维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2006)05-0649-03

Beagle犬急性呼吸窘迫综合征模型的建立

杜永洪[1],王导新[2],陈文直[2],黎克全[2],魏安宁[2],胡　凯[1],白　晋[1],王智彪[1]

(1.重庆医科大学生物医学工程系、医学超声工程研究所,重庆　400016;2.重庆医科大学附属第二医院,重庆　400010)

【摘　要】目的:探讨用油酸建立 Beagle 犬急性呼吸窘迫综合征(ARDS)模型的可行性、稳定性。方法:25 只 Beagle 犬麻醉保定后,通过颈静脉,按 0.25 ± 0.03ml/kg 缓慢注射油酸,连续监测肺气体交换指标、氧代谢、组织病理学和胸片的改变,以及达到 ARDS 的诊断标准后各项指标的稳定性。结果:颈静脉泵入油酸后 4.16 ± 0.92h,25 只 Beagle 犬达到 ARDS 诊断标准,其动脉血 $PaCO_2$ 27.98 ± 8.25mmHg、PaO_2 65.40 ± 11.48mmHg、PaO_2/FiO_2 182.3 ± 29.6,经呼吸机机械通气治疗,$PaO_2/FiO_2 \leq 200$。光镜下见肺间质及肺泡水肿、出血、萎陷和透明膜形成,同时伴炎症细胞浸润。胸片见双侧肺部有浓密或磨玻璃样阴影。结论:通过颈静脉注射油酸,可快速复制血流动力学、肺机械力学、组织病理学改变等均稳定的 Beagle 犬 ARDS 动物模型。

【关键词】呼吸窘迫综合征;油酸;动物模型;Beagle 犬

【中国图书分类法分类号】R-332　　【文献标识码】A　　【收稿日期】2006-03-20

Establishment of acute Respiratory distress syndrome model in beagle dogs

DU Yonghong, et al

(*Department of Biomedical Engineering, Institute of Ultrasound Engineering in Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To explore the feasibility and stability of using oleic acid to establish acute respiratory distress syndrome (ARDS) model in Beagle dogs. *Methods*: A total of 25 Beagle dogs were injected oleic acid with a speed of 0.25 ± 0.03ml/Kg through jugular vein after being anesthetized. The gas ventilation index, oxygen metabolism, histopathological changes, chest-ray scan and stability of each index after establishing the ARDS situation were continuously monitored and evaluated. *Results*: All 25 dogs were reached the diagnosis criteria of ARDS in 4.16 ± 0.92 hours after injection of oleic acid, The arterial $PaCO_2$ of the animals was 27.98 ± 8.25mmHg, PaO_2 was 65.40 ± 11.48mmHg, and PaO_2/FiO_2 was 182.3 ± 29.6. After mechanical ventilation treatment, $PaO_2/FiO_2 \leq 200$. Pulmonary mesenchyme, and alveolus edema, bleeding, shrinkage and transparent formation were seen under microscope. There was darkness or coarse shadow in the lung by the X-ray scan. *Conclusions*: Through injection of oleic acid via jugular vein, a Beagle dog ARDS model may be quickly established with stable changes of hemodynamics, pulmonary mechanics and histology.

【Key words】Acute respiratory distress syndrome; Oleic acid; Animal model; Beagle dog

目前,有关急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome,ARDS)的治疗仍属世界难题,其死亡率高达 50%~80%[1],人们仍在不断寻求各种物理治疗或药物治疗的有效措施。ARDS 动物模型的建立对其发病机制、病理生理改变、诊断和治疗等方面的实验研究有重要意义。在 ARDS 治疗领域的研究中,选用 Beagle 犬作为研究对象鲜见文献报道,本文用油酸建立 Beagle 犬 ARDS 模型,通过观察气体交换指标、组织病理和胸片等的变化,评价 Beagle 犬 ARDS 动物模型的稳定性,为探索 ARDS 新的治疗方法提供实验动物模型[2]。

1　材料与方法

1.1　材料

实验动物:9~15 月龄健康 Beagle 犬 25 只,其中雄性 13 只,雌性 12 只,体重为(10.69 ± 1.53)kg,由四川省医学科学院实验动物中心提供。

试剂及设备:油酸(由美国 Sigma 公司提供),easy 全自动血气分析仪(由美国 MEDICA 公司生产),Drager 呼吸机(由德国德尔格公司生产),Siemens 1260 监护仪(由

作者介绍:杜永洪(1974-　),男,实验师,
主要研究方向:医学实验动物模型研究。

基金项目:重庆市自然科学基金资助项目(渝科发计字[2003]20 号)。

维普资讯 http://www.cqvip.com

Siemens公司生产），岛津 500 毫安 X 光照片机（由日本岛津公司生产）。

1.2 实验方法

1.2.1 模型制作 Beagle 犬于实验前禁食 12h、禁饮 4h，按照 0.2mg/kg 肌肉注射安定，将 Beagle 犬保定后，仰卧固定。颈部、胸部、双侧腹股沟常规备皮，进行颈外静脉穿刺、置管。通过颈静脉首次按 0.20ml/kg 注射油酸，30min 内缓慢注射，推完油酸后连续观察 Beagle 犬的生命体征、血流动力学、肺机械力学、组织病理改变等。若推完油酸后 3h 内，Beagle 犬未达到 ARDS 动物模型诊断标准，则减量追加油酸，继续观察。若第 2 次追加油酸，仍达不到 Beagle 犬 ARDS 动物模型诊断标准，则被淘汰。

在连续观察的过程中，抽取股动脉血测定 $PaCO_2$ 和 PaO_2，并计算血氧合指数（PaO_2/FiO_2），若 $42.0mmHg \leq PaO_2 \leq 60.0mmHg$，在麻醉状态下行气管插管，立即采用呼吸机机械通气，参数设置为：采用 IPPV 模式，设定潮气量在 6~10ml/kg，通气频率：16~18 次 /bmp，PEEP=5cmH_2O、呼吸比为 1:2，FiO_2=40%。给氧 30min 后再次抽取动脉血，测定 $PaCO_2$ 和 PaO_2，并计算血氧合指数（PaO_2/FiO_2）。在呼吸机机械通气的情况下，以动脉血氧合指数（PaO_2/FiO_2）≤200 作为 Beagle 犬 ARDS 模型成功的指标[3,4]。

1.2.2 检测指标

① 分离 Beagle 犬股动脉，分别于用油酸前（作为基础值）、用油酸后 1h、2h、3h、4h、6h、10h 等，动态抽取股动脉抗凝血 1ml，测定 $PaCO_2$ 和 PaO_2，并计算血氧合指数（PaO_2/FiO_2）。② 随机抽取符合 ARDS 诊断指标的 Beagle 犬 5 只，进行组织病理观察、胸片检查。

1.2.3 实验数据处理及统计学检验

所有数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间行 t 检验，统计软件为 SPSS10.0。

2 结 果

经颈静脉注射油酸后，25 只 Beagle 犬呼吸频率显著增快，胸廓呼吸动度变浅，呼吸困难，双肺出现湿音，动脉血氧分压显著下降，肺组织光镜和胸片检查符合 ARDS 改变（见表 1、图 1~4）。

结合 Beagle 犬股动脉血 PaO_2 和氧合指数（PaO_2/FiO_2）指标、肺组织病理、胸片检查，25 只实验 Beagle 犬均达到 ARDS 模型的诊断指标，最早的于首次用油酸后 3.1h 达到 ARDS 模型的诊断指标，最晚的于首次用油酸后 8h 达到 ARDS 模型的诊断指标，平均时间为（4.16 ± 0.92）h。

2.1 气体交换指标和氧代谢

25 只 Beagle 犬于用油酸前、用油酸后 1h、2h、3h、4h、6h、10h 等，动态血测定 $PaCO_2$ 和 PaO_2，并计算血氧合指数（PaO_2/FiO_2）。达到 ARDS 诊断标准时，25 只 Beagle 犬动脉血 $PaCO_2$ 为 27.98 ± 8.25mmHg、PaO_2 为 65.40 ± 11.48mmHg、PaO_2/FiO_2 为 182.3 ± 29.6。25 只 Beagle 犬 $PaCO_2$、PaO_2 和 PaO_2/FiO_2 各时间点的动态值见表 1。

表 1 25 只 Beagle 犬 $PaCO_2$、PaO_2 和（PaO_2/FiO_2）动态值一览表（$\bar{x} \pm s$）

参 数	动物数（只）	基础值	用油酸后 1h	用油酸后 2h	用油酸后 3h	用油酸后 4h	用油酸后 6h	用油酸后 10h
$PaCO_2$（mmHg）	25	34.05 ± 4.35	34.05 ± 4.35	29.70 ± 5.25	28.13 ± 6.90	29.18 ± 6.98	35.48 ± 8.25	29.03 ± 9.08
PaO_2（mmHg）	25	83.78 ± 5.10	78.00 ± 12.38	62.63 ± 7.35	64.35 ± 8.70	67.43 ± 16.28	65.40 ± 11.48	51.23 ± 9.23
PaO_2/FiO_2	25	399.5 ± 48.7	371.7 ± 111.6	283.4 ± 66.9	227.1 ± 71.8	190.8 ± 83.2	160.7 ± 21.8	100.9 ± 42.2

达到 ARDS 模型诊断指标后，25 只 Beagle 犬经呼吸机机械通气治疗，氧合指数（PaO_2/FiO_2）维持在 200 以下。

2.2 肺部 X 光片观察

随机选择达到 ARDS 诊断指标的 5 只 Beagle 犬，于用油酸前和达到 ARDS 诊断指标后，经麻醉保定后在 X 光机下摄胸片。与用油酸前自身对照，Beagle 犬达到 ARDS 诊断指标后，胸片见肺部浓密或磨玻璃样阴影，呈斑片状影，多以肺中下部为主（见图 1、2）。

2.3 组织病理观察

随机选择 5 只 Beagle 犬，分别于达到 ARDS 诊断指标后 6~8h 行开胸术，肉眼见双侧胸腔有少量淡红色血性液体，双肺出现不同程度的灰红色肝样实变，肺充气实验时发现肺复原性差，顺应性低，肺泡内有大量积液，气管内有泡沫痰，心脏外形正常。取病变肺组织进行常规组织包埋、切片、HE 染色，光镜下见肺间质及肺泡水肿、出血、萎陷和透明膜形成，并有少量炎症细胞浸润（见图 3、4）。

3 讨 论

Beagle 犬品种固定且优良，形态体质均一，遗传性能稳定，一般无遗传性神经疾患。在研究工作中

维普资讯 http://www.cqvip.com

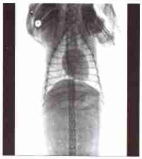


图 1 Beagle 犬正常胸片

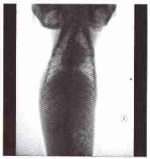


图 2 达到 ARDS 诊断指标后,见双肺有斑片状影

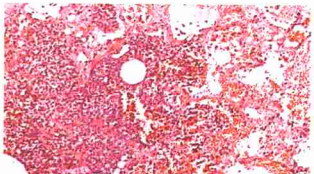


图 3 肺泡内见大量炎症细胞浸润,有大量渗出液体(HE 10×)

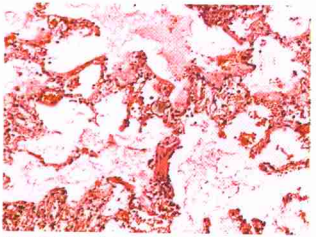


图 4 肺泡内有大量渗出液体,开始有透明膜形成(HE 40×)

由于它血液循环系统比较发达,且器官功能一致好,体温稳定。因此,在实验中反应一致性好,实验重复性好而稳定,尤其在实验中对环境的适应力、抗病力较强。适合药理、循环生理、眼科、毒理、外科学等的研究,被国际医学、生物学界公认为较理想的实验用犬[5]。本实验结果显示,Beagle 犬个体间 $Pa-CO_2$、PaO_2 和 PaO_2/FiO_2 动态值一致性较好,表明选择 Beagle 犬建立 ARDS 动物模型具有一定的推广价值。

油酸是一种毒性较强的脂肪酸,静脉注射即可刺激血管收缩,导致肺动脉压升高;损伤血管内皮细胞,并破坏肺表面活性物质,导致肺泡——毛细血管膜通透性增高,造成肺间质和肺泡水肿,肺顺应性降低,肺泡萎陷。油酸作为一种化学物质,可因损伤血管内皮细胞而激活炎症反应链,并可激活凝血系统,导致肺小血管内广泛微血栓形成;油酸还可以激活补体通路,从而进一步刺激中性粒细胞等炎性细胞释放炎性介质;油酸还可以穿过血管内皮细胞,向肺内浸润,通过释放氧自由基和蛋白水解酶等,进一步损伤肺实质。本文通过组织病理和胸片分析,用油酸制作 Beagle 犬 ARDS 动物模型肺部病变多为肺叶或肺段的改变,组织病理切片,光镜下见肺间质及肺泡水肿、出血、萎陷和透明膜形成,同时可见炎性细胞浸润。胸片见双肺浓密或磨玻璃样阴影,与文献报道一致[6]。

本实验结果显示,用油酸制作 Beagle 犬 ARDS 模型的实验过程中,初期 Beagle 犬主要表现为呼吸性碱中毒。随病情的发展,Beagle 犬出现低血压、休克等症状,模型建立的后期 Beagle 酸碱平衡失调主要表现为代谢性酸中毒。本实验按照早期发现和及时治疗的原则,通过呼吸治疗改善肺通气、换气功能,以及正确补液,有效纠正了 Beagle 犬实验过程中出现的电解质和酸碱平衡失调[6]。

大鼠、家兔、绵羊和犬均可用油酸建立 ARDS 动物模型,以往的资料报道的多为急性肺损伤动物模型(ALI),虽然氧合指数(PaO_2/FiO_2)≤200,但是通过呼吸机机械通气治疗,很快氧合指数(PaO_2/FiO_2)>200。本研究在连续观察的过程中,抽取股动脉血测定 $PaCO_2$ 和 PaO_2,并计算血氧合指数(PaO_2/FiO_2)。若 42.0mmHg≤PaO_2≤60.0mmHg,通过呼吸机机械通气治疗,30min 后再次抽取动脉血,验证 $PaCO_2$ 和 PaO_2,并计算血氧合指数(PaO_2/FiO_2)。在呼吸机机械通气的情况下,以氧合指数(PaO_2/FiO_2)≤200 作为 Beagle 犬 ARDS 模型成功的指标[3,4]。结果显示,在呼吸机机械通气的情况下,早期氧合指数(PaO_2/FiO_2)>200,用油酸后 4h(PaO_2/FiO_2)值为 190.8±83.2,6h(PaO_2/FiO_2)值为 160.7±21.8,10h(PaO_2/FiO^2)值为 100.9±42.2。与此同时,Beagle 犬达到 ARDS 模型诊断标准后,在呼吸机机械通气的情况下,动脉血 PaO_2 短期内不易

(下转第 693 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

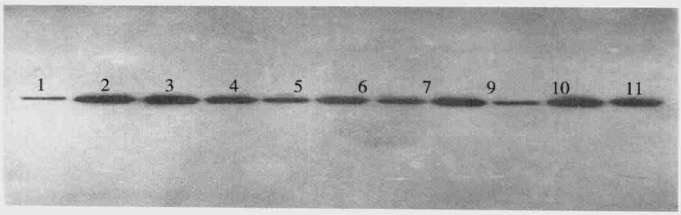


图 12 各组大鼠 CYP2E1 Western Blot 蛋白表达结果

自左向右 1~11 依次为：10 周正常对照组、5 周、10 周酒模组、5 周、10 周 5%LBP 治疗组、5 周、10 周 10%LBP 治疗组、5 周、10 周 10%GSH 治疗组、5 周、10 周戒酒组

10%两种 LBP 剂量，尚未表现出量效关系，而多糖的疗效不一定与剂量呈正比关系，往往有个最适剂量，下一步可多设定几个剂量，以寻求 LBP 的最适剂量，并进一步对 LBP 进行纯化、提取单体，探明分子结构，深入研究。

参 考 文 献

[1] 方允中.自由基生命科学进展[M].北京：原子能出版社，1994.101-104.

[2] 沈 泳，杨卫东，任彬彬，等. 宁夏枸杞多糖对 ccl4 损伤的保护作用[J]. 宁夏医学院学报，1996；18（4）：1-2.

[3] 石小枫，刘杞，郭树华. 还原型谷胱甘肽对大鼠肝损伤的保护作用[J]. 重庆医科大学学报，2003；28（5）：592-594.

[4] Yang sq,Zhu H,Li Y, et al. Mitochondrial adaptation to obesity related oxidant stress[J]. Arch Biochem Biophys, 2000;378:259-268.

[5] Demeilliers C,Maisonneuve C,Grodet A,et al.Impaired adaptive resynthesis and prolonged depletion of hepatic mitochondrial DNA after Repeated alcohol binges in mice[J].Gastroenterology,2002;123:1278-1290.

[6] 张 熙，谢先春. 枸杞多糖抗氧化作用的实验研究[J]. 中国中药杂志，1993；18（2）：110-112.

[7] 范竹痒，曾民德. 还原型谷胱甘肽治疗肝病的评估[J]. 胃肠病学，1994；4（2）：20-23.

[8] 孙荣玲. 还原型谷胱甘肽治疗酒精性肝病 134 例[J].临床药学，2005；14（8）：86-87.

（上接第 651 页）

升高[9,10]。表明本文用油酸建立的 Beagle 犬 ARDS 动物模型是顽固性的（中度—重度）。

本文提示，Beagle 犬 ARDS 模型建成功后，通过呼吸机机械通气治疗，动脉血 PaO_2 不易升高，氧合指数（PaO_2/FiO_2）≤200。可见，用油酸建立 Beagle 犬 ARDS 模型可行、稳定性好，有望为今后模拟临床，探索 ARDS 新的治疗方法提供实验动物模型。

参 考 文 献

[1] Nolan S,Burgess K,Hopper L,et al.Acute respiratory distress syndrome in a community hospital ICU[J].Intensive Care Med.,1997;23(5):530-538.

[2] 中华医学会呼吸病分会. 急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征的诊断标准(草案)[J].中华结核和呼吸杂志，2000；23（4）：203.

[3] Wang CZ,Barrow RE,Cox CS Jr,et al.Influence of detergent aerosol on lung microvascular permeability [J].J Appl Physiol,1993;74(3):1016-1023.

[4] Gattinoni L,Pelosi P,Suter PM,et al. Acute respiratory distress syndrome caused by pulmonary and extrpulmonary disease:different syndrome[J].Am J Respir Crit Care Med,1998;158:3-11.

[5] 彭传贵，付少才.（Beagle）犬的饲养与繁殖[J].北京实验动物科学与管理，1994；11（4）：22-26.

[6] Kafi SA,Scillia P,Melot C,et al.Abnormal pulmonary vascular tone in canine oleic acid lung injury [J].Crit Care Med,2002;30(70):1565-1569.

[7] 海丽曼·依拉洪，王新英，谢凤莲，等.由酸肺损伤所致 RDS 对心肌超微结构的影响[J].新疆医科大学学报，2000；23（3）：200-201.

[8] 杜永洪，王导新，陈文直，等.油酸所致犬 ARDS 中酸碱平衡及电解质变化的研究[J].中国急救医学，2006；26（3）：193-194.

[9] 蒋幼凡，王导新. 指令频率通气对呼吸衰竭患者呼吸力学的影响及临床意义[J].重庆医科大学学报，2005；30（4）：610-611.

[10] 黄丽洁，解立新，贾 琳，等. 杂种犬急性呼吸窘迫综合征模型的建立[J].中国比较医学杂志，2004；14（4）：224-228.