

## 重度热射病合并内毒素血症大鼠模型的建立

林晓静<sup>1</sup>, 邹飞<sup>2</sup>, 李亚洁<sup>1</sup>, 王斌<sup>2</sup>, 贺文静<sup>1</sup>, 赵志荣<sup>1</sup>, 朱顺芳<sup>1</sup>(南方医科大学<sup>1</sup>南方医院,<sup>2</sup>公共卫生与热带卫生学学院, 广东广州 510515)

**摘要:**目的 建立热射病合并内毒素血症大鼠的动物模型,为进一步探讨重度热射病的发病机制奠定基础。方法 雄性 SPF 级 Wistar 大鼠随机分为:常温生理盐水组(C组)、高温生理盐水组(H组)、常温细菌脂多糖组(L组)、高温细菌脂多糖组(HL组)。持续监测动物肛温、心率、平均动脉压、呼吸频率的动态变化,观察致伤 0、40、80、120 min 的外周白血细胞计数、肺病理改变。结果 (1) HL 组动物肛温上升到(43.04±0.11)℃,心率加快到(660±42)次/min,呼吸频率加快到(150±11)次/min,平均动脉压下降到(49.0±3.5) mmHg;其中动物肛温、心率、呼吸频率、平均动脉压与 L 组之间存在显著性差异,心率、平均动脉压与 H 组之间存在显著性差异;(2) L 组、HL 组白细胞计数显著下降而 H 组白细胞计数显著上升,L 组、HL 组白细胞计数与 H 组之间存在显著性差异;(3) HL 组动物肺组织出现急性微血管损伤改变。结论 本研究较好地模拟了临床热射病合并感染发展为重度热射病的过程,是重度热射病多器官损伤肺启动机制研究较好的模型。

**关键词:**热射病,重度;内毒素血症;动物模型

中图分类号:R332 文献标识码:A 文章编号:1673-4254(2006)01-0086-04

## Establishment of a rat model of severe heatstroke complicated with endotoxemia

LIN Xiao-jing<sup>1</sup>, ZOU Fei<sup>2</sup>, LI Ya-jie<sup>1</sup>, WANG Bin<sup>2</sup>, HE Wen-jing<sup>1</sup>, ZHAO Zhi-rong<sup>1</sup>, ZHU Shun-fang<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Nanfeng Hospital, <sup>2</sup>Institute of Public Hygiene and Tropical Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

**Abstract:** **Objective** To establish a rat model of heatstroke complicated by endotoxemia for studying the pathogenesis of severe heatstroke. **Methods** Male specific pathogen-free Wistar rats were randomly assigned into 4 groups, namely normothermic saline group (group C), heat exposure saline group (group H), normothermic LPS group (group L), and heat exposure LPS group (group HL). The rectal temperature (Tr), heart rate (HR), mean arterial pressure (MAP), and respiratory rate (RR) of the rats receiving different treatments were continually monitored and their white blood cell count (WBC) and histology of the lungs were observed at 0, 40, 80 and 120 min after the treatments. **Results** The rats in HL-Group displayed significantly higher Tr (43.04±0.11 °C), HR (660±42 beats/min), and RR (150±11/min) but lower MAP (49.0±3.5 mmHg) as compared with the C Group. There were significant differences in the values of Tr, HR, RR and MAP between HL and group L and in HR and MAP between H groups HL and. The rats in group H displayed significantly higher WBC than group C. In contrast, the rats in L groups HL and had significantly lower WBC. LPS injection and heat stress induced pulmonary edema and features characteristic of acute microvascular lung injury in the rats. **Conclusion** The rat model established by LPS injection and heat stress can successfully mimic the development of severe heatstroke after LPS challenge and heat stress, and provides a suitable model for studying the primordial role of the lungs in the pathogenesis of severe heatstroke.

**Key words:** heatstroke, severe; endotoxemia; animal models

热射病属重症中暑,死亡率较高,过热的细胞毒性以及宿主的炎症反应相互作用往往造成热应激个体多器官功能障碍综合征(MODS),增加临床救治以及监护难度<sup>[1]</sup>。为研究重度热射病、MODS 的发生机制,在高温应激(HS)大鼠热射病的基础上,静脉注射细菌脂多糖(LPS),扩大炎症反应,加重循环衰竭、靶器官损伤,建立重度热射病合并感染大鼠的动物模

型,为重度热射病合并感染、MODS 的研究,尤其是内毒素血症启动机制的研究提供较佳的实验动物模型。

### 1 材料与方法

#### 1.1 主要设备与试剂

仿真热气候动物舱(南方医科大学公共卫生与热带卫生学学院提供),Powlab/8sp 生理记录仪(AdInstruments 公司,澳大利亚)。LPS(*E. coli*, 0111:B4, 批号:034K4105, Sigma-Aldrich)。

#### 1.2 实验动物及模型制备

SPF 级雄性 Wistar 大鼠 80 只(南方医科大学实验动物中心提供),体质量 190~210 g(质量合格证编号:0005277)。

1.2.1 动物分组 将 80 只大鼠随机分为高温 LPS 组

收稿日期:2005-06-23

基金项目:国家自然科学基金(C030315);全军“十五”医药卫生科研基金(01MA133)

Supported by National Natural Science Foundation of China (C030315) and Medical Science Foundation of the Tenth Five-year Plane of PLA (01MA133)

作者简介:林晓静(1972-),女,主管护师,在读硕士研究生,电话 020-61364523, E-mail: LXJ1972@126.com

(HL 组)、常温 LPS 组(L 组)、高温生理盐水组(H 组)、常温生理盐水组(C 组), 各组下设应激后 0、40、80、120 min 组( $n=5$ )。

1.2.2 致模因素 主要致模因素为 LPS、干球温度(Tdb)、应激时间、相对湿度(RH)、湿球温度(Twb); 实验环境: 仿真热气候动物舱。

1.2.3 实验方法与步骤 实验动物以 3%戊巴比妥钠 1 ml/kg 腹腔注射麻醉后仰卧位固定于操作台, 头转向一侧。经左股动脉插管连接三通, 以肝素盐水(125 U/ml) 0.2 ml/h 冲管。HL 组、L 组经尾静脉缓慢注射 LPS 10 mg/kg (浓度为 1 mg/ml), H 组、C 组经尾静脉缓慢注射 0.9% NaCl 10 ml/kg。动物稳定 10 min 后置入仿真热气候动物舱行热暴露。HL 组、H 组暴露条件: Tdb: (35.0±0.5)°C, Twb: (27±0.5)°C; L 组、C 组暴露条件: Tdb: (26±0.5)°C, Twb: (21±0.5)°C, 各实验组 RH 均为(40±5)%。于各时相点采集标本后处死动物。

### 1.3 监测指标

①连接 Powlab/8sp 生理记录仪描记实验动物心率(HR), 直肠温度(Tr), 左股动脉插管监测平均动脉压(MAP), 人工记数呼吸频率(RR); ②于各时相点抽取尾静脉血做外周血 WBC 计数; ③于各时相点取右肺中叶背侧组织固定、包埋、切片、HE 染色后光镜下观察病理学改变。

### 1.4 实验性热射病、全身炎症反应综合征(SIRS)诊断标准

实验性热射病诊断标准参考动物热射病诊断标准, SIRS 诊断参考动物 SIRS 诊断标准以及国际脓毒症定义会议中有关 SIRS 的诊断标准<sup>[3-5]</sup>。

### 1.5 统计学分析

计量资料数据用  $\bar{x}$  表示, 运用 SPSS10.0 软件包(南方医科大学公共卫生与热带卫生学院医学统计系提供) 进行单向方差分析, 均数间多重比较采用 LSD-t 检验。

## 2 结果

各实验组 0 min 与 C 组各时相点的各项监测指标无统计学差异( $P>0.05$ )。

### 2.1 生命体征

2.1.1 Tr 的变化 H 组、HL 组于应激 40 min 起 Tr 即显著升高( $P<0.01$  vs Group C), 应激 120 min 时 H 组、HL 组高热、超高热水平, 两者之间差异无统计学意义( $P>0.05$  vs Group H, Group HL, 表 1)。

2.1.2 HR 的变化 H 组、HL 组于应激 80 min HR 显著加快( $P<0.01$ , vs Group C), 应激 120 min 时约为正常对照值的 1.5 倍; HL 组 HR 显著快于 H 组 ( $P<0.01$ , Group H vs Group HL, 表 2)。

表 1 高温与脂多糖复合应激对大鼠直肠温度的影响

Tab.1 Effect of heat stress and LPS administration on rectal temperature of the rats (°C,  $n=5$ , Mean±SD)

Group	0 min	40 min	80 min	120 min
C	34.54±0.43	34.84±0.27	35.04±0.17	34.96±0.24
L	34.60±0.48	34.70±0.41	35.06±0.29	35.00±0.21
H	34.52±0.49	37.68±0.36 <sup>ac</sup>	39.32±0.19 <sup>ac</sup>	42.80±0.23 <sup>ac</sup>
HL	34.80±0.45	37.62±0.13 <sup>ac</sup>	39.34±0.16 <sup>ac</sup>	43.04±0.11 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup> $P<0.01$  vs group C, <sup>c</sup> $P<0.01$  vs group L

表 2 高温与脂多糖复合应激对大鼠心率的影响

Tab.2 Effect of heat stress and LPS administration on the heart rate of the rats (bpm,  $n=5$ , Mean±SD)

Group	0 min	40 min	80 min	120 min
C	384±33	408±27	408±27	408±27
L	396±33	384±33	408±50	408±27
H	384±33	396±54	504±33 <sup>ac</sup>	576±33 <sup>ac</sup>
HL	408±27	396±33	528±27 <sup>ac</sup>	660±42 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup> $P<0.01$  vs group C, <sup>c</sup> $P<0.01$  vs group L; <sup>c</sup> $P<0.01$  vs group H

2.1.3 MAP 的变化 H 组、HL 组 MAP 出现先升后降变化趋势: 于应激 80 min 时 MAP 显著上升( $P<0.01$  vs Group C), 于应激 100~110 min 达峰值后迅速出现循环衰竭; HL 组动物 MAP 显著低于 H 组 MAP 水平( $P<0.01$ , Group H vs Group HL)。

2.1.4 RR 的变化 H 组、HL 组于应激 80 min 后 RR 显著加快( $P<0.01$  vs Group C), 应激 120 min 时 H 组、HL 组 RR 约为正常对照值的 2 倍, 两者之间差异无统计学意义( $P>0.05$ , Group H vs Group HL); L 组动物偶尔出现呼吸深度与节律的改变, 但呼吸频率的改变与 C 组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

### 2.2 外周血 WBC 计数

HL 组于致伤 80 min 出现 WBC 计数显著下降趋势 ( $P<0.01$  vs Group C)。致伤 120 min 时, H 组 WBC 显著上升 ( $P<0.01$  vs Group C), HL 组、L 组 WBC 计数显著下降( $P<0.01$  vs Group C)。HL 组、L 组之间差异无统计学意义 ( $P>0.05$ , Group H vs Group HL, 表 3)。

表 3 高温与脂多糖复合应激对大鼠外周血白细胞计数的影响

Tab.3 Effect of heat stress and LPS administration on WBC of the rats (10<sup>9</sup>/L,  $n=5$ , Mean±SD)

Group	0 min	40 min	80 min	120 min
C	5.30±2.41	4.66±0.66	5.44±0.99	5.22±1.07
L	5.14±0.54	5.22±2.13	4.28±0.51	2.68±0.91 <sup>ac</sup>
H	5.38±1.23	5.32±1.10	5.24±1.47	7.34±1.73 <sup>bc</sup>
HL	5.60±1.05	3.92±0.94	3.20±0.59 <sup>ac</sup>	2.60±0.92 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup> $P<0.01$  vs group C, <sup>b</sup> $P<0.05$  vs group C; <sup>c</sup> $P<0.01$  vs group L;

<sup>c</sup> $P<0.01$  vs group H

### 2.3 病理报告

0 min 各组动物肺组织肺泡壁完好, 支气管壁、肺泡壁无充血、水肿, 肺泡上皮形态正常; 肺泡无萎陷、扩张; 肺泡腔内无渗出物(图 1A)。随致伤时间延长, L 组动物出现局灶性肺不张以及代偿性肺气肿, 肺泡壁毛细血管轻度扩张、充血, 肺泡壁轻度水肿并可见少量炎细胞浸润(图 1B)。H 组动物肺泡壁毛细

血管较明显扩张、充血, 肺泡壁水肿、增厚; 肺泡上皮肿胀, 肺泡壁变薄或断裂, 形成肺大泡(图 1C)。HL 组与 H 组、L 组相比, 肺损伤改变明显, 表现为肺泡隔毛细血管以及肺间质小血管充血、管腔内中性粒细胞等集聚, 充血管腔, 并见出血、透明血栓形成, 肺泡壁毛细血管有明显扩张、充血, 肺泡壁水肿, 大量炎细胞浸润, 局部肺不张; 可见肺出血、肺气肿(图 1D)。

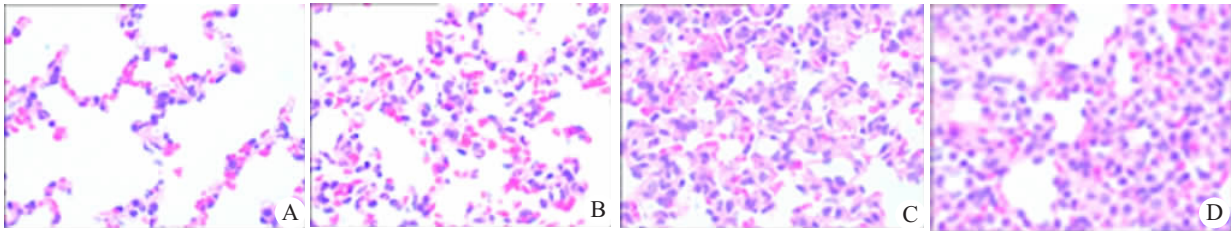


图 1 高温与脂多糖复合应激对大鼠肺组织学的影响

Fig.1 Rat lung histology 120 min after heatstroke and LPS injection (HE staining, original magnification:  $\times 40$ )

A: group C; B: group L; C: group H; D: group HL

### 3 讨论

文献报道, 当高温应激动物体核温度达到  $42.5\text{ }^{\circ}\text{C}$  或动脉收缩压上升到峰值后的下降点即标志发生中度热射病, 而体核温度达到  $43.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、动脉收缩压下降到  $90\text{ mmHg}$  以下则为重度热射病<sup>[3,4]</sup>, 重度热射病个体脓毒血症、MODS 等并发症的发病率及死亡率均显著升高。随着全球气候变暖以及热浪袭击频率和强度的逐年增加<sup>[5]</sup>, 重度热射病、MODS 成为危重病监护医学的巨大挑战。内毒素血症作为热射病、MODS 的重要发病机制之一, 在热射病、MODS 发生、发展中的地位与作用正日渐受到重视<sup>[1,6]</sup>。因此, 复制重度热射病合并 LPS 感染的动物模型是研究热射病到 MODS 发病机制和临床防治、监护的基础, 也是热射病研究的重点。

循环衰竭与急性肺损伤(ALI)是内毒素血症、热射病的主要表现, 心肺也是 MODS 首先发生功能障碍的靶器官。既往的热射病动物模型多以高温/高湿作为主要致模因素<sup>[3,6]</sup>, 虽然均可导致循环衰竭和一定程度的 ALI、MODS, 但由于高温并非专一作用于心肺, 因此无法确定内毒素血症在热射病以及 MODS 发生中的主导地位。LPS 是革兰阴性(G<sup>-</sup>)细菌细胞壁外膜的主要结构成分, 也是 G<sup>-</sup>细菌感染的主要致病因子, 静脉注射 LPS 可以复制感染性损伤模型, 模拟临床严重感染因素引起肺血管损伤、SIRS、脓毒血症、MODS 的发生发展过程<sup>[7]</sup>。但是, 单纯静脉注射 LPS 介导的早期肺炎反应多以肺血管损伤为主<sup>[8]</sup>, 不易迅速发展为 ALI、脓毒血症、MODS。因此, 在中度热射病大鼠动物模型的基础上给予较大剂量的 LPS 静脉注射, 可以模拟临床中度热射病并

发内毒素血症, 扩大炎症反应, 使其发展为重度热射病合并感染、MODS。

本实验表明, 在环境暴露温度、暴露时间相同的情况下, 高温应激可以复制中度热射病动物模型, 而高温与 LPS 复合应激可以复制重度热射病合并感染的动物模型, 表现为应激个体发生生命体征紊乱、靶器官损伤等改变的时间显著提前、程度显著加重。致伤 120 min 时, 与 H 组相比, HL 组动物出现体核温度达到超高热水平、HR 显著加快、MAP 下降幅度显著增大、外周血 WBC 计数显著减少、肺损伤程度显著加重等病理生理改变, 其血浆促炎性细胞因子(如 TNF- $\alpha$ 、IL-6)含量、动脉血气等指标的动态变化也说明在 LPS 造成肺血管损伤的基础上, 复合应激通过加速中性粒细胞(PMN)的激活与肺泡内募集等机制加重肺实质损伤<sup>[9]</sup>; 过热能够降低心室纤颤阈值, LPS 则可能造成心室收缩功能降低, 复合因素应激扩大了单因素应激的影响, 导致 HL 组动物循环衰竭加重。因此复合因素应激能够放大 HS/LPS 介导的炎症级联反应, 导致机体炎症反应失控而发生重度热射病合并感染, 进一步即可发展为 MODS, 而严重的循环衰竭、生命体征紊乱、靶器官损伤本身也是 MODS 的组成部分。因此提示在宿主感染或潜在感染时, 热射病的易感性、严重程度都可能升高, 现有的临床资料也支持这种观点。

Bouchama<sup>[6,10]</sup>等对灵长类动物的高温应激实验表明, 重度热射病动物发生内源性内毒素血症可以引发脓毒血症、MODS 等并发症, 热射病动物死亡率显著升高。本实验通过高温与 LPS 复合应激, 复制重度热射病合并内毒素血症大鼠的动物模型, 动物生命体

征、外周血 WBC 计数、靶器官损伤程度等变化特点与 Bouchama A 等的实验研究结果一致,说明 LPS 与过热同时或序贯打击均可以通过 SIRS 造成重度热射病合并感染以及多器官损伤。

综上所述,高温与 LPS 复合应激可以建立重度热射病合并感染大鼠的动物模型,LPS 在重度热射病的发生中起到重要作用;本实验建立的重度热射病合并内毒素血症模型是研究重度热射病、MODS 内毒素血症启动机制较好的动物模型。

#### 参考文献:

- [1] 林晓静,邹飞,罗炳德. 热射病[J]. 国外医学·社会医学分册, 2005, 22(2): 87-90.
- [2] Meehl GA, Tebaldi C. More intense, more frequent, and longer lasting heat waves in the 21st century[J]. Science, 2004, 305(5686): 994-7.
- [3] Lin MT, Liu HH, Yang YL. Involvement of interleukin-1 receptor mechanisms in development of arterial hypotension in rat heatstroke [J]. Am J Physiol, 1997, 273: H2072-7.
- [4] 胡森, 盛志勇. 多器官功能障碍综合征[M]. 北京: 科学出版社, 1999. 186-7.
- [5] Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference [J]. Crit Care Med, 2003, 31(4): 1250-6.
- [6] Bouchama A, Roberts G, Al Mohanna F, et al. Inflammatory, hemostatic, and clinical changes in a baboon experimental model for heatstroke[J]. J Appl Physiol, 2005, 98(2): 697-705.
- [7] van Amersfoort ES, van Berkel TJ, Kuiper J. Receptors, mediators, and mechanisms involved in bacterial sepsis and septic shock [J]. Clin Microbiol Rev, 2003, 16(3): 379-414.
- [8] Enkhbaatar P, Okajima K, Murakami K, et al. Recombinant tissue factor pathway inhibitor reduces LPS-induced pulmonary vascular injury by inhibiting leukocyte activation[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2000, 162(5): 1752-9.
- [9] Abraham E. Neutrophils and acute lung injury[J]. Crit Care Med, 2003, 31: S195-9.
- [10] Gathiram P, Wells MT, Raidoo D, et al. Portal and systemic plasma lipopolysaccharide concentrations in heat-stressed primates[J]. Circ Shock, 1988, 25: 223-30.

## 脑卒中患者焦虑与抑郁的调查分析及相应护理对策

刘丽红,张文静,徐清秀(广东省人民医院神经内科,广东 广州 510080)

**摘要:**目的 探讨脑卒中后患者焦虑与抑郁状况,为临床心理护理提供依据。方法 采用 Zung 氏焦虑自评量表(SAS)和抑郁自评量表(SDS)对 69 例脑卒中患者进行问卷调查。结果和结论 69 例脑卒中患者中存在抑郁状态 39 例(占 56%),焦虑状态 30 例(占 44%),进行统计分析,脑卒中 SAS、SDS 的评分结果均高于国内常模。了解脑卒中患者的心理状况,开展有针对性的心理护理,有助于提高患者的生活质量。

**关键词:**脑卒中;焦虑;抑郁;护理

**中图分类号:**R471 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4254(2006)01-0089-02

我科对 69 例脑卒中患者采用 Zung 氏焦虑自评量表(SAS)和抑郁自评量表(SDS)进行问卷调查,总结了患者的心理障碍特征,并探讨相应的护理对策。

### 1 资料与方法

#### 1.1 一般资料

选择 2004 年 8 月至 2005 年 6 月住院的脑卒中患者 69 例作为调查对象,均经头颅 CT 或 MR 确诊,脑卒中的诊断标准符合 1995 年全国第四届脑血管学术会议修订的诊断标准,并且所有患者意识清楚能配合,其中男 21 例(30.4%),女 48 例(69.6%),平均年

龄 62±9.41 岁。文化程度:小学或以下 15 例(21.7%),初中 22 例(31.9%),高中及中专 18 例(26.1%),大专或大专以上 14 例(20.3%)。卒中分类:脑出血:11 例,脑梗死:58 例,二者兼有的 5 例。有偏瘫 58 例,无偏瘫 11 例;有失语的 10 例,无失语的 59 例。

#### 1.2 评定方法

患者入院后 7 d 内进行评定,采用同前的焦虑自评量表(SAS)和抑郁自评量表(SDS)对患者进行问卷调查。两量表分别由 20 条条目组成,分 4 个等级(1-4 分)评分,强调评定时间范围是过去 1 周<sup>[1]</sup>。表格由评定对象自行填写,是评定者的主观感受,不受任何人的影响,然后由经过训练的医护人员输入电脑软件进行统计分析。

收稿日期:2005-09-10

作者简介:刘丽红(1970-),女,2000 年毕业于中山医科大学护理专业,大专学历,本科在读,主管护师,护士长