doi:10.11659/jjssx.09E016077

·基础研究·

小鼠食管和气管 pH 值的测定与比较研究

滕 根,冯志鹏,陈 实,刘昱成,陈镜宇,罗怀青 (长沙医学院生理学教研室,湖南 长沙 410219)

[摘 要] **目的** 探测小鼠食管与气管不同位置 pH 值的大小,并进行对比研究。**方法** 将 40 只清洁级昆明小鼠随机分为 2 组,分别测定食管(食管组)与气管(气管组)的 pH 值。2 组小鼠实验前禁食 12 h。将 2 组小鼠解剖并分别分离出食管和气管,距离小鼠中切牙 0.3 cm、0.5 cm、0.7 cm 做倒"T"切口,利用敏感级精细 pH 试纸进行测定,记录各组数据并进行整理分析。**结果** 所有小鼠均测定成功,在距离中切片 0.3 cm,0.5 cm 和 0.7 cm 处,食管组的 pH 值分别为(6.10±0.17)、(5.84±0.11)、(5.44±0.11),气管组分别为(7.44±0.11)、(7.19±0.11)、(6.97±0.07)。同距离 2 组数据差异具有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 食管和气管的 pH 值存在差异,不同段的 pH 值也具有差异性,这为利用 pH 值辨别食管气管的新型小鼠灌胃器的设计提供了理论基础。

[关键词] 灌胃器;小鼠;pH 值;食管;气管

[中图分类号] R33-33 [文献标识码] A [收稿日期] 2016-09-26

Determination and comparative study on pH of esophagus and trachea in mice

TENG Gen, FENG Zhi-peng, CHEN Shi, LIU Yu-cheng, CHEN Jing-yu, LUO Huai-qing (Department of Physiology, Changsha Medical University, Changsha Hunan 410219, China)

Abstract: Objective To detect and compare the pH value of different locations in esophagus and trachea of mice. **Methods** 40 male Kunming mice of clean grade were randomly divided into two groups, of which the esophagus (esophageal group) and trachea (windpipe group) were measured, before the experiment two groups kept 12 hours abrosia. The esophagus and trachea of the rats in two groups were dissected and separated out, the distance from the central incisors were 0.3 cm, 0.5 cm, 0.7 cm, the incision was like 'T'. The sensitive grade of pH test paper was used for the determination, and the data was recorded in each group and analyzed. **Results** All the mice were measured successfully. The pH of the esophagus group were (6.10±0.17), (5.84±0.11), (5.44±0.11), and the pH value of the trachea group were (7.44±0.11), (7.19±0.11), (6.97±0.07), respectively. There was a significant difference in the same segment between the two groups ($P<0.05$). **Conclusion** The results showed that the differences in the pH values of trachea and esophagus and the pH values of different

[基金项目] 国家级大学生创新创业训练计划项目(201510823004)

[通信作者] 罗怀青,E-mail:luohuaiqing@163.com

Bone Miner Res, 2010, 25(7): 1468-1486. doi: 10.1002/jbmr.141.

[11] Wang J, Zhou B, Liu XS, et al. Trabecular plates and rods determine elastic modulus and yield strength of human trabecular bone[J]. Bone, 2015, 72: 71-80. doi: 10.1016/j.bone.2014.11.006.

[12] 温鑫鑫,严亚波,徐 超,等. 人体颈椎松质骨显微结构和力学性能的区域性差异研究[J]. 现代生物医学进展,2016,16(2):212-217. doi:10.13241/j.cnki.pmb.2016.02.004.

[13] Tofuku K, Koga H, Komiya S. Cervical pedicle screw insertion using a gutter entry point at the transitional area between the lateral mass and lamina[J]. Eur Spine J, 2012, 21(2): 353-358. doi: 10.1007/s00586-011-1969-1.

[14] 杨 兰,郑雷蕾,陈 杨,等. 基于 Micro-CT 的 2 型糖尿病大鼠骨骼特点的研究[J]. 四川大学学报(医学版),2016,47(5):727-731. doi: 10.13464/j.scuxbyxb.2016.05.020.

[15] 温鑫鑫,雷 伟,王法琪,等. 松质骨显微结构参数与表观力学强度关系研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志,2014,20(12):1495-1500. doi:10.3969/j.issn.1006-7108.2014.12.027.

[16] 王振锋,李志军,李筱贺,等. CT 三维重建青少年胸椎椎弓根断面测量的解剖学研究[J]. 中国临床解剖学杂志,2011,29(2):193-196. doi:10.13418/j.issn.1001-165x.2011.02.030.

[17] Li MJ, Dai GQ, Wang D, et al. Anatomical and biomechanical analysis of sacral pedicle and lateral mass[J]. Chin J Traumatol, 2011, 14(1): 29-35. doi:10.3760/cma.j.issn.1008-1275.2011.01.006.

[18] 张 迪,金东春,周 聪,等. 应用 Micro CT 骨组织微细解剖学分析[J]. 安徽医科大学学报,2012,47(7):859-860. doi:10.3969/j.issn.1000-1492.2012.07.028.

[19] 李治国. 颈椎椎弓根形态个体化术前应用 CT 测量评价的临床意义[J]. 中国 CT 和 MRI 杂志,2016,14(6):130-132. doi:10.3969/j.issn.1672-5131.2016.06.042.

[20] 姜良海,谭明生,董 亮,等. 标杆型 3D 打印导板辅助寰枢椎椎弓根置钉准确度分析[J]. 脊柱外科杂志,2016,14(4):205-210. doi:10.3969/j.issn.1672-2975.2016.04.005.

[21] 臧法智,陈华江,王建喜,等. 钽涂层椎弓根螺钉的研制与初步动物实验研究[J]. 颈腰痛杂志,2016,37(2):85-88. doi:10.3969/j.issn.1005-7234.2016.02.004.

(编辑:魏 源)

segments,which provides a theoretical basis for the design of model mice by intragastric administration of pH to identify the value of trachea and esophagus.

Keywords: gastric lavage device;mice;pH;esophagus;trachea

鼠类是实验研究领域常用的动物种类,而在鼠类的实验中,我们常常会使用灌胃这一技术[1]。灌胃作为一种常用的动物实验技术,广泛应用于化学药物、有毒有害物质的经口毒理学评价。而在灌胃的过程中,我们常常会因为无法准确辨别小鼠食管和气管而把药物灌到气管里,这可能引起鼠类动物机体的一系列病理生理变化,甚至会导致动物很快死亡而使实验失败。本研究对小鼠的食管和气管的 pH 值是否存在差异进行了实验测定,旨在探索能否通过利用 pH 值的不同,寻找一种新的灌胃方法或者研究出一种新的灌胃工具。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选取健康成年昆明小鼠 40 只,雌雄各半,体质量平均为(25 ±5)g,购于长沙市天勤生物技术有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(湘)2014-2011。饲养于长沙医学院动物实验中心,温度 20 ~24 ℃,湿度 40% ~60%,实验前经检查每只小鼠活动正常,健康状况良好。40 只小鼠按随机数字表法分为 2 组,分别为食管组和气管组,每组 20 只。每日喂养动物实验中心的主食 3 次,辅以适量的冷开水,喂养 1 周,在实验前 12 h 禁食处理。

1.2 药品

麻醉药物:2.5% 水合氯醛(使用 10% 水溶液制剂经长沙医学院机能实验室稀释制成)。测量试纸:精确度为 0.25 ~0.5 的 pH 敏感级精确试纸(泰州市奥克滤纸厂,批次:20150512)。

1.3 方法

每只小鼠实验前注射 0.2 mL 水合氯醛,待小鼠进入麻醉状态后,将小鼠固定于解剖台上,用眼科剪剪开小鼠颈部皮肤,用玻璃分针分开小鼠的食管和气管,然后在分针上用丝线绑住剪成固定形状的 pH 试纸。分别在小鼠的食管和气管距中切牙 0.3 cm、0.5 cm、0.7 cm处用眼科剪剪一个倒“T”的创口,将敏感试纸伸入小鼠食管和气管进行测定,记录各组数据。

1.4 统计学分析

应用 SPSS 22.0 进行统计分析,2 组 pH 值的比较采用两独立样本 t 检验,检验水准 $\alpha = 0.05$,$P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

小鼠食管组与气管组的 pH 值测量及对比结果见图 1 ~3。由图及数据可知,小鼠食管和气管可根据其测量位置距中切牙的距离所对应的 pH 值有所不同。同时,食管或者气管本身对于不同位置的 pH 值也存在差异。距离中切牙相同距离的 2 组 pH 值进行对比,计算所得分别为 0.3 cm 处食管 pH 值为(6.10 ±0.17),气管 pH 值为(7.44 ±0.11),二者比较差异具有统计学意义(t_1 = 210.31,P <0.001);0.5 cm 处食管 pH 值为(5.84 ±0.11),气管 pH 值为(7.19 ±0.11),二者比较差异具有统计学意义(t_2 = 74.46,P <0.001);0.7 cm 处食管 pH 值为(5.44 ±0.11),气管 pH 值为(6.97 ±0.07),二者比较差异具有统计学意义(t_3 = 95.54,P <0.001)。结果显示,不同位置的 pH 值差异具有统计学意义(P <0.05)。

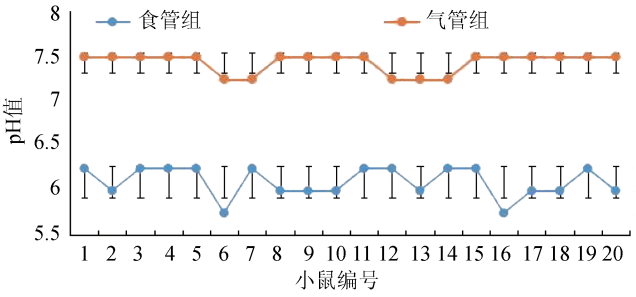


图 1 2 组距中切牙 0.3 cm 处 pH 值测量结果

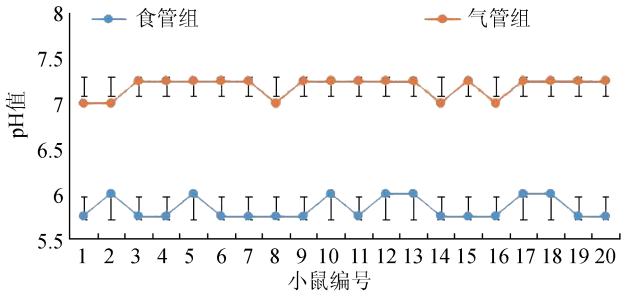


图 2 2 组距中切牙 0.5 cm 处 pH 值测量结果

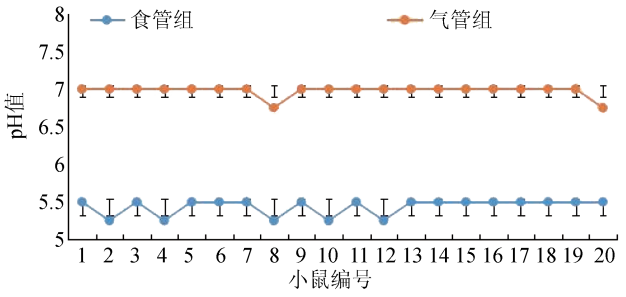


图 3 2 组距中切牙 0.7 cm 处 pH 值测量结果

3 讨论

小鼠是科研活动中常用到的实验对象。灌胃和口服是啮齿类动物实验研究中主要的经口给药方法[2-3],在不同的给药方法上,灌胃与其他方法比较,其优势是确保在精准给药的条件下使药物快速达到吸收峰值[4-5]。但目前发现,如果灌胃过程中出现问题,轻者会导致实验结果产生误差,重者可能会导致小鼠死亡。买文丽等[6]的研究表明,操作者灌胃的熟练度和所用时间会明显减少小鼠的自主活动能力。唐选[7]的研究表明,酒精灌胃的成功率对于有氧运动后小鼠肝功能、MDA、IL-10 等指标也有一定的影响。另有研究报道,新式的灌胃方法能够明显提高灌胃的成功率,从而减少实验误差[8]。另外,在传统灌胃器的基础上作出适当的改进也可以提高灌胃的成功率。晋乐飞等[9]对针头进行了改造,调整了针头弯曲的程度,制作材料为聚丙烯制品,易弯曲、柔韧度强,灌胃成功率得到提高。姜骊等[10]针对大鼠的灌胃方法做出了改进,消除了导致屈伸和摇摆的不良条件反射,提高了灌胃的成功率,但是不能在小鼠上实践。传统的灌胃方式和灌胃仪器的选择可能是导致实验产生误差的重要原因;如果对现有的灌胃仪器作出改进,可以提高灌胃的成功率,减少实验的误差。故我们可以对传统的灌胃器作出改进,一定程度上可保证实验的质量,控制实验的系统误差。

目前对灌胃器的改进主要集中在针头方面。因为传统的灌胃器对小鼠的口腔壁和咽喉壁会造成损伤,严重者误入气管造成小鼠死亡。所以,有研究从针头的角度进行了改造,其材料为聚丙烯的塑料制品,有弹性、易弯曲、柔韧度强[11]。国内有学者选用医用硅胶、ABS 塑料和聚乙烯管制备了一次性小鼠灌胃器,其取材相对较难[12-13]。有研究表明单独用聚乙烯管来代替灌胃针[14],其材料相对来说获得方便且较软,避免了对小鼠的机械性损伤。国内有学者设计了折弯式灌胃针,在其外壁上还有刻度线,在灌胃针的端部设有保护球头,避免损伤小鼠的食道[15-16]。

在以往的研究中,还没有对小鼠的食管与气管的 pH 值进行很好的测量研究。本研究主要是为笔者发明新型小鼠灌胃器提供理论依据与技术支持。本研究中,笔者对小鼠食管和气管 pH 值进行了测量,填补了这一领域的空白,并希望能够通过不同 pH 值来研究一种利用迷你 pH 计进行检测的新型小鼠灌胃器。从统计结果可以看出,小鼠的食管和气管的 pH 值确实存在差异且具有统计学意义。因此,这对于设计新的灌胃器以及新的灌胃方法提供了新的思路以及奠定了一定的理论基础。本研究的成功实践,也为大鼠、豚鼠以及家兔的灌胃器材的改良找到了思路,有利于本方法在其他实验动物灌胃上的推广。

虽然我们使用的是精度为 0.25 ~ 0.5 的 pH 试纸,但从结果来看我们的 pH 值还不够精确。此外,由于在测量的过程中切口的位置有一定的浮动性,所以我们还需要考虑是否食管和气管不同段的 pH 值存在差异,虽然其对小鼠、大鼠针头进行了一定程度的改进,其在一定程度上有利于防止对口腔壁和咽喉壁的损伤,但是没有完全避免误入气管,所以还有待进一步改善。这些问题都值得在今后的研究中去一一探索与解决。

[参考文献]

[1] 戴支凯. 大鼠及小鼠灌胃给药方法探讨[J]. 现代医药卫生,2015,31(11):1738 - 1739. doi:10.3969/j.issn.1009 - 5519.2015.11.057.

[2] 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. doi:10.3969/j.issn.1006 - 1959.2013.06.444.

[3] 吴翠萍,李 彦,卜 文,等. 哺乳期大鼠灌胃给药技术方法探讨[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2013,27(3):540.

[4] Hoggatt AF,Hoggatt J,Honerlaw M,et al. A spoonful of sugar helps the medicine go down:a novel technique to improve oral gavage in mice[J]. J Am Assoc Lab Anim Sci,2010,49(3):329.

[5] Vandenberg LN,Welshons WV,Saal FSV,et al. Should oral gavage be abandoned in toxicity testing of endocrine disruptors[J]. Environmental Health,2014,13(1):46. doi:10.1186/1476 - 069X - 13 - 46.

[6] 买文丽,刘 华,刘行海,等. 灌胃和腹腔注射刺激随时间变化对小鼠自主活动的影响[J]. 辽宁中医药大学学报,2011(9):201 - 202. doi:10.13194/j.jlunivtcm.2011.09.203.maiwl.084.

[7] 唐 选. 有氧运动预干预对酒精灌胃小鼠肝功能、MDA、IL-10 等指标的影响[D]. 开封:河南大学,2011. doi:10.7666/d.d145636.

[8] 袁普卫,王 淞,张 东,等. 豚鼠灌胃方法新改进[J]. 医学动物防制,2014(12):1368 - 1369. doi:10. 7629/yxdwfz201412020.

[9] 晋乐飞,段书音,吴卫东,等. 新型小鼠灌胃器的建立与效果评价[J]. 郑州大学学报(医学版),2016,51(1):108 - 111. doi:10.13705/j.issn.1671 - 6825.2016.01.028.

[10] 姜 骊,陈 辉,何 勇. 一种新的大鼠灌胃方法——侧抓灌胃法[J]. 实验动物科学,2011,28(6):62 - 63. doi:10.3969/j.issn.1006 - 6179.2011.06.017.

[11] 侯春梅,张及禄,魏应林,等. 两种小鼠一次性灌胃器性能比较[J]. 军事医学科学院院刊,2010,34(5):495. doi:10.3969/j.issn.1674 - 9960.2010.05.025.

[12] 沈连忠. 一次性使用灌胃器[P]. 中国专利:201220210615.3.2012 - 11 - 21.

[13] 李淑云. 简易大鼠灌胃器的制作[J]. 锦州医学院学报,2001,22(4):32.

[14] 晋乐飞,段书音,吴卫东,等. 新型小鼠灌胃器的建立与效果评价[J]. 郑州大学学报(医学版),2016,51(1):108 - 111. doi:10.13705/j.issn.1671 - 6825.2016.01.028.

[15] 吴诩馨. 一种实验鼠用灌胃器[P]. 中国专利:201320724831.4.2014 - 6 - 11.

[16] 方远书,何忠平,裘颖儿. 实验小鼠的灌胃给药技巧[J]. 山东畜牧兽医,2014(10):90. doi:10.3969/j.issn.1007 - 1733.2014.10.069.

(编辑:周小林)