

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.20.004

急渐进高原对大鼠应激损伤与炎症反应的影响*

李军茹¹, 贾守宁¹, 王双玺¹, 李欣¹, 邹小云¹, 王慧芳², 郭文斌²

(1. 青海省中医院, 西宁 810000; 2. 青海大学, 西宁 810016)

[摘要] **目的** 探讨急进和渐进高原对大鼠应激损伤与炎症反应的影响。**方法** 将 160 只 Wistar 大鼠, 采用随机数字表法分为北京组、兰州组、急进高原组、渐进高原组, 每组 40 只。除北京组(海拔 43.5 m)外, 其余大鼠空运至兰州市(海拔 1 520 m)。随后, 急进高原组继续由汽车运至玛多县(海拔 4 270 m), 渐进高原组在兰州停留 3 d 后运至玛多县。各组分别于实验第 1、2、3、5、7 天取大鼠血清, 采用酶联免疫吸附试验法测定血红素加氧酶-1、脑钠肽、白细胞介素-18 和肿瘤坏死因子- α 的水平。**结果** 与北京、兰州组大鼠比较, 急进和渐进高原组大鼠血清中 4 种因子的表达水平均有升高, 且渐进高原组的升高程度始终低于急进高原组。**结论** 以急进或渐进方式进入高原均会引起大鼠的应激损伤及炎症反应, 但渐进高原较急进高原引起的机体损伤与炎症反应小。

[关键词] 急进高原; 渐进高原; 应激损伤; 炎症反应**[中图分类号]** R594.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2019)20-3437-03

Effects of rapidly and gradually entering plateau on stress injury and inflammatory reaction of rats*

LI Junru¹, JIA Shouning¹, WANG Shuangxi¹, LI Xin¹, ZOU Xiaoyun¹,
WANG Hui Fang², GUO Wenbin²(1. Qinghai Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xining, Qinghai
810000, China; 2. Qinghai University, Xining, Qinghai 810016, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of rapidly and gradually entering plateau on stress injury and inflammatory reaction of rats. **Methods** One hundred and sixty Wistar rats were randomly divided into the Beijing group, Lanzhou group, rapidly entering plateau group and gradually entering plateau group, 40 cases in each group. Except for the Beijing group (altitude 43.5 m), the rest rats were transported to Lanzhou City (altitude 1520 m) by air. Then, the rapidly entering plateau group was transported to Maduo County (altitude 4270 m) by automobile. The gradually entering plateau group was transported to Maduo County after staying in Lanzhou for 3 d. Serum was extracted in each group on 1, 2, 3, 5, 7 d of the experiment. The levels of serum HO-1, brain natriuretic peptide (BNP), interleukin-18 (IL-18) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were detected by ELISA. **Results** Compared with the Beijing group and Lanzhou group, the expression levels of the four factors in the rapidly entering plateau group and gradually entering plateau group were increased, moreover, the increase degree of the gradually entering plateau group were always lower than those in the rapidly entering plateau group. **Conclusion** Entering the plateau by the rapid and gradual modes all cause the stress injury and inflammatory reaction of rates, however gradually entering plateau causes small body injury and inflammatory reaction.

[Key words] entering plateau rapidly; entering plateau group gradually; stress injury; inflammatory reaction

高原具有低氧、寒冷、干燥的气候特点, 随着海拔的升高, 空气中氧水平会逐渐下降, 从而引起机体血氧饱和度降低、组织缺氧, 心脏功能发生变化, 进而影响血液的分布和血流动力学, 从而导致机体发生一系列的生理和病理的改变, 而产生不同程度的应激、炎症损伤^[1]。祖国医学认为, 高原环境易导致机体出现气虚血瘀证^[2], 并可引起一系列不良反应, 如: 胸闷、

心悸、头晕眼花、恶心、口唇发绀、呼吸困难等。本研究采用急进、渐进两种方式进入高原, 通过观察大鼠血清血红素加氧酶-1(HO-1)、脑钠肽(BNP)、白细胞介素-18(IL-18)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的水平变化, 探索两种不同进入高原的方式对大鼠应激损伤及炎症反应的影响, 从而为科学选择进入高原的方式提供理论依据, 现将结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 实验动物 清洁级 Wistar 大鼠 160 只,雌雄各半,体质量(220±20)g,由北京斯贝福生物技术有限公司提供,动物许可证号:SCXK(京)2016-0002。

1.1.2 仪器与试剂 754 紫外分光光度计(上海第三分析仪器厂生产)、CL-7200 型全自动生化分析仪(日本岛津公司)、恒温水浴箱(上海教学仪器厂)、KDC-40 低速离心机(科大创新股份有限公司中佳分公司)、酶标仪 352 型(芬兰 Labsystems Multiskan MS 公司)、洗板机 AC8(芬兰 Thermo Labsystems 公司)。HO-1 试剂盒、BNP 试剂盒、IL-18 试剂盒及 TNF- α 试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

1.2 方 法

1.2.1 动物分组与处理 依据随机数字表法,将 160 只大鼠分为北京组、兰州组、急进高原组、渐进高原组,每组 40 只。除北京组外,其余 3 组空运至兰州市,急进高原组由汽车继续转运至青海省果洛州玛多县,渐进高原组在兰州停留 3 d 后由汽车运至玛多县。

1.2.2 大鼠表征观察 观察各组大鼠 7 d 内活动情况,毛色、舌质、舌下络脉及摄食摄水量、粪质等。

1.2.3 血清学检测 各组大鼠分别于到达目的地后第 1、2、3、5、7 天采血,室温下静置 30 min,3 000 r/min 离心处理 20 min 后,将上层血清置于 EP 管中,保存在 -80 °C 的冰箱,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法测定 HO-1、BNP、IL-18、TNF- α 的水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件对数据进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *F* 检验。对多个样本进行均数比较时,采用单因素方差分析,两两组间显著性差异用 LSD 检验分析的方法,检验水准 $\alpha = 0.05$,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠表征观察 北京组大鼠表现活跃,反应灵敏,毛色光泽,摄食摄水量均正常,粪便质软、形态正常,舌质淡红;与北京组比较,兰州组大鼠表征无明显变化;急进高原组大鼠活动量明显减少,被毛蓬松、毛色枯燥黯淡,摄食、水量均显著减少,粪便稀溏或不成形,舌暗红或紫暗,舌尖边伴或不伴有瘀斑、瘀点,舌下脉络迂曲扩张;渐进高原组大鼠活动量、摄食摄水量较急进高原组大鼠增加,粪便、舌色及舌尖边瘀点、瘀斑、舌下脉络均较急进组大鼠改善。

2.2 各组大鼠血清 HO-1、BNP 水平变化情况 与北京组比较,兰州组大鼠血清 HO-1 和 BNP 水平均有升高,但差异无统计学意义($P > 0.05$),急进高原组大鼠第 1~7 天血清 HO-1 和 BNP 水平均有明显升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与兰州组相比,除急进高原组大鼠第 1 天血清 BNP 水平无明显差异,其余时间急进高原组大鼠血清 HO-1 和 BNP 水平均有升高

($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),渐进高原组大鼠在第 2、3、5、7 天血清 HO-1 和 BNP 水平均有升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与急进高原组比较,渐进高原组大鼠第 2、3、5、7 天血清 HO-1 和 BNP 水平降低($P < 0.01$),见表 1。

表 1 各组大鼠不同时间血清 HO-1、BNP 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	大鼠(只)	HO-1(pg/mL)	BNP(ng/mL)	
北京组	第 1 天	8	68.08±8.58	21.92±3.17	
	第 2 天	8	68.08±8.58	21.92±3.17	
	第 3 天	8	68.08±8.58	21.92±3.17	
	第 5 天	8	68.08±8.58	21.92±3.17	
	第 7 天	8	68.08±8.58	21.92±3.17	
	兰州组	第 1 天	8	74.54±5.52	25.15±2.88
		第 2 天	8	74.54±5.52	25.15±2.88
第 3 天		8	74.54±5.52	25.15±2.88	
第 5 天		8	74.54±5.52	25.15±2.88	
第 7 天		8	74.54±5.52	25.15±2.88	
急进高原组		第 1 天	8	93.50±19.90** [#]	26.96±1.75**
		第 2 天	8	117.88±17.26** [#]	38.25±3.93** [#]
	第 3 天	8	132.04±16.06** [#]	43.33±4.85** [#]	
	第 5 天	8	136.83±24.64** [#]	43.05±9.81** [#]	
	第 7 天	8	135.38±23.18** [#]	41.07±9.73** [#]	
	渐进高原组	第 1 天	8	76.42±13.27	25.27±2.22*
		第 2 天	8	89.75±16.32** [#] ^{**}	30.02±4.22** [#] ^{**}
第 3 天		8	91.83±12.63** [#] ^{**}	30.91±2.83** [#] ^{**}	
第 5 天		8	91.21±16.80** [#] ^{**}	31.19±2.43** [#] ^{**}	
第 7 天		8	93.50±10.20** [#] ^{**}	31.03±3.73** [#] ^{**}	
<i>F</i>				25.42	22.77
<i>P</i>				<0.01	<0.01

*: $P < 0.05$,**: $P < 0.01$,与北京组相同测定时间点比较;[#]: $P < 0.05$,[#]: $P < 0.01$,与兰州组相同测定时间点比较;^{**}: $P < 0.05$,^{**}: $P < 0.01$,与急进高原组相同测定时间点比较

2.3 各组大鼠血清 IL-18 和 TNF- α 水平变化情况 与北京组比较,兰州组大鼠血清 IL-18 和 TNF- α 水平略升高,但差异无统计学意义($P > 0.05$);而急进高原组大鼠血清 IL-18 水平在第 1 天水平较北京组升高明显($P < 0.05$),第 2 天升高程度较第 1 天无显著差异,随着进入高原时间的延长,第 3、5、7 天逐渐升高($P < 0.01$),TNF- α 水平在前 2 d 较北京组升高不明显,在第 3、5、7 天较前 3 d 逐渐升高($P < 0.01$);渐进高原组大鼠血清 IL-18 水平在进入高原第 1、2、3 天无明显变化,第 5、7 天较前 3 d 升高差异有统计学意义($P < 0.01$),TNF- α 水平第 1~7 天较北京组无明显升高。与兰州组大鼠比较,急进高原组大鼠血清 IL-18 和 TNF- α 水平在第 3、5、7 天升高明显,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);渐进高原组大鼠血清 IL-18 和 TNF- α 水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。与

急进高原组大鼠比较, 渐进高原组大鼠血清 IL-18 和 TNF- α 水平在第 3, 5, 7 天差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 见表 2。

表 2 各组大鼠不同时间血清 IL-18 和 TNF- α 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	大鼠(只)	IL-18(pg/mL)	TNF- α (pg/mL)
北京组	第 1 天	8	13.07 \pm 2.49	8.43 \pm 1.17
	第 2 天	8	13.07 \pm 2.49	8.43 \pm 1.17
	第 3 天	8	13.07 \pm 2.49	8.43 \pm 1.17
	第 5 天	8	13.07 \pm 2.49	8.43 \pm 1.17
	第 7 天	8	13.07 \pm 2.49	8.43 \pm 1.17
兰州组	第 1 天	8	16.47 \pm 4.37	8.62 \pm 1.32
	第 2 天	8	16.47 \pm 4.37	8.62 \pm 1.32
	第 3 天	8	16.47 \pm 4.37	8.62 \pm 1.32
	第 5 天	8	16.47 \pm 4.37	8.62 \pm 1.32
	第 7 天	8	16.47 \pm 4.37	8.62 \pm 1.32
急进高原组	第 1 天	8	16.79 \pm 3.74*	8.80 \pm 1.54
	第 2 天	8	16.90 \pm 4.72*	8.72 \pm 1.70
	第 3 天	8	23.93 \pm 5.17*##	12.04 \pm 2.26*#
	第 5 天	8	30.60 \pm 4.19***#	14.70 \pm 2.65***#
	第 7 天	8	31.37 \pm 5.76***#	14.88 \pm 1.89***#
渐进高原组	第 1 天	8	16.37 \pm 2.80*	8.54 \pm 1.38
	第 2 天	8	16.55 \pm 5.23*	8.48 \pm 1.49
	第 3 天	8	16.61 \pm 5.24**	8.60 \pm 1.38**
	第 5 天	8	20.60 \pm 6.26***	9.26 \pm 1.34**
	第 7 天	8	20.89 \pm 6.03***	9.72 \pm 1.12**
F			11.90	13.99
P			<0.01	<0.01

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, 与北京组相同测定时间点比较; #: $P < 0.05$, ##: $P < 0.01$, 与兰州组相同测定时间点比较; **: $P < 0.05$, ***: $P < 0.01$, 与急进高原组相同测定时间点比较

3 讨 论

祖国医学认为, 空气即呼吸之气, 称为“清气”, 水谷精微之气与清气相合聚于胸中者称为“宗气”, 如《灵枢·邪客篇》曰: “宗气积于胸中, 出于喉咙, 以贯心脉, 而行呼吸焉”, 但高原环境清气不足, 可造成机体宗气化生乏源。《直指方》云: “气为血之帅, 气行则血行, 气止则血止”。《灵枢·刺节真邪篇》言: “宗气不下, 脉中之血凝而留止”, 外加寒邪侵袭, 寒主收引凝滞, 故可见唇舌紫青等, 此为气虚血瘀证产生之病机^[3]。研究结果发现, 与北京组、兰州组相比, 急进高原组与渐进高原组大鼠均有不同程度活动量减少, 被毛蓬松无华、枯燥黯淡, 粪质异常, 舌象瘀滞等气虚血瘀之征象。

高原环境具有缺氧、寒冷、干燥的气候特点, 缺氧引起的氧自由基增加, 是缺氧导致机体组织细胞结构与功能损伤的重要原因之一。当机体在缺氧及寒冷等应激源刺激下, 可导致交感神经兴奋、儿茶酚胺释放, 引起机体心率加快, 增加心肌耗氧量, 在一定程度上对心肌细胞产生了损害^[4]。HO-1 是一种应激反应

蛋白, 对细胞有保护和修复作用^[5]。研究表明, HO-1 可借助多种保护性信号通路的激活、旁分泌细胞保护因子及调节线粒体功能来减轻由炎症因子、内毒素等介导的氧化应激损伤, 对心血管的保护具有重要意义^[6-7]。正常情况下, HO-1 表达较少, 但缺氧、运动等应激因素会使其表达上调, 从而实现对细胞的保护作用^[8]。因此, HO-1 的升高程度亦可提示应激损伤的程度。BNP 是由心肌细胞合成分泌的一种多肽, 在心脏室负荷过重或扩张时可导致其合成增加, 具有调节心血管系统稳定的作用^[9]。同时, BNP 水平可客观、迅速地评价心功能, 其表达与心功能分级呈正相关, 心功能分级越高、损害程度越重, BNP 的表达水平越高^[10-11]。在本研究中, 与北京组相比, 渐进高原组与急进高原组大鼠血清 HO-1、BNP 水平均在到达目的前 3 d 急剧升高, 随后其表达水平逐渐趋于平稳, 但渐进高原组总体水平较急进高原组低, 考虑在渐进高原的过程中, 由于机体细胞内环境稳态、心脏负荷变化较为缓慢, 故机体有较长时间进行适应、调整, 因而 HO-1、BNP 的表达水平较低, 进而引发机体的应激损伤程度小。

IL-18 是一种促炎症细胞因子, 它可诱导 γ -干扰素 (IFN- γ)、肿瘤坏死因子及单核细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 的合成与释放, 并诱导 HIF-1、核因子- κ B (NF- κ B) 及其他转录基因表达, 进一步促进 IL-6、IL-8 等表达增加^[12], 是炎症反应链中关键的一环, 其在心肌缺氧缺血后表达增多, 与心血管疾病的发生与发展密切相关^[13]。TNF- α 亦是一种促炎细胞因子, 由单核细胞、巨噬细胞、T 淋巴细胞等产生。研究表明, TNF- α 可改变心肌的钙平衡、诱导心肌细胞凋亡^[14], 且心肌病变程度与 TNF- α 表达水平呈正相关, 即心肌损伤越严重, TNF- α 的表达水平越高。本研究显示, 在进入高原第 3 天后, 渐进高原组与急进高原组血清中 IL-18、TNF- α 水平均有升高, 且以急进高原组升高明显, 提示在急性高原缺氧的应激条件下可诱发机体的更强烈的炎性反应。

综上所述, 渐进与急进高原的方式均会使血液中 HO-1、BNP、IL-18 与 TNF- α 水平升高, 但采用渐进方式时, 上述指标升高的水平远低于急进方式, 因而诱发机体发生应激损伤及炎性反应的程度较小。因此, 进入高原时应尽量采取缓慢方式, 从而减小急性高原反应的程度。

参考文献

[1] HIGGINS J P, TUTTLE T, HIGGINS J A. Altitude and the heart: Is going high safe for your cardiac patient[J]. Am Heart J, 2010, 159(1): 25-32.
 [2] 李军茹, 贾守宁, 马春花, 等. 模拟高原环境建立高原气虚血瘀证大鼠疾病模型的研究[J]. 陕西中医, 2011, 32(5): 627-629.
 (下转第 3444 页)

临床症状,疗效显著,而且早期进行针刺干预效果更佳,值得临床推广应用。

参考文献

- [1] 吴君.盆底肌肉功能训练防治产后压力性尿失禁[J].中国妇幼保健,2013,28(3):409-411.
- [2] YOO P B, HORVATH E E, AMUNDSEN C L, et al. Multiple pudendal sensory pathways reflexly modulate bladder and urethral activity in patients with spinal cord injury[J]. J Urol, 2011, 185(2): 737-743.
- [3] 李智卿. 针灸联合盆底生物反馈治疗产后尿失禁临床研究[J]. 河南中医, 2016, 36(2): 281-282.
- [4] 陈燕辉, 古彩茹, 杨卫萍. 电刺激疗法与生物反馈盆底肌训练联合在产后压力性尿失禁治疗中的临床应用分析[J]. 中国妇幼保健, 2012, 27(21): 3244-3246.
- [5] 陈文玲, 李苑, 刘岚, 等. 妊娠晚期盆底肌锻炼对产后膀胱功能障碍及尿动力学的影响[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(34): 5963-5964.
- [6] 贞艳丽, 徐玲娣. 生物反馈, 电刺激联合盆底肌锻炼对产后盆底康复的效果观察生物反馈[J]. 中国妇幼保健, 2014, 29(24): 4001-4002.
- [7] BALSARA Z R, ROSS S S, DOLBER P C, et al. Enhanced susceptibility to urinary tract infection in the spinal cord-injured host with neurogenic bladder[J]. Infect Immun, 2013, 81(8): 3018-3026.
- [8] KANG Y. L1 phonotactic restrictions and perceptual adaptation: English affricate in Contemporary Korean[J]. J

East Asian Linguists, 2013, 22(1): 39-63.

- [9] 胡启龙, 赵渊超, 胡丹, 等. 针刺膀胱三角区治疗脊髓损伤所致排尿功能障碍疗效观察[J]. 中国针灸, 2015, 35(1): 21-24.
- [10] TOSUN O C, SOLMAZ U, EKIN A, et al. Assessment of the effect of pelvic floor exercises on pelvic floor muscle strength using ultrasonography in patients with urinary incontinence: a prospective randomized controlled trial [J]. J Phy Thera Sci, 2016, 28(2): 360-365.
- [11] FREEMAN A, MENEES S. Fecal incontinence and pelvic floor dysfunction in women: a review [J]. Gastroenterol Clin North Am, 2016, 45(2): 217-237.
- [12] 曹卷舒, 谭志高, 曹越, 等. 针灸治疗压力性尿失禁的选经、用穴及配伍规律初探[J]. 针灸临床杂志, 2014, 30(9): 59-63.
- [13] NITZKEN M, BAJAJ N, ASLAN S, et al. Local wavelet-based filtering of electromyographic signals to eliminate the electrocardiographic-induced artifacts in patients with spinal cord injury [J]. J Biomed Sci Eng, 2013, 6(7B): 864-870.
- [14] 张超, 夏光惠. 针灸治疗产后尿潴留 49 例[J]. 中医药临床杂志, 2017, 29(10): 1755-1756.
- [15] 陈玲, 何恒君. 针灸联合盆底肌康复训练治疗产后膀胱功能失调的疗效观察[J]. 针灸临床杂志, 2017, 33(4): 23-25.

(收稿日期: 2019-01-17 修回日期: 2019-06-12)

(上接第 3439 页)

- [3] 任春贞, 刘永琦, 骆亚莉, 等. 从中医学角度探讨高原低氧对机体损伤机制[J]. 甘肃科技, 2016, 32(4): 121-123.
- [4] BONADEI I, SCIATTI E, VIZZARDI E, et al. Coronary artery disease and high altitude: unresolved issues[J]. Res Card Med, 2016, 5(3): 32645.
- [5] 杨子聪, 刘伶. 血红素加氧酶-1 与心血管疾病关系的研究进展[J]. 广西医学, 2015, 37(8): 1142-1144
- [6] KAWASHIRI M A, NAKANISHI C, TSUBOKAWA T, et al. Impact of enhanced production of endogenous heme oxygenase-1 by pitavastatin on survival and functional activities of bone marrow - derived mesenchymal stem cells[J]. J Card Pharmacol, 2015, 65(6): 601-606.
- [7] HAO B B, PAN X X, FAN Y, et al. Oleanolic acid attenuates liver ischemia reperfusion injury by HO-1/Sesn2 signaling pathway[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2016, 15(5): 519-524.
- [8] 董云峰, 杨生源, 韩巍. 运动应激与 HO-1 在心血管系统中的研究进展[J]. 辽宁体育科技, 2018, 40(2): 79-82.
- [9] 何汉康. 脑钠肽在急性心力衰竭诊治中的研究进展[J/

CD]. 临床医药文献电子杂志, 2018, 5(59): 195-198.

- [10] 赵少林. 血浆 BNP 检测在慢性心衰诊断及治疗中的应用 [J/CD]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2019, 7(6): 78-79.
- [11] 李佳, 孙海霞, 王庆功, 等. 心脏彩超联合血浆脑钠肽对高血压心功能不全患者的诊断价值研究[J]. 重庆医学, 2018, 47(8): 1103-1105.
- [12] 赵振, 张莉媛, 多杰. 不同海拔藏族 OSAHS 患者血清 IL-18、MMP-9 及 TIMP-1 的表达及意义[J]. 临床肺科杂志, 2018, 23(3): 462-466.
- [13] 叶迪, 王梦龙, 刘剑芳, 等. 促炎性细胞因子白细胞介素-18 在心血管疾病中的意义[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2018, 10(8): 1006-1008.
- [14] LIU S, YIN T, WEI X, et al. Downregulation of adiponectin induced by tumor necrosis factor α is involved in the aggravation of posttraumatic myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. Crit Care Med, 2011, 39(8): 1935-1943.

(收稿日期: 2019-02-02 修回日期: 2019-05-23)