

刘琳,王砚明,赵惠民,等. 新型大鼠严重失血性休克模型的建立 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(12): 65-70,102.

Liu L, Wang YM, Zhao HM, et al. Establishment of a new model of severe hemorrhagic shock in rats [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(12): 65-70,102.

doi: 10. 3969/j.issn.1671-7856. 2021. 12. 010

新型大鼠严重失血性休克模型的建立

刘琳¹,王砚明^{1*},赵惠民²,贾东辉³,刘昱¹

(1.河北农业大学生命科学学院,河北保定 071001;2.保定市第一医院胸外科,河北保定 071066;

3.保定市第二医院胸外科,河北保定 071051)

【摘要】 目的 目前的出血动物模型常表现为血压波动范围大,脑组织损伤有限,因此本研究试图用大鼠建立一个无明显血压波动的长期严重失血性休克模型。**方法** 将 10 mL 注射器空筒固定在外科手术板上方 47.58 cm 的位置作为储血库。大鼠麻醉后经右侧股动脉插管,利用压力差使血液自动放出到储血库,以此诱导休克。休克过程中上下轻微移动注射器空筒调节注射器内的血液水平来控制平均动脉血压(MAP)。28 只雄性 SD 大鼠按不同复苏方法随机分为 4 组,每组休克持续 3 h,实验过程中实时监测各组大鼠的生理情况和血流动力学指标,并在休克前后采血进行动脉血气分析,HE 染色观察大脑海马神经元损伤情况。**结果** 各组在 3 h 失血性休克期间,MAP 可以准确地维持在 31~35 mmHg 范围内;在 3 h 休克结束时各组大鼠均能存活,未复苏(RN)组 7 只中有 6 只在休克结束后的 2 h 内死亡,复苏(RB 和 RR)组在复苏后 3 h 内均可存活;与休克前相比,各组休克后血 pH 值显著下降,血乳酸显著升高;失血性休克后 20~30 min 出现最大失血量,且最大失血量和最终失血量非常相近;病理结果显示所有大鼠海马神经元均有明显损伤。**结论** 采用注射器空筒储血技术,能准确控制 MAP,防止明显的血压波动,有助于建立持续性严重失血性休克模型。这种失血性休克模型能诱导可靠的脑损伤、有高度重复性、既可定压又可定容,因此可用于研究失血性休克的病理生理变化和治疗效果。

【关键词】 休克;血压控制;储血;酸中毒;海马神经元

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2021) 12-0065-06

Establishment of a new model of severe hemorrhagic shock in rats

LIU Lin¹, WANG Yanming^{1*}, ZHAO Huimin², JIA Donghui³, LIU Yu¹

(1. College of Life Science, Hebei Agricultural University, Baoding 071001, China. 2. Department of Thoracic Surgery, Baoding First Hospital, Baoding 071066. 3. Department of Thoracic Surgery, the NO.2 Hospital of Baoding, Baoding 071051)

【Abstract】 Objective Current hemorrhagic animal models often have a wide range of blood pressure fluctuation and limited brain tissue damage. We aimed to develop a prolonged severe hemorrhagic shock model without significant blood pressure fluctuation in rats. **Methods** A 10 mL syringe was fixed on a wall at 47.58 cm above a surgical operating board to serve as a blood reservoir. A hemorrhagic shock model was induced by automatically withdrawing blood into the 10 mL syringe. Mean arterial blood pressure (MAP) was controlled by adjusting the blood level inside the syringe. Twenty-eight rats were randomly divided into four groups in accordance with different resuscitations. The hemorrhagic shock episode lasted for 3 h. The physiological conditions and hemodynamic indexes of rats in each group were monitored in real-time and arterial blood gas was analyzed before and after the shock. Brain hippocampal neuronal damage was assessed by HE staining. **Results** MAP was accurately maintained at 31~35 mm Hg by keeping the blood level inside the syringe at 47.58

[基金项目] 河北省第七批百人计划项目(1064003)。

[作者简介] 刘琳(1996—),女,硕士研究生,研究方向:细胞生物学。E-mail: hbbdzmt@163.com

[通信作者] 王砚明(1967—),男,教授,研究方向:神经生物学与心脑血管研究。E-mail: hbunxk@163.com

cm above the surgical operating board throughout the 3 h hemorrhagic shock episode. The rats in all groups had survived at the end of the 3 h shock. Rats in the non-resuscitation group had died within 2 h after the end of the shock and those in resuscitation (RB and RR) groups had survived within 3 h after resuscitation. There was a significant decrease in blood pH and increase in blood lactate. Maximum blood loss had occurred at 20~30 min after hemorrhagic shock and the maximum blood loss was very close to the final blood loss. Pathology revealed marked hippocampal neuronal damage in all rats.

Conclusions The syringe blood reservoir is useful to establish lengthy severe hemorrhagic shock with accurate control of MAP. This highly reproducible hemorrhagic shock model induces reliable brain damage to investigate pathophysiological changes and therapeutic effects of hemorrhagic shock.

【Keywords】 shock; blood pressure control; blood reservoir; acidosis; hippocampal neuron

失血性休克是一种外科常见的急危重症,是由于急性失血量超过机体总循环血量的 20%(五分之一)而引起血液灌流减少,导致细胞功能所需的氧气和营养物质输送不足,它是创伤病例中最常见的死亡原因,也是全球总寿命损失的主要原因^[1-3]。在过去的几十年中,人们已经做了大量的努力来阐明与严重出血相关的病理生理机制,已经建立了各种各样的实验条件,使研究人员能够研究低血容量性休克的影响,并评估各种治疗方案的潜在益处^[4-8]。然而,将这些实验结果转化为临床应用的治疗仍是一个挑战,部分原因可能是当前实验中使用的动物模型^[9-16]。目前失血性休克的研究主要采用三种基本模型:定容出血模型、定压出血模型和非控制性出血模型^[17-20]。这些模型至少有两个缺点。首先,广泛的血压波动导致了人们对实验的标准化和重复性的考量;第二,短期严重低血压很难引起组织损伤。为了引起可靠的组织损伤,平均动脉压(MAP)必须维持在一个较低的水平,并持续较长时间。大量失血导致心脏供血迅速减少,引发高死亡率。因此,在目前的模型中,出血发作时间通常太短(少于 90 min),无法诱导组织损伤。例如, Carrillo 等^[21]、Capone 等^[22]表明,在 40 mm Hg 的 MAP 下持续 60 min 或 30 mm Hg 的 MAP 下持续 45 min 的失血性休克不会对术后存活的大鼠造成细微的功能或组织学脑损伤,而将 MAP 控制在 30 mm Hg 的水平有可能导致心脏骤停。此外,低血压发作时间较短的动物模型显然不能很好地模拟某些严重失血性休克患者持续出现的轻微神经行为缺陷的临床表现^[23]。因此,我们开发了一种新型的大鼠失血性休克模型,可以克服这些缺点。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 30 只,体重 250~300 g,8~

10 周龄,均购于北京维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(京)2016-0006]。将所有大鼠饲养在温度 22℃~25℃和湿度 55%~65%的控制室内,光照和黑暗条件 12 h 交替循环,适应环境一周,期间可自由饮水和进食。大鼠无菌手术实验操作与组织取材均在河北医科大学新药安全评价研究中心设施内进行[SYXK(冀)2018-005]。本研究方案已通过河北农业大学生命科学学院机构动物保护和使用委员会批准(批准号 SM20171)。并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀。

1.2 主要试剂与仪器

异氟烷、小动物麻醉机(深圳瑞沃德公司);肝素钠注射液(江苏万邦公司);BL-420F 信号采集和分析系统(成都泰盟公司);血气分析仪(ABL80 Flex,丹麦 RADIOMETER)。

1.3 实验方法

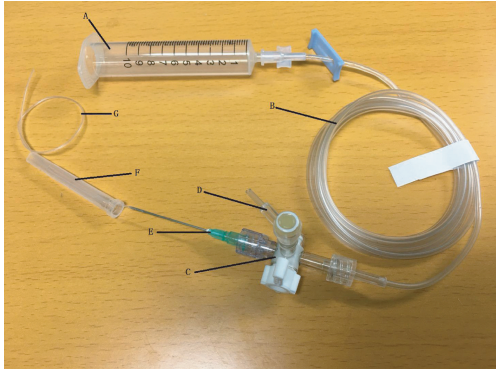
1.3.1 注射器储血库的连接方法

血液储存装置(注射器储血库)连接方法如图 1 所示。10 mL 注射器用作血液储存器,将注射器固定在墙壁上,在外科手术板上方 47.58 cm 处有 0.0 mL 标记。注射器血液储存器回路用肝素溶液(12 000 U/mL)冲洗,防止凝血。

1.3.2 模型制备

将大鼠麻醉,根据动物失去脚蹬反射(捏脚趾)证实麻醉状态。在整个休克期间,仔细监测动物,如果有任何醒来的迹象,则加大麻醉气体流量,重复麻醉。监测大鼠的直肠温度,并在整个实验过程中用手术灯加热保持直肠温度在(37±1)℃。在无菌条件下,通过局部切口剥离右侧股动脉,将 PE-50 管插入右侧股动脉。每只大鼠通过股动脉注射 500 U/kg 肝素。将 PE-50 管进一步推进腹主动脉(从腹股沟韧带到管尖端约 1 cm 长),从腹主动脉导出血液到注射器血库中来诱导休克,当血压下降到所需水平时记录出血性休克开始时间。在休克期间,目

标 MAP 为 35 mm Hg。在失血性休克期间,必须上下移动注射器,使其与目标 MAP 对应高度处的血液水平相匹配。从理论上讲,47.58 cm 高度处的血液水平在地球重力(1 mm Hg $\approx$ 1.3595 mm H₂O)下产生 35 mm Hg 压力。注射器储血器内的血液作为反馈机制,有助于控制动脉血压恒定,即当大鼠血压升高时,它会自动放血到注射器储液器中,当大鼠血压下降时,它会自动回输血液,以此维持整个休克发作期间的血压稳定。



注:A:注射器(10 mL);B:Baxter 非 DEHP 高流量延长装置(或 1.5 米长的 PE-190 管);C:三通旋塞阀;D:连接到血压传感器的接头;E:20 号针头;F:20 号针头保护器;G:20 cm 长的 PE-50 管。通路中液体的总体积约为 2 mL。

图 1 注射器储血库的连接

Note. A, Syringe (10 mL). B, Baxter non-DEHP high-flow rate extension set (or 1.5-meter-long PE-190 tubing). C, Three-way stopcock. D, Connector to blood pressure transducer. E, 20-gauge needle. F, 20-gauge needle cap protector. G, 20 cm PE-50 tubing. The total prime volume in the circuit was approximately 2 mL.

Figure 1 Connection of the syringe blood reservoir

1.3.3 观察指标

在实验期间连续监测 EKG。将血压传感器连接到三通旋塞以测量血压。使用 BL-420F 信号采集和分析系统获得血压和心率。记录最大失血量和最终失血量,即在 3 h 休克期间注射器储血库中达到的最高血液水平和在失血性休克结束时的血液水平。使用 ABL80 Flex 血气分析仪检测出血前和休克结束后的酸碱度(pH 值)、乳酸(Lac)、氧分压(PaO₂)、二氧化碳分压(PaCO₂)、血红蛋白(Hct)。病理检测:大鼠处死后,所有大鼠灌注 10% 福尔马林缓冲液,在室温下收集并固定大脑一周,石蜡包埋切片(4 μ m)用苏木精-伊红染色,研究人员用双盲法评估海马神经元的组织病理学变化。

1.3.4 实验分组

2 只大鼠进行假手术处理,仅测量股动脉血压和心率,未引起失血性休克。将剩余 28 只大鼠随机分为 4 组(如表 1),每组中的大鼠都经历 3 h 的失血性休克。选择这种失血性休克发作时长,是据报道提示短期和不太严重的失血性休克不会引起明显的组织损伤^[21-23]。实验结束时对所有大鼠实施安乐死,在正常体温下腹腔注射 200 mg/kg 戊巴比妥钠。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件。所有变量均以平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。统计学差异采用单因素方差分析,如若存在差异,则两两比较采用 LSD-*t* 检验。在应用方差分析之前,使用 Kolmogorov-Smirnov 检验评估数据分布。结果表明,所有参数数据均为

表 1 实验分组($n=7$)
Table 1 Experimental grouping

组别 Groups	处理 Method
HS 组 HS group	仅经历 3 h 的失血性休克 All rats only subjected to 3 hours of hemorrhagic shock
RN 组 RN group	经历 3 h 失血性休克,关闭血液储液器,丢弃血液,不复苏,室温(25℃)下恢复 3 h After hemorrhagic shock episode, the blood syringe reservoir was closed, blood discarded. All rats were allowed to self-recover for 3 hours without any resuscitation, then were euthanized at end of self-recovery period
RB 组 RB group	经历 3 h 失血性休克,通过回输自身失血进行复苏(超过 10 min),室温(25℃)下恢复 3 h After hemorrhagic shock episode, all rats were resuscitated by blood infusion. The blood in the syringe reservoir was re-infused back via femoral artery(over 10 minutes). All rats were allowed to recover for 3 hours
RR 组 RR group	经历 3 h 失血性休克,通过回输乳酸林格氏溶液(37℃)进行复苏(1.5 mL/(kg·min);超过 10 min),室温(25℃)下恢复 3 h After hemorrhagic shock episode, all rats were resuscitated by Ringers solution. The blood syringe reservoir was closed, and the blood discarded. Warm(37℃)Ringers solution was infused at 1.5 mL/(kg·min) ute via femoral artery (over 10 minutes). All rats were allowed to recover for 3 hours

正态分布。采用 Kaplan-Meier 生存分析和 log-rank 检验分析 RN、RB、RR 组的大鼠生存时间。 $P < 0.05$ 被认为具有统计学意义(双尾)。样本量根据 Capone 等^[23] 的研究中的失血性休克模型和 Charan 等^[24] 的动物数量计算方法计算。

2 结果

2.1 存活率

使用注射器储血库建立的大鼠失血性休克动物模型,在 3 h 休克结束后所有大鼠均能存活(各组存活率 100%)。复苏期断开注射器血库后,RB 组和 RR 组复苏后大鼠均能存活 3 h。然而,在 RN 组中,存活率显著降低(约 14%, $P < 0.05$),7 只大鼠中有 6 只在失血性休克后 25、28、45、50、60 和 120 min 死亡。大鼠死亡定义为血压低于 15 mm Hg、呼吸丧失或心脏骤停。

2.2 血压和心率

两只接受假手术的大鼠,在整个实验过程中,血液 MAP 保持在 110~125 mm Hg 之间,心率保持在 260~276 bpm 之间。在休克前(Baseline)或休克期间,实验组之间的 MAP 和心率没有显著差异。

所有组测得的血压和心率值见表 2 和表 3。在血液达到注射器的 0.0 mL 标记后 5 min 内,MAP 从基线下降到目标血压。在手术台上方 47.58 cm 处保持注射器储血库内的血液水平,HS、RN、RB、RR 组的 MAP 分别保持在(31.1±2.9)、(34.6±2.1)、(35.3±3.2)、(33.8±1.5) mm Hg(与休克前相比, $P < 0.05$)。失血性休克还导致各组心率显著降低(与休克前相比, $P < 0.05$)。

表 2 平均动脉压

Table 2 Mean arterial blood pressure

组别 Groups	休克前(mm Hg) Before shock	休克期间(mm Hg) During shock	复苏期间(mm Hg) During resuscitation
HS 组 HS group	97.6±6.9	31.1±2.9 *	/
RN 组 RN group	94.7±11.5	34.6±2.1 *	20 (only one rat)
RB 组 RB group	104.2±11.7	35.3±3.2 *	90±21.2 *
RR 组 RR group	116.8±10.5	33.8±1.5 *	35.5±10.2 *

注:与休克前比较, * $P < 0.05$ 。

Note. Compared with baseline, * $P < 0.05$.

在没有复苏的情况下,当注射器储血库的血液通道关闭时,MAP 逐渐下降到 0.0 mm Hg,导致 7 只大鼠中有 6 只死亡。对于一只存活的大鼠,实验结束时 MAP 非常低,约 20 mm Hg(RN 组)。在休克结束后,血液再输注复苏使得 MAP 显著增加至(90±21.2) mm Hg(RB 组)。乳酸林格氏液复苏后,实验结束时血压仅为(35.5±10.2) mm Hg。复苏 RB 组 MAP 值和心率显著高于 RR 组($P < 0.05$)。

2.3 血气、乳酸和血红蛋白浓度(Hct)

血气、乳酸和 Hct 数据见表 4。失血性休克后各组血 pH 值和 Hct 值均较休克前(Baseline)显著降低($P < 0.05$),血乳酸值显著升高($P < 0.05$),而 PO_2 和 PCO_2 均保持在正常范围,与休克前相比无太大变化。

2.4 失血量

体重和失血量数据见表 5。失血性休克后 20~30 min 出现最大失血量。失血性休克期间最大失血量和最终失血量非常接近。以注射器中的出血量加上血液回路中的血液量(2 mL)计算失血量。

2.5 病理学评价

HE 染色后,光镜观察结果显示,假手术的大鼠海马 CA1 区锥体细胞排列规则,结构清楚,细胞层次丰富,神经元膜完整,细胞核形态正常。失血性休克(HS)组海马 CA1 区锥体细胞排列较规则,细胞层次减少,部分神经元胞膜破裂,细胞萎缩。未灌注(RN)组海马 CA1 区锥体细胞排列较规则,细胞层次减少,大量神经元胞膜破裂,细胞萎缩。血液灌注(RB)组海马 CA1 区锥体细胞排列较规则,细胞层次减少,全部神经元胞膜破裂,细胞严重萎缩。乳酸林格氏液灌注(RR)组海马 CA1 区锥体细胞排列不规则,细胞层次严重减少,全部神经元胞膜破裂,细胞严重萎缩。(如图 2)。

表 3 心率值

Table 3 Heart rate

组别 Groups	休克前(bpm) Before shock	休克结束(bpm) End of shock	复苏期间(bpm) During resuscitation
HS 组 HS group	283±44	217±45 *	/
RN 组 RN group	320±40	267±24 *	200 (only one rat)
RB 组 RB group	303±21	222±34 *	284±56 *
RR 组 RR group	294±41	174±37 *	199±33 *

注:与休克前比较, * $P < 0.05$ 。

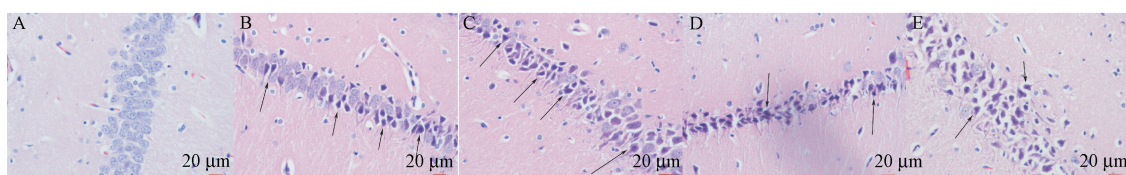
Note. Compared with baseline, * $P < 0.05$.

表 4 血气和乳酸含量
Table 4 Blood gas and lactate

组别 Groups	采血点 Blood sampling	酸碱度 pH	乳酸含量 Lactate (mmol/L)	氧分压 PO ₂ (mm Hg)	二氧化碳分压 PCO ₂ (mm Hg)	血红蛋白浓度 Hct (%)
HS 组	Baseline 休克前	7.39±0.04	0.8±0.5	86±10	40±10	35±3
HS group	End of shock 后	7.24±0.06*	5.2±2.5*	89±10	43±10	26±7*
RN 组	Baseline 休克前	7.38±0.03	0.6±0.5	87±15	43±11	36±5
RN group	End of shock 后	7.23±0.08*	5.8±3.5*	90±13	44±12	27±6*
RB 组	Baseline 休克前	7.37±0.05	0.7±0.8	90±11	45±13	37±3
RB group	End of shock 后	7.24±0.09*	5.9±3.7*	89±12	43±11	29±8*
RR 组	Baseline 休克前	7.38±0.07	0.9±0.7	88±15	41±12	33±3
RR group	End of shock 后	7.25±0.07*	5.7±2.9*	87±15	42±14	26±9*

注:与休克前比较, * $P < 0.05$ 。

Note. Compared with baseline, * $P < 0.05$



注:28 只大鼠随机分为 4 组。各组均经历 3 h 失血性休克(每组 7 只)。A:假手术大鼠的正常海马锥体细胞;B:HS 组;C:RN 组;D:RB 组;E:RR 组。HS:失血性休克 3 h;RN:无任何复苏处理;RB:自身血液复苏;RR:乳酸林格氏液复苏。海马锥体神经元萎缩,核染色质浓缩,染色较深(箭头所示)。

图 2 大鼠海马 CA1 区苏木精-伊红染色

Note. Twenty-eight rats were randomly divided into 4 groups. All groups were subjected to hemorrhagic shock for 3 hours ($n = 7$ in each group). A, Rat that underwent the sham procedure with normal pyramidal cells. B, HS group. C, RN group. D, RB group. E, RR group. HS, Hemorrhagic shock for 3 hours. RN, Recovery by nothing. RB, Resuscitation by blood infusion. RR, Resuscitation by Ringer's solution. Pyknotic hippocampal pyramidal neurons were shrunken with condensed and deeply stained nuclear chromatin (arrows).

Figure 2 HE staining of rat hippocampus samples taken from the CA1 region

表 5 体重和失血量
Table 5 Body weight and blood loss

组别 Groups	体重(grams) Body weight	最大失血量(mL) Max blood loss	最终失血量(mL) Final blood loss
HS 组	266±41	9.4±1.6	9.2±1.9
HS group			
RN 组	253±17	9.3±1.5	9.3±1.5
RN group			
RB 组	252±11	9.4±1.4	9.4±1.4
RB group			
RR 组	259±16	9.3±1.6	9.3±1.6
RR group			

注:各组体重、最大失血量和最终失血量的比较。

Note. Comparison of body weight, maximum blood loss and final blood loss among groups.

3 讨论

Lamson 等^[25]和 Vivaldi 等^[26]在 20 世纪 40 年代建立了一种能精确控制血压的犬失血性休克模型。然而,这种有价值的技术在很大程度上被忽视了。值得注意的是,与使用大型动物相比,啮齿动物的使用具有许多伦理和经济上的优势。本研究

应用这种储血技术来克服模拟失血性休克的啮齿动物模型研究中的技术缺陷:血压波动范围大,并且难以维持长时间的严重失血性休克以诱发可靠的组织损伤。

在传统的休克模型中,给动物放血直到动脉压力达到预定水平,然后在必要时通过反复出血或输液来手动维持压力^[27]。然而,通常很难确定何时以及在多大程度上输注或抽出血液。手动控制血压会导致显著的血压波动。因此,传统的“定压”模型并没有真正表现出定压,因为缺乏有效的技术来控制广泛的血压波动。在定容出血模型中,在不同的实验中,30%~60%的估计血容量被放出,并且低血压的程度没有被正确定义。大鼠失血量随体重和每只大鼠的 Hct 而变化^[28]。在计算休克时间之前,出血时间也因动物而异。因此,目前的失血性休克模型总是遇到标准化和再现性的问题。大量失血导致心脏供血迅速减少,导致高死亡率,从而显著地限制了休克的持续时间。为了在实验中引起可靠的组织损伤,MAP 必须在一定时间内保持在较低

的水平。Stein 等^[29]报告称,持续不到 20 min 的 25~30 mm Hg MAP 不会对大鼠造成危及生命的器官损伤。Hoppen 等^[30]报告,45 mm Hg 的 MAP 持续 60 min 不会对大鼠造成严重损害。此外,研究表明,在 40 mm Hg 的 MAP 下持续 60 min 或 30 mm Hg 的 MAP 下持续 45 min 的失血性休克不会导致轻微的功能或组织学脑损伤^[21-23]。

通过新设计的注射器储血库装置,能够准确地控制血压而无波动。在 3 h 失血性休克发作期间,MAP 准确地维持在 31~35 mm Hg 左右(表 2)。休克发作时,只需监测注射器血库内的血液水平,并上下移动注射器,使血液水平高于大鼠身体(心脏位置)47.58 cm。理论上,由于重力作用,大鼠身体上方 47.58 cm 处的血液水平产生了 35 mm Hg 的压力。根据预先确定的血压自动调节输注或输出。因此,血压波动很小。从技术上讲,可能会出现轻微的血压波动,但只有在延迟移动注射器以使储液器内的血液水平较长时间保持高于大鼠身体上方 47.58 cm 时才会发生。恒定的 MAP 保证了基本的心脏供血,失血性休克期可轻松维持 3 h,PO₂ 和 PCO₂ 保持也在正常范围内(表 4)。鉴于血液再输注后 MAP 恢复到(90±21.2) mm Hg(RB 组,表 2),因此认为在该模型中心肺功能相对保持或有恢复的潜力。很可能我们的注射器血库抵消了血压下降,从而阻止了冠状动脉血流的显著减少。在整个 3 h 的休克过程中,最大失血量和最终失血量非常接近,大约在 9.2~9.4 mL 之间。大鼠血流量约为 50~70 mL/Kg^[30]。对于体重约 250 g 的大鼠,该模型中的失血量至少相当于循环血流量的 60%。因此,该模型不仅是定压模型,而且是定容模型。经过如此长时间的严重失血性休克后,能够在所有的实验组中发现明显的脑损伤。海马组织对缺血缺氧比较敏感,其损伤时的特征是大量的神经元固缩,如图 2 所示。失血性休克 3 h 导致该模型严重乳酸酸中毒(表 4,显著降低血 pH 值和乳酸升高)。7 只未复苏的大鼠中有 6 只在 3 h 失血性休克发作后 120 min 内死亡(RN 组),但所有失血后经过液体复苏的大鼠在整个实验期间均可存活(RB 组和 RR 组)。这意味着尽管有严重的出血,这个模型依然是可以救治的。

总之,利用注射器血库建立的高重复性失血性休克模型可以成为研究失血性休克的病理生理变化、器官/组织损伤和治疗效果的非常有用的工具。

参考文献:

- [1] Vincent JL, De Backer D. Circulatory shock [J]. Engl J Med, 2013, 369(18): 1726-1734.
- [2] Korff S, Loughran P, Cai C, et al. TLR2 on bone marrow and non-bone marrow derived cells regulates inflammation and organ injury in cooperation with TLR4 during resuscitated hemorrhagic shock [J]. Shock, 2016, 46(5): 519-526.
- [3] Tisherman SA, Schmicker RH, Brasel KJ, et al. Detailed description of all deaths in both the shock and traumatic brain injury hypertonic saline trials of the resuscitation outcomes consortium [J]. Ann Surg, 2015, 261(3): 586-590.
- [4] Frankel DA, Acosta JA, Anjaria DJ, et al. Physiologic response to hemorrhagic shock depends on rate and means of hemorrhage [J]. J Surg Res, 2007, 143(2): 276-280.
- [5] Bulger EM, Jurkovich GJ, Nathens AB, et al. Hypertonic resuscitation of hypovolemic shock after blunt trauma: a randomized controlled trial [J]. Arch Surg, 2008, 143(2): 139-148.
- [6] Molina PE. Endogenous opioid analgesia in hemorrhagic shock [J]. J Trauma, 2003, 54(5): S126-S132.
- [7] King EG, Bauzá GJ, Mella JR, et al. Pathophysiologic mechanisms in septic shock [J]. Lab Invest, 2014, 94(1): 4-12.
- [8] Nakagawa M, Hori S, Adachi T, et al. Adenosine triphosphate-sensitive potassium channels prevent extension of myocardial ischemia to subepicardium during hemorrhagic shock [J]. Shock, 2008, 30(2): 178-183.
- [9] Moore FA. The use of lactated ringer's in shock resuscitation: the good, the bad and the ugly [J]. J Trauma, 2011, 70(5): S15-S16.
- [10] Lomas-Niera JL, Perl M, Chung CS, et al. Shock and hemorrhage: an overview of animal models [J]. Shock, 2005, 24(1): 33-39.
- [11] Chiara O, Pelosi P, Brazzi L, et al. Resuscitation from hemorrhagic shock: experimental model comparing normal saline, dextran, and hypertonic saline solutions [J]. Crit Care Med, 2003, 31(7): 1915-1922.
- [12] Anaya-Prado R, Pérez-Gómez N, Toledo-Pereyra LH, et al. Small molecule selectin inhibitor in global cerebral ischemia and controlled hemorrhagic shock [J]. J Trauma, 2008, 65(3): 678-684.
- [13] Matsiukevich D, Piraino G, Lahni P, et al. Metformin ameliorates gender- and age-dependent hemodynamic instability and myocardial injury in murine hemorrhagic shock [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2017, 1863(10): 2680-2691.
- [14] Annane D, Bellissant E, Cavaillon JM. Septic shock [J]. Lancet, 2005, 365(9453): 63-78.
- [15] Hildebrand F, Weuster M, Mommsen P, et al. A combined trauma model of chest and abdominal trauma with hemorrhagic shock--description of a new porcine model [J]. Shock, 2012, 38(6): 664-670.

(下转第 102 页)

- Human embryonic stem cell-derived mesenchymal stem cells improved premature ovarian failure [J]. *World J Stem Cells*, 2020, 12(8): 857-878.
- [23] 许冰心. 机械刺激在体小鼠早衰卵巢激活休眠卵泡的实验研究 [D]. 沈阳: 中国医科大学, 2020.
- [24] Shen J, Cao D, Sun JL. Ability of human umbilical cord mesenchymal stem cells to repair chemotherapy-induced premature ovarian failure [J]. *World J Stem Cells*, 2020, 12(4): 277-287.
- [25] 赵玮, 邢彦彦, 李文. 不同浓度顺铂对 C57BL/6 小鼠卵巢功能的影响 [J]. *中国临床医学*, 2020, 27(1): 106-110.
- [26] 王臻, 黄康榕, 王月玲, 等. 经血来源于细胞移植在小鼠卵巢早衰模型中的定位分布 [J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2017, 38(6): 803-808.
- [27] 赵宏伟. 紫杉醇与多烯紫杉醇对小鼠卵巢功能影响及 GnRHa 对其预防作用研究 [J]. 山西: 山西省肿瘤医院, 2018.
- [28] Li Y, Qiu W, Zhang Z, et al. Oral oyster polypeptides protect ovary against d-galactose-induced premature ovarian failure in C57BL/6 mice [J]. *J Sci Food Agric*, 2020, 100(1): 92-101.
- [29] 刘小虎, 赵志慧, 周玥, 等. PI3K/Akt/mTOR 自噬通路在人参皂苷 Rg₁ 延缓 D-gal 诱导的卵巢早衰小鼠模型卵巢早衰中的作用 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(24): 6036-6042.
- [30] 尹郭伟. 构建小鼠卵巢早衰模型研究 p204 在卵泡发育中的作用 [D]. 济南: 山东大学, 2017.
- [31] Liu R, Zhang X, Fan Z, et al. Human amniotic mesenchymal stem cells improve the follicular microenvironment to recover ovarian function in premature ovarian failure mice [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 299.
- [32] Rostami Dovom M, Noroozadeh M, Mosaffa N, et al. Induced premature ovarian insufficiency by using D galactose and its effects on reproductive profiles in small laboratory animals: a systematic review [J]. *J Ovarian Res*, 2019, 12(1): 96.
- [33] Cao LB, Leung CK, Law PW, et al. Systemic changes in a mouse model of VCD-induced premature ovarian failure [J]. *Life Sci*, 2020, 262: 118543.
- [34] 杨凤, 李燕皎, 王运林, 等. 手术双侧卵巢去势法建立骨质疏松树鼯模型 [J]. *昆明医科大学学报*, 2016, 37(1): 24-27.
- [35] 陈刚, 史美枢, 刘萧, 等. 雌性食蟹猴去卵巢 (OVX) 诱导骨质疏松动物模型建立及评价 [J]. *上海交通大学学报(农业科学版)*, 2019, 37(1): 87-94.

[收稿日期] 2021-01-14

(上接第 70 页)

- [16] 向成芳, 骆立晖, 赵会民, 等. 麻醉对建立大鼠重度创伤失血性休克模型的保护性作用 [J]. *中国比较医学杂志*, 2020, 30(5): 68-74, 80.
- [17] 金辰, 徐东刚. 失血性休克动物模型研究进展 [J]. *军事医学*, 2017, 41(1): 73-76.
- [18] Kohut LK, Darwiche SS, Brumfield JM, et al. Fixed volume or fixed pressure: a murine model of hemorrhagic shock [J]. *J Vis Exp*, 2011, 52: 2068.
- [19] Rönn T, Lendemann S, de Groot H, et al. A new model of severe hemorrhagic shock in rats [J]. *Comp Med*, 2011, 61(5): 419-426.
- [20] Morgan CE, Prakash VS, Vercammen JM, et al. Development and validation of 4 different rat models of uncontrolled hemorrhage [J]. *JAMA Surg*, 2015, 150(4): 316-324.
- [21] Carrillo P, Takasu A, Safar P, et al. Prolonged severe hemorrhagic shock and resuscitation in rats does not cause subtle brain damage [J]. *J Trauma*, 1998, 45(2): 239-248.
- [22] Capone A, Safar P, Radovsky A, et al. Complete recovery after normothermic hemorrhagic shock and profound hypothermic circulatory arrest of 60 minutes in dogs [J]. *J Trauma*, 1996, 40(3): 388-395.
- [23] Capone A, Safar P, Stezoski SW, et al. Uncontrolled hemorrhagic shock outcome model in rats [J]. *Resuscitation*, 1995, 29(2): 143-152.
- [24] Charan J, Kantharia ND. How to calculate sample size in animal studies? [J]. *J Pharmacol Pharmacother*, 2013, 4(4): 303-306.
- [25] Lamson PD, De Turk WME. Study on shock induced by hemorrhage. XI. A method for the accurate control of blood pressure [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1945, 83(2): 250-252.
- [26] Vivaldi E, Macinelli S, Günther B. Experimental hemorrhagic shock in dogs: Standardization [J]. *Res Exp Med (Berl)*, 1983, 182(2): 127-137.
- [27] 刘江伟, 钱建辉, 李瑞, 等. 沙漠干热环境下创伤失血性休克大鼠模型的建立 [J]. *中国比较医学杂志*, 2015, 25(2): 30-33, 86.
- [28] Lee HB, Blafox MD. Blood volume in the rat [J]. *J Nucl Med*, 1985, 26(1): 72-76.
- [29] Stein HJ, Hinder RA, Oosthuizen MMJ. Gastric mucosal injury caused by hemorrhagic shock and reperfusion: Protective role of the antioxidant glutathione [J]. *Surgery*, 1990, 108(2): 467-473.
- [30] Hoppen RA, Corso CO, Grezzana TJ, et al. Hypertonic saline and hemorrhagic shock: hepatocellular function and integrity after six hours of treatment [J]. *Acta Cir Bras*, 2005, 20(6): 414-417.

[收稿日期] 2020-08-20