[收稿日期] 2000-06-18; [修回日期] 2000-10-02
[作者简介] 黑明燕(1968-),女,满族,主治医师,硕士研究生在读。

要同时剪去幼鼠相应的趾甲作标记,以备万一数字变模糊时区分不同的动物。

2.4 术前麻醉

不同的麻醉方法有不同的药物剂量和操作方法^[7]。吸入麻醉方法简单,起效快且恢复快,但需要在术中借助辅助喷射呼吸器维持给药以维持麻醉效果。对于麻醉程度的掌握需要在实践中反复摸索、体会。本人的体会是:新生小鼠对吸入麻醉(以异氟烷为例)的敏感性低于新生大鼠,麻醉诱导时须观察至其四肢完全不动、呼吸减慢至30次/min左右时方可,维持麻醉时呼吸器频率亦需明显快于应用于大鼠时;而新生大鼠由于个头相对较大,异氟烷吸入后至渗透到血液中完全起效所需的时间较小鼠长些,麻醉诱导时只需观察至呼吸减慢、四肢活动明显减少即可,不需待到四肢完全不动,否则易麻醉过度。

2.5 术后幼鼠的处理

术后幼鼠必须先仰卧位放在34℃恒温箱中约30 min令其恢复,若直接送回母鼠身边会因其对母鼠无反应或反应低下、身上残留麻醉药物气味而致母鼠误杀幼鼠。幼鼠完全恢复以其自行翻身成俯卧状态、安静、呼吸平稳、用手拨弄时反应较灵敏为标准。放回母鼠身边前要注意将伤口处血迹用磷酸盐缓冲液仔细擦干净,否则母鼠会噬咬伤口而致误杀幼鼠。

2.6 处死母鼠

对于小鼠处理很容易,但对于大鼠,因其个头大、力气大,且实验中由于反复抓取其幼仔已使其处于激惹状态,这时要抓取母鼠再作处死很不容易。这里介绍一种方便、安全的方法:将饲养笼放在抽风排气扇下,用10 ml一次性注射器抽取氯仿,对准大鼠的头部及口鼻处浇下,等大鼠不能动时,打开笼盖,提出大鼠,放入一个已经准备了少量氯仿的塑料容器内,密封十余分钟即可处死。

[参 考 文 献]

- [1] 韩玉昆,傅文芳,许植之.实用新生儿急救指南[M].沈阳:沈阳出版社,1997,378-379.
- [2] 丁荣光.常用实验动物的管理与应用[J].安徽中医学院学报,1994,13(2):62-63.
- [3] 庞宏禧.实验动物在医学研究中的作用[综述][J].广西医学,1993,15(5):419-422.
- [4] 史金阳,韩玉昆.新生大鼠缺氧缺血性脑损伤与肿瘤坏死因子基因表达的研究[J].中华儿科杂志,1999,37(2):87-89.
- [5] 蒋梨,汤云珍.缺氧缺血大鼠脑细胞凋亡的研究[J].中华医学杂志,1998,78(8):87-89.
- [6] 管遵信.实用医学科研方法学[M].上海:上海中医学院出版社,1986,160-161.
- [7] Waynforth HB, Flecknell PA. Experimental and Surgical Technique in the Rat [M] 2nd ed. London Academic Press, 1992, 100-125.

(本文编辑:吉耕中)