DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.11.021
第23卷第11期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 11
1296 2001年11月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Nov. 2001

论著

文章编号:1000-5404(2001)11-1296-03

低压缺氧对哮喘豚鼠缓解期皮质醇及嗜酸性粒细胞和肿瘤坏死因子的影响

桂 芹, 孔祥英, 白家驷 (第三军医大学附属西南医院儿科, 重庆 400038)

提 要:目的 探讨低压缺氧对哮喘鼠缓解期皮质醇及嗜酸性粒细胞和肿瘤坏死因子的影响。方法 采用卵蛋白致敏和激发制成豚鼠哮喘模型,比较正常组、诱发哮喘发作后24 h(发作组)、非低压缺氧处理组哮喘豚鼠(对照组)以及低压缺氧处理哮喘豚鼠(治疗组)的血浆皮质醇、支气管肺泡灌洗液(BALF)中嗜酸性粒细胞(EOS)和肿瘤坏死因子(TNF)。结果 ①皮质醇水平发作组较正常组明显升高,差异显著($P<0.01$),对照组较正常组明显下降($P<0.01$),低压缺氧组较对照组显著升高($P<0.01$),与正常组差异不显著($P>0.05$)。②BALF中EOS:发作组较正常组明显升高($P<0.01$),低压缺氧组较对照组明显减少($P<0.05$),低压缺氧组与正常组无显著差异($P<0.05$)。③BALF中肿瘤坏死因子:发作组较正常组显著增加($P<0.01$),对照组较正常组明显增加($P<0.05$),低压缺氧组与对照组差异无显著性。结论 低压缺氧治疗哮喘豚鼠后血浆皮质醇水平升高,BALF中EOS数目减少,TNF在哮喘发病过程中有显著的变化,而低压缺氧处理后无显著的变化。皮质醇水平升高和EOS数目减少可能是低压缺氧治疗哮喘的机制。

关键词:低压缺氧;哮喘;皮质醇;嗜酸性粒细胞;肿瘤坏死因子
中图法分类号:R392.11;R562.25;R845.22 文献标识码:A

Effects of hypobaric hypoxia on cortisol, eosinophils and TNF in asthmatic guinea pigs during remission stage

GUI Qin, KONG Xiang-ying, BAI Jia-si (Department of pediatrics, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chong Qing 400038, China)

Abstract: **Objective** To explore the effects of hypobaric hypoxia on cortisol, eosinophils and TNF in asthmatic guinea pigs during remission stage. **Methods** After the model of asthma was established by ovalbumin(OA) challenge in OA sensitized guinea pig, animals were randomized into the asthmatic group(AG), non-hypobaric group(NHHG), hypobaric hypoxia group (HHG) and normal group(NG). Levels of plasma cortisol, number of eosinophils(EOS) and tumor necrosis factor(TNF) in bronchoalveolar lavage fluid(BALF) were determined. **Results** ①The level of plasma cortisol was significantly lower in NHHG than in HHG ($P<0.01$). ②The number of EOS was highest in AG and was significantly lower in HHG than in NHHG ($P<0.05$) ③The level of TNF in BALF was higher in AG, but in HHG it was no significant difference with NHHG. **Conclusion** After dealing with hypobaric hypoxia, the level of plasma cortisol, the number of EOS in BALF decrease markedly and TNF increase significantly in asthmatic animals.

Key words: hypobaric hypoxia treatment; asthma; cortisol; eosinophil; TNF

哮喘是以嗜酸性粒细胞、肥大细胞反应为主的气道慢性炎症,是我国儿童的常见病。近年来,哮喘发病率日益增加。尽管数10年来国内外学者对哮喘的治疗进行大量的研究,但迄今尚无理想的治疗方法。全国儿童哮喘疾病流行病学调查发现高原地区哮喘发病率最低(0.1%)[1]。高原气候疗法取得肯定疗效[2,3],国内外低压缺氧治疗哮喘[4]和常压缺氧治疗哮喘[5]均有报道,但是治疗机制尚不清楚,需进一步研究探讨。本研究采用豚鼠哮喘模型,观察低压缺氧处理后血浆皮质醇和支气管肺泡灌洗液嗜酸性粒细胞(EOS)和肿瘤坏死因子的变化,以期探讨低压缺氧对哮喘的机制。

1 材料和方法

1.1 哮喘豚鼠动物模型制作及治疗

采用第三军医大学实验动物中心提供的健康豚鼠(动物合格证:医动字第310102011号1997年)44只,雌雄不限,体重150~200 g,随机分为4组,每组11只。①正常组:每只豚鼠常规皮肤消毒后腹腔注射生理盐水1 ml,2周后将豚鼠置入半密闭有机玻璃容器内,将生理盐水加入超声雾化器内进行雾化喷入,任动物自行吸入30 min后取后,24 h后采集标本。②哮喘发作组:参照文献[6]制作哮喘模型。每只豚鼠常规皮肤消毒后腹腔注射10%卵蛋白生理盐水1 ml。2周后将致敏豚鼠放入半密闭的有机玻璃容器内,将1%卵蛋白生理盐水加入超声雾化器内,行超声雾化,任动物自行吸入30 min后诱发哮喘发作,于激发后24 h采集标本。③低压缺氧组:致敏诱喘方法同哮喘发作组。诱喘后第2天将豚鼠置于低压舱内,以3~5 m/s的速度减压到3 000 m,在舱内维持2 h,然后以同样速度加压,恢复到正常大气压,每日1次,共10次一疗程,于第10天治疗结束后立即采集标本。④哮喘对照组:致敏诱喘方法同哮喘发作组,但发作后不给予任何处理,作为观察对照,在哮喘发作后第11天采集标本。实验时体重300~400 g。

1.2 检测指标及方法

1.2.1 血浆皮质醇测定 采用放射免疫法测定。

1.2.2 支气管肺泡灌洗液(BALF)中嗜酸性粒细胞(EOS) ①麻醉后分离出气管,剪开气管并用适宜的导管插入气管内约1 cm固定,缓慢向导管内用无菌生理盐水10 ml×3进行灌洗,稍停留后轻轻回抽,回收率应>50%方能用于BALF细胞学分析,将所得支气管肺泡灌洗液离心(400× g,10 min),弃掉上清

作者简介:桂 芹(1964—),女,重庆市人,博士研究生,主治医师,主要从事小儿哮喘方面的研究 电话:(023)68752985

收稿日期:2001-06-25;修回日期:2001-11-02

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

液, 沉淀细胞用 Hanks 液洗 3 次, 最后收集细胞, 用 EOS 稀释液进行 EOS 绝对计数。

1.2.3　TNF 水平测定　　采用 L-929 细胞生物学活性法略加改良。将消化传代的 L-929 细胞加待测支气管肺泡灌洗液, 在 511 型酶标分析仪上测定 L-929 细胞的溶解度。

1.3　统计学处理

结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示。数据用 SPLM 统计分析软件包进行统计学分析处理, 采用 t 检验。

2　结果

2.1　血浆皮质醇的变化

哮喘发作组血浆皮质醇水平明显高于正常组($P<0.01$), 随着病程延长, 对照组皮质醇明显低于正常组($P<0.01$), 经低压缺氧处理后, 皮质醇水平明显升高, 与正常组相差无显著性($P>0.05$), 且明显高于对照组($P<0.01$), 见表 1。

2.2　支气管肺泡灌洗液中 EOS 计算

将从 4 组实验动物获得的 BALF 用于 EOS 计数, 哮喘发作组 EOS 明显高于对照组($P<0.01$), 治疗($P<0.01$)和正常组($P<0.01$), 对照组仍明显高于正常组($P<0.01$), 低压缺氧组 EOS 较对照组减少($P<0.05$), 见表 1。

2.3　支气管肺泡灌洗液中 TNF 的变化

哮喘发作组的 TNF 水平高于正常组($P<0.01$)和哮喘对照组($P<0.05$); 哮喘对照组的 TNF 水平高于正常组($P<0.01$); 哮喘发作组经低压舱处理 10 d, 其 BALF 中的 TNF 水平较哮喘对照组差异不显著, 见表 1。

表 1　低压缺氧对哮喘豚鼠皮质醇($\mu g/L$)、EOS 计数($1\times10^7/L$)和 TNF 的变化

Tab 1　Effects of hypobaric hypoxic on the changes of costisol, EOS and TNF in asthmatic guinea pigs

Group	n	Costisol	EOS	TNF
NG	8	676.3±272.603	5.563±1.898	80.00±15.12
AG	8	1 776.849±561.761△	38.250±8.211△	222.86±71.58△
NHHG	8	170.801±67.5379△	9.875±3.079△	180.00±28.28△
HHG	8	630.569±301.611※	6.188±1.907※※	108.59±38.05

△: $P<0.01$ *vs* normal, ※: $P<0.01$, ※※: $P<0.05$ *vs* NHHG

3　讨论

3.1　低压缺氧对血浆皮质醇的影响

血浆皮质醇分泌增多是应激最重要的一个反应, 是机体对抗有害刺激起着极为重要的作用。生理浓度的糖皮质激素(GC)对许多化学介质的生成、释放和激活具有抵制作用, 使之不发生过强的变态反应[7]。本实验哮喘发作组在激发哮喘后血浆皮质醇明显地高于正常组, 也就说明抗原物质作为应激原攻击机体引起其强烈应激反应, 因而哮喘发作组皮质醇水平的升高也是机体一种重要的防御反应。但当强烈的抗原成分刺激机体时, 上述炎症介质生成过多超过了 GC 的对抗就导致哮喘疾病的发生, 因为此时防御反应有一定限度, 随着病程延长, 如不及时给予治疗则 GC 消耗。本研究发现哮喘对照组皮质醇水平明显下降, 如同临床上哮喘缓解期病人皮质醇水平降低多于皮质醇水平升高者一样[8], 提示出现 GC 消耗。低压缺氧同其它应激反应一样, 可引起皮质醇分泌增多。急性低氧引起肾上腺皮质功能增强, 主要是通过外周化学感受器的刺激, 反射性引起下丘脑释放促肾上腺皮质激素释放因子(CRF)和垂体释放 ACTH 增多, 继而使肾上腺皮质激素分泌增多。本实验低压缺氧处理后血浆皮质醇水平升高, 说明哮喘豚鼠下丘脑-垂体-肾上腺轴对低氧刺激反应调节功能仍存在, 其结果与高原气候治疗引起皮质醇升高相同[9], 并且高水平皮质醇对哮喘机体有重要保护作用。内源性皮质激素可抑制肺组织 EOS 浸润, 并且抑制过敏原激发迟性哮喘反应时白三烯(LTS)释放和血 EOS 增加, 气道高反应性增加[10]和抵制抗原诱导气道收缩和微血管渗漏。内源性糖皮质激素对哮喘发病过程中许多环节有重要的调控作用。

3.2　低压缺氧对 BALF 中 TNF 的影响

支气管哮喘的病理基础是慢性气道炎症, 目前认为细胞因子与炎症的关系较为密切。TNF 是一种由巨噬细胞分泌的肽类炎症介质, 是哮喘炎症过程中重要的启动因子, 是气道强而有力的刺激剂, 可诱导一系列细胞因子的产生。如 IL-8, GM-CSF 分泌增加, 从而进一步趋化炎性细胞并释放 LTs, PAF, 碱性蛋白等, 引起气道上皮细胞脱落等炎症改变。已发现哮喘病人的 BALF 中白细胞分泌的 TNF 增加, 经植物血凝素等刺激后, 其分泌进一步呈数量级增加[11]。本实验结果表明哮喘发作期豚鼠 BALF 中的 TNF 显著增高($P<0.01$), 可能是过敏原直接刺激巨噬细胞分泌 TNF 或经树突状细胞摄取后, 递呈给 T 细胞, 使其激活, 产生更多的 TNF, 导致发作期气道炎症加重。说明 TNF 在速发性哮喘发作过程中起作重要的作用。在哮喘缓解期 TNF 有所下降, 但较正常组仍较高。通过低压缺氧后, 其 TNF 水平有显著的下降, 但其与对照组相比差异不显著, 可能与 TNF 在哮喘迟发性反应中不是主要的细胞因子有关。

3.3　低压缺氧对 BALF 中 EOS 的影响

正常情况下 EOS 占外周血白细胞 2%~3%, 而哮喘时 EOS 增多且与疾病严重程度密切相关。EOS 可产生白三烯和血小板活化因子(PAF), 导致支气管痉挛、粘液分泌增多。目前 EOS 被认为是哮喘气道炎症的主要效应细胞[12]。本实验通过测定 BALF 中 EOS 发现, 在哮喘发作时 BALF 中 EOS 显著增加, EOS 中肺内聚集与抗原触发的趋化作用有关。在哮喘对照组 BALF 中 EOS 较正常组仍明显增加, 说明哮喘缓解期 EOS 仍处于高水平状态。通过低压缺氧处理后 BALF 中 EOS 较对照组显著减少, 说明低压缺氧减少了 EOS 在支气管肺组织的浸润。众所周知, 健康机体在呼吸低压氧时出现外周血嗜酸性粒细胞减少, 血液中 EOS 的含量下降甚至为零的程度, 且与低氧的程度呈正比; 随着机体对这种状况的适应而开始恢复, 但不能达到呼吸低压氧发生前的水平。本实验 BALF 中 EOS 减少可能系低压缺氧处理后皮质醇增加, 导致外周血 EOS 数目减少, 从而减少肺组织 EOS 的浸润。

总之, 本研究结果显示低压缺氧处理哮喘缓解期豚鼠后其血浆皮质醇水平显著增高, 明显减少 BALF

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

中 EOS 数量，对哮喘发生的主要效应细胞产生调控作用，对改善气道炎症起重要作用。本研究结果也说明 TNF 是哮喘急性发作的重要炎性介质。作者在进行动物研究的同时，也对哮喘缓解期儿童进行低压缺氧治疗的临床研究，文献[13]认为该研究有广阔的临床应用前景。但目前对哮喘缓解期的治疗例数不是太多，有必要对其进行更深入的研究。

参考文献：

[1] 中华医学会十一届儿科学术会议专业工作委员会及呼吸学组学术总结[J]. 中华儿科杂志, 1994, 32(2): 67.
[2] Vanvelzen E, Vandenbos J W, Bwnckhuijsen J A, *et al*. Effect of allergen avoidance at high altitude on direct and indirect bronchial hyperresponsiveness and markers of inflammation in children with allergic asthma[J]. Thorax, 1996, 51(6): 5 824—5 830.
[3] Piacentini G L, Martinatic C, Fornari A, *et al*. Antigen aviodance in a mountain environment influence on basophil releasability in chileren with allergic asthma[J]. J Allergy Clin Immumol, 1993, 92(5): 644—650.
[4] Maslov V V, Shtorm A A, Klevtsov V I. The prevention and treatment of periodontal diseases in bronchial asthma patients undergoing a course of treatment in a hypoxia barochamber[J]. Stomatologiia Mosk, 1990, 69(11): 29—31.
[5] Silvestvo V P, Kovalenko E A, Krysin Ius. Pulsed hypoxia in the treatment of obstructive lung disease[J]. Ter Arkh, 1993, 65(3): 9—12.
[6] 郭鹞主编. 人类疾病的动物模型第一辑[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982. 246—250.
[7] Caulfild J P. A morphometric study of normodense and hypodense human eosinophils that are derived in vive and *in vitro*[J]. Am J Path, 1990, 137: ( )27—41.
[8] 陈坤华, 张儒谊, 徐 达, 等. 小儿喘息性疾病的血清皮质醇测定[J]. 实用儿科临床杂志, 1989, 4(6): 324—345.
[9] Cogo A, Basnyat B, Legnani D, *et al*. Bronchial asthma and airway hyperresporsiveness at high altitude[J]. Respiration, 1997, 64(6): 444—449.
[10] De Bie T J, Hessel E M, Van Ark, *et al*. Effect of dexamethasone and endogenous corticosterone on airway hyperrespponsiveness and eosinophilia in the mouse[J]. Br J Pharmacol, 1996, 119(7): 1 484—1 490.
[11] Aggarwal B B, Kohr W J, Hass P E, Huamn tumor neorosis factor: production, purification and characterization[J]. J Biol Chem, 1985, 260(11): 2 345—2 350.
[12] Wardlaw A. The eosinophil: new insights into its function in human herlth and disease[editorial][J]. J Pathol, 1996, 179(4): 355—357.
[13] 桂 芹, 孔祥英, 沈玉菊, 等. 低压缺氧对哮喘缓解期儿童治疗的临床研究[J]. 重庆医学, 2000, 29(1): 18—20.

（编辑 陈聪连）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2001)11-1298-02

脑出血患者医院感染的危险因素探讨

Exploration on the risk factors of nosocomial infection in patients with intracerebral hemorrhage

丁 宇 （第三军医大学附属西南医院神经内科，重庆 400038）

我们采取回顾性调查的方法，对我院 1995 年 6 月 1 日至 1999 年 12 月 31 日住院的 469 例脑出血患者发生医院感染的情况进行调查分析，从中找出脑出血并发医院感染的危险因素。

1 材料与方法

1.1 病例选择

1995 年 6 月 1 日—1999 年 12 月 31 日在神经内科住院的脑出血患者 469 例（男 303 例，女 166 例）。年龄 30～86 岁，平均（57.6±12.8）岁。按全国医院感染的诊断标准[1,2]，医院感染患者均为入院 48 h 后发病，经病原学和辅助资料证实有感染者。

1.2 调查内容与方法

设计调查表，内容包括患者年龄、性别、感染发生部位、感染季节分布、住院时间及与卧床的关系等。对每份病例有关医院感染的资料进行记录，综合分析。

1.3 统计学处理

采用 χ^2 检验进行统计学分析。

2 结果

2.1 医院感染率

确定为医院感染者 64 例（男 38 例，女 26 例），71 例次。年龄 38～88 岁，平均（68.4±10.3）岁。医院感染率为 13.65%，例次感染率为 15.14%。

2.2 感染部位分布

见表 1。

表 1 感染部位分布及构成比

感染部位	例数	感染率
下呼吸道	22	30.99
泌尿道	16	22.54
上呼吸道	10	14.08
胃肠道	8	11.27
皮肤软组织	4	5.63
口腔	2	2.82
其他	9	12.68
合计	71	100.00

2.3 年龄、性别与感染部位的分布

在 71 例次感染中，男性患者感染构成比明显高于女性患

（下转 1302 页）

作者简介：丁 宇（1965—），女，江苏省镇江市人，主管护师，主要从事神经系疾病的临床护理工作，发表论文 10 篇。电话：(023)68754000-73070

收稿日期：2001-04-17；修回日期：2001-06-18

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net