

表 1 3 h时各组血清心肌酶活性比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

U/L

组别	CK	CK-MB	LDH	HBDH	AST
A	235.25 ± 74.32	186.75 ± 75.87	633.50 ± 225.61	266.00 ± 103	109.00 ± 23.42
B	296.65 ± 65.74	235.50 ± 105.48	687.75 ± 285.76	476.50 ± 284.06	131.75 ± 14.41
C	481.75 ± 390.15	409.50 ± 389.32	878.00 ± 474.69	276.75 ± 129.47	143.75 ± 36.23
D	1 260.75 ± 391.83 <sup>△</sup>	759.75 ± 213.32	954.75 ± 440.37	295.50 ± 119.30	187.00 ± 25.13 <sup>▲</sup>
E	2 311.75 ± 584.80 <sup>△</sup>	1 531.00 ± 589.13 <sup>△</sup>	968.00 ± 420.52	371.25 ± 77.88	234.75 ± 6.70 <sup>△</sup>

经方差分析和 LSD 检验, 与 C 组比较,  $\Delta P < 0.01$   $\blacktriangle P < 0.05$

应斌宇<sup>[2]</sup>等发现毒鼠强轻度中毒无抽搐及缺氧症状, 血清酶活性与对照组比较无统计学意义, 本实验符合毒鼠强轻度中毒模型。乙酰胺, 又称解氟灵, 其剂量程用法为肌肉注射本品 0.1~0.3 g/kg 日分 2~4 次。危重病例可一次肌肉注射 5.0~10 g 并须维持 5~7 d 为宜<sup>[3]</sup>。黄汉林<sup>[4]</sup>等实验表明单用乙酰胺的毒性很小, 有人尝试首剂足量乙酰胺静脉注射和静脉滴注维持的方法治疗急性氟乙酰胺中毒并取得临床效果<sup>[5,6]</sup>。毒副反应为偶可引起血尿<sup>[6]</sup>及过敏反应<sup>[7]</sup>。文献记载乙酰胺虽不会引起心肌酶升高<sup>[8]</sup>, 但报道发现小量短期肌肉注射有短暂心肌损伤的副作用<sup>[9]</sup>。而本实验乙酰胺临床最大量和超大量 CK、CK-MB 与 NS 治疗组差异有统计学意义, 考虑可能与造成心肌毒性损伤或乙酰胺的局部肌肉刺激有关<sup>[3]</sup>。AST 在心肌含量最多, 又与 NS 治疗组有统计学差异, 不能排除毒鼠强轻度中毒时乙酰胺临床最大量或超大量造成心肌损伤的可能性。各项检测指标都呈一过性 (1 周内完全恢复), 是否存在心肌损伤, 有待于检测心肌损伤特异性标志物。

参考文献:

[1] 卢毅然, 张艳, 李海芳. 乙酰胺治疗两种灭鼠药中毒的临床观察 [J]. 河南职工医学院学报, 2002, 14 (3): 235-236.  
 [2] 应斌宇, 张素勤, 陈连辉. 急性四次甲基二砷四胺中毒患者血清酶检测分析 [J]. 中华内科杂志, 2001, 40 (3): 203-204.  
 [3] 陈新谦, 金有豫, 汤光. 新编药理学 [M]. 15 版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 793-794.  
 [4] 黄汉林, 唐小江, 刘师琪, 等. 乙酰胺对大鼠心肌酶的影响 [J]. 中国工业医学杂志, 1999, 12 (4): 217-218.  
 [5] 张万儒, 李岐, 马睿. 静注乙酰胺治疗重度氟乙酰胺中毒的体会 [J]. 内科急危重症杂志, 2002, 8 (4): 218.  
 [6] 马国玲. 静脉滴注乙酰胺治疗氟乙酰胺中毒 [J]. 职业与健康, 2003, 19 (9): 151.  
 [7] 高树明, 范盛山. 肌注解氟灵致过敏反应一例 [J]. 中国乡村医药杂志, 2003, 10 (3): 47.  
 [8] 李文汉, 胡仪言. 儿科临床药理学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 389.  
 [9] 陈明云, 谏伦菊, 廖丹平. 乙酰胺对心肌酶谱的影响 [J]. 西北药学杂志, 2005, 20 (1): 34-35.

## 高压氧对减压病小鼠肺组织炎性细胞因子含量的影响

Effects of hyperbaric oxygen on content of inflammatory cytokines in lung tissue of mice with decompression sickness

王国忠, 高春锦\*, 葛环

WANG Guo.zhong, GAO Chun.jin\*, GE Huan

(首都医科大学附属北京朝阳医院高压氧科, 北京 100020)

**摘要:** 为探讨高压氧对减压病小鼠肺组织炎性细胞因子 IL-1 $\beta$  和 IL-10 含量的影响, 将小鼠随机分为正常对照组、减压病组和高压氧组。减压病组和高压氧组小鼠经 600 kPa 压缩空气暴露后, 用 1 m<sup>3</sup> 快速减压至常压。高压氧组小鼠在快速减压 1 h 后接受高压氧处理。用酶联免疫吸附法检测减压病组和高压氧组小鼠在快速减压 6 h 后以及正常对照组小鼠肺组织 IL-1 $\beta$  和 IL-10 含量。结果显示, 减压病组小鼠肺组织 IL-1 $\beta$  含量显著高于正常对照组 ( $P < 0.01$ ); 高压氧组小鼠肺组织 IL-1 $\beta$  含量显著低于减压病组 ( $P < 0.05$ )。正常对照组、减压病组和高压氧组之间小鼠肺组织 IL-10 含量差异无统计学意义, 均  $P > 0.05$  提示减压病早期小鼠肺组织存在促炎细胞

因子和抗炎细胞因子之间的失衡, 高压氧可有效降低促炎细胞因子水平, 有助于减轻快速减压后继发性肺损伤。

**关键词:** 高压氧; 减压病; 小鼠; 肺组织; IL-1 $\beta$ ; IL-10

**中图分类号:** R459.6 **文献标识码:** B

**文章编号:** 1002-221X(2009)05-0366-03

减压病是一种因机体在高压环境下停留一定时间后快速回到常压下, 导致溶解于身体组织和体液中的气体形成气泡而发生的疾病, 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<sup>[1]</sup>。炎症反应是减压病发生发展过程中的重要因素, 有报道认为快速减压可以诱发全身炎症综合征 (SRS)<sup>[2]</sup>。本研究应用酶联免疫吸附法观察高压氧对减压病小鼠肺组织炎性细胞因子白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 和白细胞介素-10 (IL-10) 含量的影响, 以进一步探讨高压氧治疗减压病的疗效机制。

收稿日期: 2009-07-06

作者简介: 王国忠 (1966-), 男, 医学博士, 副主任医师, 主要从事高压氧治疗缺血缺氧性疾病的临床与基础研究。

\* 通讯作者。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物和分组

雄性 BALB/c 小鼠 (25~30 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 3组, 正常对照组 7只、减压病组 7只、高压氧组 7只。

### 1.2 主要试剂和仪器

小鼠 IL-1 $\beta$ 、IL-10 ELISA试剂盒均为美国 ENDOGEN公司产品; 考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒为南京建成生物工程研究所产品。MK2型酶标仪为芬兰 Lab systems 公司产品; DWC80-240型动物实验舱为上海 701所氧舱厂产品。

### 1.3 减压病动物模型建立

参照文献 [3] 建立减压病小鼠模型。BALB/c 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 (6ATA), 维持压力 60 min 后, 用 1 min 时间快速减压出舱。处理时持续通气, 空气流量 1.0 L/min。

### 1.4 实验动物处理

高压氧组小鼠在快速减压出舱后置于舱旁, 观察 1 h 后置于动物实验舱内, 纯氧洗舱 5 min 升压 5 min 至 0.2 MPa (2ATA) 后稳压, 吸纯氧 45 min 减压 10 min 出舱。处理时持续通风, 氧流量 1.0 L/min 舱内氧浓度保持在 99% 以上。正常对照组和减压病组小鼠置于动物实验舱内, 处于常压空气环境中。

### 1.5 标本制备和检测方法

高压氧组小鼠在快速减压 6 h 后以脊椎脱臼法处死 (其他各组小鼠在相应时间点处理), 迅速取出左侧肺组织, 用预冷的生理盐水冲洗, 滤纸吸干后称重, 按比例 (1 ml/100 mg 肺组织) 加入预冷的匀浆液, 冰浴中匀浆 3 min, 4℃ 下 15 000 g/min 离心 10 min, 取上清液置于 -70℃ 冰箱中保存待测。采用 ELISA 双抗夹心法严格按试剂盒说明操作, 检测上清液中 IL-1 $\beta$  和 IL-10 含量; 并采用考马斯亮蓝蛋白测定法严格按试剂盒说明操作, 检测上清液中蛋白含量; 最后换算出每克蛋白中细胞因子含量 (pg/g)。

### 1.6 统计学处理

用 SPSS11.5 统计软件处理, 数据以均数  $\pm$  标准差表示, 组间均数比较采用方差分析和  $\chi^2$  检验。

## 2 结果

减压病组小鼠肺组织 IL-1 $\beta$  含量显著高于正常对照组 ( $P < 0.01$ ); 高压氧组小鼠肺组织 IL-1 $\beta$  含量显著低于减压病组 ( $P < 0.05$ ), 仍显著高于正常对照组 ( $P < 0.05$ )。正常对照组、减压病组和高压氧组之间小鼠肺组织 IL-10 含量差异无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。见表 1。

表 1 高压氧对减压病小鼠肺组织 IL-1 $\beta$  和

IL-10 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ) pg/g

组别	n	IL-1 $\beta$	IL-10
正常对照组	7	177.79 $\pm$ 58.08	221.17 $\pm$ 76.57
减压病组	7	353.28 $\pm$ 84.04**	276.85 $\pm$ 85.94
高压氧组	7	272.64 $\pm$ 66.78* $\Delta$	289.49 $\pm$ 92.07

与正常对照组相比, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ; 与减压病组相比,  $\Delta P < 0.05$

## 3 讨论

IL-1 是局部或全身炎症反应中起重要作用的促炎细胞因子, 它包括 3 个氨基酸序列高度同源的蛋白质 IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-1 受体拮抗剂 (IL-1ra)。体内许多细胞如单核巨噬细胞、树突状细胞、B 细胞、嗜中性粒细胞、支气管和肺泡上皮细胞等均可合成和分泌 IL-1。IL-1 $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  具有相同的生物学活性, 但由于 IL-1 $\beta$  能通过远距分泌作用于靶细胞, 故 IL-1 $\beta$  在炎症反应的过程中发挥更为显著的作用, 如诱导细胞黏附分子表达、激活免疫细胞产生多种细胞因子、促进兴奋性氨基酸和自由基等神经毒性物质的产生和释放<sup>[4,5]</sup>。IL-10 是一种多功能、多细胞源性的抗炎细胞因子, 在抑制炎症反应中发挥着关键的作用, IL-10 由 T 细胞、B 细胞、单核细胞和巨噬细胞等合成分泌, 主要功能包括抑制炎症细胞的黏附浸润、抑制各种促炎细胞因子如肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF $\alpha$ )、IL-1 和 IL-6 等因子的产生<sup>[6]</sup>。炎症细胞因子失控性释放可导致局部器官甚至远隔器官的组织损伤。

减压病发生的根本原因是体内气泡形成 (主要是氮气), 它通过压迫、直接刺激、血管栓塞、气泡表面活性作用导致局部或全身器官的功能变化和病理性损伤。轻型减压病多见肢体疼痛、皮肤瘙痒等症状, 重型减压病常累及呼吸系统和中枢神经系统<sup>[1,7]</sup>。王海涛等<sup>[8]</sup>将大鼠置于动物实验舱内, 以极快速方式从常压 (0.1 MPa) 减压至 0.015 MPa, 然后再恢复到常压; 发现极快速减压 30 min 后大鼠出现急性肺损伤, 肺泡结构明显破坏、融合, 肺泡壁水肿增厚, 肺泡腔内可见明显的嗜伊红染色的水; 并发现支气管肺泡灌洗液中 TNF $\alpha$  含量明显增高。Beyer 等<sup>[2]</sup>报道快速减压 6 h 后大鼠肺组织 E 选择素、L 选择素、细胞间黏附分子 1 (ICAM-1) 蛋白表达以及血清 TNF $\alpha$ 、IL-1 和 IL-6 水平明显增高, 细胞黏附分子是炎症反应网络中的重要环节。本研究发现减压病组小鼠在快速减压 6 h 后肺组织 IL-1 $\beta$  含量明显增高, 亦提示快速减压可促进促炎细胞因子产生或释放; 但 IL-10 含量较正常对照组无明显变化, 而 IL-10 有抑制过度炎症反应的作用, 曾有动物实验发现补充 IL-10 可以有效减轻肺缺血再灌注损伤。

高压氧是治疗减压病的一种主要方法, 它首先起到再加压治疗作用, 使体内气泡缩小和溶解, 另一方面可以提高血氧分压、改善组织缺氧, 高压氧的抑制炎症反应作用也屡有报道。Benson 等<sup>[9]</sup>发现脂多糖、脂质 A 植物血凝素、TNF $\alpha$  均可刺激人单核巨噬细胞合成 IL-1 $\beta$ , 但若在刺激后经高压氧处理则可以使 IL-1 $\beta$  合成分别降低 23%、45%、68%、27%。朱祥祺等<sup>[3]</sup>发现高压氧对快速减压后大鼠肺组织氧自由基增殖有显著抑制作用, 有助于减轻肺组织损伤。本研究结果表明减压病早期小鼠肺组织存在促炎细胞因子和抗炎细胞因子之间失衡, 高压氧则可有效降低促炎细胞因子水平, 有助于恢复炎症介质之间的平衡, 减轻肺组织损伤。推测若采用高压氧合并使用抗炎细胞因子的综合疗法则疗效可能会更好, 有待进一步研究。

(下转第 379 页)

视、不配合、不落实。

### 2.3 监测情况

除少数船舶修造企业委托本市唯一一家职业卫生技术服务机构进行零星的有毒有害物质检测外, 都没有按规定建立自我检测系统和检测制度。

### 2.4 存在问题

2.4.1 预防性卫生监督 and 职业病危害项目预评价和控制效果评价工作尚未列入政府规定的审查程序 截至 2008年 11月, 预防性卫生监督 and 职业病危害项目预评价和控制效果评价工作尚未列入政府规定的审查程序。我市没有一家船舶修造企业开展建设项目职业病危害预评价和职业病危害控制效果评价, 导致作业场所布局不合理, 未配备必要的防护设施, 有毒作业和无毒作业场所未分开等。新建、扩建、改建建设项目和技术引进项目中可能产生职业病危害的企业, 发生职业病的隐患始终存在。

2.4.2 职业病危害未引起用人单位足够的重视, 劳动者健康得不到有效的保障 目前只有少数大型国有船舶修造企业有专职人员负责职业卫生工作, 对从事接触职业性有害因素的工人开展了上岗前、在岗期间的职业性健康体检外, 绝大多数船舶修造企业基本未开展劳动者上岗前、在岗期间和离岗前的职业健康检查工作。船舶修造企业与外包公司之间相互推诿责任, 使得职业病防治工作与职业健康检查得不到有效落实, 一旦有职业病发生, 劳动者健康得不到应有的保障。船舶修造企业外包公司和劳动者大多来自经济相对落后地区, 普遍对职业病缺乏足够的认识, 企业在职业病防治工作中应承担的责任不清, 劳动者在职业活动中对职业危害因素缺乏了解, 得不到应享有的权利。目前尚无一家企业制订预防急性职业中毒处置的应急预案和措施。如果作业工人长期在恶劣的环境下工作, 极易引起职业病的发生。一旦发生急性职业中毒, 也难以进行有效的救治, 工人的健康和安全得不到有效保障。

2.4.3 职业卫生监督力量不足, 职业卫生技术服务机构服务能力不能满足需求 2007年舟山市临港工业总产值占工业总产值比重为 66.9%, 其中船舶修造业占工业总产值比重为 30.0%, 船舶工业成为比重最高、增长最快的行业。但舟山市卫生监督机构目前没有设立职业卫生专门科室, 仅有 1名

人员从事职业卫生监督工作, 兼职的监督员仅为 4名, 无法适应日益繁重的职业卫生监督工作的开展。目前舟山市有职业卫生技术服务机构资质的仅为 1家, 有职业健康体检资质的 2家, 有职业健康体检与诊断资质的 1家, 远远满足不了当前职业健康体检和职业性危害因素检测工作需要。

### 3 防治对策

#### 3.1 加大职业病防治宣传力度, 提高劳动者的法律意识

要提高企业法人代表和劳动者的法律意识, 特别是船舶修造企业外包工的法律意识, 通过组织开展多种形式的宣传、培训、座谈, 学习《中华人民共和国职业病防治法》等相关法律法规, 进一步提高企业法人的自觉守法意识, 牢固树立以人为本的理念。

#### 3.2 将预防性卫生监督 and 职业病危害项目预评价和控制效果评价工作纳入政府规定的审查程序

加强新、改、扩建职业病危害企业的预防性卫生监督工作, 是从源头上消除和控制职业病危害的关键, 是职业病防治工作最有效、最经济的措施, 是职业病防治工作的首要环节, 卫生部门应积极做好政府的参谋, 与相关职能部门协商, 尽快将企业的新、改、扩建设项目纳入政府行政审核范围。

#### 3.3 加强对船舶修造企业的监督指导

卫生监督部门要加强对职业病危害企业的监督指导工作, 特别是船舶修造企业, 要主动改变工作方式, 针对企业在职业病防治工作中所存在的问题, 提出指导性意见, 帮助企业整改, 对不积极主动配合、不采取整改措施的企业必须实施行政处罚, 并建立起有效的船舶修造业职业卫生监督模式, 为企业的长远发展, 为保障劳动者的健康履行卫生监督职责。

#### 3.4 加强卫生监督队伍建设, 提高突发职业卫生事件的处置能力

加强职业卫生监督队伍建设, 建立一支有一定数量的适应我市社会经济发展需要的职业卫生监督队伍, 不断提高职业卫生监督队伍的素质和技术水平, 要有应对突发性职业危害事件的应急处置队伍。

#### 3.5 健全职业卫生技术服务体系

应加强职业卫生技术服务机构和职业健康体检机构建设, 每个县区至少有一个职业健康体检医疗机构和职业卫生技术服务机构, 以满足日益增长的职业卫生服务需求。

(上接第 367页)

### 参考文献:

- [1] 高春锦, 杨捷云, 翟晓辉. 高压氧医学基础与临床 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 84-96.
- [2] Bigley N J, Peyton H, Bowman G C et al. Inflammatory cytokines and cell adhesion molecules in a rat model of decompression sickness [J]. J Interferon Cytokine Res 2008; 28 (2): 55-63.
- [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 [J]. 中华理疗杂志, 2000; 23: 353-355.
- [4] Banks J H E, Lea S R, Preshaw P M et al. The expanding family of interleukin-1 cytokines and their role in destructive inflammatory disorders [J]. Clin Exp Immunol 2007; 149 (2): 217-225.
- [5] Moynagh P N. The interleukin-1 signalling pathway in astrocytes: a

- key contributor to inflammation in the brain [J]. J Anat 2005; 207 (3): 265-269.
- [6] Mosser D M, Zhang X. Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine [J]. Immunol Rev 2008; 226: 205-218.
- [7] Butler W P. Epidemic decompression sickness: case report, literature review, and clinical commentary [J]. Aviat Space Environ Med 2002; 73 (8): 798-804.
- [8] 王海涛, 方以群, 姚健, 等. 极快速减压对大鼠肺组织的损伤作用 [J]. 环境与职业医学, 2008; 25 (6): 565-567.
- [9] Benson R M, Minter L M, Osborne B A et al. Hyperbaric oxygen inhibits stimulus-induced proinflammatory cytokine synthesis by human blood-derived monocytes and macrophages [J]. Clin Exp Immunol 2003; 134 (1): 57-62.