

高原低氧对喜马拉雅旱獭、高原鼠兔、缺氧敏感大鼠颈动脉体超微结构的影响*

陈钦铭 叶于聪 温佳林

(青海省高原医学科学研究所)

摘 要

应用扫描电镜结合透射电镜技术,对上海(海拔10米)的大鼠,5天内从上海急进到海拔3300米的大鼠,由北京引入西宁的子4代大鼠,同高原的喜马拉雅旱獭和高原鼠兔的颈动脉体微细结构进行对比观察。结果表明,高原低氧环境使由低海拔急进到高海拔的大鼠颈动脉体I型细胞增生、肿胀、体积增大,胞浆中致密核心囊泡数量减少,线粒体变性肿胀,神经末梢中突触囊泡减少,I型细胞表面微绒毛变性脱落;而喜马拉雅旱獭和高原鼠兔对高原低氧环境有较好的适应,未见缺氧损害征象。

关键词 (Key words): 喜马拉雅旱獭 (*Himalayan marmot*, *Marmota himalayana*), 高原鼠兔 (*Plateau pika*, *Ochotona curzoniae*), 缺氧敏感大鼠 (*Hilltop Sprague-Dawley rat*), 颈动脉体 (*Carotid body*), 超微结构 (*Ultrastructure*)。

随着移居高原居住者的逐渐增加和低氧医学的发展,关于急性与慢性高原低氧对机体的影响及机体对低氧环境的适应机制深受人们关注。尤其是高原土生动物与世居土著人对高原环境的适应性如何更受重视。国外学者曾观察过多种哺乳动物和人体的颈动脉体正常微细结构 (Garner等, 1958; Lever等, 1959; Grimley等, 1968; Verna, 1979), 我们曾报道过亚急性高原低氧对大鼠颈动脉体超微结构的影响——3个海拔高度比较研究 (陈钦铭等, 1986), 为进一步观察高原低氧对缺氧敏感动物、移居高原动物和高原土生动物颈动脉体超微结构的变化,以便分析它们对低氧适应机理的差异。本文应用扫描电镜 (SEM) 结合透射电镜 (TEM) 对海拔3300米地区的喜马拉雅旱獭 (*Marmota himalayana*)、高原鼠兔 (*Ochotona curzoniae*)、缺氧敏感大鼠 (*Hilltop Sprague-Dawley rat*)、移居高原大鼠的颈动脉体微细结构进行对比观察,并以平原缺氧敏感大鼠为对照,现将观察结果报道于下。

材料与方 法

1. 实验动物

第1组:喜马拉雅旱獭捕自青海省海晏县(海拔3200—3400米),依据尾部及皮毛色判断年龄,本实验系用大于2周岁的成体,体重3—4千克,雌雄兼用,共6只。

* 高原鼠兔由本所滕国奇、龙雯等同志捕获,喜马拉雅旱獭由青海省卫生防疫站刘寿麟主任提供,谨此致谢。
本文于1988年5月9日收到。

第2组:高原鼠兔捕自青海省共和县黑马河地区(海拔3300米),成年,体重147—158克,雌雄兼用,共6只。

第3组:急进高原SD大鼠由上海医科大学于1984年从国外引进,出生于上海(海拔10米),5天内由上海急进到海拔3300米地区,停留1个月取材,体重158—168克,雌雄兼用,共6只。

第4组:移居高原大鼠系北京引入西宁(海拔2260米)的Wistar大鼠子四代,成年,体重为156—167克,雌雄兼用,共6只。

第5组:平原SD大鼠对照组,来源同第3组,体重158—168克,雌雄兼用,于上海剖杀取材,作为对照。

2. 取材与透射电镜技术

以戊巴比妥钠(25—30毫克/千克)腹腔注射麻醉,迅速分离出左、右两侧颈动脉体,左侧颈动脉体立即投入预冷的2.5%戊二醛固定液中,再以1%锇酸固定,梯度乙醇脱水,环氧树脂812包埋,LKB超薄切片机切片,醋酸铀—枸橼酸铅染色,JEM-2000EX透射电镜观察摄影。

3. 扫描电镜标本制备

右侧颈动脉体分别经2.5%戊二醛与1%锇酸固定、梯度乙醇脱水、醋酸异戊酯置换、临界点干燥、真空喷涂金后在ISI-DS-130扫描电镜下观察摄影。

结 果

1. 上海对照组大鼠

颈动脉体由I型细胞(相当于上皮细胞,又称球细胞、主细胞、化学感受器细胞)和II型细胞(相当于支持细胞,又称外膜细胞、周皮细胞)所组成,并被基底膜所包围。两种细胞之间有少量相互联结的突起。I型细胞多呈串样排列,可分为明细胞(A型球细胞)与暗细胞(B型球细胞),经常朝着别的细胞串或毛细血管发出胞浆突起,细胞核一般呈球形或卵圆形,核内含散在分布的染色质,胞核直径约5微米,细胞器呈均匀分布,可见高尔基复合体、线粒体、内质网、核糖体、微管等。最具特征的是I型细胞浆中含有分泌颗粒,通常称致密核心囊泡(Dense-cored vesicles),呈均一球状,其直径约150—300纳米,颗粒以膜为界,嗜碱性核心居中,数量较多。颈动脉体的神经纤维与神经末梢分布在I型细胞与毛细血管之间或被单个细胞的胞浆所包围,I型细胞表面的神经末梢且有多形性,其体积大小可随末梢形状而变化。神经末梢与I型细胞浆突起不同,前者含有突触囊泡(Synaptic vesicle)、线粒体(体积小、数量少)、微丝、神经小管等,但不含核糖体。II型细胞位于I型细胞巢周围,数量较少,呈伸长形,有带状、扁平状或分叶状胞核,核内含致密染色质,胞浆中含多种细胞器,但不含致密核心囊泡(图版I—1)。

2. 海拔3300米喜马拉雅旱獭与高原鼠兔

颈动脉体微细胞结构基本上与平原组大鼠相似,未见到低氧引起的损害征象,只是I型细胞中的溶酶体数量较多。

喜马拉雅旱獭与高原鼠兔的颈动脉体微细结构极为相似,只有下列3方面稍有不同:(1)旱獭颈动脉体I型细胞中的致密核心囊泡呈多形性,而高原鼠兔则多为圆形;(2)旱獭颈动脉体I型细胞核较不规则,多呈分叶状,而鼠兔的胞核比较规则,

多呈球形, (3) 旱獭颈动脉体 I 型细胞表面的神经末梢内含有较多的圆形清亮的突触囊泡, 而鼠兔则含有较丰富的颗粒型突触囊泡 (图版 I -2,3)。

3. 海拔3300米缺氧敏感大鼠

SD大鼠由平原进入到海拔3300米高原地区后, 由于高原低氧环境的影响, 与平原对照组相比, 颈动脉体出现某些微细结构改变: I 型细胞中的致密核心囊泡数量减少, 中央嗜锇性核心变小, 呈偏心样, 有的嗜锇性核心向外排出而消失, 形成空心微囊, 这些微囊可相互融合形成较大的空泡; 线粒体肿胀、外膜局限性溶解破裂, 基质减少消失, 嵴断裂, 出现局限性空化区; 胞核的核周间隙增宽, 异染色质浓聚, 呈现异染色质边聚现象 (Chromatin margination); 有些神经末梢内出现不规则型膜样囊泡 (Membranous sac) (图版 I —4)。

4. 海拔3300米移居高原大鼠

与平原对照组大鼠相比, 移居高原大鼠颈动脉体 I 型细胞出现轻度缺氧性损害, 表现为 I 型细胞轻度肿胀, 核周胞浆中的致密核心囊泡数量减少, 微管轻度扩张, 有些线粒体肿胀、电子密度降低, 分布在 I 型细胞与毛细血管之间的神经纤维中的突触囊泡多呈空心囊。

5. 5组动物颈动脉体的扫描电镜观察

平原对照组大鼠: 颈动脉体表面可见 2 种大小不同的细胞, 大者为 I 型细胞, 小者为 II 型细胞。细胞之间有凹陷的小沟, 细胞表面有粗细长短不等的微绒毛及少量分泌颗粒 (图版 I —5)。

喜马拉雅旱獭: 颈动脉体两种类型细胞及其大小与平原组大鼠相似, 唯 I 型细胞呈圆锥形, 细胞表面微绒毛较短 (图版 I —6)。

高原鼠兔: I 型细胞呈山峰样排列, 表面微绒毛较细长并互相交错 (图版 I —7)。

急进高原缺氧敏感大鼠: 颈动脉体 I 型细胞体积肿大, 表面微绒毛变性脱落, 有些细胞表面出现大小不等、形状各异的陷窝, II 型细胞体积未见明显改变 (图版 I —8)。

移居高原大鼠: I 型细胞体积轻度增大, 微绒毛较细长, 常互相联结成网状样结构。

讨 论

大量动物实验和临床研究, 证明颈动脉体系是感受血液化学成分和血压变化的感受器, 它不仅调节肺通气, 而且参与整体缺氧条件下肺循环的调节, 使缺氧引起的肺动脉压升高, 以保持生理范围之内, 并伴有肺血流量增加与肺血管阻力降低, 即导致增加单位时间内流经肺泡参与氧合作的血液总量, 以代偿吸入气氧分压降低所造成的血氧百分容积减少, 有利于机体对低氧环境的适应 (邓希贤等, 1982), 为此, 本研究以生活在低海拔的大鼠为对照, 比较观察了海拔3300米高原低氧条件下喜马拉雅旱獭、高原鼠兔、SD 大鼠、移居高原的 Wistar 大鼠颈动脉体微细结构改变, 这在一定程度上提示化学受体受低氧环境刺激后的感受效应。本研究在下列 3 方面与先前报道有所不同:

(1) 为探讨高原低氧对颈动脉体超微结构的影响, 应尽力排除麻醉药物引起的缺氧, 为此, 本实验采用戊巴比妥钠小剂量 (25—30毫克/千克) 浅麻醉方法, 通过对体温、心率、呼吸等观察, 未发现有明显改变; (2) 全部实验动物均在自然状态下吸入相同海拔高度 (3300米) 的空气, 而非吸入特种气体, 这就避免了人为兴奋动物而引起颈动脉

体结构的变化；(3)选择3种类型动物在未冬眠、同海拔条件下进行对比观察：缺氧的敏感动物——SD大鼠、移居高原动物——Wistar大鼠子4代、低氧适应动物——高原鼠兔(杜继曾等, 1982; 滕国奇等, 1986)和喜马拉雅旱獭(李庆芬等, 1984), 这有利于分析不同类型动物对低氧适应机理的差异。这是基于上述3种类型动物均属于啮齿动物, 具有同类动物的可比性, 况且 Verna (1979) 曾指出多种哺乳动物的颈动脉体微细结构没有明显的种属差异。

在高原低氧条件下, 缺氧敏感大鼠身体的各个脏器和组织均会受到低氧影响, 颈动脉体同样会受到非特异性的细胞缺氧性损害, 其主要表现为I型细胞肿胀, 具有调节心血管、呼吸作用的分泌物质——致密核心囊泡数量减少, 中央嗜银性核心变小或排空, 故可见空心微囊或空泡, 即低氧刺激后, 颈动脉体I型细胞中致密核心囊泡的排空超过新的致密核心囊泡的重组, 因而导致致密核心囊泡数量的减少, 这可能系颈动脉体化学感受器对缺氧敏感性降低的缘故(Hansen, 1981), 它将影响机体的通气功能与肺循环的调节功能, 因而不利于对低氧环境的适应。颈动脉体I型细胞中线粒体变性肿胀, 这与文献报道相似(Edwards等, 1972; Laidler等, 1975), 这意味着I型细胞供能系统受损, 这对进一步合成分泌活性物质和发挥颈动脉体的生理功能将产生不利影响。

喜马拉雅旱獭与高原鼠兔均属于啮齿类挖洞型高原土生动物, 长期以来生活在低氧浓度环境中, 它们的颈动脉体微细结构与世居平原大鼠相似, 未见缺氧引起的损害征象, 表明它们对低氧环境有较好的适应。喜马拉雅旱獭与高原鼠兔对低氧适应方式尚表现出某些差异: 喜马拉雅旱獭的氧耗量低, 基础代谢率(非冬眠期)低, 体温低, 心率慢, 呼吸频率低(李庆芬等, 1984; 梁杰荣, 1986), 颈动脉体I型细胞核多呈分叶状, 致密核心囊泡呈多形性, I型细胞表面感觉神经末梢内富含圆形清亮突触囊泡, 提示以分泌乙酰胆碱递质为主; 高原鼠兔则表现为氧利用率高, 基础代谢率高, 心率快, 呼吸频率高等特点(杜继曾等, 1982; 滕国奇等, 1986; 梁杰荣, 1986)。颈动脉体I型细胞表面感觉神经纤维内富含颗粒型突触囊泡, 意味着主要分泌单胺类物质, 属于肾上腺素能。关于喜马拉雅旱獭与高原鼠兔对低氧适应方式差异的本质和意义尚待进一步研究。

高原移居大鼠颈动脉体微细结构仅有轻度缺氧性损害, 介于缺氧敏感大鼠与高原土生动物之间, 这是否提示移居高原Wistar大鼠正朝着由不适应低氧向适应低氧方向过渡尚需深入探讨。

参 考 文 献

- 邓希贤、蔡英年、陈建国 1982 颈动脉体化学感受器与缺氧时肺动脉压升压反应的调节。中国医学科学院学报 4:347—351。
- 李庆芬、杜继曾、梁杰荣 1984 喜马拉雅旱獭的能量代谢初试。兽类学报 4(1):10。
- 陈钦铭、叶子聪、寇星灿 1986 亚急性高原低氧对大鼠颈动脉体超微结构的影响——三个海拔高度比较研究。高原医学杂志 (2):4—7。
- 杜继曾、李庆芬 1982 模拟高原低氧对高原鼠兔和大鼠器官与血液若干指标的影响。兽类学报 2(1):35—42。
- 梁杰荣 1986 四种哺乳动物气体代谢的一些材料。高原生物学集刊, (6):91—97。
- 滕国奇、杨之、詹心如 1986 不同海拔高度鼠兔肺动脉压等测定及适应机理的探讨。青海医药杂志 (6):1—5
- Edwards, C., D. Heath and P. Harris 1972 Ultrastructure of the carotid body in high altitude guinea-pigs. *J. Pathol.* 107:131—142.
- Garner, C. M. and D. Duncan 1958 Observations on the fine structure of the carotid body. *Anat. Rec.* 130:691—709.
- Grimley, P. M. and G. G. Glenner 1968 Ultrastructure of the human carotid body. *Circulation*, 37: 648—665.

- Hansen, J.T. 1981 Chemoreceptor nerve and type A glomus cell activity following hypoxia, hypercapnia or anoxia: A morphological study in the rat carotid body. *J. Ultrastructure Res.* 77:189—198.
- Laidler, P. and J.M. Kay 1975 The effect of chronic hypoxia on the number and nuclear diameter of type I cells in the carotid bodies of rats. *Am. J. Pathol.* 79:311—318.
- Lever, J.D., P.R. Lewis and J.D. Boyd 1959 Observations on the fine structure and histochemistry of the carotid body in the cat and rabbit. *J. Anat.* 93:478—490.
- Verna, A. 1979 Ultrastructure of the carotid body in the mammals. *Int. Rev. Cytol.* 60:271—330.

外文摘要(Abstract)

EFFECT OF ALTITUDE HYPOXIA ON CAROTID BODY ULTRASTRUCTURE IN MARMOTA HIMALAYANA, OCHOTONA CURZONIAE AND HILLTOP SPRAGUE DAWLEY RAT

CHEN Qinning YE Yucong WEN Jialin
(Qinghai High Altitude Institute of Medical Science)

This investigation reveals with the ultrastructural effects of hypoxia in native plateau species *Marmota himalayana* (3300m above sea level), *Ochotona curzoniae* (3300m) and plateau-migrated rats (the fourth filial generation of the Wistar rats imported to Xining and migrated to 3300m), and the Hilltop Sprague Dawley rats divided into 2 groups: (1) quickly brought to altitude (3300m), (2) remained in Shanghai (control). Their left and right carotid bodies were investigated with transmission electron microscope and scanning electron microscope.

There were an increase in the number of type I cells, decrease in the number of dense-cored vesicles, degenerated mitochondria, an increase in number and size of the vacuoles, decrease in the synaptic vesicle of the nerve endings and reduced microtriches in the surface of type I cell in the Sprague Dawley altitude-brought rats. However, no change had been observed in these indexes mentioned above in native *O. curzoniae* and *M. himalayana* at the same experimental conditions. The light damage of hypoxia of carotid bodies was observed in plateau-migrated Wistar rats.