论著

文章编号:1000-5404(2009)01-0064-03

评价携氧抗休克液体的动物模型建立

李 涛,刘良明,刁有芳,范小青,廖自福,陈 凤 (第三军医大学大坪医院野战外科研究所第二研究室,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室,重庆 400042)

摘 要: 目的 探讨一种可评价具有携氧功能的抗休克液体的实验动物模型。**方法** SD大鼠在麻醉状态下做35%、45%、55%和65%放血失血性休克模型,以乳酸林格液(LR)、全血进行复苏,观察其对失血性休克大鼠平均动脉血压(mean arterial blood pressure, MAP)、左心室收缩压(left intraventricular systolic pressure, LVSP)、左心室压力上升或下降的最大速率(the maximal change rate of left intraventricular pressure, $\pm dp/dt_{max}$)的影响,同时观察血气指标变化和存活率的变化。**结果** 35%失血性休克后,输注LR和全血均可使MAP恢复到90~100 mmHg水平,同时LR和全血对恢复休克后动物血流动力学指标、血气指标以及对存活率的影响无显著性差异;45%和55%失血性休克后,单纯LR输注不能使MAP恢复到90~100 mmHg水平,且对休克动物的血流动力学指标和血气指标以及存活率的影响明显不及输注全血以后效果好,在55%失血性休克时差异更大。65%放血后动物很快死亡,休克程度太重,不能作为评价模型。**结论** 55%失血性休克大鼠可作为评价具有携氧液体抗休克作用的实验动物模型。

关键词: 失血性休克;乳酸林格液;全血;大鼠

中图法分类号: R-332; R441.9; R969.4 **文献标识码**: A

Rat model of hemorrhagic shock to evaluate antishock effect of oxygen-carrying shock resuscitation fluid

LI Tao, LIU Liang-ming, DIAO You-fang, FAN Xiao-qing, LIAO Zi-fu, CHEN Feng (State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Department 2, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medial University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To establish an experimental animal model which can be used to evaluate the antishock effects of an oxygen-carrying shock resuscitation fluid. **Methods** SD rats were used to make hemorrhagic shock model by 35%, 45%, 55% and 65% hemorrhage respectively under anesthesia. Effects of Lactated Ringer's solution (LR) and whole blood on mean arterial blood pressure (MAP), left intraventricular systolic pressure (LVSP), the maximal change rate of left intraventricular pressure ($\pm dp/dt_{max}$) in those 4 types of hemorrhagic shock rats were observed. Blood gas and 24-hour survival rate were also observed. **Results** For rats with 35% hemorrhagic shock, LR and blood infusion recovered MAP to 90 – 100 mmHg, but had no significantly difference in hemodynamic parameters and blood gas. In 45% and 55% hemorrhagic shock, blood infusion improved hemodynamic parameters and blood gas significantly better than LR infusion. The 24-hour survival rate in blood treatment group were higher than LR group. Animal in 65% hemorrhagic group died soon after hemorrhage, and could not be used as the evaluation animal. **Conclusion** Rats with 55% hemorrhagic shock is an ideal experimental model to evaluate the antishock effect of oxygen-carrying shock resuscitation fluid.

Key words: hemorrhagic shock; Lactated Ringer's solution; blood; rats

基金项目:国家自然科学基金(30600228);教育部长江学者和创新团队发展计划(IRT0712);重庆市自然科学基金(CSTC2007BB5078)
Supported by the National Natural Science Foundation of China (30600228), the Funds for ChangJiang Scholars and Innovative Group from Ministry of Education (IRT0712) and the Natural Science Foundation of Chongqing (2007BB5078)

作者简介:李 涛,女,重庆市人,博士,助理研究员,主要从事创伤休克病理生理学方面的研究。电话:(023)68757420,E-mail:LT200132@163.com

通信作者:刘良明,电话:(023)68757421,E-mail:liuliangming2002@yahoo.com

收稿日期:2008-03-11;**修回日期**:2008-07-28

急性创伤失血性休克在临床实践中经常发生,及时扩充血容量,恢复有效循环血容量是复苏的首要任务[1]。目前临床常用的晶体液和胶体液,对严重休克并不能达到复苏的目的,理想的休克复苏液体除了具有稳定的理化性质,快速补充血容量,增加组织灌流外,还应具有携氧功能[2,3]。目前用来评价晶体液和胶体液的休克模型多为中重模型,由于休克程度不够重,尚不能用来评价具有携氧功能的液体的抗休克复苏效果,为此,本实验探讨建立一种可评价携氧抗休克液的实验动物模型。

1　材料与方法

1.1　动物处理

80 只 SD 大鼠(由本院实验动物中心提供),雌雄各半,13 ~15 周龄,体质量(215.6 ±16.5)g。实验前 12 h 禁食,自由饮水,实验当日戊巴比妥钠(30 mg/kg,腹腔注射)麻醉,作一侧股动脉插管监测血压(MAP)和取血做血气分析,一侧股静脉插管用于给药。经右颈总动脉作左心室插管接压力传感器,用多道生理记录仪(PowerLab,ADInstrument)监测 LVSP 和 ± dp/dt_{max} 等血流动力学指标。术毕,动物稳定 10 min,根据实验设计进行经股动脉插管放血,放血末输入乳酸林格液(LR)(2 倍失血量)或全血(1 倍失血量的全血和 1 倍失血量的 LR)。停止输液,结扎血管,观察 24 h 时存活率。

1.2　分组及指标测定

80 只大鼠分别进行 35%、45%、55% 和 65% 放血,每种程度再分为 LR 和全血组,放血末输入 2 倍失血量的 LR 或 1 倍失血量的全血 +1 倍失血量的 LR,液体在 30 min 输完,分别在休克前,放血末,输液末,输液后 1、2 h 测量 MAP 和血流动力学指标。同时输液末、输液后 1 h 和 2 h 观察血气指标变化,最后统计动物 24 h 存活率。

1.3　统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,血流动力学和血气指标的显著性用双因素方差分析,24 h 存活率用 χ^2 检验。

2　结果

2.1　模型动物 MAP 变化

35% 失血性休克后 LR 和全血组均可使 MAP 达 90 ~ 100 mmHg 水平;45% 和 55% 失血性休克,LR 复苏 MAP 不能达到 90 ~ 100 mmHg 水平;55% 失血性休克时更低,但全血基本可使 45% 和 55% 失血性休克动物 MAP 达到 90 ~ 100 mmHg 水平(表 1);65% 模型动物放血后很快死亡,不能进行后续观察。

2.2　模型动物 LVSP 变化

35% 失血性休克,LR 和全血复苏对休克动物 LVSP 影响无明显差异;45% 失血性休克,输注 LR 后 LVSP 比输注全血低;55% 失血性休克,LR 复苏后 LVSP 显著低于全血复苏组(表 2)。

表 1　模型动物 MAP 的变化(p/mmHg, $n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	放血前	放血末	输液末	输液 1 h	输液 2 h
35% 失血性休克					
LR	120.1 ±12.9	50.0 ±10.5	100.1 ±12.9	98.5 ±8.2	100.6 ±9.2
全血	102.2 ±14.1	45.8 ±6.3	104.1 ±5.2	102.4 ±8.1	100.1 ±8.8
45% 失血性休克					
LR	118.0 ±12.9	31.6 ±10.5	73.1 ±9.0	77.5 ±9.0	74.6 ±10.1
全血	110.1 ±8.8	38.6 ±10.2	101.1 ±12.9[a]	98.3 ±8.2[a]	97.9 ±9.2[a]
55% 失血性休克					
LR	115.2 ±10.7	32.2 ±9.8	67.8 ±10.1	76.5 ±6.9	72.8 ±11.4
全血	118.1 ±10.7	32.4 ±9.8	104.1 ±10.1[b]	99.1 ±6.9[a]	105.1 ±11.4[b]

a:$P<0.05$, b:$P<0.01$, 与同程度休克的 LR 组比较

表 2　模型动物 LVSP 的变化(p/mmHg, $n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	放血前	放血末	输液末	输液 1 h	输液 2 h
35% 失血性休克					
LR	164.8 ±10.1	95.3 ±7.6	154.4 ±9.6	143.2 ±10.1	140.3 ±10.2
全血	165.2 ±9.8	97.9 ±7.6	144.1 ±10.1	140.2 ±9.6	149.5 ±10.1
45% 失血性休克					
LR	172.3 ±9.9	84.5 ±8.9	134.5 ±10.1	134.8 ±12.9	120.5 ±7.9
全血	165.9 ±8.4	91.9 ±5.6	137.4 ±10.2	142.5 ±13.2	145.8 ±9.8[a]
55% 失血性休克					
LR	176.1 ±9.8	83.6 ±10.2	119.2 ±9.6	125.1 ±7.5	115.4 ±11.4
全血	171.1 ±9.8	92.7 ±9.1	143.6 ±9.6[a]	144.5 ±7.5[a]	145.8 ±7.6[a]

a:$P<0.05$, 与同程度休克的 LR 组比较

2.3　模型动物 ± dp/dt_{max} 变化

35% 失血性休克,LR 和全血复苏对休克动物 ± dp/dt_{max} 影响无明显差异;45% 失血性休克,LR 输注后 ± dp/dt_{max} 比全血输注低;55% 失血性休克,LR 复苏后 ± dp/dt_{max} 显著低于全血复苏后组(表 3、4)。

表 3　模型动物 + dp/dt_{max} 的变化(mmHg/s, $n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	放血前	放血末	输液末	输液 1 h	输液 2 h
35% 失血性休克					
LR	4 423 ±259	2 728 ±213	3 828 ±331	4 316 ±352	4 350 ±883
全血	4 891 ±313	2 643 ±201	3 588 ±351	4 438 ±452	4 721 ±569
45% 失血性休克					
LR	4 995 ±469	2 882 ±456	4 170 ±506	3 516 ±399	3 116 ±659
全血	4 255 ±382	2 861 ±319	3 812 ±337	4 617 ±386	4 223 ±194[a]
55% 失血性休克					
LR	5 649 ±446	1 908 ±365	2 847 ±551	2 955 ±568	2 963 ±582
全血	4 802 ±364	2 214 ±326	3 536 ±336	3 506 ±401[a]	4 262 ±421[b]

a:$P<0.05$, b:$P<0.01$, 与同程度休克的 LR 组比较

表 4　模型动物 − dp/dt_{max} 的变化(mmHg/s, $n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	放血前	放血末	输液末	输液 1 h	输液 2 h
35% 失血性休克					
LR	4 504 ±259	1 793 ±213	3 246 ±331	3 690 ±352	3 830 ±883
全血	4 492 ±313	1 924 ±201	3 357 ±351	3 862 ±452	3 724 ±569
45% 失血性休克					
LR	4 259 ±469	1 889 ±456	3 355 ±506	3 224 ±399	3 259 ±659
全血	4 642 ±382	2 082 ±319	3 581 ±337	3 311 ±386	3 995 ±194[a]
55% 失血性休克					
LR	5 016 ±446	1 515 ±365	2 166 ±551	2 841 ±568	2 756 ±582
全血	4 507 ±364	1 634 ±326	3 429 ±336[a]	3 282 ±401	4 066 ±421[a]

a:$P<0.05$, 与同程度休克的 LR 组比较

2.4 模型动物血气指标变化

不同程度休克后,输注 LR 和全血后血气指标变化有明显差异。随着休克程度加重,LR 改善血气指标的效果越来越差。55%失血性休克时,LR 对血气改善作用最差,而全血则可较好改善休克动物血气指标,特别是 pH 值和氧分压及氧饱和度(表5、6)。

表5 模型动物 pH 和二氧化碳分压的变化($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

组别	pH			$p(CO_2)$/mmHg		
	输液末	输液1 h	输液2 h	输液末	输液1 h	输液2 h
35%失血性休克						
LR	7.341±0.005	7.333±0.005	7.365±0.004	36.1±3.2	35.8±2.8	32.8±3.1
全血	7.303±0.005	7.298±0.008	7.339±0.005	37.7±2.4	41.1±2.6	32.8±2.6
45%失血性休克						
LR	7.311±0.003	7.293±0.006	7.291±0.002	35.2±3.2	38.4±3.2	34.4±2.3
全血	7.284±0.005	7.287±0.005	7.342±0.003	39.6±2.1	42.5±2.5[a]	33.9±1.3
55%失血性休克						
LR	7.288±0.005	7.292±0.008	7.242±0.005	35.2±2.5	35.9±2.4	34.1±1.9
全血	7.332±0.005	7.328±0.004[a]	7.398±0.008[a]	32.6±3.2	37.3±2.8	31.9±2.6

a:$P<0.05$, 与同程度休克的 LR 组比较

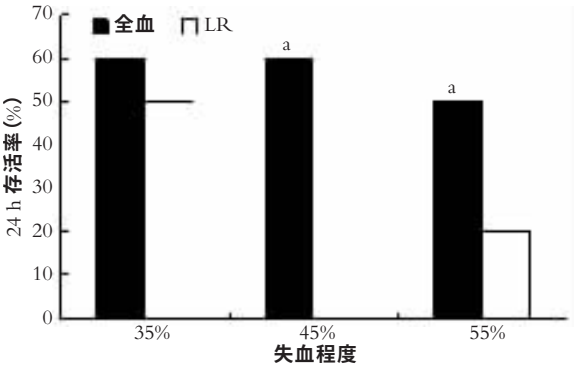
表6 模型动物氧分压和 SaO_2 的变化($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

组别	$p(O_2)$/mmHg			SaO_2(%)		
	输液末	输液1 h	输液2 h	输液末	输液1 h	输液2 h
35%失血性休克						
LR	144.6±7.9	129.8±10.1	122.9±7.9	98.1±0.9	97.2±0.7	97.1±0.9
全血	149.2±9.9	132.1±8.7	123.3±6.5	98.2±1.0	97.3±1.6	97.3±1.3
45%失血性休克						
LR	164.1±9.7	128.9±6.8	118.6±8.2	98.6±0.9	96.3±0.9	96.2±1.1
全血	140.1±10.2	140.1±7.9	117.8±8.6	96.9±1.6	98.1±2.0	96.6±1.2
55%失血性休克						
LR	138.3±7.6	117.5±8.6	106.7±6.6	96.9±1.3	95.8±1.3	93.1±0.9
全血	140.1±9.9	113.1±6.5	108.4±5.8	97.9±1.6	96.1±0.9	96.8±1.1[a]

a:$P<0.05$, 与同程度休克的 LR 组比较

2.5 模型动物存活率的变化

35%失血性休克时,LR 复苏后动物存活率较全血组稍低。随着休克程度加重,LR 和全血复苏后存活率差异逐渐加大,在55%失血性休克时,LR 复苏后的存活率显著低于全血复苏组(图1)。



a:$P<0.05$, 与同程度休克的 LR 组比较

图1 模型动物 24 h 存活率的变化

3 讨论

失血性休克后液体复苏种类目前包括晶体液和胶体液[4]。晶体液主要有乳酸林格液,胶体液以羟乙基淀粉、右旋糖酐临床应用较广泛[5,6]。由于该类液体不具有红细胞的携氧功能,因此评价其复苏效果时通常采用30% ~40%中重度失血性休克模型[7],而在评价具有红细胞携氧功能的液体时,30% ~40%失血性休克模型不能敏感地评估其效果,因此有必要建立一种可评估具有携氧功能液体的实验动物模型。

关于评价此类具有携氧功能的实验动物模型,国外实验室利用特殊装置,在清醒状态下,在动物置管后进行放血。研究显示评价具有携氧功能的液体的动物模型失血量低于50%时不能达到评价此类液体的目的,只有当失血量大于60%时可达到评价的目的。但一般大鼠当放血量大于55%时,很容易死亡,为实现55%放血,本实验在麻醉状态下,采用逐步放血的方式,首次放血20%左右,放置10 min 左右,再继续放血,依次进行放血,放血同时观察动物呼吸血压等情况,基本达到55%失血量,同时观察不同失血量休克后用 LR 和全血作为携氧液体代表进行复苏情况,实验结果显示35%失血性休克后,液体复苏可使 MAP 恢复到90 ~100 mmHg 水平,同时2种液体对恢复休克动物的影响无显著差异,提示这一模型不能区分携氧液与非携氧液的效果。45%和55%失血性休克后,单纯 LR 输注不能使 MAP 恢复到90 ~100 mmHg 水平,且对休克动物的血流动力学指标和血气指标以及存活率的影响明显不及输注全血以后效果好,在55%失血性休克 LR 输注后动物死亡率很高,且对休克动物恢复作用差,而全血具有较好的抗休克作用。65%的失血性休克模型放血后动物很快死亡,其放血方式有待进一步探索。

参考文献:

[1] 蒋荣成, 吕志诚. 失血性休克液体复苏研究的新进展[J]. 中国急救医学, 2004, 24(6): 432 -433.

[2] 高 林, 张文博, 胡永祥, 等. 红细胞代用品的临床研究进展[J]. 中国输血杂志. 2004, 17(6): 468 -471.

[3] Winslow R M. Blood substitute[J]. Adv Drug Delivery Review. 2000, 40: 131 -142.

[4] 李 涛,刘良明,刁有芳,等. 几种不同液体复苏失血性休克大鼠的适量研究[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(3): 199 -202.

[5] Neff T A, Doelberg M, Jungheinrich C, *et al*. Repetitive large-dose infusion of the novel hydroxyethyl starch 130/0.4 in patients with severe head injury[J]. Anesth Analg, 2003, 96(5):1453 -1459.

[6] 徐 军,王 璐,王 仲,等. 四种溶液对失血性休克犬血流动力学的影响[J]. 中华急诊医学杂志, 2007, 16(1): 21 -25.

[7] 刘良明, 胡沛红. 严重创伤休克的液体复苏新进展[J]. 中国危重病急救医学, 2003, 15(5): 314 -316.

(编辑 邓强庭)