

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.22.007

改良颈静脉置管术在自身给药成瘾模型优化中的作用研究*

王佳晨¹ 李 洋² 王语涵³ 陈宇昆² 曲 亮² 景 达⁴ 葛顺楠^{2Δ}

(1 空军军医大学基础医学院四大队四中队 陕西 西安 710032; 2 空军军医大学唐都医院神经外科 陕西 西安 710038;

3 空军军医大学基础医学院三大队一中队 陕西 西安 710032; 4 空军军医大学生物医学工程系 陕西 西安 710032)

摘要 目的:探讨技术和方法的改进,提高动物颈静脉置管以及药物成瘾自身给药模型构建的成功率,为成瘾研究提供更稳定和高效率的建模方法。**方法:**对建立自身给药模型的传统颈静脉置管术进行改良,选取成年雄性 SD 大鼠 60 只,按照随机数字表法分为传统手术组(n=30)和改良手术组(n=30),分别完成颈静脉置管术后,按照随机数字表法,再将每组分为对照训练组(n=15)和成瘾训练组(n=15),构建大鼠自身给药模型,观察两组大鼠自身给药模型成功率。**结果:**大鼠的颈静脉置管手术可能出现的手术并发症主要包括堵管、漏管、感染甚至死亡等,最主要的并发症是漏管,占比最大。颈静脉置管传统手术组手术成功率为 43.33%± 3.333,颈静脉置管改良手术组手术成功率为 90.00%± 3.333,显著高于颈静脉置管传统手术组($P<0.05$)。两组成瘾训练组有效鼻触次数均分别明显高于其对照训练组($P<0.05$)。**结论:**大鼠改良后的颈静脉置管手术效果明显优于传统手术,颈静脉置管手术成功率明显提高。

关键词:药物成瘾;自身给药;动物模型;颈静脉置管术

中图分类号:R-33;R969.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)22-4233-07

The Role of Modified Jugular Vein Catheterization in the Optimization of Self-administration Model for Drug Addiction*

WANG Jia-chen¹, LI Yang², WANG Yu-han³, CHEN Yu-kun², QU Liang², JING Da⁴, GE Shun-nan^{2Δ}

(1 The 4th Battalion of the School of Basic Medical Sciences, Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

2 Department of Neurosurgery, Tangdu Hospital, Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710038, China;

3 The 3th Battalion of the School of Basic Medical Sciences, Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

4 Biomedical Engineering Department of Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To improve the success rate of animal jugular vein catheterization and self-administration model of drug addiction via probing the optimization of technique and method, and provide more stable and efficient modeling solutions for drug addiction research. **Methods:** The traditional jugular vein catheterization for constructing self-administration model was optimized, 60 adult male Sprague-Dawley rats were selected and divided into two groups by random number table method, including the traditional operation group (n=30) and the modified operation group (n=30). After completion of jugular vein catheterization, both groups of rats were individually divided into the control training group (n=15) and the addictive training group (n=15) in the same method. The success rate of jugular vein catheterization in self-administration model of rats were observed and analyzed. **Results:** The possible surgical complications of jugular vein catheterization for rats included catheter blocking, catheter leakage, infection and even death, and the catheter leakage acted as the most frequent type among all kinds of complications. The success rate of operation in traditional operation group was 43.33%± 3.333, which was significantly higher than that in traditional operation group (90.00%± 3.333, $P<0.05$). The effective nose poking times for both addiction training groups were significantly higher than those of the two control training groups respectively ($P<0.05$). **Conclusion:** The surgical efficacy of modified jugular vein catheterization for rats was significantly better than the traditional operation, the success rate of jugular vein catheterization operation was significantly enhanced.

Key words: Drug addiction; Self-administration; Animal model; Jugular vein catheterization

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R969.4 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)22-4233-07

前言

药物成瘾在我国俗称吸毒,是由于滥用药物而引起的一种

慢性反复发作性脑部疾病,其主要特征是强迫性使用药物,即失去控制地主动觅药和服药行为^[1],表现为成瘾者不顾严重恶性后果的强迫、不能自控地药物反复使用行为,对其身心造成

* 基金项目:国家自然科学基金青年项目(81401104);国家自然科学基金面上项目(81671366)

作者简介:王佳晨(1997-),男,本科,主要研究方向:神经工程,电话:15536253970, E-mail: 609123240@qq.com

Δ 通讯作者:葛顺楠,男,博士研究生,主治医师、讲师,主要研究方向:功能性脑疾病的机制与治疗研究, E-mail: gesn8561@fmmu.edu.cn

(收稿日期:2018-06-28 接受日期:2018-07-23)

极大的摧残,严重破坏其社会关系和人生角色,对社会治安与稳定亦构成极大威胁,并且成为艾滋病、肝炎等传染病的重要传播途径^[2]。

大量研究表明有关药物成瘾的基础研究,经典的药物成瘾动物模型主要包括两个:条件位置偏爱模型(Conditional Position Preference, CPP)^[3]和自身给药模型(Self-administration, SA)^[4]。其中,条件位置偏爱(CPP)模型操作相对比较简单、方便,但动物的个体差异性较大,模型动物的药物成瘾稳定性较差、可靠性较差;自身给药(SA)模型动物的个体差异性较小,药物成瘾稳定性较好、可靠性较好,但操作相对复杂、技术要求高^[5]。大鼠自身给药(SA)模型中,其难点在于整个训练过程中需要确保颈静脉通畅且无渗漏、感染等问题出现,其中最关键的技术是颈静脉置管术^[4]。

传统的颈静脉置管术缺陷较多,容易出现堵管、漏管、感染甚至死亡等问题,一旦出现以上问题,即宣告颈静脉置管术失败,进而影响下一步动物模型的构建甚至延缓整个实验的进程^[5]。针对以上问题,本实验在传统颈静脉置管材料和技术方面做了一些改进,研究对比改进方案的可行性以及有效性,以期提高动物颈静脉置管以及药物成瘾自身给药模型构建的成功率,为成瘾研究提供更稳定和高效的建模方案。

1 材料与方法

1.1 实验动物

本实验所选用的实验动物为成年雄性 Sprague-Dawley 大鼠,购自空军军医大学实验动物中心,体重为 350~400 g,动物饲养室温度保持在 22 ± 2 °C,湿度保持在 60%左右,所有大鼠均放在饲养笼中单独喂养。动物房安装有自动控制光源,设定控制系统,光照时间从早上七点至晚上七点。所有大鼠进行一周的饲养室适应性喂养之后,再开始正式的实验。

1.2 自身给药设备

自身给药箱由宁波 Anilab 公司生产,箱子大小为 40 cm×40 cm×50 cm,箱底为带有条形漏洞的底板(类似栅栏状),箱壁上有两个触鼻装置,左右各一,距离箱底 5 cm,当大鼠将鼻子探进鼻触开关时,系统可接收鼻触信号。箱壁上方为房灯(信号灯),另有蜂鸣器一枚。箱顶为一个杠杆,其上安装带有转轴连接的给药导管,导管外套有一根弹簧管,用以保护给药导管,导管上端通过液相转轴与注射泵相连,下端可与大鼠颈静脉植入导管装置相连。此外,箱顶带有摄像头,可以记录大鼠训练过程中的情况。

根据实验需要,编辑适当的实验方法(FR1)。当大鼠进行一次有效鼻触时,系统会泵入一次成瘾药物,并伴有信号灯(房灯)、声音(蜂鸣器)等环境线索的变化。每完成一次有效鼻触,系统立即进入不应期,时长为 20 s,在此期间,大鼠的触鼻行为(无效鼻触)也会被记录,但不会引发任何系统反应。有效不应期过后,系统就完成一次循环,进入下一个周期。而当大鼠进行对照鼻触时,系统只记录对照鼻触次数,不泵入药物以及不伴有灯光、声音等线索的变化。

1.3 颈静脉植入导管装置

1.3.1 传统的颈静脉植入导管装置 主要包括附带内孔的 M4 螺纹底座、L 型不锈钢导管、尼龙网片、硅胶管和 PE 管等部件。

其中,附带内孔的 M4 螺纹底座包括圆盘状的底座和圆柱状的柱体,其内部附带一个内孔,从柱体的上端贯穿至底座的下端;不锈钢导管为 L 型,其上端从附带内孔的 M4 螺纹底座穿出,其下端与 PE 管紧密连接;PE 管的长度约为 6 cm,其远端连接硅胶管,长度约 1.2 cm,PE 管与硅胶管连接处打一小结,起固定作用。尼龙网片设于底座的下方,用热塑胶密封连接;另一长约 1 cm 的 PE 管一端封闭,另一端嵌套在从穿孔穿出的不锈钢导管的上端,用以封闭不锈钢导管(PE 管套在不锈钢导管外面)^[6,7]。

1.3.2 改良的颈静脉植入导管装置 主要包括附带内孔的 M4 螺纹底座、L 型不锈钢导管、尼龙网片、硅胶管、定位钉和封闭用 PE 管等部件。其中,附带内孔的 M4 螺纹底座包括圆盘状的底座和圆柱状的柱体,其内部附带一个内孔,从柱体的上端贯穿至底座的下端;不锈钢导管为 L 型,其上端从附带内孔的 M4 螺纹底座穿出,其下端与硅胶管紧密连接;硅胶管的长度约为 10 cm,其远端开口为鱼嘴状;尼龙网片设于底座的下方,用热塑胶密封连接;定位钉套设在硅胶管上且可随硅胶管移动,用于调整颈静脉植入导管的固定位置;另一长约 1 cm 的 PE 管一端封闭,另一端嵌套在从穿孔穿出的不锈钢导管的上端,用以封闭不锈钢导管(PE 管套在不锈钢导管外面)(图 1)。

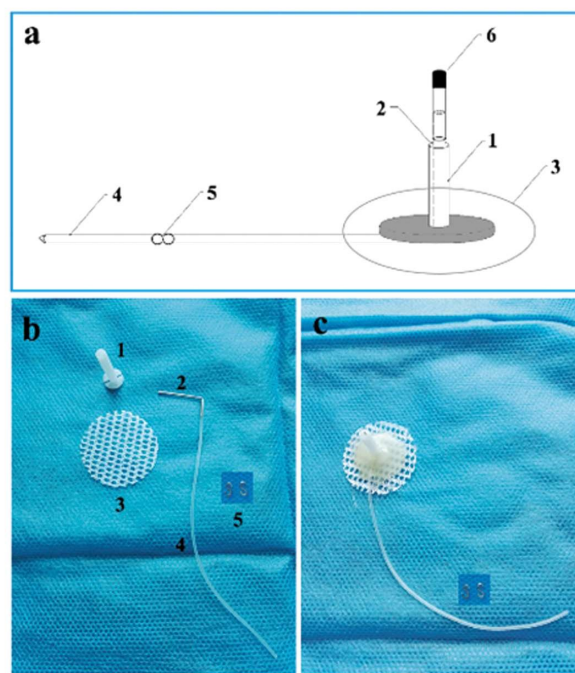


图 1 改良的颈静脉植入导管装置

Fig. 1 Modified jugular vein catheter

注:a 为示意图:1 附带内孔的 M4 螺纹底座;2 L 型不锈钢导管;3 尼龙网片;4 硅胶管;5 定位钉;6 封闭用 PE 管。b 为各组成元件实物图。c 为整体实物图。

Note: a is schematic diagram: 1, M4 screw base with inner bore; 2, L-type stainless steel catheter; 3, nylon mesh; 4, silicone tube; 5, locating pin; 6, blocking PE tube. b is pictures of real products for each component. C is the pictures of real products for the whole device.

1.4 药物

盐酸可卡因(Cocaine)粉剂(1 g/瓶)由青海制药厂生产,实验中将其溶于无菌生理盐水中,配制浓度为 8 mg/mL,由特定实验室工作人员妥善保管,常温避光保存。

1.5 颈静脉置管手术

在本研究中,将实验大鼠分成两组,分别按照不同的手术方案,进行手术。

1.5.1 传统的颈静脉置管手术方案^[6,8] 采用 10%水合氯醛(400 mg/kg, i.p.)麻醉,颈前部及背部肩胛区备皮、消毒。右侧颈部纵向切开长约 0.8 cm 的皮肤开口,钝性分离皮下组织、充分游离右侧颈静脉(颈总静脉)。背部肩胛区纵向切开长约 1 cm 的皮肤开口,适当分离皮下组织。利用皮下隧道针,将颈静脉植入导管从背部切口穿入颈部切口。在 PE 管与硅胶管连接处打一小结,起到标记和固定作用。颈静脉下横穿三根缝合线,其中一根结扎颈静脉远端,用 20 mL 注射器针头沿血管纵向刺入大鼠颈静脉,将植入导管插入颈静脉血管至小结处,另外两根缝合线将导管和近心端血管固定。随后将 PE 管与硅胶管连接处的小结固定于邻近皮下组织,以防止植入颈静脉的硅胶管脱出。双氧水充分冲洗颈前部及背部肩胛区切口,消毒、缝合切口,手术完成。颈静脉植入导管需要每天进行有效护理,即用含有肝素(10U/mL)和青霉素(20 万 IU/只)的生理盐水冲洗,以预防感染和防止导管堵塞。手术恢复一周方可进行下一步实验。

1.5.2 改良的颈静脉置管手术方案 采用 10%水合氯醛(400 mg/kg, i.p.)麻醉,颈前部及背部肩胛区备皮、消毒。右侧颈部纵向切开长约 0.8 cm 的皮肤开口,钝性分离皮下组织、充分游离右侧颈静脉(颈总静脉),暴露右侧颈内静脉与颈外静脉,颈内静脉与颈外静脉汇成颈总静脉处作为植入导管的参考标记点。背部肩胛区纵向切开长约 1 cm 的皮肤开口,适当分离皮下组织。利用皮下隧道针,将颈静脉植入导管从背部切口穿入颈部切口。适当调整颈静脉植入导管的位置,将定位钉套设在硅胶管上,适当调整颈静脉植入导管的松紧,结合皮下隧道长度,适当调整定位钉的固定位置,适当力度捏紧定位钉,裁剪硅胶管长度,使得定位钉到导管末端的距离约为 3.7 cm 左右(经多次解剖确认,此长度时,导管末端为上腔静脉汇入右心房处),然后,将其末端开口修剪成鱼嘴状。颈静脉下横穿三根缝合线,其中一根结扎颈静脉远端(颈内静脉与颈外静脉汇成颈总静脉处),然后在距此约 0.3 mm 处,用 20 mL 注射器针头沿血管纵向刺入大鼠颈静脉,将植入导管插入颈静脉血管至定位钉处,另外两根缝合线将导管和近心端血管固定。随后将定位钉固定于邻近皮下组织,以防止植入颈静脉的硅胶管脱出。双氧水充分冲洗颈前部及背部肩胛区切口,消毒、缝合切口,手术完成(图 2)。颈静脉植入导管需要每天进行有效护理,即用含有肝素(10 U/mL)和青霉素(20 万 IU/只)的生理盐水冲洗,以预防感染和防止导管堵塞。手术恢复一周方可进行下一步实验。

1.6 大鼠可卡因自身给药模型训练

经典的动物自身给药模型是研究药物成瘾的有效方法^[9,10]。大鼠颈静脉置管手术恢复 7 天后,即可开始进入自身给药训练阶段,通常需要以下几步:

(1) 编辑合适的实验训练方法:本实验采用固定比例为 1 (Fixed ratio, FR=1)的程序进行,即当大鼠进行一次有效鼻触(左鼻触, L Nose-poke)时,系统会泵入一次成瘾药物(可卡因, Cocaine, 8 mg/mL),泵速为 1.6 mL/min,注射时间为 1.25 s/次,并伴有信号灯(持续 20 s)、声音(持续 1 s)等线索的变化。每完成一次有效鼻触,系统立即进入不应期,时长为 20 s,在此期间,大

鼠的触鼻行为也会被记录,但不会引发任何系统反应。有效不应期过后,系统就完成一次循环,进入下一循环周期(注意:大鼠在不应期内触碰的左鼻触,为无效鼻触)。而当大鼠进行对照鼻触(右鼻触, R Nose-poke)时,系统只记录右鼻触次数,不泵入药物以及不伴有灯光、声音等线索的变化。每天训练 2 小时,分别记录大鼠的鼻触(有效鼻触、无效鼻触和对照鼻触)次数以及给药次数。

(2) 药物成瘾性训练(1-15 天):将正常饲养的大鼠放置到自身给药箱中进行药物成瘾性训练,即当大鼠进行一次有效鼻触时,泵入成瘾药物,并伴有灯光、声音等线索的变化。每天训练 2 小时,分别记录大鼠的鼻触(有效鼻触、无效鼻触和对照鼻触)次数以及给药次数(图 3)。

1.7 统计学分析

采用 GraphPad Prism 5 软件进行相关数据分析和处理,计量资料用均数 $\pm$ 标准误(Mean $\pm$ SEM)表示,检验方法采用独立样本 t 检验方法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 颈静脉置管手术研究结果

如表 1 所示,大鼠的颈静脉置管手术可能出现的手术并发症主要包括堵管、漏管、感染甚至死亡等,最主要的并发症是漏管,占比最大。颈静脉置管传统手术组(TO)手术成功率为 43.33% $\pm$ 3.333,颈静脉置管改良手术组(MO)手术成功率为 90.00% $\pm$ 3.333,显著高于颈静脉置管传统手术组($P < 0.05$),表明大鼠改良后的颈静脉置管手术效果明显优于传统手术,如图 4 所示。

2.2 大鼠自身给药行为学研究结果

经典的动物自身给药模型是研究药物成瘾的有效方法,本模型利用大鼠喜欢探索的习性,将大鼠放置到自身给药箱中进行训练,即当大鼠进行一次有效鼻触时,泵入成瘾药物,并伴有灯光、声音等线索的变化,每天训练 2 小时,分别记录大鼠的鼻触(有效鼻触、无效鼻触和对照鼻触)次数以及给药次数。在进行连续 2 周左右的训练后,大鼠的成瘾效果基本趋于稳定。

本实验中,将两组不同的颈静脉置管手术大鼠,再分别分成两组:对照训练组和成瘾训练组。大鼠自身给药行为学研究结果具体如下:

(1) 颈静脉置管传统手术组:成瘾训练组大鼠($n=7$),进行可卡因自身给药训练后,泵药次数(有效鼻触)次数明显增多,训练后期其有效鼻触次数达到一定的稳定值,取最后三天数据统计分析,有效鼻触次数为 20.19 $\pm$ 0.4176,而对照训练组($n=6$)大鼠有效鼻触次数为 1.667 $\pm$ 0.4984,明显低于成瘾训练组($P < 0.01$),表明传统训练组已有效建立可卡因自身给药模型(图 5 a₁、b₁、c₁)。

(2) 颈静脉置管改良手术组:成瘾训练组大鼠($n=14$),进行可卡因自身给药训练后,泵药次数(有效鼻触)次数明显增多,训练后期其有效鼻触次数达到一定的稳定值,取最后三天数据统计分析,有效鼻触次数为 22.60 $\pm$ 0.4649,而对照训练组($n=13$)大鼠,其有效鼻触次数为 1.103 $\pm$ 0.1413,明显低于成瘾训练组($P < 0.01$),表明传统训练组已有效建立可卡因自身给药模型(图 5 a₂、b₂、c₂)。

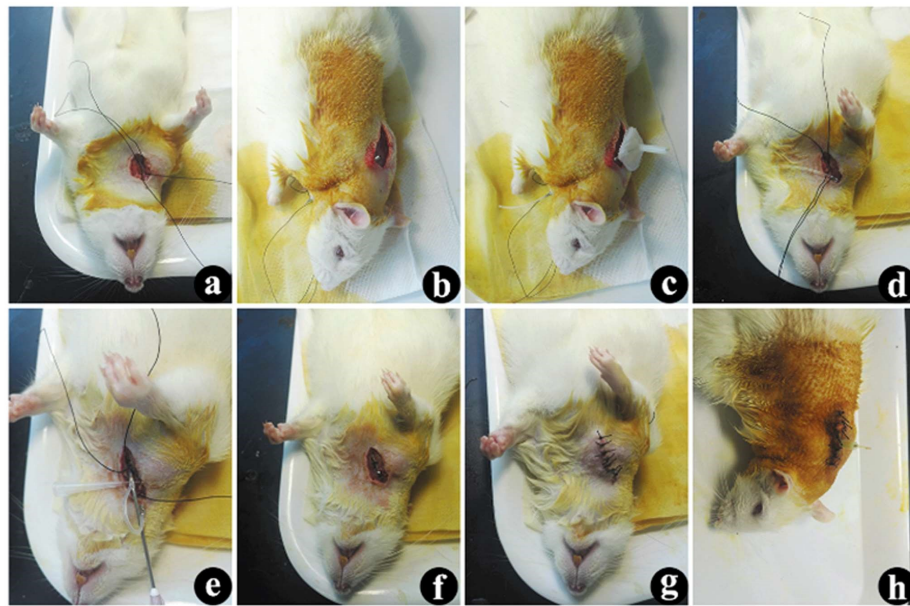


图 2 改良的颈静脉置管手术方案

Fig. 2 Modified jugular vein catheterization operation

注: a. 充分游离右侧颈静脉; b. 皮下隧道; c. 颈静脉植入导管从背部切口穿入颈部切口; d. 调整并固定定位钉; e. 用 20 mL 注射器针头沿血管纵向刺入大鼠颈静脉, 将植入导管插入颈静脉血管; f. 将导管和近心端血管固定; g. 缝合颈部切口; h. 缝合背部肩胛区切口。

Note: a. Extensively free the right jugular vein; b. subcutaneous tunnel; c. The catheter was pulled through the cervical incision via the dorsal incision and implanted into the jugular vein; d. regulate and fix the locating pin; e. Use 20mL syringe to inject into the rat's jugular vein following the vessel's longitudinal direction, then implant the catheter into the jugular vein; f. Fix the catheter onto the proximal part to the heart; g. Suture the cervical incision; h. Suture the dorsal and scapular incision.

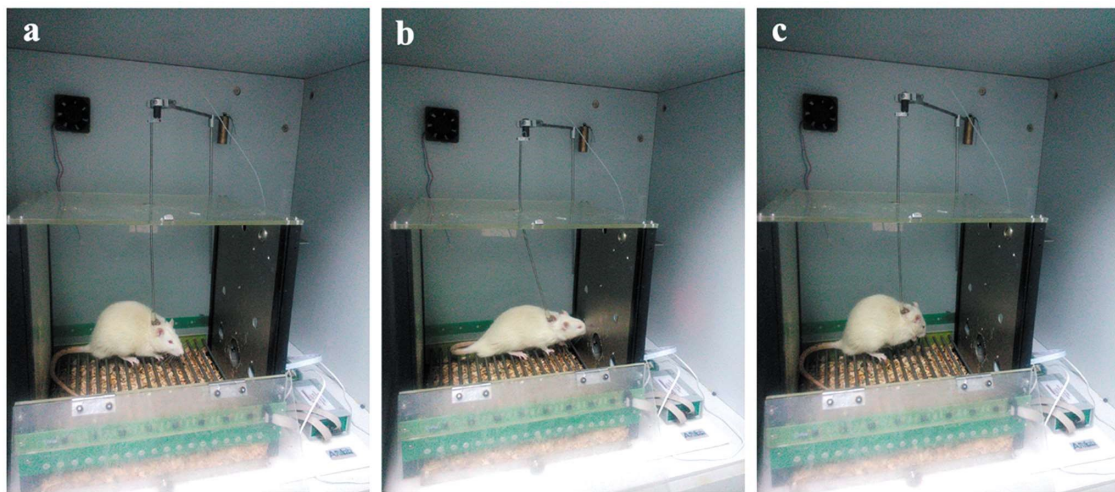


图 3 大鼠自身给药训练

Fig.3 Self-administration training for rats

注: 正常状态下的大鼠。b. 正在进行左鼻触的大鼠。c. 给药瞬间下的大鼠。

Note: a. Rat under the normal state; b. The rat conducting the left nose poking; c. The rat receiving the transient drug administration.

3 讨论

良好的动物模型是进行相关疾病发生发展具体机制研究的基础, 是进行科学研究, 尤其是基础研究的重要保障。在动物实验研究中, 自身给药模型被认为是研究动物觅药和药物渴求行为学最有效的模型之一^[10]。本模型的应用对象主要包括大鼠、非人类灵长类以及小鼠等动物^[9]。经过有效训练后, 这些动物学会了主动觅药, 通过主动有效压杆或者触碰有效鼻触开

关, 寻求药物, 其有效压杆或者有效鼻触次数越多, 表明其对药物的渴求度越高, 对于成瘾药物来说, 就越容易成瘾^[12]。

20 世纪中叶开始, 许多研究人员就开始着手动物的滥用药物相关行为学研究, 以便更好地理解人类的成瘾过程。James R. Weeks 于 1962 年采用自动静脉注射方式, 模拟非自由活动条件下的大鼠吗啡成瘾的研究, 开启了颈静脉置管手术下的自身给药模型的研究^[13], 随后, 科学界纷纷采用自身给药模型作为研究药物成瘾的行为学方法^[11]。1969 年, Deneau、Yanagita 和

表 1 大鼠的颈静脉置管传统手术组和改良手术组手术效果统计表

Table 1 The statistical results of the surgery effect of jugular vein catheterization operation for rats in Traditional Operation Group and Modified Operation Group

Jugular vein catheterization operation grouping		Traditional operation group(TO)		Modified operation group(MO)	
Self-administration training grouping		Control Training Group	Addictive Training Group	Control Training Group	Addictive Training Group
Sample		n=15	n=15	n=15	n=15
Surgery complications	Blockage	1	0	0	1
	Leaking	7	7	1	0
	Infection	0	1	1	0
	Death	1	0	0	0
Training well		n=6	n=7	n=13	n=14

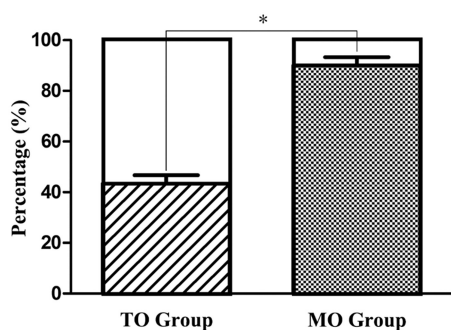


图 4 大鼠颈静脉置管手术效果统计图

Fig. 4 The effect of jugular vein catheterization operation in rats

注:颈静脉置管传统手术组(TO Group: Traditional Operation Group)手术数据统计显示,其手术成功率为 $43.33\% \pm 3.333\%$ (均数 $\pm$ 标准误);改良手术组(MO Group: Modified Operation Group)手术数据统计显示,其手术成功率为 $90.00\% \pm 3.333\%$ (均数 $\pm$ 标准误)。两组数据进行 t 检验,差异有统计学意义(t(TO Group, MO Group)=9.899, $P < 0.05$). * $P < 0.05$.

Note: The statistics for the traditional jugular vein catheterization operation group (TO Group: Traditional Operation Group) showed its operative success rate was $43.33\% \pm 3.333\%$ (Mean $\pm$ SEM); The statistics for modified operation group showed its operative success rate was $43.33\% \pm 3.333\%$ (Mean $\pm$ SEM). The t-test between the two groups showed significant difference ((t(TO Group, MO Group)=9.899, $P < 0.05$). * $P < 0.05$.

Seevers 等人进行了自由活动条件下的猕猴滥用药物的相关研究,以探究其是否会自愿、主动进行自我给药,这一做法更接近人类吸毒成瘾的状况,第一次实现了现代意义上的自身给药^[14]。

经典的自身给药模型(Self-administration, SA)是通过学习和训练,将成瘾药物(例如可卡因、吗啡等)与自身给药箱环境线索(Cue)之间形成条件性因果联系,使得药物的奖赏效应与环境线索之间形成牢固的习得性关联,环境线索的出现即可引起这种关联记忆的提取,并引发强烈的觅药动机和行为,通过观察记录动物的主动觅药行为来反映其对成瘾药物的渴求程度^[15,16]。

大量研究表明自身给药模型动物的药物成瘾稳定性较好、可靠性较好、个体差异性较小,但操作相对复杂、技术要求高。大鼠自身给药模型中,最关键的是整个训练过程中需要确保颈静脉通畅且无渗漏、感染等问题出现,其中最关键的技术是颈

静脉置管^[17]。传统的置管材料采用硅胶管(置入血管部分)与 PE 管(血管外部分)相连的方式,以打结方式作为固定位点,由于本身结构的不稳定性,大大增加了连接处漏管的可能性^[18,19]。这种方式缺陷较多,容易出现堵管、漏管、出血、感染、体重明显下降、甚至死亡等问题,一旦出现以上问题,即宣告颈静脉置管失败,进而影响下一步动物模型的构建甚至延缓整个实验的进程。综合分析,传统颈静脉置管手术成功率低,主要原因在于以下几方面:① 无菌观念差,植入材料未能充分进行消毒或灭菌,术中消毒不彻底,术后护理不规范,这些极易导致严重感染、败血症、体重下降,甚至死亡等并发症的发生。② 植入导管各组分结构复杂,柔韧度、强度不适宜,各组成元件之间连接不匹配,结构稳定性差,容易导致物理结构方面的堵管、漏管的发生。③ 手术操作不规范、不严谨,从而导致植入不成功、气胸、血胸、出血、感染,甚至死亡。④ 术后植入导管护理不及时、不规范等等。

针对以上问题,本实验在传统颈静脉置管材料和技术方面做了一些改进,研究对比改进方案的可行性以及有效性。本实验中,我们针对容易出现的并发症等问题,主要在植入导管材料方面做了以下几点改进:① 单一性:整个置管材料单纯采用较软的硅胶管,减少了二次连接处漏管的可能,也可以降低对大鼠颈部活动性的影响;而传统的置管材料采用硅胶管(置入血管部分)与 PE 管(血管外部分)相连的方式,增加了连接处漏管的可能。② 固定位点的可变性:改良置管固定处,增加了一枚微小“S”型定位钉,可根据实际需要,调整其位置,适当捏紧,以便更好地发挥其固定植入导管的作用;而传统方式直接采用打结方式,以此小结起到固定作用。这种小结稳定性不及实心的线绳打结,如果打结太紧,导管容易直接堵死,如果太松又极易脱开,影响大鼠的颈部活动,更为严重的后果是,更容易将置入静脉的硅胶管一并拖出。③ 植入导管长度的匹配性:由于静脉植入导管需要提前制备,导管的长度都是固定的,而实验用大鼠存在个体差异性。改良材料中,由于“S”型定位钉的存在,因而可根据实际需要,调整其位置,裁剪末端长度;而传统置管材料由于存在统一的固定位置的小结,其位置不能随意调整,因而,无法根据需要适时进行调整,也就无法更完美地与每只大鼠匹配。④ 植入导管植入血管部分的匹配性:改良后的材料,其植入血管部分长度一般为 3.7 cm 左右,在此长度时,植入血管部分末端可以达到上腔静脉注入右心房处,其好处在于可以减

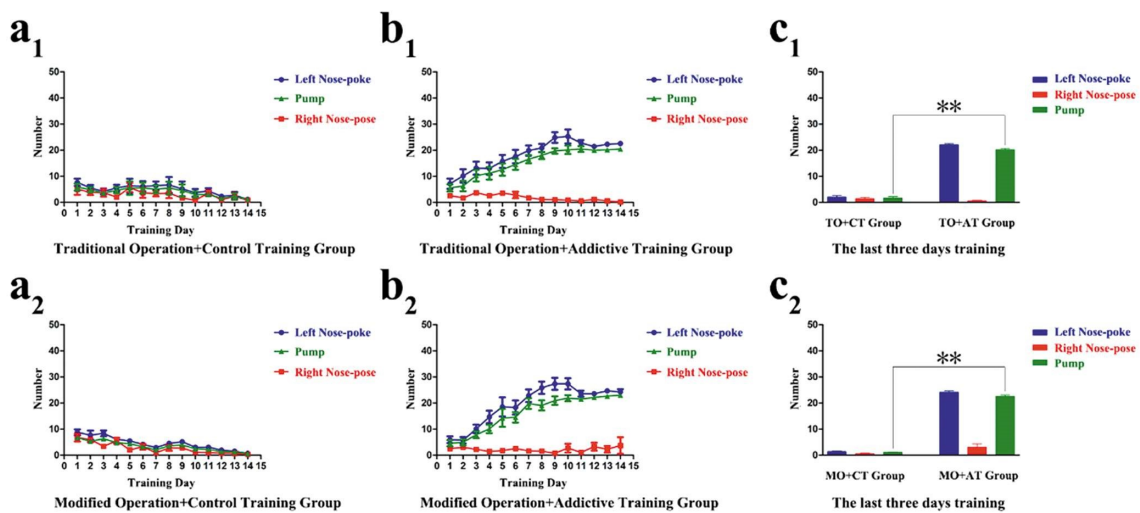


图5 有效建立大鼠的可卡因自身给药模型

Fig. 5 Effective establishment of cocaine self-administration model for rats

注:a(1,2)、b(1,2)分别为各组大鼠自身给药训练流程图;c(1,2)为各组大鼠最后三天训练行为学统计图。1)传统手术组+成瘾训练组(n=7)大鼠进行可卡因自身给药训练后,泵药次数(有效鼻触)次数明显增多,训练后期其有效鼻触次数达到一定的稳定值,取最后三天数据统计分析,有效鼻触次数为 20.19 ± 0.4176 (均数 $\pm$ 标准误),而对照训练组(n=6)大鼠有效鼻触次数为 1.667 ± 0.4984 (均数 $\pm$ 标准误),两组进行比较,差异有统计学意义(tTO+CT Group, TO+AT Group=28.71, $P<0.01$),说明传统训练组已有效建立可卡因自身给药模型;2)改良手术组+成瘾训练组(n=14)大鼠,其有效鼻触次数为 22.60 ± 0.4649 (均数 $\pm$ 标准误),而对照训练组(n=13)大鼠有效鼻触次数为 1.103 ± 0.1413 (均数 $\pm$ 标准误),两组进行比较,差异有统计学意义(tMO+CT Group, MO+AT Group=42.86, $P<0.01$),说明改良训练组已有效建立可卡因自身给药模型。

Note: TO+CT Group: Traditional Operation + Control Training Group; TO+AT Group: Traditional Operation + Addictive Training Group; MO+CT Group: Modified Operation + Control Training Group; MO+AT Group: Modified Operation + Addictive Training Group. ** $P<0.01$.

a(1, 2), b(1, 2) showed flow diagram of the self-administration training for each group of rats respectively; c(1, 2) showed behavioral statistical chart of last three days' training for each group of rats. 1) For the Traditional Operation + Addictive Training Group (n=7), after the rats complete the cocaine self-administration training, the drug pumping times (effective nose poking) significantly increased. The effective nose poking in the late phase reach to a constant value, the data of the last three training days was analyzed, indicating the effective nose poking times to be 20.19 ± 0.4176 (Mean $\pm$ SEM), while the effective nose poking times for the Traditional Operation + Control Training Group was 1.667 ± 0.4984 (Mean $\pm$ SEM), the comparison between these two groups showed significant difference (tTO+CT Group, TO+AT Group=28.71, $P<0.01$), indicating the Traditional Training Group can effectively construct the cocaine self-administration model; 2) Modified Operation + Addictive Training Group (n=14), its effective nose poking times was 22.60 ± 0.4649 (Mean $\pm$ SEM), while the effective nose poking times of Modified Operation + Control Training Group (n=13) was 1.103 ± 0.1413 (Mean $\pm$ SEM), the comparison between these two groups showed significant difference (tMO+CT Group, MO+AT Group=42.86, $P<0.01$), indicating the Modified Training Group can effectively construct the cocaine self-administration model. TO+CT Group: Traditional Operation + Control Training Group; TO+AT Group: Traditional Operation + Addictive Training Group; MO+CT Group: Modified Operation + Control Training Group; MO+AT Group: Modified Operation + Addictive Training Group. ** $P<0.01$.

少植入导管对血管的直接损伤,一定程度上,降低堵管、漏管的风险,提高置管的成功率。其末端剪为鱼嘴状,使得植入导管不易贴壁以及损伤血管;而传统材料中,其植入血管部分长度一般为1.2 cm,其末端为单一斜面(犹如注射器针头),游离在血管中,极易损伤血管,导致感染、堵管、漏管等并发症的发生。

另有一些研究者给大鼠穿一件小背夹,以这种方式来实现颈静脉置管与自身给药设备之间的连接。但考虑到实际情况,大鼠自由活动状态下,其穿戴在身上的小背夹容易脱落,反而更容易将颈静脉植入管脱出,最终导致模型构建失败^[20,21]。本研究中,采用附带内孔的M4螺纹底座,实现颈静脉置管与自身给药设备之间的连接,M4螺纹底座小巧且单一,底座部分完全埋置在大鼠背部皮下,上端螺纹部分暴露于体外,依靠上端螺纹部分与自身给药设备相连,稳定且不易脱落,不影响大鼠的身体灵活性,对于自由活动状态下的大鼠模型训练具有明显优势。

综上所述,本研究结果表明大鼠改良后的颈静脉置管手术效果明显优于传统手术,颈静脉手术成功基本预示着自身给药模型的成功,经改良后,颈静脉置管手术成功率明显提高。其关键事项如下:① 无菌观念:植入导管、手术器械等,于70%酒精浸泡24h。② 固定植入导管的力度要适当,过紧易堵管,过松起不到固定作用。③ 手术操作方面:游离颈静脉、置管等操作尽量轻柔,尽可能减少对血管的牵拉。④ 术后护理:定期及时规范,每天用含有肝素(10U/mL)和青霉素(20万IU/只)的生理盐水进行冲管,抗感染,防凝血堵管。

参考文献(References)

- [1] Volkow ND, Wise RA, Baler R. The dopamine motive system: implications for drug and food addiction [J]. Nat Rev Neurosci, 2017, 18(12): 741-752
- [2] Peacock A, Leung J, Larney S, et al. Global statistics on alcohol, tobacco and illicit drug use: 2017 status report [J]. Addiction, 2018,

[Epub ahead of print]

- [3] Kai Y, Li Y, Sun T, et al. A medial prefrontal cortex-nucleus accumbens corticotropin-releasing factor circuitry for neuropathic pain-increased susceptibility to opioid reward[J]. *Transl Psychiatry*, 2018, 8(1): 100
- [4] Kenny PJ, Hoyer D, Koob GF. Animal Models of Addiction and Neuropsychiatric Disorders and Their Role in Drug Discovery: Honoring the Legacy of Athina Markou [J]. *Biol Psychiatry*, 2018, 83(11): 940-946
- [5] Panlilio LV, Goldberg SR. Self-administration of drugs in animals and humans as a model and an investigative tool[J]. *Addiction*, 2007, 102(12): 1863-1870
- [6] Caine SB, Negus SS, Mello NK. Method for training operant responding and evaluating cocaine self-administration behavior in mutant mice[J]. *Psychopharmacology*, 1999, 147(1): 22-24
- [7] Javadi-Paydar M, Harvey EL, Grant Y, et al. Binge-like acquisition of alpha-pyrrolidinopentiophenone (alpha-PVP) self-administration in female rats[J]. *Psychopharmacology*, 2018[Epub ahead of print]
- [8] Cadet JL, Brannock C, Jayanthi S, et al. Transcriptional and epigenetic substrates of methamphetamine addiction and withdrawal: evidence from a long-access self-administration model in the rat [J]. *Mol Neurobiol*, 2015, 51(2): 696-717
- [9] Richardson NR, Roberts DC. Progressive ratio schedules in drug self-administration studies in rats: a method to evaluate reinforcing efficacy[J]. *J Neurosci Methods*, 1996, 66(1): 1-11
- [10] Strickland JC, Lile JA, Rush CR, et al. Relationship between intranasal cocaine self-administration and subject-rated effects: predictors of cocaine taking on progressive-ratio schedules [J]. *Hum psychopharmacol*, 2014, 29(4): 342-350
- [11] Clemens KJ, Holmes NM. An extended history of drug self-administration results in multiple sources of control over drug seeking behavior [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2017, pii: S0278-5846(17)30418-9
- [12] Caprioli D, Justinova Z, Venniro M, et al. Effect of Novel Allosteric Modulators of Metabotropic Glutamate Receptors on Drug Self-administration and Relapse: A Review of Preclinical Studies and Their Clinical Implications[J]. *Biol psychiatry*, 2017, pii: S0006-3223(17)31937-6
- [13] Weeks JR. Experimental morphine addiction: method for automatic intravenous injections in unrestrained rats [J]. *Science*, 1962, 138(3537): 143-144
- [14] Deneau G, Yanagita T, Seevers MH. Self-administration of psychoactive substances by the monkey [J]. *Psychopharmacologia*, 1969, 16(1): 30-48
- [15] Lacy RT, Strickland JC, Smith MA. Cocaine self-administration in social dyads using custom-built operant conditioning chambers [J]. *J Neurosci Methods*, 2014, 236: 11-18
- [16] Strickland JC, Smith MA. Animal models of social contact and drug self-administration[J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2015, 136: 47-54
- [17] Blegen MB, da Silva ESD, Bock R, et al. Alcohol operant self-administration: Investigating how alcohol-seeking behaviors predict drinking in mice using two operant approaches [J]. *Alcohol*, 2018, 67: 23-36
- [18] Smith MA, Fronk GE, Abel JM, et al. Resistance exercise decreases heroin self-administration and alters gene expression in the nucleus accumbens of heroin-exposed rats [J]. *Psychopharmacology*, 2018, 235(4): 1245-1255
- [19] Pisanu A, Lecca D, Valentini V, et al. Impairment of acquisition of intravenous cocaine self-administration by RNA-interference of dopamine D1-receptors in the nucleus accumbens shell [J]. *Neuropharmacology*, 2015, 89: 398-411
- [20] Caine SB, Koob GF. Effects of mesolimbic dopamine depletion on responding maintained by cocaine and food [J]. *J Exp Anal Behav*, 1994, 61(2): 213-221
- [21] Miller ML, Aarde SM, Moreno AY, et al. Effects of active anti-methamphetamine vaccination on intravenous self-administration in rats[J]. *Drug Alcohol Depend*, 2015, 153: 29-36

(上接第 4223 页)

- [22] Fernandes A, Li YW. Focused microwave irradiation-assisted immunohistochemistry to study effects of ketamine on phospho-ERK expression in the mouse brain[J]. *Brain Res*, 2017, 1670: 86-95
- [23] Peltoniemi MA, Hagelberg NM, Olkkola KT, et al. Ketamine: A Review of Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics in Anesthesia and Pain Therapy[J]. *Clin Pharmacokinet*, 2016, 55(9): 1059-1077
- [24] Littlefield A, Kohman RA. Differential response to intrahippocampal interleukin-4/interleukin-13 in aged and exercise mice [J]. *Neuroscience*, 2017, 343: 106-114
- [25] Dragone T, Cianciulli A, Calvello R, et al. Resveratrol counteracts lipopolysaccharide-mediated microglial inflammation by modulating a SOCS-1 dependent signaling pathway[J]. *Toxicol In Vitro*, 2014, 28(6): 1126-1135
- [26] Mei XP, Zhou Y, Wang W, et al. Ketamine depresses toll-like receptor 3 signaling in spinal microglia in a rat model of neuropathic pain [J]. *Neurosignals*, 2011, 19(1): 44-53
- [27] Chang Y, Lee JJ, Hsieh CY, et al. Inhibitory effects of ketamine on lipopolysaccharide-induced microglial activation [J]. *Mediators Inflamm*, 2009, 2009: 705379