

## 海水吸入致大鼠急性肺损伤模型的建立

黄静霞<sup>2</sup>, 孙 瑜<sup>1</sup>, 傅辰春<sup>1</sup>, 邓小明<sup>2\*</sup>, 卢 建<sup>1\*</sup>

(1. 第二军医大学基础医学部病理生理学教研室, 上海 200433; 2. 第二军医大学长海医院麻醉科, 上海 200433)

**[摘要]** **目的:**建立海水吸入肺损伤动物模型。**方法:**24只大鼠随机分为对照组9只和模型组15只。模型组大鼠屏气9~10 s后吸入海水, 4 ml/kg, 分2次进行; 对照组大鼠不吸入海水。于海水吸入前、海水吸入后10、30、60、120、240 min观察动脉血气和呼吸频率的变化, 并记录动物的生存时间。4 h后处死动物, 观察肺系数、支气管肺泡灌洗液(BALF)中总蛋白(TP)含量和白细胞计数以及肺组织形态学的变化。**结果:**与对照组相比, 模型组大鼠吸入海水后呼吸频率显著增加, 动脉血氧分压(PaO<sub>2</sub>)显著降低( $P < 0.05$ ), 之后虽逐渐回升, 但一直维持在较低的水平; 肺系数和TP含量均显著升高( $P < 0.05$ ); 白细胞计数显著增加( $P < 0.05$ ); 肺组织形态学显示明显的肺水肿、肺泡萎陷和炎细胞浸润情况。**结论:**成功建立海水吸入肺损伤的动物模型。

**[关键词]** 模型; 动物; 海水; 肺损伤**[中图分类号]** R 563 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2006)06-0676-03

## An acute lung injury model caused by seawater aspiration in rats

HUANG Jing-xia<sup>2</sup>, SUN Yu<sup>1</sup>, FU Chen-chun<sup>1</sup>, DENG Xiao-ming<sup>2\*</sup>, LU Jian<sup>1\*</sup> (1. Department of Pathophysiology, College of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Department of Anesthesiology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433)

**[ABSTRACT]** **Objective:** To establish an acute lung injury model by seawater aspiration in rats. **Methods:** Twenty-four rats were randomly allocated into 2 groups: control group ( $n=9$ ) and model group ( $n=15$ ). The acute lung injury model was established in rats by aspirating 2 ml seawater/kg body weight after 9-10 seconds of breath occlusion. The aspiration was repeated by the same means 2 min later. Rats in control group aspirated no seawater. Arterial blood gases and respiratory rates were observed before aspiration and 10 min, 30 min, 1 h, 2 h and 4 h after aspiration. The survival times of animal were also recorded. The rats were sacrificed 4 h after aspiration; the lung index, total protein (TP) contents, white blood cell (WBC) count in bronchoalveolar lavage fluid (BALF), and the pulmonary histopathology were observed. **Results:** Compared with control group, model group had a significantly increased respiratory rate and a decreased PaO<sub>2</sub> ( $P < 0.05$ ), which subsequently rose again and remained at a lower level. The model group also had a markedly increased lung index, TP contents and WBC counts ( $P < 0.05$ ). Obvious edema, alveolar atrophy and inflammatory infiltration were found in model rats. **Conclusion:** An acute lung injury model by seawater aspiration has been successfully established.

**[KEY WORDS]** model, animal; seawater; lung injury

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2006, 27(6): 676-678]

海水淹溺(seawater drowning)不仅常发生于航海事故、海上作业、海上旅行等, 而且是军队海上训练和作战减员的重要原因<sup>[1,2]</sup>。海水淹溺可导致急性肺损伤(acute lung injury, ALI), 严重者可进展为海水型呼吸窘迫综合征(sea water respiratory distress syndrome, SW-RDS), 其病情危重, 死亡率高。因此研究海水型ALI的救治是航海医学和军事医学的重要课题之一。国内外对此的实验研究多采用气管内注入海水动物模型<sup>[3,4]</sup>, 由于海水注入法复制ALI模型的失败率比较高, 而且其与实际海水淹溺的自然发生发展尚不完全相同, 我们拟选用健康的SD大鼠, 使其屏气后吸入海水造成急性肺损伤, 成功复制接近实际海水淹溺发生发展的实验动物模型, 为今后开展相关的研究奠定了基础。

## 1 材料和方法

1.1 实验动物和材料 SD大鼠, 雌雄不拘, 体质量230~250 g, 由斯莱克公司提供; 海水取自东经119.5°北纬25.5°的东海

海域, 含盐度为3.0%~3.5%。

1.2 动物模型的建立 大鼠腹腔内注射3%戊巴比妥钠1 ml/kg麻醉, 仰卧固定, 气管切开插入气管插管后维持自主呼吸, 右颈总动脉插管供取血用, 稳定30 min后将动物分为对照组9只和模型组15只。模型组大鼠参照文献<sup>[5]</sup>方法吸入海水, 将Y型玻璃套管两侧各接15 cm长的塑料导管, 用止血钳夹闭左侧塑料导管的底端(靠近Y型玻璃套管接口处), 于塑料导管内注入海水(2 ml/kg), 将大鼠头部抬高45°

**[基金项目]** 全军医药卫生“十五”科研项目(01MA145); 上海市科委重点基金项目(03JC14002)。Supported by Medical Science Research Foundation of the PLA(01MA145) and Key Program of Shanghai Science and Technology Committee(03JC14002)。

**[作者简介]** 黄静霞, 硕士生。E-mail: jingxia8022@yahoo.com.cn

\* Corresponding author. E-mail: xmdeng@anesthesia.org.cn; lujian326@yahoo.com

后将Y型玻璃套管连接到气管插管上,夹闭右侧塑料导管使大鼠屏气,9~10 s后于大鼠吸气时放开左侧的塑料导管使海水吸入大鼠肺内,2 min后用同法让大鼠重复吸入等量海水1次。对照组大鼠除不吸入海水外,其余操作步骤同模型组。实验动物均自主呼吸,不进行支持通气,共观察4 h,每小时腹腔注射3%戊巴比妥钠0.5 ml/kg维持麻醉。

1.3 检测指标 (1)存活率;(2)于海水吸入前、海水吸入后10、30、60、120、240 min观察大鼠呼吸频率的变化,同时用DH-1830G型血气酸碱分析仪测定大鼠动脉血氧分压(PaO<sub>2</sub>)和二氧化碳分压(PaCO<sub>2</sub>);(3)实验结束后放血处死,距气管叉0.3 cm处离断气管,取肺称湿质量并计算肺系数(LI);肺系数=肺湿质量(g)/体质量(kg);(4)结扎左肺门,行右支气管肺泡灌洗,即用4℃生理盐水3 ml缓慢注入右肺中,在肺内停留30 s后吸出,反复冲洗3遍,回收支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF),计数白细胞,之后4℃1 000 r/min离心10 min,取上清液用Lowry法测

定BALF中总蛋白(total protein, TP)含量;(5)肺组织形态学观察:实验动物4 h放血处死后,取双肺大体观察摄像,取左下肺叶15%甲醛固定后作常规石蜡切片, H-E染色后置光镜下观察肺组织形态学变化。

1.4 统计学处理 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,利用SPSS 10.0统计软件处理。两组间的比较采用独立样本 $t$ 检验。

## 2 结果

2.1 一般状况 SD大鼠吸入海水后立即出现呼吸困难,气道有大量的白色泡沫渗出物和出现发绀。模型组大鼠在海水吸入后20 min至2 h期间共死亡6只,对照组全部存活。

2.2 呼吸频率 模型组大鼠海水吸入后呼吸频率显著增加,之后呼吸频率虽然逐渐减慢,但在整个观察期间一直高于对照组( $P < 0.05$ ),见表1。

表1 两组动物不同时期呼吸频率的变化

Tab 1 Changes of respiratory rate during different periods in 2 groups

( $n=9, \bar{x} \pm s, f/\text{min}^{-1}$ )

Group	Before seawater aspiration	After seawater aspiration				
		10 min	30 min	60 min	120 min	240 min
Control	68.67±3.91	68.33±4.47	68.22±3.93	73.78±9.55	67.67±9.84	65.11±6.99
Model	67.56±7.67	116.00±14.14*	113.11±13.2*	106.89±14.04*	92.89±11.79*	86.89±6.17*

\*  $P < 0.05$  vs control group

2.3 动脉血气的变化 两组大鼠海水吸入前 PaO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub>相近,无显著差异。对照组大鼠在观察期间各时间点 PaO<sub>2</sub>和 PaCO<sub>2</sub>保持稳定。模型组大鼠吸入海水后 PaO<sub>2</sub>快速

降低,之后虽然逐渐回升,但一直维持在较低的水平,与对照组相比差异显著( $P < 0.05$ )。大鼠吸入海水后 PaCO<sub>2</sub>与对照组相比,先升高( $P < 0.05$ ),后逐渐降至正常。见表2。

表2 两组动物不同时期动脉血气的变化

Tab 2 Changes of arterial blood gas during different periods in 2 groups

( $n=9, \bar{x} \pm s, p_B/\text{mmHg}$ )

Index	Before seawater aspiration	After seawater aspiration					
		10 min	30 min	60 min	120 min	240 min	
PaO <sub>2</sub>	Control	105.25±4.09	103.44±3.74	103.30±4.00	104.80±6.17	101.70±6.58	104.03±4.30
	Model	103.4±7.89	53.93±5.68*	56.69±5.61*	64.88±4.67*	71.73±4.03*	80.10±4.23*
PaCO <sub>2</sub>	Control	35.29±3.21	34.81±3.45	33.97±3.25	32.23±2.46	33.91±3.89	33.77±2.58
	Model	37.16±0.66	39.70±1.50*	38.22±1.40*	36.23±1.34*	34.70±2.03	33.90±1.14

1 mmHg=0.133 kPa; \*  $P < 0.05$  vs control group

2.4 LI及BALF中蛋白和WBC的变化 模型组和对照组大鼠观察4 h后放血处死,检测大鼠LI及BALF中的TP含量和WBC计数。结果如表3示,与对照组相比,模型组大鼠LI和BALF中的TP显著增加( $P < 0.05$ ),BALF中的WBC计数也明显增高( $P < 0.05$ )。

2.5 肺组织形态学改变 (1)肺大体外观:如图1A、1B所示,对照组大鼠肺组织颜色均匀,呈粉红色,模型组大鼠双侧

肺充血水肿,肺表面可见广泛片状出血,及大片的暗紫色融合性实变灶,切面呈暗红色,挤压时有粉红色液体溢出;(2)光镜观察:如图1C、1D所示,对照组大鼠肺泡结构清晰,肺泡壁薄,肺泡腔及间质内只见有少量炎性细胞;而模型组大鼠肺间质水肿明显,呈局灶性肺不张,肺泡萎陷,肺泡腔内见嗜伊红染色的水肿液,大量的红细胞及炎性细胞浸润。

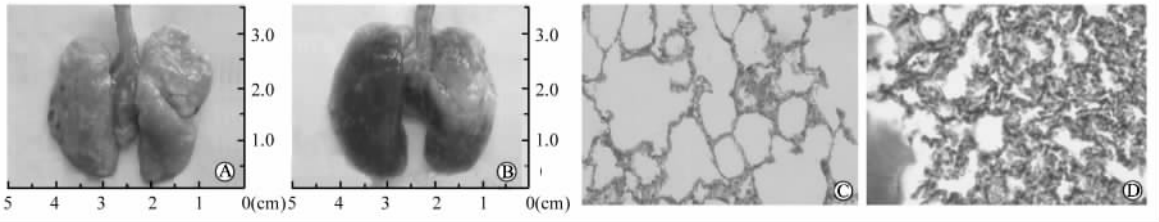


图 1 两组动物肺大体和肺组织病理学的变化

Fig 1 Changes of lung appearance and pathological structure in 2 groups

A: Appearance of lung in control group; B: Appearance of lung in model group; C: Pathological structure of lung in control group(H-E, ×200); D: Pathological structure of lung in model group(H-E, ×200)

表 3 两组动物 LI 及 BALF 中 WBC 计数和 TP 含量的变化

Tab 3 Changes of LI and TP and WBC counts in BALF in 2 groups

(n=9, x̄±s, p<sub>B</sub>/mmHg)

Group	LI	TP (x <sub>B</sub> /mg · ml <sup>-1</sup> )	WBC (×10 <sup>6</sup> /ml)
Contol	5.43±0.33	0.45±0.10	4.95±0.85
Model	8.98±0.48*	4.91±2.00*	35.55±4.81*

\* P<0.05 vs control group

3 讨论

90% 淹溺是溺水者反应性屏气,当不能坚持屏气而被迫深呼吸时吸入大量海水,堵塞呼吸道和肺泡所致<sup>[6]</sup>。国内外海水淹溺 ALI 模型复制的方法已报道的有气管内海水注入法<sup>[3,4]</sup>,该法的缺点是气管内海水注入时易导致动物死亡,使 ALI 模型的复制成功率低,而且该法与实际海水淹溺的自然发生发展尚不完全相同。Waugh<sup>[5]</sup>报道了海水吸入复制 ALI 模型的方法,即利用可接在气管插管上的 Y 管(一端用于通气,另一端连接储存海水的装置),当通气端堵塞使大鼠屏气 10 s 后,开放连接储存海水装置的一端使海水(2.05 ml/kg)吸入大鼠肺内。本实验参照 Waugh<sup>[5]</sup>的方法,使大鼠屏气后吸入海水,并根据文献<sup>[3,5,7]</sup>观察了不同量(2、4、6 ml/kg)的海水吸入对大鼠的肺损伤作用,结果发现海水量为 2 ml/kg 时,大鼠呼吸频率和 PaO<sub>2</sub>可在 1~2 h 后恢复至正常,肺损伤不明显,而量为 6 ml/kg 时,大鼠又可由肺损伤过重很快死亡,由于本研究在模型建立后,要进行海水型 ALI 防治方面的实验,因此我们选择了既能导致大鼠明显肺损伤,又能使其存活一定时间的海水量(4 ml/kg,分 2 次进行)复制模型,并测定了与肺损伤相关的一些指标。

实验结果显示,大鼠吸入海水后,出现明显的呼吸困难,

呼吸频率显著增加,气管内不断溢出泡沫样液体;PaO<sub>2</sub>显著下降,虽然之后逐渐回升,但一直维持在较低的水平;LI 和 BALF 中的 TP 显著增加,表明肺毛细血管膜的通透性增加,肺部有明显的水肿;BALF 中的 WBC 计数也明显增高,代表肺部炎症反应的增强;肺大体显示明显的水肿出血,光镜显示肺间质水肿,肺泡腔充满水肿液和炎细胞浸润;大鼠在 4 h 观察期间的存活率是 60%,且动物都在海水吸入后早期死亡。上述的变化都表明 4 ml/kg 的海水吸入造成了大鼠严重的肺损伤并使大部分动物能存活,为今后进一步研究海水淹溺肺损伤的机制和救治奠定了基础。

[参考文献]

[1] Kringsholm B, Jakobsen J, Sejerson B, et al. Unidentified bodies/skulls found in Danish waters in the period 1992-1996 [J]. Forensic Sci Int, 2001,123:150-158.

[2] Saidel-Odes LR, Almog Y. Near-drowning in the Dead Sea; a retrospective observational analysis of 69 patients[J]. Isr Med Assoc J, 2003, 5: 856-858.

[3] 董文度,徐根兴,赵振金,等.海水淹溺肺水肿兔模型复制的研究[J].中华劳动卫生职业病杂志,1998,16:113-115.

[4] Modell JH, Gaub M, Moya F, et al. Physiologic effects of near drowning with chlorinated fresh water, distilled water and isotonic saline[J]. Anesthesiology, 1966, 27: 33-37.

[5] Waugh WH. Potential use of warm butyl alcohol vapor as adjunct agent in the emergency treatment of sea water wet near-drowning[J]. Am J Emerg Med, 1993, 11: 20-27.

[6] 叶任高 主编.内科学[M]. 5 版.北京:人民卫生出版社. 2000: 993-994.

[7] 董文度,徐根兴,赵振金,等.兔海水型呼吸窘迫综合征模型研究[J].中国病理生理杂志,1992,8:303-305.

[收稿日期] 2006-01-04

[修回日期] 2006-04-26

[本文编辑] 曹 静