

· 基础研究 ·

快速减压对小鼠血清细胞因子水平的影响

王国忠 高春锦 葛环

【摘要】 目的 观察快速减压对小鼠血清 IL-1 β 、IL-6 和 IL-10 水平的影响,以探讨细胞因子在减压病发病机制中的作用。**方法** 21 只小鼠随机分为快速减压组(14 只)和正常对照组(7 只)。快速减压组经 600 kPa 压缩空气暴露后,用 1 min 快速减压至常压,用酶联免疫吸附法检测减压后快速减压组小鼠及正常对照组小鼠血清 IL-1 β 、IL-6 和 IL-10 水平。**结果** 快速减压组小鼠减压后 1 h 时血清 IL-1 β 和 IL-6 水平与正常对照组相比无显著变化,3 h 组血清 IL-1 β 和 IL-6 水平显著高于正常对照组(均 $P < 0.05$)。快速减压组小鼠 1 h 和 3 h 时血清 IL-10 水平与正常对照组相比,差异均无统计学意义。**结论** 快速减压可导致小鼠血清 IL-1 β 、IL-6 水平显著升高,诱发促炎症介质和抗炎症介质之间的失衡。

【关键词】 快速减压; 减压病; 小鼠; 细胞因子

Effects of rapid decompression on serum level of cytokines in mice WANG Guo-zhong, GAO Chun-jin, GE Huan. Department of Hyperbaric Oxygen, Beijing Chaoyang Hospital, the Capital University of Medical Sciences, Beijing 100020, China

【Abstract】 Objective To observe the effects of rapid decompression on serum level of IL-1 β , IL-6 and IL-10 in mice and investigate the role of cytokines in the pathogenesis of decompression sickness. **Methods** Twenty-one mice were randomly divided into rapid decompression group (14 mice) and normal control group (7 mice). Mice in the rapid decompression group were exposed to 600kPa compressed air for 60 minute, which was then rapidly decompressed to normal pressure in one minute. The serum level of IL-1 β , IL-6 and IL-10 was measured by enzyme-linked immunosorbent assay in mice in rapid decompression group after decompression and in normal control group. **Results** There were no significant changes in the serum level of IL-1 β , IL-6 at the 1st hour after decompression in the rapid decompression group when compared to that of and the normal control group. The serum level of IL-1 β , IL-6 in rapid decompression group at the 3rd hour after decompression was significantly higher than that of the normal control group ($P < 0.05$). There were no significant difference between the rapid decompression and normal control groups with regard to the serum level of IL-10. **Conclusion** Rapid decompression can significantly increase the serum level of IL-1 β and IL-6 in mice, then induce the unbalance between inflammatory and anti-inflammatory mediators.

【Key words】 Rapid decompression; Decompression sickness; Mouse; Cytokine

减压病主要发生于潜水员、沉箱或隧道作业人员以及自携式潜水运动爱好者,它是一种因环境压力降低过快而引起的疾病^[1,2]。本研究应用酶联免疫吸附法(enzyme-linked immuno-sorbent assay, ELISA)观察快速减压对小鼠血清 IL-1 β 、IL-6 和 IL-10 水平的影响,以探讨细胞因子在减压病发病机制中的作用。

材料与方法

一、实验动物及分组

雄性 BALB/c 小鼠(22 ~ 26 g)21 只,购于北京大学医学部实验动物中心。按抽签法随机分成 2 组,快速减压组 14 只,正常对照组 7 只;快速减压组按减压后 1 h 和 3 h 时间点分为 2 个亚组:快速减压 1 h 组和 3 h 组,每亚组 7 只。

二、试剂和仪器

小鼠 IL-1 β ELISA 试剂盒,小鼠 IL-6 ELISA 试剂盒和 IL-10 ELISA 试剂盒均为美国 ENDOGEN 公司产品;MK2 型酶标仪为芬兰 Labsystems 公司产品;DWC80-240 型动物实验舱为上海 701 所氧舱厂产品。

三、实验动物处理

1. 快速减压组:参照文献[3]的报道建立减压病小鼠模型。小鼠置于动物实验舱内,舱容积为 1.21 L,空气加压 5 min 至 600 kPa(6 ATA),维持压力 60 min 后,用 1 min 时间快速减压出舱。处理过程中持续通气,空气流量 1.5 L/min。

2. 正常对照组:小鼠置于动物实验舱内,处于常压空气环境中。

四、标本的制备和检测方法

快速减压 1 h 组和 3 h 组小鼠分别在减压出舱后 1 h 和 3 h 时,从小鼠眶动脉和眶静脉各采血 0.5 ml,

1 500 r/min 离心 10 min, 血清分离后储存于 -70°C 冰箱。采用 ELISA 双抗夹心法严格按试剂盒说明操作, 检测小鼠血清 IL-1 β 、IL-6 和 IL-10 水平。

五、统计学分析

用 SPSS 10.0 统计软件分析, 实验数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 组间均数比较采用方差分析和 q 检验。

结 果

快速减压组小鼠出舱后, 出现呼吸浅快、反应迟缓、萎靡不振和颤抖现象; 减压后 1 h 时血清 IL-1 β 和 IL-6 水平与正常对照组相比无显著变化; 3 h 组血清 IL-1 β 和 IL-6 水平显著高于正常对照组 (均 $P < 0.05$)。快速减压组小鼠减压后 1 h 和 3 h 时血清 IL-10 水平与正常对照组相比, 差异均无统计学意义 (表 1)。

表 1 3 组小鼠血清 IL-1 β 、IL-6 和 IL-10 水平的比较
(pg/ml, $\bar{x} \pm s$)

组 别	<i>n</i>	IL-1 β	IL-6	IL-10
正常对照组	7	9.17 $\pm$ 9.03	15.47 $\pm$ 7.13	10.45 $\pm$ 7.05
快速减压组	14			
快速减压 1 h 组	7	14.29 $\pm$ 6.95	18.31 $\pm$ 8.53	12.43 $\pm$ 7.83
快速减压 3 h 组	7	24.41 $\pm$ 9.34 *	28.32 $\pm$ 9.26 *	14.87 $\pm$ 10.47

注: 与正常对照组相比, * $P < 0.05$

讨 论

引起减压病的根本原因是体内气泡形成 (主要是氮气), 它通过栓塞、压迫和直接刺激等作用导致局部或全身器官的功能变化和病理性损伤。气泡可以在血管内产生, 也可以在血管外产生^[4,5]。血液/气泡界面可以激活一些血液成分如白细胞、血小板、补体等, 产生炎症性级联反应, 损伤内皮细胞, 增加血管膜通透性, 破坏内环境稳定^[6]; 炎症反应被认为是减压病发生的一个重要因素。

细胞因子在炎症反应中处于中心位置, 它包括白细胞介素 (interleukin, IL)、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 和干扰素等。IL 主要由单核-巨噬细胞和淋巴细胞产生, IL-1 β 主要是血浆和组织液中的分泌形式, 它的生物学作用非常广泛, 如诱导细胞粘附分子表达、激活免疫细胞产生多种细胞因子等^[7]。IL-6 主要参与细胞免疫、炎症反应和造血调控等^[8]。IL-1 β 和 IL-6 均是体内重要的炎症介质。IL-10 是一种抗炎细胞因子 (anti-inflammatory cytokine), 它的一个主要生物学作用是抑制许多促炎细胞因子 (proinflammatory cytokine) (如 TNF、IL-1 和 IL-6 等因子) 的产生^[9]。

对减压病病理过程中细胞因子水平变化的研究并不多。Ersson 等^[10]将大鼠置于 500 kPa 高压舱中 40 min, 然后以 100 kPa/min 速度快速减压, 发现减压

4 h 后大鼠血清 IL-6 水平显著升高。Ersson 等^[11]也观察了慢性高血压暴露的士兵 (每天进行潜水训练, 共 2 个月) 的血浆促炎细胞因子 IL-6、IL-8、中性粒细胞膜胶原相关脂钙素 (neutrophil gelatinase-associated lipocalcin, NGAL)、抗炎细胞因子-IL-1 受体拮抗剂 (IL-1ra) 以及分泌性白细胞蛋白水解酶抑制剂 (secretory leukocyte protease inhibitor, SLPI) 的水平, 发现 IL-6 和 IL-1ra 的水平无变化, 而 IL-8 和 NGAL 水平升高, SLPI 水平降低; IL-6 和 IL-1ra 水平无变化可能是由于士兵的减压伤程度较小, 未导致强烈的炎症反应。

本研究中快速减压组小鼠减压出舱后 1 h 时, 血清 IL-1 β 和 IL-6 水平尚无显著变化; 到 3 h 时血清 IL-1 β 和 IL-6 水平显著升高, 而 IL-10 水平一直无显著变化。我们认为这可能是由于体内 IL-10 的合成滞后于促炎细胞因子所致。Pajkrt 等^[12]发现机体在遭脂多糖攻击约 30 min 后即可见促炎细胞因子的大量释放, 而 IL-10 则在脂多糖攻击后 6~8 h 才达到高峰。

现已知正常炎症反应可防止组织损伤扩大, 促进组织修复, 对机体有益, 但过度炎症反应可导致炎症反应失控和免疫功能紊乱, 加重组织损伤^[13,14]。本研究结果表明, 快速减压可导致促炎细胞因子水平显著增高, 而抗炎细胞因子变化不明显; 这种促炎症介质和抗炎炎症介质之间的失衡, 可能是减压病发生的重要因素。因此, 在减压病治疗方案中, 维持加压治疗的同时给予抗炎治疗, 可能有助于减轻减压病的病情, 提高疗效。这将有待以后进一步研究证实。

参 考 文 献

- 1 Spira A. Diving and marine medicine review part II: diving diseases. J Travel Med, 1999, 6: 180-198.
- 2 Saary MJ, Gray GW. A review of the relationship between patient foramen ovale and type II decompression sickness. Aviat Space Environ Med, 2001, 72: 1113-1120.
- 3 朱祥祺, 倪大智, 李慈, 等. 高压氧对减压病大鼠肺组织自由基的影响. 中华理疗杂志, 2000, 23: 353-355.
- 4 Ball R, Schwartz SL. Kinetic and dynamic models of diving gases in decompression sickness prevention. Clin Pharmacokinet, 2002, 41: 389-402.
- 5 Doolette DJ, Mitchell SJ. The physiological kinetics of nitrogen and the prevention of decompression sickness. Clin Pharmacokinet, 2001, 40: 1-14.
- 6 Little TM, Butler BD. Dibutyl cAMP effects on thromboxane and leukotriene production in decompression-induced lung injury. Undersea Hyperb Med, 1997, 24: 185-191.
- 7 Touzani O, Boutin H, Chuquet J, et al. Potential mechanisms of interleukin-1 involvement in cerebral ischaemia. J Neuroimmunol, 1999, 100: 203-215.
- 8 Clark WM, Rinker LG, Lessov NS, et al. Time course of IL-6 expression in experimental CNS ischemia. Neurol Res, 1999, 21: 287-292.
- 9 孙卫民, 王惠琴, 编著. 细胞因子研究方法学. 北京: 人民卫生出版社, 1999. 492-499.

- 10 Ersson A, Linder C, Ohlsson K, et al. Cytokine response after acute hyperbaric exposure in the rat. Undersea Hyperb Med, 1998, 25: 217-221.
- 11 Ersson A, Walles M, Ohlsson K, et al. Chronic hyperbaric exposure activates proinflammatory mediators in humans. J Appl Physiol, 2002, 92: 2375-2380.
- 12 Pajkrt D, Camoglio L, Tiel-van Buul MC, et al. Attenuation of proinflammatory response by recombinant human IL-10 in human endotoxemia: effect of timing of recombinant human IL-10 administration. J Immunol, 1997, 158: 3971-3977.
- 13 Perini F, Morra M, Alecci M, et al. Temporal profile of serum anti-inflammatory and pro-inflammatory interleukins in acute ischemic stroke patients. Neurol Sci, 2001, 22: 289-296.
- 14 Bone RC. Immunologic dissonance: a continuing evolution in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the multiple organ dysfunction syndrome (MODS). Ann Intern Med, 1996, 125: 680-687.

(修回日期: 2004-08-24)

(本文编辑: 熊芝兰)

· 短篇论著 ·

紫外线照射充氧、冷凝自血回输治疗高血压合并高脂血症 40 例疗效观察

李兵

我院自 2003 年应用紫外线照射充氧、冷凝自血回输疗法治疗高血压合并高脂血症取得满意疗效。现报道如下。

一、资料与方法

选择 I、II 期高血压患者 40 例为观察对象, 其血清总胆固醇(TC)均 ≥ 6.4 mmol/L, 甘油三酯(TG) ≥ 2.1 mmol/L。其中男 26 例, 女 14 例; 年龄 48 ~ 76 岁, 平均 62 岁。

使用济宁产 DLX2-254 电脑光量子血疗仪, 紫外线主波长 253.7 nm (冷光石英灯管功率 32 W)。取患者正中静脉血 400 ml 置于加有抗凝剂的血疗仪容器中, 经高速离心 15 min, 转速 2 000 r/min, 然后在无菌台将细胞成分与血浆分离。细胞成分置于血疗仪容器中用光量子照射、充氧(2 L/min) 12 min 后立即回输。血浆成分经 -5℃ 冷凝处理, 次日 37℃ 恒温箱孵化后, 加入 10% 的氯化钙 10 ml 再冷凝。第 3 日经恒温箱孵化后再次高速离心 15 min, 转速 2 500 r/min, 然后回输。每隔 3 d 治疗 1 次, 每 3 次为 1 个疗程。疗程开始前及治疗后 1 周和 4 周测试 TC、TG、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-c)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-c)及血压。观察期间给予低脂饮食, 不服用任何降压、降脂药物。

二、结果

40 例高血压合并高脂血症患者治疗前、后血脂及血压变化见表 1。TC、TG、HDL-c 及 LDL-c 治疗前及治疗后 1 周、4 周时所测数据经 *t* 检验, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。治疗前、后血压变化经自身配对 *t* 检验, 血压下降具有统计学意义($P < 0.01$)。所有病例在治疗过程中均无不适。

三、讨论

观察表明, 紫外线照射充氧、冷凝自血回输治疗 1 个疗程后, 高血压合并高脂血症患者血压、TC、TG、LDL-c 及 HDL-c 均较治疗前有显著改变。据文献报道, 紫外线光量子作用于血液后不仅可以使红细胞携氧能力增加, 还可以使血小板凝集诱导的血栓形成受到抑制^[1], 并激活纤溶酶, 使纤维蛋白原含量下降。从而推测其降血脂机制可能为紫外线光量子使血清脂蛋白酶谱发生改变, 促进了脂肪的运输能力^[2]。同时, 光量子照

射能引起分子化学键断裂, 从而将血液中复杂的胆固醇及甘油三酯较快地分解为普通的有机分子, 经过肝肾代谢排出体外。光量子照射还能增加机体吞噬甘油三酯的功能, 促进脂质代谢, 从而达到降脂作用。另一方面, 光量子被血液吸收引起细胞膜结构和功能的改变, 使膜酶受体表面电荷发生变化, 膜稳定性提高, 从而使红细胞变形能力增强、携氧能力增强, 改善血液流变学指标, 促进血液循环及改善微循环。另外, 经过冷凝离子吸附, 使血浆中的胆固醇、TG、纤维蛋白原、LDL 析出, 降低了血液粘度, 有利于改善血液动力学功能, 降低血压^[3]。因此, 我们认为, 紫外线照射充氧、冷凝自血回输疗法为临床治疗高血压伴高脂血症提供了一种安全、有效的治疗办法, 值得临床推广。但在临床治疗过程中, 为避免频繁的穿刺造成静脉血管损害及大量纤维蛋白原丢失引起血液低凝, 导致出血并发症, 我们认为治疗以 1 个疗程 3 次, 每次间隔 2 d 为宜, 并应注意监测凝血指标变化。

表 1 40 例高血压合并高脂血症患者治疗前、后的血脂、血压变化($\bar{x} \pm s$)

测定项目	治疗前	治疗后 1 周	治疗后 4 周
TC (mmol/L)	6.80 $\pm$ 0.40	5.16 $\pm$ 0.48 *	5.10 $\pm$ 0.54 *
TG (mmol/L)	2.74 $\pm$ 0.64	1.23 $\pm$ 0.52 *	1.12 $\pm$ 0.46 *
HDL-c (mmol/L)	0.75 $\pm$ 0.13	1.10 $\pm$ 0.20 *	1.16 $\pm$ 0.25 *
LDL-c (mmol/L)	6.28 $\pm$ 0.41	4.68 $\pm$ 0.47 *	4.50 $\pm$ 0.50 *
SBP (mmHg)	149.00 $\pm$ 12.00	-	134.00 $\pm$ 9.00 *
DBP (mmHg)	94.00 $\pm$ 9.00	-	83.00 $\pm$ 8.00 *

注: 经 *t* 检验, 与治疗前比较, * $P < 0.01$

参 考 文 献

- 1 金秀国, 方国安, 刘波, 等. 血液紫外线照射充氧对血小板的影响. 中华物理医学与康复杂志, 2003, 25: 270-272.
- 2 魏攻都, 杨晓燕. 紫外线照射充氧自血回输治疗糖尿病高脂血症. 山西医药杂志, 2000, 29: 160.
- 3 史有松, 陈保健. 谈谈磁极化血液平衡冷凝离子吸附疗法. 中国医学理论与实践, 2003, 1: 46-47.

(修回日期: 2004-06-28)

(本文编辑: 熊芝兰)