

疡的发生^[10]。胃缺血一再灌注引起急性胃黏膜损伤的机制, 主要与细胞内钙超载、氧自由基过量生成、白细胞浸润等因素有关。已有研究报道 SS 对胃黏膜损伤具有保护作用, 可能与对抗自由基引起的损伤有关^[3]。胃缺血一再灌注后胃窦黏膜内 D 细胞通过分泌 SS, 一方面抑制胃酸的分泌, 减轻溃疡的程度; 另一方面, SS 可通过增强细胞对抗自由基引起的损伤而对胃黏膜起保护作用。SS 的增多, 可能是机体自然抗病的一种局部反应。

综上所述, 本实验结果提示: 胃窦黏膜 D 细胞通过分泌 SS 参与了大鼠 GI—RI 的过程。

参考文献:

[1] Mythen MG, Webb AR. Intra—operative gut mucosal hypoperfusion is associated with increased post—operative complications and cost[J] . Intensive Care Med, 1994, 20(2) : 99—104.

[2] 李 铁, 张席锦. 生长抑素对胃黏膜的保护作用可能与清除自由基有关[J] . 生理学报, 1994, 46(4) : 369—374.

[3] Morris JB, Guerrero NH, Furth EE, et al. Somatostatin attenuates ischemic intestinal injury[J] . Am J Surg, 1993, 165(6) : 676—680.

[4] Wada K, Kamisaki Y, Kitano M, et al. A new gastric ulcer model in-

duced by ischemia— reperfusion in the rat: role of leukocytes on ulceration in rat stomach[J] . Life Sci, 1996, 59(19) : 295—301.

[5] 周 吕主编. 胃肠生理学基础与临床[M] . 北京: 科学出版社, 1998. 73— 97.

[6] 詹静海, 石爱荣. 大鼠实验性肠系膜上动脉闭塞性休克时胃窦粘膜 D 和 G 细胞免疫组织化学研究[J] . 解剖学报, 1990, 21(2) : 200—204.

[7] Park SM, Park HS. G— and D— cell populations, serum and tissue concentrations of gastrin and somatostatin in patients with peptic ulcer diseases[J] . Korean J Intem Med, 1993, 8(1) : 1— 7.

[8] Kameli F, Eliakim R, Okon E, et al. Somatostatin effectively prevents ethanol— and NSAID— induced gastric mucosal damage in rats[J] . Dig Dis Sci, 1994, 39(3) : 617—625.

[9] 卢十一, 石爱荣. 大鼠实验性胃溃疡自愈期间胃窦黏膜 G、D 细胞变化的免疫组织化学研究[J] . 解剖学报, 1990, 21(3) : 302—306.

[10] Low MJ. Clinical endocrinology and metabolism. The somatostatin neuroendocrine system: physiology and clinical relevance in gastrointestinal and pancreatic disorders[J] . Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2004, 18(4) : 607— 622.

收稿日期: 2005— 06— 26 修回日期: 2005— 07— 10
本文编辑: 吴 进

两种采集 SD 大鼠脑脊液方法的比较*

曹远东¹, 章龙珍¹, 王梅申², 唐天友¹, 苏 卫红¹

(1. 徐州医学院肿瘤防治研究所放射治疗科, 江苏 徐州 221006; 2. 徐州医学院解剖学实验室, 江苏 徐州 221002)

摘要: 目的 比较实验 SD 大鼠脑脊液采集的两种方法。方法 SD 大鼠分为 2 组, 采用经侧脑室穿刺和经枕大孔穿刺法采集脑脊液, 比较 2 种方法穿刺成功率。结果 经枕大孔穿刺法成功率明显高于经侧脑室穿刺法。结论 经枕大孔穿刺法进针直观、简便、损伤小, 明显提高一次性穿刺成功率, 并有效减少并发症的发生。

关键词: SD 大鼠; 脑脊液; 穿刺术

中图分类号: Q95— 34⁺1 文献标识码: A 文章编号: 1000— 2065(2005) 04— 0317— 03

Two methods to collect cerebrospinal fluid in SD rats

CAO Yuan— dong, ZHANG Long— zhen, WANG Mei— shen, et al

(Department of Radiotherapy, Cancer Institute of Xuzhou Medical College, Xuzhou, Jiangsu 221006, China)

Abstract; Objective To evaluate the two methods to collect cerebrospinal fluid in SD rats. **Methods** The cerebrospinal fluid was collected through the lateral ventricle or the foramen magnum in rats. The rates of success of the two methods were compared. **Results** The foramen magnum method was found better than the lateral ventricle one. **Conclusion** The method of foramen magnum is more visual and convenient to operate, causing less injury and complications, and possesses high rate of success.

Key words: SD rats; cerebrospinal fluid; paracentesis

许多动物实验中常需留取脑脊液标本, 常用方法 有 2 种, 一种是侧脑室穿刺或置管引流, 另一种是经

* 作者简介: 曹远东(1975—), 男, 江苏徐州人, 主治医师, 在读硕士研究生。
(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

枕大孔穿刺或置管引流。大鼠的脑室及蛛网膜下腔狭小,脑脊液标本采集困难,且由于主观条件的限制,直接影响到整个实验过程和最终结果。在实验过程中作者发现,在采集大鼠脑脊液时这2种方法对操作者的实验技能要求差别较大,经枕大孔法操作直观,成功率高,术后存活率高。通过对这2种方法的比较,使操作者在采集大鼠脑脊液标本时根据不同要求选取较好的一种方法,进而提高实验效率。

1 材料和方法

1.1 材料 江湾I型大鼠脑立体定向仪,100 μ l 微量注射器(平头、尖头各1支),牙科钻,手术器械等。

1.2 方法 成熟SD大鼠100只,雌雄不拘,随机分为2组,每组50只。经侧脑室穿刺法的大鼠体重230~340 g,平均278 g;经枕大孔穿刺法大鼠体重190~330 g,平均269 g。实验时用0.4%戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射进行麻醉。

1.2.1 经侧脑室穿刺法 首先调整大鼠脑立体定向仪,保证操作台水平,两侧耳杆在同一直线,门齿棒较耳杆低0.3 cm,大鼠麻醉后,固定于大鼠脑立体定向仪上,头顶部剪毛、消毒,沿纵轴切一纵行切口(约1.5 cm)达颅骨,钝性分离头皮,暴露前囟中心和人字缝尖,用过氧化氢溶液烧灼后,参照大鼠脑立体定位图谱^[1],确定穿刺位置,即按坐标A(前囟后)0.8 mm, L(中线旁开)1.5 mm, H(颅骨下)3.5 mm。用牙科钻钻孔,将平头微量注射器垂直固定在电极移动架上,对准穿刺点垂直进针,进针3.5 mm,缓慢回抽注射器,若未见有清晰的脑脊液升入注射器内,可适度向下调整进针深度。抽取脑脊液完毕后缝合皮肤,切口处应用磺胺药粉,防止感染,继续饲养。穿刺成功者,采完脑脊液后注入等量的消毒生理盐水或人工脑脊液,以保持原来脑脊髓腔的压力;未抽出脑脊液者于同一位置缓慢注入2 μ l 有机染料,约1 min后再回撤穿刺针,然后予生理盐水150 ml+10%甲醛100 ml灌注固定后取脑解剖。

1.2.2 经枕大孔穿刺法 大鼠脑定向仪根据定位图谱要求调整结束后,将麻醉好的大鼠头部固定在固定架上,头颈部剪毛、消毒,沿后正中中线切一纵行切口(约2 cm),用剪刀钝性分离颈部背侧肌肉。最深层附着在骨上的肌肉用手术刀背刮开,以避免出血,暴露寰枕筋膜后,直视下可看到枕骨大孔及脑组织。用尖头微量注射器,针尖位于枕骨大孔后外侧朝向小脑延髓池侧向进针,针尖完全进入后即可直接抽取脑脊液,若未见脑脊液流出,可轻微旋转针

体。穿刺成功者,采完脑脊液后,注入等量的消毒生理盐水或人工脑脊液,以保持原来脑脊髓腔的压力,然后用TH医用胶封闭穿刺孔,缝合好外层肌肉、皮肤,切口处应用磺胺药粉,防止感染,并维持头低尾高位30 min,继续饲养。

1.3 判定标准 抽出脑脊液并且脑脊液中无出血为成功标准。

1.4 统计学处理 计数资料采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 经侧脑室穿刺法 50例中有3例抽取脑脊液21~30 μ l,5例抽取脑脊液10~20 μ l,4例抽取不到10 μ l,穿刺成功率24%;术后12 h死亡1只,3天内死亡2只。穿刺未成功者注入染料后经解剖发现有2例进针过深,余针尖均达脑室内(染料充填整个脑室系统)。

2.2 经枕大孔穿刺法 50例中5例因脑脊液内出血而失败,余均抽出脑脊液,平均76 μ l,其中有18例抽取脑脊液超过100 μ l(实验所用为100 μ l微量注射器,超过注射器最大容量均按100 μ l计算),成功率90%;术后2周内无死亡。

2种方法经 χ^2 检验,差异显著($P<0.01$)(表1)。

表1 2种方法的穿刺结果比较

方 法	n	穿刺成功(例)	成功率(%)
侧脑室穿刺法	50	12	24
枕大孔穿刺法	50	45	90*

2组间比较: * $P<0.01$

3 讨 论

在研究中枢神经系统的动物实验中,常需留取脑脊液标本来监测其中的标志物或递质等化学物质。据文献报道^[2],体重300 g大鼠脑脊液总体积大约580 μ l,脑室内脑脊液所占比重更少,因此留取大鼠脑脊液成为实验过程中关键的一步。在操作中应注意以下问题,首先要保证一次穿刺成功,并确保实验后实验动物存活,这样一方面可增加实验的可比性,另一方面可节约实验成本,有效地利用实验资源;另外若反复穿刺,则出血概率高,并且术后并发症多;其次必须没有出血,否则导致结果误差大,甚至失败。

目前大鼠脑脊液标本采集主要有2种方法,一种是经侧脑室穿刺法,另一种是经枕大孔穿刺法。实验中作者发现,在采集大鼠脑脊液时这2种方法

对操作者的要求差别较大。对于侧脑室穿刺, 操作前一定要调整好大鼠脑立体定向仪的位置, 并且根据大鼠定位图谱确定穿刺点及进针深度。准确定位是穿刺成功的关键之一, 但在穿刺时还要根据大鼠体重对进针深度进行灵活的调整, 否则成功率低, 因此实验前除对定向仪、大鼠脑结构及图谱相当了解外, 还必须进行大量的预实验, 以便掌握不同体重的实验动物的进针深度, 此法不可避免地造成脑组织损伤, 易出血, 且要求实验者操作精细、熟练。本实验中, 经侧脑室穿刺失败率高达 76%, 且所采集的样品量均未达到常规实验要求的最低量。实验中注射染料后发现染料分布在整个脑室系统, 说明针尖位于脑室内, 其失败原因可能为: ①抽取速度过快, 针尖堵塞; ②定位不准确; ③穿刺深度不恰当, 尽管经验证染料分布整个脑室系统, 但因反复进针、出针并回抽可导致一种假象, 仅说明针尖经过侧脑室。本实验中发现有 2 例进针过深, 实际可能不止 2 例。

经枕大孔穿刺法在直视下进针, 操作容易, 易于掌握, 成功率高, 损伤较小, 但仍需细致、谨慎操作, 否则亦可造成出血、脑损伤, 以致该动物模型失败。这 2 种方法在抽取出脑脊液时负压不能大, 保持约 10 ml/min。

实验中采用侧脑室穿刺与枕大孔穿刺 2 种方法

采集脑脊液, 虽可多次穿刺留取脑脊液, 但结果可能因反复的损伤而影响实验结果的准确性, 若实验需反复留取脑脊液样品且无特殊要求, 2 种方法均可进行置管。近年来发展的如微局推挽灌流技术, 已广泛用在中枢神经系统的研究中, 但经枕大孔法置管同直接留取脑脊液标本一样仍具有其优越性。另外, 在无特殊要求、不影响实验结果的情况下, 脑室内给药亦可考虑经枕大孔穿刺给药, 它同留取脑脊液一样较经侧脑室法具有很大的优越性。在临床实践中, 脑脊液标本采集或注药一般情况下不可能通过脑室穿刺, 而是通过腰椎穿刺达到目的, 因此经枕大孔法对临床更有实际指导意义。

综上所述, 对于脑脊液标本的留取, 2 种方法相比, 经枕大孔法简单易行, 损伤小, 并发症少, 成功率高, 优于经侧脑室法, 为实验的顺利进行提供了保障。

参考文献:

- [1] Paxinos G, Watson C. The rat brain in Stereotaxic Coordinates[M]. Second ed. Australia North Ryde: Academic Press, 1986. 21.
- [2] Lai YL, Smith PM, Lamm WJ, et al. Sampling and analysis of cerebrospinal fluid for chronic studies in awake rats[J]. J Appl Physiol, 1983, 54(6): 1754-1757.

收稿日期: 2005-03-10 修回日期: 2005-05-11

本文编辑: 孙立杰

不稳定型心绞痛患者氧化低密度脂蛋白自身抗体 及高敏 C 反应蛋白升高的意义^{*}

袁志华, 陈清枝, 李东野, 夏 勇, 徐瑞金, 阮宏云

(徐州医学院附属医院心内科, 江苏 徐州 221002)

摘要:目的 探讨血清氧化型低密度脂蛋白自身抗体(Ab-ox-LDL)及高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)水平与冠心病患者病变稳定性及病变程度的关系。方法 根据临床诊断标准和冠状动脉造影检查结果, 将 79 名患者分为对照组、不稳定型心绞痛组和稳定型心绞痛组 3 组, 采用 ELISA 法测定血清 Ab-ox-LDL 浓度。结果 不稳定型心绞痛组血清 Ab-ox-LDL 及 hs-CRP 水平明显高于稳定性心绞痛和对照组($P < 0.01$), 稳定型心绞痛组 Ab-ox-LDL 及 hs-CRP 水平高于对照组($P < 0.01$); Ab-ox-LDL 和 hs-CRP 在对照组无相关性($r = 0.302$, $P > 0.05$), 在冠心病组呈高度正相关($r = 0.706$, $P < 0.01$); 在冠心病组, Ab-ox-LDL 与 Gensini 积分呈低度相关($r = 0.362$, $P < 0.05$); Logistic 回归分析发现血清 Ab-ox-LDL 及 hs-CRP 水平与不稳定型心绞痛呈正相关。结论 血清 Ab-ox-LDL 及 hs-CRP 水平不仅反映冠心病患者病变的严重程度, 而且可以评价冠心病斑块的稳定性, 二者在冠状动脉硬化进程中可能起着重要的作用。

关键词: 低密度脂蛋白; 自身抗体; 冠状动脉疾病; C 反应蛋白

中图分类号: R541.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-2065(2005)04-0319-04

^{*} 作者简介: 袁志华(1973-), 男, 安徽亳州人, 住院医师, 硕士, 现在安徽省蚌埠市中心医院。