论著

文章编号:1000-5404(2006)11-1176-02

高原肺水肿动物模型的初步研究

陈 有[1],高钰琪[1],李素芝[2],赵忠诚[2],刘福玉[1],牟信兵[2] ([1]第三军医大学高原军事医学系病理生理学与高原生理学教研室,全军高原医学重点实验室,重庆 400038;[2]西藏军区总医院全军高山病研究中心,拉萨 850003)

提 要:目的 通过模拟高原环境,研究大鼠在复合缺氧寒冷运动时诱发高原肺水肿(high altitude pulmonary edema, HAPE)的可能性。**方法** 利用低压氧舱减压大鼠,观察大鼠在复合缺氧寒冷运动条件下的肺血流动力学、肺组织病理形态学改变。**结果** 在模拟高原海拔4 000 m、白昼10 ℃、夜间4 ℃、适度运动条件下,PaO_2、SaO_2、$PaCO_2$均显著降低,24、48、72 h之间无显著差异;肺动脉压在72 h时显著升高,这与临床观察到HAPE通常在进入高原2~5 d发病相符。病理切片结果:缺氧寒冷运动组70.2%可见肺间质增厚、肿大,大量多核细胞,肺泡腔变小,肺泡腔内无液体渗出,呈间质性肺水肿改变,未见肺泡型肺水肿发生。**结论** 可采用该实验模型复制间质性HAPE动物模型,而肺泡型HAPE有待进一步研究。

关键词:高原肺水肿;缺氧;寒冷;运动;SD-大鼠;动物模型

中图法分类号:R-332;R541.63;R594.3 **文献标识码**:A

Primary establishment of HAPE animal model

CHEN You[1], GAO Yu-qi[1], LI Su-zhi[2], ZHAO Zhong-cheng[2], LIU Fu-yu[1], MOU Xin-bing[2] ([1]Department of Pathophysiology, College of High Altitude Military Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038; [2]High Altitude Medical Research Center, General Hospital of Tibet Military Command Area, Lhasa 850003, China)

Abstract: Objective To set up an animal model of high altitude pulmonary edema (HAPE) by putting SD rats in the condition simulating high altitude where is hypoxic and cold, in addition the SD rats are forced to swim. **Methods** SD rats were divided into normal control group and experiment group (SD rats were put into the stimulated 4 000-meter low pressure chamber; Temperature: 8:00-20:00 10 ℃, 20:00-8:00 4 ℃; Everyday the rats were forced to swim 6 times a day, once every 4 hours, each for 40 min). The rat lung arterial pressure was observed and pulmonary tissue was collected for pathological examination at 24, 48, 72 h. **Results** PaO_2, SaO_2, $PaCO_2$ in the experiment decreased significantly. Lung arterial pressure increased significantly at 72 h, consistent with the progression of clinical HAPE. About 70.2% rats in the experiment exhibited swollen and thicken pulmonary tissue, the smaller alveolar cavity, but no case of alveolar edema was found. **Conclusion** The animal model of HAPE is successfully replicated, but the alveolar model of HAPE needs further study.

Key words: high altitude pulmonary edema; hypoxia; cold; exercise; SD rat; animal model

高原肺水肿(high altitude pulmonary edema, HAPE)多发生在人们由低海拔急性进入高海拔(一般指3 000 m)时,通常在进入后2~5 d发病,目前其发病机制尚未完全阐明。许多能够提供有价值信息的技术方法不适于人体研究。因此,建立高原肺水肿的动物模型是HAPE发病机制和临床研究的首要条件。以往人们用大鼠、兔、羊、狗、猪等动物复制HAPE动物模型,但结果均不理想。我们根据临床上HAPE发病特点,模拟高原环境,选择不同时相点,观察大鼠在缺氧寒冷运动条件下病理生理变化情况,复制HAPE动物模型。这对HAPE发病机制的研究具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要实验设备 低压舱;多道生理记录仪;-20 ℃低温冰箱;-80 ℃低温冰箱;纯水系统;普通光学显微镜;制冰机;电子天平;冰冻切片机。

1.1.2 主要药品与试剂 10%乌拉坦;肝素;0.9%生理盐水;4%多聚甲醛。

1.2 实验方法

1.2.1 实验动物 成年健康SD大鼠,雄性,体质量(200±20)g,由本校实验动物中心提供。

1.2.2 实验动物模型 实验动物分为平原对照组、缺氧寒冷运动组(hypoxia and cold and exercise, HCE)。HCE组实验条

基金项目:全军医学科学技术研究"十五"计划指令性课题(01L062) Supported by the Mandatory Scientific Research Project of the "Tenth Five-Year Plan" of PLA (01L062)

作者简介:陈 有(1975-),男,四川省遂宁市人,博士研究生,医师,主要从事高原肺水肿发病机制方面的研究。电话:(0891)6253127

通讯作者:高钰琪,电话:(023)68752331, E-mail: gyq@mail.tmmu.com
牟信兵,E-mail: muxinbing@163.tom.cn

收稿日期:2005-11-23;修回日期:2006-01-11

件为：持续减压高度 4 000 m；温度在 8:00 ~ 20:00 为 10 ℃，20:00至次日 8:00 为 4 ℃；湿度与外界环境相同；实验期间自由进食和饮水，每日赶大鼠游泳运动 6 次，每隔 4 h 1 次，每次 40 min。HCE 分为 24、48、72 h 3 个时相点，分别检测肺动脉压、心室压、采取颈动脉血后活杀取肺。

1.3　实验主要操作步骤

称取大鼠，按每 100 g 肌注 1.0 ml 10% 乌拉坦，取左下腹腔注射麻醉（麻醉效果不好加注 0.5 ml）。分离左颈总动脉及右颈静脉，并行右颈静脉心室导管插管，用 powerlab 多道生理记录仪检测右心室压和肺动脉压及心率等生理指标。取颈动脉血，置于冰壶中，作血气分析。取右肺中叶行 4% 多聚甲醛固定，并行石蜡切片，HE 染色。

1.4　统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 Excel 2000 进行 t 检验。

2　结果

2.1　模拟高原环境下大鼠动脉血氧分压（PaO_2）、动脉血氧饱和度（SaO_2）、二氧化碳分压（$PaCO_2$）及肺动脉压（PAP）

结果见表 1。

表 1　模拟高原环境下大鼠 PaO_2、SaO_2、$PaCO_2$ 及 PAP 结果分析（$\bar{x} \pm s$）

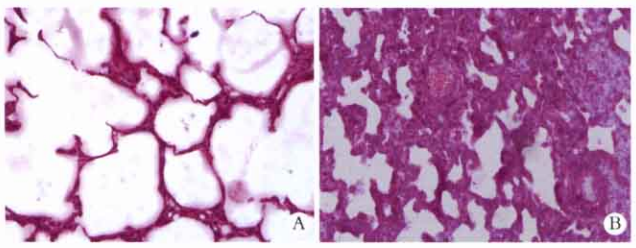
组别	SaO_2（%）	PaO_2（mmHg）	$PaCO_2$（mmHg）	PAP（mmHg）
平原对照组	98.38 ± 1.08	123.00 ± 21.78	33.60 ± 3.36	19.05 ± 4.10
HCE 组				
24 h	91.34 ± 7.49[a]	78.75 ± 8.70[b]	23.93 ± 6.98[a]	18.36 ± 3.41
48 h	92.20 ± 3.26[a]	74.00 ± 11.60[b]	25.93 ± 5.17[a]	20.60 ± 5.79
72 h	93.83 ± 2.57[a]	76.89 ± 9.28[b]	23.73 ± 4.54[a]	27.10 ± 6.46[b]

a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，与平原对照组比较

与平原对照组比较，HCE 组 SaO_2、PaO_2、$PaCO_2$ 均显著降低（$P<0.05$），24、48、72 h 之间无显著差异；PAP 则随时间的增加呈增高的趋势（$P<0.01$），72 h 较 48 h 有非常显著性差异。

2.2　模拟高原环境大鼠肺病理切片结果

光镜下：HCE 组 70.2% 可见肺间质增厚、肿大，大量多核细胞，肺泡腔变小，肺泡腔内无液体渗出，呈间质性肺水肿改变未见肺泡型肺水肿发生（图 1）。



A：平原对照组；B：HCE 组

图 1　肺组织病理观察结果　（HE × 200）

3　讨论

HAPE 的发生主要取决于海拔高度、环境温度、机体的适应情况。前二者是外在条件，后者是内在因素，当 3 个条件均具备时发病率明显增高，若同时有其他诱因（如劳累）存在时，发病率则更高。罗德成等对高原肺水肿动物模型和发病机制进行了研讨。近年来随着分子生物技术快速发展，人们更趋向遗传学角度探讨高原肺水肿发生机制，认为高原肺水肿发生存在易感性[1]，国内外学者认为缺氧所致肺动脉高压是高原肺水肿发生的重要因素[2]。本研究模拟一定的高原环境，考虑在缺氧复合寒冷运动条件下，通过观察大鼠的肺血流动力学、肺组织病理形态学改变，来进一步复制 HAPE 动物模型。

我们的实验结果显示：在模拟高原海拔 4 000 m、白昼 10 ℃、夜间 4 ℃、适度运动条件下，PaO_2、SaO_2、$PaCO_2$ 均显著降低，24、48、72 h 之间无显著差异；肺动脉压在 72 h 时显著升高，这与临床观察到 HAPE 通常在进入高原 2 ~ 5 d 发病相符，这也表明该实验动物模型设计可能进一步与 HAPE 发病过程相符，从模型条件控制较为理想。另外病理切片结果显示：缺氧寒冷运动组 70.2% 可见肺间质增厚、肿大，大量多核细胞，肺泡腔变小，肺泡腔内无液体渗出，呈间质性肺水肿改变，未见肺泡型肺水肿发生。这在一定程度上反应 HAPE 发生存在间质型和肺泡型 2 个阶段，这与国内江开勇等[3]的报道相符。本研究提示 HAPE 间质性向肺泡性发展的病理生理过程有可能是临床 HAPE 发生的关键环节，对该病理生理过程的研究将为 HAPE 防治提供重要的理论依据，而且也可能为 HAPE 动物模型成功复制起到关键作用。本实验结果表明：可采用该实验模型复制间质性 HAPE 动物模型，至于肺泡型 HAPE 动物模型的建立仍需进一步探索研究。目前研究表明肺水肿发生存在主动重吸收机制，水通道蛋白在主动重吸收机制中起重要作用[3]，肺泡型 HAPE 的发生可能与水通道蛋白 AQP 表达量的变化及功能改变有关，其机制有待进一步研究[4-6]。

参考文献：

[1] GRUNIG E, MERELES D, HIDEBRANDT W, *et al*. Stress Doppler echocardiography for identification of susceptibility to high altitude pulmonary edema[J]. J Am Coll Cardiol, 2000, 35(4): 980 - 987.

[2] HOMIK L A, BSHOUTY Z, LIGHT R B, *et al*. Effect of alveolar hypoxia on pulmonary fluid filtration *in situ* dog lungs[J]. J Appl Physiol, 1988, 65(1): 46 - 52.

[3] 江开勇，廖国荣，牟信兵. 高原肺水肿肺泡形态结构的变化[J]. 中国呼吸与危重监护杂志，2002，1(3)：139.

[4] 白春学. 肺水肿形成和消散的新机制[J]. 中华内科杂志，2002，41(3)：203 - 205.

[5] 焦光宇，李尔然，于润江. 水通道蛋白 1 和 5 在急性肺损伤大鼠的表达[J]. 中华内科杂志，2003，42(6)：427 - 428.

[6] FUJITA Y, YAMAMOTO N, SOBUE K, *et al*. Effect of mild hypothermia on the expression of aquaporin family in cultured rat astrocytes under hypoxic condition[J]. Neurosci Res, 2003, 47(4): 437 - 444.

（编辑　张大春）