



戊巴比妥钠诱导的亚低温对雄性 BALB/C 小鼠血液学指标的影响

李曙芳, 黄立群, 岳娟, 王永丽, 王新钢, 李炜宾, 安全

(中国辐射防护研究院, 太原 030006)

【摘要】 目的 观察戊巴比妥钠诱导的亚低温对雄性 BALB/C 小鼠血液学指标的影响。方法 将健康雄性 BALB/C 小鼠随机分为对照组(C)和亚低温组(M);亚低温组用戊巴比妥钠(100 mg/kg)腹腔注射诱导雄性 BALB/C 小鼠体温下降至 28℃~30℃,维持 4 h 后自然复温,动物亚低温干预后 2 h、24 h 和 72 h 测定其肛温并取血测定血凝、电解质和血液细胞学指标;对照组给予等容体积的生理盐水,保持常温。结果 本方法诱导的亚低温对雄性 BALB/C 小鼠体温和血凝三项与对照组相比差异无统计学意义($P > 0.05$), K^+ 和 Na^+ 浓度高于对照组($P < 0.01$),外周血 WBC 低于对照组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),白细胞分类比值发生变化,RBC、HGB、MCH、MCHC 一过性降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结论 戊巴比妥钠诱导的亚低温可对雄性 BALB/C 小鼠血液学指标产生影响。

【关键词】 亚低温;戊巴比妥钠;雄性小鼠;血液学

【中图分类号】 R319 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2014) 05-0031-04
doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2014.005.007

Effects of mild hypothermia induced by pentobarbital sodium on hematology in male BALB/C mice

LI Shu-fang, HUANG Li-qun, YUE Juan, WANG Yong-li, WANG Xin-gang, LI Wei-bin, AN Quan
(China Institute for Radiation Protection, Taiyuan 030006, China)

【Abstract】 **Objective** To observe the effects of mild hypothermia induced by pentobarbital sodium on hematology in male BALB/C mice. **Method** Healthy male BALB/C mice were divided randomly into two groups: control group(C) and mild hypothermia group(M). The body temperature of the mild hypothermia group was maintained between 28℃ to 30℃(anal temperature) for 4 hours induced by pentobarbital sodium injected intraperitoneally, then recover unaffected. Anal temperature, coagulation, electrolytes, and blood cell indexes were examined in 2, 24, 72 hours after treated by mild hypothermia; Control group was given equal volume of saline volume at constant temperature. **Results** The body temperature and coagulation in mild hypothermia group showed no significant difference compared with the control group($P > 0.05$), but the concentration of K^+ and Na^+ in mild hypothermia group were higher than control group($P < 0.01$), the number of WBC in mild hypothermia group was lower than control group($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), and the RBC、HGB、MCH、MCHC in mild hypothermia group were lower than control group transiently($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$). **Conclusion** Mild hypothermia induced by pentobarbital sodium affects some of hematological values in mice considerably.

【Key words】 Mild hypothermia; Pentobarbital sodium; Mice; Hematology

[基金项目] 山西省实验动物专项资金项目(2013(k07)); 中国核工业集团项目。

[作者简介] 李曙芳(1983-), 女, 助理研究员, 硕士, 研究方向: 辐射防护。E-mail: lishufang821@163.com。

[通讯作者] 安全(1969-), 男, 副研究员, 本科, 研究方向: 放射毒理。E-mail: anquan@cirp.org.cn。

国际上将 28℃ ~ 35℃ 定义为亚低温,亚低温疗法已被列为重型颅脑损伤、脑血管疾病的常规辅助治疗方法^[1],近年国内外学者将亚低温应用于心肺复苏^[2]、新生儿肺损伤^[3]、急性脓毒症^[4]和缺血再灌注^[5]等方面的实验研究,通常通过动物冷水浸浴、冰袋降温、输注冷的自体动脉血、麻醉药物协助降温等途径使疾病动物模型处于亚低温状态,但是亚低温对正常动物本身的作用尚不明确,本研究探讨了动物实验常用的麻醉剂戊巴比妥钠诱导的亚低温对正常雄性 BALB/C 小鼠血液学指标的影响,以期为亚低温动物模型的建立及麻醉药物诱导亚低温的应用提供依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

60 只清洁级健康雄性 BALB/C 小鼠,16 ~ 18 g,中国食品药品检定研究院生产,实验动物生产许可证号:SCXK(京)2009-0017;中国辐射防护研究院 GLP 中心动物实验室饲养管理,实验动物使用许可证号:SYXK(晋)2008-0004。

1.2 仪器及试剂

法国 STAGO 半自动四通道血凝仪,所用试剂及质控品均由上海太阳生物技术有限公司生产;AC980 电解质分析仪,所用试剂由江苏奥迪康医学科技有限公司生产;日本光电 MEK-6318K 型三类全自动血球计数仪,所用稀释液、溶血剂均由上海光电医用电子仪器有限公司生产,质控品由四川省迈克科技有限责任公司生产;HO-3 型多通道测定仪,北京鸿鸥成运科技有限公司生产;戊巴比妥钠,北京化学试剂厂生产,批号:061222。

1.3 方法

1.3.1 动物分组:动物检疫 3 d 后,按体重随机分为对照组(15 只)、亚低温组(45 只)。实验组动物均腹腔注射 100 mg/kg 戊巴比妥钠,进入麻醉状态后,先使其仰卧置于放有冰的金属台面上降温,待其肛温达到 28 ~ 30℃ 时用电热毯辅助维持该温度 4 h 后自然复温;同时对对照组腹腔注射 0.1 mL/10g 生理盐水,禁食禁水。实验组在亚低温干预后 2 h、24 h 和 72 h 分别取 15 只小鼠乙醚麻醉后拔眼球采血用于以下检测。

1.3.2 血凝三项的测定:所用血浆由柠檬酸钠抗凝,经 3500 r/min 离心 15 min 分离所得,用法国 STAGO 半自动四通道血凝仪测定凝血酶原时间

(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、及纤维蛋白原浓度(FIB)。

1.3.3 血清电解质的测定:所用血清为血液自然凝固后,经 3500 r/min 离心 15 min 分离所得,用 AC980 电解质分析仪测定血清中 K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 、 Ca^{2+} 浓度。

1.3.4 血液细胞学指标的测定:每只动物取血量为 10 μ L 与 2 mL 血球稀释液混匀用日本光电 MEK-6318K 型三类全自动血球计数仪毛细管模式测定白细胞总数(WBC)、淋巴细胞百分数(LY%)、中性粒细胞百分数(NE%)、单核细胞百分数(MO%)。红细胞数(RBC)、血红蛋白(HGB)、血细胞比容(HCT)、平均红细胞体积(MCV)、平均血红蛋白量(MCH)、平均血红蛋白浓度(MCHC)、血小板(PLT)、红细胞分布宽度(RDW)、平均血小板体积(MPV)、血小板分布宽度(PDW)、大血小板比率(P-LCR)。

1.3.5 统计学处理各组数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS17.0 软件进行单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 动物外观检查

实验组和对照组小鼠均食欲旺盛;眼睛有神,反应敏捷;体毛光滑,肌肉丰满,活动有力;身无伤痕,尾不弯曲,天然孔腔无分泌物,无畸形;粪便呈麦粒状。

2.2 亚低温对小鼠体温的影响

动物亚低温干预后 2 h、24 h 和 72 h 体温与对照组相比差异均无统计学意义($P > 0.05$) (表 1)。表明戊巴比妥钠对小鼠的整体状况无大的影响。

2.3 亚低温对小鼠血凝学指标的影响

由表 2 可见,实验组小鼠亚低温干预后,其血浆凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、及纤维蛋白原(FIB)含量有一定波动,但与对照组相比差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.4 亚低温对小鼠电解质的影响

实验组小鼠亚低温干预后 2 h,其血浆 Na^+ 和 Ca^{2+} 浓度高于对照组,且差异有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.05$);亚低温干预后 24 h 和 72 h,实验组小鼠血清 K^+ 和 Na^+ 浓度高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$) (表 3)。

2.5 亚低温对小鼠血液学指标的影响

实验组小鼠亚低温干预后,其 WBC 较对照组降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),其中 LY% 在亚低温干预后 2 h 低于对照组($P < 0.01$),MO% 在亚低温干预后较对照组升高($P < 0.01$),NE% 在亚低温干预后 2 h 高于对照组($P < 0.01$);另外,实验

组小鼠亚低温干预 2 h 时,RBC、HGB、HCT、MCH、MCHC 均较对照组降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),亚低温干预后 24 h 和 72 h 与对照组相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 亚低温对小鼠体温的影响

Tab.1 Effect of mild hypothermia on the body temperature of mice

组别 Group	正常对照组 Control	亚低温组 Mild hypothermia		
		干预后 2 h 2 h after treating	干预后 24 h 24 h after treating	干预后 72 h 72 h after treating
体温 body temperature	36.708 ± 0.758	36.653 ± 0.534	36.718 ± 0.518	36.556 ± 0.655

表 2 亚低温对小鼠凝血学指标的影响

Tab.2 Effect of mild hypothermia on the coagulation of mice

组别 Group	正常对照组 Control	亚低温组 Mild hypothermia		
		干预后 2 h 2 h after treating	干预后 24 h 24 h after treating	干预后 72 h 72 h after treating
APTT(sec)	18.880 ± 2.451	21.080 ± 1.529	15.500 ± 3.824	17.750 ± 1.682
PT(sec)	9.180 ± 0.277	9.480 ± 0.148	8.460 ± 0.976	8.940 ± 0.385
Fib(mg/dl)	264.760 ± 42.390	236.975 ± 7.725	298.320 ± 33.912	252.520 ± 11.509

表 3 亚低温对小鼠电解质的影响

Tab.3 Effect of mild hypothermia on the electrolytes of mice

组别 Group	正常对照组 Control	亚低温组 Mild hypothermia		
		干预后 2 h 2 h after treating	干预后 24 h 24 h after treating	干预后 72 h 72 h after treating
K ⁺ (mmol/L)	4.99 ± 0.91	5.51 ± 0.37	7.31 ± 0.42 ^b	6.47 ± 1.27 ^b
Na ⁺ (mmol/L)	139.43 ± 4.15	144.1 ± 4.19 ^b	144.72 ± 1.47 ^b	145.78 ± 2.94 ^b
Cl ⁻ (mmol/L)	120.77 ± 1.47	117.33 ± 2.26	120.96 ± 3.84	122.73 ± 2.31
Ca ²⁺ (mmol/L)	1.10 ± 0.05	1.15 ± 0.05 ^a	1.08 ± 0.04	1.07 ± 0.03

注:与对照组相比,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$ 。

Note:^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$ compared with control.

表 4 亚低温对小鼠血液学指标的影响

Tab.4 Effect of mild hypothermia on the blood cell indexes of mice

组别 Group	正常对照组 Control	亚低温组 Mild hypothermia		
		干预后 2 h 2 h after treating	干预后 24 h 24 h after treating	干预后 72 h 72 h after treating
白细胞总数(WBC) 10 ⁹ /L	5.708 ± 2.0554	4.282 ± 0.8146 ^a	4.189 ± 1.1141 ^a	3.308 ± 1.6887 ^b
淋巴细胞百分数(LY)%	71.844 ± 7.3556	49.573 ± 11.5046 ^b	58.714 ± 11.1683	62.767 ± 8.2077
单核细胞百分数(MO)%	18.8189 ± 3.78961	28.8845 ± 5.92138 ^b	28.8729 ± 7.83983 ^b	27.18 ± 7.47683 ^b
中性粒细胞百分数(NE)%	9.3967 ± 7.85159	21.6027 ± 9.40703 ^b	12.4729 ± 9.94566	10.1133 ± 6.28185
红细胞数(RBC) 10 ¹² /L	8.6283 ± 0.96192	7.72 ± 0.79603 ^b	8.1511 ± 0.65193	8.5883 ± 0.95431
血红蛋白(HGB) g/L	151.25 ± 18.479	130.45 ± 13.567 ^b	143 ± 8.337	147.58 ± 18.812
血细胞比容(HCT) %	39.075 ± 4.4939	35.209 ± 3.4775 ^a	36.811 ± 2.9793	38.858 ± 4.5372
平均红细胞体积(MCV) fL	45.275 ± 0.6269	45.636 ± 0.7256	45.156 ± 0.4799	45.2 ± 0.6179
平均血红蛋白量(MCH) pg	17.533 ± 0.6959	16.891 ± 0.5735 ^b	17.578 ± 0.6261	17.142 ± 0.5107
平均血红蛋白浓度(MCHC)	17.53 ± 0.696	16.89 ± 0.574 ^b	17.58 ± 0.626	17.14 ± 0.511
红细胞分布宽度(RDW)	387.333 ± 17.2486	370.818 ± 14.7229	389.333 ± 15.2889	379.833 ± 11.938
血小板(PLT) 10 ⁹ /L	17.83 ± 0.893	17.37 ± 1.117	17.63 ± 1.108	17.47 ± 1.168
PCT	0.2042 ± 0.5017	0.1927 ± 0.0674	0.1844 ± 0.0407	0.1833 ± 0.036
平均血小板体积(MPV)	734.25 ± 119.857	692.0 ± 224.977	692.222 ± 118.335	696.917 ± 130.755
血小板分布宽度(PDW)	0.204 ± 0.0502	0.193 ± 0.0674	0.184 ± 0.0407	0.183 ± 0.036
大血小板比率(P-LCR)	2.842 ± 0.505	2.909 ± 0.478	2.744 ± 0.27	2.725 ± 0.293

注:与对照组相比,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$ 。

Note:^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$ compared with control.

3 讨论

目前亚低温实验动物模型可通过动物体表降温、输注冷的自体动脉血、麻醉药物协助降温等途径使疾病动物模型处于亚低温状态,这些途径的共同点是动物均需要麻醉,而有的麻醉剂本身就有抑制体温中枢神经调节的作用,如动物实验常用的戊巴比妥钠,而它本身对实验动物即有一定的影响,文献显示腹腔注射戊巴比妥钠 20 min 后,引起正常雄性 SD 大鼠 MCV、MCH、LY% 降低和 NE% 升高^[6],可引起正常雌性 SD 大鼠 RBC、HGB 降低^[7],可见戊巴比妥钠在较短时间内就会对动物造成一定的影响,亚低温对动物模型的干预通常需要维持几个小时,为探讨麻醉剂在亚低温实验研究中对实验动物的影响,我们通过戊巴比妥钠诱导正常雄性 BALB/C 小鼠亚低温并维持 4 h,自然复温后测定其对小鼠血液学指标的影响。

本研究结果显示,戊巴比妥钠诱导亚低温对正常雄性 BALB/C 小鼠大体身体状态、体温、血凝三项、 Cl^- 、 Ca^{2+} 、RDW、PLT、PCT、MPV、PDW 和 P-LCR 无明显影响,差异无统计学意义;但可引起 K^+ 和 Na^+ 浓度升高、WBC 和 MO% 降低,亚低温干预后 72 h 仍未恢复;可导致 LY%、RBC、HGB、MCH 和 MCHC 一过性降低和 NE% 一过性升高,仅亚低温干预后 2 h 有统计学差异。实验结果提示,戊巴比妥钠诱导的亚低温对小鼠电解质和白细胞影响较大。因此在研究亚低温对疾病动物模型的作用时,对于疾病动物模型本身电解质或白细胞与正常动物偏离的情况(如免疫力低下的动物模型),应考虑到亚低温及麻醉剂对实验动物的影响。

另有文献显示,在临床全身降温过程中可能出

现凝血机制障碍、低钾血症等并发症^[8],但本研究结果显示,戊巴比妥钠诱导的全身亚低温对凝血指标无显著影响,而血钾浓度升高,与上述文献报道不一致,可能由于亚低温诱导方法不同,也可能有种属差异,因此在比较医学外推过程中要多方面考虑。

参考文献:

- [1] 孙彦波,于建敏. 局部亚低温脑保护作用的临床研究及应用现状[J]. 中华保健医学杂志,2011,13(1):71-74.
- [2] ZoerNEr F, Wiklund L, *et al.* Therapeutic hypothermia activates the endothelin and nitric oxide systems after cardiac arrest in a pig Model of cardiopulmonary resuscitation[J]. PLoSone. 2013, 23;8(5):e64792.
- [3] Altinsoy C, Tuzun F, Duman N, *et al.* Effect of induced hypothermia on ipopolysaccharide -induced lung injury in gnonatrats[J]. J Matern Fetal NEonatal Med,2013,6,25.
- [4] Léon K, Moisan C, Amérand A, *et al.* Effect of induced mild hypothermia on two pro- inflammatory cytokigrs and oxidative parameters during experimental acute sepsis. Redox Rep [J]. 2013,18(3):120-126.
- [5] 张丽,苏志强,陈丽霞,等. 亚低温通过抑制两种凋亡通路对大鼠脑缺血再灌注损伤发挥保护作用[J]. 中风与神经疾病杂志,2006,23(3):318.
- [6] 张阔,田枫,康爱君,等. 戊巴比妥钠、水合氯醛、氨基甲酸乙酯麻醉对雄性 SD 大鼠血液学指标的影响[J]. 中国比较医学杂志,2007,17(8):S1-S2.
- [7] 康爱君,张阔,田枫,等. 戊巴比妥钠、水合氯醛、氨基甲酸乙酯麻醉对雌性 SD 大鼠血液学指标的影响[J]. 中国比较医学杂志,2008,18(4):61-63.
- [8] 费华伟,程光,程爱国. 亚低温在脊髓损伤治疗中的研究现状[J]. 中国医药导报,2012,3(9)11-13.

[修回日期]2014-02-28