



沙漠干热环境下创伤失血性休克大鼠模型的建立

刘江伟, 钱建辉, 李 瑞, 许文娟, 许永华, 杨向新, 杨 帆

(兰州军区乌鲁木齐总医院新疆特殊环境医学重点实验室, 乌鲁木齐市, 新疆 830000)

【摘要】 目的 建立一种沙漠干热环境下创伤失血性休克大鼠模型。**方法** 90 只雄性 SD 大鼠随机分为常温环境组、干热环境 I 组、干热环境 II 组 3 个实验组。麻醉后大鼠经打击及颈动脉放血, 造成创伤失血性休克, 使大鼠 MAP(平均动脉压)达到 (35 ± 5) mmHg 水平, 比较各组大鼠休克后 3 h 存活率, 并对死亡大鼠及休克后 3 h 仍存活大鼠重要脏器取材进行病理学检查。**结果** 休克后 3 h 常温环境组、干热环境 I 组(在休克模型建立成功后 10 min 内从沙漠干热环境转运到常温环境)、干热环境 II 组(休克模型建立成功后仍放置在沙漠干热环境中)的存活率分别为 90%、83.3%、0;干热环境 I 组与常温环境组存活率差异无显著性($P > 0.05$), 常温环境组和干热环境 I 组存活率明显高于干热环境 II 组($P < 0.01$);病理学检查可见常温环境组、干热环境组 I 死亡大鼠和干热环境组 II 大鼠心、肺、肝组织水肿、变性、白细胞浸润、出血较广泛, 细胞坏死较严重。**结论** 本实验成功建立了沙漠干热环境下创伤失血性休克大鼠模型, 同时提示沙漠干热环境能明显降低创伤失血性大鼠的存活率, 伤后应立即转运后送。

【关键词】 干热环境; 沙漠; 创伤失血性休克; 动物模型; 大鼠

【中图分类号】 R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2015) 02-0030-04

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2015.002.008

Establishment of a rat model of traumatic hemorrhagic shock in dry hot desert environment

LIU Jiang-wei, QIAN Jian-hui, LI Rui, XU Wen-juan, XU Yong-hua, YANG Xiang-xin, YANG Fan
(Key Laboratory of Special Environmental Medicine of Xinjiang, Urumqi General Hospital of
Lanzhou Military Region, Urumqi 830000, China)

【Abstract】 Objective To establish a rat model of traumatic hemorrhagic shock in dry-hot desert environment.
Methods Ninety male SD rats were randomly equally divided into three groups ($n = 30$): the normal temperature environment traumatic hemorrhagic shock group (normal temperature group) (temperature 25°C , humidity 35%), dry-hot traumatic hemorrhagic shock group I (dry heat group I) and dry-hot traumatic hemorrhagic shock group II (dry heat group II) (temperature 40°C , humidity 10%). The rats were anesthetized, fixed, and intravenous indwelling needles were inserted into the right carotid artery, vein and the right femoral artery so as to make bleeding, and at the same time, fracture of the left hindlimb femur was made from the dropped steel wheel. The wounds were quickly bounded after injury. The mean arterial pressure was kept at 35 ± 5 mmHg. The rats of group I was transferred into normal environment. The rats of group II were kept in the dry-hot environment continuously. The 3h-survival rates were calculated, and all the rats were sacrificed at 3 hours after the traumatic injury. Heart, lung and liver tissue samples were taken for histopathological

[基金项目] 军队临床高新技术重大项目(编号:2010gxjs016); 全军后勤科研计划项目(编号:2013CLZ13J004)。

[通讯作者] 刘江伟(1970-), 男, 博士后, 教授, 主任医师, 重点实验室主任, 硕士研究生导师, 研究方向: 特殊环境战创伤研究。E-mail: ljw273@sohu.com.

examination using HE staining. **Results** In the normal environment group, one rat died within less than 2 hours and 2 rats died within 2–3 hours after injury. In the dry-hot environment group I, 2 rats died within 1 hour and 3 rats died within 2–3 hours. In the dry-hot environment group II, 5 rats died within 1 hour and all the rest 27 rats died within 2.5 hours. The survival rates of the normal temperature group, dry-hot groups I and II were 90%, 83.3%, and 0, respectively. There were no significant difference between the normal temperature group and the dry hot group I ($P > 0.05$), but significant difference between the normal temperature group and dry-hot group I and the dry-hot group II ($P < 0.01$). The pathological observation showed that the heart, lung and liver of the dead rats of the normal temperature group, dry hot groups I and in the dry hot group II had more severe edema, degeneration, leukocyte infiltration, wide-spread hemorrhage, and cell necrosis. **Conclusions** We have successfully established a rat model of traumatic hemorrhagic shock in dry-hot desert environment. The results of this study indicate that the hot desert environment may seriously decrease the survival rate of traumatic hemorrhagic shock rats. It suggests that in dry-hot environment, the traumatic hemorrhagic shock patients should be transported to a normal temperature and humidity environment as soon as possible.

【Key words】 Dry-hot environment; Traumatic hemorrhagic shock; Animal model; Rats; Survival

创伤失血性休克是由于机体受到创伤后,各重要脏器受损、大量出血,造成机体循环血量骤减,微循环灌注量下降及伴随伤后剧烈疼痛、恐惧等各种综合因素而形成的机体代偿失调的综合征。研究表明,50%的战伤死亡是急性失血所致,约 1/3 的患者在收住入院前已经死于失血性休克,其中高达 50% 死亡率发生在创伤后 24 h 以内,20% 的死亡率发生在 2 h 内^[1-2]。戈壁、沙漠地区夏季的气候特点主要表现为气温高、干燥、昼夜温差大^[3]。夏季炎热干燥的气候增加了机体的热应激反应,在机体受到创伤时更能诱发休克的发生,增加后续补液治疗的难度和死亡率。目前国内少有沙漠干热环境下创伤失血性休克的文献报道。本研究拟在沙漠干热环境下建立一种创伤失血性休克模型,为此环境下创伤失血性休克的病理生理机制及救治研究奠定基础。

1 材料和方法

1.1 实验动物和环境

选取 90 只健康的雄性 SD 大鼠,体质量 280 ~ 320 g,由新疆医科大学动物中心提供,生产合格证号:SCXK(新) 2011-004,使用合格证号:SYXK(新) 2011-003。实验大鼠随机分成 3 组,每组 30 只,常温环境组在常温环境下(25℃、湿度 35%)致伤,伤后 10 min 内运回动物实验室;干热环境 I 组大鼠放置在模拟的沙漠干热环境气候模式下(40℃、湿度 10%),放置 60 min 后开始造模,模型成功后 10 min 内运回常温环境的动物实验室;干热环境 II 组造模方法同干热环境 I 组,模型成功后仍将大鼠放置干热环境中。模拟环境在“西北特殊环境人工实验舱”(兰州军区乌鲁木齐总医院研制)中进行。

1.2 仪器与设备

BL-420F 生物机能监测系统(成都泰盟公司)、BI-2000 电子计算机图像分析仪(成都泰盟公司)、24G 静脉留置针。

1.3 实验方法

1.3.1 创伤失血性休克模型的建立:实验前将大鼠常规禁食、水 6 h,干热环境 I 组和干热环境 II 组大鼠,放置在沙漠干热模拟环境中(40℃、湿度 10%) 60 min,大鼠可以自由活动,参照孙英刚等文献建立创伤失血性休克模型^[4],应用 3% 戊巴比妥进行腹腔麻醉,在大鼠右侧颈动、静脉和右侧股动脉插管放置静脉留置针,将 BL-420F 生物机能监测系统连接于右侧颈动脉插管处,进行血压等血流动力学指标的监测;补液通道通过右侧颈静脉插管进行;右侧股动脉插管用于放血。将肝素钠生理盐水(500 U/kg)预处理留置针并在针内保留肝素盐水,连接三通管以备血压监测和采血。将实验大鼠稳定 10 min 后,将重达 2 500 g 铁轮从 30 cm 高度落下击中大鼠左下肢股骨中上段造成粉碎性骨折,简单包扎创伤肢体,经右股动脉留置针处放血使 MAP 维持在(35 ± 5) mmHg,如果血压不能维持则通过右颈静脉补液通道输注生理盐水以维持 MAP。模型建立控制在(25 ~ 30) min 内,将大鼠 MAP 达到(35 ± 5) mmHg 做为休克 0 h 时间点。建模成功后将干热环境 I 组大鼠转移到常温环境中(25℃、湿度 35%),干热环境 II 组大鼠建模与干热环境 I 组相同,建模成功后仍放在人工舱的沙漠干热环境中,常温环境组创伤在常温常湿环境中进行。

1.3.2 观察指标:比较各组大鼠 3 h 存活率,将死亡的大鼠立即取材,对建模后 3 h 仍存活大鼠进行麻醉后取出重要脏器,用 4% 多聚甲醛固定,石蜡包

埋,切片,HE 染色,在光学显微镜下观察组织病理学变化。

1.4 统计学方法

统计学分析应用 SPSS 17.0 统计软件进行。采用 Fisher's 确切概率法进行存活率的比较,以 $\alpha = 0.05$ 为显著性检验水准。

2 结果

2.1 大鼠存活情况

常温环境组休克后 2 h 内有 1 只大鼠死亡,2 ~ 3 h 时间内死亡 2 只,干热环境 I 组在休克后 1 h 内有 2 只大鼠死亡,2 ~ 3 h 时间内有 3 只大鼠死亡,干热环境 II 组在休克后 1 h 内有 5 只大鼠死亡,休克后 2.5 h 内 30 只大鼠全部死亡,三组大鼠休克 3 h 后存活率见表 1。常温环境组和干热环境 I 组存活率无统计学差异 ($P > 0.05$),常温环境组和干热环境 I 组存活率明显高于干热环境 II 组 ($P < 0.01$)。

表 1 各组大鼠休克 3 h 后存活率
Tab. 1 Survival rates of the rats at 3 hours after traumatic hemorrhagic shock

组别 Groups	存活 Survived	死亡 Dead	存活率 Survival rates
常温环境组 Normal group	27	3	90%
干热环境 I 组 Dry heat group I	25	5	83.3% *
干热环境 II 组 Dry heat group II	0	30	0 **

* $P > 0.05$, 与常温环境组比较; ** $P < 0.01$, 与常温环境组和干热环境 I 组比较

Note. * $P > 0.05$, compared with the normal temperature group; ** $P < 0.01$, compared with the normal temperature group and dry hot group II.

2.2 重要脏器病理改变

肝脏:光镜下可见常温环境组大鼠肝组织基本正常,肝小叶、汇管区清晰,肝细胞结构正常,干热环境 I 组大鼠肝组织肝小叶、汇管区结构欠清晰,少量炎性细胞浸润,肝窦轻度扩张充血,肝细胞轻度浊肿并伴点状出血,干热环境 II 组大鼠肝组织结构消失,肝细胞明显浊肿呈颗粒样变性,肝窦扩张呈弥漫性出血,汇管区高度充血,胆管周围中性粒细胞浸润,伴少量嗜酸性细胞,干热环境 II 组明显较常温环境组和干热环境 I 组病变重(图 1 A-C)。

肺脏:光镜下可见常温环境组大鼠肺组织没有明显病理性变化,与正常组织无明显差异,干热环境 I 组大鼠肺组织可见少量中性粒细胞在支气管聚集,肺间质散在巨噬细胞浸润,肺泡壁略增厚,上皮增生,毛细血管轻度扩张充血,干热环境 II 组与干

热环境 I 组大鼠肺组织均可见肺间质巨噬细胞的浸润,充血、水肿、肺泡间隔增宽等变化,但以干热环境 II 尤为明显,而且出现肺泡腔狭窄,肺泡壁血管高度充血、渗出性出血等变化(图 2 D-F)。

心脏:常温环境组大鼠心肌肌束排列整齐,心肌细胞未见水肿,心肌肌间隙血管未见扩张,偶见点状出血,干热环境 I 组大鼠心肌出现心肌间血管轻度扩张充血、点状出血,细胞核有散在轻度肿胀,干热环境 II 组大鼠心肌肌间隙血管高度充血,细胞核肿胀明显,偶见心肌嗜酸性变,病变明显较常温环境组和干热组 I 病变重(图 3 G-I)(图 1 ~ 3 见文后彩插 7)。

3 讨论

创伤失血性休克会导致有效血容量明显减少、血流灌注不足、微循环障碍,从而直接影响主要脏器如肝、肺、心脏等的功能,若无法及时得到有效救治,2 h 内的致死率为 20%^[2]。机体重要脏器的损伤和功能改变,必然导致机体对应激调节功能的障碍,进而引起多脏器功能不全,影响机体的预后和转归。夏季炎热干燥的气候增加了机体的热应激反应,在机体受到创伤时更能诱发休克的发生。

我们同时成功建立了沙漠干热环境和常温环境下的创伤失血性休克大鼠模型,在人工实验舱的模拟干热环境(40℃、湿度 10%)中,让大鼠自由活动预热 60 min 后,在人工实验舱内致伤并达到休克,干热环境 I 组休克后 10 min 及时转移到常温环境中,模拟创伤后及时后送,该实验组在 3 h 的存活率可达 83.3%,可用于沙漠干热环境下创伤失血性休克的进一步研究。干热环境 II 组大鼠与干热环境 I 组大鼠致伤环境相同,不同之处在于建模后继续留在干热环境中,模拟创伤休克后不能及时后送,在休克后 2.5 h 内全部死亡,提示在沙漠干热环境下的创伤失血性休克的及时后送到常温环境中显得尤为重要。

本研究通过病理切片观察发现常温环境组大鼠肝脏、肺脏、心脏组织没有明显病理性变化,组织结构基本正常。干热环境 I 组大鼠出现轻微组织病变,肝细胞轻度浊肿并伴点状出血,少量炎性细胞浸润,肺泡壁略增厚,上皮增生,毛细血管轻度扩张充血,心肌肌间血管轻度扩张充血、点状出血,细胞核有散在轻度肿胀,均属可逆性组织变性。本实验干热环境 I 组和 II 组在致伤前均在人工实验舱

干热环境(40℃、湿度 10%)模式下自由活动 60 min,相当于给予了一次长时间热应激处理,有研究发现适当的热应激预处理可以诱导热休克蛋白表达,可减轻有害因素对机体细胞的损伤作用^[5],这可能是干热环境 I 组大鼠虽经干热刺激和创伤失血双重作用,其存活率与常温环境组无统计学差异($P > 0.05$)的一个原因。干热环境 II 组大鼠肝组织结构消失,肝细胞明显浊肿呈颗粒样变性,汇管区高度充血,肺泡腔狭窄,肺泡壁血管高度充血、渗出性出血,心肌肌间隙血管高度充血,见心肌嗜酸性变,组织均呈现不可逆性改变,干热环境 II 组明显较常温环境组和干热环境 I 组病变重。提示在持续干热刺激和创伤失血双重作用下,多脏器出现严重炎症反应,且创伤失血性休克伤员若不能得到及时转运,其重要脏器组织将会发生不可逆的病理变化。

本实验在全程麻醉下进行创伤失血性休克的模型制作,在大鼠安静的状态下保证了插管和检测的顺利同时保证致伤点的准确性。本实验采用的沙漠干热环境下创伤失血性休克制作方法在人工舱预热后,无 1 例因热刺激和致伤过重死亡,因而此动物模型具有成功率高和可重复性强的特点,可为进一步研究奠定基础。另外需注意在不影响手术操作的情况下,麻醉要浅,尽量与临床实际相似,肝素用量要控制到最小,以避免出血不止。

鉴于以往不少学者研究在应激、创伤作用下机体的各脏器变化往往是几天后的变化,最早也是在

4~6 h^[6]。我们也将继续研究在沙漠干热环境下创伤失血性休克早期,尤其是 3 h 内的机体重要脏器组织及相关指标在热刺激、创伤、失血等综合因素作用下的病理生理学机制,为沙漠干热环境下创伤失血性休克的临床救治奠定基础。

参考文献:

- [1] Vilella NR, Tsai AG, Cabrales P, et al. Improved resuscitation from hemorrhagic shock with Ringer's lactate with increased viscosity in the hamster window chamber model [J]. J Trauma, 2011, 71(2): 418-424.
- [2] Hassett J, Cerra FB, Siegel J, et al. Multiple systems organ failure—a very brief summary [J]. Injury. 1982, 14(1): 93-97.
- [3] 刘江伟, 张永久, 李泽信, 等. 常温和干热环境下腹部肠管火器伤动物模型的建立 [J]. 创伤外科杂志, 2007, 9: 408-410.
- [4] 孙英刚, 黄宗海, 冯浩森, 等. 创伤性休克大鼠模型建立 [J]. 解放军医学杂志, 2002, 27(12): 1086-1087.
- [5] Otaka M, Okuyama A, Otani S, et al. Differential induction of HSP60 and HSP72 by different stress situations in rats [J]. Dig DisSci, 1997, 42(7): 1473-1479.
- [6] Faletti AG, Mastronardi CA, Lomniczi A. Beta-endorphin blocks luteinizing hormone-releasing hormone release by inhibiting the nitric oxide pathway controlling its release [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999, 96(4): 1722-1726.

[修回日期]2014-12-10

(上接第 25 页)

- 性肾虚耳聋大鼠模型的评价作用 [J]. 中国实验动物学报, 2012, 20(3): 29-32.
- [17] 李琦. 水通道蛋白 1 在豚鼠耳蜗形态改变时的表达及其相关因素分析 [D]. 中国人民解放军军医进修学院, 2006.
 - [18] 杨丽君, 孙立新. 针灸治疗内耳眩晕症 45 例临床观察 [J]. 中国医药导报, 2010, 7(35): 68-69.
 - [19] 王福海. 中药联合针灸治疗梅尼埃病 30 例 [J]. 中医研究, 2012, 25(11): 72-73.
 - [20] 熊锡元, 娄明志. 116 例梅尼埃病听力损失的临床分析 [J]. 医学新知杂志, 2006, 16(2): 120-122.
 - [21] 徐志勇, 刘兆华. 豚鼠膜迷路积水早期的听功能改变 [J]. 中华耳鼻咽喉科杂志, 2002, 37(3): 226-227.

- [22] 贾君君, 解桔萍, 衣艳, 等. 传统手针与电针对比研究现状 [J]. 针灸临床杂志, 2007, 23(4): 62-63.
- [23] 史美育, 曾兆麟, 施建蓉, 等. 针刺对豚鼠皮层听觉中枢兴奋性的影响 [J]. 上海针灸杂志, 1997, 16(3): 29-31.
- [24] 后婕, 戴艳红, 余万东. 盐皮质激素受体对糖皮质激素的影响及其在自身免疫性内耳疾病中的作用 [J]. 听力学及言语疾病杂志, 2014, 22(3): 313-316.
- [25] 杨晨, 杨艳, 刁明芳, 等. 持续静脉给予肾上腺素对大鼠听力以及下丘脑-垂体-肾上腺轴相关激素的影响 [J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2014, 20(1): 21-24.

[修回日期]2014-10-21