باسمه تعالی

موش های کوچک آزمایشگاهی متعلق به راسته جوندگان بوده و اکثر موش های مورد استفاده در تحقیقات، از جنس Mus می باشند. موش های خانگی دنیای قدیم (*Mus musculus*)، دارای زیرگونه های *M.musculus castaneus* و *M.musculus molossinus* بوده و به لحاظ برخی خصوصیات ژنتیک به صورت زیر طبقه بندی می گردند:

۱- موش های هم تیره، هم خون یا خویش آمیخته: (Inbred mice)

این موش ها حاصل آمیزش خویشاوندی (حداقل ۲۰ نسل متوالی آمیزش برادر- خواهر) بوده و تقریباً به همه موش های دیگر همان نژاد شبیه می باشند. سویه های C57BL/6، Balb/c، C3H، FVB، 129، DBA، CBA از جمله مواردی هستند که بیش از دیگر سویه های خویش آمیخته در تحقیقات مورد استفاده قرار گرفته اند.

۲- موش های دورگه: (Hybrid mice)

این موش ها، نسل اول حاصل از آمیزش ۲ سویه خویش آمیخته مختلف می باشند.

۳- موش های غیر هم خون یا دگر آمیخته: (Outbred mice)

موش های دگرآمیخته با موش های دورگه تفاوت داشته و هر ژن آلل های متفاوت فراوانی دارد که از طرق مختلف در این سویه ها ترکیب شده اند. اگر دو موش دگرآمیخته آمیزش نمایند، بچه هایی ایجاد خواهند کرد که از نظر ژنتیکی نسبت به یکدیگر و نیز نسبت به والدینشان متفاوت می باشند.

۴- موش های جهش یافته خودبخودی: (Inbred mice that carry spontaneous mutation)

این سویه ها، موش های خویش آمیخته ای هستند که از یک موشی که با یک تغییر ژنتیکی قابل توجه بدنیا آمده است، ایجاد و استمرار یافته اند. مثال آن موش چاق C57BL/6J-Lepob می باشد که به دلیل جهش در ژنی که هورمون Leptin را کد می نماید، به طور چشمگیری چاق می گردد.

۵- موش های تراریخته یا حاصل از انتقال ژن ها: (Transgenic mice)

این موش ها ، DNA بیگانه ای را حمل می کنند که عمدتاً به داخل ژنوم اختصاصی آنها و از طرق مختلف (تزریق میکروسکوپی، ویروس ها، مواد شیمیایی و...) وارد شده است. مانند موش های تراریخته مبتلا به بیماری اسکلروزیس یک طرفه آمیوتروفیک، که همه آنها دارای کپی های وارد شده از یک ژن انسانی که یک آنزیم غیر نرمال در بدن موش را کد می نماید، می باشند.

۶- موش های ناک اوت: (Knockout mice)

در این موش ها، ژن یا ژن هایی از یک موش نرمال با استفاده از فرآیند نوترکیبی همولوگ، عملکرد خود را از دست می دهد، لذا موش هایی موسوم به Knockout تولید می شوند که دارای نقص در عملکرد و بیان یک یا چند ژن می باشند.

برخی ویژگی های آناتومیک و فیزیولوژیک:

دندان ها: (Teeth)

- فرمول دندانی موش به صورت (۱/۱ دندان پیش ، ۰/۰ دندان نیش ، ۰/۰ دندان پیش آسیا و ۳/۳ دندان آسیا) ×۲ می باشد.
- دندان های پیش آسیا، به طور مکرر ترک بر می دارند و اگر این دندان ها نشکنند درشت تر از حد معمول خواهند شد.

اسکلت: (Skeleton)

- فرمول طبیعی مهره ها به صورت C_7 , T_{13} , L_6 , S_4 , C_{28} می باشد.
- موش به طور نرمال ۱۳ جفت دنده دارد. هفت جفت دنده های قدامی، دنده های حقیقی می باشند که با جناغ مفصل می شوند. علاوه بر این، ۶ جفت دنده کاذب نیز وجود دارند که ۳ جفت از آن که بیشتر جانبی می باشند به دنده های حقیقی عقبی متصل شده و ۳ جفت آخر آن، آزاد یا معلق بوده و هیچ تماسی با دیگر ساختارهای استخوانی ندارند.

مشخصات خارجی: (External feature)

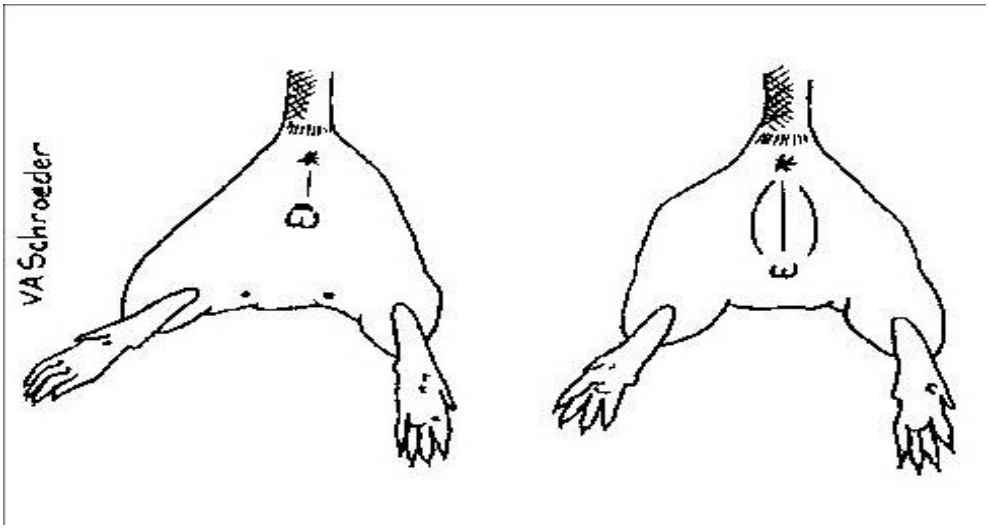
- دست ها و پاها، هر دو ۵ عدد انگشت دارند.
- موش ماده به طور طبیعی ۵ جفت سر پستان (nipple) دارد که بر روی بخش عقبی قفسه سینه (۳ جفت) و بر روی شکم (۲ جفت) قرار گرفته است.

دستگاه گوارشی: (Gastrointestinal system)

- دستگاه گوارشی در موش شبیه دیگر پستانداران (بجز نشخوارکنندگان) بوده و شامل مری، معده، دوازوهه، ژژنوم، ایلئوم، سکوم، کولون و رکتوم می باشد.
- معده به بخش های کاردیاک (فاقد غدد مترشحه) و پیلوریک (دارای غدد مترشحه) تقسیم می شود. بخش غیر غده ای پوشیده از سلول های اپیتلیوم سنگفرشی می باشد.
- موش فاقد آپاندیس است.

دستگاه ادرای-تناسلی: (Urogential system)

- کلیه راست به طور طبیعی نسبت به کلیه چپ قدامی تر می باشد.
- در موش های نر کانال اینگوینال باز می ماند و بیضه ها به داخل حفره شکمی کشیده می شوند. موش های نر دارای یک یک استخوان کوچک (Os penis) بالای پیشابراه و نزدیک به سر آلت تناسلی می باشند. غده های Preputial (چین پوستی که بر روی گلانس قرار گرفته است) ، ساختارهای دو تایی هستند که به صورت زیر جلدی نزدیک سر پرپیوس، قرار گرفته اند. بعضی مواقع، آبسه ای در این غده ها بوجود می آید که به صورت یک توده کوچک در امتداد پرپیوس می باشد.
- در موش های ماده سیستم تولید مثل شامل دو شاخه رحمی می باشدکه با ترکیب آنها کورپوس میانی شکل می گیرد. غده های کلیتورال به صورت زیر جلدی، در بخش جانبی مدخل پیشابراه قرار می گیرند. همانند غده های Preputial، غده های کلیتورال نیز ممکن است گاهی دچار آبسه گردند.
- موش های نر از موش های ماده از طریقه کیسه اسکروتوم که شامل بیضه ها بوده و نیز از طریق فاصله مقعدی- واژنی (anogenital) طولانی تر، قابل تمیز می باشند.
- جفت (Placenta) در موش Hemochorial (نوعی از جفت که در آن خون مادر در تماس مستقیم با کوریون است) می باشد.
- ادرار به صورت نرمال شفاف، زرد و با غلظت بالا (حداکثر ۴/۳ osmol/kg) می باشد. مقدار زیادی پروتیین به طور نرمال در ادرار موش دفع می گردد که شامل موکوس های ادراری، گلوبولین های آلفا و بتا و پروتیین اصلی ادرار، می باشد. pH نرمال ادرار موش تقریباً ۵ می باشد.
- ایمونو گلوبولین مادری از طریق جفت به بدن نوزاد موش انتقال یافته و به مدت ۱۶ روز پس از زایمان، از آغوز به سلول های اپتیلیوم روده ای منتقل می گردد.



شکل ۱-۱- تفاوت در فاصله آنوژنیتال بین موش ماده (چپ) و نر (راست). فاصله بین مقعد و اندام تناسلی خارجی در موش ماده نسبت به موش نر کوتاهتر است.

دستگاه تفسی: (Respiratory system)

- موش دارای یک لوب ریوی در سمت چپ و ۴ لوب ریوی (فوقانی ، میانی ، اجوف ، تحتانی) در سمت راست می باشد.

غده های مربوطه چشم: (Glands associated with eyes)

- غده Harderian به شکل نعل اسبی بوده و درون کاسه چشم (حفره اوربیتال) قرار دارد. این غده ماده ای ترشح می کند که پلک ها را چرب نگه می دارد.
- غده خارج حفره چشمی (Extraorbital) به صورت زیر جلدی درست در بخش پائین و قدامی چشم واقع شده است. این غده ماده ای ترشح می کند که کره چشم را مرطوب نگه می دارد.
- غده داخل حفره چشمی، نزدیک کانتوس خارجی چشم قرار گرفته و ماده ای ترشح می کند که کره چشم را مرطوب نگه می دارد.

طحال: (Spleen)

- پیگمانتاسیون تیره طحال به صورت یک وضعیت غیر پاتوژنیک در موش های نژاد $C_{57}BL$ تعریف می شود.اغلب پیگمانتاسیون به صورت کانونی می باشد. رنگدانه خاص موجود در پیگمانتاسیون طحال ملانین (۴و۳) لیپو فوشین (۵) یا هموسیدرین Hemosiderin (۶) می باشند.

جدول ۱- ۱ : برخی شاخص های بیولوژیک در موش ها

متغیر	شاخص معلوم
تعداد کروموزوم دیپلوئید	۳۰
دوره زندگی	۳- ۲ سال
وزن بدن بالغ	۴۰- ۲۰ گرم
درجه حرارت بدن	$۳۶/۵ -۳/۵_{cc}$ ($۹۷/۵ -۱۰۰/۴_{f}$)
میزان متابولیسم	۵۰۵- ۱۸۰ کیلوکالری/ کیلوگرم/ روز
میزان جذب غذا	۱۸- ۱۲ گرم بر ۱۰۰ گرم وزن بدن در روز
میزان جذب آب	۱۵ میلی لیتر بر ۱۰۰ گرم وزن بدن در روز
میزان تنفس	۲۳۰- ۸۰ تنفس در دقیقه
میزان ضربان قلب	۶۰۰- ۵۰۰ ضربان در دقیقه

جدول ۲- ۱ : برخی شاخص ها و یافته های بیوشیمیایی در موش ها

شاخص ها	میانگین مقادیر نرمال	تأثیر بر سیستم های بدن
گلوکز	۲۷۸- ۱۰۶ میلی گرم بر دسی لیتر	
پانکراس(دیابت)		
اوره	۳۴- ۱۹ میلی گرم بر دسی لیتر	کلیه
کراتینین	۰/۸- ۰/۵ میلی گرم بر دسی لیتر **	کلیه
سدیم	۱۶۷- ۱۴۷ میلی اکی والان گرم بر دسی لیتر	الکترولیت/
تعادل آب		
پتاسیم	۹- ۵ میلی اکی والان گرم بر دسی لیتر	الکترولیت/
تعادل آب		
کلراید	۱۲۰- ۱۰۴ میلی اکی والان گرم بر دسی لیتر	الکترولیت/
تعادل آب		
کلسیم	۱۲- ۹ میلی گرم بر دسی لیتر	تیروئید/
پاراتروئید/ روده/ پانکراس کلیه ها ، متابولیسم استخوان		
فسفر	۱۳- ۶ میلی گرم بر دسی لیتر	کلیه
آهن	۴۷۴- ۲۱۰ میلی گرم بر دسی لیتر	انتقال آهن و
ذخیره سازی		
آلانین آمینو ترانسفراز (AST یا SGPT)	۱۲۰- ۲۶ واحد بین المللی بر لیتر	کبد
اسپارتات آمینو ترانسفراز (ALT یا SGOPT)	۱۹۱- ۶۹ واحد بین المللی بر لیتر	کبد ، قلب ،
عضلات اسکلتی		
آلکالاین فسفاتاز (AIP)	۱۱۸- ۴۴ واحد بین المللی بر لیتر	کبد ، کانال
گوارشی ، کلیه ، استخوان		
لاکتیک دهیدروژناز (LDH)	۳۴/۴- ۲۶/۸ میلی گرم بر میلی لیتر	کبد ، قلب ،
عضلات اسکلتی		
سوربیتول دهیدروژناز (SDH)	۳۷- ۲۷ واحد بین المللی بر لیتر	کبد
کراتینین کیناز	۳/۷- ۲/۵ واحد بین المللی بر لیتر	قلب و
عضلات اسکلتی ، دیستروفی عضلانی		
پروتیین توتال	۶۴- ۴۳ گرم بر لیتر	عملکرد کبد-
ساختار ایمونوگلوبین ها		
آلبومین	۴۷- ۲۰ گرم بر لیتر	عملکرد کبد
کلسترول	۱۷۴- ۶۳ میلی گرم بر دسی لیتر	کبد
تری گلیسرید	۱۶۴- ۷۱ میلی گرم بر دسی لیتر	بیماری های
قلبی و عروقی		
بیلی روبین توتال	۰/۸- ۰/۳ میلی گرم بر دسی لیتر	کاتابولیسم
هموگلوبین		

* شاخص ها از رفرانس (۲و۷و۸)

** سطح کراتینین بیشتر از ۰/۷ میلی گرم بر دسی لیتر در موش های مسن تر نسبت به موش های یک ساله مشاهده می گردد.

جدول ۳- ۱: شاخص های طبیعی در ادرار موش ها

متغیر	شاخص های تقریباً طبیعی
رنگ	شفاف یا زرد روشن
حجم	۲/۵- ۰/۵ میلی لیتر در ۲۴ ساعت
جرم حجمی	۱/۰۳۰
PH	۵
گلوکز	۳- ۰/۵ میلی گرم در ۲۴ ساعت
پروتیین	۲/۶- ۰/۶ میلی گرم در ۲۴ ساعت

جدول ۴- ۱: شاخص های و مشخص خونی در موش ها*

متغیر	حد نرمال شاخص ها	واحد
حجم کلی سلول ها	۴۵/۱- ۳۸/۵	٪
شمارش تعداد گلبولهای قرمز	۹/۵- ۵	$۱۰^{۶}$ سلول در میلی لیتر
قطر گلبول قرمز	۶- ۵/۵	میکرومتر
غلظت هموگلوبین	۱۶/۳- ۱۰/۹	گرم بر دسی لیتر
MCV	۵۶- ۴۸	FL
MCH	۱۹- ۱۱/۹	پیکو گرم
MCHC	۳۵/۱- ۲۵/۹	گرم بر دسی لیتر
پلاکت	۱۹۹۲- ۱۰۸۴	$۱۰^{۳}$ سلول بر میکرومتر
گلبول سفید	۱۴/۲- ۳	$۱۰^{۳}$ سلول بر میکرومتر
نوتروفیل	۲/۲۰- ۰/۴۶	$۱۰^{۳}$ سلول بر میکرومتر
ائوزینوفیل	۰/۳۸- ۰/۰۰	$۱۰^{۳}$ سلول بر میکرومتر
بازوفیل	۰/۰۹- ۰/۰۰	$۱۰^{۳}$ سلول بر میکرومتر
لنفوسیت	۱۱/۲۰- ۳/۲۲	$۱۰^{۳}$ سلول بر میکرومتر
مونوسیت	۱/۴۳- ۰/۴	$۱۰^{۳}$ سلول بر میکرومتر

* شاخص ها برای موش های بالغ یا موش های ۸-۱ ماهه می باشد (۱۱و۱۰و۸و۷). اطلاعات این جدول از موش های جنس نر و ماده نژادهای مختلف و شرایط آزمایشگاهی و نگهداری متفاوت بدست آمده است.طیف گزارش شده و انحراف استاندارد بعضی از متغیرها خیلی بزرگ است.

جدول ۱- ۲: مواد پلاستیکی که به طور معمول در قفس موش ها بکار مروند

مواد	شفافیت	مقاومت در برابر ضربه	مقاومت شیمیایی	مقاومت گرمایی
پلی پروپیلین	متغیر	بالا	بالا	متوسط
پلی استیرن [A]	شفاف	پائین	پائین	پائین
پلی کربنات	شفاف	خیلی بالا	عمدتاً بالا[B]	متوسط
پلی کربنات(با درجه حرارت بالا)	شفاف به رنگ کهربایی	بالا	عمدتاً بالا[B]	بالا
پلی اتیلن	مات	متوسط	خیلی بالا	پائین
پلی اتریمید	شفاف به رنگ کهربایی تیره	پائین	بالا	خیلی بالا
پلی سولفون[C]	شفاف به رنگ کهربایی	بالا	بالا	بالا

جدول ۲- ۲: توصیه در رابطه با اندازه قفس موش ها

وزن موش (گرم)	سطح کف قفس (اینچ مربع)	ارتفاع قفس (اینچ)
کمتر از ۱۰	۶[a]	۵
۱۵	۸	۵
۲۵	۱۲	۵
بیشتر از ۲۵	بیشتر از ۱۵	۵

a : این راهنمایی هیچ گونه توصیه خاصی را باتوجه به مقدار فضای مورد نیاز برای موش ها دارای نوزاد نکرده ، ولی تا قبل از این که از شیر گرفته شوند با وزن کمتر از ۱۰ گرم به طور معمول نیاز به مساحت کمتر از ۶ اینچ مربع دارند.

جدول ۳- ۲: توصیه در رابطه با اندازه قفس موش ها

متغیر	شاخص های تعیین شده
سن بلوغ جنسی	۷ تا ۸ هفتگی
طول دوره استروس(فحلی)	۴ تا ۵ روز
طول بارداری	۱۹ تا ۲۱ روز
تعداد نوزادان تولد یافته	۱۰ تا ۱۲ سر (توله)
وزن تولد	۱ گرم
سن قطع تغذیه از پستان مادر	۲۱ تا ۲۸ روزگی
حاملگی کاذب	۱۰ تا ۱۳ روز

برخی از مهم ترین عوامل مؤثر در پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی

محیط: (Environment)

به طور کلی محیط داخل اتاق (Macroenvironment) ، از محیط داخل قفس (Microenvironment) با توجه به نوع قفس، روش نگهداری در قفس، موقعیت در رک ها، تعداد موش ها، نوع بستر و دفعات تعویض قفس متفاوت است. اگر چه اندازه گیری شرایط محیط کوچک (Microenvironment) امکان پذیر است، لیکن این کار جز در مواردی برای اهداف آزمایشگاهی، به ندرت انجام می شود. هنگامی که درباره کنترل و اندازه گیری متغیرهای محیطی سخن گفته می شود، منظور محیط داخل قفس می باشد.

دما و رطوبت: (Temperature and humidity)

دمای محیطی و رطوبت، با هم بر توانایی موش در نگهداری صحیح درجه حرارت بدن تأثیر می گذارند. هیچ دمای محیطی خاص و یا محدوده ای از دما وجود ندارد که گفته شود به طور مشخص و آشکار باعث ارتقای شرایط رفاهی، سلامت و عملکرد در موش آزمایشگاهی می شود. به هر حال، تجربه فراوان نشان می دهد که موش ها در صورتی که در محدوده دمایی ۶۴ تا ۷۹ درجه فارنهایت (۱۷ تا ۲۶ درجه سانتی گراد) نگهداری شوند، سالم مانده و عملکرد خوبی خواهند داشت. به حداقل رساندن تغییرات دمایی مهم می باشد. به طور کلی توصیه می شود که اتاق هایی که موش ها در آنها نگهداری می شوند، رطوبت نسبی بین ۳۰ تا۷۰ درصد داشته باشند. دلیل محکمی وجود دارد که نشان می دهد، هنگامی که موش در رطوبت نسبی بین ۴۵ تا ۶۰ درصد نگهداری می شود بازده بهتری خواهد داشت. اگر رطوبت در این میزان حفظ گردد، دمای محیطی ایده آل بین ۶۸ تا ۹۶ درجه فارنهایت (۲۰ تا ۲۱ درجه سانتی گراد) می باشد.

تهویه: (Ventilation)

میزان تهویه اتاق می بایست در راستای حفظ میزان مناسب اکسیژن، کاهش میزان آلوده کننده های گازی از قبیل دی اکسید کربن و آمونیاک و گرمای تولید شده توسط موش ها و لوازم داخل اتاق باشد. سرعت تهویه ۱۰ تا ۱۵ بار در هر ساعت برای اتاق نگهداری موش ها توصیه می گردد. هوا می بایست تازه و صاف (فیلتره) باشد تا آلوده کننده ها از محیط حذف گردند. همچنین قفس های دارای تهویه منفرد اختصاصی نیز، جهت بهبود محیط نگهداری موش، می توانند مورد استفاده قرار بگیرند.

نور: (Illumination)

شدت نور اتاق در طی ساعت های کار، می بایست جهت کارکردن و بررسی موش برای انسان کافی بوده و خیلی زیاد نباشد، زیرا نور زیاد می تواند باعث آسیب شبکیه چشم در حیوانات آلبینو (albino) گردد. نور کمتر از ۳۲۵ لوکس (foot-candles ۳۰) که از یک متری بالای کف اتاق تنظیم گردیده، برای اتاق های نگهداری حیوانات آلبینو توصیه می گردد. در بسیاری ازگونه ها (به طور مثال : در همستر) فتوپریود

(فاصله زمانی بین روشنایی و تاریکی در یک دوره ۲۴ ساعته) بسیار مهمتر از شدت بالای نور می باشد و تأثیر اساسی بر تولید مثل دارد. دو مورد فتوپریود رایج برای موش آزمایشگاهی ۱۲:۱۲ (روشنایی به تاریکی) و ۱۰:۱۴ می باشند. مورد اخیر به طور خاص برای کلونی های تکثیری موش مورد استفاده قرار می گیرد. تغییر در فتوپریود و قطع سیگنال روشنایی–تاریکی (برای مثال وجود نور مختصر در طی سیکل تاریکی) می تواند اثرات مختل کننده ای بر روی موش داشته باشد و بنابراین از این موارد می بایست اجتناب گردد.

سرو صدا: (Noise)

اتاق های حیوانات معمولاً پر سر و صدا می باشند و اگر این مساله مکرر و شدید باشد، می تواند اثر نامطلوبی را بر موش ها داشته باشد. ثابت شده که سر و صدای بیش از ۸۵ دسی بل، به صورت بالقوه به انسان ها و حیوانات آسیب می رساند. بنابراین شدت سر و صدا در اتاق موش ها می بایست در حد امکان پائین تر از این میزان نگهداری شود. این میزان با بهره گیری از عایق های صوتی در ساختمان، جدا نمودن محل نگهداری موش ها از مکان هایی که گونه های پر سر و صدایی مثل همسترها در آن نگهداری می شوند و یا فعالیت های پر سر و صدا مثل شستن قفس ها در آن انجام می گیرد، قابل دست یابی می باشد. به حداقل رساندن و در صورت امکان حذف صداهای بلند و ناگهانی مربوط به ابزارهایی مثل زنگ خطر آتش نشانی و سیستم ارتباطات، بسیار مهم و ضروری می باشد. این موارد به خصوص در مورد برخی نژادها و سویه های موش از قبیل DBA قابل توجه تر می باشد، زیرا مستعد به حملات تشنجی ناشی از صدا می باشند.

جدول ۴- ۴- ترکیبات رایج در بیهوشی موش ها

ماده بیهوشی	دوز	طریقه مصرف
بیهوش کننده های استنشاقی (هالوتان، ایزوفلوران، متوکسی فلوران و اتر)	۱ -۴٪	استنشاقی
پنتوباربیتال	۵۰ -۹۰ mg/kg (رقیق شده به نسبت ۱ به ۹ در محلول سرم فیزیولوژی استریل)	داخل صفاقی
تیوپنتال	۲۵ -۵۰ mg/kg	داخل صفاقی
ETMU	۸۰ mg/kg	داخل صفاقی
کتامین+ زایلازین	۱۰ mg/kg(زایلازین)+ ۱۰۰ mg/kg(کتامین)	داخل صفاقی یا داخل عضلانی
کتامین+ زایلازین+ اسپرومازین	۱ mg/kg (اسپرومازین)+ ۵ mg/kg (زایلازین) + ۳۰ mg/kg(کتامین)	داخل صفاقی یا داخل عضلانی
کتامین+ مدتومیدین	۱ mg/kg (مدتومیدین)+ ۷۵ mg/kg(کتامین)	داخل صفاقی
زولازپام/ تیلتامین	۸۰ -۱۰۰ mg/kg	داخل صفاقی
تریبروموواتانول	۱۸۰ -۲۵۰ mg/kg	داخل صفاقی

جدول ۵- ۴- داروهای ضد درد مؤثر در موش ها

داروی ضد درد	دوز mg/ kg	طریقه مصرف	مدت زمان اثر
مورفین	۲ -۱۰ mg/kg	داخل صفاقی ، زیر جلدی	۴-۲ ساعت
اکسی مورفون	۰/۱ -۰/۳ mg/kg	زیر جلدی	۴-۳ ساعت
بوپرنورفین	۱/۵ -۲/۵ mg/kg	زیر جلدی	۵-۳ ساعت
بوتورفانول	۳ -۵ mg/kg	زیر جلدی	۲-۱ ساعت
فلونیکسین مگلومین	۲/۵ mg/kg	زیر جلدی	۲-۱ ساعت
آسپرین	۱۰۰ -۳۰۰ mg/kg	دهانی	۲۴-۱۲ ساعت
استامینوفن	۲- ۱ mg/kg محلول در آب آشامیدنی	دهانی	غیر مشخص
ایبوپروفن	۷/۵ mg/kg	دهانی	غیر مشخص

روش های نمونه گیری: (Sampling methods)

خون: (Blood)

حجم خون در یک موش بالغ متوسط فقط ۲/۷۵- ۲ میلی لیتر است و وریدهای محیطی نیز بسیار کوچک می باشند. این بدان معناست که حجم خون گیری از موش نسبتاً کم بوده و خون گیری بدون آسیب به موش بسیار سخت است. در زیر راهنمایی هایی جهت میزان نمونه گیری بیان شده است :

۱. تقریباً ٪۱۰ از حجم خون یا ٪ ۰/۷۵ از وزن بدن با اطمینان و بدون هیچ گونه جایگزینی با مایعات می تواند برداشته شود. (۲۰۰-۱۸۰ میکرولیتر از یک موش ۲۵ گرمی و ۲۸۰-۲۴۰ میکرولیتر از یک موش ۳۵ گرمی).

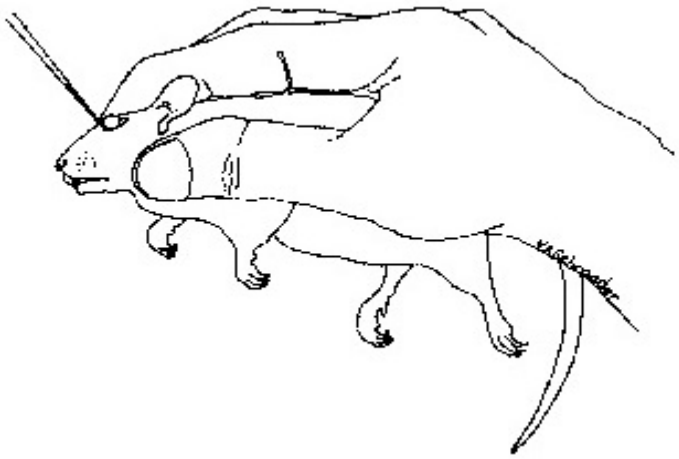
۲. تا ٪۱۵ از حجم خون یا تقریباً ٪۱/۵ از وزن بدن در صورتی که خون گیری به آهستگی انجام شده و مایعات نیز جایگزین شوند، می تواند اخذ شود (۴۰۰- ۳۵۰ میکرولیتر در یک موش ۲۵ گرمی و ۵۶۰-۵۰۰ میکرولیتر در یک موش ۳۵ گرمی).

۳. برای نمونه برداری مجدد، ٪۷/۵ از حجم کل خون هر هفته یا ٪۱۰ هر دو هفته یک بار می تواند گرفته شود (۱۵۰ میکرولیتر در هفته یا ۲۰۰ میکرولیتر هر دو هفته یک بار از یک موش ۲۵ گرمی). همچنین ۲۶۰ میکرولیتر هفته ای یا ۳۵۰ میکرولیتر هر دو هفته یک بار از یک موش ۳۵ گرمی). میزان هماتوکریت و هموگلوبین و یا هر دو در حیواناتی که حجم زیادی از خون آنها گرفته می شود یا مکرراً نمونه گیری می شوند (بیش از ۳ بار) باید کنترل شود.

موارد زیر رایج ترین روش ها برای خونگیری از موش ها می باشند:

۱- سوراخ کردن سینوس پشت چشمی: (Retro orbital sinus puncture)

ابتدا موش با یک دست کنترل شده و یک لوله میکروهماتوکریت یا پیپت با قطر کوچک در گوشه داخلی یا خارجی چشم قرار داده داده می شود. سپس لوله مذکور با یک زاویه ۳۰ درجه به سمت دمی چرخانده و فرو برده می شود. به محض این که سینوس سوراخ شد خون به داخل لوله جریان می یابد (شکل ۲- ۵). پس از خارج کردن لوله، با یک پارچه کتانی یا گاز استریل محل به آرامی فشار داده می شود تا خون ریزی قطع گردد. اگر پرسنل آموزش دیده و دارای مهارت کافی باشند، این تکنیک با حداقل ضایعه و بهبودی سریع همراه خواهد بود. اگر هر گونه شک و تردیدی در مورد آموزش و مهارت شخص انجام دهنده وجود دارد، باید ابتدا موش بیهوش گردد.



شکل ۲- ۵- جمع آوری خون از سینوس چشمی. یک لوله شیشه ای موئینه در گوشه داخلی چشم قرار داده شده و به آرامی چرخانده می شود تا سینوس پاره شده و خون به داخل لوله جریان یابد.

اخذ نمونه خون از پشت چشم را می توان به دفعات مختلف از یک محل انجام داد، اگر چه احتمال ایجاد ضایعات دایمی افزایش میابد ولی با اینحال این کار انجام می شود. بهتر است برای نمونه گیری مجدد از یک سینوس، حداقل ۲ هفته فاصله زمانی در نظر گرفته شود.

۲- پارگی دم: (Tail laceration)

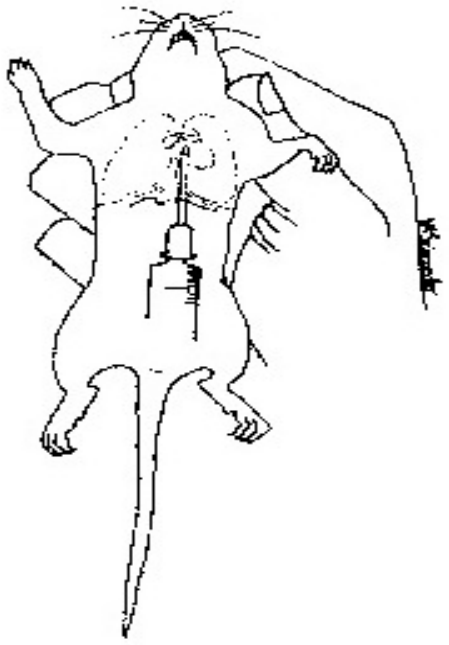
موش بر روی یک سطح صاف مهار شده و یا این که موش را درون مهارکننده ای که دم موش از آن خارج شده است قرار می دهند. یک برش در سطح شکمی دم ایجاد کرده تا شریان پاره شود یا این که نوک دم را قطع می کنند. گرم کردن حیوان یا دم آن باعث افزایش جریان خون می گردد که معمولاً حدود چند قطره می باشد.

۳- سوراخ کردن قلب: (Cardiac puncture)

این یک راه کار نهایی در یک موش بیهوش شده است. موش را از پشت بر روی سطح صاف خوابانیده و یک سوزن شماره ۲۴ در سمت خارجی غضروف جناغ (Xiphoid) وارد دیافراگم شده و مستقیماً به سمت داخل قلب هدایت می شود. همچنین می توان سوزن را از بین دنده ۵ و ۶ و در سمت چپ وارد قفسه سینه و به سمت قلب هدایت نمود (شکل ۳- ۵). در این روش که نیازمند آموزش و مهارت است، می توان حجم های نسبتاً زیادی از خون را بدست آورد.

۴- گردن زنی: (Decapitation)

این روش برای بدست آوردن حجمهای زیاد استفاده می شود که آلودگی خون به مو و ترشحات بدن نیز مشخص نیست. پرسنل باید آموزش کافی را برای انجام مطمئن این کار دیده باشند و این کار هنگامی جایز است که به طور علمی توسط محقق مجوز داده شود. گردن زنی در صورت عدم انجام درست ، باعث ایجاد درد در موش می شود (به خصوص در استفاده از قیچی). احتمال ایجاد درد در صورت بیهوشی کاهش یافته و یا از بین می رود.



شکل ۳- ۵- گرفتن خون از قلب. سوزن را در بخش بالای جناغ سینه فرو برده و از میان دیافراگم بداخل بطن هدایت می کنند.

ادرار: (Urine)

معمولاً موش ها وقتی در دست گرفته می شوند، ادرار می نمایند. اگر یک لوله آزمایش داشته باشیم با بلند کردن موش از قفس، می توان ۱ یا ۲ قطره ادرار از ناحیه تناسلی آن جمع نمود. در صورت لزوم، موش را با دست نگه داشته و بخش انتهایی شکم (روی مثانه) را به آرامی ماساژ می دهند تا ادرار کردن حیوان تحریک شود. لازم به ذکر است لوله آزمایش باید قبلاً زیر ناحیه تناسلی قرار گرفته باشد تا بتوان ادرار را جمع آوری نمود. در صورتی که بیش از یک یا دو قطره نیاز است باید چند مرتبه نمونه گیری نمود یا این که موش در قفس متابولیسم قرار گیرد. این یک قفس مخصوص است که با کف سیمی که بر روی یک پایه قیفی شکل قرار داده شده است. ادرار (و مدفوع) از بین سیم ها چکیده و از طریق قیف در یک مجرای جمع کننده که زیر قفس است جمع می شود. نمونه هایی که از این طریق بدست می آیند برای مطالعات میکروبیولوژی مناسب نیستند.

مدفوع: (Feces)

مدفوع خشک و گاهی تازه را می توان از کف قفس یا از بخش هایی که کف آنها سیمی است بدست آورد. برای جمع آوری مدفوع تازه از رکتوم، ریشه دم موش را گرفته و آن را بلند می نماییم، یک لوله آزمایش زیر مقعد قرار داده و به آرامی آن را به سمت بالا و عقب فشار می دهیم تا یک تکه مدفوع از رکتوم خارج شده و به داخل لوله بیافتد. در بعضی موش ها می توان دو تا سه تکه مدفوع را در یک زمان کوتاه بدست آورد. برای این کار بعد از هر بار موش را به قفس برگردانده و بعد از مدتی دوباره عمل فوق را تکرار می کنیم. برای جمع آوری مدفوع می توان از قفس متابولیک هم استفاده کرد.

نمونه برداری برای تجزیه DNA: (Samples for DNA analysis)

آزمایشات ژنتیک یک نیاز معمول در جمعیت موش های مدرن است (مثلاً تعیین این که موش ها حامل ژن علاقه هستند). این امر معمولاً از طریق تجزیه نمونه های بافتی موش با استفاده از روش های ساترن بلات یا واکنش زنجیره پلی مراز (PCR) انجام می شود. بافت های مختلفی بدین منظور استفاده می گردند که عبارتند از: خون، بزاق و سلول های اپی تلیوم رکتوم. رایج ترین نمونه معمولاً نوک دم است. در موش های جوان اگر این کار قبل یا کمی بعد از قطع شیردهی باشد، نیازی به بیهوشی نیست. بدین منظور ابتدا موش با یک دست نگه داشته شده و حدود ۵ میلی متر از دم آن با استفاده از چاقوی جراحی و با ضربه منفرد بریده می شود و برای بند آوردن خون می بایست زخم را فشار داد. در موش های مسن تر یا در صورتی که بافت بیشتری نیاز به قطع شدن داشته باشد، لازم است که حیوان بیهوش گردد. در موش های مسن تر، خونریزی مشکل مهمی بوده و برای التیام زخم مدت زمان بیشتری لازم است.

نمونه از واژن: (Vaginal swabs)

نمونه واژینال برای تعیین مرحله فحلی در موش ماده استفاده می شود. اگرچه این روش باعث کاهش کارایی زاد و ولد در موش ها می شود، با این حال از آن گاهی برای اهداف تجربی استفاده می شود. به منظور نمونه گیری، ابتدا موش با یک دست نگه داشته شده و یک سواب پنبه ای مرطوب وارد واژن می شود. (توجه داشته باشید که بیشتر سواب هایی که به طور تجاری تهیه می شوند برای این منظور بزرگ هستند، یک سواب با اندازه مناسب را می توان از طریق پیچیدن یک پنبه بهداشتی استریل به دور یک خلال دندان بدست آورد). سواب به آرامی و محکم چرخانده می شود و سپس در آورده شده و بر روی یک لام میکروسکوپی شیشه ای چرخانده می شود.

به محض این که نمونه در معرض هوا خشک شدن ، آن را با محلول آبی ۰/۱ ٪ متیلن بلو رنگ آمیزی می کنند. بعد از خشک شدن لام، آن را زیر میکروسکوپ بررسی نموده و به صورت زیر تفسیر می نمایند:

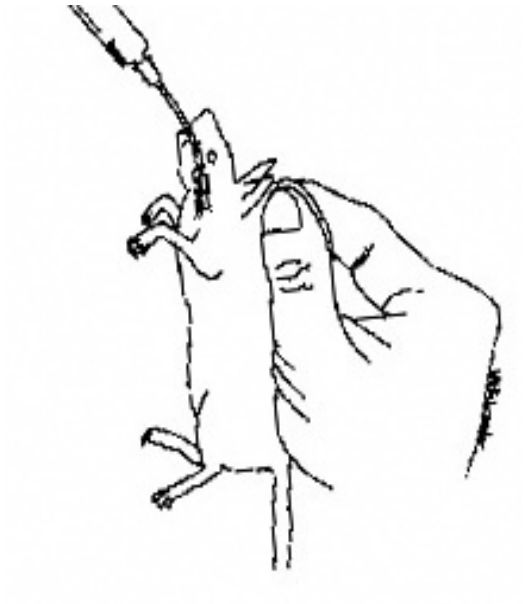
- Diestrus: سلول ها شامل لنفوسیت هایی با هسته های چند شکلی اولیه (PMNs) با بعضی سلول های اپی تلیال
- Proestures: سلول های اپی تلیالی هسته دار و مشخص با PMNs هایی در مرحله اولیه
- Estrus: سلول های اپی تلیالی مشخص و غالب با سلول های چند هسته ای که در اولین مراحل دیده می شوند.
- Metestrus: سلول های اپی تلیالی مشخص و PMNs های غالب با سلول های اپی تلیالی چند هسته ای.

تجویز ترکیبات: (Compound administration)

داروها و سایر ترکیبات به طرق مختلف به موش های آزمایشگاهی تجویز می گردند. افرادی که این تکنیک ها را استفاده می کنند قبل از کار با حیوانات زنده و بیهوش نشده، می بایست آموزش دیده و تجربه کافی را داشته باشند. روش های معمول تجویز ترکیبات عبارتند از:

دهانی: (Po)

بعضی ترکیبات خوراکی می توانند به صورت اضافه نمودن در غذا یا آب تجویز شوند. با این حال تحت بهترین شرایط، تجویز مقادیر دقیق دارو در این روش مشکل است و موش ها هم ممکن است در مصرف غذا و آب تهیه شده، مقاومت نمایند. به همین دلیل، تجویز مستقیم ترکیبات مورد نظر از راه دهان ترجیح داده می شود. در این روش، ابتدا موش با یک دست نگه داشته شده و به درستی مهار می گردد، به طوری که سر حیوان کاملاً بی حرکت باشد. در این حالت یک لوله تجویز دهانی (gavage) از راه دهان وارد شده و به معده هدایت می گردد (شکل ۴– ۵). ترکیب مورد نظر از طریق یک سرنگ که به لوله ای متصل شده است تزریق می گردد. مشکل بالقوه ای که در این تکنیک وجود دارد این است که لوله به جای معده به سمت نای و ریه ها برود.



شکل ۴– ۵– تجویز دهانی معدی. ابتدا لوله غذا به پشت حلق هدایت شده و از مری به داخل معده وارد می شود. باید مراقب بود که داخل نای نرود.

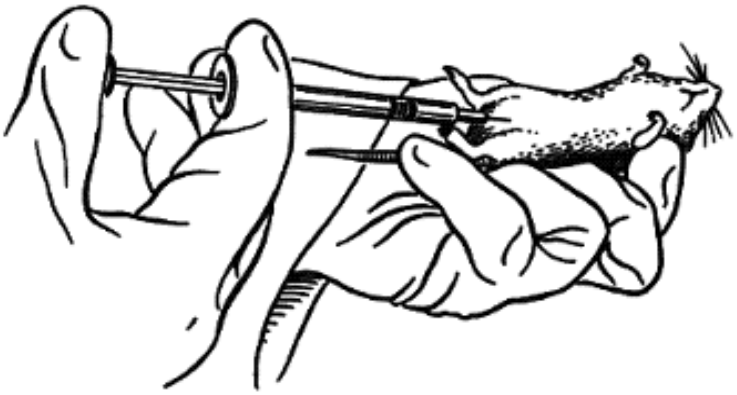
این مشکل این طور مشخص می شود که آیا راه لوله مسدود شده و موش شروع به سرفه، خفگی و یا تلاش و دست و پا زدن بعد از تجویز دارو می نماید یا این که دارو بعد از تجویز به داخل بینی بر می گردد. در صورت مشاهده هریک از علایم مذکور، می بایست بلافاصله لوله را بیرون کشید. همچنین درصورت اعمال فشار بیش از حد، پارگی هایی در حنجره یا مری ممکن است روی دهد و در صورت بروز این جراحات بعد از تجویز دارو، هیدروتوراکس (تجمع مایع در قفسه سینه) رخ خواهد داد. اگر مشخص شود مایع به داخل ریه ها رفته است، می بایست موش بیهوش گردد.

داخل عضلانی: (IM)

برای تزریق داخل عضلانی معمولاً از عضلات پشت پا یا بالای ران استفاده می شود. ابتدا موش با یک دست نگه داشته شده و یک سوزن شماره ۲۵ (که به یک سرنگ متصل است) را به داخل پوست و سپس ماهیچه وارد می کنند. قبل از تجویز دارو، می بایست پیستون سرنگ را کمی بیرون کشیده و آسپیره نماییم. در صورتی که خون به داخل سرنگ برگردد، احتمالاً سر سوزن به داخل عروق خونی وارد شده است و می بایست تزریق را مجدداً در محل دیگری تکرار نمود.

داخل صفاقی: (IP)

تزریق داخل صفاقی به مربعی فرضی، در سطح شکمی- خلفی چپ (برای اجتناب از ورود به سکوم که در طرف راست است) صورت می گیرد. بدین منظور ابتدا موش با یک دست نگه داشته شده و سر و بدنش به سمت پایین خم می گردد. سپس با یک حرکت سریع، نوک سوزن پوست را سوراخ نموده و وارد حفره شکم می شود.

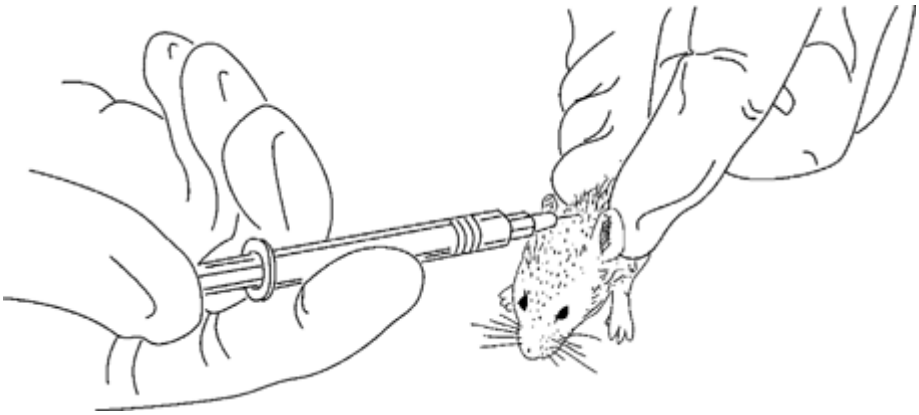


شکل ۵- ۵- تزریق داخل صفاق. سر سوزن را به داخل مربع چپ شکمی فرو برده و برای اطمینان از این که وارد عروق خونی شده یا نه پیستون سرنگ کمی به عقب کشیده می شود.

ورود آهسته، تردید و یا تأخیر در وارد نمودن سوزن ممکن است باعث عدم موفقیت در سوراخ کردن عضلات شکم شود. قبل از تجویز دارو، بهتر است پیستون سرنگ کمی عقب کشیده شده و آسپیره گردد، اگر هر گونه مایعی به درون سرنگ بازگردد، نشانه ورود سوزن به یکی از ارگان های داخلی بوده و می بایست جای سر سوزن تغییر یابد. با آموزش و تمرین می توان درصد موفقیت در تزریق داخل صفاقی را افزایش داد. به هر حال ریسک تزریق به یکی از ارگان های شکمی همیشه وجود دارد. این امر اگر چه ممکن است پیامد جدی و سختی را برای موش نداشته باشد ولی جذب آهسته و نامعین دارو را باعث می شود.

زیر جلدی: (SC)

این روش به نحوه مهار موش بستگی دارد و در واقع در هر بخشی از پوست که قابلیت کشیده شدن و انجام تزریق وجود داشته باشد، این عمل قابل انجام است. معمولاً تزریقات زیر جلدی در ناحیه پوست شل روی گردن یا بخش فوقانی پشت موش صورت می گیرد، چرا که امکان جذب در این بخش ها بیشتر از سایر نواحی بدن می باشد (شکل ۶- ۵)



شکل ۶- ۵- تزریق زیر جلدی. تزریق بداخل فضای زیر جلدی پشت و شانه ها به راحتی ممکن خواهد بود.

همچنین در پوست محکم تری که روی بخش قدامی شکم است نیز، می توان تزریق مذکور را انجام داد؛ بدین ترتیب که نوک سوزن را وارد پوست نموده و چند میلی متر فرو برده می شود. با فشار دادن پیستون سرنگ، نمی بایست با هیچ مقاومتی روبرو گردید. وجود مقاومت، این احتمال را مطرح می کند که سوزن کاملاً پوست را سوراخ نکرده است.

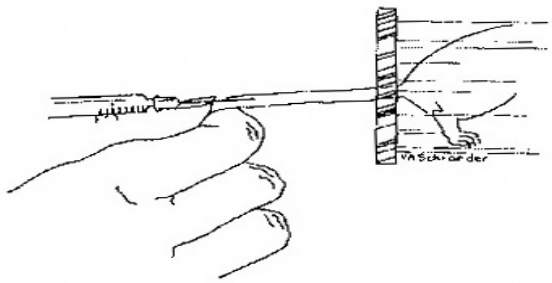
داخل پوستی: (ID)

تزریقات داخل پوستی از طریق پوست پشت بدن/گردن، جلوی شکم یا پاها انجام می گیرد. این تکنیک بسیار شبیه تزریق زیر جلدی است با این تفاوت که نوک سوزن به جای زیر پوست بین لایه های پوست قرار می گیرد. بر خلاف تزریق زیر جلدی، مقاومت هم در مرحله فرو بردن سوزن و هم در حین تزریق می بایست احساس شود. در تزریقات موفق داخل پوستی، حتی در مقادیر کم دارو نیز یک حالت تاول مانند سخت در محل تزریق دیده می شود. این نوع تزریق در همه گونه ها مشکل است، لیکن در موش مشکل تر است؛ چون پوست آن نازک تر است. کنار زدن موها در محل تزریق، دید شخص را بهتر کرده و احتمال موفقیت را افزایش می دهد.

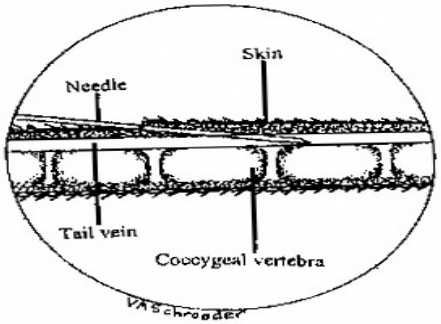
داخل وریدی: (IV)

بهترین ناحیه برای تزریق داخل وریدی در موش، ورید های ناحیه خارجی دم است. این عروق به راحتی دیده می شوند، لیکن بدلیل کوچک بودن قطر آنها، تزریق نیازمند تجربه و مهارت قابل توجهی است. برای این کار موش را در یک مهار کننده قرار می دهند. گرم کردن موش، یا فقط دم آن، باعث اتساع ورید ها و سهولت کار می گردد. نور مناسب نیز در پیشرفت کار مناسب خواهد بود. یک سوزن کوچک (شماره

۲۷ یا کوچکتر) داخل پوست و سپس داخل ورید گردیده و حدود ۲ میلی متر فرو برده می شود (شکل ۷- ۵ و ۸- ۵). در صورت درست بودن محل فرو بردن سوزن به داخل ورید، هیچ گونه مقاومتی هنگام تزریق احساس نمی شود. متعاقب تزریق داروی مورد نظر، خون در ورید به جلو رانده شده و به ظاهر متسع می گردد.



شکل ۷-۵: تزریق داخل وریدی. تزریق به داخل ورید کناری دم با قرار دادن موش در یک مهار کننده امکان پذیر است.



شکل ۸-۵: نمای نزدیک وضعیت داخلی دم در حین تزریق داخل رگی. به سوراخ کردن پوست و وارد شدن سر سوزن به داخل سیاهرگ دمی توجه شود.

پمپ ها و لوله های کاشتنی: (Implantable cannulas and pumps)

پمپ های اسموتیک که به صورت زیر پوستی یا داخل شکمی قرار داده می شوند، می توانند برای تجویز پیوسته و آرام دارو در طی روزها یا هفته ها مورد استفاده قرار گیرند. پیوند زدن طی یک عمل جراحی و با استفاده از تکنیک های عاری از میکروارگانیسم (عفونت) می بایست انجام شود. لوله های قابل پیوند، امکان دسترسی مداوم به سیستم شریانی یا وریدی را برای ما فراهم می نمایند. این روش بیشتر در حیوانات بزرگ استفاده می شود، لیکن ابزارهای بسیار کوچک جهت استفاده در موش ها نیز به طور تجارتی در دسترس می باشند. با استفاده از یک تکنیک عاری از عفونت و دقیق، لوله های کوچک در ورید یا شریان (عروق رانی، ورید جوگولار و شریان کاروتید، نواحی معمول و رایج بدین منظور می باشند) قرار داده شده و تثبیت می گردند. انتهای دیگر لوله ها نیز به یک بخش کوچک که در موقعیت زیر پوستی و معمولاً روی شانه ها محکم شده، متصل می گردد.