

DOI:10.3724/SP.J.1008.2012.01161

## 大鼠胸部撞击致肺损伤模型的建立

陆 军,何星颖,叶晓明,邹 最,纪瑞华,张绍博,徐海涛,石学银\*

第二军医大学长征医院麻醉科,上海 200003

**[摘要]** **目的** 建立一种胸部撞击致肺挫伤的大鼠模型。**方法** 将 84 只 SD 大鼠随机分成 7 组( $n=12$ ),采用自制的胸部撞击装置,用不同撞击能量(2.7、2.0、1.8、1.5、1.2、0.9 和 0 J)对大鼠胸部进行撞击造成双侧肺损伤。监测撞击前后大鼠循环和呼吸功能变化。撞击 120 min 后处死大鼠,开胸行创伤评分,观察心肺组织形态学变化,并进行病理学评分,计算肺组织湿干比和肺泡灌洗液蛋白含量。**结果** 用 1.2 J 能量撞击大鼠胸部可致理想的双侧肺损伤而无明显心脏损伤,动物死亡率较低。**结论** 采用自制胸部撞击装置建立的大鼠双侧肺损伤模型可以较好地模拟胸部撞击后双侧肺挫伤伤情,可用 1.2 J 的撞击能量进行后续实验研究。

**[关键词]** 胸部撞击伤;肺损伤;动物模型;大鼠

**[中图分类号]** R 655.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2012)11-1161-05

### A rat model for lung injury induced by chest impact trauma

LU Jun, HE Xing-ying, YE Xiao-ming, ZOU Zui, JI Rui-hua, ZHANG Shao-bo, XU Hai-tao, SHI Xue-yin\*

Department of Anesthesiology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

**[Abstract]** **Objective** To establish a rat model for lung injury induced by chest impact trauma. **Methods** Eight-four healthy male Sprague-Dawley rats were randomly divided into 7 groups ( $n=12$ ) and were subjected to different chest impact energies (2.7, 2.0, 1.8, 1.5, 1.2, 0.9 and 0 J) to induce bilateral lung injury using a self-designed device. The circulatory and respiratory functions were monitored before and after injury. The rats were sacrificed 120 min after chest impact. The morphological changes of the hearts and lungs were observed and graded pathologically. The wet/dry mass ratios of lungs and the protein contents in bronchoalveolar lavage fluid were determined. **Results** It was found that rats in the 1.2 J group developed bilateral lung contusion without substantial cardiac muscle trauma, and the animals had a low mortality. **Conclusion** Our self-designed device can satisfactorily produce lung injury model induced by chest impact trauma, and 1.2 J might be an ideal option for following studies.

**[Key words]** chest impact trauma; lung injury; animal models; rats

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33(11):1161-1165]

胸部撞击伤是挫伤性肺损伤的重要原因,而肺挫伤是急性肺损伤或急性呼吸窘迫综合征的主要原因<sup>[1]</sup>。建立合理的动物模型,有效地模拟临床肺挫伤患者损伤后的病理生理过程,是开展肺挫伤相关研究的前提。目前肺挫伤动物模型较少,制作复杂,致伤方式及结果评估不一;且胸部撞击致肺损伤的动物模型多采用犬、猪、兔等较大的动物<sup>[2-4]</sup>,成本高、致伤装置稳定性差,而大鼠<sup>[5-6]</sup>、小鼠<sup>[7]</sup>等小动物模型由于操作复杂,并未在实验研究中被广泛应用。本研究旨在建立胸部撞击致肺挫伤的大鼠模型,为

后续研究提供实验基础。

### 1 材料和方法

1.1 撞击致伤装置的设计制作 撞击致伤装置(图 1)主要由胸部撞击部分和心脏保护部分组成。胸部撞击部分的主体为一直径 3.0 cm 的中空钢管(高度可调),钢管下方与一塑料撞击板垂直相接,4 枚特氟龙螺栓穿过塑料撞击板四角,将其相对固定于 Plexiglass<sup>®</sup> glass 操作台(塑料撞击板在竖直方向可做相对移动)。心脏保护部分采用厚度为 4 mm 的塑料板,中间去除略大于心脏的部分。撞击时,心脏保护

**[收稿日期]** 2012-06-20 **[接受日期]** 2012-10-18

**[基金项目]** 全军“十一五”科技攻关项目(08G0712)。Supported by the “11<sup>th</sup> Five-year Plan” for Scientific and Technological Project of PLA (08G0712).

**[作者简介]** 陆 军,硕士,主治医师。E-mail: smmu2007@139.com

\* 通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-81885821, E-mail: shixueyin1128@yahoo.com.cn

板位于塑料撞击板下方,与大鼠胸前区直接接触,缺损部分位于心脏投影区之上,以减少对心脏的撞击损伤。实验中砝码从钢管内腔落下,能量通过塑料撞击板、心脏保护板传导到大鼠胸前区,造成胸部撞击伤。

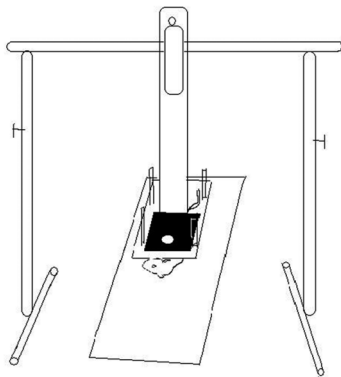


图1 大鼠胸部撞击致伤装置示意图  
Fig 1 Schematic diagram of the device for rat chest impact trauma

1.2 动物分组和处理 成年雄性SD大鼠84只,体重(280±25)g,由中国科学院上海实验动物中心提供。将大鼠随机分成7组,每组12只,分别给予2.7、2.0、1.8、1.5、1.2、0.9和0J(对照组)的撞击能量。大鼠禁食12h,自由饮水。实验时将大鼠置于Plexiglass® glass操作台,仰卧位,四肢固定。心脏保护板置于胸前区,缺损位置正对心脏(大约左第二肋间位置)。2%戊巴比妥钠50mg/kg腹腔注射麻醉,气管切开,插管,接MPA2000多通道生理记录仪监测肺功能。左侧股动脉置管,接MPA心功能分析仪,监测动脉血压和心率。根据分组情况将相应的砝码从钢管内腔落下进行撞击,如撞击后大鼠呼吸停止超过30s则进行胸外按压辅助呼吸,同时监测大鼠血压、心率、肺功能等生理指标,并对死亡大鼠进行尸检确定死亡原因,未死亡大鼠观察120min后处死。

1.3 测量指标

1.3.1 生理指标监测 记录大鼠撞击前及撞击30、120min后的平均动脉压(MAP)、心率(HR)、潮气量(VT)、呼吸频率(F)和动脉血气[包括酸碱度(pH)、动脉氧分压(PaO<sub>2</sub>)、动脉二氧化碳分压(PaCO<sub>2</sub>)、碱剩余(BE)]。

1.3.2 创伤评分 解剖死亡和处死大鼠,参照Lau等<sup>[8]</sup>的方法,对胸部撞击致大鼠肺损伤的伤情进行评分,建立6分制创伤评分标准:0分为胸壁、肋骨及肺部无损伤;1分为肺(肺门区、肺泡区)充血、点状出血,胸壁淤血、淤斑;2分为肺灶状出血面积<20%,胸壁软组织斑块状出血;3分为肺出血面积>

20%或中度水肿,胸壁肋骨骨折1根;4分为肺出血面积>40%或重度水肿,胸壁肋骨骨折2~3根;5分为肺出血面积>60%或表浅撕裂,胸壁肋骨骨折≥4根;6分为肺深度和(或)广泛撕裂,胸壁多处骨折、连枷胸。

1.3.3 肺泡灌洗液(BALF)蛋白浓度的测定 取大鼠左肺制备BALF样本,采用BCA法测定蛋白浓度。

1.3.4 心肌、肺病理及湿干比(W/D) 取大鼠右肺,一半做病理,计算肺组织病理学评分,另一半用于测肺组织W/D。取大鼠心肌做病理检查。

1.4 统计学处理 采用SPSS 17.0软件包进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。各组间比较采用单因素方差分析(ANOVA),检验水平( $\alpha$ )为0.05。

2 结果

2.1 撞击后120min大鼠死亡率 撞击120min后,2.7、2.0、1.8、1.5、1.2、0.9和0J各组大鼠死亡率分别为100%、75%、50%、50%、25%、8.3%和0。

2.2 撞击前后大鼠血压和心率的变化 由表1可见,撞击前各组大鼠MAP和HR差异无统计学意义。撞击30、120min后,随着撞击能量的增加,大鼠MAP和HR逐步降低;在相同时间点,与0J组比较,除0.9J组外其余各组MAP和HR差异均有统计学意义( $P < 0.05, P < 0.01$ );与1.2J组比较,仅有1.8、2.0J组的MAP、HR和1.5J组的HR与其差异有统计学意义( $P < 0.05, P < 0.01$ )。2.7J组大鼠撞击后30min内全部死亡,无撞击后数据。

2.3 撞击前后血气和肺功能的变化 由表2可见,撞击前各组大鼠pH、PaO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub>、BE、VT和F差异无统计学意义。除0J组和2.7J组外,各组大鼠撞击后VT先减少,再缓慢增加,但120min时仍低于撞击前水平;F先增快,后缓慢降低。撞击30、120min后,1.2J组动脉PaO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub>与2.0、1.8、1.5J各组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05, P < 0.01$ );1.2J组VT与2.0、1.8J组撞击各组比较差异有统计学意义( $P < 0.05, P < 0.01$ )。2.7J组大鼠撞击后30min内全部死亡,无撞击后数据。

2.4 创伤评分 由表3可见,2.7J组创伤极重,2.0J和1.8J组创伤较重,1.5J和1.2J组创伤较轻,0.9J组创伤轻微。

2.5 撞击后120minBALF中蛋白含量以及肺组织W/D的变化 由表4可见,1.2J组蛋白含量和2.0、1.8、0.9及0J组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ );1.2J组W/D和2.0、1.8、1.5J及0J组比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。

表 1 撞击前后大鼠血压和心率的比较

Tab 1 Comparison of blood pressure and heart rate (HR) before and after chest impact trauma in rats

				$\bar{x} \pm s$			
Group	n	MAP p/mmHg	HR f/min <sup>-1</sup>	Group	n	MAP p/mmHg	HR f/min <sup>-1</sup>
2.7 J				1.2 J			
Before impact	12	122.8±16.0	419±29	Before impact	12	129.5±15.0	421±36
30 min after impact	0	-	-	30 min after impact	11	96.9±7.2 <sup>△</sup>	329±33 <sup>△</sup>
120 min after impact	0	-	-	120 min after impact	9	101.3±9.5 <sup>△</sup>	368±39 <sup>△△</sup>
2.0 J				0.9 J			
Before impact	12	114.0±7.6	386±30	Before impact	12	114.0±17.9	415±48
30 min after impact	5	63.3±5.1 <sup>*△△</sup>	255±28 <sup>*△△</sup>	30 min after impact	12	102.3±12.1	363±36
120 min after impact	3	72.8±8.2 <sup>*△△</sup>	239±21 <sup>*△△</sup>	120 min after impact	11	105.6±11.1	392±36
1.8 J				0 J			
Before impact	12	123.8±13.6	393±29	Before impact	12	108.1±7.4	360±33
30 min after impact	8	71.6±6.6 <sup>**△△</sup>	285±26 <sup>*△△</sup>	30 min after impact	12	110.6±10.2	393±38
120 min after impact	6	79.5±9.6 <sup>**△△</sup>	309±29 <sup>*△△</sup>	120 min after impact	12	106.2±14.3	414±43
1.5 J							
Before impact	12	132.4±15.9	442±31				
30 min after impact	10	85.2±8.3 <sup>△△</sup>	306±31 <sup>**△△</sup>				
120 min after impact	6	90.7±8.4 <sup>△△</sup>	353±32 <sup>**△△</sup>				

MAP: Mean arterial blood pressure. 1 mmHg=0.133 kPa. \* P<0.05, \*\* P<0.01 vs 1.2 J group at the same time; <sup>△</sup>P<0.05, <sup>△△</sup>P<0.01 vs 0 J group at the same time

表 2 撞击前后大鼠血气和肺功能

Tab 2 Blood gas and lung function before and after chest impact trauma in rats

								$\bar{x} \pm s$
Group	n	pH	PaO <sub>2</sub> p/mmHg	PaCO <sub>2</sub> p/mmHg	BE c <sub>B</sub> /(mmol · L <sup>-1</sup> )	VT V/ml	F f/min <sup>-1</sup>	
2.7 J								
Before impact	12	7.42±0.04	68.57±10.51	48.90±7.01	-5.37±0.81	0.49±0.06	63.00±7.12	
30 min after impact	-	-	-	-	-	-	-	
120 min after impact	-	-	-	-	-	-	-	
2.0 J								
Before impact	12	7.37±0.02	80.33±4.93	47.47±4.81	-5.41±0.78	0.52±0.05	65.00±8.33	
30 min after impact	5	7.31±0.05	63.50±7.15 <sup>**</sup>	43.26±5.09 <sup>*</sup>	-10.83±0.76	0.29±0.03 <sup>**</sup>	93.00±8.62	
120 min after impact	3	7.20±0.04	59.06±6.32 <sup>**</sup>	40.05±6.03 <sup>**</sup>	-9.35±0.94	0.35±0.03 <sup>**</sup>	60.00±6.81	
1.8 J								
Before impact	12	7.43±0.03	74.63±10.95	42.19±5.58	-5.35±0.78	0.51±0.07	62.00±7.48	
30 min after impact	8	7.32±0.04	60.05±6.37 <sup>*</sup>	40.01±7.05 <sup>*</sup>	-8.63±0.81	0.33±0.04 <sup>*</sup>	85.00±7.93	
120 min after impact	6	7.21±0.03	55.63±7.26 <sup>*</sup>	39.26±6.05 <sup>*</sup>	-7.93±0.79	0.43±0.05 <sup>*</sup>	65.00±7.18	
1.5 J								
Before impact	12	7.36±0.04	75.40±10.26	49.58±5.61	-5.45±0.79	0.50±0.05	63.00±6.92	
30 min after impact	10	7.32±0.04	51.06±7.09 <sup>*</sup>	45.26±6.29 <sup>*</sup>	-8.31±0.59	0.35±0.04	83.00±7.53	
120 min after impact	6	7.30±0.04	52.03±6.92 <sup>*</sup>	39.94±7.05 <sup>*</sup>	-6.35±0.63	0.45±0.04	68.00±7.34	
1.2 J								
Before impact	12	7.41±0.05	77.17±10.78	46.93±6.68	-5.38±0.69	0.52±0.06	64.00±7.89	
30 min after impact	11	7.35±0.04	68.25±5.73	38.76±5.06	-6.54±0.49	0.44±0.06	77.00±6.32	
120 min after impact	9	7.33±0.04	71.26±7.08	39.83±7.03	-5.25±0.73	0.47±0.06	66.00±7.81	
0.9 J								
Before impact	12	7.41±0.04	72.29±7.86	43.65±5.92	-5.29±0.70	0.52±0.07	65.00±6.73	
30 min after impact	12	7.37±0.05	68.93±7.01	41.06±3.98	-6.13±0.29	0.48±0.05	68.00±7.14	
120 min after impact	11	7.33±0.05	69.03±6.28	40.15±6.32	-5.45±0.68	0.50±0.05	65.00±7.41	
0 J								
Before impact	12	7.36±0.02	77.32±4.63	45.41±4.81	-5.31±0.58	0.49±0.07	65.00±7.35	
30 min after impact	12	7.36±0.04	72.50±7.14	44.26±5.29	-6.12±0.66	0.51±0.06	63.00±6.53	
120 min after impact	12	7.36±0.04	75.06±6.18	46.05±5.06	-5.46±0.73	0.50±0.06	65.00±6.81	

PaO<sub>2</sub>: Partial pressure of oxygen in artery; PaCO<sub>2</sub>: Partial pressure of dioxide in artery; BE: Base excess; VT: Tidal volume; F: Frequency. 1 mmHg=0.133 kPa. \* P<0.05, \*\* P<0.01 vs 1.2 J group at the same time

表 3 各组大鼠创伤评分

Tab 3 Trauma scores in rats of each group

n=12							
Group	0	1	2	3	4	5	6
2.7 J	0	0	0	0	1	5	6
2.0 J	0	0	0	0	2	7	3
1.8 J	0	0	0	1	2	7	2
1.5 J	0	0	1	3	6	2	0
1.2 J	0	0	2	4	4	2	0
0.9 J	0	1	5	4	2	0	0
0 J	12	0	0	0	0	0	0

表 4 各组大鼠肺组织 W/D 以及肺泡灌洗液 (BALF) 中蛋白含量的比较

Tab 4 Comparison of lung W/D and protein content in BALF of rats in each group

n=12, $\bar{x} \pm s$		
Group	Protein content in BALF $\rho_B / (\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1})$	Lung W/D
2.7 J	-	-
2.0 J	32.64 ± 7.80 **	7.52 ± 0.86 **
1.8 J	30.95 ± 3.22 **	7.27 ± 0.73 **
1.5 J	20.67 ± 8.23	6.47 ± 0.65 *
1.2 J	20.84 ± 12.63	4.42 ± 0.39
0.9 J	15.14 ± 2.11 *	4.11 ± 0.36
0 J	10.58 ± 2.69 **	3.17 ± 0.32 *

BALF: Bronchoalveolar lavage fluid; W/D: Wet/dry mass ratio of lungs; \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs 1.2 J group

2.6 撞击后 120 min 心肌和肺组织病理检查 病理检查结果显示,心肌组织 2.7、2.0 J 组可见间质出血充血(图 2A),其他打击组和对照组未见明显改变(图 2B);肺组织 2.7 J 组可见肺组织实变(图 2C),1.8 J 组可见肺泡腔、间质出血(图 2D),1.2 J 组肺泡间质出血、水肿(图 2E)。由肺组织病理学评分结果可见,1.2 J 组和 2.7、2.0、1.8、1.5、0.9 及 0 J 组比较差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ , 表 5)。

### 3 讨论

本实验设计建立的大鼠动物模型中,大鼠早期死亡率与撞击能量相关,随撞击能量增加大鼠死亡率升高。0.9 J 组大鼠撞击 120 min 后死亡率仅 8.3%,撞击能量  $> 1.2$  J 时大鼠死亡率  $\geq 50\%$ ,2.7 J 组大鼠撞击 30 min 后即全部死亡。原因可能主要为心脏损伤致心源性休克、肺广泛挫裂伤致血气胸、连枷胸反常呼吸、不明原因的不可逆性呼吸停止。也有极少数动物并无严重的胸部创伤却在撞击即刻死亡,推测可能是撞击冲击波引起主动脉压升高、肺牵张反射,刺激压力感受器而引起反射性心跳、呼吸骤停<sup>[9]</sup>。

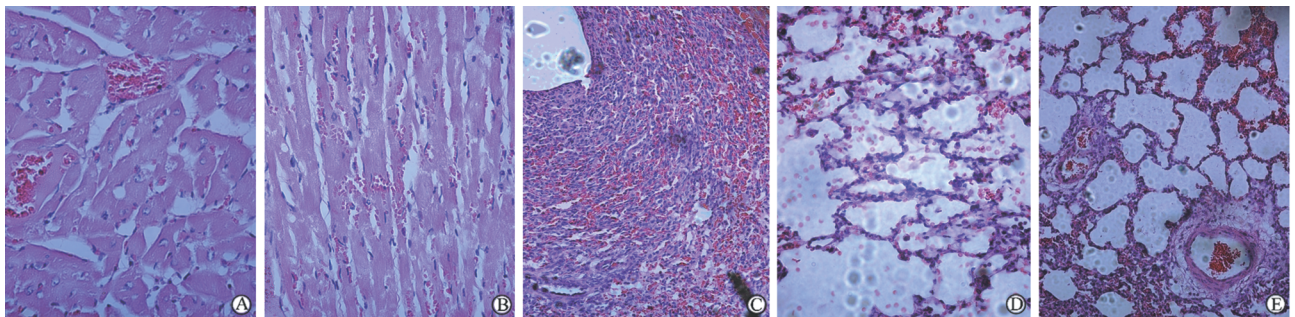


图 2 撞击后大鼠心肌和肺组织病理照片

Fig 2 Pathological images of myocardial tissue and lung tissue after chest impact trauma in rats of each group

A: Myocardial tissue in 2.0 J group; B: Myocardial tissue in 1.2 J group; C: Lung tissue in 2.7 J group; D: Lung tissue in 1.8 J group; E: Lung tissue in 1.2 J group. Original magnification:  $\times 40$ (A,B),  $\times 20$ (C,D,E)

撞击能量  $\geq 1.2$  J 时,各组大鼠发生不同程度的生命体征紊乱和过度通气,  $\text{PaO}_2$ 、 $\text{PaCO}_2$ 、BE 均下降,出现低氧血症、代谢性酸中毒合并呼吸性碱中毒。撞击 120 min 后创伤评分显示:0.9 J 组创伤相对较轻,1.2 J 组和 1.5 J 组创伤适中,1.8 J 组创伤重,2.7 J 组和 2.0 J 组创伤极重。光镜下 1.2 J 组大鼠肺损伤区域内出现肺组织结构破坏明显、肺泡内出血等原发性损伤和肺泡间质水肿、炎症细胞浸

润等继发性损伤,与临床所见肺挫伤的病理变化相似,但无明显心肌损伤;光镜下还发现,随撞击能量增加大鼠心肌出现病理性损伤。BALF 中蛋白含量及肺组织 W/D 的测定也证实,撞击能量增加至 1.2 J 时,双侧肺组织出现实质性损害,内皮渗透性显著增加。由此我们可认为:1.2 J 撞击可以模拟双侧肺挫伤伤情,适合作为胸部撞击致肺损伤的模型。

表 5 各组大鼠肺组织病理学评分比较

Tab 5 Comparison of histopathology scores of lungs in rats of each group

Group	Inflammatory cell infiltration	Edema	Bleeding	Small airway damage	Transparent membrane formation
2.7 J	3.15±0.83**	4.56±1.25**	4.39±0.83**	4.83±1.45**	3.65±0.96**
2.0 J	3.03±0.61**	4.09±0.85**	3.83±0.77**	3.51±1.01**	3.37±0.74**
1.8 J	2.73±0.59**	3.65±1.03**	3.59±0.89**	3.29±0.92**	3.15±0.63**
1.5 J	2.51±0.53*	3.26±0.83**	2.86±0.78**	2.87±0.82*	2.61±0.59*
1.2 J	2.18±0.45	2.39±0.35	1.76±0.30	2.26±0.29	1.95±0.26
0.9 J	1.53±0.28*	1.45±0.25**	0.96±0.15**	1.36±0.12**	0.93±0.12**
0 J	1.00±0**	0±0**	0±0**	0±0**	0±0**

n=12,  $\bar{x}\pm s$ \*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$  vs 1.2 J group

以往的胸部撞击致肺损伤模型,或行右侧肺撞击,或行双侧肺撞击,往往心脏冲击伤程度超过肺冲击伤,动物死亡率很高。本实验使用自制的胸部撞击装置建立的撞击伤模型,加用了心脏保护装置,可以较好地复制大鼠双侧肺损伤,并显著降低模型制作过程中大鼠的死亡率。模型制作相对简单,稳定性较好,致伤结果易于评估,适于胸部撞击伤后肺损伤发生机制及防治的相关实验研究。

#### 4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] Suresh M V, Yu B, Machado-Aranda D, Bender M D, Ochoa-Frongia L, Helinski J D, et al. Role of macrophage chemoattractant protein-1 in acute inflammation after lung contusion [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2012, 46: 797-806.
- [2] Davis K A, Fabian T C, Ragsdale D N, Trentham L L, Proctor K G. Endogenous adenosine and secondary injury after chest trauma [J]. *J Trauma*, 2000, 49: 892-898.
- [3] Strohmaier W, Trupka A, Pfeiler C, Thurnher M, Khakpour Z,

Gippner-Steppert C, et al. Bilateral lavage with diluted surfactant improves lung function after unilateral lung contusion in pigs [J]. *Crit Care Med*, 2005, 33: 2286-2293.

- [4] Liu B, Wang Z, Li X, Yang Z, Leng H. Pathologic study of thoracic impact injury involving a movable impact pattern [J]. *J Trauma*, 1996, 40(3 Suppl): S75-S76.
- [5] Wang N D, Stevens M H, Doty D B, Hammond E H. Blunt chest trauma: an experimental model for heart and lung contusion [J]. *J Trauma*, 2003, 54: 744-748.
- [6] Raghavendran K, Davidson B A, Helinski J D, Marschke C J, Manderscheid P, Woytash J A, et al. A rat model for isolated bilateral lung contusion from blunt chest trauma [J]. *Anesth Analg*, 2005, 101: 1482-1489.
- [7] Guy R, Watkins P E. Cardiopulmonary, histological and inflammatory alterations after lung contusion in a novel mouse model of blunt chest trauma [J]. *Shock*, 2004, 21: 190-191.
- [8] Lau V K, Viano D C. Influence of impact velocity on the severity of nonpenetrating hepatic injury [J]. *J Trauma*, 1981, 21: 115-123.
- [9] Lau V K, Viano D C. Influence of impact velocity and chest compression on experimental pulmonary injury severity in rabbits [J]. *J Trauma*, 1981, 21: 1022-1028.

[本文编辑] 周燕娟, 孙 岩