

DOI: 10.16781/j.0258-879x.2019.04.0408

· 论 著 ·

高压氧对妊娠大鼠一氧化碳中毒的疗效及对子代学习记忆能力的影响

衣洪杰, 郑成刚*

海军军医大学(第二军医大学)长海医院高压氧治疗科, 上海 200433

[摘要] **目的** 观察高压氧(HBO)对妊娠大鼠一氧化碳(CO)中毒的疗效及对子代大鼠学习记忆能力的影响。**方法** 将120只SD孕鼠(E3)随机分为4组:对照组、CO中毒组、HBO治疗组和常压氧(NBO)治疗组,对照组不作处理,后3组进行急性CO中毒造模,HBO治疗组造模成功后以O₂浓度≥99%的HBO(绝对压250 kPa)治疗至大鼠生产,NBO治疗组造模成功后以O₂浓度≥99%的NBO治疗至大鼠生产。记录孕鼠死亡率、孕鼠产仔数量、仔鼠体质量、仔鼠死亡率,通过Morris水迷宫实验评估子代大鼠的学习记忆能力。**结果** 与CO中毒组比较,HBO治疗组孕鼠和仔鼠的死亡率均降低[0 vs 14.8% (4/27), $P<0.01$; 1.0% (3/292) vs 8.6% (18/209), $P<0.05$],孕鼠产仔数量和仔鼠体质量均增加[(11.2±1.6)只 vs (9.1±2.1)只, $P<0.05$; (6.55±1.13) g vs (5.27±1.02) g, $P<0.05$],子代大鼠学习记忆能力增强(水迷宫躲避潜伏期缩短, $P<0.01$)。NBO治疗组上述指标与CO中毒组比较也有明显改善,但较HBO治疗组效果差($P<0.05$)。**结论** HBO和NBO治疗对妊娠大鼠CO中毒均有一定疗效,并能减轻CO中毒对子代大鼠学习记忆能力的影响,且HBO治疗效果好于NBO。

[关键词] 一氧化碳中毒; 高压氧; 妊娠; 记忆**[中图分类号]** R 595.1**[文献标志码]** A**[文章编号]** 0258-879X(2019)04-0408-04

Therapeutic effect of hyperbaric oxygen on carbon monoxide poisoning in pregnant rats and its effect on learning and memory ability of their offspring

YI Hong-jie, ZHENG Cheng-gang*

Department of Hyperbaric Oxygen, Changhai Hospital, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To explore the curative effect of hyperbaric oxygen (HBO) on carbon monoxide (CO) poisoning of pregnant rats and its effect on learning and memory ability of the offspring rats. **Methods** A total of 120 pregnant SD rats (E3) were randomly divided into four groups: control, CO poisoning, CO poisoning+HBO and CO poisoning+normobaric oxygen (NBO) groups. The rats in the control group were not treated, while those in the other 3 groups were treated with acute CO poisoning. After successful modelling, the rats in the HBO group were treated with HBO (O₂≥99%, absolute pressure 250 kPa) till delivery, and the rats in the NBO group were treated with NBO (O₂≥99%, normal pressure) till delivery. The mortality rate of pregnant rats, the number of pups, the body mass of the pups and the mortality rate of pups were recorded, and the memory and learning ability of the offspring rats was assessed with Morris water maze. **Results** Compared with the CO poisoning group, HBO treatment could significantly reduce the mortality rate of pregnant rats and pups (0 vs 14.8% [4/27], 1.0% [3/292] vs 8.6% [18/209]; $P<0.01$, $P<0.05$), increase the number of pups and the body mass of pups (11.2±1.6 vs 9.1±2.1, [6.55±1.13] g vs [5.27±1.02] g; both $P<0.05$), and enhance the learning and memory ability of pups (escape avoidance latency was significantly shortened in Morris water maze, $P<0.01$). The above indicators were also improved after NBO treatment, but the effect was significantly lower than HBO treatment ($P<0.05$). **Conclusion** Both HBO and NBO can treat CO poisoning of pregnant rats, and can reduce the effects of CO poisoning on learning and memory ability of offspring rats, but the therapeutic effect of HBO treatment is better than NBO.

[Key words] carbon monoxide poisoning; hyperbaric oxygenation; pregnancy; memory

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2019, 40(4): 408-411]

[收稿日期] 2018-10-19**[接受日期]** 2019-03-22**[作者简介]** 衣洪杰, 硕士, 讲师、主治医师。E-mail: hongjieyi@163.com

*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81871166, E-mail: jingbaniuniu@163.com

一氧化碳(carbon monoxide, CO)是一种无色、无味、无刺激性的气体,多由含碳物质不完全燃烧产生,机体吸入过量的CO可引发中毒,若治疗不及时或不彻底还可能出现迟发性脑病,死亡率、致残率均较高。高压氧(hyperbaric oxygen, HBO)治疗是急性CO中毒治疗的特效治疗手段,能够快速有效排出CO,恢复血红蛋白供氧能力,改善患者的缺氧状态,在临床上已得到普遍应用^[1]。国内临床治疗中对急性CO中毒合并妊娠患者行HBO治疗存在争议,早期被视为绝对禁忌^[2],目前各HBO医学岗位培训资料甚至规范性文件仍将妊娠作为相对禁忌证^[3-4]。本研究拟探讨HBO对急性CO中毒妊娠大鼠的治疗作用及对子代大鼠学习记忆能力的影响,为相关临床诊治提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物 无特定病原体级(specific-pathogen free, SPF)健康Sprague-Dawley(SD)大鼠,体质量为230~270 g,由海军军医大学(第二军医大学)实验动物中心提供[动物生产许可证号:SCXK(沪)2012-0003]。大鼠自由饮食,饲养条件符合GB 14925-2010实验室有关要求。

1.2 动物分组 将成年SD大鼠以雌:雄=1:2合笼交配,取胚胎第3天(E3)的孕鼠用于实验^[5]。将120只孕鼠按随机数字表法随机分为4组:对照组、CO中毒组、HBO治疗组和常压氧(normobaric oxygen, NBO)治疗组。对照组大鼠妊娠后不进行其他处理,CO组大鼠妊娠后仅行急性CO中毒造模, HBO组大鼠妊娠后行急性CO中毒造模并给予HBO治疗, NBO治疗组大鼠妊娠后行急性CO中毒造模并给予NBO治疗。每只大鼠单独饲养至生产。

1.2.1 急性CO中毒造模 将大鼠置于动物实验舱内[RDC150-300-6型,海军军医大学(第二军医大学)],通入含有0.15%(体积分数)CO的压缩空气(上海鼎欣气体有限公司)维持常压处理60 min,并以100 mL/min流量持续通风,在舱底铺设钠石灰吸收大鼠呼出的CO₂。去除死亡大鼠。

1.2.2 HBO治疗 将大鼠置于动物加压舱内[RDC150-300-6型,海军军医大学(第二军医大学)],采用医用纯O₂以1 000 mL/min的流量洗

舱,到测氧仪显示舱内O₂浓度达到99%时开始以100 kPa/min速率加压至250 kPa(绝对压,下同),暴露60 min,在此期间以100 mL/min O₂流量持续通风,保持舱内O₂浓度≥99%(CY-12C型测氧仪,浙江新安江分析仪器厂);在舱底铺设钠石灰吸收大鼠呼出的CO₂,舱内温度维持在23~25℃。暴露结束后15 min匀速减至常压出舱。HBO治疗方案:前3 d共7次,随后1次/d至大鼠生产。

1.2.3 NBO治疗 将大鼠置于动物加压舱内,采用医用纯O₂以1 000 mL/min的流量洗舱,到测氧仪显示舱内O₂浓度达到99%时开始计时暴露60 min,在此期间以100 mL/min O₂流量持续通风,保持舱内O₂浓度≥99%;在舱底铺设钠石灰吸收大鼠呼出的CO₂,舱内温度维持在23~25℃。NBO治疗方案:前3 d共7次,随后1次/d至大鼠生产。

1.3 观察指标

1.3.1 孕鼠死亡率 观察各组孕鼠存活情况,记录各组孕鼠至实验结束时的存活数量并计算死亡率。

1.3.2 孕鼠产仔数量与仔鼠体质量 每只孕鼠生产后清点仔鼠数量,计算各组孕鼠生产仔鼠的平均数量。仔鼠出生后称体质量,计算各组仔鼠的平均体质量。

1.3.3 仔鼠死亡率 各仔鼠正常饲养3周后清查仔鼠存活数量,计算各组仔鼠死亡率。

1.3.4 子代大鼠记忆学习能力检测 通过Morris水迷宫实验检测子代大鼠逃避潜伏期。仔鼠正常饲养8周,每组随机选取30只进行Morris水迷宫测试,每天1次,均于上午进行。水深超过平台2 cm,水温(25±1)℃、室温(23±2)℃,光照充足,将每只大鼠依次从4个象限的中点面壁式入水,应用图像采集及分析系统(RD1101-MWM-G型)记录保存大鼠寻找并爬上平台所需时间(逃避潜伏期),取4个象限的平均值作为当日成绩,连续测试5 d。Morris水迷宫及图像采集和分析系统为上海移数信息科技有限公司产品。

1.4 统计学处理 实验结果用SPSS 21.0软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异的比较采用单因素方差分析,两两比较采用SNK法;计数资料以鼠数和百分数表示,组间差异的比较采用 χ^2 检验。检验水准(α)为0.05。

2 结果

2.1 各组孕鼠死亡率比较 CO中毒组、HBO治疗组和NBO治疗组分别有27只、26只和28只孕鼠成功建立急性CO中毒模型。各组孕鼠进行相关处理后正常饲养,至实验结束,对照组30只孕鼠全部存活,CO中毒组27只孕鼠存活23只,HBO治疗组26只孕鼠全部存活,NBO治疗组28只孕鼠存活26只。CO中毒组孕鼠死亡率(14.8%, 4/27)高于对照组(0, 0/30),差异有统计学意义($P<0.01$); HBO治疗组和NBO治疗组孕鼠死亡率分别为0(0/26)和7.1%(2/28),均低于CO中毒组,差异均有统计学意义(P 均 <0.01); HBO治疗组孕鼠死亡率低于NBO治疗组,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 各组孕鼠产仔数量和仔鼠体质量比较 各组孕鼠生产后清点仔鼠数量并称仔鼠体质量,结果显示CO中毒后孕鼠产仔数量减少,仔鼠体质量降低,与对照组比较差异有统计学意义($P<0.01$)。经HBO治疗或NBO治疗后,孕鼠产仔数量和仔鼠体质量均增加,与CO中毒组比较差异均有统计学意义(P 均 <0.05);其中HBO治疗组效果更好,孕鼠产仔数量和仔鼠体质量均高于NBO治疗组(P 均 <0.05)。见表1。

2.3 各组仔鼠死亡率比较 各组仔鼠正常饲养3周后清查仔鼠存活数量,对照组333只仔鼠存活329只,CO中毒组209只仔鼠存活191只,HBO治疗组292只仔鼠存活289只,NBO治疗

组246只仔鼠存活239只。CO中毒组仔鼠死亡率(8.6%, 18/209)高于对照组(1.2%, 4/333),差异有统计学意义($P<0.01$); HBO治疗组和NBO治疗组仔鼠死亡率分别为1.0(3/292)和2.8%(7/246),均低于CO中毒组,差异均有统计学意义(P 均 <0.05); HBO治疗组仔鼠死亡率低于NBO治疗组,差异有统计学意义($P<0.05$)。

表1 各组孕鼠产仔数量和仔鼠体质量的比较

Tab 1 Comparison of litter sizes of pregnant rats and body mass of offspring in each group

Group	Pregnant rat		Offspring	
	n	Litter size	n	Body mass m/g
Control	30	11.1 $\pm$ 1.8	333	6.43 $\pm$ 0.84
CO	23	9.1 $\pm$ 2.1**	209	5.27 $\pm$ 1.02**
CO+HBO	26	11.2 $\pm$ 1.6 Δ	292	6.55 $\pm$ 1.13 Δ
CO+NBO	26	9.5 $\pm$ 1.6 Δ $\blacktriangle$	246	5.67 $\pm$ 1.04 Δ $\blacktriangle$

CO: Carbon monoxide; HBO: Hyperbaric oxygen; NBO: Normobaric oxygen. ** $P<0.01$ vs control group; $\Delta P<0.05$ vs CO group; $\blacktriangle P<0.05$ vs CO+HBO group

2.4 各组子代大鼠学习记忆能力比较 通过Morris水迷宫实验检测各组子代大鼠学习记忆能力,结果显示CO中毒后子代大鼠逃避潜伏期延长,与对照组比较差异有统计学意义($P<0.01$)。经HBO治疗或NBO治疗后,子代大鼠逃避潜伏期均缩短,与CO中毒组比较差异有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$);其中HBO治疗组效果更好,子代大鼠逃避潜伏期短于NBO治疗组($P<0.05$)。见表2。

表2 各组子代大鼠 Morris 水迷宫实验逃避潜伏期的比较

Tab 2 Comparison of escape latency in Morris water maze of offspring rats in each group

Group	$t/s, n=30, \bar{x}\pm s$				
	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d
Control	42.28 $\pm$ 5.78	35.32 $\pm$ 4.32	25.27 $\pm$ 4.73	19.54 $\pm$ 7.52	10.30 $\pm$ 5.48
CO	93.39 $\pm$ 8.27	75.51 $\pm$ 5.91**	61.68 $\pm$ 6.36**	43.71 $\pm$ 8.34**	33.53 $\pm$ 6.52**
CO+HBO	41.28 $\pm$ 7.85	35.19 $\pm$ 6.33 $\Delta\Delta$	23.23 $\pm$ 5.27 $\Delta\Delta$	17.08 $\pm$ 6.15 $\Delta\Delta$	9.66 $\pm$ 5.68 $\Delta\Delta$
CO+NBO	76.73 $\pm$ 7.61	63.52 $\pm$ 9.41 Δ $\blacktriangle$	46.43 $\pm$ 6.34 Δ $\blacktriangle$	27.32 $\pm$ 5.93 Δ $\blacktriangle$	18.54 $\pm$ 4.73 Δ $\blacktriangle$

CO: Carbon monoxide; HBO: Hyperbaric oxygen; NBO: Normobaric oxygen. ** $P<0.01$ vs control group; $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$ vs CO group; $\blacktriangle P<0.05$ vs CO+HBO group

3 讨论

CO中毒时采用HBO治疗可以显著提高机体血氧分压,促使体内CO快速排出,改善微循环,纠正机体缺氧状态,缓解脑水肿,促进已损伤神经元和神经胶质细胞修复,因此CO中毒后首

选HBO治疗已成为临床治疗共识^[6]。本研究发现CO中毒后未经治疗或仅进行NBO治疗的孕鼠死亡率分别为14.8%(4/27)和7.1%(2/28),而经HBO治疗的孕鼠死亡率为0,说明HBO治疗对于母体CO中毒疗效显著,而NBO对于急性CO中毒也有疗效,但与HBO治疗相比仍有差距。

研究发现 CO 中毒可使胎盘子面血管异常吻合,尤其以动-静脉畸形吻合为多^[7],易造成死胎及死产^[8],对胎儿出生后体格发育及智能发育也有较大影响^[7]。除缺氧所致损害外,CO 还对胎儿有直接毒性作用,可致胎儿死亡,或出生后遗有神经障碍等疾病^[9]。虽然研究已证实妊娠状态下 CO 中毒对胎儿发育有害,国外文献报道也多主张对急性 CO 中毒的孕妇实施足够疗程的 HBO 治疗^[10],但国内传统观念认为 HBO 可能对胎儿产生致畸作用^[2,9],因此妊娠期 CO 中毒的 HBO 治疗一直存在争议,部分患者甚至医师由于惧怕 HBO 对胎儿产生不良影响而不愿意或不主张行 HBO 治疗^[11],甚至部分 HBO 医学岗位培训教材仍将妊娠早期作为禁忌证或相对禁忌证^[3,12]。本研究通过观察孕鼠产仔数量、仔鼠体质量及子代大鼠学习记忆能力等评价 CO 中毒对子代大鼠的影响及 HBO 对其治疗作用,发现 CO 中毒可使孕鼠产仔数量减少,并可导致仔鼠体质量减轻,同时通过 Morris 水迷宫实验发现子代大鼠生长发育中学习记忆能力降低。有学者认为 HBO 治疗时间过久会发生视网膜损坏,可发生眼型氧中毒^[13],表现为晶状体后纤维组织增生、视网膜血管过快增生而引起失明,因此主张妊娠期 HBO 治疗的疗程不宜过长^[14]。本研究将 HBO 治疗贯穿于大鼠整个妊娠过程,HBO 治疗组仔鼠均未见畸形、失明等情况。肖平田和曹春妮^[15]研究也发现常规 HBO 治疗未对新生小鼠视网膜血管的正常生长产生影响,未诱发视网膜新生血管异常增生。目前临床上 HBO 广泛用于羊水过少、妊娠期高血压等的治疗,孕妇及胎儿也未见明显异常^[16-17]。

综上所述,本研究观察了 HBO 对急性 CO 中毒妊娠期大鼠的治疗作用及对子代大鼠学习记忆能力的影响,发现 HBO 对于急性 CO 中毒孕鼠有一定的治疗作用,对子代大鼠学习记忆能力也有改善作用,提示对于妊娠期合并 CO 中毒应当积极救治,进行有效的、足够疗程的 HBO 治疗。但本研究仅为动物实验结果,临床上应用 HBO 治疗妊娠期合并 CO 中毒患者时,仍需加强监护,减少孕妇和胎儿不良事件的发生。

[参考文献]

[1] 孟娟,张禹,杨晨,吕艳,潘晓雯. 高压氧综合治疗急性一氧化碳中毒并发症的诊治经验[J]. 中华航海医学与高

气压医学杂志,2011,18:320-322.

- [2] 楼方岑. 医疗护理技术操作常规[M]. 北京:人民军医出版社,1987:401.
- [3] 杨益. 高压氧治疗基础与临床[M]. 上海科学技术出版社,2005:169-170.
- [4] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 高压氧临床应用技术规范: WS/T 422-2013[S]. 北京:中国标准出版社,2013:3.
- [5] 樊恩雷. 高压氧治疗急性 CO 中毒的效果观察[J]. 中国急救医学,2016,36(z1):18-19.
- [6] ELKHARRAT D, RAPHAEL J C, KORACH J M, JARSGUINCESTRE M C, CHASTANG C, HARBOUN C, et al. Acute carbon monoxide intoxication and hyperbaric oxygen in pregnancy[J]. Intensive Care Med, 1991, 17: 289-292.
- [7] 陈素茹,张利平. 孕早期一氧化碳中毒后对胎盘及小儿的观察[J]. 中国优生与遗传杂志,1993,1:140-142.
- [8] 杨丽君,冯庆连,范奇,唐双德. 妊娠发生一氧化碳中毒3例[J]. 齐齐哈尔医学院学报,1999,20:312.
- [9] 房广才,潘晓雯. 正确处理一氧化碳中毒救治中的矛盾问题[J]. 中华航海医学与高气压医学杂志,2002,9: 145-146.
- [10] KOREN G, SHARAV T, PASTUSZAK A, GARRETTSON L K, HILL K, SAMSON I, et al. A multicenter, prospective study of fetal outcome following accidental carbon monoxide poisoning in pregnancy[J]. Reprod Toxicol, 1991, 5: 397-403.
- [11] 胡克翠,张晓琴,陈咏梅,张娜. 4例妊娠合并急性一氧化碳中毒的救治与护理[J]. 安徽医药,2011,15:1623-1624.
- [12] 卫生部医政司医用高压氧岗位培训中心. 高压氧在儿科及产科的应用[M]. 北京:人民军医出版社,2003: 151-158.
- [13] TORBATI D, PEYMAN G A, WAFAPOOR H, SHAI BANI S B, KHOUBEHI B. Experimental retinopathy by hyperbaric oxygenation[J]. Undersea Hyperb Med, 1995, 22: 31-39.
- [14] 李宁,黄怀. 高压氧临床治疗学[M]. 北京:中国协和医科大学出版社,2007:176.
- [15] 肖平田,曹春妮. 常规高压氧对新生小鼠视网膜影响的研究[J]. 医学临床研究,2008,25:119-121.
- [16] 刘晶影. 高压氧综合治疗未足月妊娠羊水过少的临床观察[J]. 中华航海医学与高气压医学杂志,2016,23:68-70.
- [17] 刘晶影,严倩. 高压氧综合治疗妊娠期高血压临床效果分析[J]. 中华航海医学与高气压医学杂志,2015,22: 403-405.

[本文编辑] 孙 岩