



高原脑水肿小鼠模型的建立与鉴定*

春花, 白玛康卓[△]

西藏大学医学院(拉萨 850000)

【摘要】目的 建立高原脑水肿(high altitude cerebral edema, HACE)动物模型, 探寻能导致明显HACE临床表征的海拔条件, 为进一步研究HACE的发病机制和干预策略奠定基础。**方法** 选取8周龄雄性BALB/c小鼠, 分为对照组(Control)和HACE组。Control组常压常氧处理(10只); HACE组置于低压低氧舱内, 模拟4000 m、5000 m、6000 m海拔高度, 分别处理6 h、12 h、24 h、48 h、72 h, 每个海拔高度每时点处死10只。HE染色观察脑组织形态学改变, 以选择合适的模拟海拔建立显著的HACE模型并鉴定造模结果。HACE模型鉴定方法: 称重检测脑水肿, Evans blue(EB)检测血脑屏障(brain-blood barrier, BBB)通透性、免疫荧光染色检测细胞凋亡情况。**结果** 海拔4000 m和5000 m时无小鼠死亡, 海拔6000 m时小鼠死亡率为12.2%。HE染色显示脑组织形态和结构在海拔4000 m无明显改变; 在海拔5000 m的48 h、72 h组可见少许脑细胞水肿。海拔6000 m构建的HACE模型最为显著, 各组HE染色均出现脑细胞体积增大、肿胀, 以24 h、48 h、72 h为甚, 并出现细胞排列紊乱、间隙增大及核固缩; 模型鉴定示海拔6000 m构建的HACE模型小鼠脑水肿和EB通透率12 h后增加, 各时点无明显细胞凋亡。**结论** 用低压低氧舱模拟海拔6000 m(气压47.19 kPa、氧分压9.73 kPa)可有效建立HACE模型。

【关键词】 高原反应 高原脑水肿 血脑屏障 低压低氧

Establishment and Evaluation of a Mice Model of High-Altitude Cerebral Edema CHUNHUA, BAIMAKANGZHUO[△].
Medical College of Tibet University, Lhasa 850000, China

[△] Corresponding author, E-mail: bmkz123@163.com

【Abstract】 Objective To establish an animal model of high-altitude cerebral edema (HACE), to explore the altitude and oxygen partial pressure conditions that can lead to obvious clinical manifestations of HACE, and to lay the foundation for further research of the pathogenic mechanisms and intervention strategies of HACE. **Methods** Male BALB/c mice of 8 weeks old were randomly assigned to Control and HACE groups. The Control group ($n=10$) was treated with normobaric and normoxic conditions, while the HACE groups were placed in hypobaric hypoxic (HH) chambers for the durations of 6 h, 12 h, 24 h, 48 h and 72 h, respectively, receiving treatments of simulated HH conditions at the altitudes of 4000 m ($n=10$ for each group receiving different durations of HH treatment), 5000 m ($n=10$ for each group receiving different durations of HH treatment), and 6000 m ($n=10$ for each group receiving different durations of HH treatment). HE staining was performed to observe the morphological changes of the brain tissue and the appropriate simulated altitude conditions were selected accordingly for the construction and evaluation of the best HACE model. The HACE model was evaluated in the following ways, the mouse brain was weighed and the cerebral edema was measured accordingly, Evans blue (EB) was injected to determine the permeability of the blood-brain barrier (BBB), and the cell apoptosis was determined by immunofluorescence staining. **Results** There were no deaths in the groups treated with the HH conditions of the altitudes of 4000 m and 5000 m, while the mortality in the 6000 m altitude treatment groups was 12.2%. HE staining showed no significant changes in brain morphology or structure in the group receiving HH treatment for the altitude of 4000 m. A small amount of brain cell edema was observed in the groups receiving 48 h and 72 h of HH treatment for the altitude of 5000 m. The groups receiving HH treatment for the altitude of 6000 m demonstrated the most prominent modeling effect. HE staining showed increased volume and swelling of brain cells in all the 6000 m groups, especially in the 24 h, 48 h and 72 h treatment groups. In all the 6000 m groups, cell arrangement disorder, gap enlargement, and nuclear contraction were observed. Evaluation of the modeling effect demonstrated that, in the HACE mice model constructed with the HH conditions for the altitude of 6000 m, cerebral edema and EB permeability increased

* 藏才预指(2022)1号中央支持地方珠峰学者人才发展支持计划-青年博士发展计划(No. zdbs202213)和西藏自治区科技厅重点研发与转化项目(No. XZ202101ZY0009G)资助

[△] 通信作者, E-mail: bmkz123@163.com

出版日期: 2023-11-20

after 12 h HH treatment and there was no obvious apoptosis in the modeling groups receiving different durations of treatment. **Conclusion** The HACE model can be established effectively by simulating conditions at the altitude of 6000 m (the atmospheric pressure being 47.19 kPa and the oxygen partial pressure being 9.73 kPa) with a HH chamber.

【Key words】 Altitude sickness High-altitude cerebral edema Blood-brain barrier Hypobaric hypoxia

急性高原病(acute high altitude disease/acute mountain sickness, AMS)是指由平原进入高原或由高原进入更高海拔地区时,人体在数小时至数天内对低压低氧不适应,引起代偿功能失调后出现的一类高原疾病,其患病率与海拔呈正相关,海拔2 500~3 000 m患病率为29.5%,海拔4 000~4 500 m患病率为40%~60%^[1]。AMS发病诱因不明确,有研究提示与进驻高海拔的速度、劳动强度、气温、上呼吸道感染、紧张焦虑等因素有关^[2-4]。临床上AMS分为轻型和重型,轻型是指急性轻症高原反应(acute mild altitude disease, AMAD),重型包括高原肺水肿(high altitude pulmonary edema, HAPE)和高原脑水肿(high-altitude cerebral edema, HACE)。HACE是AMS发展最终的结果,致死率高,在海拔4 000 m以下很少发生,海拔4 000 m以上患病率为0.5%~1.5%^[1]。HACE无特异临床表现,病情进展迅速,病程1~2 d内可出现昏迷,甚至死亡。

建立稳定的动物模型是明确HACE的发病机制进而降低患病率和死亡率的基础,常用的建立HACE模型的方法有以下三种:一、应用低压低氧舱,有研究报道应用此方法模拟海拔6000 m(大气压46.7 kPa,氧浓度6%~7%),24 h内小鼠的脑水含量和血脑屏障通透率明显增加,同时出现脑组织的严重损伤^[5];二、高原实地模型建立;三、低压低氧结合力竭运动,研究显示此法比单纯应用低压低氧舱更易引起HACE,且其所需模拟的海拔高度更低^[6]。到目前为止,尚无通用且有效的HACE动物模型建立方法,为此本研究拟采用低压低氧舱建立HACE动物模型,着重探寻能导致明显HACE临床表征的海拔与氧分压条件,为进一步研究HACE的发病机制和干预策略奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 实验动物

本研究通过西藏大学伦理审查委员会批准(批件编号:2023SQ008)。实验动物选取8周龄BALB/c雄性小鼠200只,体质量(21.935±0.244) g,购自成都达硕动物实验有限公司,执行号SCXK(Chuan)2020-0030。

1.2 主要试剂及仪器

试剂:生理盐水、体积分数4%多聚甲醛、异氟烷、石蜡、不同浓度的酒精、无水乙醇、苏木素、1%盐酸、

0.1%~0.5%伊红、2% Evans blue(EB)、二甲苯、rTdT孵育缓冲液、标准的柠檬酸钠盐(SSC)、磷酸盐缓冲液(PBS)。仪器:模拟海拔高度真空舱(南京天辰有限公司, HE-ZK-500)、低压氧舱(南京天辰有限公司, XF-3CL)、麻醉仪(Matrx 公司)、动物电子秤。

1.3 实验分组和模型建立

将200只BALB/c雄性小鼠随机分为Control组和HACE组,Control组常压常氧处理,HACE组置于低压低氧舱内,模拟4000 m(大气压61.64 kPa,氧分压12.7 kPa)、5000 m(大气压54.02 kPa,氧分压11.1 kPa)、6000 m(大气压47.18 kPa,氧分压9.73 kPa)海拔高度以建立HACE模型,HACE实验小鼠分别处理6 h、12 h、24 h、48 h、72 h,先观察一般情况,测量体质量,后取出脑组织行HE染色以鉴定其形态学改变,通过不同HACE组小鼠的脑水肿形成情况以确定HACE模型构建的海拔高度。造模过程中若出现小鼠死亡则进行递补,HACE组每个海拔、每时点各选取10只小鼠(共150只),Control组选取10只小鼠进入后继实验。HE染色观察脑组织形态学改变,以选择合适的模拟海拔建立显著的HACE模型并鉴定造模结果。HACE模型鉴定方法:称重检测脑水肿,Evans blue(EB)检测血脑屏障(brain-blood barrier, BBB)通透性、免疫荧光染色检测细胞凋亡情况。

1.4 小鼠脑组织形态学检查(HE染色)

取Control组和各海拔HACE组小鼠,麻醉后的各小鼠仰卧位固定,剪开胸腔,使心脏充分暴露;用眼科镊将心脏轻轻托起,用注射器针尖刺入左心室缓慢注射生理盐水,心脏隆起时剪开右心耳,继续推注生理盐水(约20 mL)至流出的液体变清亮后更换为充满体积分数4%多聚甲醛的注射器,继续推注至四肢和尾部僵直、肝脏变白;迅速取出脑组织,使其浸泡于体积分数4%多聚甲醛中4℃固定72 h。矢状位后约6 mm切除固定的脑组织,冠状位以前脑和视交叉连线前约2 mm处切除前面的脑组织,放入石蜡包埋盒中,用水洗去除多余的多聚甲醛;进行梯度脱水、二甲苯透明、再行HE染色、光学显微镜采集图片。

1.5 脑水肿检测

取Control组和海拔6000 m HACE组小鼠,用异氟烷麻醉后取出脑组织,用电子秤测量脑湿质量并记录

(精确到0.1 mg),后用恒温干燥箱100 ℃烘干脑组织,测量脑干质量(两次质量差不大于0.2 mg,即为脑干质量)。Elliot't formula法测量脑质量,以脑质量间接反映的脑水肿情况。脑质量计算公式为:(脑湿质量-脑干质量)/脑湿质量×100%。由于小鼠在低压低氧舱内食欲降低且舱内温度较高导致脱水,故小鼠体质量出现明显降低。因此,在计算脑水含量时,不能忽略体质量改变对其结果的影响,在采用Elliot't formula法计算脑湿质量时并未将体质量作为校正因素,因而本研究采用脑湿质量(实验后)/体质量(实验后)的比值来间接反映脑水肿情况。

1.6 BBB通透性实验

取Control组和海拔6000 m HACE组小鼠,经尾静脉注入约50 μL 2%EB,注射后约30 min可见小鼠眼睛、四肢皮肤呈现蓝色,待EB在血液循环1 h后麻醉小鼠,迅速剪断并取出脑;将脑组织置于1.5 mL的离心管中,加入甲酰胺溶液1 mL,用眼科剪将脑组织充分剪碎;加盖避光置于54 ℃水浴箱中,放置24 h后1000×g,离心15 min;取上清液1~2 μL,用分光光度测620 nm处吸光值(A值),同时测定已知不同梯度标准EB的A值,绘制标准曲线,根据标准曲线计算出待测样品的EB含量。结果以每克脑组织中EB含量计算(μg/g)。

1.7 TUNEL染色

取Control组和海拔6000 m HACE组小鼠脑组织石蜡切片进行免疫荧光检测,观察不同时间点大脑皮质细胞凋亡情况。PBS冲洗切片5 min,重复3次;画阻水圈并去除切片和组织内的液体,随后在各组织中加入100 μL rTdT孵育缓冲液覆盖,放入湿盒避光,在湿盒底部放入适量水,在37 ℃水浴箱中处理60 min;加入足量ddH₂O稀释的2×SSC,室温放置15 min以终止反应;PBS洗涤5 min,重复3次。切片擦干后加入DAPI, ddH₂O清洗切片,每次5 min,重复3次;擦干多余水分;加荧光猝灭剂后盖上盖玻片后在荧光显微镜下观察。凋亡指数计算方法为每张切片中凋亡细胞数占正常细胞数的百分比(每张切片至少数500个细胞)。

1.8 统计学方法

用倒置显微镜对HE染色切片观察并采集图像,并由两名有资历的病理医师随机选取10个高倍视野进行独立阅片后用分光光度计测光密度值,酶标仪采集EB荧光含量;荧光图像由两名有资历的医师进行判读并使用Image J分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,资料符合正态分布、方差齐性,两组间比较采用t检验;资料符合正态分布、方差不齐,两组间比较用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计

学意义。

2 结果

2.1 一般资料

海拔4000 m时HACE组各时间点均无小鼠死亡,刺激反应、活动度及进食量均无明显改变,体质量较Control组无明显差异,表明小鼠能耐受模拟海拔4000 m的低压低氧环境。海拔5000 m时HACE组小鼠也无死亡,但刺激反应和活动度稍降低,进食量减少,48 h和72 h处理组小鼠的体质量分别同Control组相比减轻($P < 0.05$),可见小鼠在模拟海拔5000 m的低压低氧环境下出现了缺氧症状,且随处理时间的延长,症状越重。在海拔6000 m时小鼠出现死亡(死亡率为12.2%),存活小鼠的刺激反应、活动度及进食量明显降低,表现为呼吸急促,且随低压低氧处理时间的逐渐延长体质量明显减轻,6 h组小鼠的体质量与Control组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),其余各处理组小鼠的体质量分别同Control组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),以24~72 h组最明显,表明在模拟海拔6000 m的低压低氧环境下出现了明显的缺氧症状,见表1。

表1 不同海拔梯度的小鼠不同处理时间点体质量变化情况

Table 1 Difference in the body mass of mice receiving hypobaric hypoxic (HH) treatment for different altitudes for different periods of time

Time	Control group (n=10)	HACE group		
		4000 m [#]	5000 m [#]	6000 m [#]
0 h	21.935±0.244	-	-	-
6 h	-	21.433±0.367	21.567±0.476	20.767±1.035
12 h	-	21.567±1.098	21.067±0.216	19.583±0.700**
24 h	-	22.500±0.548	20.333±0.516	18.242±0.692**
48 h	-	22.500±0.834	20.333±1.211*	17.267±0.963**
72 h	-	22.667±0.516	20.333±0.516*	17.983±0.697**

The data are expressed by $\bar{x} \pm s$. [#] n=10 for each group receiving different durations of treatment. * $P < 0.05$, ** $P < 0.05$, vs. Control group.

2.2 不同海拔小鼠脑组织形态学改变(HE染色)

HE染色观察发现,与Control相比,海拔4000 m时HACE组小鼠脑的形态和结构无明显改变;海拔5000 m处理6 h、12 h、24 h时HACE组小鼠脑的形态和结构无明显改变,48 h、72 h时可见脑细胞水肿、细胞间隙扩大及血管扩张;在海拔6000 m各时间点均可见HACE组小鼠脑细胞排列紊乱、细胞水肿、细胞间隙扩大、血管扩张和核固缩,以24 h、48 h、72 h组尤为明显(图1),可见在海拔4000 m HACE发生率低,海拔6000 m较海拔5000 m脑水

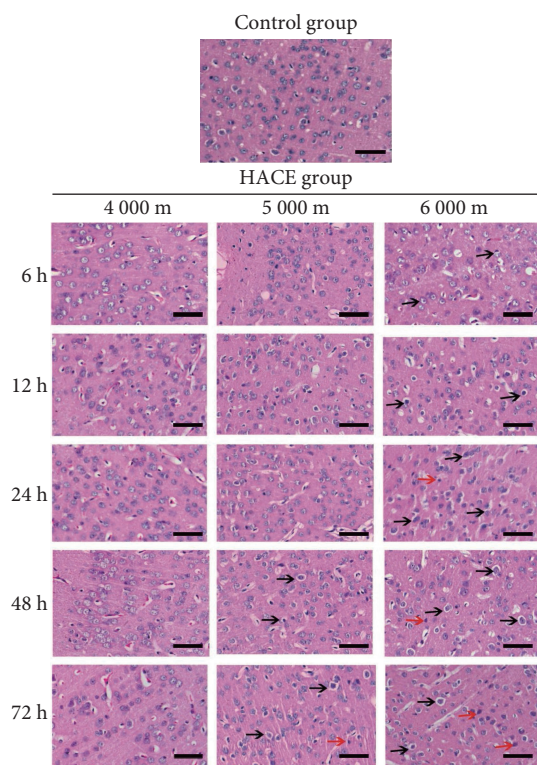


图 1 HE染色观察不同海拔HACE小鼠脑组织形态学改变

Fig 1 H&E staining was performed to observe the morphological changes of the brain tissue in HACE mice receiving HH treatment for different altitudes

Black arrows show cell edema, while red arrows show nuclear shrinkage. Scale, 50 μ m.

肿出现时间早且程度重。

2.3 模拟海拔6000 m建立并鉴定小鼠HACE模型

由以上结果可见海拔6000 m较海拔4000 m、5000 m更易形成脑水肿, 遂本研究选择模拟海拔6000 m建立HACE模型并鉴定造模结果。

2.3.1 脑水肿检测

2.3.1.1 Elliott formula法测量脑质量

Control组的脑质量(0.807 ± 0.042)与海拔6000 m HACE的6 h组(0.833 ± 0.023)、12 h组(0.828 ± 0.010)、48 h组(0.830 ± 0.017)、72 h组(0.808 ± 0.042)脑质量比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)(图2), 说明用此方法反映HACE脑水肿情况时, 各HACE组无明显改变。

2.3.1.2 脑水含量/实验后体质量

由于Control组(0.033 ± 0.005)与海拔6000 m HACE各组分别比较, 6 h组(0.037 ± 0.005)差异无统计学意义($P > 0.05$); 12 h组(0.043 ± 0.005)、24 h组(0.045 ± 0.005)、48 h组(0.048 ± 0.004)、72 h组(0.048 ± 0.005)差异有统计学意义($P < 0.05$)(图3), 说明低压低氧舱处理时间 ≥ 12 h后, 脑水肿形成。

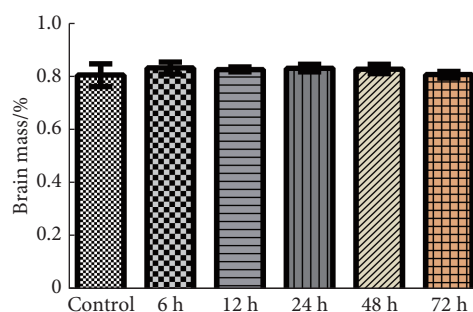


图 2 海拔6000 m HACE小鼠脑质量变化 (Elliott's formula法)

Fig 2 Changes in the brain dry weight and wet weight of HACE mice receiving HH treatment for 6000 m altitude (Elliott formula)

$n=10$.

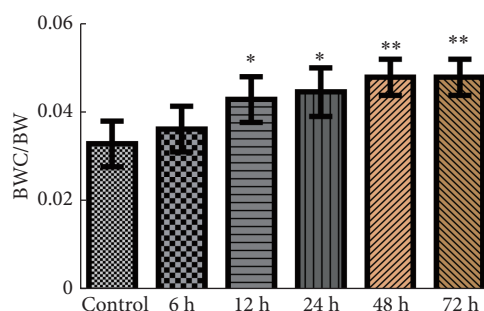


图 3 海拔6000 m HACE小鼠脑水肿变化趋势

Fig 3 Changes in brain wet weight in HACE mice receiving HH treatment for 6000 m altitude

BWC is brain water content; BW is the body weight after the experiment. $n=10$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, vs. Control group.

2.3.2 BBB通透性改变

从鼠尾静脉注射EB染色剂后小鼠眼珠和四肢变蓝(图4), 表明EB注射成功。 ≥ 12 h后EB浓度显著增加, 说明海拔6000 m建立的HACE模型, BBB通透率在实验后12 h增加。Control组A值(5.930 ± 1.753)分别同海拔6000 m HACE各组比较, 6 h组(7.571 ± 0.722)差异无统计

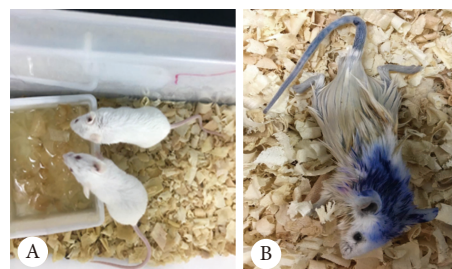


图 4 海拔6000 m HACE小鼠Evans blue注射前后小鼠四肢及眼珠变化
Fig 4 Changes in the limbs and eyes of 6000-m treatment HACE mice injected with Evans blue (EB) before and after injection

A shows that the eyes of the mice were red, and the tail and limbs were pink before injection. B shows that the eyes, the tail, and the limbs of the mice after EB injection have turned blue, indicating that EB has been successfully injected into the blood circulation.

学意义 ($P > 0.05$), 而 12 h 组 (9.552 ± 1.954)、24 h 组 (11.590 ± 2.478)、48 h 组 (11.790 ± 2.560)、72 h 组 (11.400 ± 2.620) 差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (图 5)。

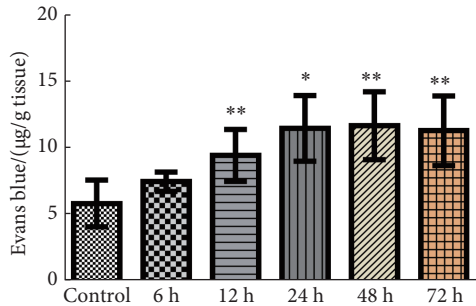


图 5 海拔 6000 m HACE 小鼠 Evans blue 通透性试验

Fig 5 Permeability test with Evans blue in HACE mice receiving HH treatment for 6000 m altitude

$n=10$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, vs. Control group.

2.4 TUNEL 染色检测大脑皮质细胞凋亡

用石蜡切片进行免疫荧光检测观察不同时间点大脑皮质细胞凋亡情况, 发现模拟海拔 6000 m 建立 HACE 模型时, 各时间点均无明显的凋亡, 凋亡指数在各组间差异无统计学意义 (图 6)。

3 讨论

急性高原病最常见于海拔 2500 m 及以上, 但少数极易感个体在海拔 2500 m 以下时也可发生。现今约有 1.4 亿人居住在高海拔地区^[7], 青藏高原是我国最主要的高海拔地区, 海拔 3000 m 以上世居人口达 6000 万人^[8-9]。随着经济的发展和国防建设的需要, 越来越多的人进入高海拔地区, 因而 AMS 和 HACE 的发病率逐年升高。

建立有效稳定的 HACE 动物模型并进行研究, 是降低 HACE 发病率和死亡率的关键基础。低压低氧是高原地区最显著的气候特点, 使用低压低氧舱建立动物模型是目前最常用的研究方法。多数学者模拟的海拔高度在 7000 ~ 8000 m, 但生活在海拔 5000 m 以上尤其进驻 6000 m 以上人群更少, 因此本研究模拟海拔最高限值定为 6000 m。由于 4000 m 以下 HACE 发病率低, 下限定为 4000 m, 从而设置 3 个海拔梯度 (4000 m、5000 m、6000 m)。另外在缺氧缺血研究中发现雄性较雌性更易引起脑损伤^[10], 所以本次研究选用雄性 BALB/c 小鼠作为研究对象。

本次研究发现海拔 4000 m 小鼠脑组织形态和结构无明显改变, 小鼠在舱内一般情况良好, 在海拔 5000 m 时小鼠呼吸频率稍增快, 对刺激反应减弱, 活动度和进食量降低, 体质量降低, 处理 48 h、72 h 脑组织出现细胞水肿、细

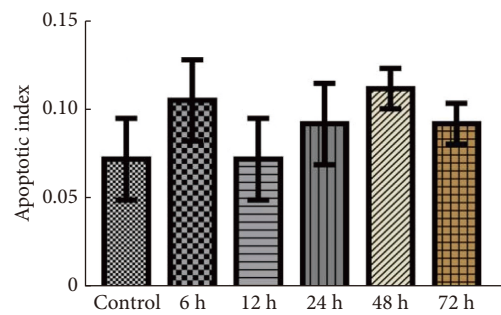
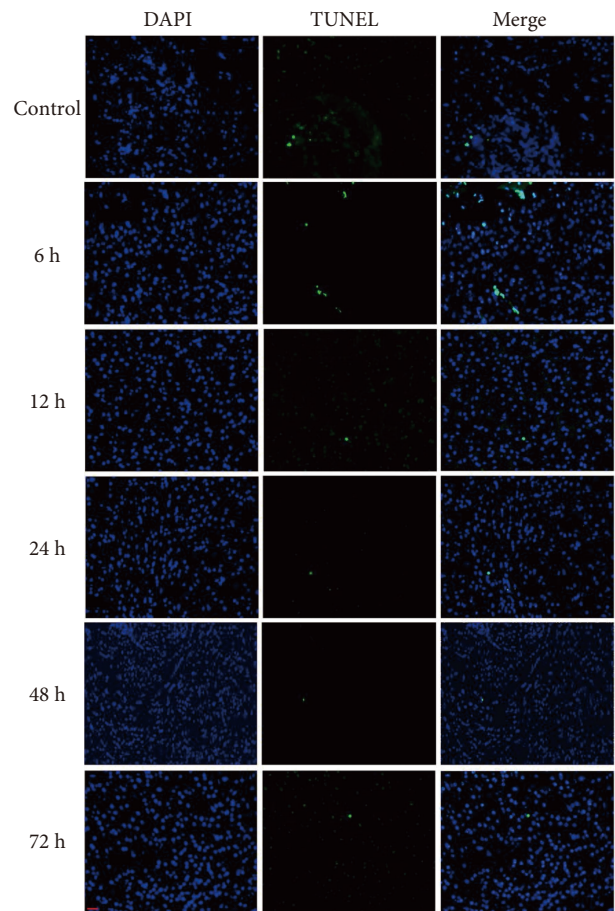


图 6 免疫荧光检测海拔 6000 m HACE 小鼠大脑皮质细胞凋亡情况 (×200)

Fig 6 The apoptosis of cerebral cortex cells of HACE mice receiving HH treatment for 6000 m altitude was determined by immunofluorescence (original magnification ×200)

$n=10$.

胞间隙扩大及血管扩张等形态学改变, 表明在海拔 5000 m 小鼠出现明显的缺氧症状和脑损伤, 这与杨晓文等^[11]的研究结果相符。在海拔 6000 m 小鼠呼吸频率明显增快, 对刺激反应、活动度、进食量及体质量明显下降, 在处理 12 h 后体质量下降最显著, 这与 HUANG 等^[5]的研究结果一致。另外在 6000 m 海拔各实验点的脑组织均可见细胞排列紊乱、脑细胞水肿、细胞间隙扩大及血管扩张, 甚至可见核固缩等变化, 尤以 24 h、48 h、72 h 组的形态学变化

更显著,这与常鹏飞等^[12]的研究报道一致。本研究发现在海拔4 000 m时小鼠未发生明显的脑水肿,表明小鼠HACE患病率在海拔4 000 m以下较低,而WU等^[13]的研究显示HACE主要发生在海拔4 205~4 568 m,其患病率为0.26%,这可能与不同物种对缺氧易感性不同所致。在海拔6 000 m HACE模型研究中未见Wistar或SD大鼠的死亡报道,而本实验发现在海拔6 000 m小鼠死亡率为12.2%,在低压低氧12~24 h时死亡率最高,达10.57%,这可能与不同种属动物对低压低氧的耐受性不同有关。童世君等^[14]的研究发现人类HACE的总死亡率为14.29%,在非高原习服人群死亡率高达19.04%;SINGH等^[15]和DICKISON^[16]研究发现HACE死亡率分别为13%和12.8%,可见HACE在人类具有较高的致死率,且与本研究中海拔6 000 m小鼠高死亡率的结果较一致。

郭平等^[17]报道SD大鼠置于模拟海拔4 000 m的低压低氧舱内,进行力竭运动2 d,再将海拔升至8 000 m低压低氧处理3 d,发现脑水含量较正常组明显升高;郭文静^[18]报道Wistar大鼠置于模拟海拔5 000 m、6 000 m低压低氧舱内处理24 h、48 h后脑组织含水量较海拔1 500 m明显升高,而此次研究中海拔6 000 m组小鼠脑组织含水量无明显升高,三者检测方法均采用Elliot's formula法,分析结果不同的原因可能为:第一,低压低氧处理时间不同,前两者的研究中低压低氧处理时间较长;第二,实验动物的种属不同,对低压低氧易感性不同;第三,郭平等^[17]的研究中除使用低压低氧舱处理外,还结合了运动,加大了机体的耗氧量,故加重了脑水肿的程度。另外在本次实验中小鼠呼吸频率增快,处于过度通气状态,伴食欲降低,体质量下降,加之舱内温度较高,故小鼠有不同程度的脱水,从而影响了脑湿质量的检测结果。基于此,本实验进一步采用:脑湿质量(实验后)/体质量(实验后)比值来间接反映脑水肿情况,发现处理12 h后脑水肿增加,48 h后增加更显著。HUANG等^[9]同样采用这一方法,发现模拟海拔6 000 m C57BL/6小鼠于12 h后脑水含量明显增加,这与本次结果一致。

HACE病理生理复杂,HACKETT等^[19]研究证实血管源性脑水肿和细胞毒性脑水肿均参与了HACE的形成,其中多数研究者发现血管源性脑水肿是HACE发生的中心环节^[20],BBB结构破坏引起通透性增高可导致高原性脑水发生,本次实验发现EB通透性于12 h后明显增高,这与GLOOR等^[21]的研究结果一致。本次实验中HACE小鼠脑组织无明显凋亡发生,HACE发病可能与细胞凋亡无关。

综上所述,应用低压低氧舱模拟海拔6 000 m可建立稳定且有效的HACE小鼠模型,为进一步研究相关机制提

供参考。

* * *

作者贡献声明 春花负责论文构思、数据分析、经费获取、调查研究和初稿写作,白玛康卓负责提供资源、经费获取、监督指导和审读及编辑写作。所有作者同意将文章提交给本刊,且对将要发表的版本进行最终定稿,并同意对工作的所有方面负责。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] BARTSCH P, SALTIN B. General introduction to altitude adaptation and mountain sickness. *Scand J Med Sci Sports*, 2008, 18(Suppl 1): 1-10. doi: 10.1111/j.1600-0838.2008.00827.x.
- [2] 涂继伟, 林泽艳. 新兵进藏高原病诱因分析及预防措施探讨. *西南军医*, 2009, 11(5): 912-913. doi: 10.3969/j.issn.1672-7193.2009.05.074.
- [3] 高存友, 甘景梨, 赵兰民, 等. 心理行为因素对急进高原救灾官兵高原反应状况的影响. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2011, 20(7): 644-646. doi: 10.3760/cma.j.issn.1674-6554.2011.07.024.
- [4] 符中明, 任雨笙, 陈玉玲, 等. 心理状态对高原肺水肿患者病情的影响. *第二军医大学学报*, 2001, 22(2): 182-184. doi: 10.16781/j.0258-879x.2001.02.035.
- [5] HUANG X, ZHOU Y, ZHAO T, *et al.* A method for establishing the high-altitude cerebral edema (HACE) model by acute hypobaric hypoxia in adult mice. *J Neurosci Methods*, 2015, 245: 178-181. doi: 10.1016/j.jneumeth.2015.02.004.
- [6] SHEPPARD R L, SWIFT J M, HALL A, *et al.* The influence of CO₂ and exercise on hypobarichypoxia induced pulmonary edema in rats. *Front Physiol*, 2018, 9: 130. doi: 10.3389/fphys.2018.00130.
- [7] PENALOZA D, ARIAS-STELLA J. The heart and pulmonary circulation at high altitudes: healthy highlanders and chronic mountain sickness. *Circulation*, 2007, 115(9): 1132-1146. doi: 10.1161/circulationaha.106.624544.
- [8] WEST J B, SCHOENE R B, MILLEDGE J S. High altitude medicine. *Am J Respir Crit Care Med*, 2012, 186(12): 1229-1237. doi: 10.1164/rccm.201207-1323CI.
- [9] MOORE L G, NIERMEYER S, ZAMUDIO S. Human adaptation to high altitude: regional and life-cycle perspectives. *Am J Phys Anthropol*, 1998, Suppl 27: 25-64. doi: 10.1002/(sici)1096-8644(1998)107:27+<25::aid-ajpa3>3.0.co;2-l.
- [10] 林爱金, 王洁琼, 易沙沙, 等. 新生小鼠缺氧缺血性脑损伤学习记忆能力的性别差异研究. *华西医学*, 2019, 34(12): 1412-1416. doi: 10.7507/1002-0179.201907161.
- [11] 杨晓文. 模拟高原环境大脑皮质及血脑屏障的病理变化与AQP4的相关性实验研究. 重庆: 第三军医大学, 2005.
- [12] 常鹏飞, 刘冀琴, 赵娟, 等. 高原性脑水肿小鼠大脑超微结构及咬合蛋白(Occludin)的改变. *武警后勤学院学报(医学版)*, 2017, 26(5): 397-401. doi: 10.16548/j.2095-3720.2017.05.006.
- [13] WU T, DING S, LIU J, *et al.* Ataxia: an early indicator in high altitude

- cerebral edema. *High Alt Med Biol*, 2006, 7(4): 275–280. doi: 10.1089/ham.2006.7.275.
- [14] 童世军. 进驻高海拔地区人群高原脑水肿流行病学调查. *医学信息*, 2009, 1(9): 270.
- [15] SINGH I, KHANNA P K, SRIVASTAVA M C, *et al.* Acute mountain sickness. *Clinical Trial N Engl J Med*, 1969, 280(4): 175–184. doi: 10.1056/NEJM196901232800402.
- [16] DICKINSON J G. Severe acute mountain sickness. *Postgrad Med J*, 1979, 55(645): 454–460. doi: 10.1136/pgmj.55.645.454.
- [17] 郭平, 罗涵, 周其全. 实验性高原脑水肿动物实验模型的建立与评价七叶皂苷钠对低氧暴露下大鼠血脑屏障的保护作用观察. 第十三届中国体视学与图像分析学术会议论文集. 太原: 中国体视学学会, 2013:135–145.
- [18] 郭文静. 模拟不同海拔梯度低氧环境下大鼠HPA/HPT轴应激性功能变化的动态观察及对肺/脑组织的影响. 兰州: 甘肃中医药大学, 2016.
- [19] HACKETT P H, YARNELL P R, WEILAND D A, *et al.* Acute and evolving MRI of high-altitude cerebral edema: microbleeds, edema, and pathophysiology. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2019, 40(3): 464–469. doi: 10.3174/ajnr.A5897.
- [20] NATAH S S, SRINIVASAN S, PITTMAN Q, *et al.* Effects of acute hypoxia and hyperthermia on the permeability of the blood-brain barrier in adult rats. *J Appl Physiol* (1985), 2009, 107(4): 1348–1356. doi: 10.1152/jappphysiol.91484.2008.
- [21] GLOOR S M, WACHTEL M, BOLLIGER M F, *et al.* Molecular and cellular permeability control at the blood-brain barrier. *Brain Res Brain Res Rev*, 2001, 36(2-3): 258–264. doi: 10.1016/s0165-0173(01)00102-3.
- (2023-05-28收稿, 2023-10-28修回)
- 编辑 刘华



开放获取 本文遵循知识共享署名—非商业性使用4.0国际许可协议(CC BY-NC 4.0), 允许第三方对本刊发表的论文自由共享(即在任何媒介以任何形式复制、发行原文)、演绎(即修改、转换或以原文为基础进行创作), 必须给出适当的署名, 提供指向本文许可协议的链接, 同时标明是否对原文作了修改; 不得将本文用于商业目的。CC BY-NC 4.0许可协议访问<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>。

© 2023 《四川大学学报(医学版)》编辑部 版权所有