动物实验中的采血途径与充许采血体积

一、血液采集一般知识

      对动物的终末和非终末采血技术（如麻醉，取血体积）是有区别的，终末采血指的是以动物死亡为实验结束时采血与在清醒动物身上单次或多次采血的情况是迥然不同的。

      在实验过程中减少动物的疼痛不安和获得预期实验结果一样重要。这不仅是 出于人道主义，而且也是良好科学实践所要求的内容。因某一特定采血技术给动 物带来的不安可能会使动物产生应激，而伴随应激反应出现的许多生化和生理上 的改变会影响实验结果，如血中儿茶酚胺类、催乳素和糖皮质激素的升高会影响 葡萄糖、红细胞数、白细胞数和细胞压积等一些代谢参数。所以如果不能完全排 除应激，那么也应将应激降至最小程度。这不只是为动物考虑，也是为获得良好 的科学数据。在非终末采血中，不要抽血太多，因为取血过多会减少总血量而导 致错误结果。总血量的减少会使血红蛋白含量、氧转运能力和血压下降，同时使 应激相关激素浓度升高，也可能进一步诱发其他变化，如胃粘膜坏死等。

      非终末采血可分为单次和多次采血，单次采血量低于动物总血量的15%对动 物不会有明显影响。然而，若取血量为总血量的15%~20%时，则会出现心排血 量或血压降低。取总血量的30%~40% 会引起缺血性休克。若取血达40%可引 起约50%的猪和大鼠死亡。

      单次采血不超过动物总血量的15%时，可在3~4周后重复采血。长期多次采 血每24h不应超过总血量的1%(0.6 ml/kg/d)。采集次数和(或)采血量过多则引 起贫血。

      对大、小鼠如采血量不超过0.1 ml 时，常用尾尖采血法。眼眶静脉丛穿刺通 常适用于无尾动物如仓鼠。当尾静脉不能满足较大的采血量时，大、小鼠也可用 此技术。一般要求在麻醉下操作。只有当没有别的方法的特殊情况下，2周后才 能考虑在已恢复正常的动物的眼眶静脉丛再次取血。这项技术应由训练良好的工 作人员来操作，而且只能用动物的一只眼睛。不赞成在无麻醉条件下，用眼球摘 除法取血。

      在毒代动力学研究中，大鼠采血可采用:尾静脉、趾脉管系、全麻下心脏穿 刺、全麻下颈外静脉和颈总动脉插管。

      兔和豚鼠可用耳缘静脉、颈静脉或隐静脉。较大动物的采血可从浅表静脉进 行(隐静脉、头静脉、颈静脉)

二、循环血量

      血液总量取决于物种、性别、年龄、健康及营养状况。对于同一种物种，较 大动物单位体重的总血量比较小的动物要少，老龄和肥胖动物单位体重含总血量 少于年轻和正常体重的动物。一般情况下，总循环血量为55~77 ml/kg 体重。

      采血量的最大限值的计算，主要依赖于关于循环血量的精确数据。文献综 述表明循环血量的数值有很大的差异，或许这可归因于所用的采血方法、动物 品系和性别等方面的差别。

      表 3 中给出了安全性评价研究中常用的不同种属动物的循环血量，以及在 毒理学研究中极为常用的狨猴和小型猪的数据。所列数值来源不同，但均为成年、健康和处于适当营养水平的动物。

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 种属 | 血量(ml/kg) | |
| 推荐均数 | 数值范围 |
| 小鼠 | 72 | 63-80 |
| 大鼠 | 64 | 58-70 |
| 家兔 | 56 | 44-70 |
| 狗(Beagle) | 85 | 79-90 |
| 猴(恒河猴) | 56 | 44-67 |
| 猴(短尾猴) | 65 | 55-75 |
| 狨猴 | 70 | 58-82 |
| 小型猪 | 65 | 61-68 |

三、采血量

      当采血量接近最大限值时，实验动物的权益问题是首先应考虑的问题，但 动物生理反应对研究结果的影响必须同时加以考虑。因为它可能会影响数据的 分析和数据的正确性。采样前动物的临床症状，也是决定采血量的前提。

      Scipioni 等(1997)的工作表明在 24 小时内采血量达到大鼠总血量的 40% 且 2 周后重复，大体上看不出会有不良影响。总之，关于动物采血后健康状况 的关键性指标如心率、呼吸、激素水平及行为学改变的数据不多，而这些指标 或许会在采血时发生变化以适应过度的采血。但要在采血时研究这些指标的变 化将需要付出极大的人力和物力。然而，血液学参数是很容易测定的。

      在一个小型的科研项目中，摸拟药动采血过程，对于体重 250g 左右的的雄 性及雌性 Sprague Dawley 大鼠，每次采血 0.3 ml，24 小时内采占循环血量 7.5%， 11%，15%及 20%的血量, 测定了采血前后的红细胞计数(RBC)，血红蛋白浓 度(HB)，红细胞压积(HCT)，红细胞平均容积(MCV)及红细胞分布范围 (RDW)。其后对动物进行了 29 天的观察.

      结果表明，这些参数回到基线水平所用的时间相当不同，在 15%~20%的实 验组，一些参数(MCV，RDW)在 29 天后仍旧没有回到基线水平。本文推荐 的多次取样后的恢复时间，是所有大鼠采血后血量均恢复至采血前的“正常” 水平加减 10%的时间。单次取样(诸如要求进行常规毒理研究)推荐不超过 15%， 因超过 15%且抽血不是很缓慢的话，可能引起低血容量性休克。而多次少量取样则不会产生这样的急性反应。毒理实验中血液学指标的变化非常重要，多次 采血会对这些指标发生影响，应特别注意多次采血后的恢复时间

表 4:最大采血体积及恢复时间

      然而，药动学研究时大量采血(如 20%)会引起血液动力学变化，或许会对 半衰期等参数产生影响。如果在 24 小时内处死动物，可以评价消除半衰期。暂 不认同补充血量的方法。

参考表 4 的数值，表 5 列出了对动物的正常生理功能没有明显干扰的采血体积。

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 一次采血(如毒性研究) | | | | 多次采血(如毒代动力学研究) | | | |
| 采血量占循环血量的  % | | 大致的恢复时间 | | 24 小时内采血量占 循环血量的% | | 大致的恢复时间 | |
| 7.5% | | 1 week | | 7.5% | | 1 week | |
| 10% | | 2 week | | 10-15% | | 2 week | |
| 15% | | 4 week | | 20% | | 3 week | |
| 种属(重量) | 血液体积  (ml) | | 7.5% (ml) | 10% (ml) | 15% (ml) | | 20% (ml) |
| 小鼠(25 g) | 1.8 | | 0.1 | 0.2 | 0.3 | | 0.4 |
| 大鼠(250 g) | 16 | | 1.2 | 1.6 | 2.4 | | 3.2 |
| 兔(4kg) | 224 | | 17 | 22 | 34 | | 45 |
| 狗(10kg) | 850 | | 64 | 85 | 127 | | 170 |
| 猴(恒河猴)(5kg) | 280 | | 21 | 28 | 42 | | 56 |
| 猴(短尾猴)(5kg) | 325 | | 24 | 32 | 49 | | 65 |
| 狨猴(350 g) | 25 | | 2.0 | 2.5 | 3.5 | | 5 |
| 小型猪(15 kg) | 975 | | 73 | 98 | 146 | | 195 |