课题研究·论著

慢性间歇低氧并高血压SD大鼠模型的建立

蒋丽君， 刘建红， 宋 玮， 潘凤锦， 全志豪， 莫晓云，
雷志坚， 梁碧芳， 唐华林， 谢宇萍， 龙胜泽， 吴思旸

基金项目：国家自然科学基金资助项目(编号:81160014)；广西自然科学基金资助项目(编号:2014GXNSFAA118261)

作者单位：530021 南宁，广西壮族自治区人民医院广西睡眠呼吸疾病中心
作者简介：蒋丽君(1986－)，女，医学硕士，住院医师，研究方向：睡眠呼吸疾病的诊治。E-mail:jianglj5025@126.com
通讯作者：刘建红(1960－)，女，大学本科，学士学位，主任医师，硕士研究生导师，研究方向：睡眠呼吸疾病及心血管疾病的诊治。
E-mail:liu86406@126.com

[摘要] **目的** 建立慢性间歇低氧并高血压SD大鼠模型，为研究阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征(OSAHS)并高血压的发病机制提供简单可复制的动物模型。**方法** 氧舱系统分为控制系统、气源系统、暴露舱三个部分。选8～10周龄SD雄性大鼠24只(200～250 g)随机分成间歇低氧干预组和对照组。间歇低氧干预组12只暴露于间歇低氧舱内，白天给予间歇低氧干预(6%～8%的O_2 40 s/21%的O_2 80 s，如此往复循环8 h)；对照组12只暴露于常氧舱。在安静状态下检测大鼠尾动脉收缩压，每只连续测量3次，取平均值。**结果** 实验第35天，间歇低氧干预组尾动脉收缩压[(136.21±32.46)mmHg]高于对照组[(121.37±35.37)mmHg]($P<0.05$)。**结论** 控制精确气源通断时间，可有效地模拟间歇低氧过程，重复性佳，是研究间歇低氧所致高血压机制的理想实验模型。

[关键词] 间歇低氧； 高血压； SD大鼠
[中图分类号] R 544.1 [文献标识码] A [文章编号] 1674－3806(2015)11－1013－03
doi:10.3969/j.issn.1674－3806.2015.11.01

A hypertension rat model induced by chronic intermittent hypoxia *JIANG Li-jun, LIU Jian-hong, SONG Wei, et al. Sleep Disordered and Breathing Center of Guangxi, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning* 530021, *China*

[**Abstract**] **Objective** To establish a hypertension rat model induced by chronic intermittent hypoxia, and to provide a simple and duplicate animal model for the study of the pathogenesis of hypertension in OSAHS. **Methods** The intermittent hypoxia system was used to conduct the experiment, including the control subsystem, the gas supply subsystem and the exposed cabin. 24 male Sprague-Dawley rats, aged 8 to 10 weeks, and weighted from 200 to 250 g were randomly divided into two groups: the intermittent hypoxia intervention group and the control group. The intermittent hypoxia intervention group($n=12$) was exposed to 6% to 8% oxygen for 40 seconds and then to 21 % oxygen for 80 seconds in the exposed cabin for 8 hours per day with many intermittent hypoxia cycles. The control group ($n=12$) was exposed to certain concentration oxygen chamber. The tail artery systolic pressure of the rats was taken at rest states for three consecutive times and the average was calculated. **Results** The intermittent hypoxia intervention group had a significantly higher systolic blood pressure than the control group at the 35th day of the experiment [(136.21±32.46)mmHg vs (121.37±35.37)mmHg, $P<0.05$]. **Conclusion** Precisely aerating the oxygen on and off in an certain range of concentration can effectively make a simulated intermittent hypoxia process, which is an ideal animal model for studying the mechanisms of intermittent hypoxia-induced hypertension.

[**Key words**] Intermittent hypoxia; Hypertension; Sprague-Dawley rats

阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征(obstructive sleep apnea hypernea symptom, OSAHS)是具有潜在危险性的常见病、慢性病，以睡眠期反复的呼吸暂停、低通气和微觉醒为特征，主要临床表现为打鼾且

鼾声不规律、日间嗜睡、夜尿增多等。OSAHS 中年人的患病率在 2% ~4% 之间[1~3]，而老年人的患病率远远高于中年人，在 38% ~71.5% 之间[4~6]。OSAHS 往往导致一系列严重临床后果，是心血管疾病[7]、脑卒中[8]、慢性肾脏疾病[9]的独立危险因素，增加了患者的死亡风险。慢性间歇性低氧是其特征性的病理机制，本文旨在建立慢性间歇低氧并高血压 SD 大鼠模型，为明确 OSAHS 所致高血压提供合适的动物模型。

1　材料与方法

1.1　材料　8 ~10 周龄 SPF 级雄性 SD 大鼠 24 只，体重 220 ~250 g，广西医科大学实验动物中心提供；动物实验氧舱系统由本实验室研制。其他主要仪器和材料有血气分析仪（仪器型号：雅培 i-STAT 300G）和高纯度氮气（浓度 >99.99%，广西壮族自治区人民医院设备科提供）。氧舱系统分为控制系统、气源系统、暴露舱三个部分。控制系统：通过电脑程序控制氧气、氮气气源电磁阀的开关，控制程序采用天津医科大学总医院呼吸内科仿真系统（1.0Copyright，冯靖中国天津 2005）。气源系统：高纯度氮气（浓度 >99.99%，广西壮族自治区人民医院设备科提供）；通过空气压缩机制备高压空气，排气压力为 50 ~100 kPa；氧气、氮气气源有独立管道连接至每个暴露舱，气源系统配备电磁阀（华育二位二通直拉膜片式电磁阀 2 W）以控制气源的通断，通过浮标式氧流量计控制气流流速。暴露舱：由常氧舱、间歇低氧舱组成。各个暴露舱为自制密闭动物饲养箱。暴露舱两侧分别有通气口，氮气和压缩空气经近端进气口通入暴露舱内。暴露舱盖上安装有排气扇，能使进入的氮气和压缩空气充分混合均匀。在暴露舱盖上开一个可手动开关的窗口，方便抽血及放置测氧仪。工作原理：通过控制系统控制进入暴露舱中氮气和氧气的时间长短，造成氧舱中氧浓度周期性变化，模拟间歇低氧环境，并设对照组暴露舱。

1.2　间歇低氧舱验证　将 SD 大鼠左颈动脉置管后置于特制的负压小舱内，6% ~8% 的 O_2 的 40 s/21% 的 O_2 80 s，如此循环往复，以 0 s 为起点抽取 0 点左颈动脉血进行血气分析，依次每个循环推后 10 s 抽取动脉血，绘制时间-氧分压曲线。曲线出现低氧复氧过程即间歇低氧舱建立成功。

1.3　间歇低氧并高血压模型建立　利用 SPSS 生成随机数字，将清洁级别饲养的 8 ~10 周龄 SD 雄性大鼠 24 只（200 ~250 g）随机分成间歇低氧干预组和对照组。间歇低氧干预组 12 只，正常饲养并将 SD 大鼠置入间歇低氧舱内，白天给予间歇低氧干预（6% ~8% 的 O_2 40 s/21% 的 O_2 80 s，如此往复循环 8 h），持续至大鼠血压升高并稳定 1 周后。对照组 12 只，常氧状态下正常饲养，同步测定血压。两组大鼠饲养条件完全一致。

1.4　血压测定　每天上午 8:00 左右，采用呼吸-脉搏传感器测压（BP-2000 SERIES Ⅱ Blood Pressure Analysis System, Visitech Systems, Inc），大鼠尾动脉血压测量方法参照大鼠尾压测量仪使用说明书，在安静状态下检测大鼠尾动脉收缩压，每只连续测量 3 次，取平均值。

1.5　统计学方法　应用 SPSS16.0 统计软件进行数据处理，计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，采用重复测量两因素多水平方差分析，$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　间歇低氧模型建立过程及结果　将 SD 大鼠左颈动脉置管后置于特制的小舱内，如此循环往复间歇低氧，抽取左颈动脉血行血气分析，绘制时间-氧分压曲线和时间-氧饱和度曲线，发现在循环的第 60 s 时出现最低氧分压 33 mmHg，对应最低氧饱和度 75%，循环的第 110 s，氧分压 99 mmHg，氧饱和度 97%，复氧成功并持续至循环结束。在低氧舱内 SD 大鼠体内造成低氧/复氧变化，间歇低氧 SD 大鼠模型成功建立（见图 1）。

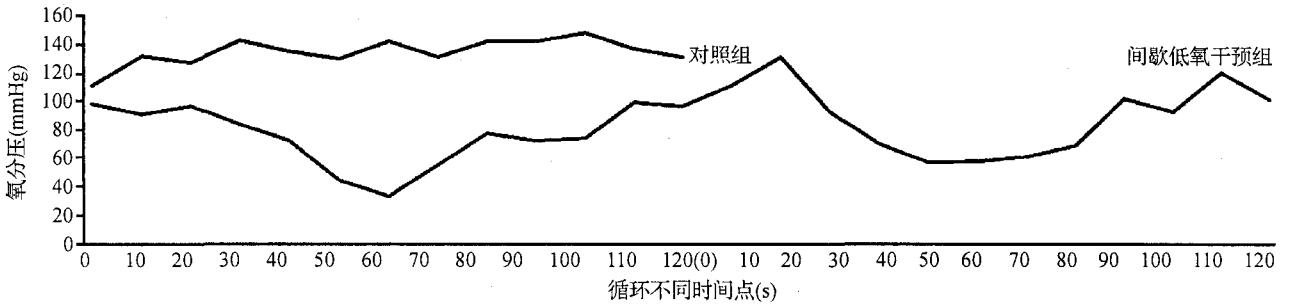

图 1　常氧及间歇低氧舱内 SD 大鼠在循环不同时间点动脉血气分析氧分压的变化曲线图

2.2 两组SD大鼠不同时间尾动脉收缩压比较 分别在第0天、第7天、第14天、第21天、第28天、第35天监测两组大鼠尾动脉收缩压，发现第0天两组收缩压无明显差异，第7天后间歇低氧干预组收缩压较对照组升高，差异具有统计学意义（$P<0.05$）。见表2。

表1 两组SD大鼠不同时间尾动脉收缩压比较[$(\bar{x}\pm s)$，mmHg]

组 别	例数	第0天	第7天	第14天	第21天	第28天	第35天
对照组	12	127.69±27.31	139.89±35.05	129.34±33.86	136.60±35.64	122.00±37.92	121.37±35.37
间歇低氧干预组	12	124.15±26.07	146.76±44.46	141.30±32.93	143.33±34.42	132.61±36.14	136.21±32.46

注：$F_{组别}=4.128$，$P_{组别}=0.046$；$F_{时点}=3.131$，$P_{时点}=0.009$；$F_{组别\times时点}=0.619$，$P_{组别\times时点}=0.686$

3 讨论

3.1 OSAHS的特征性低氧方式是慢性间歇性低氧，此低氧+复氧方式模拟了OSAHS缺血再灌注过程中的病理变化。间歇低氧+复氧动物模型模拟OSAHS的实验装置有不同类型，如往复运动式低氧舱、低压低氧舱、低O_2高CO_2箱[10]。本实验暴露舱为常压舱，通过高纯度的氮气改变舱内氧浓度，循环往复，模拟间歇低氧过程。本实验通过连续数个间歇低氧循环不同时间点的血气分析结果可见，暴露舱内低氧复氧过程，在SD大鼠体内造成了相应的低氧复氧变化，在循环的第60 s时出现最低氧分压33 mmHg，对应最低氧饱和度75%；循环的第110 s，氧分压99 mmHg，氧饱和度97%，复氧成功并持续至循环结束。本实验中大鼠血气分析曲线表明大鼠体内间歇缺氧复氧过程，有效模拟了OSAHS间歇低氧病理生理过程。本实验氧舱模型可由实验者设定多项参数，通过改变氮气和压缩空气的通断时间，研制不同低氧浓度和时间的间歇低氧复氧模型。

3.2 Allahdadi等[11]将SD大鼠安置在有机玻璃盒中，以每小时20个周期（最低5% O_2，5% CO_2；最高21% O_2，21% CO_2）的间歇低氧，7 h/d，在0 d和14 d监测大鼠血压，发现实验组从基础血压（133.9±5.5）mmHg上升至（153.3±6.5）mmHg。本实验在白天给予间歇低氧干预（6%～8%的O_2 40 s/21%的O_2 80 s），如此往复循环8 h。间歇低氧干预组SD大鼠第7天收缩压开始升高，至第35天收缩压较对照组升高幅度最大，差异有统计学意义（$P<0.05$），表明本实验的间歇低氧高血压模型复制成功。

综上所述，控制精确气源通断时间，可有效地模拟间歇低氧过程，重复性佳，模型符合疾病的病理生理特点，是研究间歇低氧所致高血压机制的理想实验模型。

参考文献

1 Young T, Palta M, Dempsey J, et al. The occurrence of sleep-disordered breathing among middle-aged adults[J]. N Engl J Med, 1993, 328(17):1230-1235.

2 Duran J, Esnaola S, Rubio R, et al. Obstructive sleep apnea-hypopnea and related clinical features in a population-based sample of subjects aged 30 to 70 yr[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2001, 163(3 Pt 1):685-689.

3 Al Lawati NM, Patel SR, Ayas NT. Epidemiology, risk factors, and consequences of obstructive sleep apnea and short sleep duration[J]. Prog Cardiovasc Dis, 2009, 51(4):285-293.

4 Sforza E, Chouchou F, Collet P, et al. Sex differences in obstructive sleep apnoea in an elderly French population[J]. Eur Respir J, 2011, 37(5):1137-1143.

5 Johansson P, Alehagen U, Svanborg E, et al. Clinical characteristics and mortality risk in relation to obstructive and central sleep apnoea in community-dwelling elderly individuals: a 7-year follow-up[J]. Age Ageing, 2012, 41(4):468-474.

6 Martinez-Garcia MA, Amilibia J, Chiner E, et al. Sleep apnoea in patients of elderly: care activity in spain (2002-2008)[J]. Arch Bronconeumol, 2010, 46(10):502-507.

7 Bagai K. Obstructive sleep apnea, stroke, and cardiovascular diseases[J]. Neurologist, 2010, 16(6):329-339.

8 Ramar K, Surani S. The relationship between sleep disorders and stroke[J]. Postgrad Med, 2010, 122(6):145-153.

9 Kanbay A, Buyukoglan H, Ozdogan N, et al. Obstructive sleep apnea syndrome is related to the progression of chronic kidney disease[J]. Int Urol Nephrol, 2012, 44(2):535-539.

10 李秀翠，蔡晓红，温正旺，等. 间歇性低氧动物模型的建立及验证[J]. 医学研究杂志，2012，41(7)：57-61.

11 Allahdadi KJ, Walker BR, Kanagy NL. Augmented endothelin vasoconstriction in intermittent hypoxia-induced hypertension[J]. Hypertension, 2005, 45(4):705-709.

[收稿日期 2015-08-19][本文编辑 黄晓红]