DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.03.026

文章编号:1000-5404(2000)03-0265-03

论著

慢性缺氧大鼠右心房的超微病理变化及血浆ANF含量改变的实验研究

王细文,仇玉福,陈意生 (第三军医大学附属西南医院病理研究所,重庆 400038)

提 要 目的:研究慢性间断性缺氧时右心房心肌细胞的病理改变及血浆、右心房心房利钠因子(ANF)含量的变化规律。方法:利用电镜观察模拟海拔5 000 m高度缺氧条件下不同时期大鼠右心房的超微病理改变,同时利用免疫组织化学方法检测右心房ANF含量的改变,并利用放射免疫方法测定慢性间断性缺氧大鼠血浆ANF含量的变化规律。结果:慢性间断性缺氧时,右心房心肌细胞及间质具有多种超微病理改变,右心房组织ANF含量下降,血浆ANF含量升高。结论:慢性间断性缺氧可导致右心房产生明显的病理变化。血浆ANF升高是右心房心肌细胞分泌心房特殊颗粒(ASG)增多所致机体对缺氧损害的一种代偿反应。

关键词 慢性缺氧;ANF;右心房;血浆;大鼠
中图法分类号 R322.11;R331.1;R845.22 文献标识码 A

Ultrastructual pathological changes of right atria and alteration of plasma atrial natriuretic factor content after chronic hypoxia in rats

WANG Xi-wen, QIU Yu-fu, CHEN Yi-sheng (Department of Pathology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract Objective: To investigate the cardiac injury and the alteration of the right atria and plasma atrial natriuretic factor (ANF) content after chronic hypoxia. Methods: The right atria of rats submitted to chronic hypoxia at simulated high altitude of 5 000 m was examined ultrastructurally and immuohistochemically. Meanwhile, the alteration of plasma ANF content was also determined with radioimmunoassay. Results: Ultrastructurally, the right atria myocardial cells exhibited such changes as myofilament lysis, Golgi complex swelling, mitochondria swelling and lysis, increase of the number of mitochondria and decrease of the number of ASG. Immunohistochemically, the ANF content of the right atria decreased while radioimmunoassay displayed an increase in its content. Conclusion: ①Chronic hypoxia causes injury of the right atria. ②The increase of mitochondria and decrease of ASG, together with the increase of plasma ANF content are a protective reaction to chronic hypoxia.

Key words chronic hypoxia; ANF; right atria; plasma; rat

心肌是机体摄氧量最高而又对缺氧十分敏感的组织之一。高原缺氧不仅可引起心肌代谢及功能的改变,而且对心肌细胞的超微结构亦可产生不同程度的损伤[1~3]。心房利钠因子(Atrial natriuretic factor, ANF)主要由右心房心肌细胞产生,通过分泌ASG而进入血液循环[4]。它具有扩张肺动脉及冠状动脉、利尿、抑制血管紧张素-II生成的作用[5]。一般认为ANF升高是机体对慢性缺氧的一种代偿反应,对机体具有保护作用[6]。为了阐明慢性间断性缺氧时右心房的超微病理改变、右心房心肌细胞ANF含量的变化及血浆ANF含量的动态变化,本研究选用雄性Wistar大白鼠,在低压舱内减压至模拟海拔5 000 m高度,通过采用电镜、免疫化学、放射免疫测定等方法,观察慢性间断性缺氧大白鼠右心房心肌细胞的病理改变及血浆ANF含量变化。

作者简介:王细文(1964.9),男,湖北省鄂州市人,硕士,主治医师,讲师,主要从事胆管癌、缺氧病理方面的研究,现在附属新桥医院肝胆外科,重庆 400037。电话:(023)68755232

收稿日期:1999-05-25;修回日期:1999-10-07

?1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1 材料与方法

1.1 实验分组

雄性 Wistar 大鼠 55 只，体重为(200±50)g，分为正常对照组，缺氧 15 d 组、缺氧 30 d 组、缺氧 45 d 组及缺氧 60 d 组。除正常对照组大白鼠为 15 只外，其余各组动物均为 10 只。

1.2 实验过程

实验前，各缺氧组大鼠在低压舱外饲养数天，而后置低压舱中减压至模拟海拔 5 000 m 高度，每天减压 8 h，每周减压 6 d。舱内大鼠笼养，自由饮水、摄食。

1.3 取材及样品制备

取材时间均于减压停止后 1 h 内完成。取材时用 1% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉，开腹后经腹主动脉取血 3 ml，置入 10% EDTA-Na2 及 1% 抑肽酶的抗凝管中，混匀抗凝后，于低温下离心分离血浆，－20℃保存，供测血浆 ANF 用。采血后迅速摘取动物心脏，用锐利剪刀将右心房剪下，其一半在低温下用双面刀片修成约 1 mm× 1 mm× 1 mm 大小的组织块，用预冷的 3% 戊二醛固定，作为电镜制样材料。另一半置于 4% 多聚甲醛中固定，作 ANF 免疫组织化学材料。常规电镜制样，H-300 及 JEM-200EX 电镜观察、照相、记录。ANF 免疫组织化学标本低温石腊包埋后切片，按 PAP 法染色，底物为 DAB。抗 ANF 抗体(河北省医学科学院提供)及 ANF 放射免疫测试盒(北京中国同位素北方免疫试剂研究所提供)，按说明书操作程序对血浆 ANF 含量进行检测。

2 结果

2.1 电镜观察

对照组右心房心肌细胞结构正常。缺氧 15 d 组大鼠右心房心肌细胞核结构无异常改变，部分细胞出现核周空化。肌丝排列基本正常。大多数线粒体结构正常，少数线粒体肿胀、溶解。肌浆网和高尔基复合体轻度扩张。与对照组相比，缺氧 15 d 组大鼠右心房心肌细胞心房特殊颗粒(Atrial specific granular，ASG)数量减少，但线粒体无明显改变。细胞间质毛细血管管腔淤血，内皮细胞吞饮小泡稍有增多。缺氧 30 d 组大鼠较缺氧 15 d 组大鼠右心房心肌细胞 ASG 进一步减少、线粒体肿胀、溶解现象增多，但线粒体仍无明显改变。肌浆网及高尔基复合体明显扩张，少数肌浆网扩张呈囊状。核结构基本正常。肌丝病变无明显加重。毛细血管淤血明显，内皮细胞吞饮小泡增多。缺氧 45 d 组大鼠 ASG 进一步减少，大多数线粒体肿胀、扩张，嵴排列紊乱，少数线粒体形成髓鞘样结构。线粒体数目增多。肌浆网和高尔基复合体广泛扩张，肌浆内出现局部灶性肌浆内变性。核无明显改变。间质毛细血管腔内淤血明显，内皮细胞吞饮小泡增多，见图 1。缺氧 60 d 组大鼠右心房心肌细胞 ASG 较缺氧 45 d 组增多，但仍低于正常。线粒体数目明显增多。线粒体局灶性溶解、空化较缺氧 45 d 组加重，肌丝成片溶解。

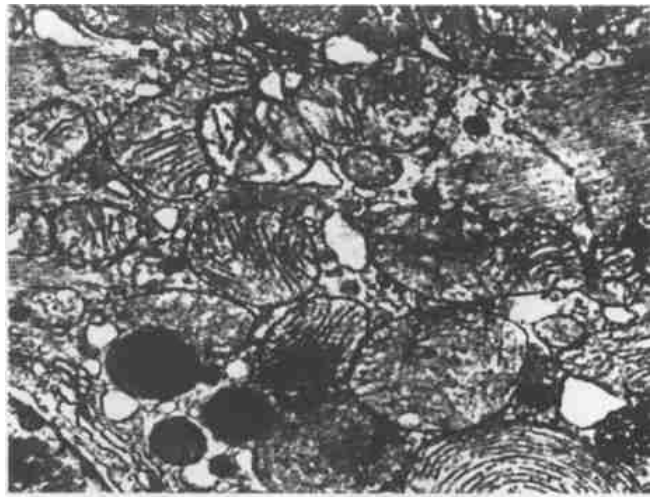


图 1 缺氧 45 d，右心房心肌细胞中见有 ASG，数目少，肌浆网明显扩张，线粒体增多，其嵴呈纵行或同心圆状紧密排列，有灶性空化改变 (TEM× 24 100)

Fig 1 In 45 d after hypoxia, myocardiocytes in right atrium with descreasing ASG, dialated sarcoplas mic reticulum, and increased mitochodria with disarranged cristae and focal vacuation (TEM× 24 100)

2.2 右心房心肌 ANF 免疫组织化学染色观察

对照组右心房心肌细胞 ANF 免疫反应阳性物呈棕黄色、颗粒状，主要分布于核的两极，数量较丰富，见图 2。缺氧组右心房心肌细胞 ANF 免疫反应阳性物均较对照组有所减少，其变化有明显的规律性，即随着缺氧时间的延长而逐渐减少，以缺氧 45 d 组为下限，见图 3。缺氧 60 d 组有所回升，但仍比正常对照组少。

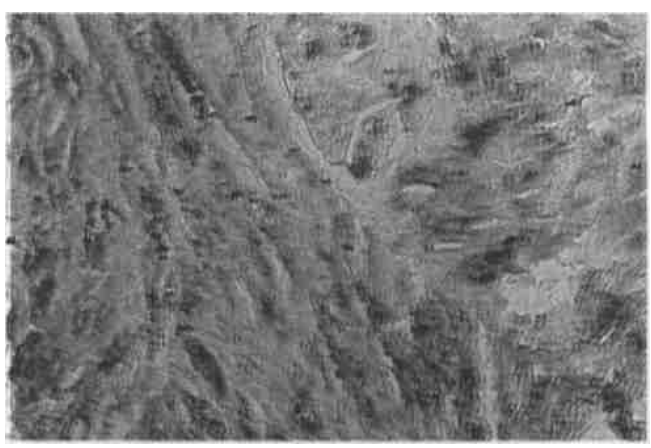


图 2 正常对照组，右心房心钠素免疫反应阳性物 (PAP× 400)

Fig 2 Anti-ANF antibody in the right atrial cells of control group (PAP× 400)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

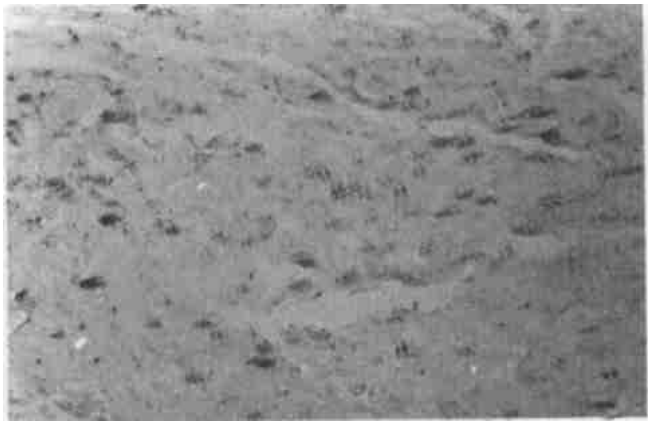


图 3　缺氧 45 d 右心房心钠素免疫反应阳性物与正常对照组相比, 含量明显减少　(PAP× 400)

Fig 3　Anti-ANF antibody in the right atrial cells in 45 d after hypoxia is decreased sharply compared with that of control group　(PAP× 400)

2.3　血浆 ANF 含量放射免疫测定

对照组及各缺氧组大鼠血浆 ANF 含量放射免疫测定结果, 见表 1。缺氧 15 d 时大鼠血浆 ANF 含量即明显升高($P<0.05$), 一直持续到缺氧 60 d($P<0.01$), 峰值位于缺氧 30 d($P<0.01$)。

表 1　血浆心钠素测定值(ρ_B/ng·L^{-1}, $\bar{x}\pm s$)

Tab 1　Plasma ANF concentrations (ρ_B/ng·L^{-1}, $\bar{x}\pm s$)

Group	n	ANF
Control	15	619.72 ± 125.77
Hypoxia		
15 d	10	852.04 ± 368.60$^{\triangle}$
30 d	10	1 450.97 ± 100.75$^{\triangle\triangle}$
45 d	10	1 270.08 ± 208.70$^{\triangle\triangle}$
60 d	10	1 209.85 ± 134.30$^{\triangle\triangle}$

$\triangle$: $P<0.05$, $\triangle\triangle$: $P<0.01$ *vs* control

3　讨论

本实验结果表明, 慢性间断性缺氧时右心房心肌细胞除肌丝、肌浆网、高尔基复合体等有较明显的病理改变外, 线粒体的改变更引人注目, 线粒体在慢性缺氧条件下数量明显增加。本结果与 Costa[7] 的实验结果一致, Costa 认为慢性缺氧时心肌细胞线粒体数量增加及聚集, 是机体对缺氧损害的一种适应性反应。右心房心肌细胞是 ANF 的主要分泌细胞。本实验的电镜观察结果表明, 慢性缺氧条件下, 右心房心肌细胞的 ASG 减少。这与 Winter[8] 的实验结果相一致。本实验的右心房心肌细胞 ANF 免疫组织化学反应结果亦证明右心房心肌细胞 ANF 在慢性间断性缺氧时有明显减少, 尤以缺氧 45 d 组为甚。

ANF 具有利钠、利尿、舒张血管及抑制肾素-血管紧张素系统的作用。在其舒张血管活性中, ANF 对肺血管的舒张作用最明显。本实验的大白鼠血浆 ANF 放射免疫测定结果表明, 慢性缺氧时, 血浆 ANF 明显升高。结合右心房组织 ANF 免疫组织化学反应及右心房电镜观察结果分析, 我们认为慢性缺氧时血浆 ANF 含量升高是右心房心肌细胞 ASG 分泌增加所致, 是机体对缺氧损害的一种代偿反应。

参考文献

[1] Browne V A, Stiffel V M, Pearce W J, *et al*. Activator calcium and myocardial contractivity in feta l sheep exposed to long-term high-altitude hypoxia[J]. Am J Physiol, 1997, 272(3 Pt 2): 1 196—1 204.

[2] 李亚萍, 王志刚, 温佳林, 等. 平原地区大鼠急进高原后心肺电镜观察[J]. 陕西医学杂志, 1998, 27(6): 381—383.

[3] Ohtsuka J, Gilbert R D. Cardiac enzyme activities in fetal and adult pregnant and nonpregnant sheep exposed to high-altitude hypoxemia[J]. J Appl Physiol, 1995, 79(4): 1 286—1 288.

[4] Debold A J. Heart atrial granularity: Effect of changes in water-electrolyte balance[J]. Pro Soc Exp Biol Med, 1979, 161(3): 508—510.

[5] 汤　健. 心钠素[M]. 北京: 北京医科大学出版社, 1986. 1—15.

[6] Klinger J R, Sidding F M, Swift R A, *et al*. C-type natriuretic peptide expression and pulmonary vasodilation in Hypoxia-adapted rats[J]. Am J Physiol, 1998, 275(4 Pt 1): 645—646.

[7] Costa L E, Boveris A. Liver and heart mitochondria in rats submitted to chronic hypobaric hypoxia[J]. Am J Physiol, 1998, 255(1 Pt 1): 123—125.

[8] Winter R J, Meleagros L. Atrial natriuretic peptide levels in plasma and in cardiac tissues after chronic hypoxia in rats[J]. Clinic Sci, 1989, 76(1): 95—98.

(编辑　陈聪连)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net