

## 模拟高原慢性缺氧环境下便携式氧气机富氧对大鼠行为学的影响

董旭<sup>1,2</sup>, 雷涛<sup>1</sup>, 申广浩<sup>1</sup>, 谢康宁<sup>1</sup>, 景达<sup>1</sup>, 刘娟<sup>1</sup>, 翟明明<sup>1</sup>, 罗二平<sup>1</sup>

1. 第四军医大学生物医学工程学院, 陕西 西安 710032; 2. 海军青岛第一疗养院医务部科训科, 山东 青岛 266071

**【摘要】目的:**探索模拟高原慢性缺氧环境下便携式氧气机富氧对大鼠行为学的影响。**方法:**利用低压舱模拟海拔5 000 m高原缺氧环境,利用自主研制的便携式膜法氧气机与大鼠IVC笼盒建立富氧饲养笼。将36只雄性SD大鼠随机分为平原对照组(NC)、缺氧组(HH)与富氧组(HO),HH与HO组置于低压舱内饲养4周(22 h/d),HO组每天有效富氧8 h,NC组于舱外同时饲养。实验前及实验后每周监测大鼠体质量,饲养4周后测量各组大鼠行为学指标及皮肤平均血流灌注量数据,进行统计学分析。**结果:**实验前各组大鼠体质量差异无统计学意义( $P>0.05$ ),实验后各组HH与HO组体质量均显著低于NC组( $P<0.01$ ),HH与HO组之间差异无统计学意义( $P>0.05$ )。3组大鼠水平自主活动度差异无统计学意义( $P>0.05$ );垂直自主活动度HO组较NC和HH组显著提高( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),NC与HH组之间差异无统计学意义( $P>0.05$ )。皮肤平均血流灌注量HH组与NC和HO组相比显著增加( $P<0.01$ ),NC与HO组之间差异无统计学意义( $P>0.05$ )。**结论:**模拟海拔5 000 m高原慢性缺氧环境下便携式氧气机富氧能够显著降低大鼠血流灌注量至平原水平,可为大鼠适应更复杂恶劣的高原环境进行血液系统代偿的功能储备;模拟海拔5 000 m高原慢性缺氧环境下便携式氧气机富氧能够显著提升大鼠空间探索与认知能力,对高原缺氧环境下大鼠脑功能具有一定保护与促进作用。

**【关键词】**便携式氧气机;高原;缺氧;富氧;行为学

**【中图分类号】**R318

**【文献标志码】**A

**【文章编号】**1005-202X(2017)11-1156-04

## Effects of oxygen-enriched atmospheres provided by portable oxygen-enriched machine on the behaviors of rats in a simulated chronic hypoxic environment

DONG Xu<sup>1,2</sup>, LEI Tao<sup>1</sup>, SHEN Guanghao<sup>1</sup>, XIE Kangning<sup>1</sup>, JING Da<sup>1</sup>, LIU Juan<sup>1</sup>, ZHAI Mingming<sup>1</sup>, LUO Erping<sup>1</sup>

1. School of Biomedical Engineering, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China; 2. Section of Research and Training, Department of Medical Affairs, Qingdao First Sanatorium, People's Liberation Army Navy, Qingdao 266071, China

**Abstract: Objective** To simulate a chronic hypoxic environment, and then explore the effects of oxygen-enriched atmospheres provided by portable oxygen-enriched machine on the behaviors of rats in such environment. **Methods** Chronic hypoxic environment at a 5 000 m high altitude was simulated with small hypobaric chamber, and oxygen-enriched rooms were established by portable oxygen-enriched machines and individually ventilated cages. Thirty-six male Sprague-Dawley rats were randomly divided into 3 groups, including normal control group (NC group), high altitude hypoxia group (HH group) and high altitude oxygen enrichment group (HO group). Rats in HH group and HO group were fed in the small hypobaric chamber for 4 weeks (22 h/d), and rats in HO group were stay in oxygen-enriched rooms for 8 h every day. Rats in NC group were fed outside of the chamber. Bodyweight of rats were measured before treatment and at every week after the treatment. The behavior indices and mean values of skin blood flux were measured after the treatment. **Results** No statistical differences were found in the bodyweight of rats in 3 groups before treatment ( $P>0.05$ ). After the treatment, the bodyweight of rats in HH group and HO group were significantly lower than that of rats in NC group ( $P<0.01$ ), and no statistical difference was found between HH group and HO group ( $P>0.05$ ). The comparison of the horizontal activity of the rats among 3 groups didn't showed any statistical differences ( $P>0.05$ ). Compared with that in NC group and HH group, the vertical activity of the rats in HO group was significantly increased ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), and no statistical difference was found between NC group and HH group ( $P>0.05$ ). The rats in HH group had a significantly higher mean value of skin blood flux, as compared with the rats in NC group and HO group ( $P<0.01$ ), and no statistical difference was found between NC group and HO group ( $P>0.05$ ). **Conclusion** In a simulated chronic hypoxic

**【收稿日期】**2017-05-27

**【基金项目】**国家科技部重大专项(2012BAI20B00);十二五全军后勤科研项目(CWS12J098)

**【作者简介】**董旭,在读硕士研究生,主管技师,主要从事高原抗缺氧装备研制及应用方面的研究, E-mail: dxqdy1@163.com

**【通信作者】**罗二平,教授,博士生导师, E-mail: luoerping@fmmu.edu.cn

environment at a 5 000 m high altitude, portable oxygen-enriched machine not only enhances the adaptive ability of rats by reducing the values of blood flux and the functional reserve of blood system, but also improves the brain function of rats such as cognitive ability and space exploration ability.

**Keywords:** portable oxygen-enriched machine; high altitude; hypoxic; oxygen enrichment; behavior

## 前言

医学上高原是指海拔3 000 m以上对人体产生明显生物学效应的地区,随着海拔高度的升高,大气压逐渐降低,大气氧分压下降,人体呼吸所摄取的氧含量下降,致使肺泡氧分压降低,血氧饱和度显著下降,使人体器官、组织和细胞氧供减少,严重制约人体在高原地区的作业能力,甚至会危害生命健康<sup>[1]</sup>。另外据统计,正常成人的平均脑质量约占体质量的2.0%~2.5%,而脑的耗氧量却占全身总消耗量的20%,脑血流量约占心脏搏出量的1/6,可见脑生理功能的顺利进行必须有良好的血液循环和足够的氧供。因此研究高原缺氧环境对脑功能的影响以及干预措施对脑功能的保护尤为重要。本文利用低压舱模拟高原环境,针对慢性缺氧和富氧对大鼠体质量、行为学和血流灌注量的影响进行研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物和设备

健康SPF级雄性Sprague-Dawley(SD)大鼠36只,7~8周,体质量( $280.3 \pm 14.3$ )g,由第四军医大学动物实验中心提供。实验动物小型低压舱,由第四军医大学生物医学工程学院与苏州市利安特医疗设备有限公司联合研制,可模拟海拔高度0~10 000 m高原环境。便携式膜法氧气机(ZYJ-II)<sup>[2]</sup>,由第四军医大学生物医学工程学院研制,采用膜法空分技术直接从空气中分离富集氧气,氧浓度为 $(30 \pm 3)\%$ vol,氧气产量为 $(5.0 \pm 0.5)$  L/min。独立供气式大鼠饲养笼(IVC笼盒),由第四军医大学动物实验中心提供。便携式气体检测仪(ADKS-4),量程为0~30%vol。小动物行为分析仪(UGO 7420 Activity Cage),采用红外技术可连续监测并记录小动物水平自主活动度和垂直自主活动度。激光多普勒血流仪(moorLAB),采用激光多普勒效应可连续监测微循环血流灌注量等指标。

### 1.2 实验方法和步骤

**1.2.1 模拟高原缺氧环境的建立** 我国西部高原面积约占全国总面积的1/3,而青藏高原更是世界面积最大的高原,被誉为“世界屋脊”,平均海拔在4 000 m以上,长期居住在青藏地区的人口超过1 000万。另外,在模拟高原医学实验中,大量文献均采用海拔

5 000 m高度建立高原慢性缺氧实验动物模型。因此,本课题组在综合考虑我国高原实地情况和模拟高原实验条件设置两方面因素后,决定利用实验动物小型低压舱模拟建立海拔5 000 m缺氧环境。控制舱内温度22~25℃,湿度40%~60%。

**1.2.2 模拟高原缺氧环境下富氧饲养笼的建立** 利用便携式膜法氧气机(ZYJ-II)和大鼠IVC笼盒创新结合的方式在低压舱内建立小型富氧室,显著增加了弥散富氧环境的稳定性与有效性。经检验在模拟海拔高度为5 000 m时,低压舱内氧浓度为20.9%vol,而富氧饲养笼内的氧浓度可达28.2%vol。

**1.2.3 实验分组** 分组前对SD大鼠分别编号、称体质量、生成随机数,采用完全随机设计分组。主要设置平原对照组(NC group)、缺氧组(HH group)和富氧组(HO group)。缺氧组:置于低压舱内模拟海拔5 000 m缺氧环境下饲养4周(22 h/d)。富氧组:同样置于低压舱内模拟海拔5 000 m缺氧环境下饲养4周(22 h/d),同时每天置于富氧饲养笼内有效富氧8 h。该富氧时间设置主要考虑高原实地情况及氧气机推广应用条件,即高原地区人群夜间休息时间约为8 h,富氧设置在夜间睡眠休息时进行不仅有利于保证稳定性与有效性,而且不致于影响日间的正常工作及活动。平原对照组:于低压舱外(海拔约400 m)同时饲养4周。大鼠饲养明暗交替为12 h:12 h,低压舱中大鼠可自由取食水。每天2 h为低压舱中缺氧组和富氧组大鼠更换食水、垫料以及设置富氧装置<sup>[3]</sup>。

**1.2.4 大鼠体质量测量** 分别于低压舱模拟海拔5 000 m高原环境实验前和实验1、2、3、4周后测量各组大鼠体质量并记录。

**1.2.5 大鼠行为学指标测量** 各组大鼠饲养4周后利用小动物行为分析仪(UGO 7420 Activity Cage)分别测量各组大鼠的水平自主活动量并记录,每只大鼠连续测量5 min,测量后用低浓度酒精湿巾擦拭分析仪底板,清除尿便等气味,以免对下次测量产生影响。

**1.2.6 大鼠血流灌注量测量** 各组大鼠在完成行为学测量安静休息一段时间后,注射10%水合氯醛腹腔麻醉,将激光多普勒血流仪无创探头粘贴于大鼠左后足掌内皮肤,取大鼠俯卧位测量皮肤平均血流灌注量并记录。

### 1.3 统计学方法

用SPSS软件进行分析,实验数据用均数+标准差

表示,方差齐性检验采用Levene检验,组间差异比较采用单因素方差分析( $F$ 检验)及SNK- $q$ 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ , $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 体质量比较

表1 各组大鼠体质量测量结果( $g$ ,  $n=12$ ,  $\bar{x}\pm s$ )

Tab.1 Bodyweight of rats in 3 groups ( $g$ ,  $n=12$ ,  $Mean\pm SD$ )

Group	Before treatment	Time of treatment			
		1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks
NC	281.3 $\pm$ 8.3	348.3 $\pm$ 10.2	387.5 $\pm$ 12.6	419.0 $\pm$ 10.7	439.0 $\pm$ 10.6
HH	283.0 $\pm$ 13.9	285.8 $\pm$ 10.6*	319.5 $\pm$ 12.2*	349.0 $\pm$ 9.5*	370.0 $\pm$ 12.8*
HO	274.0 $\pm$ 22.5	270.8 $\pm$ 7.8*	308.3 $\pm$ 6.7*	335.3 $\pm$ 15.0*	354.8 $\pm$ 17.2*

NC: Normal control; HH: High altitude hypoxia; HO: High altitude oxygen enrichment; \* $P<0.01$ , compared with NC group.

### 2.2 行为学指标比较

低压舱模拟海拔5 000 m高原环境4周后,各组大鼠行为学测量结果见表2。各组水平自主活动度之间无显著差异( $P>0.05$ );HH组与NC组之间垂直自主活动度无显著差异( $P>0.05$ ),HO组较NC组和HH组垂直自主活动度显著提高( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。

表2 各组大鼠行为学测量结果( $n=12$ ,  $\bar{x}\pm s$ )

Tab.2 Measurements of horizontal activity and vertical activity of rats in 3 groups ( $n=12$ ,  $Mean\pm SD$ )

Group	Horizontal activity	Vertical activity
NC	992.2 $\pm$ 138.7	234.5 $\pm$ 62.9
HH	1 096.1 $\pm$ 227.6	185.9 $\pm$ 27.6
HO	1 019.4 $\pm$ 137.6	304.2 $\pm$ 67.3*#

\* $P<0.05$ , compared with NC group; # $P<0.01$ , compared with HH group.

### 2.3 血流灌注量比较

低压舱模拟海拔5 000 m高原环境4周后,各组大鼠皮肤平均血流灌注量测量结果见表3。与NC组和HO组相比,HH组血流灌注量显著增加( $P<0.01$ ),HO组与NC组之间差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

## 3 讨论

大量研究表明,高原低压低氧环境对体质量具有显著影响。高山运动、高原训练以及人工高原暴露等均可引起人体或动物体质量显著降低<sup>[4]</sup>。本实验研究结果显示,HH组大鼠体质量在低压舱内饲养1~4周后均较NC组显著降低( $P<0.01$ )。同时我们观察到,HO

低压舱模拟海拔5 000 m高原环境实验前及实验1、2、3、4周后各组大鼠体质量测量结果见表1。实验前3组大鼠体质量无显著差异( $P>0.05$ ),实验1、2、3、4周后,与NC组相比,HH组和HO组大鼠体质量均显著降低( $P<0.01$ ),HH组与HO组大鼠体质量均无显著差异( $P>0.05$ )。

表3 各组大鼠皮肤平均血流灌注量测量结果( $n=12$ ,  $\bar{x}\pm s$ )

Tab.3 Mean values of skin blood flux of rats in 3 groups ( $n=12$ ,  $Mean\pm SD$ )

Group	Mean value of skin blood flux
NC	165.2 $\pm$ 44.9
HH	343.6 $\pm$ 52.4*#
HO	141.6 $\pm$ 15.2

\* $P<0.01$ , compared with NC group; # $P<0.01$ , compared with HO group.

组大鼠体质量各周同样均较NC组显著降低( $P<0.01$ ),且与HH组之间差异无统计学意义( $P>0.05$ )。另外,我们还观察到HO组大鼠首周体质量出现负增长,但经统计学分析发现,HO组大鼠第一周体质量与实验前体质量配对检验结果无统计学差异,这与HH组大鼠配对检验结果相一致,说明该两组大鼠在首周内体质量均未产生显著变化。该结果表明,大鼠进入高原缺氧环境首周之内机体处于应激状态,需通过神经体液等系统的生理代偿性调整后才能逐步适应缺氧环境,而后体质量呈现缓慢增长趋势。以上研究结果表明,HO组大鼠每天富氧8 h未对体质量产生显著影响,即在模拟高原缺氧环境下饲养4周每天富氧8 h不足以显著影响大鼠的消化代谢等活动。

相关研究表明,慢性低压低氧环境对鼠行为学指标不会产生显著影响。郭云云等<sup>[5]</sup>研究结果表明,在悬挂实验、游泳实验中缺氧组小鼠与对照组小鼠实验结果无统计学差异。尉晓娜等<sup>[6]</sup>研究结果表明,低压舱饲养8周后,每天低氧24 h组小鼠与对照组相比旷场行为

学指标无显著差异。仲晓寒等<sup>[7]</sup>研究结果表明,当低压舱氧浓度为11%时,缺氧7 d后,每天缺氧4、8、12 h的3组大鼠运动总距离、跨格数与站立次数与对照组比较无显著差异。本文采用小动物行为分析仪(UGO 7420 Activity Cage)对大鼠的行为学指标进行测量,该分析仪设有两组相对的红外线阵列,分别记录水平方向的活动和垂直方向的活动(如站立)。其中水平方向的活动量可反映大鼠烦躁、焦虑程度,垂直方向的活动量可反映大鼠探索、认知能力。本文研究结果与上述报道一致,与NC组比较,HH组的水平活动量和垂直活动量均无显著改变( $P>0.05$ )。表明SD大鼠在低压舱模拟海拔5 000 m高原缺氧环境下饲养4周后行为学指标未受显著影响,未出现烦躁及焦虑程度的变化,未影响大鼠的空间探索与认知能力。这可能与高原习服和机体代偿反应有关,当HH组大鼠进入模拟高原环境后,为了适应缺氧环境而产生呼吸、循环以及血液系统功能亢进,以提高对氧的摄取和运输<sup>[8]</sup>。为了探索代偿活动的影响,我们对SD大鼠进行了血流灌注量的测量,研究结果表明,与NC组比较,HH组皮肤平均血流灌注量显著提高( $P<0.01$ ),其机理可能是缺氧引起心率提高、左心室收缩功能增强、心输出量提高,最终使血流灌注量显著提升,以增加氧供,使脑组织缺氧状况得到明显改善,不致引起行为学指标的异常<sup>[9-11]</sup>。更重要的是,我们发现与NC组、HH组比较,HO组的垂直活动量显著增加( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),水平活动量无显著差异( $P>0.05$ )。这表明在模拟海拔5 000 m高原缺氧环境下饲养4周,每天有效富氧8 h能够显著提升SD大鼠的空间探索与认知能力。血流灌注量测量结果显示,HO组较HH组皮肤平均血流灌注量显著降低( $P<0.01$ ),与NC组无显著差异( $P>0.05$ ),表明海拔5 000 m模拟高原环境下每天有效富氧8 h能够降低血流灌注量至平原水平,大鼠的血液系统代偿功能处于保留状态就足以适应缺氧环境,即富氧能够有效增加大鼠血氧含量以对抗缺氧环境。目前关于高原环境下富氧对鼠行为学影响的研究还较少,HO组大鼠的空间探索能力的提升可能与缺氧环境和富氧干预的交互作用有关、与两者的程度与时间有关,其具体机制还有待进一步研究<sup>[12]</sup>。另外,本实验还存在一定的不足,如血流灌注量只在实验4周后测量了一次,数据量不够充分。原因是为了保证血流灌注量测量的准确性,避免大鼠活动产生影响,需对大鼠进行麻醉,麻醉测量后大鼠需较长一段时间进行复苏直至活动正常。若每周均进行血流灌注量测量将影响慢性缺氧过程,影响模型建立,而且易导致大鼠意外死亡,由于该实验是对血流灌注量指标的初步探讨,不足之处将在后续研究中不断完善。

综上所述,本文研究初步证明了在模拟海拔5 000 m

高原慢性缺氧环境下便携式氧气机富氧对大鼠血液系统代偿功能亢进有显著的改善作用,每天富氧8 h能够显著降低大鼠血流灌注量至平原水平,可为大鼠适应更复杂恶劣的高原环境进行血液系统代偿的功能储备。同时,模拟海拔5 000 m高原慢性缺氧环境下便携式氧气机富氧能够显著提升大鼠空间探索与认知能力,对高原缺氧环境下大鼠脑功能具有一定保护与促进作用。

## 【参考文献】

- [1] WEST J B. High-altitude medicine[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2012, 186(12): 1229-1237.
- [2] SHEN G, WU X, TANG C, et al. An oxygen enrichment device for lowlanders ascending to high altitude[J]. Biomed Eng Online, 2013, 12(1): 100.
- [3] 李晓桐, 黄城, 杨诚忠, 等. 复制慢性高原病动物模型实验教学中注意事项分析[J]. 现代医药卫生, 2015, 31(9): 1410-1412.  
LI X X, HUANG J, YANG C Z, et al. Analysis of attention in experimental teaching of replicating chronic plateau disease animal model[J]. Journal of Modern Medicine and Health, 2015, 31(9): 1401-1412.
- [4] 路瑛丽, 谢敏豪, 冯连世. 高原/低氧与减控体重研究[J]. 中国运动医学杂志, 2012, 31(2): 169-174.  
LU Y L, XIE M H, FENG L S. Research on plateau/hypoxia and bodyweight reduction[J]. Chinese Journal of Sports Medicine, 2012, 31(2): 169-174.
- [5] 郭云云, 徐江涛, 宋永斌, 等. 慢性间断性缺氧对帕金森病模型小鼠行为学及纹状体多巴胺含量的影响[J]. 现代生物医学进展, 2008, 8(12): 2217-2220.  
GUO Y Y, XU J T, SONG Y B, et al. Effect of chronic episodic hypoxia on behavior and striatal dopamine content in mice of Parkinson disease model [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2008, 8(12): 2217-2220.
- [6] 尉晓娜, 谢于鹏, 夏誉, 等. 低氧对小鼠旷场行为的影响[J]. 温州医学院学报, 2012, 42(1): 17-19.  
WEI X N, XIE Y P, XIA Y, et al. Effect of hypoxic exposure on behavior in open field test in mice [J]. Journal of Wenzhou Medical College, 2012, 42(1): 17-19.
- [7] 仲晓寒, 高梦雅, 姜淑杰. 不同低氧水平暴露对大鼠空间学习记忆、探究能力的影响[J]. 神经解剖学杂志, 2015, 31(3): 265-269.  
ZHONG X H, GAO M Y, LOU S J. Effects of different hypoxic exposure on spatial learning, memory and emotions in rats[J]. Chinese Journal of Neuroanatomy, 2015, 31(3): 265-269.
- [8] 陈实, 孟庆华, 李承红. 慢性间歇缺氧大鼠胰岛素抵抗与炎症因子的关系[J]. 实用医学杂志, 2017, 33(10): 1601-1604.  
CHEN S, MENG Q H, LI C H. Relationship between insulin resistance and inflammatory factors in rats with chronic intermittent hypoxia[J]. the Journal of Practical Medicine, 2017, 33(10): 1601-1604.
- [9] STEMBRIDGE M, AINSLIE P N, SHAVE R. Short-term adaptation and chronic cardiac remodelling to high altitude in lowlander natives and Himalayan Sherpa[J]. Exp Physiol, 2015, 100(11): 1242-1246.
- [10] KJAERGAARD J, SNYDER E M, HASSAGER C, et al. The effect of 18 h of simulated high altitude on left ventricular function[J]. Eur J Appl Physiol, 2006, 98(4): 411-418.
- [11] RAO M, LI J, QIN J, et al. Left ventricular function during acute high-altitude exposure in a large group of healthy young Chinese men[J]. PLoS One, 2015, 10(1): e116936.
- [12] 周保柱, 张泉龙, 李茂星, 等. 高原环境对记忆功能影响的研究进展[J]. 解放军药科学报, 2015, 31(1): 75-79.  
ZHOU B Z, ZHANG Q L, LI M X, et al. Research progress of the effects of plateau environment on memory function [J]. Pharmaceutical Journal of Chinese People's Liberation Army, 2015, 31(1): 75-79.

(编辑:陈丽霞)