1次需花费六千元左右，另外由于其温湿度控制差，动物易于死亡。第二种方法是利用电路控制气路的方法调控箱内气体浓度，国内外均有报道[3,4]，但主要是单纯缺氧或单纯二氧化碳潴留，它们可以较长时间地控制低氧，适用于慢性模型，但其对箱内CO_2浓度及温湿度控制较差，CO_2控制需人工操作，非常不便，特别是箱内动物呼吸对气体影响，使控制更加复杂。我们经过对控制电路上的改造，成功地将箱内O_2、CO_2浓度和温湿度控制有机的结合起来，构成一个系统，使各个指标均能够自动控制，其结果准确，并能节省大量劳力。

关键词：动物饲养箱；缺氧；二氧化碳潴留；动物模型
中图法分类号：R-331 文献标识码：B

参考文献：

[1] Porcelli R J, Bergman M J. Effects of chronic hypoxia on pulmonary vascular responses to biogenic amines[J]. J Appl Physiol, 1983, 55(2): 534-540.
[2] Schwartz W B, Silverman L. A large environmental chamber for the study of hypercapnia and hypoxia[J]. J Appl Physiol, 1965, 20(3): 767-774.
[3] 杨晓静，钱桂生，毛宝龄. 肺动脉高压大鼠模型的复制[J]. 上海实验动物科学，1997，17(4)：199-202.
[4] Kimoff R J. Ventilatory and arousal responses to hypoxia and hypercapnia in a canine model of obstructive sleep apnea[J]. Am J Respir Crit Care Med, 1997, 156(3 Pt 1): 886-894.

（编辑 王 红）

文章编号：1000-5404(2000)06-0603-02

技术方法

油酸和内毒素两次打击大鼠急性肺损伤动物模型研究

Study on the 'Two-hit' animal model of acute lung injury in rats induced with oleic acid and lipopolysaccharide

张 青，毛宝龄，钱桂生，陈正堂，徐剑铖，李 琦 （第三军医大学附属新桥医院全军呼吸内科研究所，重庆 400037）

提 要：目的 采用油酸和内毒素先后两次致伤大鼠，建立两次打击急性肺损伤动物模型。方法 油酸(0.2 ml/kg)经尾静脉注入，伤后1、4、12和24 h给予小剂量大肠杆菌脂多糖(LPS，2 mg/kg)再次打击。结合动脉血气分析、外周血白细胞计数与分类变化及肺组织病理观察，评估两次打击大鼠急性肺损伤模型。结果 油酸致伤4 h加LPS 2次打击大鼠，PaO_2降低、外周血白细胞数增多和肺组织损伤最严重，与对照组比较相差显著。结论 油酸加LPS两次打击大鼠急性肺损伤模型，能较好地反映油酸致伤后第二次小剂量内毒素打击引发严重肺损伤的病理变化。

肺脏是全身炎症反应综合征(SIRS)最易受侵害的靶器官[1]。“两次打击”模式是解释SIRS怎样发展成MODS的主要学说之一[2]。有关两次打击的实验研究还没有理想、公认的动物模型。我们采用油酸和内毒素先后两次致伤，建立两次打击大鼠急性肺损伤模型。

1 材料与方法

1.1 实验材料

健康Wistar大鼠，体重150~250 g，雌雄不拘，本校实验动物中心提供。油酸(Oleic acid, OA)，化学纯，苏州正兴化工研究所。大肠杆菌脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)，血清型O_{111}:B4，Sigma公司。

1.2 动物模型制作

盐酸氯胺酮(80 mg/kg)腹腔麻醉，84只大鼠随机分组如下：(1)OA+LPS组(每时相点$n=12$)：油酸0.2 ml/kg，经大鼠尾静脉穿刺注入；分别在注入油酸后1、4、12和24 h实施第2次打击，选择另一支尾静脉注入LPS 2 mg/kg；观察2 h。(2)单OA组(每时相点$n=6$)：仅注入油酸0.2 ml/kg，方法同上，对应观察3、6、14和26 h。(3)对照组($n=6$)：包括生理盐水对照组(NS)和单LPS对照组(LPS)，剂量和方法同上。

1.3 取材及处理

第二次打击后2 h，各组在预定时间，活杀取全肺。活杀前行右颈动脉插管，抽取动脉血做血气分析，取大鼠尾末梢血做外周血白细胞计数与分类。左全肺称湿重后，置真空干燥箱内

基金项目：国家自然科学基金资助项目(39730210)
作者简介：张 青(1964-)，男，湖北省黄石市人，博士研究生，主治医师，讲师，主要从事全身炎症反应综合征、急性肺损伤和肿瘤方面的研究，发表论文11篇。电话：(023)68755320
收稿日期：2000-02-18；修回日期：2000-05-09

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

70℃、真空0.5 kPa(4 mmHg)条件下烘烤24 h后称干重,计算湿干重比值。右全肺用10%福尔马林固定,石蜡包埋切片,HE染色,常规光镜检查。

1.4 统计学处理

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 t 检验。

2 结果

2.1 动脉血氧分压(PaO_2)

单油酸和两次打击大鼠 PaO_2 均有不同程度降低,OA+LPS 6 h组 PaO_2 下降最明显(6.06±0.644 kPa),与单OA 6 h组和OA+LPS 4 h、14 h比较均有显著性差异($P<0.01$)。

2.2 外周血白细胞计数与分类

OA+LPS 6 h组白细胞计数(19.8±4.72)×10^9/L显著高于4、14 h组和单油酸6 h组($P<0.01$)。白细胞分类呈现淋巴细胞比率降低而中性粒细胞和单核细胞比率增高的变化。

2.3 病理观察

致伤各组大鼠肺湿干比值均有不同程度增高,OA+LPS 6h肺湿干比(7.04±0.491)显著高于单油酸6h组($P<0.05$)。

LPS组肺轻度充血、水肿;OA致伤大鼠肺表面呈暗红色,肺包膜下明显充血水肿;OA+LPS大鼠肺表面大片包膜下出血病灶。光镜下,单OA组大鼠,肺间质水肿、增宽,大量炎性细胞浸润,见图1。OA+LPS 3 h损伤更严重,胸膜下肺水肿、血管周围袖套样水肿。OA+LPS 6 h肺组织普遍肺泡水肿,间质大量炎细胞浸润,以单个核细胞浸润为主,见图2。参照文献[3]方法,按病理形态指标及病变程度的无、轻、中、重分别以0、1、2、3记分。OA+LPS 6 h肺损伤最严重(13.5±2.51),与单油酸6 h比较差异非常显著($P<0.001$)。

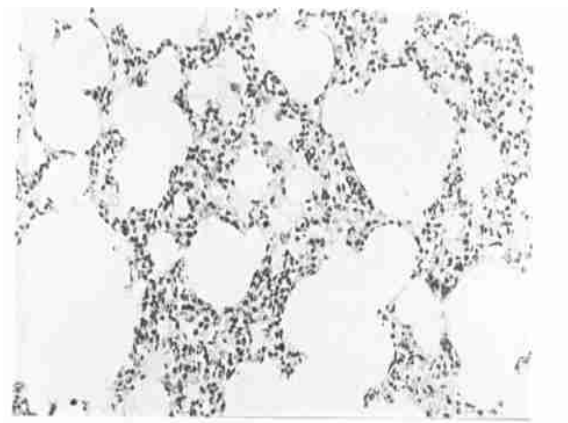


图1 单OA致伤6 h大鼠肺间质增宽、炎性细胞浸润 (HE×200)

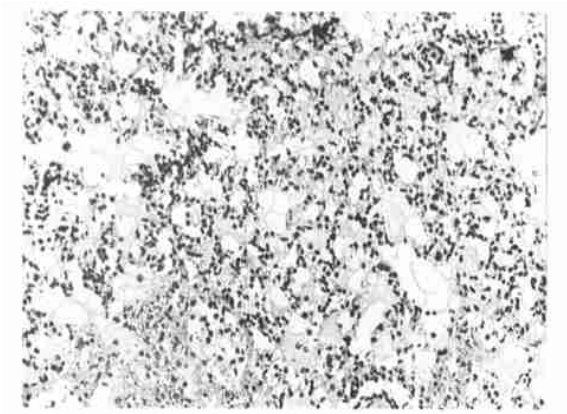


图2 OA 4 h+LPS 2 h大鼠肺泡普遍水肿、大量炎症细胞浸润 (HE×200)

3 讨论

国外两次打击动物模型,采用放血出现失血性休克,复苏后静脉注入大肠杆菌或盲肠结扎穿刺造成第二次打击。小动物复苏很困难,需要一定的专用设备;大肠杆菌主要的致伤成分是脂多糖(LPS)。油酸致大鼠急性肺损伤,是经典急性肺损伤动物模型之一。我们采用油酸和小剂量内毒素两次致伤大鼠,建立两次打击急性肺损伤动物模型。

结果显示,0.2 ml/kg油酸和2 mg/kg LPS单因素致伤,大鼠均可存活;而同剂量油酸致伤4~6 h后,再加LPS打击,大鼠多在2~2.5 h左右死亡,死亡率80%(4/5)。

油酸致伤4 h实施小剂量LPS第二次打击,动脉血氧分压降至最低,此时外周血白细胞数显著增多且以中性粒细胞和单核细胞比率升高为特征,常规光镜检查证实该时相点大鼠肺损伤最严重。提示油酸致伤后4 h,第二次小剂量LPS打击引发外周血白细胞增多反应和肺损伤效应最大。该模型能较好地反映油酸致伤后再次小的打击可引发严重肺损伤的病理变化。

关键词:油酸;内毒素;急性肺损伤;动物模型

中图法分类号:R363-332 文献标识码:B

参考文献:

[1] 钱桂生.全身炎症反应综合征、急性肺损伤与急性呼吸窘迫综合征[J].解放军医学杂志,1999,24(5):313-316.

[2] 毛宝龄.深入探讨全身炎症反应的失控与调控[J].中华内科杂志,1997,36(1):3-4.

[3] Sun D, Zhao M, Ma D, *et al*. Protective effect of interleukin-1 receptor antagonist on oleic acid-induced lung injury[J]. Chin Med J(Engl),1996,109(7):522-526.

(编辑 王 红)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net