

## 缺氧损伤模型及抗缺氧药物筛选研究进展

张思岳<sup>1,2</sup>, 张惠雯<sup>1,2</sup>, 夏青<sup>1,2</sup>, 王荣春<sup>1,2</sup>, 张云<sup>1,2\*</sup>, 刘可春<sup>1,2\*</sup>

1. 齐鲁工业大学(山东省科学院), 山东省科学院生物研究所, 山东 济南 250103

2. 山东省人类疾病斑马鱼模型与药物筛选工程技术研究中心, 山东 济南 250103

**摘要:** 在临床上, 缺氧是引起机体损伤甚至导致机体死亡的最常见因素, 因此建立了一系列缺氧损伤模型, 如体外细胞模型上, 通过液态石蜡封闭法、厌氧袋产气法、混合气体培养法等方法建立缺氧损伤模型。在动物模型(如大、小鼠和斑马鱼模型)上, 通过混合气体培养法、钠石灰吸收法、动脉结扎法以及化学试剂处理建立缺氧损伤模型; 并通过检测缺氧后存活时间、酶学指标、血气指标、组织病理切片及缺氧相关因子的变化情况进行抗缺氧药物的筛选和评价。综述缺氧损伤模型及抗缺氧药物筛选的研究进展, 以期为临床治疗缺氧提供理论依据和参考。

**关键词:** 缺氧损伤; 细胞模型; 动物模型; 活性评价指标; 抗缺氧药物; 药物筛选

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2023)09-2037-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.09.027

## Research progress of hypoxic injury model and anti-hypoxic drug screening

ZHANG Siyue<sup>1,2</sup>, ZHANG Huiwen<sup>1,2</sup>, XIA Qing<sup>1,2</sup>, WANG Rongchun<sup>1,2</sup>, ZHANG Yun<sup>1,2</sup>, LIU Kechun<sup>1,2</sup>

1. Biology Institute of Shandong Academy of Sciences, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Jinan 250103, China

2. Engineering Research Center of Zebrafish Models for Human Diseases and Drug Screening of Shandong Province, Jinan 250103, China

**Abstract:** In clinical practice, hypoxia is the most common factor that causes organism injury or even leads to organism death. Therefore, research workers have established a series of hypoxic injury models, such as *in vitro* cellular models, by liquid paraffin closure method, anaerobic bag gas production method, mixed gas culture method and other methods to establish hypoxic injury models. On animal models such as rat and mouse and zebrafish models, hypoxic injury models were established by mixed gas incubation method, sodium-lime absorption method, arterial ligation method and chemical reagent treatment. And the anti-hypoxic drugs were screened and evaluated by detecting the survival time, enzymatic indexes, blood gas indexes, histopathological sections and changes of hypoxia-related factors after hypoxia. Research progress of hypoxic injury model and anti-hypoxic drug screening were summarized, in order to provide theoretical basis and reference for clinical treatment of hypoxia.

**Key words:** hypoxic injury; cellular model; animal model; activity evaluation index; anti-hypoxic drugs; drug screening

缺氧是指机体内组织或细胞因氧气供应不足或产生用氧障碍, 从而导致组织或细胞的形态结构、生理功能及代谢等发生异常变化的病理过程<sup>[1]</sup>。缺氧对机体器官的影响取决于缺氧持续时间、机体的状态以及缺氧发生的程度, 机体对缺氧会产生代偿性反应。慢性轻度缺氧时, 机体组织主要靠增加

利用氧和血液运输氧的能力来适应慢性缺氧, 如红细胞数目增加、组织细胞内线粒体的数目和膜的表面积增加等; 急性缺氧时, 机体则是以呼吸系统和循环系统的代偿反应为主, 如肺通气量增加、心输出量增加等<sup>[2]</sup>。严重缺氧时, 机体来不及完成代偿反应, 组织细胞和器官发生严重的缺

收稿日期: 2023-03-21

基金项目: 泰山学者工程资助项目(tsqn202211204); 山东省优秀青年人才基金项目(ZR2020YQ60); 济南市“高校20条”资助项目(2021GXRC047, 2020GXRC053)

第一作者: 张思岳(1998—), 女, 硕士, 研究方向为基于斑马鱼模型的药物活性筛选与安全性评价。E-mail: zhangsiyue1998@163.com

\*共同通信作者: 张云(1982—), 女, 博士, 研究员, 研究方向为药物活性筛选与安全性评价。E-mail: xiaohan\_0818@163.com

刘可春(1964—), 男, 博士, 研究员, 研究方向为药物筛选。E-mail: hliukch@sdas.org

氧性损伤和功能障碍,甚至导致机体死亡<sup>[2]</sup>。在临床上,缺氧是引起各科疾病甚至导致机体死亡的最常见的也是最主要的因素,因此该领域也逐渐受到关注和重视。

理想的缺氧损伤实验模型是深入研究缺氧病理过程和探究缺氧防治方法的重要基础。历年来,研究工作者们采用体外细胞模型和动物模型,通过模拟各种缺氧环境构建缺氧模型,并不断地进行缺氧损伤模型的优化,基于此进行抗缺氧药物活性筛选与作用机制研究,以期阐明缺氧病理过程,探索有效的临床缺氧的治疗手段。目前已有较多关于缺氧损伤模型的文献报道,本文将缺氧损伤模型从体外细胞模型及动物模型两个方面进行综述,对模型构建原理、应用、优缺点等进行总结,并系统阐述了抗缺氧损伤活性的评价指标,以期为研发抗缺氧药物提供理论依据。

## 1 体外细胞缺氧模型及抗缺氧药物筛选

### 1.1 物理缺氧模型

**1.1.1 液体石蜡封闭法** 液体石蜡是无色半透明油状液体,不溶于水,加入细胞培养基中可漂浮在培养基表面,隔绝空气与培养基的氧气交换,造成培养基的缺氧环境,建立体外缺氧细胞模型。曾文静等<sup>[3]</sup>向接种大鼠 H9c2 心肌细胞的培养基中加入高温灭菌后的液体石蜡,分别封闭 2、4、8、12 h 后,检测细胞活性氧自由基含量和细胞凋亡情况。结果发现缺氧 12 h 时,细胞活性氧自由基含量和细胞凋亡率最高,确定缺氧 12 h 为建立缺氧模型的最佳缺氧时间。陈克芳等<sup>[4]</sup>将培养 3 d 的乳鼠心肌细胞置于不含糖和血清的 DMEM 溶液中,采用石蜡封闭法使细胞缺氧 2 h,再复氧 1 h 建立心肌细胞缺氧复氧模型。用不同浓度(0.004 9、0.049 0、0.490 0 g·L<sup>-1</sup>)的山茱萸总苷进行干预,结果发现山茱萸总苷可以抑制细胞 cleaved caspase-9 的表达,从而阻断缺氧引起的细胞凋亡通路发挥抗缺氧损伤作用。

**1.1.2 厌氧袋产气法** 厌氧袋产气法是参照厌氧微生物的培养方法而建立的缺氧模型,其原理是将密闭环境中的 O<sub>2</sub> 完全或部分吸收掉,并产生 CO<sub>2</sub>,形成密闭缺氧环境,建立细胞缺氧模型。目前实验室中应用较多的为美国 Thermo Scientific Oxoid 公司生产的 Anaero Gen 厌氧包、日本三菱公司生产的 Anaero Pack 厌氧包。任萍等<sup>[5]</sup>采用了日本三菱公司的 Anaero Pack 厌氧产气袋,将产气袋与接种有 H9c2 细胞的无糖培养基一起放入密闭缺氧盒中进行 8 h 缺氧造模,检测发现此条件下细胞活力为

50%,缺氧造模成功。缺氧完成后更换培养基进行 12 h 复氧复糖,研究木犀草素调控脂氧合酶途径抗 H9c2 心肌细胞缺氧缺糖复氧复糖损伤的分子机制。聂芳等<sup>[6]</sup>采用 Genbag 厌氧袋和无糖无血清培养基处理对数生长期的人正常肝细胞 LO2,使细胞处于缺氧状态;缺氧后再将无糖无血清培养基替换为正常培养基,形成复氧环境,通过检测细胞活力和肝损伤指标丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、超氧化物歧化酶(SOD)等验证模型可行性,成功建立了操作简单、成模快速、结果稳定的肝缺血再灌注损伤细胞模型。

**1.1.3 混合气体培养法** 混合气体培养法是按一定比例混合 O<sub>2</sub>、CO<sub>2</sub> 和惰性气体(如 N<sub>2</sub>),通入密闭的三气培养箱或密闭培养盒中形成缺氧环境,建立细胞缺氧模型。该方法操作安全简便、稳定性好,被广泛应用于缺氧研究。赵玲琳等<sup>[7]</sup>在探讨麦冬皂苷 D 对心肌细胞缺氧复氧损伤的保护作用时,采用了 94%N<sub>2</sub>、5%CO<sub>2</sub>、1%O<sub>2</sub> 混合气体来处理心肌细胞缺氧 11 h 后,置于正常条件下复氧 4 h,结果发现与对照组比较,缺氧组乳酸脱氢酶(LDH)和丙二醛(MDA)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)和白细胞介素 1β(IL-1β)表达量、细胞凋亡率均显著升高,SOD 活性明显下降;与缺氧组比较,麦冬皂苷 D 给药组上述指标均发生了逆转,表明麦冬皂苷 D 对心肌细胞缺氧复氧损伤具有保护作用。万浩宇等<sup>[8]</sup>采用充满 95%N<sub>2</sub>、4%CO<sub>2</sub>、1%O<sub>2</sub> 混合气体的培养箱处理乳鼠海马神经元细胞 3 h,通过检测细胞凋亡情况、SOD 和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性,来评价黄芪和川芎有效成分配伍对缺氧损伤的保护作用。结果发现黄芪和川芎有效成分配伍能减轻缺氧导致的细胞凋亡,提高 SOD 和 GSH-Px 活性,表明其能有效改善缺氧导致的细胞损伤。Li 等<sup>[9]</sup>采用 94% N<sub>2</sub>、5% CO<sub>2</sub>、1% O<sub>2</sub> 混合气体培养箱培养 H9c2 细胞来构建缺氧模型,用 300 μg·mL<sup>-1</sup> 枸杞多糖处理 H9c2 细胞,正常条件下 5%CO<sub>2</sub> 和 95% 空气培养的 H9c2 细胞为空白对照组。结果发现枸杞多糖可以提高缺氧损伤 H9c2 细胞的存活率,通过抑制 miR-122 的过表达发挥抗缺氧损伤作用。王梦杰<sup>[10]</sup>将 H9c2 细胞置于低氧培养箱(94%N<sub>2</sub>、5%CO<sub>2</sub>、1%O<sub>2</sub>)中缺氧 24 h 作为缺氧模型组,治疗组细胞预先置于 50 μg·mL<sup>-1</sup> 黑果枸杞花青素中孵育 12 h,再进行低氧处理 24 h,另设空白对照组,不进行任何处理。结果发现黑果枸杞花青素可通过上调 mRNA 和蛋白表达,促进 H9c2 大鼠心肌细胞增殖进而提高 H9c2 大鼠心肌细

胞低氧适应性,发挥对低氧诱导的H9c2大鼠心肌细胞的保护作用。

## 1.2 化学缺氧模型

**1.2.1 氯化钴( $\text{CoCl}_2$ )缺氧损伤模型**  $\text{CoCl}_2$ 中的钴离子( $\text{Co}^{2+}$ )可以取代血红蛋白中的亚铁离子,从而使血红蛋白的携氧能力降低,造成缺氧。翁苓苓等<sup>[11]</sup>用 $200\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{CoCl}_2$ 处理人肝癌细胞不同时间后,观察不同处理时间后细胞中血管内皮生长因子(VEGF)mRNA和缺氧诱导因子(HIF-1 $\alpha$ )蛋白表达情况,结果发现 $\text{CoCl}_2$ 处理24 h后VEGF mRNA表达水平最高,且HIF-1 $\alpha$ 蛋白能稳定进行表达,因此选择 $\text{CoCl}_2$ 处理细胞24 h建立缺氧损伤模型。Tang等<sup>[12]</sup>使用 $300\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $\text{CoCl}_2$ 诱导PC12细胞制备缺氧模型,用不同浓度( $5$ 、 $10$ 、 $20\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )的红景天苷进行干预,结果发现红景天苷可抑制 $\text{CoCl}_2$ 缺氧诱导的细胞凋亡,提高细胞中SOD和GSH-Px活性。表明红景天苷可以改善 $\text{CoCl}_2$ 诱导的细胞缺氧损伤,具有抗缺氧作用。马春秀等<sup>[13]</sup>利用三气培养箱( $5\%\text{ CO}_2$ 、 $2\%\text{ O}_2$ 、 $93\%\text{ N}_2$ )建立H9c2心肌细胞缺氧8 h、复氧4 h模型,设置空白组、缺氧模型组和八味沉香散低中高剂量组,研究八味沉香散血清对心肌细胞的保护作用。利用细胞计数试剂盒(CCK-8)法测定细胞存活率、微板法和酶联免疫吸附实验(ELISA)法检测缺氧复氧后细胞培养上清液中LDH和磷酸肌酸激酶(CK)活性。与模型组比较,含药血清低、中、高剂量组细胞存活率均明显升高,且中剂量组LDH显著降低,中、高剂量组CK显著降低( $P<0.05$ ),说明八味沉香散血清对H9c2心肌细胞缺氧复氧损伤具保护作用。宫佰会等<sup>[14]</sup>将H9c2细胞置于三气培养箱( $5\%\text{ CO}_2$ 、 $2\%\text{ O}_2$ 、 $93\%\text{ N}_2$ )进行缺氧8 h处理,空白组和缺氧模型组加入空白血清,给药组加入不同浓度( $2.5$ 、 $8$ 、 $12\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )的八味沉香散含药血清。通过检测细胞凋亡情况、细胞中活性氧(ROS)含量、生化指标(如LDH、CK、MDA等)、氧化应激相关蛋白,如核转录因子E2相关因子2(Nrf2)和硫氧还蛋白(Trx)以及凋亡相关蛋白(Bax、Caspase-3)的表达,对八味沉香散含药血清的抗缺氧保护机制进行研究。与空白组比较,缺氧模型组细胞凋亡率显著升高,ROS、LDH和MDA含量显著上升,Nrf2、Trx、Bax、Caspase-3表达水平均升高。给予八味沉香散含药血清后,上述指标升高趋势被逆转,表明八味沉香散含药血清可能通过降低细胞氧化损伤、抑制细胞凋亡来发挥抗缺氧损伤作用。

**1.2.2 连二亚硫酸钠( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ )损伤模型**  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$

属于强还原剂,可通过阻断细胞利用氧的途径导致缺氧,建立细胞缺氧损伤模型。封亮等<sup>[15]</sup>采用 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 处理H9c2心肌细胞,建立心肌细胞缺氧损伤模型,研究赤芍萜苷组分抗缺氧损伤的活性成分。楚冬海等<sup>[16]</sup>采用 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 处理大鼠H9c2心肌细胞建立缺氧模型,结果发现与对照组比较, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 缺氧模型组细胞凋亡率、MDA含量、Bax蛋白表达水平均显著升高,SOD活性、B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)蛋白表达水平显著降低。给予不同剂量的瓜蒌皮提取物,上述指标变化均被逆转,表明瓜蒌皮提取物对缺氧损伤心肌细胞具有一定的保护作用。王丹等<sup>[17]</sup>将小鼠海马神经元HT22细胞进行分组培养,设为空白对照组(无细胞+完全培养基),正常对照组(细胞+完全培养基)和实验组(细胞+完全培养基+ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ )共3组,用不同浓度( $0.5$ 、 $1.0$ 、 $2.0$ 、 $4.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 处理HT22细胞,进行缺氧培养1 h、复氧24 h后,倒置相差显微镜观察细胞形态变化,CCK-8法检测细胞存活率,取细胞培养基上清液检测LDH含量。结果发现,与正常对照组比较,上清液中LDH含量随 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 浓度的增加而增多,且细胞形态损伤加重。以上表明利用 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 可以有效建立细胞缺氧复氧损伤模型。

**1.2.3 叠氮钠损伤模型** 叠氮钠( $\text{NaN}_3$ )可抑制细胞线粒体氧化呼吸链的细胞色素C氧化酶(COX),导致线粒体氧化磷酸化异常,造成细胞缺氧损伤。关付等<sup>[18]</sup>用不同浓度( $0.1\sim10.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) $\text{NaN}_3$ 处理大鼠心肌细胞0~12 h,通过检测心肌细胞活力来确定最佳浓度,结果发现 $1.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{NaN}_3$ 孵育心肌细胞3 h可导致细胞发生凋亡,建立了心肌细胞缺氧损伤模型。

## 2 动物缺氧模型及抗缺氧药物筛选

### 2.1 物理缺氧模型

**2.1.1 常压缺氧模型** 常压缺氧是将实验对象置于常压缺氧状态下,常用的方法是实验动物给予 $\text{O}_2$ 、 $\text{CO}_2$ 和 $\text{N}_2$ 混合气体,以达到缺氧效果。

(1)小鼠模型:董晓敏等<sup>[19]</sup>通过向密闭培养箱中充入氮气降低箱中氧气浓度构建常压缺氧模型,将小鼠分为常压对照组(生理盐水 $0.3\text{ mL}\cdot10\text{ g}^{-1}$ )、常压缺氧组、常压乌拉坦组( $5\%$ 乌拉坦 $0.3\text{ mL}\cdot10\text{ g}^{-1}$ )和常压咖啡因组( $0.5\%$ 咖啡因 $0.3\text{ mL}\cdot10\text{ g}^{-1}$ ),均ip给药,检测小鼠在缺氧环境中的耐受时间。结果发现,与常压缺氧组比较,常压乌拉坦组小鼠耐受时间延长,常压咖啡因组小鼠耐受时间缩短。

(2)斑马鱼模型:Lee等<sup>[20]</sup>通过向密封室中进行



氮气灌流制造缺氧平衡液,将成年斑马鱼分为空白对照组、缺氧组和氨基葡萄糖预孵育组。空白组不进行任何处理,缺氧组直接移入缺氧平衡液中,氨基葡萄糖组成年斑马鱼预先暴露在 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 氨基葡萄糖中孵育12 h后再移入缺氧平衡液中。结果发现氨基葡萄糖预孵育可以提高缺氧斑马鱼的存活率,抑制低氧诱导的斑马鱼脑内一氧化氮合酶2(NOS2 $\alpha$ )和核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)的表达。Ma等<sup>[21]</sup>将斑马鱼分为低蛋白、高蛋白、低脂、高脂、低碳水和高碳水饲料组,连续饲养7周后,每组随机挑选20条进行急性缺氧实验,通过向养鱼水中通入氮气建立低氧环境,结果发现高碳水组斑马鱼存活率显著高于缺氧组,表明高碳水化合物饮食可以提高斑马鱼对急性缺氧的抵抗力。

**2.1.2 低压缺氧模型** 高原低压低氧的环境易使机体因氧供应不足产生缺氧损伤。因此,建立模拟高原环境的低压缺氧模型,对于研发高原缺氧损伤防治药物极为重要。低压缺氧最常用的方法是将实验模型放入盛有新鲜钠石灰的广口瓶中,然后密封。实验动物呼吸消耗氧气,致使瓶内氧气减少,呼出的 $\text{CO}_2$ 又被钠石灰吸收,密闭容器中的气体不断减少,氧分压不断降低,形成缺氧环境。此方法简便易行,因此用于多种抗缺氧药物实验中。Long等<sup>[22]</sup>在研究冬虫夏草抗缺氧作用信号通路时就采用了此方法,将冬虫夏草冷冻干燥后研磨成粉,溶于0.5%羧甲基纤维素钠中,设置低、中、高给药( $1.25$ 、 $2.50$ 、 $5.00\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )组,小鼠ig给药,另设阴性对照组给予等体积的羧甲基纤维素钠,每天给药1次,连续给药30 d。最后1次给药后1 h,将小鼠放入含有250 g新鲜石灰钠的100 mL广口瓶中,每次1只,将瓶口用软木塞塞住,并涂抹凡士林密封,观察并记录密封时间直至小鼠停止呼吸,结果发现冬虫夏草可以延长小鼠的窒息时间。

还可通过低压氧舱建立高原低压缺氧模型。张明霞等<sup>[23]</sup>采用低压氧舱模拟海拔4 010 m和海拔6 000 m高度的高原环境,构建大鼠缺氧环境。任晓霞等<sup>[24]</sup>将大鼠分为常压常氧组、低压缺氧组和金丝桃提取物低、中、高剂量( $100$ 、 $200$ 、 $400\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )组,连续ig给药7 d后,将大鼠置于低压氧舱中,模拟海拔7 500 m处的缺氧环境,通过检测大鼠脑组织病理学变化和氧化应激及炎症因子指标,来探讨贯叶金丝桃提取物对缺氧大鼠高原脑水肿的改善作用。结果发现,贯叶金丝桃提取物能改善缺氧大鼠脑部组织的病理损伤,降低细胞空化程度,降低脑组织

中MDA、TNF- $\alpha$ 含量,表明贯叶金丝桃提取物对缺氧大鼠有一定的改善作用。Nan等<sup>[25]</sup>利用低压氧舱模拟海拔4 500 m处低压低氧环境,将大鼠分为空白对照组、模型组和不同浓度( $62.5$ 、 $125$ 、 $250\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )红景天组,通过检测大鼠平均肺动脉压(mPAP)、右心室指数和内侧血管厚度等指标,评价红景天活性成分对慢性缺氧大鼠的保护作用。结果发现,红景天活性成分可通过降低缺氧大鼠mPAP、右心室壁厚和肺小动脉血管壁厚,发挥抗缺氧活性。闫佳怡等<sup>[26]</sup>将大鼠分为空白对照组、模型组、乙酰唑胺阳性对照组( $30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )和复方丹参滴丸( $72.9\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,溶于蒸馏水)组,对照组和模型组ig给予等量蒸馏水,每天1次,连续7 d。在末次给药后1 h,将大鼠置于模拟海拔5 000 m缺氧环境的低压氧舱中,检测血氧饱和度、氧分压、心肌组织病理切片及SOD和MDA含量变化,发现复方丹参滴丸能增加大鼠的血氧饱和度和氧分压,改善缺氧导致的大鼠心肌纤维水肿及细胞空泡化,降低MDA含量,升高SOD含量。表明复方丹参滴丸能减轻缺氧导致的机体损伤。

**2.1.3 循环性缺氧模型** 该缺氧模型是使实验动物的组织血流量减少,从而使组织氧供应减少造成缺氧,常用的方法是断头缺氧和动脉结扎缺氧。王圣佳等<sup>[27]</sup>将大鼠颈总动脉及颈外动脉近心端进行结扎,阻断供血,使组织氧供应减少从而制备缺氧模型。造模结束后ip积雪草苷 $10$ 、 $20\text{ m}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,对照组和模型组ip等体积0.9%NaCl注射液,每日注射1次,连续14 d。结果发现与缺氧组比较,积雪草苷治疗组大鼠脑部组织病理学损伤减轻,SOD和过氧化氢酶(CAT)活性增加,MDA表达水平降低,表明积雪草苷对大鼠缺血再灌注脑部组织损伤具有保护作用。张爽等<sup>[28]</sup>将小鼠分为对照组和复方人参合剂给药低、中、高剂量( $20$ 、 $40$ 、 $60\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )组,给药体积为 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,对照组ig给予0.5%羧甲基纤维素钠。连续给药7 d后,检测小鼠在常压缺氧模型(钠石灰吸收法)、亚硝酸钠中毒缺氧模型和断头缺氧模型中的耐缺氧时间,结果发现在3种不同缺氧模型实验中,复方人参合剂均可以显著延长小鼠的耐缺氧时间,且呈剂量相关。

## 2.2 化学缺氧模型

**2.2.1 血液性缺氧模型** 血液性缺氧常是由化学试剂导致血红蛋白发生数量和性质变化,导致携氧能力降低或与血红蛋白结合的氧无法释放而引起的组织缺氧。常用的造模化合物有亚硝酸钠、氯化钴等。张嵘彬等<sup>[29]</sup>将小鼠分为模型组、阳性药(红

景天  $0.063 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  组和珍珠菜提取物治疗 ( $0.735 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) 组, ip 亚硝酸钠后发现珍珠菜提取物可以延长小鼠的窒息时间, 提高心肌和脑组织中 SOD 和 GSH-Px 活性, 表明珍珠菜提取物可以增强小鼠的缺氧耐受性, 具有抗缺氧作用。王冲等<sup>[30]</sup>将小鼠分为对照组和复方红景天片低、中、高剂量 ( $1.96$ 、 $2.94$ 、 $4.41 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 组, 对照组 ig 等体积纯水, 每天 1 次, 连续 30 d。在末次 ig 给药 1 h 后, 按  $220 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量 ip 亚硝酸钠  $0.01 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$  使小鼠中毒缺氧, 并记录各组鼠死亡时间来评价复方红景天片的耐缺氧及抗疲劳作用, 结果发现复方红景天片可以有效延长小鼠的存活时间。除了亚硝酸钠外, 亚硫酸钠也被用来构建缺氧模型。Marino 等<sup>[31]</sup>在进行化学缺氧和气体缺氧作为斑马鱼全脑缺血模型比较时, 采用向水中加入  $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的亚硫酸钠, 静置至水中溶解氧含量低于  $0.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 从而构建斑马鱼化学缺氧模型。

**2.2.2 组织性缺氧模型** 组织性缺氧是指组织细胞的生物氧化过程发生障碍, 不能有效利用氧而导致的组织细胞缺氧。常用造模化合物有异丙肾上腺素和氰化物。焦杰等<sup>[32]</sup>给大鼠 ip 异丙肾上腺素  $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  制造心肌缺血缺氧模型, 研究不同剂量 ( $154$ 、 $308$ 、 $616 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 延丹胶囊对大鼠心肌缺血的治疗作用及作用机制。结果发现延丹胶囊可以改善异丙肾上腺素引起的心肌细胞损伤, 降低 MDA、HIF-1 $\alpha$  和 TNF- $\alpha$  表达水平。魏珍珍等<sup>[33]</sup>将小鼠头面部和胸部脱毛处理后, 头面部和胸前区涂抹苏艾冰精油, 单次涂抹给药剂量为  $0.05 \text{ mL} \cdot \text{cm}^{-2}$ , 低剂量组给药 1 次, 高剂量组间隔 30 min 给药 2 次, 空白对照组和异丙肾上腺素模型组在相同位置涂抹等量蒸馏水。在末次给药 10 min 后, 除空白组外, 其余各组均 ip 异丙肾上腺素 ( $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 进行苏艾冰精油的抗缺氧作用研究。结果发现苏艾冰精油可以显著增加缺氧小鼠的存活时间。氰化物进入机体可以析出氰离子, 与线粒体内氧化酶的三价铁结合, 阻碍氧化酶中的三价铁还原, 妨碍细胞的正常呼吸, 造成组织缺氧。马慧萍等<sup>[34]</sup>在进行大苞雪莲有效成分的抗缺氧药效学研究时, 按  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量给小鼠 ip 氰化钾构建缺氧模型, 观察缺氧小鼠存活时间, 结果发现大苞雪莲石油醚部位可显著延长缺氧小鼠的存活时间, 具有显著的抗缺氧活性。

### 3 抗缺氧活性评价指标

#### 3.1 缺氧后存活时间

根据缺氧模型以及实验动物的不同, 检测缺氧

后存活时间的方法也有所不同。大、小鼠窒息时间可按缺氧方法不同分为以下几类: 进入低压缺氧环境中至呼吸停止的时间、注射化学药物后至呼吸停止时间、断头或夹闭气管至呼吸停止时间。李淑惠等<sup>[35]</sup>在进行复方人参片的耐缺氧和抗疲劳研究时, 建立了不同的小鼠缺氧模型, 并对小鼠窒息时间进行了统计。斑马鱼窒息时间是斑马鱼缺氧模型常用的检测指标之一, 为斑马鱼进入缺氧培养水中出现身体失衡 (身体侧翻并维持 30 s) 的时间<sup>[36]</sup>。

#### 3.2 酶学指标

缺氧会引起机体的氧化应激反应, 导致与氧化应激相关指标如 MDA、SOD、乳酸 (LAC)、乳酸脱氢酶、CAT 等表达发生变化。因此在进行药物抗缺氧活性评价时, 可以通过测定这些相关指标的变化来评价药物的抗缺氧药效。

马亚中等<sup>[37]</sup>采用钠石灰吸收法构建小鼠缺氧模型, 预先使用不同剂量 ( $0.78$ 、 $1.56$ 、 $3.12 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 的抗高原病方连续给药 15 d, 检测了小鼠心脏和脑组织中 MDA、SOD 等指标表达变化情况, 以此来进行抗高原病方的抗缺氧活性研究。结果发现与对照组比较, 抗高原病方组心脏和脑组织中的 MDA、SOD 表达明显上调, 表明抗高原病方能提高机体的抗缺氧能力。康林之等<sup>[38]</sup>通过检测小鼠 LAC、血尿素氮 (BUN)、肝糖原 (LG) 以及脑组织中谷氨酸 (Glu) 等指标, 评价仙鹤草不同提取物的抗缺氧活性。结果发现, 与空白组比较, 缺氧组 LAC 和 BUN 含量显著升高, LG、Glu 含量和小鼠存活时间显著降低。仙鹤草正丁醇提取物和醋酸乙酯提取物可显著降低 LAC 和 BUN 含量, 增加 LG 含量, 延长小鼠存活时间。这表明仙鹤草的正丁醇和醋酸乙酯提取物可能是其抗缺氧的主要有效成分。

#### 3.3 血气指标

对实验动物进行缺氧前后的血气分析, 检测动脉血氧分压、动脉血氧饱和度等变化。张明霞等<sup>[23]</sup>在进行高原缺氧对血脑屏障中药物转运蛋白的影响研究时, 采集大鼠腹主动脉血, 用血气分析仪测定动脉血氧分压 ( $p\text{O}_2$ )、动脉血氧饱和度 ( $s\text{O}_2$ )、动脉血二氧化碳分压 ( $p\text{CO}_2$ ) 等血气指标, 结果发现随着海拔高度升高, 缺氧组  $p\text{O}_2$ 、 $s\text{O}_2$ 、 $p\text{CO}_2$  显著降低。

#### 3.4 组织形态学

通过观察缺氧动物脑组织切片, 评价缺氧损伤程度。如张明霞等<sup>[23]</sup>取缺氧大鼠脑组织进行病理切片, 发现缺氧大鼠脑组织血管周围生成间隙, 海马组织的锥体细胞排列紊乱, 神经元细胞发生变性

和核固缩等损伤。

### 3.5 缺氧相关因子

采用蛋白质印迹(Western blotting)法、实时荧光定量PCR等检测HIF-1 $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B、丝裂原活化蛋白激酶(MAPKs)等在蛋白或mRNA水平上的表达情况。Xu等<sup>[39]</sup>对低氧暴露28 d的大鼠给予白藜芦醇40 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>进行治疗,利用Western blotting法检测大鼠肺组织中HIF-1 $\alpha$ 、核因子红细胞-2相关因

子2(Nrf-2)和硫氧还蛋白-1(Trx-1)的表达情况,通过PCR法对大鼠体内炎症因子IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 等进行检测,结果发现白藜芦醇可以提高Nrf-2和Trx-1的表达,抑制HIF-1 $\alpha$ 及炎症因子的表达,表明白藜芦醇可能通过抗炎和抗氧化途径减轻缺氧引起的肺部损伤。

综上所述,本文对近年来构建的缺氧模型进行总结,见表1、2。

表1 缺氧细胞模型原理及优缺点比较

Table 1 Principle of hypoxia cell model and comparison of advantages and disadvantages

| 项目 | 物理缺氧模型              |                                          |               | 化学缺氧模型                              |                                                    |                       |
|----|---------------------|------------------------------------------|---------------|-------------------------------------|----------------------------------------------------|-----------------------|
|    | 液体石蜡封闭法             | 厌氧袋产气法                                   | 混合气体培养法       | CoCl <sub>2</sub> 损伤模型              | Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>4</sub> 损伤模型 | NaN <sub>3</sub> 损伤模型 |
| 原理 | 隔绝培养基液面与外界氧气接触      | 通过厌氧菌吸收O <sub>2</sub> 转化为CO <sub>2</sub> | 灌入混合气体,营造缺氧环境 | 取代血红素中的Fe <sup>2+</sup> ,降低血红蛋白携氧能力 | 强还原剂,吸收空气中的氧气                                      | 阻断细胞氧化呼吸链             |
| 优点 | 安全无毒,缺氧环境稳定         | 安全无毒,操作方便,重复性高                           | 操作方便,结果准确     | 缺氧迅速,效果好,操作简便                       | 缺氧迅速,效果好,操作简便                                      | 缺氧迅速,效果好,操作简便         |
| 缺点 | 液态石蜡难以清洗,显微镜下影响观察效果 | 难以精确判断密闭缺氧盒中氧气含量                         | 仪器价格高         | 试剂有毒,对浓度要求高                         | 试剂有毒,对浓度要求高                                        | 试剂有毒,对浓度要求高           |

表2 缺氧动物模型原理、方法及优缺点比较

Table 2 Principles, methods, advantages and disadvantages of hypoxia model

| 项目 | 物理缺氧模型           |                             |                      | 化学缺氧模型                                     |                              |
|----|------------------|-----------------------------|----------------------|--------------------------------------------|------------------------------|
|    | 常压缺氧模型           | 低压缺氧模型                      | 循环性缺氧模型              | 血液性缺氧模型                                    | 组织性缺氧模型                      |
| 原理 | 降低氧分压导致实验对象摄入氧不足 | 实验对象组织血流量减少导致组织氧供应不足        | 实验对象组织血流量减少导致组织氧供应不足 | 化学试剂导致血红蛋白发生数量和性质变化,导致携氧能力降低或与血红蛋白结合的氧无法释放 | 化学试剂使组织细胞的生物氧化过程发生障碍,不能有效利用氧 |
| 方法 | 充入高纯氮气           | 将实验动物放入盛有新鲜钠石灰的密闭广口瓶中模拟缺氧环境 | 动脉结扎或颈后断头或动脉夹夹闭气管    | 亚硝酸钠、氯化钴、连二亚硫酸钠处理                          | 异丙肾上腺素ip或氰化物iv               |
| 对象 | 斑马鱼、小鼠           | 小鼠                          | 小鼠                   | 斑马鱼、小鼠                                     | 小鼠                           |
| 优点 | 操作简便重复性高         | 操作简单易行                      | 缺氧迅速                 | 缺氧迅速、稳定、可靠性好                               | 缺氧迅速、稳定、可靠性好                 |
| 缺点 | 气体流量难保持恒定,可靠性低   | 难以控制瓶中氧气含量                  | 缺氧效果不持久,存在伦理争议       | 对浓度有较高要求,不易确定最佳剂量                          | 对浓度有较高要求,不易确定最佳剂量            |

## 4 结语

氧气的获取利用过程十分复杂,涉及多种生物过程和系统,任何一个环节出现问题都可能导致机体出现缺氧。在临床上,缺氧表现出的病理特征不是单一的缺氧特征,而是多种因素导致的混合型缺氧。按照缺氧模型实验对象的不同对现有的缺氧模型进行了综述,将其划分为体外细胞模型和动物模型,并从构建缺氧环境的方法分为物理缺氧模型和化学缺氧方法两个方进行陈述。结果发现现有的缺氧模型,大多为单一缺氧模型,不足以充分反映临床环境中真实的缺氧发病机制。因此制备

复杂因素叠加诱导的缺氧模型,模拟接近于临床环境,对于研究临床缺氧的发病机制以及研发筛选更安全、高效的抗缺氧新药有重要意义。

在对抗缺氧药物筛选和活性评价实验进行综述时,发现多种皂苷类、黄酮类等源于中药的天然化合物、单味或复方中药提取物具有良好的抗缺氧活性,具备安全性高、不良反应小等特点,具有较大的开发潜力。同时,综述时也发现现有的抗缺氧药物筛选和评价实验也存在有待改进的地方,如评价抗缺氧活性的指标较为单一且重复性高;抗缺氧作用机制研究层次较浅,不够深入;缺氧相关临床试



验研究较少等。因此,构建接近于临床环境的缺氧模型,深入研究与开发抗缺氧药物对临床治疗缺氧有积极的现实意义。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 何纤. 苦马豆素对小鼠抗缺氧及认知障碍的影响 [D]. 吉首: 吉首大学, 2021.  
He X. Effects of swainsonine on anti-hypoxia and cognitive impairment in mice [D]. Jishou: Jishou University, 2021.
- [2] 李臣亮. 白囊耙齿菌水提物的抗疲劳、耐缺氧活性及其颗粒剂制备的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2015.  
Li C L. Study on the anti-fatigue and hypoxia tolerance activities of *Irpex lacteus* aqueous extracts and its granule preparation [D]. Changchun: Jilin University, 2015.
- [3] 曾文静, 刘菊英, 柯昌斌. 液体石蜡封闭法建立大鼠心肌细胞缺氧/复氧损伤模型 [J]. 邵阳医学院学报, 2010, 29(2): 108-110, 94.  
Zeng W J, Liu J Y, Ke C B. Establishment of myocardial hypoxia/reoxygenation injury model in rat with liquid paraffin covering method [J]. J Yunyang Med Coll, 2010, 29(02): 108-110, 94.
- [4] 陈克芳, 潘爱珍, 侯祥平. 山茱萸总苷对急性缺氧乳鼠心肌细胞凋亡通路的影响 [J]. 中药药理与临床, 2014, 30(6): 54-57.  
Chen K F, Pan A Z, Hou X P. Effect of total glycosides from *Cornus officinalis* on myocardial apoptosis pathway in suckling mouse with acute hypoxia [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2014, 30(6): 54-57.
- [5] 任萍, 曹俊岭, 林珀吏, 等. 基于分子对接技术探讨木犀草素调控脂氧合酶途径抗H9c2心肌细胞缺氧缺糖/复氧复糖损伤的分子机制 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(21): 5665-5673.  
Ren P, Cao J L, Lin B L, et al. Molecular mechanism of luteolin regulating lipoxigenase pathway against oxygen-glucose deprivation/reperfusion injury in H9c2 cardiomyocytes based on molecular docking [J]. China J Chin Mater Med, 2021, 46(21): 5665-5673.
- [6] 聂芳, 李可, 王媛, 等. TTC36蛋白在缺氧复氧诱导的肝脏缺血再灌注损伤中的表达 [J]. 川北医学院学报, 2021, 36(7): 832-835, 845.  
Nie F, Li K, Wang Y, et al. Expression of TTC36 protein in liver ischemia-reperfusion injury induced by hypoxia-reoxygenation [J]. J North Sichuan Med Coll, 2021, 36(7): 832-835, 845.
- [7] 赵玲琳, 张勇, 薛慧, 等. 麦冬皂苷D对大鼠心肌细胞缺氧复氧损伤的保护作用及机制研究 [J]. 中国循环杂志, 2022, 37(2): 178-184.  
Zhao L L, Zhang Y, Xue H, et al. Protective effects and related mechanism of ophiopogon saponin D on hypoxia-reoxygenation injury of rat cardiomyocytes [J]. Chin Circ J, 2022, 37(2): 178-184.
- [8] 万浩宇, 杜成昊, 何昱, 等. 黄芪与川芎有效成分配伍对乳鼠海马神经元细胞缺氧缺糖损伤的保护作用 [J]. 中成药, 2022, 44(4): 1298-1303.  
Wan H Y, Du C H, He Y, et al. Protective effect of compatibility of effective components of *Astragalus membranaceus* and *Ligusticum chuanxiong* Hort on hypoxia and glucose deprivation injury of hippocampal neurons in neonatal rats [J]. Chin Tradit Pat Med, 2022, 44(4): 1298-1303.
- [9] Li Q, Zhang Z, Li H, et al. Lycium barbarum polysaccharides protects H9c2 cells from hypoxia-induced injury by down-regulation of miR-122 [J]. Biomed Pharmacother, 2019, 110: 20-28.
- [10] 王梦杰. 黑果枸杞花青素对H9c2大鼠心肌细胞低氧适应性的影响 [D]. 西宁: 青海大学, 2022.  
Wang M J. Effect of *Lycium ruthenicum* Murry anthocyanins on hypoxic adaptability of H9c2 rat cardiomyocytes [D]. Xining: Qinghai University, 2022.
- [11] 翁苓苓, 高玲, 张闽光. CoCl<sub>2</sub>化学模拟肝癌体外缺氧模型的建立及对HIF-1 $\alpha$ 、VEGF基因的影响 [J]. 肝脏, 2019, 24(9): 1049-1052.  
Weng L L, Gao L, Zhang M G. Establishment of CoCl<sub>2</sub> chemical simulated hypoxia model of hepatocellular carcinoma *in vitro* and its effect on HIF-1 $\alpha$  and VEGF genes [J]. Chin Hepatol, 2019, 24(9): 1049-1052.
- [12] Tang Y, Hou Y, Zeng Y, et al. Salidroside attenuates CoCl<sub>2</sub>-simulated hypoxia injury in PC12 cells partly by mitochondrial protection [J]. Eur J Pharmacol, 2021, 912: 174617.
- [13] 马春秀, 李彩霞, 宫佰会, 等. 藏药八味沉香散血清对H9c2心肌细胞缺氧/复氧损伤的保护作用 [J]. 中国高原医学与生物学杂志, 2022, 43(2): 121-126.  
Ma C X, Li C X, Gong B H, et al. Protective effects of serum of Tibetan medicine Bawei Chenxiang Powder on the hypoxia/reoxygenation injury of H9c2 myocardial cells [J]. Chin High Alt Med Biol, 2022, 43(2): 121-126.
- [14] 宫佰会, 岳栋芳, 李彩霞, 等. 八味沉香散含药血清对H9c2细胞氧糖剥夺损伤的保护机制研究 [J]. 中国药房, 2023, 34(1): 40-46.  
Gong B H, Yue D F, Li C X, et al. Study on the protective mechanism of Bawei Chenxiang Powder containing serum on H9c2 cells injured by oxygen-glucose deprivation [J]. China Pharmacy, 2023, 34(1): 40-46.
- [15] 封亮, 柯仲成, 汪刚, 等. 赤芍苷组分抗缺血缺氧损伤的代表性成分的发现与验证 [J]. 药学报, 2018, 53

- (12): 1954-1962.  
Feng L, Ke Z C, Wang G, et al. Discovery and verification of representative ingredients of Chishao terpene glucoside components against ischemia and hypoxia injury [J]. Acta Pharm Sin, 2018, 53(12): 1954-1962.
- [16] 楚冬海, 张振秋. 瓜蒌皮提取物对缺氧/复氧损伤 H9c2 心肌细胞的保护作用及其机制研究 [J]. 中国药房, 2019, 30(8): 1072-1078.  
Chu D H, Zhang Z Q. Study on protective effects of pericarpium trichosanthis extract on H9c2 myocardial cells injured by hypoxia/reoxygenation and its mechanism [J]. China Pharmacy, 2019, 30(8): 1072-1078.
- [17] 王丹, 田春艳, 陈桂生, 等. 连二亚硫酸钠诱导 HT22 细胞缺氧复氧模型的制备 [J]. 宁夏医科大学学报, 2020, 42(10): 983-986.  
Wang D, Tian C Y, Chen G S, et al. Hypoxia reoxygenation model of HT22 cells induced by sodium hydrosulfite [J]. J Ningxia Med Univ, 2020, 42(10): 983-986.
- [18] 关付, 于波, 齐国先, 等. 叠氮钠对心肌细胞活力影响的研究 [J]. 中国医科大学学报, 2006(4): 345-347.  
Guan F, Yu B, Qi G X, et al. Effect of sodium azide on the viability of cultured neonatal rat cardiomyocytes [J]. J China Med Univ, 2006(4): 345-347.
- [19] 董晓敏, 孙笑语, 童学红, 等. 机能学实验中常压与低压缺氧环境下小鼠耐受性的比较 [J]. 继续医学教育, 2018, 32(12): 72-73.  
Dong X M, Sun X Y, Tong X H, et al. Comparison of tolerance between hypobaric hypoxia and normobaric hypoxia in medical functional teaching experiment [J]. Cont Med Edu, 2018, 32(12): 72-73.
- [20] Lee Y, Lee S, Park J W, et al. Hypoxia-induced neuroinflammation and learning-memory impairments in adult zebrafish are suppressed by glucosamine [J]. Mol Neurobiol, 2018, 55(11): 8738-8753.
- [21] Ma Q, Hu C T, Yue J, et al. High-carbohydrate diet promotes the adaptation to acute hypoxia in zebrafish [J]. Fish Physiol Biochem, 2020, 46(2): 665-679.
- [22] Long H, Qiu X, Cao L, et al. Discovery of the signal pathways and major bioactive compounds responsible for the anti-hypoxia effect of Chinese cordyceps [J]. J Ethnopharmacol, 2021, 277: 114215.
- [23] 张明霞. 高原缺氧对血脑屏障中药物转运蛋白的影响 [D]. 兰州: 兰州大学, 2018.  
Zhang M X. Effect of plateau hypoxia on drug transporters in blood brain barrier [D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2018.
- [24] 任晓霞, 马君义, 郑一丹, 等. 贯叶金丝桃提取物对缺氧大鼠高原脑水肿的改善作用 [J]. 中国药理学通报, 2022, 38(3): 454-459.  
Ren X X, Ma J Y, Zheng Y D, et al. The ameliorative effects of *Hypericum perforatum* extract on high altitude cerebral edema in hypoxic rats [J]. Chin Pharmacol Bull, 2022, 38(3): 454-459.
- [25] Nan X, Su S, Ma K, et al. Bioactive fraction of *Rhodiola algida* against chronic hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension and its anti-proliferation mechanism in rats [J]. J Ethnopharmacol, 2018, 216: 175-183.
- [26] 闫佳怡, 阮盼盼, 张卓, 等. 复方丹参滴丸对急性高原病大鼠作用及机制 [J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 38(22): 2736-2740.  
Yan J Y, Ruan P P, Zhang Z, et al. The effects and mechanism of Compound Danshen Dripping Pills on acute mountain sickness in rats [J]. Chin J Clin Pharmacol, 2022, 38(22): 2736-2740.
- [27] 王圣佳, 姜旭, 杨波. 积雪草苷对大鼠缺血再灌注脑组织损伤保护作用的研究 [J]. 哈尔滨医科大学学报, 2021, 55(4): 345-348.  
Wang S J, Jiang X, Yang B. Protective effects of asiaticoside on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats [J]. J Harbin Med Univ, 2021, 55(4): 345-348.
- [28] 张爽, 蔡璐, 潘雪, 等. 复方人参参合剂对小鼠抗疲劳和耐缺氧能力的影响 [J]. 人参研究, 2015, 27(2): 8-10.  
Zhang S, Cai L, Pan X, et al. Effects of Compound Ginseng Mixture on anti-hypoxia and anti-tiredness in mice. [J]. Ginseng Res, 2015, 27(2): 8-10.
- [29] 张崧彬, 杨艳, 王丽, 等. 珍珠菜提取物的抗缺氧作用 [J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(19): 4799-4801.  
Zhang Y B, Yang Y, Wang L, et al. Anti-hypoxia effect of *Lysimachia clethroides* extract [J]. Chin J Gerontol, 2019, 39(19): 4799-4801.
- [30] 王冲, 侯娟, 芮菁. 复方红景天片耐缺氧及抗疲劳作用的实验评价 [J]. 天津药学, 2018, 30(03): 5-8.  
Wang C, Hou J, Rui J. Anti-anoxia and anti-fatigue ability of Compound Hongjingtian Tablet [J]. Tianjin Pharmacy, 2018, 30(3): 5-8.
- [31] Marino K M, Silva E R, Windelborn J A. A comparison between chemical and gas hypoxia as models of global ischemia in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Animal Model Exp Med, 2020, 3(3): 256-263.
- [32] 焦杰, 马星月, 傅强, 等. 延丹胶囊对异丙肾上腺素诱导大鼠心肌缺血的作用及机制 [J]. 中成药, 2021, 43(4): 908-913.  
Jiao J, Ma X Y, Fu Q, et al. Effects and mechanism of Yandan Capsules on isoproterenol-induced myocardial ischemia in rats [J]. Chin Tradit Pat Med, 2021, 43(4): 908-913.



- [33] 魏珍珍, 方晓艳, 白明, 等. 苏艾冰精油外用对小鼠抗缺氧能力的影响 [J]. 神经药理学报, 2019, 9(5): 1-4.  
Wei Z Z, Fang X Y, Bai M, et al. Effects of Suaibing essential oil on anti-hypoxia ability of mice [J]. Acta Neuropharmacol, 2019, 9(5): 1-4.
- [34] 马慧萍, 王昕, 武柠子, 等. 大苞雪莲有效成分的抗缺氧药理学研究 [J]. 药学实践杂志, 2018, 36(3): 247-249, 254.  
Ma H P, Wang X, Wu N Z, et al. Pharmacodynamics of the effective anti-hypoxia constituents in *Saussurea involucrata* [J]. J Pharm Pract, 2018, 36(3): 247-249, 254.
- [35] 李淑惠, 王绚卉, 江一川, 等. 昆阁牌复方人参片的耐缺氧及抗疲劳作用研究 [J]. 人参研究, 2018, 30(5): 2-5.  
Li S H, Wang X H, Jiang Y C, et al. Anti-anoxia and anti-fatigue effects of Compound Ginseng Tablets [J]. Ginseng Res, 2018, 30(5): 2-5.
- [36] 范能全, 彭兰, 杨武, 等. 红景天对斑马鱼游泳和耐低氧能力的影响的初步研究 [J]. 药物分析杂志, 2015, 35(8): 1342-1345.  
Fan N Q, Peng L, Yang W, et al. Preliminary study of effects of *Rhodiola* on swimming performance and hypoxia tolerance of zebrafish [J]. Chin J Pharm Anal, 2015, 35(8): 1342-1345.
- [37] 马亚中, 吴清, 吉保民, 等. 中药抗高原病方的抗缺氧效能及其机制研究 [J]. 空军医学杂志, 2020, 36(3): 226-230.  
Ma Y Z, Wu Q, Ji B M, et al. Anti-hypoxia efficacy and mechanism of traditional Chinese medicine Kang-Gao-Yuan-Bing-Fang [J]. Med J Air Force, 2020, 36(3): 226-230.
- [38] 康林之, 罗云, 邵峰, 等. 仙鹤草不同提取物对小鼠运动性疲劳及耐缺氧能力的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2020, 29(19): 2094-2097.  
Kang L Z, Luo Y, Shao F, et al. Effect of different extraction of *Agrimonia Pilosa* Ledeb on exercise fatigue and hypoxia tolerance in mice [J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med, 2020, 29(19): 2094-2097.
- [39] Xu D, Li Y, Zhang B, et al. Resveratrol alleviate hypoxic pulmonary hypertension via anti-inflammation and anti-oxidant pathways in rats [J]. Int J Med Sci, 2016, 13(12): 942-954.

[责任编辑 李红珠]