

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.09.007

模拟海拔 4500 米高原环境致大鼠肾脏适应性损伤的评估*

常德辉 王 振 王养民 李富东 乔够梅 杨旭凯 康印东 张 斌[△]

(兰州军区兰州总医院泌尿外科 甘肃 兰州 730050)

摘要 目的:探讨模拟海拔 4500 米高原环境致大鼠肾脏适应性损伤的情况。**方法:**通过检测模拟海拔 4500 米高原环境下大鼠血清肌酐(Scr)、中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白(NGAL)及尿蛋白,选择成年雄性 SD 大鼠 130 只,实验组 80 只大鼠通过低压氧舱模拟海拔 4500 米高原缺氧环境,对照组 50 只给予常规饲养,于 0、14、28 d 留取大鼠血液、尿液,测定 Scr、NGAL 及尿蛋白水平。**结果:**实验组 14、28 d Scr、NGAL 及尿蛋白水平较对照组明显升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$),实验组内 28 d Scr、NGAL 及尿蛋白水平较 14 d 下降趋势明显,差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:**急性缺氧早期大鼠肾发生一定适应性损伤,后期有所降低。**关键词:**NGAL;肌酐;尿蛋白;肾损伤;缺氧;高原环境;大鼠

中图分类号:R-33;R692.5 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2017)09-1628-03

Evaluation of the Simulating Plateau Environment of 4500 Meters Altitude induced Renal Adaptability Impairment in Rat*

CHANG De-hui, WANG Zhen, WANG Yang-min, LI Fu-dong, QIAO Gou-mei, YANG Xu-kai, KANG Yin-dong, ZHANG Bin[△]

(Urology Center, Lanzhou General Hospital of Lanzhou Military Region, Lanzhou, Gansu, 730050, China)

ABSTRACT Objective: To evaluate the renal adaptability impairment under the simulating plateau environment of 4500 meters altitude in rat. **Methods:** The levels of creatinine and neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) in the serum and urine protein of rat under the simulating plateau environment of 4500 meters altitude were detected. 130 male SD rats were chosen, including 80 rats as observation group (bred under low pressure oxygen tank to duplicate the model of the simulating the plateau environment of 4500 meters altitude) and 50 rats as control group (bred under common conditions). **Results:** The levels of creatinine, NGAL, and urine protein of control group at 14 and 28 d were lower than those at 14 d in the observation group ($P < 0.05$). The levels of Scr, NGAL and urine protein levels of rat at 28 d were lower than those at 14 d in the observation group. **Conclusions:** At early stage of acute hypoxia, renal adaptability impairment could be observed under the plateau hypoxia environment, which could be eased at later stage.

Key words: NGAL; Scr; Urine protein; Renal impairment; Hypoxia; Plateau environment; Rat

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R692.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)09-1628-03

前言

高海拔环境下机体内循环系统中氧分压、氧含量会降低,进而导致组织细胞缺氧并产生多个组织器官的病理状态^[1]。在高原缺氧环境下,代偿过程中的肾脏较为脆弱易损,在无有效防护措施的保护下导致肾缺氧损伤进展加重,严重时甚至导致肾功能不全或衰竭^[2]。为了进一步评估高原缺氧环境下对大鼠肾适应性的损伤,本次临床研究通过模拟和复制高原环境下大鼠肾脏缺氧适应性损伤模型,检测大鼠肾组织急性缺氧后不同时程点血清肌酐(Scr)、中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白(NGAL)及尿蛋白的变化,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物

我院动物实验科提供雄性 SD 大鼠 130 只,12~15 周龄,体重(220.6 ± 16.2)g。

1.2 主要仪器与试剂

我院高原医学研究所配置低压氧舱,日立 7600 生化分析仪及配套试剂,SIEMENS DPC IMMULITE 2000 尿蛋白排泄率检测仪及 SIEMENS 配套试剂盒。

1.3 实验方法

1.3.1 建立急性缺氧动物实验模型 利用兰州军区兰州总医院的低压氧舱模拟海拔 4500 米高原低氧环境复制缺氧动物模型,舱内温度 25℃,相对湿度 50%,按照大鼠于低压氧舱内饲养时间分为 14、28 d 两组,每组各 40 只,并进行组内对照研究,同时设置对照组大鼠 50 只,常规动物笼舍饲养,海拔 1540 m,室温及相对湿度同低压氧舱内。

1.3.2 血清 Scr、NGAL 和尿蛋白测定 于 0、14、28 d 晨 7:30

* 基金项目:全军医药卫生科研基金项目(CLLZ12J004);兰州军区 A 类课题(CLLZ12JA10);兰州军区高原攻关课题(LZ13GY01)

作者简介:常德辉,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:泌尿生殖系统肿瘤的微创治疗研究,E-mail: chdhuai@163.com

[△] 通讯作者:张斌,主治医师,研究方向:泌尿男科的基础及临床研究,E-mail: zhang-bin2003@sohu.com

(收稿日期:2016-06-10 接受日期:2016-06-30)

留取两组大鼠的中段尿和静脉血 2 mL, 3000 r/min、15 min 离心留取血清, 使用生化仪测定 NGAL 和 Scr 水平, 尿蛋白排泄率检测仪及配套试剂盒测定尿蛋白水平。

1.4 统计学方法

应用 SPSS 18.0 软件进行统计分析, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

表 1 两组大鼠 14, 28d Scr, NGAL 及尿蛋白水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison in levels of scr and NGAL and urine protein of two groups at 14, 28 d ($\bar{x} \pm s$)

Detection Indicators	14 d		28 d	
	Observation group	Control group	Observation group	Control group
Scr ($\mu\text{mol/L}$)	32.661 $\pm$ 7.040*	18.003 $\pm$ 4.121	28.554 $\pm$ 7.925 ^{&#}	17.227 $\pm$ 4.521
NGAL ($\mu\text{g/L}$)	0.155 $\pm$ 0.027*	0.073 $\pm$ 0.012	0.225 $\pm$ 0.022 ^{&#}	0.082 $\pm$ 0.006
Urine protein (g/24 h)	0.342 $\pm$ 0.071*	0.051 $\pm$ 0.006	0.276 $\pm$ 0.082 ^{&#}	0.048 $\pm$ 0.008

Note: * $P < 0.05$ vs control group on the 14th day, & $P < 0.05$ vs control group on the 28th day, # $P < 0.05$ vs observation group on the 14th day.

3 讨论

高海拔地区相对于平原地区有其特殊的环境, 当机体处于高海拔环境会引发一系列连锁反应, 机体为了缓解氧含量的不足而进行代偿, 从而产生一系列生理、心理方面的适应性改变^[3,4]。目前缺乏针对高原脱适应征的诊断依据, 因此也没有相应的评估指标和防护措施^[5,6]。本研究中实验条件系利用低压氧舱模拟海拔 4500 米高原缺氧环境, 其原理是根据血气分析的结果, 观察判断各个组织器官的功能、结构在不同时间内变化^[7,9], 其中发现缺氧环境对肾脏有一定影响, 氧化应激起关键作用^[10-12]。" 自由基 " 常产生于机体新陈代谢过程中, 其超表达往往导致抗氧化防御系统无法完全清除的情况, 就称之为氧化应激。高原缺氧环境可导致机体内氧化应激, 也是引发多个组织器官功能障碍的原因之一^[10]。本次临床研究成功完成了海拔 4500 米高原环境下大鼠缺氧模型, 发现实验组大鼠 Scr、NGAL 及尿蛋白水平总体均较对照组明显升高, 且 Scr、NGAL 及尿蛋白水平均相关, 提示肾脏对缺氧反应敏感, 并可造成一定程度损伤, 可能导致肾小球通透性或肾小管重吸收改变, 其早期的病理改变多表现为肾小球滤膜电荷选择屏障受损而引起的肾小球通透性增加及肾小管重吸收的降低。因此, 在进入高原的急进期内必须注意缺氧对组织器官的损害作用, 并采取一定的抗缺氧措施, 如口服复方红景天、复合维生素的药物和间断吸氧等, 目前其他防护措施如富氢水、雪莲提取物等尚处于临床实验阶段, 对于肾脏的保护作用也尚不明朗。而实验组内 28 d Scr、NGAL 及尿蛋白水平均较 14 d 下降趋势明显, 提示肾脏对缺氧具有一定的代偿能力, 可以逐步恢复部分受损害功能。NGAL 结构为一条含有 178 个氨基酸残基的多肽链, 是 lipocalin 蛋白家族新成员之一, 属新型脂笼蛋白, 因其不易分解的特性, 可于血清或尿液中检测。在肾脏主要表达于近曲小管, 生理状态下肾组织呈低水平表达, 近端肾小管细胞受损时, 早期 NGAL 表达水平升高, 其浓度在血清和尿液中迅速增加^[13-16]。

实验组 14, 28 d Scr、NGAL 及尿蛋白水平均较对照组明显升高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 实验组内 28 d Scr、NGAL 及尿蛋白水平均较 14 d 下降明显, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。Logistic 回归方法分析提示: 实验组 14, 28 d Scr、NGAL 与尿蛋白水平均呈正相关 (实验组 14d Scr: $r = 0.76$, $P < 0.05$, NGAL: $r = 0.79$, $P < 0.05$; 实验组 28d: $r = 0.81$, $P < 0.05$, NGAL: $r = 0.85$, $P < 0.05$)。

本研究通过对大鼠 Scr、NGAL 及尿蛋白水平的检测, 发现以上指标在缺氧 14 d 升高明显, 28 d 下降趋势明显, 验证了高原缺氧环境因素导致大鼠肾脏的适应性损伤, 其后检测指标的下降, 提示机体逐渐习服的可能。

正常情况下, 除了某些生理因素如寒冷、体位不当和剧烈运动所致生理性尿蛋白增高外, 肾小球基底膜的机械及电子屏障将尿蛋白阻留, 极少滤至肾小球囊, 同时肾近曲小管会吸收其少量滤出, 尿蛋白超量增加是肾小球滤膜屏障受损的重要标志。但自低氧环境转移至富氧环境人员肾功能适应性损伤过程中尿蛋白升高原因仍不明^[17,18]。缺氧情况下肾小管、肾小球功能的损伤已得到证实, 但首次进入高原低氧环境下肾功能损伤程度情况仍无明确的机理研究。本次临床研究发现高原适应习服过程对肾功能具有一定的影响, Scr、NGAL 及尿蛋白水平随缺氧时间延长而逐步增高, 提示缺氧初期近端肾小管细胞受损情况随缺氧暴露时间而增加, 但后期其表达水平下降, 提示机体存在对氧化应激的适应性改变^[19-22], 这一改变属于一定的代偿机制, 可以缓解肾损伤的程度, 其可能原因为 NADPH 氧化酶在缺氧情况下表达升高, 导致肾病理损伤。

总之, 缺氧肾适应性损伤发生机制涉及众多复杂因素, 本研究模拟高原急性缺氧过程中, Scr、NGAL 及尿蛋白水平的测定可作为肾损伤的评估指标, 为肾适应性损伤的研究提供了实验数据。

参考文献 (References)

- [1] Barker KR, Conroy AL, Hawkes M, et al. Biomarkers of hypoxia, endothelial and circulatory dysfunction among climbers in Nepal with AMS and HAPE: a prospective case-control study [J]. J Travel Med, 2016, 23(3): 1195-1982
- [2] 敖强国, 宋世涛, 邹慧. 高原低压低氧环境对平原健康男青年血像和肾功能影响[J]. 中华保健医学杂志, 2011, 13(6): 456-458
- Ao Qiang-guo, Song Shi-tao, Zou Hui. Impact of hypoxia environment at plateau on renal function among healthy male youth[J]. Journal of Health Care And Medicine in Chinese Pla, 2011, 13(6): 456-458

- [3] He L, Jiang Y, Su H, et al. Vascular Endothelial Function Assessed by Postischemic Diastolic Blood Pressure Is Associated with Acclimatization and Acute Mountain Sickness[J]. High Alt Med Biol, 2016, 17(1): 11-15
- [4] Johnson NJ, Luks AM. High-Altitude Medicine. Med Clin North Am [J]. 2016, 100(2): 357-369
- [5] Quigley I, Zafren K. Subtle cognitive dysfunction in resolving high altitude cerebral edema revealed by a clock drawing test[J]. Wilderness Environ Med, 2016, 10(1): 78-84
- [6] Khodae M, Grothe HL, Seyfert JH, et al. Athletes at High Altitude[J]. Sports Health, 2016, 8(2): 126-132
- [7] Horiuchi M, Endo J, Akatsuka S, et al. Prevalence of acute mountain sickness on Mount Fuji: A pilot study [J]. J Travel Med, 2016, 23(4): 1195-1982
- [8] YSh, Khalimov, Vetryakov, et al. Peculiarities of organisation and health care delivery to military servicemen under conditions of mid-and high mountains[J]. Voen Med Zh, 2016, 337(1): 29-35
- [9] He L, Jiang Y, Su H, et al. Vascular Endothelial Function Assessed by Postischemic Diastolic Blood Pressure Is Associated with Acclimatization and Acute Mountain Sickness[J]. High Alt Med Biol, 2016, 17(1): 11-15
- [10] 李西玲. 尿微量白蛋白测定对高原老年肺心病患者肾损害的早期诊断[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(18): 4603-4604
Li Xi-ling. The early diagnosis in elderly renal impairment of patients with high altitude pulmonary heart disease by of microalbuminuria[J]. Chinese Journal of Gerontology, 2013, 33(18): 4603-4604
- [11] 王琰, 努尔曼古丽, 王引虎. 进驻不同海拔高原健康男青年肾功能的变化[J]. 高原医学杂志, 2011, 21(3): 40-40
Wang Yan, Nu EMGL, Wang Yin-hu. The changes of renal function of healthy young men at different variations of altitude plateau[J]. Journal of High Altitude Medicine, 2011, 21(3): 40-40
- [12] 周齐全, 王福领, 郭鸿斌, 等. 高原低氧环境暴露对移居人群肾功能和尿液成分的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2010, 0(A10): 1972-1972
Zhou Qi-quan, Wang Fu-ling, Guo Hong-bin, et al. The effect of exposed to high altitude hypoxia environment on renal function and urine components of crowd moved[J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2010, 0(A10): 1972-1972
- [13] 吴彦氏, 杨聪. 高原慢性肾功能不全与血尿酸相关性分析[J]. 西南国防医药, 2011, 21(2): 172-173
Wu Yan-min, Yang Cong. The correlation analysis between plateau chronic renal insufficiency and serum uric acid [J]. Medical Journal of National Defending forces in Southwest China, 2011, 21(2): 172-173
- [14] Krzeminska E, Wyczalkowska-Tomasik A, Korytowska N, et al. Comparison of Two Methods for Determination of NGAL Levels in Urine: ELISA and CMIA[J]. J Clin Lab Anal, 2016, 13, [Epub ahead of print]
- [15] Oncel MY, Canpolat FE, Arayici S, et al. Urinary markers of acute kidney injury in newborns with perinatal asphyxia[J]. Ren Fail, 2016, 7(1): 1-7
- [16] Hanna M, Brophy PD, Giannone PJ, et al. S Early Urinary Biomarkers of Acute Kidney Injury in Preterm Infants [J]. Pediatr Res, 2016, 73(7): 863-869
- [17] 倪军, 王锦波, 洪刚, 等. 某部官兵赴高原训练期间尿蛋白水平变化观察[J]. 人民军医, 2013, 56(7): 753-754
Ni Jun, Wang Jin-bo, Hong Gang, et al. The level changes of urine protein in officers and soldiers at altitude training period [J]. People's Military Surgeon, 2013, 56(7): 753-754
- [18] 杨磊, 杨有利, 石自福. 尿微量蛋白联合检测对高原短期暴露人群返回低海拔地区后肾脏脱适应损伤的判定[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2014, 28(6): 572-575
Yang Lei, Yang Yuo-li, Shi Zi-fu. Combined detection of urine microprotein in the diagnosis of kidney deadaptation injury in a population back to low altitude after a short-term exposure to high altitude [J]. Journal of Practical Diagnosis and Therapy, 2014, 28(6): 572-575
- [19] Mintzer DN, Leshem E, Chazan B, et al. High altitude exposure in travelers with preexisting medical conditions[J]. Harefuah, 2015, 154(11): 725-9, 741, 740
- [20] Feddersen B, Neupane P, Thanbichler F, et al. Regional differences in the cerebral blood flow velocity response to hypobaric hypoxia at high altitudes[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2015, 35(11): 1846-1851
- [21] Levine BD. Going High with Heart Disease: The Effect of High Altitude Exposure in Older Individuals and Patients with Coronary Artery Disease[J]. High Alt Med Biol, 2015, 16(2): 89-96
- [22] Kiyamu M, León-Velarde F, Rivera-Chira M, et al. Developmental Effects Determine Submaximal Arterial Oxygen Saturation in Peruvian Quechua[J]. High Alt Med Biol, 2015, 16(2): 138-146

(上接第 1673 页)

- [18] 沙丽娜, 李楠, 王艳梅. 炎症性肠病患者自主神经功能改变[J]. 临床和实验医学杂志, 2014, 13(9): 721-723
Sha Li-na, Li Nan, Wang Yan-mei. Changes of autonomic nervous function in patients with inflammatory bowel disease [J]. J Clinical and Experimental Medicine, 2014, 13(9): 721-723
- [19] Rubio A, Pellissier S, Picot A, et al. The link between negative affect, vagal tone, and visceral sensitivity in quiescent Crohn's disease [J]. Neurogastroenterol Motil, 2014, 26(8): 1200-1203
- [20] Sun P, Zhou K, Wang S, et al. Involvement of MAPK/NF- κ B signaling in the activation of the cholinergic anti-inflammatory pathway in experimental colitis by chronic vagus nerve stimulation[J]. PLoS One, 2013, 8(8): e69424