·论 著· doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.14.001

高压氧治疗对高原脱习服症大鼠主要脏器超微结构的影响*

崔 宇,吴佩锋[2],徐 钢[1],崔建华[2△]

(1.陆军军医大学高原军事医学系,重庆 400038;新疆军区高山病防治研究中心,新疆叶城 844900)

[摘要] **目的** 探讨高压氧(HBO)治疗对高原脱习服症大鼠心、脑、肺组织超微结构的影响。**方法** 选择SD大鼠49只,44只在模拟海拔5 000 m的低压氧舱常规喂养3个月,在低压舱内死亡9只,将35只成活大鼠出舱后按体质量随机分为高原对照组(出舱后即刻)、HBOⅠ组(HBO治疗后7 d)、HBOⅡ组(HBO治疗后1个月)、HBOⅢ组(HBO治疗后2个月)、对照组Ⅰ组、对照Ⅱ组、对照Ⅲ组,每组5只。HBOⅠ、Ⅱ、Ⅲ组给予HBO治疗7 d;对照组Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组出低压氧舱后同步在常压常氧下喂养,与HBOⅠ、Ⅱ、Ⅲ组同步处死;余下5只在常氧常压下喂养作为平原对照组。各组大鼠在相应时间内快速处死取出额叶脑皮质、心、肺组织标本,在光镜和电镜下观察各组超微结构的变化。**结果** 低氧引起脑神经细胞线粒体肿胀、脊断裂、线粒体和周围结构水肿;心肌细胞浊肿、空泡变性,肌丝排列不规则,炎性细胞浸润,血管扩张;肺泡隔增宽,毛细血管扩张充血,肺泡腔内有粉红色渗出物,炎性细胞浸润,肺泡壁增厚。HBO治疗后,组织超微结构损伤较对照组明显改善,HBOⅡ组恢复明显好于HBOⅠ组,HBOⅢ组明显好于HBOⅡ组,2个月完全恢复到平原水平。**结论** HBO治疗具有改善缺氧大鼠脑神经损伤、促进细胞的功能恢复,降低缺氧引起的肺动脉高压,对缺血心肌具有保护作用。

[关键词] 高原脱习服症;高压氧;组织超微结构

[中图法分类号] R339.5 [文献标识码] A [文章编号] 1671-8348(2018)14-1841-04

Effects of hyperbaric oxygen treatment on ultrastructure of rats with plateau deacclimatization*

CUI Yu[1],*WU Peifeng*[2],*XU Gang*[1],*CUI Jianhua*[2△]

(1.*Faculty of High Altitude Military Medicine*,*Army Military Medical University*,*Chongqing* 400038,*China*;2.*Research Center for Prevention and Treatment of High Altitude Diseases of Xinjiang Military Region*,*Yecheng*,*Xinjiang* 844900,*China*)

[**Abstract**] **Objective** To research the effects of hyperbaric oxygen (HBO) on the ultrastructure of heart,brain and lung in rats with plateau deacclimatization. **Methods** Forty-mine SD rats were selected. Forty-four SD rats were routinely fed in a hypobaric hypoxia chamber at the simulated altitude of 5 000 m for 3 months. Nine rats died in the hypobaric hypoxia chamber. After coming out from the chamber,35 survival rats were randomly divided into the high altitude control group (instantly after out of the hypobaric hypoxia chamber),HBO group Ⅰ,Ⅱ and Ⅲ (7 days,1 months and 2 months after HBO treatment) and control groups Ⅰ,Ⅱ and Ⅲ according to the body mass,5 cases in each group;the HBO groups were treated by HBO for 7 d. The control group Ⅰ,Ⅱ and Ⅲ were synchronously fed in normal pressure and oxygen environment after HBO treatment. The rats in all groups were synchnonously sacrificed,the other 5 SD rats as the plain control group were fed in hormal pressure oxygen environment. The frontal cortex,heart and lung tissues were taken out for observing the ultrastructure changes by optical microscopy and electron microscopy. **Results** Hypoxia induced mitochondria swelling and ridge breakage in cranial nerves cells,swelling of mitochondria and peripheral structures,myocardial cells cloudy swelling,vacuolar degeneration,muscle fibers irregular arrangement,inflammatory cell infiltration and vasodilatation. The alveolar septm was broadened,blood capillaries were dilated and congestive,alveolar space was filled with pink transudation,inflammatory cells were infiltrated,and alveolar wall was incrassated. After HBO treatment,the tissue ultrastructure injurys were significantly improved compared with the control group,the recovery in the HBO group Ⅱ was significantly better than that in the HBO group Ⅰ,and the HBO group Ⅲ was significantly better than the HBO group Ⅱ,which recovered to plain level after 2 months. **Conclusion** HBO treatment has the effects for improving cranial nerves injury

* **基金项目**:国家科技支撑计划项目(2009BAI85B05);高原医学教育部重点实验室资助项目(2011JSGY05);全军"十一五"医药卫生科研基金资助项目(06MA091)。 **作者简介**:崔宇(1989-),助教,硕士,主要从事缺氧呼吸方面研究。 △ **通信作者**,E-mail:cjh630828@163.com。

in hypoxia rat, promotes cellular function recovery, decreases hypoxia induced pulmonary hypertension, and has the protective effect on ischemic myocardium.

[**Key words**] plateau deacclimatization; hyperbaric oxygen; tissue ultrastructure

人体长时间在低氧环境中各系统将发生功能或结构改变以适应高原低氧环境，脱离低氧环境原有的相对习服平衡状态受到冲击和破坏，又发生一系列生理反应进行脱习服的重新调节。有 50%～80%的高原移居者和世居者返回平原后会出现食欲减退、头昏、嗜睡、乏力、胸闷、记忆力下降等临床症状，部分人可持续数年，严重者不得不重返高原，此种临床表现称为高原脱习服症[1]。居住地海拔愈高，发病率越高，症状愈重。高原脱习服症不仅影响机体的整体健康水平，也影响到脑体作业能力。本研究采用缺氧大鼠返回平原后的脱习服症模型，通过高压氧(HBO)治疗观察其对高原脱习服症大鼠心肌、脑、肺损伤的保护作用机制，探讨 HBO 治疗高原脱习服症的应用价值。

1 材料与方法

1.1 材料 雄性 SD 大鼠 49 只，由陆军军医大学动物中心提供(动物合格证号：SCXK 20120011)，体质量 200～220 g。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及干预 49 只雄性 SD 大鼠中 44 只在模拟海拔 5 000 m 的低压氧舱内常规喂养 3 个月，在低压舱内死亡 9 只，35 只成活大鼠出舱后体质量为 420～450 g，按体质量采用随机数字法均分为高原对照组(出舱后即刻)、HBO Ⅰ组(HBO 治疗后 7 d)、HBO Ⅱ组(HBO 治疗后 1 个月)、HBO Ⅲ组(HBO 治疗后 2 个月)，对照Ⅰ组、对照Ⅱ组、对照Ⅲ组每组 5 只。HBO Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组均给予 HBO 治疗 7 d；对照Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组出低压氧舱后同步在常压常氧下喂养，分别与 HBV Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组同步处死。余下 5 只在常氧常压下喂养作为平原对照。

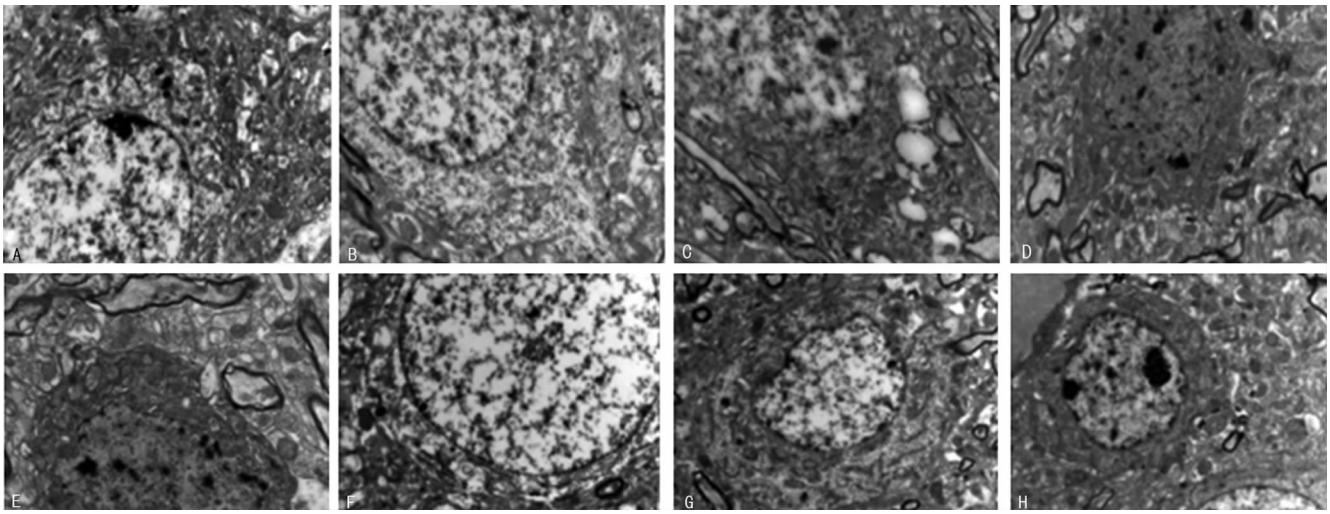
1.2.2 HBO 治疗 HBO Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组大鼠出低压舱后当天开始进行 HBO 治疗。实验动物进入高压氧舱前，先将新鲜钠石灰置于舱底吸收多余的 CO_2，动物进舱后先用纯氧洗舱 10 min，加压至 0.2 MPa，升压 30 min，加压速率为 125 kPa/min，在高压状态下停留 60 min，减压 30 min，每天 1 次，连续治疗 7 d。实验过程中通过观察窗仔细观察动物在舱内的行为状态。舱内温度 22～24 ℃。

1.2.3 检测指标 各组大鼠在相应时间内采用 2%戊巴比妥钠对大鼠进行腹腔麻醉，快速断头处死，取额叶脑皮质、心、肺组织标本 1 mm，置 3.1%戊二醛固定液，包埋、制片，在光镜和电镜下观察各组超微结构的变化并摄片。

2 结 果

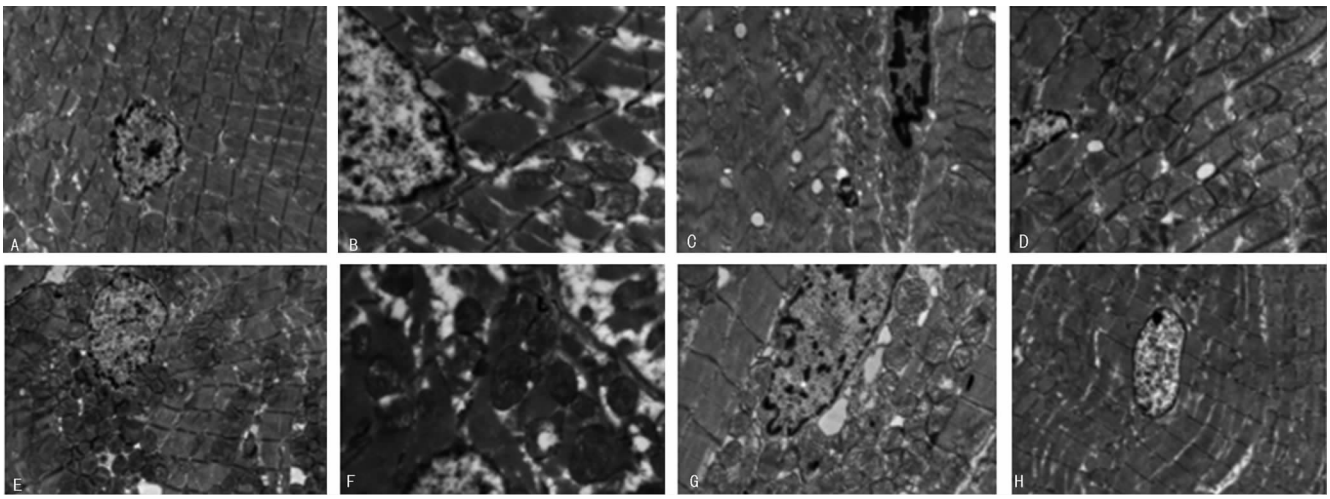
2.1 HBO 治疗对脑组织超微结构变化 平原对照组大鼠脑组织皮层结构完整，神经细胞形态正常，排列整齐，细胞膜、细胞核形态正常；高原对照组线粒体水肿较明显，电子密度降低，脊断裂、内质网水肿明显、可见脂褐素，周围结构可见水肿。对照Ⅰ组细胞核水肿，细胞质丰富，电子密度降低，略显水肿，细胞器较少，线粒体明显水肿；HBO Ⅰ组细胞核明显水肿、染色质疏松、电子密度降低，细胞质丰富，线粒体和血管周围水肿明显。对照Ⅱ组细胞核略显水肿，细胞质丰富，电子密度降低，略显水肿，细胞器较少，细胞周围明显水肿；HBO Ⅱ组细胞核形态结构正常，细胞质丰富，细胞器发达，线粒体、内质网丰富，血管周围水肿明显。对照Ⅲ组细胞核结构正常，染色质分布正常，细胞质丰富，细胞器较发达，线粒体、内质网结构正常，血管周围水肿明显；HBOⅢ组细胞核形态结构正常，细胞质丰富，细胞器发达，线粒体、内质网丰富，结构正常，见图 1。

2.2 HBO 治疗对心肌超微结构变化 平原对照组大鼠结构良好，肌丝排列规则、整齐；线粒体规则分布在肌丝之间，结构正常、线粒体嵴密集。高原对照组大鼠心肌出现明显损伤，可见个别脂滴(脂褐素)，心肌细胞浊肿、空泡变性，核周区域可见肌丝排列不规则，炎性细胞浸润，血管扩张，大量低电子密度区，内质网水肿扩张、线粒体嵴模糊、局部出现断裂和消失。对照Ⅰ组细胞核形态正常，核膜清晰，染色质分布正常，肌丝及肌节排列紊乱、不连续，结构清晰，线粒体发达，嵴清晰，可见水肿，核周区域可见大量低电子密度区，核周线粒体、内质网水肿扩张；HBO Ⅰ组细胞核形态正常，略显水肿，核膜清晰，染色质聚集分布，肌丝及肌节排列紊乱、不连续，线粒体发达，嵴清晰，可见水肿，内质网少见。对照Ⅱ组细胞核形态正常，核膜清晰，染色质分布正常，肌丝及肌节排列不规则，肌丝束粗细不均，结构清晰，大量低电子密度区；HBO Ⅱ组细胞核形态正常，核膜清晰，染色质分布正常，肌丝及肌节排列较规则，结构清晰，线粒体发达未见水肿，嵴清晰，内质网未见水肿扩张，核周区域可见大量低电子密度区，内质网水肿扩张。对照Ⅲ组细胞核形态正常，肌丝及肌节排列略显紊乱，线粒体发达，嵴清晰，内质网偶见水肿；HBOⅢ组细胞核形态正常，核膜清晰，染色质分布正常，肌丝及肌节排列较规则，结构清晰，线粒体相对较少，未见水肿，嵴清晰，见图 2。



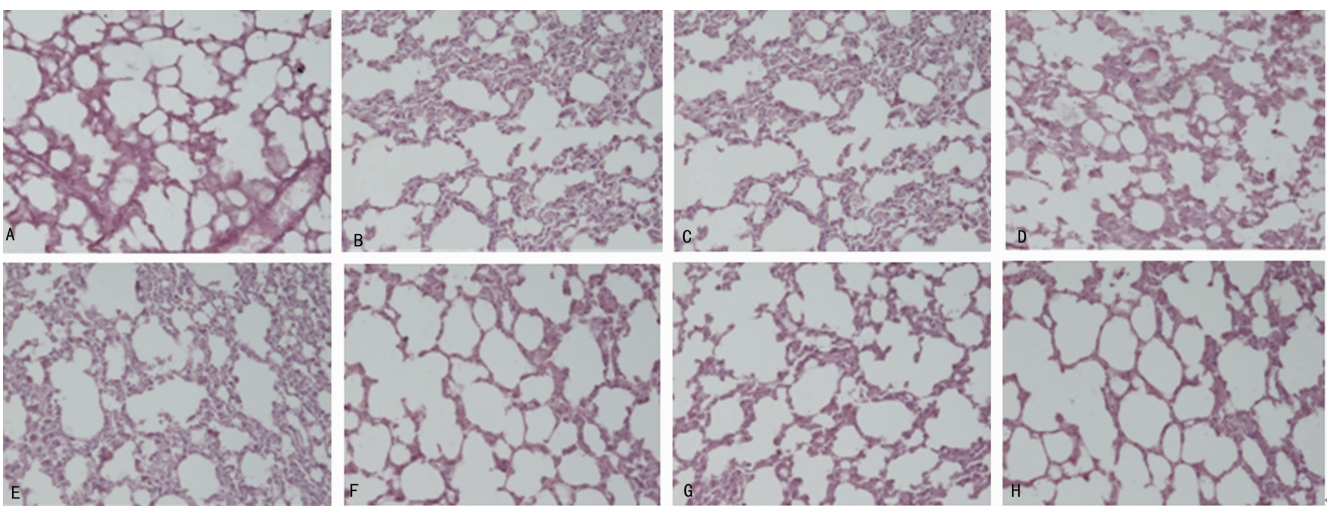
A：平原对照组；B：对照Ⅰ组；C：对照Ⅱ组；D：对照Ⅲ组；E：高原对照组；F：HBO Ⅰ组；G：HBO Ⅱ组；H：HBO Ⅲ组。

图 1　各组大鼠脑组织超微结构改变(80 kV，×10 000)



A：平原对照组；B：对照Ⅰ组；C：对照Ⅱ组；D：对照Ⅲ组；E：高原对照组；F：HBO Ⅰ组；G：HBO Ⅱ组；H：HBO Ⅲ组

图 2　各组大鼠心脏组织超微结构改变(80 kV，×10 000)



A：平原对照组；B：对照Ⅰ组；C：对照Ⅱ组；D：对照Ⅲ组；E：高原对照组；F：HBO Ⅰ组；G：HBO Ⅱ组；H：HBO Ⅲ组

图 3　各组大鼠肺组织光镜显微结构(×100)

2.3　HBO 治疗对肺组织超微结构变化　平原对照组肺泡腔清晰，肺泡隔结构正常。高原对照组肺组织排列紊乱，肺间质炎性细胞浸润，肺泡隔增宽，肺毛细血管明显扩张充血，肺泡腔部分区域内可见粉红色渗出物，肺泡壁增厚。对照Ⅰ组肺组织结构排列紊乱，肺血管充血明显，肺间质可见炎性细胞浸润，肺泡壁

明显增厚；HBO Ⅰ组肺组织结构排列完整，肺血管充血，部分区域肺泡壁厚度增厚。对照Ⅱ组肺组织结构排列紊乱，肺血管充血明显，肺泡壁明显增厚；HBO Ⅱ组肺组织结构排列完整，肺血管充血，肺泡壁厚度稍有增厚。对照Ⅲ组肺组织结构排列稍有紊乱，肺血管充血明显，肺泡壁稍有增厚；HBO Ⅲ组肺组织结构排列完整，肺间质未见炎性细胞浸润，肺泡壁结构正常，未见增厚，见图 3。

3 讨 论

进入高原，人体难免会受到不同程度的损伤，其中心、脑、肺等器官损伤较明显。高海拔环境，大气氧分压较海平面处明显变低，大鼠因缺氧明显，心肌能量不足而形成全心性损伤，主要表现为线粒体肿胀、肌膜破裂和细胞内、外水肿；肺间质炎性细胞浸润，肺泡隔增宽，毛细血管明显扩张充血。长期缺氧引起肺小血管痉挛，血管阻力增加，肺血管结构重建，最终导致肺动脉高压，表现为肺动脉高压及毛细血管通透性改变。肺动脉压随着海拔高度上升，缺氧时间的延长，肺组织炎症反应逐渐加重而升高。由于肺动脉高压，右心室压力过度负荷，不但肥厚扩张，体积增大，而且充盈压增加，使厚度和僵硬度增加的室间隔向左心室膨出，有助于高原心脏病的形成[1-3]。大量的临床和基础研究表明，HBO 对组织缺血缺氧性损伤具有明显的保护作用[4-6]。其主要作用机制是逆转缺氧的病理过程，使体内血氧含量和氧分压增高，同时增加氧的弥散距离，改善氧化代谢，进而降低颅内压、减轻脑水肿、改善脑缺氧。HBO 处理还可以增加神经细胞对葡萄糖的利用，有助于维持神经细胞的能量代谢，减轻炎症反应，减少缺血组织的细胞死亡，达到神经保护作用[7]。对于机体血流动力学方面，HBO 处理也能使之在缺氧后得到改善，包括明显提高右心室功能、改善冠状动脉循环、保护心肌结构[8]。

本课题前期研究表明，海拔 5 000 m 以上居住 1 年的青年返回平原 5 个月，肝脏、脾脏、肾脏等形态和功能及血液指标可完全恢复到上高原前的水平，心脏各腔室内径则需 1 年可恢复到上高原前的水平[9-11]。本研究结果显示，缺氧对心、脑、肺组织结构造成损伤，返回平原经 HBO 治疗后组织超微结构损伤变化较未治疗组明显改善，HBO Ⅱ组明显好于 HBO Ⅰ组，HBO Ⅲ组明显好于 HBO Ⅱ组，HBO 治疗后 2 个月完全恢复到平原水平。提示 HBO 治疗能减轻缺氧所致的组织损伤，促进机体恢复。HBO 不同于常压吸氧，在 HBO 下，肺泡氧分压迅速提高，血液中的氧含量随之增加，组织的氧储量亦增加。一方面血氧张力升高，氧的有效弥散距离增加，促使血管收缩，脑组织血流量降低，减轻脑水肿[12]，同时使微循环得到改善，红细胞、血小板聚集明显减轻，保持了血流通畅，血管中形成和附着的微小血栓得以清除，建立侧支循环，微血管数增多，恢复组织重灌注，减少脑细胞损伤的同时促进脑组织的修复[13-17]，脑干供血增加，脑干网状结构上行系统的兴奋性提高。另一方面 HBO 还可通过物理作用使肺泡内气压超过了肺组织间隙和毛细血管静水压，阻止了渗(漏)出，促进水肿消除。

HBO 治疗可促进组织细胞损伤恢复，2 个月完全恢复到平原水平。提示 HBO 治疗可促进脑细胞的功能恢复，有明显改善脑损伤和神经损伤的作用，降低缺氧引起的肺动脉高压，对缺血心肌有保护作用，为今后临床应用提供理论依据。目前对 HBO 治疗高原脱习服症的研究报道较少，科学研究探索适宜的 HBO 治疗策略非常必要。随着 HBO 治疗机制研究的深入，以及大量的动物实验和临床试验的进行，HBO 将成为高原脱习服症治疗的一项重要的手段，值得临床推广。

参考文献

[1] 崔建华. 高原医学基础与临床[M]. 北京：人民军医出版社，2012：14-213.

[2] LI Y L，LI Y S. Oxygen enrichment and its application to life support systems for workers in high- altitude areas [J]. Int J Occup Environ Health，2014，20(3)：207-214.

[3] SECCOMBE L M，PETERS M J. Physiology in medicine：acute altitude exposure in patients with pulmonary and cardiovascular disease[J]. J Appl Physiol，2014，116(6)：478-485.

[4] THOM S R. Oxidative stress is fundamental to hyperbaric oxygen therapy[J]. J Appl Physiol(1985)，2009，106(3)：988-995.

[5] ZHOU Y，LIU X H，QU S D，et al. Hyperbaric oxygen intervention on expression of hypoxia-inducible factor-1α and vascular endothelial growth factor in spinal cord injury modelsin rats[J]. Chin Med J(Engl)，2013，126(20)：3897-3903.

[6] HUANG Z X，KANG Z M，GU G J，et al. Therapeutic efects of hyperbaric oxygen in a rat model of endothelin-1-induced focal cerebral ischemia[J]. Brain Res，2007，1153(2)：204-213.

[7] 崔建华. 高原医学研究与临床[M]. 河南：河南科学技术出版社，2016：153.

[8] 崔建华，李彬，张西洲，等. 高压氧预处理对急性低氧大鼠心肌超微结构和心功能保护机制的研究[J]. 中华航海医学与高气压医学杂志，2008，15(5)：276-278.

[9] 张西洲，崔建华，王宏运，等. 士兵高原驻防及返回后心电图随访调查[J]. 人民军医，2007，50(9)：519-520.

[10] 杨海军，崔建华，张西洲，等. 移居高海(下转第 1849 页)

效的抗肿瘤药物，而目前研究主要集中在体外实验，期待更进一步的动物实验、临床实验获取更多更高级别的证据支持。

参考文献

[1] CHEN W Q，ZHENG R S，BAADE P D，et al. Cancer statistics in China，2015[J]. CA Cancer J Clin，2016，66(2)：115-132.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2010 版. 一部[M]. 北京：中国医药科技出版社，2010：157.

[3] 刘大有，王晓颖，夏忠庭，等. 两头尖化学成分研究[J]. 长春中医学院学报，2003，19(3)：587-592.

[4] 刘大有，李勇，赵博，等. 两头尖地上部分化学成分及其含量测定分析[J]. 长春中医学院学报，2005，21(1)：43-44.

[5] 邹忠杰，刘红霞，杨峻山. 银莲花属植物化学成分及其药理活性[J]. 中国药学杂志，2004，39(7)：493-495.

[6] GUAN Y Y，LIU H J，LUAN X，et al. Raddeanin a，a triterpenoid saponin isolated from anemone raddeana，suppresses the angiogenesis and growth of human colorectal tumor by inhibiting VEGFR2 signaling[J]. Phytomedicine，2015，2(1)：103-110.

[7] WANG M K，DING L S，WU F E. Antitumor effects of raddeanin A on S180，H22 and U14 cell xenografts in mice[J]. Chin J Cancer，2008，27(9)：910-913.

[8] XUE G，ZOU X，ZHOU J Y，et al. Raddeanin A induces human gastric cancer cells apoptosis and inhibits their invasion in vitro[J]. Biochem Biophys Res Commum，2013，439(2)：196-202.

[9] TENG Y H，LI J P，LIU S L，et al. Autophagy protects from raddeanin A-Induced apoptosis in SGC-7901 human gastric cancer cells[J]. Evid Based Complement Alternat Med，2016(9)：9406758.

[10] OHSUMI Y. Historical landmarks of autophagy research[J]Cell Res，2014，24(1)：9-23.

[11] ROY S，DEBNATH J. Autophagy and tumorigenesis[J]. Semin Immunopathol，2010，32(4)：383-396.

[12] YOSHIDA H，KONG Y Y，YOSHIDA R，et al. Apaf1 is required for mitochondrial pathways of apoptosis and brain development[J]. Cell，1998，94(6)：739-750.

[13] 李宝秀，张晓实. Beclinl 对抑制肿瘤细胞增殖改善ⅢB 期结肠癌预后的分析[J]. 中华临床医师杂志，2010，4(4)395-401.

[14] CHAU Y P，LIN S Y，CHEN J H，et al. Endostatin induces autophagic cell death in early human endothelial ceIls. Histol Histopathol，2003，18(3)：715 -726.

[15] YEE K S，WILKINSON S，JAMES J，et al. PUMA-and Bax-induced autophagy contribute to apoptosis[J]. Cell Death Differ，2009，16(8)：1135-1145.

[16] 陈松峰，邵增务. 自噬相关信号转导通路研究进展[J]. 国际骨科学杂志，2013，34(4)：269-271，280.

[17] 郑鹏生，冀静. mTOR 信号通路与肿瘤的研究进展[J]. 西安交通大学学报(医学版)，2010，31(1)：1-9.

(收稿日期：2017-08-18 修回日期：2018-01-21)

(上接第 1844 页)

拔地区青年人多脏器改变超声分析[J]. 临床超声医学杂志，2007，9(12)：757-758.

[11] 崔建华，王引虎，高亮，等. 驻守海拔 5000 米以上高原 1 年返回平原后血液流变学的随访调查[J]. 中国血液流变学杂志，2006，16(2)：246-251.

[12] HUANG H，XUE L，ZHANG X，et al. Hyperbaric oxygen therapy provides neuroprotec-tion following spinal cord injury in a rat model[J]. Int J Clin Exp Pathol，2012，6(7)：1337-1342.

[13] ZHOU Z，DAUGHERTY W P，SUN D，et al. Protection of mitochondrial function and improvement in cognitive recovery in rats treated with hyperbaric oxygen following lateral fluid-percussion injury[J]. J Neurosurg，2007，106(4)：687-694.

[14] ROCKSWOLD S B，ROCKSWOLD G L，ZAUN D A，et al. A prospective，randomized clinical trial to compare the effect of hyperbaric to normobaric hyperoxia on cerebral metabolism，intracranial pressure，and oxygen toxicity in severe traumatic brain injury[J]. J Neurosurg，2010，112(5)：1080-1094.

[15] FELLING R J，SNYDER M J，ROMANKO M J，et al. Neural stem/progenitor cells participate in the regenerative response to perinatal hypoxia/ischemia[J]. J Neurosci，2006，26(16)：4359-4369.

[16] WANG L，LI W，KANG Z，et al. Hyperbaric oxygen preconditioning attenuates early apoptosis after spinal cord ischemia in rats[J]. J Neurotrauma，2009，26(1)：55-56.

[17] MATCHETT G A，MARTIN R D，ZHANG J H. Hyperbaric oxygen therapy and cerebral ischem-ia：neuroprotectlve mechanisms[J]. Neurol Res，2009，31(2)：114-121.

(收稿日期：2017-08-19 修回日期：2018-01-22)