

## 研究报告

## 不同取血方法和动静脉血对 Wistar 大鼠生化指标的影响

曹丽歌<sup>1</sup>, 蒋雪云<sup>2</sup>, 田蜜<sup>1</sup>, 高丽芳<sup>1</sup>, 罗葵<sup>1</sup>, 薛冰<sup>1</sup>

(1. 首都医科大学医学实验与测试中心, 北京 100069;

2. 首都医科大学化学生物学与药学院, 北京 100069)

**摘要:**目的 观察断头取血与腹主动脉取血及腹主动脉血与腹主静脉血对 Wistar 大鼠生化指标的影响, 为毒理学试验中的取血方法和取血部位的选择提供依据和参考。方法 选择 Wistar 大鼠 80 只(雌/雄各 40 只), 按体质量随机分为断头取血组和腹主动/静脉取血组, 用全自动生化分析仪测定血清 TP、ALB、A/G、ALT、AST、BUN、CRE、CHO、TG、GLU 等指标。结果 两种取血方法在两种性别大鼠中, 上述测定指标均存在不同程度的差异: 两种性别大鼠断头取血组 A/G、CRE、TP、ALB、ALT、AST、CHO、TG 都高于腹主动脉组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); GLU 为断头组偏低, 雌性大鼠断头取血组 BUN 高于腹主动脉组, 两项指标均差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。动静脉取血产生的影响主要体现在 TG、GLU 等生化指标中, 两种性别大鼠腹主动脉组 TG 含量较低, 而 GLU 含量只有雄性大鼠腹主动脉组高于腹主静脉组, 两项指标均差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 不同的取血方法及动静脉血对 Wistar 大鼠的生化指标会产生明显的影响。

**关键词:** Wistar 大鼠; 腹主动脉; 生化分析仪; 生化指标; 取血

中图分类号: R155; Q955 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2016)01-0044-04

DOI: 10.13590/j.cjfh.2016.01.010

### Influence of different blood sampling methods and the difference of arterial blood and venous blood samples on biochemical indicators in Wistar rat

CAO Li-ge, JIANG Xue-yun, TIAN Mi, GAO Li-fang, LUO Kui, XUE Bing

(Medical Experiment and Test Center, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

**Abstract: Objective** To investigate the difference of biochemical indicators between decapitated blood, abdominal aortic blood and abdominal venous blood on in Wistar rat, and to provide the basis and reference of blood sampling method for toxicology tests. **Methods** 40 male and 40 female Wistar rat were divided into decapitated blood group and abdominal aortic/venous blood group. Serum parameters of TP, ALB, A/G, ALT, AST, BUN, CRE, CHO, TG, GLU were detected by automatic biochemical analyzer. **Results** All parameters were differences between these two blood sampling methods in two kinds of gender. The broken blood group in TP, ALB, A/G (female  $P < 0.05$ ), ALT, AST, CRE (female  $P < 0.05$ ), CHO, TG exceed the abdominal aortic blood group obviously on two sex ( $P < 0.05$ ), lower glucose in the broken blood group ( $P < 0.05$ ), BUN in the broken blood group exceed abdominal aortic blood group on female ( $P < 0.05$ ). Influences of aortic blood and venous blood embedded in serum parameters of TG, GLU, TG in the abdominal aortic blood group was lower on two sex ( $P < 0.05$ ), GLU in the abdominal aortic blood group exceed the abdominal venous blood group obviously on male ( $P < 0.05$ ), no difference in female. **Conclusion** There are significant influences on biochemistry parameters between different blood sampling methods and arterial blood and venous blood in Wistar rat.

**Key words:** Wistar rat; abdominal aorta; automatic biochemical analyzer; biochemical indicators; drawing blood

毒理学研究无论在食品还是药品领域都是十分重要的, 临床生化检测又是其中必不可少的评价指标。许多临床生化指标性质上可能是短暂靶

器官系统损害的真正结果与特殊靶器官作用有关的生物化学指标<sup>[1]</sup>。因此生化检测结果的准确性对最终的评价结果具有重要意义。测定生化指标的影响因素多见于临床领域的报道<sup>[2]</sup>, 而在动物实验方面则鲜见报道。毒理学研究离不开实验动物, 大鼠是动物实验常用的动物之一, 可运用多种取血方法进行试验研究。本文选择了常见的两种取血方法, 即断头取血和麻醉后腹主动脉取血, 观

收稿日期: 2015-11-03

作者简介: 曹丽歌 女 主管技师 研究方向为食品毒理学和功能学评价 E-mail: caolige@sina.com

通信作者: 薛冰 女 主任技师 研究方向为仪器新功能的开发和新方法的建立 E-mail: xuebing\_bj@126.com

察不同取血方法下大鼠物质代谢、肝肾功能等常规生化指标的变化,同时探究不同取血部位血液,即腹主动脉血和腹主静脉血对生化指标的影响,为毒理学实验取血方法和取血部位的选择提供依据和参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 实验动物

健康 Wistar 大鼠(8 周龄)80 只(雌/雄各 40 只),体质量雄性为(286 ± 22) g,雌性为(210 ± 22) g;大鼠由维通利华实验动物技术有限公司提供[合格证号:SCXK(京)2012-0001];动物饲养场所由首都医科大学实验动物部提供[合格证号:SYXK(京)2010-0020],室内温度(22 ± 2) °C,相对湿度(50 ± 20)%;真空包装无菌饲料由北京科澳协力饲料有限公司提供[合格证号:SCXK(京)2014-0010]。

#### 1.1.2 主要仪器与试剂

7180 全自动生化分析仪(日本 HITACHI),一次性真空采血管(含分离胶)、一次性真空采血管配套用针均购自美国 BD。

罗氏诊断试剂(上海罗氏公司)、戊巴比妥钠(德国 Merk)、注射用生理盐水。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 试剂配制

将戊巴比妥钠临用前用无菌生理盐水配制成 3% 的溶液。总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、尿素氮(BUN)、肌酐(CRE)、总胆固醇(CHO)、甘油三酯(TG)、葡萄糖(GLU)以上试剂的配制均参照试剂说明书配置。

#### 1.2.2 实验动物处理

动物购入后,适应环境 3 d,雌/雄分开(各 40 只),按体质量随机分别分为两组,每组 20 只大鼠。将各组动物禁食(不禁水)12 h,将其中雌/雄各一组进行断头取血,另外 40 只进行腹腔注射 3% 1.0 ml/kg BW 戊巴比妥溶液麻醉,注射后采用仰卧位以翻正反射且无疼痛反应作为麻醉成功的标准。

将腹腔剖开,先找到腹主静脉,用一次性注射器取静脉血,再用一次性真空采血管取动脉血。取血后室温静置 1 h,3 000 r/min 离心 10 min,分离血清,待测指标。

#### 1.2.3 观察指标及测定方法

总蛋白、白蛋白、尿素氮、甘油三酯为比色法,谷丙转氨酶、谷草转氨酶为国际临床化学协会(IFCC)推荐的酶比色法,肌酐为苦味酸法,胆固醇为酶比色法,葡萄糖为己糖激酶比色法。

### 1.3 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计分析,进行 *t* 检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 断头取血和腹主动脉取血对大鼠生化指标的影响

断头取血组与腹主动脉取血组各指标比较,除 BUN 含量两组差异不明显外,雄性 Wistar 大鼠其余生化指标均差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。其中大部分指标(TP、ALB、A/G、ALT、AST、CRE、CHO、TG),断头取血组都高于腹主动脉取血组,而只有在葡萄糖(GLU)含量上,为断头取血组偏低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 1。

与腹主动脉取血组比较,断头取血组雌性大鼠血清中 TP、ALB、ALT、AST、CHO、TG、A/G、CRE 含量升高,均差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而 GLU、BUN 含量降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),GLU 含量降低与雄性大鼠结果一致,见表 2。

### 2.2 腹主动脉和腹主静脉对大鼠生化指标的影响

雄性大鼠腹主动脉血清中 TP、ALB 和 A/G 与腹主静脉组相比均差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),腹主动脉组的 TG 含量降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而 GLU 含量则高于腹主静脉组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 3。

腹主动脉组与腹主静脉组比较(见表 4),雌性大鼠腹主动脉血清中 TP、A/G 与腹主静脉组相比均差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),ALB 含量腹主动脉

表 1 雄性 Wistar 大鼠两种取血方法生化指标的比较( $\bar{x} \pm s, n = 20$ )

Table 1 Two blood sampling methods on biochemical indicators in male Wistar rat

| 取血方法    | TP<br>/(g/L)     | ALB<br>/(g/L)    | A/G              | ALT<br>/(U/L)   | AST<br>/(U/L)    |
|---------|------------------|------------------|------------------|-----------------|------------------|
| 断头取血组   | 62.02 ± 1.56     | 39.69 ± 1.12     | 1.78 ± 0.11      | 57.11 ± 5.87    | 172.07 ± 33.07   |
| 腹主动脉取血组 | 57.20 ± 1.65*    | 34.82 ± 1.28*    | 1.56 ± 0.13*     | 39.80 ± 4.53*   | 93.23 ± 8.53*    |
| 取血方法    | BUN<br>/(mmol/L) | CRE<br>/(μmol/L) | CHO<br>/(mmol/L) | TG<br>/(mmol/L) | GLU<br>/(mmol/L) |
| 断头取血组   | 4.97 ± 0.74      | 25.45 ± 2.01     | 2.20 ± 0.31      | 0.89 ± 0.23     | 5.69 ± 0.41      |
| 腹主动脉取血组 | 5.11 ± 0.77      | 22.45 ± 2.72*    | 1.86 ± 0.18*     | 0.53 ± 0.18*    | 7.72 ± 1.15*     |

注: \* 表示与断头取血组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )

表2 雌性 Wistar 大鼠两种取血方式生化指标的比较( $\bar{x} \pm s, n=20$ )

Table 2 Two blood sampling methods on biochemical indicators in female Wistar rat

| 取血方法    | TP            | ALB           | A/G          | ALT           | AST            |
|---------|---------------|---------------|--------------|---------------|----------------|
|         | /(g/L)        | /(g/L)        |              | /(U/L)        | /(U/L)         |
| 断头取血组   | 66.70 ± 2.40  | 43.91 ± 2.33  | 1.93 ± 0.14  | 51.09 ± 5.02  | 179.49 ± 18.21 |
| 腹主动脉取血组 | 58.54 ± 1.72* | 37.78 ± 1.20* | 1.83 ± 0.16* | 30.75 ± 4.77* | 89.37 ± 13.18* |
| 取血方法    | BUN           | CRE           | CHO          | TG            | GLU            |
|         | /(mmol/L)     | /(μmol/L)     | /(mmol/L)    | /(mmol/L)     | /(mmol/L)      |
| 断头取血组   | 6.05 ± 1.09   | 30.45 ± 4.86  | 1.96 ± 0.25  | 0.62 ± 0.18   | 5.74 ± 0.56    |
| 腹主动脉取血组 | 6.93 ± 1.10*  | 27.10 ± 4.38* | 1.48 ± 0.15* | 0.36 ± 0.14*  | 6.48 ± 0.43*   |

注: \*表示与断头取血组比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )表3 雄性 Wistar 大鼠腹主动/静脉血生化指标的比较( $\bar{x} \pm s, n=20$ )

Table 3 Arterial blood and venous blood on biochemical indicators in male Wistar rat

| 组别    | TP            | ALB           | A/G          | ALT          | AST          |
|-------|---------------|---------------|--------------|--------------|--------------|
|       | /(g/L)        | /(g/L)        |              | /(U/L)       | /(U/L)       |
| 腹主动脉组 | 57.20 ± 1.65  | 34.82 ± 1.28  | 1.56 ± 0.13  | 39.80 ± 4.53 | 93.23 ± 8.53 |
| 腹主静脉组 | 59.36 ± 2.22* | 33.07 ± 1.38* | 1.26 ± 0.10* | 43.03 ± 5.11 | 97.65 ± 8.85 |
| 组别    | BUN           | CRE           | CHO          | TG           | GLU          |
|       | /(mmol/L)     | /(μmol/L)     | /(mmol/L)    | /(mmol/L)    | /(mmol/L)    |
| 腹主动脉组 | 5.11 ± 0.77   | 22.45 ± 2.72  | 1.86 ± 0.18  | 0.53 ± 0.18  | 7.72 ± 1.15  |
| 腹主静脉组 | 4.75 ± 0.70   | 21.80 ± 2.65  | 1.98 ± 0.20  | 0.66 ± 0.20* | 6.23 ± 0.49* |

注: \*表示与腹主动脉组比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )表4 雌性 Wistar 大鼠腹主动/静脉血生化指标的比较( $\bar{x} \pm s, n=20$ )

Table 4 Arterial blood and venous blood on biochemical indicators in female Wistar rat

| 组别    | TP            | ALB           | A/G          | ALT          | AST           |
|-------|---------------|---------------|--------------|--------------|---------------|
|       | /(g/L)        | /(g/L)        |              | /(U/L)       | /(U/L)        |
| 腹主动脉组 | 58.54 ± 1.72  | 37.78 ± 1.20  | 1.83 ± 0.16  | 30.75 ± 4.77 | 89.37 ± 13.18 |
| 腹主静脉组 | 62.58 ± 2.31* | 36.50 ± 2.03* | 1.40 ± 0.14* | 33.66 ± 5.33 | 91.67 ± 9.55  |
| 组别    | BUN           | CRE           | CHO          | TG           | GLU           |
|       | /(mmol/L)     | /(μmol/L)     | /(mmol/L)    | /(mmol/L)    | /(mmol/L)     |
| 腹主动脉组 | 6.93 ± 1.10   | 27.10 ± 4.38  | 1.48 ± 0.15  | 0.36 ± 0.14  | 6.48 ± 0.43   |
| 腹主静脉组 | 6.54 ± 1.03   | 27.95 ± 3.79  | 1.53 ± 0.15  | 0.48 ± 0.15* | 6.25 ± 0.35   |

注: \*表示与腹主动脉组比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )

组略高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 与雄性大鼠的结果基本一致。腹主动脉组的甘油三酯(TG)含量略低于腹主静脉组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。但是葡萄糖(GLU)含量差别不明显。

### 3 讨论

为了充分说明问题, 得到更加可靠的研究结果, 考虑到大鼠性别因素对于生化指标的影响<sup>[3-4]</sup>, 故本试验采用雌/雄两个性别分别对两种取血方法和动静脉血对生化指标影响进行比较。经过生化仪的测定和对结果的统计, 发现两种取血方法的差异明显, 而动/静脉采血的差异主要体现在部分生化指标上。

从试验结果看, 除 BUN 含量在雌性比较中有不同外, 两种性别所检测的指标各自比较后均出现了明显的区别, 且数值趋向也一致, 故本文讨论上述取血方法影响因素时将结合雌雄两个性别一同讨论。先从两种取血方法得到的血液质量和成分分析, 断头取血多为动/静脉混合血, 有时还会混入组织液、动物的毛发等, 血液成分较复杂, 很容易产生

溶血。如果血液发生了溶血, 血液细胞内的高含量物质进入血清, 从而会导致其检测值升高<sup>[5]</sup>。而腹主动脉取血顾名思义得到的血液样本全部是动脉血, 成分单一, 可以避免溶血情况的发生。所以血液成分是否引发溶血可能是两种取血方法生化指标出现差异的一个因素。其次, 麻醉与应激的因素分析, 本试验腹主动脉取血选用的戊巴比妥钠是动物实验较常用的麻醉剂之一, 不同的麻醉药物可不同程度的引起大鼠静脉血血气、电解质及能量代谢产物的改变<sup>[6]</sup>。谭剑斌等<sup>[7]</sup>认为大鼠经戊巴比妥麻醉后血清 GLU 含量比麻醉前逐渐增高, 这和本试验的结果相符。断头取血可引起动物的应激反应, 过强的应激反应会引起机体一系列指标的变化, 甚至可能会对动物实验研究结果产生背景性干扰<sup>[8-9]</sup>, 这可能是两种取血方法引起大鼠生化指标差异另外的因素。

本试验结果表明动/静脉血生化指标的差异主要体现在 TP、ALB、A/G、TG 和 GLU 指标上, 其中虽然 TP、ALB 的检测结果与李勇等<sup>[10]</sup>的研究结果相近, 但结合历史数据来看, 在一种取血方法中两个

指标出现的差异也有出现,所以是否存在生物学意义还需要做进一步的研究。TG 和 GLU 则与严妍等<sup>[11]</sup>的试验结果不相符,这可能与取血的部位不同有关。雄性大鼠动脉血 GLU 浓度明显高于静脉血 GLU,可能是由于机体各组织对动脉血中 GLU 的利用而导致静脉血中 GLU 的减少,也不排除与血液循环中红细胞对 GLU 的酵解作用及血浆中存在的某些糖代谢的酶作用有关<sup>[12]</sup>。而雌性大鼠动/静脉血 GLU 浓度并无太大区别,两种性别 GLU 比较的结果不一致,是否存在性别比较差异,还需要进行重复试验、增加样本量等进一步的研究得出结论。

综上所述,不同的取血方法及动/静脉血对大鼠的生化指标会产生明显的影响,需要充分考虑血液质量、麻醉剂使用和应激反应等因素后,根据试验目的,结合自身试验条件,选择合适的方法和部位取血,从而得到可靠的研究结果。

## 参考文献

- [1] Shane C G. 药物安全性评价[M]. 北京:化学工业出版社,2006.
- [2] 鲍千红. 临床生化检验影响因素及对策[J]. 实验与检验医

学,2011,29(5):526-533.

- [3] 樊军,秦俊,刘春霞,等. 建立 Wistar 大鼠血液及生化指标正常参考值范围的探讨[J]. 公共卫生与预防医学,2010,21(6):50-52.
- [4] 蒋中仁,徐薇,金伟,等. SD 大鼠血液学指标、血生化指标及脏体比正常值范围探讨[J]. 预防医学情报杂志,2011,27(10):789-791.
- [5] 马丽,胡艳萍. 生化检验中血液标本的采集对结果的影响分析[J]. 吉林医学,2015,36(10):2019-2020.
- [6] 李连珍,刘小青,张倩,等. 雄性 SD 大鼠两种取血方法血清生化及内分泌系统指标变化比较[J]. 中华中医药学刊,2011,29(9):1984-1986.
- [7] 谭剑斌,陈瑞仪,胡帅尔. SD 大鼠麻醉后生化指标变化[J]. 中国比较医学杂志,2008,18(1):43-45
- [8] 吴剑平,范乃兵,鞠晓云,等. 2 种采血方法大鼠应激神经内分泌反应的比较研究[J]. 吉林中医药,2014,34(10):985-987.
- [9] Balcombe J P, Barnard N D, Sandusky C. Laboratory routines cause animal stress[J]. Lab Anim Sci,2004,43(6):42-51.
- [10] 李勇,那敏,曹倩倩,等. 大鼠动静脉血液常规临床指标的比较分析[C]//第二届中国药物毒理学年会,四川,2012.
- [11] 严妍,贾博宇,吴娟,等. 长毒试验中动物动-静脉血液生化指标的比较试验[J]. 畜牧兽医科技信息,2009(12):27-28.
- [12] 付晓. 动静脉血部分生化指标比较[J]. 检验医学与临床,2008,5(4):207-208.

## · 请示批复 ·

# 食品药品监管总局办公厅关于冷冻(速冻)肉制品有关问题的复函

食药监办食监一函[2015]790号

辽宁省食品药品监督管理局:

你局《关于冷冻(速冻)肉卷生产许可有关问题的请示》(辽食药监生[2015]44号)收悉。经研究,现函复如下:

一、你局请示中所述的“冷冻(速冻)肉卷”产品:以畜禽为主料,以调味品为辅料添加焦磷酸钠、三聚磷酸钠、碳酸氢钠、抗坏血酸钠、葡萄糖酸内酯、沙蒿胶多种复配食品添加剂并经过滚揉、腌制等加工过程,其已改变了冻肉的保水率、PH值、化学组成等化学性质,也改变了冻肉的色泽、粘度、气味等物理性质,因此,不符合《农业部 食品药品监管总局关于加强食用农产品质量安全监督管理工作的意见》(农质发[2014]14号)有关初级农产品的定义。根据上述加工工艺,该产品应属于《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》(GB 2760—2014)中附录 E 食品分类系统中的调理肉制品(生肉添加调味料)范畴。

二、按照《食品安全国家标准 预包装食品标签通则》(GB 7718—2011)中 4.1.2 的食品名称规定,上述食品不应以“冷冻(速冻)肉卷”易使消费者误解或混淆的食品名称命名,而应使用调理肉制品(生肉添加调味料)范畴的反映食品真实属性的名称。

三、请你局参照《肉制品生产许可审查细则(2006版)》对调理肉制品(生肉添加调味料)产品实施食品生产许可,严格执行《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》(GB 2760—2014)、《食品安全国家标准 预包装食品标签通则》(GB 7718—2011)。

(相关链接:<http://www.cfd.gov.cn/WS01/CL1201/137880.html>)

食品药品监管总局办公厅

二〇一五年十二月十一日