doi:10.11659/jjssx.03E017078

·基础研究·

不同低温海水浸泡对清醒大鼠生存时间及死亡率的实验研究

陈丽娜[1],奂剑波[2],史成和[3],代 维[4],袁丹凤[4],周继红[4],韩志海[1] (1.海军总医院呼吸与危重症医学科,安徽医科大学海军临床学院,北京 100048;2.第二军医大学海军临床学院,北京 100048;3.海军总医院海战伤救治研究中心,北京 100048;4.第三军医大学大坪医院野战外科研究所第四研究室,重庆 400042)

[摘 要] **目的** 观察不同温度海水浸泡对清醒大鼠生理状态和生存时间及死亡率的影响。**方法** 100 只 SD 雄性大鼠(腹腔预置温度传感器),随机分为 5 组,分别为 20 ℃海水浸泡组、17 ℃海水浸泡组、15 ℃海水浸泡组、13 ℃海水浸泡组、10 ℃海水浸泡组,每组 20 只,观察和记录 5 组大鼠海水浸泡 2 h 内呼吸、心率及肌颤变化,记录浸泡 24 h 内每只大鼠的生存时间及计算各组的死亡率,回顾性分析浸泡 2 h 内各组大鼠腹腔温度的下降趋势。**结果** 浸泡 10 min,各组大鼠的呼吸、心率均明显上升,但此时各组之间差异没有统计学意义($P>0.05$);10 ~ 40 min 各组大鼠呼吸和心率迅速下降,40 ~ 80 min 下降相对较缓,浸泡 80 min,各组大鼠呼吸有显著性差异($P<0.05$);浸泡 100 min,各组间大鼠心率有显著差异($P<0.05$)。浸泡 20 min,15 ℃组、13 ℃组、10 ℃组肌颤达高峰,各组之间有明显差异($P<0.05$),随后肌颤消失;浸泡 30 min,20 ℃组与 17 ℃组肌颤达高峰,但 2 组之间无明显差异($P>0.05$),随后肌颤维持在一定水平。浸泡 24 h 内,20 ℃组、17 ℃组、15 ℃组、13 ℃组及 10 ℃组大鼠的平均存活时间分别为(23.6 ± 1.23)h、(15.0 ± 4.16)h、(7.7 ± 3.21)h、(2.4 ± 0.91)h、(1.1 ± 0.39)h,组间差异均有统计学意义($P<0.05$)。各大鼠腹腔温度均呈断崖式下降,水温越低,下降越快,浸泡 40 min 后,各组大鼠腹腔温度的差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 不同温度海水浸泡对大鼠的生理状态和生存时间及死亡率产生明显差异,水温越低,生理状态变化越明显,存活时间越短,死亡率越高。

[关键词] 海水浸泡;大鼠;死亡率;生存时间;体温过低症

[中图分类号] R339.6 [文献标识码] A [收稿日期] 2017-03-20

Experimental study on survival time and mortality of conscious rats immersed in different cold seawater

CHEN Li-na[1], HUAN Jian-bo[2], SHI Cheng-he[3], DAI Wei[4], YUAN Dan-feng[4], ZHOU Ji-hong[4], HAN Zhi-hai[1] (1. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Naval General Hospital, Navy Clinical College of Anhui Medical University, Beijing 100048, China; 2. Naval Clinical College, Second Military Medical University, Beijing 100048, China; 3. Naval General Hospital Naval War Treatment Research Center, Beijing 100048, China; 4. Fourth Department of Research Laboratories, Institute of Field Surgery, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To observe the effects of seawater immersion at different temperatures on survival time and mortality and physiological state of non-anesthetized rats. **Methods** Totally 100 SD male rats (The abdominal cavity was implanted with a temperature sensor in advance) were randomly divided into five groups which were immersed in 20 ℃, 17 ℃, 15 ℃, 13 ℃ and 10 ℃ seawater, respectively. Each group contains 20 rats. The changes of respiration, heart rate and muscle fibrillation within 2 hours were observed and the survival time and mortality of each group were counted in 24 hours. The decrease trend of intraperitoneal temperature in rats was analyzed retrospectively within 2 hours. **Results** Soaking for 10 minutes, the respiratory and heart rate of each group were significantly increased, but there was no significant difference among groups ($P>0.05$). The respiratory and heart rate decreased rapidly between 10 and 40 minutes, and the decline was slower relatively between 40 and 80 minutes. Soaking for 80 minutes, the respiration rate of rats among groups had significant difference ($P<0.05$). Immersing for 100 minutes, the heart rates of rats in each group were significantly different ($P<0.05$). Soaking for 20 minutes, the muscle fibrillation of 15 ℃, 13 ℃ and 10 ℃ group reached the peak, and there were significant differences among groups ($P<0.05$), then disappeared. However the rats in 20 ℃ and 17 ℃ group reached the peak at 30 minutes, but there was no significant difference between two groups ($P>0.05$), hereafter the muscle fibrillation was maintained at a certain level. The mean survival time of 20 ℃ group, 17 ℃ group, 15 ℃ group, 13 ℃ group and 10 ℃ group in 24 hours were (23.6 ± 1.23) hours, (15.0 ± 4.16) hours, (7.7 ± 3.21) hours, (2.4 ± 0.91) hours and (1.1 ± 0.39) hours, respectively, and the survival curve of each group was statistically significant ($P<0.05$). The intraperitoneal temperature of rats showed a decline in the cliff, the lower the water temperature, the faster the descending. Soaking for 40 minutes, the difference of intraperitoneal temperature of each group was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** The effects of seawater immersion at different

[基金项目] 海军应用基础研究重点项目(BHJ14C009);海军应用基础研究面上项目(CWS12J012)

[通信作者] 周继红,E-mail:traumazjh@126.com;韩志海,E-mail:hanzhihai@sohu.com

temperatures on the physiological state and survival time and mortality of rats are significantly different. With the decrease of water temperature, the physiological state changes more obviously, the survival time is shorter and the mortality rate is higher.

Keywords: seawater immersion; rat; mortality; survival time; hypothermia

浸泡性体温过低症是指机体落入低温海水后核心温度低于35 ℃的状态。由于海洋特殊的低温环境,低温浸泡易引起机体全身各系统器官功能障碍和代谢紊乱,对生存造成极大威胁[1],并且中重度体温过低症死亡率达60% ~80%[2]。目前对于低温海水浸泡伤的研究仍集中在动物模型上,并且以短时间内麻醉动物肛温降低到低温状态为主[3-4],但是实际落海人员大多存在长时间持续浸泡现象[5],其病情的严重程度与浸泡时长密切相关,因此海水温度和浸泡时长是影响机体存活的关键因素。本实验建立一种不麻醉大鼠海水浸泡性体温过低症模型,观察20 ℃、17 ℃、15 ℃、13 ℃、10 ℃ 5种不同温度海水及不同浸泡时长对大鼠生理状态、生存时间及死亡率的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物与特殊仪器

健康成年雄性SD大鼠100只,体质量为170 ~230 g,由第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供,实验方案经过海军总医院动物伦理委员会批准。温度记录器(iButton,型号DS1922L,Maxim/Dallas公司生产)、自制圆柱状鼠笼(高20 cm,直径6 cm)、恒温水浴箱、人工海水(广州益尔生物工程有限公司,按照比例配制成盐浓度为3%的海水)。

1.2 实验方法

1.2.1 大鼠腹腔温度记录器的植入 给予大鼠1.5%戊巴比妥0.4 mL/100 g腹腔注射麻醉后,在其剑突下右侧进行备皮、消毒,切开长2 cm切口,将提前用石蜡包裹好的温度记录器放入大鼠腹腔肝下方,医用缝合线缝合,消毒后伤口涂抹红霉素软膏和腹腔注射青霉素钠(20万u),手术后持续3 d预防感染[6]。10 d后选取手术切口愈合良好,活动自如,体质量稳定增长,饮食排便良好的大鼠,实验备用。

1.2.2 动物分组与实验 取上述预置温度记录器的100只SD大鼠,按照随机数字编号分为5组,即20 ℃海水浸泡组、17 ℃海水浸泡组、15 ℃海水浸泡组、13 ℃海水浸泡组、10 ℃海水浸泡组,每组20只。实验前大鼠禁食12 h,自由饮水,室温为(21 ±0.5)℃,大鼠分别放入自制圆柱状鼠笼中,直立放置,鼠笼高20 cm,直径6 cm,浸泡在20 ℃、17 ℃、15 ℃、13 ℃、10 ℃的人工海水中,水位达胸骨上端,与上肢齐平,头露在水面以上。动态观察和记录海水浸泡前及浸泡2 h内大鼠的呼吸、心率及肌颤的变化,记录浸泡24 h内各组大鼠的死亡时间并统计死亡率,存活动物于浸泡24 h后活杀。

1.3 腹腔温度的采集分析

动物死亡或活杀后,剖开大鼠腹腔,取出温度记录器,在专业的设备中读出各时间点的腹腔温度,每5 min检测1次腹腔温度,绘制前2 h腹腔温度下降曲线。

1.4 统计学分析

应用SPSS 17.0统计软件对数据进行分析处理。大鼠的腹腔温度、呼吸、心率等计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),方差齐采用LSD进行多重比较。生存率分析采用Kaplan-Meier法进行分析,各组间的差异用long-rank验证。以$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠腹腔温度的变化

浸泡前,20 ℃组、17 ℃组、15 ℃组、13 ℃组和10 ℃组大鼠平均腹腔温度均处于正常范围。浸泡前期,5组大鼠腹腔温度均呈断崖式下降,后下降速度变缓,逐渐趋于平稳,高于水温1 ~2 ℃,上下波动,水温越低,温度下降越快。浸泡40 min时,各组大鼠的温度均下降到总温度的80%左右,此时组间差异均有统计学意义($P<0.05$)。40 min以后,20 ℃组与17 ℃组大鼠腹腔温度接近平衡温度,15 ℃组、13 ℃组及10 ℃组大鼠腹腔温度仍继续下降,约80 min接近平衡温度。浸泡2 h时,10 ℃组大鼠均死亡,余4组存活大鼠平均腹腔温度之间的差异均有统计学意义($P<0.05$),见表1。

2.2 大鼠生理状态的变化

浸泡早期,冷水应激导致各组大鼠的呼吸、心率、肌颤均明显升高,随着核心温度的降低,这些指标逐渐受到抑制。浸泡10 min,各组大鼠的呼吸频率明显增加,但组间差异不明显($P>0.05$)。浸泡40 min,20 ℃组与10 ℃组之间差异有统计学意义($P<0.05$),但是17 ℃组、15 ℃组与13 ℃组之间差异不显著($P>0.05$)。浸泡80 min后,5组之间差异均有统计学意义($P<0.05$),见表2。

表 1 各组大鼠腹腔温度变化($\bar{x} \pm s$,$n=20$,℃)

组别	0 min	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min
20 ℃组	37.5 ±0.18	32.9 ±0.54	29.5 ±0.87	27.0 ±0.84	25.3 ±0.93	24.3 ±0.84	23.8 ±0.83
17 ℃组	37.1 ±0.17	31.1 ±1.17	25.8 ±0.85	22.7 ±0.78	21.3 ±0.73[a]	20.4 ±0.60	19.8 ±0.54
15 ℃组	36.9 ±0.44	30.7 ±0.88	25.0 ±0.87	22.1 ±1.01	19.9 ±1.10[ab]	18.7 ±1.01	17.8 ±0.92
13 ℃组	37.1 ±0.48	30.0 ±1.05	24.8 ±0.86	21.2 ±1.02	19.3 ±1.08[abc]	18.1 ±0.94	17.2 ±0.85
10 ℃组	37.0 ±0.20	27.7 ±0.73	22.0 ±1.40	18.4 ±1.48	16.6 ±1.15[abcd]	14.6 ±0.76	13.6 ±0.61

组别	70 min	80 min	90 min	100 min	110 min	120 min
20 ℃组	23.4 ±0.84	23.1 ±0.84	22.9 ±0.80	22.7 ±0.76	22.6 ±0.73	22.6 ±0.66
17 ℃组	19.5 ±0.49	19.2 ±0.37	19.0 ±0.37	18.8 ±0.35	18.6 ±0.34	18.5 ±0.34[a]
15 ℃组	17.1 ±0.92	16.6 ±0.83	16.2 ±0.70	16.0 ±0.63	15.9 ±0.51	15.6 ±0.40[ab]
13 ℃组	16.4 ±0.76	15.7 ±0.84	15.4 ±0.60	15.1 ±0.45	14.6 ±0.33	14.4 ±0.32[abc]
10 ℃组	12.2 ±0.40	11.6 ±0.42	11.4 ±0.23	11.3 ±0.07	11.2 ±0.00	0.0 ±0.00

a:与 20 ℃组比较,$P<0.05$;b:与 17 ℃组比较,$P<0.05$;c:与 15 ℃组比较,$P<0.05$;d:与 13 ℃组比较,$P<0.05$

表 2 各组大鼠呼吸变化($\bar{x} \pm s$,$n=20$,次/分钟)

组别	0 min	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min
20 ℃组	109.3 ±12.09	124.2 ±13.46	96.5 ±9.85	84.2 ±6.86	72.5 ±5.66	65.8 ±5.73	59.5 ±7.34
17 ℃组	108.9 ±13.28	120.9 ±13.61	90.2 ±8.74	73.2 ±7.23	60.3 ±6.55	52.1 ±6.47	42.8 ±5.40
15 ℃组	109.3 ±12.32	121.8 ±16.02	88.5 ±13.83	72.3 ±8.17	59.5 ±7.39	51.3 ±6.18	42.7 ±5.46
13 ℃组	111.8 ±9.75	122.6 ±10.24	96.2 ±6.86	75.6 ±9.12	55.9 ±6.65	51.7 ±4.75	41.8 ±6.39
10 ℃组	112.9 ±7.95	129.7 ±12.85	93.4 ±9.42	68.1 ±7.67	50.1 ±9.14[a]	36.7 ±6.15	26.2 ±5.52

组别	70 min	80 min	90 min	100 min	110 min	120 min
20 ℃组	54.3 ±5.10	49.6 ±2.80	47.2 ±2.41	45.4 ±2.56	44.1 ±2.57	41.7 ±3.29
17 ℃组	40.7 ±5.52	39.0 ±5.33[a]	36.8 ±4.38[a]	35.6 ±3.72[a]	35.0 ±2.95[a]	34.5 ±2.59[a]
15 ℃组	37.2 ±6.78	31.0 ±4.79[ab]	27.4 ±3.78[ab]	24.2 ±2.12[ab]	22.2 ±2.24[ab]	20.5 ±1.91[ab]
13 ℃组	32.1 ±7.55	26.4 ±5.60[abc]	21.5 ±4.94[abc]	15.3 ±4.72[abc]	14.6 ±3.33[abc]	13.4 ±2.42[abc]
10 ℃组	16.7 ±3.20	15.0 ±3.56[abcd]	14.3 ±1.15[abcd]	12.5 ±0.71[abcd]	11.0 ±0.00[abcd]	0.0 ±0.00

a:与 20 ℃组比较,$P<0.05$;b:与 17 ℃组比较,$P<0.05$;c:与 15 ℃组比较,$P<0.05$;d:与 13 ℃组比较,$P<0.05$

浸泡 10 min,各组大鼠的心率均增加,但差异无统计学意义($P>0.05$)。10 ~40 min,各组大鼠的心率明显下降,浸泡 40 min 时,除了 20 ℃组与 17 ℃组之间无明显差异($P>0.05$),其余各组之间差异均有统计学意义($P<0.05$)。浸泡 80 min 时,各组心率基本接近平衡,此时 17 ℃组与 20 ℃组、15℃组及 13 ℃组与 10 ℃组之间差异不明显($P>0.05$),其余各组之间差异均有统计学意义($P<0.05$)。浸泡 100 min 后,5 组大鼠心率均存在明显差异($P<0.05$),见表 3。

浸泡 10 min 后,大鼠出现明显的肌颤,20 min 时,15 ℃组、13 ℃组、10 ℃组大鼠的肌颤达高峰,各组之间差异有统计学意义($P<0.05$)。30 min 时,20 ℃组与 17 ℃组大鼠的肌颤达高峰,但两者之间无明显差异($P>0.05$),并且 10 ℃组肌颤高峰是 20 ℃组的 1.8 倍。随着核心温度下降,15 ℃组、13 ℃、10 ℃组大鼠的肌颤迅速下降,80 min 左右消失,而 20 ℃组与 17 ℃组大鼠的肌颤一直维持在每分钟 20 次左右,见表 4。

2.3 大鼠生存时间和存活率的比较

24 h 内 20 ℃组、17 ℃组、15 ℃组、13 ℃组、10 ℃组大鼠平均存活时间分别为(23.6 ±1.23)h、(15.0 ±4.16)h、(7.7 ±3.21)h、(2.4 ±0.91)h、(1.1 ±0.39)h,方差分析显示组间差异均有统计学意义($P<0.05$)。各组大鼠浸泡死亡时间见表 5。

24 h 观察期内,20 ℃组大鼠仅死亡 2 只,其他各组大鼠死亡率均高于 20 ℃组。各组大鼠的 Kaplan-Meier 生存曲线比较见图 1。通过 long-rank 检验得出各组大鼠的存活率存在明显差异($P<0.05$)。

表 3 各组大鼠心率变化($\bar{x} \pm s$,$n=20$,次/分钟)

组别	0 min	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min
20 ℃组	371.5 ±23.46	411 ±38.37	315.0 ±25.03	255 ±16.30	216.5 ±20.33	193.8 ±12.86	165.6 ±10.80
17 ℃组	384.5 ±39.13	412.5 ±32.10	290.5 ±26.05	247.3 ±16.66	210.0 ±12.90	190.3 ±15.44	164.8 ±9.97
15 ℃组	378.5 ±29.70	410.3 ±24.41	313.8 ±19.79	238.0 ±16.03	198.3 ±17.28^{ab}	180.0 ±23.29	148.6 ±19.73
13 ℃组	366.5 ±37.03	395.5 ±36.34	279.0 ±17.96	220.8 ±17.72	169.0 ±14.57^{abc}	113.2 ±17.63	79.8 ±12.80
10 ℃组	382.0 ±36.22	387.0 ±51.51	210.5 ±40.19	108.3 ±12.21	82.1 ±10.97^{abcd}	63.2 ±8.75	52.1 ±10.42

组别	70 min	80 min	90 min	100 min	110 min	120 min
20 ℃组	153.0 ±5.40	146.0 ±4.50	142.1 ±5.73	137.1 ±4.62	133.1 ±5.85	128.9 ±6.90
17 ℃组	152.6 ±6.90	142.4 ±7.07	137.6 ±7.20	128.6 ±8.57^{a}	122.5 ±8.43^{a}	113.9 ±8.00a
15 ℃组	140.1 ±19.42	132.2 ±18.72^{a}	119.0 ±18.12	103.9 ±12.40^{ab}	95.0 ±10.45^{ab}	87.9 ±9.62^{ab}
13 ℃组	59.3 ±9.92	56.2 ±6.59^{abc}	51.4 ±5.82	47.3 ±6.39^{abc}	41.4 ±7.10^{abc}	38.1 ±7.02^{abc}
10 ℃组	46.0 ±12.41	40.0 ±9.42^{abc}	37.0 ±5.57	32.5 ±3.54^{abcd}	32.0 ±0.00^{abcd}	0.0 ±0.00

a:与 20 ℃组比较,$P<0.05$;b:与 17 ℃组比较,$P<0.05$;c:与 15 ℃组比较,$P<0.05$;d:与 13 ℃组相比,$P<0.05$

表 4 各组大鼠肌颤变化($\bar{x} \pm s$,$n=20$,次/分钟)

组别	0 min	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min
20 ℃组	0	3.4 ±1.75	26.5 ±4.60	40.5 ±3.96	38.2 ±5.17	36.0 ±4.29	35.8 ±3.66
17 ℃组	0	13.5 ±2.56	29.5 ±3.40	43.5 ±5.45	40.3 ±5.20	38.0 ±5.60	34.9 ±6.32
15 ℃组	0	25.6 ±10.23	46.3 ±11.79^{ab}	42.4 ±6.41	30.8 ±8.13	21.6 ±7.86	15.8 ±6.84
13 ℃组	0	36.6 ±3.56	57.5 ±7.88^{c}	52.7 ±5.86	36.6 ±5.18	21.0 ±3.68	12.4 ±2.67
10 ℃组	0	45.7 ±4.02	71.5 ±10.88^{cd}	57.1 ±15.68	21.7 ±2.82	7.1 ±2.39	1.2 ±1.30

组别	70 min	80 min	90 min	100 min	110 min	120 min
20 ℃组	28.5 ±4.41	26.3 ±4.27	21.4 ±5.01	19.9 ±4.54	18.3 ±4.12	17.9 ±3.98
17 ℃组	24.2 ±6.10	17.7 ±5.18	17.0 ±4.87	15.6 ±4.68	15.0 ±4.54	13.0 ±4.35
15 ℃组	10.7 ±6.66	5.3 ±5.18	1.9 ±3.08	0.2 ±0.49	0	0
13 ℃组	3.5 ±1.78	0.3 ±0.77	0	0	0	0
10 ℃组	0.3 ±0.82	0	0	0	0	0

a:与 20 ℃组比较,$P<0.05$;b:与 17 ℃组比较,$P<0.05$;c:与 15 ℃组比较,$P<0.05$; d:与 13 ℃组比较,$P<0.05$

表 5 各组大鼠浸泡死亡时间(h)

组别	最早死亡	20% 死亡	50% 死亡	80% 死亡	100% 死亡
20 ℃组	20	24	>24	>24	>24
17 ℃组	6	12	15	18	24
15 ℃组	2.5	4	9	10	12
13 ℃组	0.83	1.5	2.5	3	4.5
10 ℃组	0.67	0.83	1	1.33	2

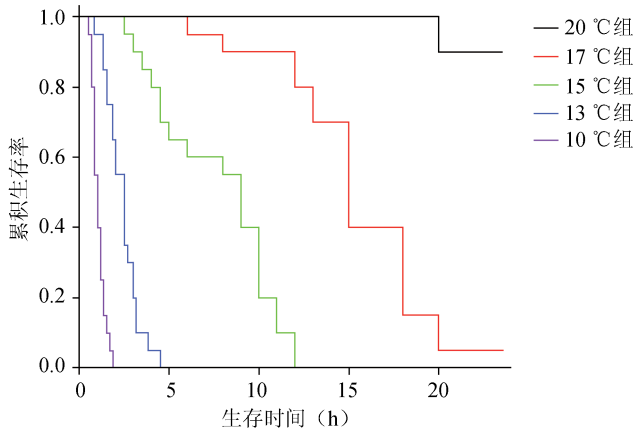


图 1 各组大鼠的 Kaplan-Meier 生存曲线

3 讨论

海难事故中,海员意外坠落入海后,低温浸泡导致的体温过低症是其死亡的主要原因。目前海上各种舰船都配备有漂浮救生设备,在遭遇各种海难时,落水人员可以通过漂浮救生设备暂时逃生,但是对于远离海岸落水人员的营救,援救队伍可能需要几个小时或更长时间才能到达,长时间低温海水浸泡会对机体生理功能产生不同程度的损伤。根据核心温度分类可将体温过低症分为轻度(32 ~35 ℃),中度(28 ~31.9 ℃),重度(28 ℃以下)[7-8]。长时间浸泡在低温海水中,虽然最终核心温度不再下降,但是不同浸泡时长对机体损伤程度不同,因此海水温度和浸泡时长是影响海水浸泡损伤程度的重要因素。核心温度检测对于低温症诊断至关重要,临床上一般选取肛温、鼓膜或者食道等作为核心温度[9],但是对于不麻醉动物的实验研究,这些方法操作困难,且低温下易引起房颤、室颤等心律失常[10]。本实验采用腹腔温度记录器动态记录大鼠温度变化,检测方法方便可行易于操作。

目前我国四大海域渤海、黄海、东海及南海的全年平均气温分布在10~20 ℃,同时地球表面70%的海洋面积中除了热带地区,各水域平均温度也低于20 ℃[11]。因此,本实验选择20 ℃、17 ℃、15 ℃、13 ℃、10 ℃ 5种海水温度,研究不同温度海水及浸泡时间对不麻醉大鼠生理状态、生存时间和生存率的影响。

研究结果显示,10 ℃组大鼠腹腔温度下降最快,20 ℃组下降最慢,其余3组介于两者之间,大鼠核心温度降低到略高于浸泡水温1~2 ℃时,温度趋于相对稳定。浸泡温度越低,核心温度下降越快。海水浸泡性体温过低症属于意外性低温症中的一种,又被称为急性体温过低症,落入水中散热比较快[12]。主要由于水的导热系数是14,空气为0.57,水的比热和热传导率都比空气大很多[13],并且水中浸泡时热传导途径主要以对流和传导为主。10 ℃组大鼠的核心温度与水温差值较大,对流和传导明显,核心温度下降越快,20 ℃组大鼠核心温度与水温相差相对较小,并且体温调节中枢并没有完全失调,因此大鼠核心温度下降相对较缓。

本研究显示,20 ℃组大鼠存活时间均超过24 h,但是水温低于20 ℃时,大鼠存活时间明显缩短,如10 ℃组大鼠平均存活时间仅为(1.12±0.39)h,说明海水温度对大鼠的存活时间有显著影响,水温越低,存活时间越短。同一温度海水不同浸泡时间大鼠的存活率也不同,总的来说,浸泡时间越长,存活率越低。本实验中5种海水温度均适用于浸泡性体温过低症模型的研究,15 ℃以上的海水温度,如20 ℃组与17 ℃组大鼠可以存活20 h以上,较易适合研究长时间低温海水浸泡对机体脏器病理生理的研究,比如小肠、肾等,实验中对24 h仍存活动物活杀时,也观察到大鼠严重肠道出血及血尿等体征[14]。15 ℃以下的海水温度,如13 ℃组和10 ℃组大鼠存活时间较短,较易适合用于急性低温应激对易损脏器的研究,预实验中也发现13 ℃海水浸泡时,短时间可导致肺出血和肺水肿。若水温过低,虽然低温应激可以短暂代偿某些生理指标[9,15],但是核心温度下降很快,体温调节中枢也随之失衡,导致机体产生寒冷性休克[16]。若水温稍高,机体可启动代偿保护机制,长时间维持生命,后期虽然核心温度变化不明显,但随着浸泡时间的延长,机体的损伤程度逐渐增加,死亡率也增加。因此对于临床上海水浸泡性低温症患者,尽快脱离浸泡及早期复温是提高救治生存率的关键。研究发现人体浸泡在不同温度的水中耐受时间主要与患者的着装、皮下脂肪、水中的姿势、性别等有关,海难者在不同水温中最长存活的时间即不同(表6)[17-18]。与本实验结果相比,显然大鼠和人类在相同温度海水中浸泡的耐受性存在差异,可能与种属的体表面积和大小等有关。因此大鼠低温症模型的分级标准并不能完全按照人类的分级判定,需要进一步制定对应的标准。

表6 人体海水浸泡的最长时间

海水温度(℃)	0	2.5	5	10	15	20	25
存活最长时间(h)	<0.25	0.5	1	3	7	16	72

本实验结果表明,水温越低,大鼠各呼吸、心率等生理指标变化趋势越显著。浸泡早期,10 ℃组和13 ℃组大鼠的呼吸、心率和肌颤明显高于其他组,但是核心温度的急剧下降导致各项生理指标迅速下降。浸泡2 h后,20 ℃组和17 ℃组大鼠的呼吸、心率、肌颤等仍维持在一定水平,此时机体产生的代偿反应具有保护作用。一般来说,机体对低温环境有适应和调节过程,但低温海水浸泡是突然发生,早期冷水应激引起交感神经兴奋,呼吸、心率等生命体征会短暂升高,随着核心温度迅速下降[19],呼吸、心率等受到明显抑制[8,20]。水温越低,大鼠的各种调节中枢抑制越明显,严重者可导致失调,从而引起不可逆损伤。

不同温度海水浸泡对机体生理状态及器官的损伤程度不同,同一温度不同浸泡时长对全身各系统机能的影响也截然不同,温度越低,浸泡时间越长,死亡率越高。本实验比较不同温度海水浸泡对大鼠呼吸、心率等生理指标、存活时间及生存率的差异,为后续低温症的病理生理研究及救治奠定基础。

[参考文献]

[1] 袁 瑞,张志成. 意外低体温症研究进展[J]. 解放军医学杂志,2016,41(4):339-342. doi:10.11855/j.issn.0577-7402.2016.04.15.

[2] 丁江舟,姚永杰,陈伯华,等. 低水温暴露对人体的影响与防护[J]. 人民军医,2015,58(12):1395-1396.

[3] 毕建立,江朝光,李佳春,等. 海水浸泡性体温过低症模型[J]. 空军总医院学报,2002,18(4):217-218. doi:10.3969/j.issn.2095-3402.2002.04.012.

[4] 吕晓宁,李鸣皋,李 靖,等. 远红外线救治海水浸泡性体温中度过低症兔复温效果试验[J]. 西北国防医学杂志,2012,33(4):426-428. doi:10.16021/j.cnki.1007-8622.2012.04.052.

[5] Nuckton TJ, Goldreich D, Rogaski KD, et al. Hypothermia from prolonged immersion: biophysical parameters of a survivor[J]. J Emerg Med,2002,22(4):371-374.

[6] 杨 明,邢 昕,管淑君,等. 达乌尔黄鼠冬眠期间体温的变化和冬眠模式[J]. 兽类学报,2011,31(4):387-395.

[7] Rahman S, Rubinstein S, Singh J, et al. Early use of hemodialysis for active rewarming in severe hypothermia: a case report and review of literature[J]. Renal Failure, 2012, 34(6): 784-788. doi: 10.3109/0886022X.2012.673466.

doi:10.11659/jjssx.04E017032

·基础研究·

术中扩张对大隐静脉桥血管狭窄相关基因表达的影响

庞 磊[1],孟 镔[2],李曦哲[1],施 盛[1],叶一舟[1] (1.上海交通大学附属第一人民医院心脏及大血管外科,上海 200080,2.安徽理工大学医学院临床外科应用解剖教研室,安徽 淮南 232001)

[摘 要] **目的** 探讨冠状动脉旁路移植术(CABG)中高压扩张对人体大隐静脉桥血管(SVG)狭窄相关基因 VE-cad、Egr-1、Versican 表达的影响。**方法** 收集扩张和未扩张的大隐静脉标本各 10 例分为扩张组和未扩张组,利用组织实时荧光定量 PCR(RT-PCR)和免疫组化检测 VE-cad、Egr-1、VCAN 基因 mRNA 及蛋白表达水平,分析 VE-cad、Egr-1、VCAN 基因 mRNA 及蛋白表达水平情况。采用 Student's t 检验和χ^2 检验或 Fisher 确切概率法进行统计学分析。**结果** RT-PCR 结果示:扩张组 Egr-1、VCAN 基因转录的 mRNA 明显高于未扩张组,扩张组 VE-cad 转录的 mRNA 明显低于未扩张组。免疫组化染色结果显示:扩张组 Egr-1、VCAN 表达显著强于未扩张组,扩张组 VE-cad 表达显著弱于未扩张组。**结论** CABG 术中大隐静脉桥血管高压扩张可导致桥血管狭窄相关基因 Egr-1、VCAN 的表达升高,VE-cad 基因的表达降低,可能与 CABG 术后大隐静脉桥血管再狭窄有关。

[关键词] 冠状动脉旁路移植术;VE-cad;Egr-1;Versican;大隐静脉桥血管;高压扩张

[中图分类号] R654 [文献标识码] A [收稿日期] 2017-04-16

Effects of intraoperative expansion on expression of stenosis-related genes in saphenous vein graft

PANG Lei[1], MENG Bin[2], LI Xi-zhe[1], SHI Sheng[1], YE Yi-zhou[1] (1. Department of Cardiovascular Surgery, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200080, China; 2. Department of Applied Anatomy and Surgery, School of Medicine, Anhui University of Science and Technology, Huainan Anhui 232001, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of high pressure distention on the expression of stenosis-related genes of saphenous vein graft(SVG) during the coronary artery bypass grafting(CABG). **Methods** The biopsy specimens of saphenous vein collected from 10 patients who have undergone CABG, were divided into expansion group and no-expansion group. Real-time PCR and immunohistochemical staining were performed for examination of mRNA and protein expression of VE-cad, Egr-1, VCAN respectively. Student's t and Chi-square test were used to do statistic analysis. **Results** The results of RT-PCR showed that the mRNA transcription of Egr-1, VCAN in the expansion group were statistically significantly higher than those in no-expansion group($P<0.05$). The mRNA transcription VE-cad in expansion group

[基金项目] 上海市科委生药处引导项目(114119b1600)

[通信作者] 叶一舟,E-mail:yeyizhouvip@sina.com

[8] Petrone P, Asensio JA, Marini CP. Management of accidental hypothermia and cold injury[J]. Curr Probl Surg, 2014, 51(10): 417-431. doi:10.1067/j.cpsurg.2014.07.004.

[9] Brown DJA, Brugger H, Boyd J, et al. Accidental hypothermia[J]. N Engl J Med, 2012, 367(20): 1930-1938. doi:10.1056/NEJMra1114208.

[10] Vardon F, Mrozek S, Geeraerts T, et al. Accidental hypothermia in severe trauma[J]. Anaesth Crit Care Pain Med, 2016, 35(5): 355-361. doi:10.1016/j.accpm.2016.05.001.

[11] 刘 洋,吴太虎,陈 锋.海水浸泡性体温过低症伤员的营救[J].医疗卫生装备,2005,26(09):103-104.

[12] Guly H. History of accidental hypothermia[J]. Resuscitation, 2011, 82(1): 122-125. doi:10.1016/j.resuscitation.2010.09.465.

[13] 李恒宇,杨兴东.落水伤员体温过低的研究进展[J].海军总医院学报,2005,18(3):165-169. doi:10.3969/j.issn.1009-3427.2005.03.012.

[14] Epstein M. Renal effects of head-out water immersion in man: implications for an understanding of volume homeostasis[J]. Physiol Rev, 1978, 58(3): 529-581.

[15] Pakanen L, Nen TPK, Heimo TI, et al. Urinary thrombomodulin and catecholamine levels are interrelated in healthy volunteers immersed in cold and warm water[J]. Temperature, 2015, 3(1): 161-166. doi: 10.1080/23328940.2015.1033589.

[16] 曾宪英.冷海水浸泡机体致伤的病理生理及复苏的研究进展[J].中华航海医学与高气压医学杂志,2002,9(4):249-251. doi:10.3760/cma.j.issn.1009-6906.2002.04.024.

[17] 虞积耀,王正国.海战外科学[M].人民军医出版社,2013,361-362.

[18] Keatinge WR, Khartchenko M, Lando N, et al. Hypothermia during sports swimming in water below 11 degrees C[J]. Br J Sports Med, 2001, 35(5): 352-353. doi:10.1136/bjsm.35.5.352.

[19] Giesbrecht GG. Cold stressnear drowning and accidental hypothermia: a review[J]. Aviat Space Environ Med, 2000, 71(7): 733-752.

[20] Mallet ML. Pathophysiology of accidental hypothermia[J]. Q J Med, 2002, 95(12): 775-785. doi:10.1093/qjmed/95.12.775.

(编辑:杨 颖)