

• 论 著 •

移居高原早期血浆同型半胱氨酸和多巴胺浓度的变化规律^{*}

罗勇军^{1,3}, 刘福玉^{2,3}, 张 青⁴, 蒋春华^{2,3}, 后显华^{2,3}, 刘 燕³, 高钰琪^{2,3△}

(1. 第三军医大学高原军事医学系高原疾病学教研室, 重庆 400038; 2. 第三军医大学高原军事医学系病理生理与高原生理学教研室, 重庆 400038; 3. 高原医学教育部重点实验室, 重庆 400038; 4. 第三军医大学基础部中心实验室, 重庆 400038)

摘 要:目的 探讨健康青年男性移居高原早期血浆同型半胱氨酸(Hcy)和多巴胺(DA)浓度的变化规律。方法 在海拔 1 400 m 某地选取 10 名拟进入海拔 4 200 m 高原的健康青年男性作为试验组, 采用 HPLC 和 LC/MS 技术检测其进入高原后 0、7、30 d 血浆 Hcy 和 DA 浓度。同时选取职业、年龄相匹配的 10 名从平原移居海拔 4 200 m 高原 90 d 的健康男性作为对照组, 测定其上述指标。结果 试验组移居高原后血浆 Hcy 浓度先升高后降低, 7 d 时血浆 Hcy 浓度显著高于 0 d 的浓度, 试验组移居高原 30 d 和对照组移居高原 90 d 时的血浆 Hcy 浓度均低于平原水平, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 试验组移居高原后血浆 DA 浓度也是先升高后降低, 试验组移居高原 30 d 和对照组移居高原 90 d 时, 血浆 DA 浓度显著低于试验组移居高原 7 d 时的浓度, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 在高原习服过程中, 血浆 Hcy 和 DA 浓度发生了变化以适应高原环境。

关键词: 习服; 半胱氨酸; 多巴胺; 色谱法, 高效液相; 质谱分析法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.03.012

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)03-0313-02

Plasma level of homocysteine and dopamine in healthy young men who moved to the plateau^{*}

Luo Yongjun^{1,3}, Liu Fuyun^{2,3}, Zhang Qing⁴, Jiang Chunhua^{2,3}, Hou Xianhua^{2,3}, Liu Yan³, Gao Yuqi^{2,3△}

(1. Department of High Altitude Disease, Chongqing 400038, China; 2. Department of Pathophysiology and High Altitude Physiology, Chongqing 400038, China; 3. Key Laboratory of High Altitude Medicine, Ministry of Education, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China; 4. Department of Centre Laboratory; Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: **Objective** To investigate the changes of homocysteine(Hcy)and dopamine(DA)in the plasma in healthy young men, who moved to the plateau. **Methods** Selected 10 men in a 1 400 m place, 5 mL of venous blood(0 d)was collected, and the plasma Hcy and DA were detected by high performance liquid chromatography or mass spectrometry. Tracking these 10 people reached 4 200 m altitude, respectively, after reaching the plateau 7 d, 30 d and then the Hcy and DA were measured. Also selected 10 work conditions, age matched men, who moved to 4 200 m for 90 d, these indexes was measured. **Results** Plasma level of Hcy in day 0 [$(8.17 \pm 2.25) \mu\text{mol/mL}$] was significantly lower than that in day 7 [$(10.84 \pm 0.94) \mu\text{mol/mL}$], $P < 0.05$, but significantly higher than that in day 30 [$(4.58 \pm 2.14) \mu\text{mol/mL}$] and day 90 [$(1.29 \pm 0.52) \mu\text{mol/mL}$], $P < 0.05$. Plasma level of Hcy in day 7 was significantly higher than that of day 30 and day 90 ($P < 0.05$), the plasma in day 30 was greater than day 90 ($P < 0.05$) also. Plasma level of DA in day 7 [$(3.233 \pm 0.908) \text{pg}/\mu\text{L}$] was significantly higher than day 30 [$(2.495 \pm 0.205) \text{pg}/\mu\text{L}$], $P < 0.05$ and day 90 [$(2.39 \pm 0.204) \text{pg}/\mu\text{L}$], $P < 0.05$. **Conclusion** After moved to high land, Hcy and DA in the plasma can changed to adapt the hypoxia conditions.

Key words: acclimatization; cysteine; dopamine; chromatography, high performance liquid; mass spectrometry

高原环境影响人体的主要因素是缺氧, 平原人进入高原后, 机体在神经-体液调节下发生一系列的代偿适应性变化以适应高原环境, 这个过程称之为习服^[1-2]。高原红细胞增多症(high altitude polycythemia, HAPC)是一种高原习服不良的疾病。现已发现在 HAPC 中, 同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)浓度明显增加, 提示 Hcy 浓度变化在高原习服适应中发挥着重要作用^[3-4]。多巴胺(dopamine, DA)是一种中枢神经递质, 通过作用于 DA 受体产生生理作用, 进而调节躯体运动、精神活动、内分泌和心血管活动, 在高原习服中发挥着重要的作用^[2]。本文对移居高原早期血浆 Hcy 和 DA 浓度的变化进行了研究, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 在海拔 1 400 m 某地选取 10 名拟进入海拔 4 200 m 健康青年男性作为试验组, 年龄(19.5 ± 1.24)岁, 分

别于移居高原 0、7、30 d, 采集空腹静脉血 5 mL(EDTA 抗凝), 离心(8 cm 离心半径, 4 000 r/min $\times$ 10 min), 分离血浆, -20°C 保存。同时选取职业相匹配的 10 名从平原移居海拔 4 200 m 高原 90 d 的健康男性作为对照组, 年龄(21.85 ± 2.56)岁, 采集空腹静脉血 5 mL, 相同方法分离血浆, -20°C 保存备用。

1.2 方法

1.2.1 血浆 Hcy 的测定^[5]

1.2.1.1 仪器与试剂 DL-Hcy, 三(2-羧乙基膦)[tris(2-carboxyethyl)phosphine, TCEP]购于美国 Sigma 公司; 色谱纯乙腈购于 J. T. Baker 公司, 其他试剂均为国产。美国 ESA 公司 HPLC 系统(包括 582 型液相色谱泵, Model 9725 型手动进样器, Model 5600A 型 Coularray 电化学检测器, Coularray 软件工作站 Coularray[®] for Windows[®] 32)。

^{*} 基金项目: 国家科技支撑计划(No. 2009BAI85B01)。 [△] 通讯作者, E-mail: gaoy66@yahoo.com。

1.2.1.2 HPLC 条件 RP-C18 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m, 美国 DB 公司); 流动相为 0.15 mol/L 磷酸二氢钠, 1.0 mmol/L 十二烷基磺酸钠, 10% 乙腈, 用浓磷酸将 pH 值调至 2.8, 以 0.22 μ m 滤膜过滤。流动相流速 1 mL/min, 进样量 10 μ L, 柱温为室温, 电极电压为 600 mV。

1.2.1.3 样品前处理 采用蛋白沉淀法, 100 μ L 血浆中, 加入 20 μ L TCEP, 旋涡震荡 60 s, 静置 10 min, 加入 400 μ L 0.3 mol/L 高氯酸, 旋涡震荡 30 s, 以离心半径 8 cm, 16 000 r/min 离心 5 min。取 10 μ L 上清液上样。

1.2.2 血浆 DA 的测定

1.2.2.1 仪器与试剂 DA 标准品等购自美国 Sigma 公司; Agilent 6410 Triple Quad LC/MS(美国)。

1.2.2.2 LC/MS 条件^[6] ZORBAX SB-Aq 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μ m); 流动相 A 为 0.08% 甲酸, 流动相 B 为乙腈, 采用梯度洗脱, 0~8 min, A:B=95:5; 8~9 min, B 相从 5% 逐渐升至 70%; 9~14 min, A:B=30:70; 14~15 min, B 相从 70% 逐渐降至 5%; 15~23 min, A:B=95:5; 流速 0.5 mL/min; 柱温 30 $^{\circ}$ C。质谱采用电喷雾离子源, 正离子模式, 干燥气流速 12 L/min, 干燥气温度 280 $^{\circ}$ C, 雾化气压力 45 psi, 毛细管电压 4 000 V, 扫描模式采用多离子反应监测。

1.2.2.3 样品前处理 200 μ L 血浆中加入 600 μ L 乙腈, 旋涡震荡 60 s, 静置 30 min 沉淀蛋白, 以离心半径 8 cm, 16 000 r/min 离心 15 min, 取上清液进行质谱分析检测。

1.3 统计学处理 结果数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS12.0 软件进行统计学分析, 0、7、30 d 数据比较行配对 *t* 检验, 90 d 与 0、7、30 d 数据比较行独立样本 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义, 所得的统计检验均为双侧概率。

2 结 果

试验组移居高原 0、7、30 d 后血浆 Hcy 浓度分别为 (8.17 $\pm$ 2.25)、(10.84 $\pm$ 0.94)、(4.58 $\pm$ 2.14) μ mol/mL; 对照组移居高原 90 d 血浆 Hcy 浓度为 (1.29 $\pm$ 0.52) μ mol/mL。试验组移居高原 7 d 血浆 Hcy 浓度显著高于 0 d 的浓度, 移居高原 30 d 血浆 Hcy 浓度显著低于 0 和 7 d 的浓度, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 对照组移居高原 90 d 血浆 Hcy 浓度显著低于试验组移居高原 30 d 的浓度, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。试验组移居高原 0、7、30 d 后血浆 DA 浓度分别为 (2.825 $\pm$ 0.821)、(3.233 $\pm$ 0.908)、(2.495 $\pm$ 0.205) pg/ μ L; 对照组移居高原 90 d 血浆 DA 浓度为 (2.39 $\pm$ 0.204) pg/ μ L; 试验组移居高原 30 d 和对照组移居高原 90 d 血浆 DA 浓度显著低于试验组移居高原 7 d 的浓度, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

3 讨 论

Hcy 是甲硫氨酸代谢形成的中间产物, 其代谢水平主要受环境、饮食和遗传因素的相互影响^[7]。阿祥仁等^[8]报道高原地区老年人中存在高 Hcy 血症, Hcy 通过氧化应激导致的血管内皮细胞功能障碍是许多疾病发生和发展的重要因素之一。孔丽蕊等^[9]也报道高海拔地区组 Hcy 浓度比平原组显著增高, 同时阿祥仁等^[3]研究表明 HAPC 中 Hcy 浓度明显增加, 并且与 NO 浓度和 NOS 活性呈负相关, 提示 Hcy 可能与 HAPC 的发病有关。以上结果提示, Hcy 浓度变化与高原习服密切相关。

本组发现在移居高原 7 d 时血浆 Hcy 浓度最高, 提示此时机体受到的氧化损伤最严重, 随着时间的推移, 机体对高原环境逐渐习服以及机体的代偿反应, 使血浆 Hcy 浓度逐渐降低, 在 30 和 90 d 时还低于平原水平, 提示在移居高原早期机体 Hcy 浓度较低, 这更有利于减轻氧化应激所导致的血管内皮细胞功能障碍, 促进高原习服。但随着在高原地区生活时间的延长, 食用高脂肪、高胆固醇的食物, 同时饮食中缺乏蔬菜和水果, 导致维生素 B 缺乏^[10]。维生素 B 是蛋氨酸合成酶的辅酶, 当其缺乏时可阻碍蛋氨酸再合成, 从而造成 Hcy 在体内蓄积, 这可能是高原地区居民 Hcy 浓度增加的原因。高水平的 Hcy 会使人体产生一系列病理生理学变化或机能紊乱, 出现高原习服不良, 进而发生 HAPC 这样的慢性高原病。

缺氧可使血中儿茶酚胺增多, 垂体加压素和肾上腺皮质激素分泌增加, 通过肾素-血管紧张素-醛固酮系统活性增强使血压升高^[11-13]。DA 可使心肌收缩力加强, 增加心输出量, 另外还可以降低肾血管阻力, 增加肾血流量并产生利尿作用, 从而减轻浮肿以及心脏前负荷, 促进高原习服。本研究也进一步证实高原习服过程中, 血浆 DA 的浓度变化趋势为先升高后降低, 到 90 d 时也没有恢复到平原浓度水平。

本组通过上述试验, 发现色谱和质谱技术可用于定量检测血浆 Hcy、DA 浓度^[5-6], 并研究了血浆 Hcy、DA 浓度与高原习服适应之间的关系。

参考文献

- [1] 高钰琪. 高原病理生理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006.
- [2] 高钰琪. 高原军事医学[M]. 重庆: 重庆出版社, 2005.
- [3] 阿祥仁, 张鑫生, 程海花, 等. 高原红细胞增多症患者血清同型半胱氨酸与一氧化氮、一氧化氮合酶水平的变化[J]. 检验医学, 2006, 21(3): 238-240.
- [4] 罗梅, 张迎久. 脑梗死患者总同型半胱氨酸水平变化及其相关因素分析[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(10): 912-914.
- [5] 王旗, 宋洋, 李潭. 高效液相色谱电化学检测法测定血浆中同型半胱氨酸[J]. 中华预防医学杂志, 2004, 38(3): 204-207.
- [6] 许彩霞, 吴文, 董健, 等. 三重串联四级杆液质联用仪检测糖果中三聚氰胺[J]. 福建分析测试, 2010, 19(2): 26-30.
- [7] 陆胜. 脑梗死患者血清同型半胱氨酸和高敏 C 反应蛋白水平分析[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(8): 699-700.
- [8] 阿祥仁, 张鑫生, 王立萍. 高原地区老年人体内同型半胱氨酸水平与一氧化氮、一氧化氮合酶的相关性[J]. 中国老年学杂志, 2006, 26(2): 270-271.
- [9] 孔丽蕊, 包文芳, 王占鹏. 高原地区健康老年人同型半胱氨酸水平分析[J]. 青海医药杂志, 2009, 39(2): 48-49.
- [10] 李素芝. 高原疾病学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006.
- [11] 朱月钮, 王荣发. 法洛四联症缺氧发作与右心室血浆儿茶酚胺的关系[J]. 上海第二医科大学学报, 2003, 23(1): 22-23.
- [12] 刘继军. 高原病的正确认识和预防体会[J]. 医学信息, 2009, 22(12): 34-35.
- [13] 张蕴, 田建立, 袁志明, 等. 慢性间歇低氧对大鼠血压的影响及其机制研究[J]. 天津医药, 2007, 35(1): 46-48.

(收稿日期: 2010-09-01)