

大鼠压疮局部不同干预温度对内质网应激及细胞凋亡的影响

王 晴, 杜晓菲, 邢凤梅*, 汪凤兰, 张小丽

(华北理工大学护理与康复学院, 河北 唐山 063000)

【摘要】 目的 比较大鼠压疮局部不同干预温度对内质网应激(ERS)及细胞凋亡的影响,为临床防治压疮提供实验依据。**方法** 使用缺血再灌注法建立压疮模型,将 40 只 SPF 级成年雄性 SD 大鼠随机分成假手术组(sham 组)、模型组、热干预组和冷干预组 4 组。在实验终点于冰上剪取各组大鼠受压部位肌肉组织,用 HE 染色观察骨骼肌病理学变化;Western blot 检测内质网应激相关蛋白 GRP78、caspase-12 与 CHOP 的表达水平;免疫荧光观察 caspase-12 与 CHOP 的表达情况;TUNEL 染色观察细胞凋亡情况。**结果** 与模型组相比,热干预组的骨骼肌细胞损伤程度加重,凋亡细胞增多,免疫荧光结果显示 caspase-12 与 CHOP 的阳性表达增加,Western blot 结果显示 GRP78、caspase-12 与 CHOP 的表达较模型组均上升($P < 0.05$);而冷干预组骨骼肌细胞损伤程度减轻,凋亡细胞减少,免疫荧光结果显示 caspase-12 与 CHOP 的阳性表达减少,Western blot 结果显示 GRP78、caspase-12 与 CHOP 的表达较模型组均下降($P < 0.05$)。**结论** 局部冷干预通过抑制内质网应激介导的凋亡通路而减轻大鼠压疮损伤;局部热干预加剧 ERS 而促进细胞凋亡的发生,加重大鼠压疮损伤。

【关键词】 压疮;温度;缺血再灌注损伤;内质网应激;凋亡;大鼠

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2018) 01-0056-08

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2018.01.010

Effects of different local intervention temperatures on endoplasmic reticulum stress and cell apoptosis in pressure ulcer of rats

WANG Qing, DU Xiaofei, XING Fengmei*, WANG Fenglan, ZHANG Xiaoli

(North China University of Science and Technology, School of Nursing and Rehabilitation, Tangshan 063000, China)

【Abstract】 Objective To compare the effects of different local intervention temperatures of pressure ulcer on endoplasmic reticulum stress (ERS) and apoptosis in rats, and to provide an experimental evidence for clinical prevention and treatment of pressure ulcer. **Methods** The rat model of pressure ulcer was established by ischemia reperfusion, and a total of 40 SPF adult, male SD rats were divided into 4 groups: the sham group (anesthesia only, without other treatment), model group (ischemia at 22°C for 1 h and reperfusion at 22°C as one cycle, repeated for 5 cycles), high-temperature intervention group (ischemia at 22°C for 1 h and reperfusion at 32°C as one cycle, repeated for 5 cycles) and low-temperature intervention group (ischemia at 22°C for 1 h and reperfusion at 12°C as one cycle, repeated for 5 cycles). At the end of the experiment, muscle tissues at the sites under pressure of the rats were taken on ice. The pathological changes of skeletal muscle tissues were observed by HE staining. The expression levels of ERS-related proteins GRP78, caspase-12

[基金项目] 华北理工大学研究生创新项目(编号:2017S30)。

[作者简介] 王晴(1992—),女,研究生在读,研究方向:老年慢性病干预研究。E-mail: 1097792373@qq.com

[通信作者] 邢凤梅,博士,教授,研究生导师,研究方向:老年慢性病干预研究。E-mail: 598461347@qq.com

and CHOP were detected by Western blot, and the expression of caspase-12 and CHOP was also observed by immunofluorescence. Moreover, apoptosis in the skeletal muscle cells was examined by TUNEL staining. **Results** Compared with the model group, skeletal muscle cell damages became more severe and apoptotic cells were increased in the high-temperature intervention group. Besides, the results of the immunofluorescence assay showed an increased positive expression of caspase-12 and CHOP, and the results of Western blot showed that the expression levels of GRP78, caspase-12 and CHOP were all higher than those of the model group ($P < 0.05$). In contrast, skeletal muscle cell damages were alleviated and apoptotic cells were reduced in the low-temperature intervention group. Meanwhile, the positive expression of caspase-12 and CHOP was decreased, as shown by immunofluorescence, and all the expression levels of GRP78, caspase-12 and CHOP detected by Western blot were lower than the control group ($P < 0.05$). **Conclusions** Local low-temperature intervention can alleviate the pressure ulcer damages in rats through inhibition of the ERS-mediated apoptotic pathway. Local high-temperature intervention may exacerbate the pressure ulcer damages in rats by activating the ERS-mediated apoptotic pathway and promoting cell apoptosis. Local low-temperature intervention may be promising in clinical prevention and treatment of pressure ulcer.

【Key words】 pressure ulcer; temperature; ischemia-reperfusion injury, IRI; endoplasmic reticulum stress, ERS; apoptosis; rats

压疮是一种慢性皮肤溃疡,常见于老年患者和长期卧床患者。压疮一旦发生,经久不愈,给病人带来极大的痛苦,甚至会因继发感染致全身衰竭而危及生命。据报道^[1],压疮会使老年患者的死亡率升高 3 倍。探索防治压疮的有效方法是国内外医学研究的热点之一。目前,关于压疮防治过程中如何对局部皮肤温度进行干预,日益引起人们的重视。传统的压疮治疗方法,多为热干预的方法,如使用烤灯、红外线照射等。但近年的研究显示^[2],热疗方法可能会加重压疮损伤,而进行冷干预具有良好效果。在压疮的防治中,冷、热干预哪种方式更有效,尚未形成定论。目前认为,缺血再灌注损伤(ischemia-reperfusion injury, IRI)是压疮形成最主要的机制^[3],而在压疮形成过程中,局部组织由于受压产生缺血、缺氧,氧自由基增多,钙超载等病理现象,这些都会诱发内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS),过度的 ERS 可通过多种途径诱导细胞凋亡,造成组织损伤^[4]。本实验通过对大鼠压疮局部分别进行冷、热干预,观察 ERS 相关蛋白的表达及其介导的细胞凋亡情况,比较不同温度干预的治疗效果,为临床防治压疮提供基础实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性成年 SD 大鼠 40 只(质量为 250 ~ 300 g),由北京华阜康生物科技股份有限公司提供[SCXK(京)2014-0004]。饲养于华北理工大学实验动物中心[SYXK(冀)2015-0038],饲养环境为:恒温(18℃~24℃),恒湿(45%~50%),以及明暗交替各 12 h。动物实验符合校动物伦理管理委员会的规定(15-098),实验过程严格遵守实验动物使用的 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

兔源 GRP78 单克隆抗体(美国 Cell Signaling Technology),兔源 CHOP 单克隆抗体(美国 Cell Signaling Technology),兔源 caspase-12 单克隆抗体(英国 Abcam 公司),兔源 GAPDH 单克隆抗体(美国 Cell Signaling Technology),FITC 荧光素标记羊抗兔 IgG(H+L)(美国 KPL 公司),TUNEL 试剂盒(美国 Chemicon 公司)。

酶标仪(美国 Thermo Scientific 公司),电泳仪(北京六一仪器厂),电转仪(北京六一仪器厂),压疮装置(唐山鼓风机机械制造有限公司),自制恒温箱。

1.3 实验方法

1.3.1 动物模型装置制作

(1)压疮装置:根据姜丽萍等^[5]的方法设计压疮装置。该装置主要由固定支架、施压柱(其头端为圆形底面,其半径 0.5 cm)以及泡沫板组成(见图 1)。已知造模过程中需保持大鼠受压的部位和压强不变,因施压柱头端底面面积一定,通过在上面增减砝码便可达到受压部位所需压强。

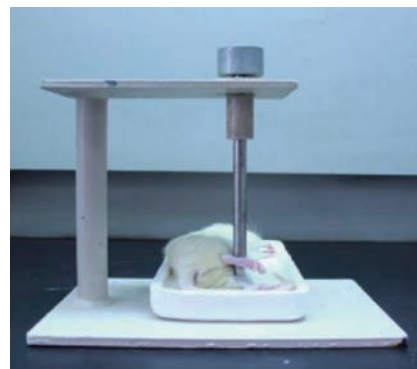


图 1 压疮造模示意图

Fig. 1 The pressure ulcer modeling device

(2) 恒温箱: 该装置主要由温度计、泡沫箱组成, 在泡沫箱顶端设置通风孔, 可使外界空气与箱内空气相通 (见图 2)。可通过在泡沫箱内放置冰袋或热水袋来改变箱内温度, 使其变成预期温度 Δt 。使用时, 将大鼠受压部位放入箱内, 并根据温度计的变化随时打开通风孔对箱内温度进行调整, 使箱内温度始终保持在 $(\Delta t \pm 1)^{\circ}\text{C}$ 。

1.3.2 大鼠压疮模型的制备

根据姜丽萍等^[5]的方法建立大鼠压疮缺血再灌注损伤模型。使用 10% 水合氯醛 (0.3 mL/100 g) 对大鼠腹腔注射, 麻醉后侧卧位固定, 在大鼠一侧大腿股薄肌处剪毛, 使皮肤暴露, 在此处施加 170 mmHg (22.47 kPa) 的压力。造模过程为 5 个循环, 每个循环包括缺血 (施压) 2 h, 再灌注 (放松) 0.5 h。造模时, 将实验环境温度保持在 22°C , 为保证大鼠的麻醉状态按需补充麻药。

1.3.3 实验分组及处理方法

将 40 只 SPF 级雄性成年 SD 大鼠随机分成 sham 组、模型组、热干预组和冷干预组 4 组, 按如下方法处理:

(1) Sham 组 (10 只): 只麻醉, 不做处理。

(2) 模型组 (10 只): 麻醉后, 在常温 (22°C) 下实施 5 个缺血再灌注循环。

(3) 冷干预组 (10 只): 将常温 22°C 设为 Δt , 热干预温度 = $(\Delta t - 10)^{\circ}\text{C} = 12^{\circ}\text{C}$ 。将大鼠麻醉后实施 5 个缺血再灌注循环, 其中每个循环的缺血阶段 (1 h) 在常温下进行, 再灌注阶段 (0.5 h) 需将受压部位放入温度保持在 12°C 的恒温箱中。

(4) 热干预组 (10 只): 将常温设为 Δt , 热干预温度 = $(\Delta t + 10)^{\circ}\text{C} = 32^{\circ}\text{C}$ 。将大鼠麻醉后实施 5 个缺血再灌注循环, 每个循环的缺血阶段 (2 h) 在常温下进行, 再灌注阶段 (0.5 h) 需将受压部位放入温度保持在 32°C 的恒温箱中。

冷干预组和热干预组的温度参考 Lee 等^[6]的实验方法设置, 但由于二者实验方案不同, 本实验在其基础上做了些许改动。

1.3.4 检测方法

在实验终点于冰上剪取各组大鼠受压部位肌肉组织, 放入 4°C 生理盐水中洗净血液, 用滤纸吸干水分, 取大小为 $0.5\text{ cm} \times 0.5\text{ cm} \times 0.5\text{ cm}$ 的组织放于 4% 多聚甲醛中固定, 用于制备石蜡切片, 进行组织形态学观察、免疫荧光检测以及细胞凋亡的检测; 另取 500 mg 组织放于 -80°C 超低温冰箱保存, 用于 Western blot 检测。

(1) HE 染色检测骨骼肌的病理变化: 取适量肌肉组织, 用 4% 多聚甲醛固定后, 制备骨骼肌组织石蜡切片。烤片, 脱蜡, 苏木素染核, 盐酸酒精分化, 入水返蓝, 加伊红染色, 水洗并镜下观察, 脱水, 透明, 中性树胶封片。

(2) Western blot 检测 GRP78、caspase-12 与 CHOP 蛋白的表达水平: 取适量肌肉组织, 提取蛋白, 计算浓度, 确定上样量, 分装、变性。制备 SDS-PAGE 凝胶, 蛋白上样, 电泳并转膜。将转入蛋白的膜用 5% 脱脂牛奶封闭, 加一抗后 4°C 过夜。次日用 TBST 缓冲液洗膜, 加入相应的二抗, 37°C 孵育 1~2 h。再次洗膜, 显色, 通过 Image J 软件分析各组条带的灰度值。

(3) 免疫荧光检测 caspase-12 与 CHOP 的表达水平: 取适量肌肉组织, 用 4% 多聚甲醛固定后, 制备心肌组织石蜡切片。烤片, 脱蜡, 用柠檬酸钠热修复, 3% H_2O_2 灭活内源性酶, 用 10% 山羊血清封闭后加一抗, 4°C 湿盒过夜。次日加荧光标记二抗, 37°C 暗湿盒 0.5 h, PBS 冲洗, DAPI 染核, 再次冲洗后封片, 在荧光显微镜下观察。

(4) TUNEL 检测细胞的凋亡情况: 采用 Chemicon 公司的 TUNEL 凋亡检测试剂盒, 按照试剂盒说明书进行操作。光镜下观察染色结果并拍照计数。阳性表现为细胞核染色质固缩, 成棕褐色。

1.4 统计学方法

用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析, 结果用平均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 使用单因素方差进行分析, 用 LSD-*t* 检验进行两两比较, 以 $P < 0.05$ 为

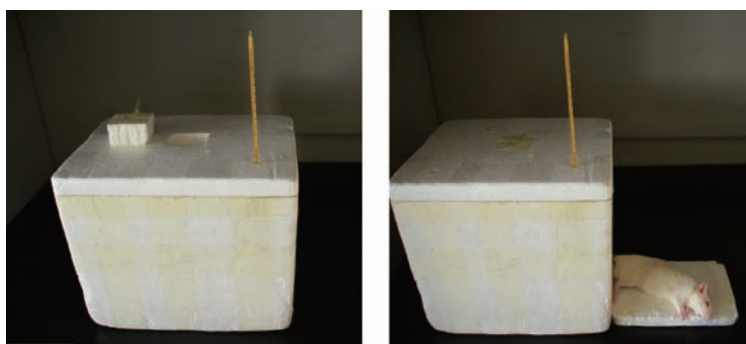


图 2 温度干预示意图

Fig.2 The temperature intervention device

差异有显著性。

2 结果

2.1 HE 染色检测大鼠受压部位骨骼肌的病理变化结果

HE 染色结果显示, sham 组肌纤维形态正常, 排列紧密, 结构清晰, 无明显炎性细胞浸润; 模型组肌纤维间质增宽, 排列紊乱, 部分出现明显的断裂、溶解, 间隙处有明显的炎性细胞浸润; 热干预组与模型组相比损伤程度加重, 大部分肌纤维溶解、断裂, 出现玻璃样改变, 炎性细胞浸润增多; 冷干预组与模型组相比损伤减轻, 肌纤维排列较为整齐, 出现的溶解、断裂较少, 炎性细胞浸润较少 (见图 3)。

2.2 Western blot 检测大鼠受压部位 GRP78、caspase-12 与 CHOP 蛋白的表达结果

与 sham 组相比, 模型组 GRP78、caspase-12 与 CHOP 表达均显著增加 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 热干预组三种因子的表达水平进一步升高 ($P < 0.05$), 而冷干预组的表达水平有所下降 (图 4)。

2.3 免疫荧光检测大鼠受压部位骨骼肌细胞的凋亡情况

免疫荧光结果显示, sham 组几乎检测不到 caspase-12 与 CHOP 的荧光表达; 模型组两种因子的表达量均明显增加, 且主要表达在细胞浆内。与模型组相比, 两种因子在热干预组的荧光表达量进

一步增加, 而在冷干预组有所减少 (见图 5、图 6)。

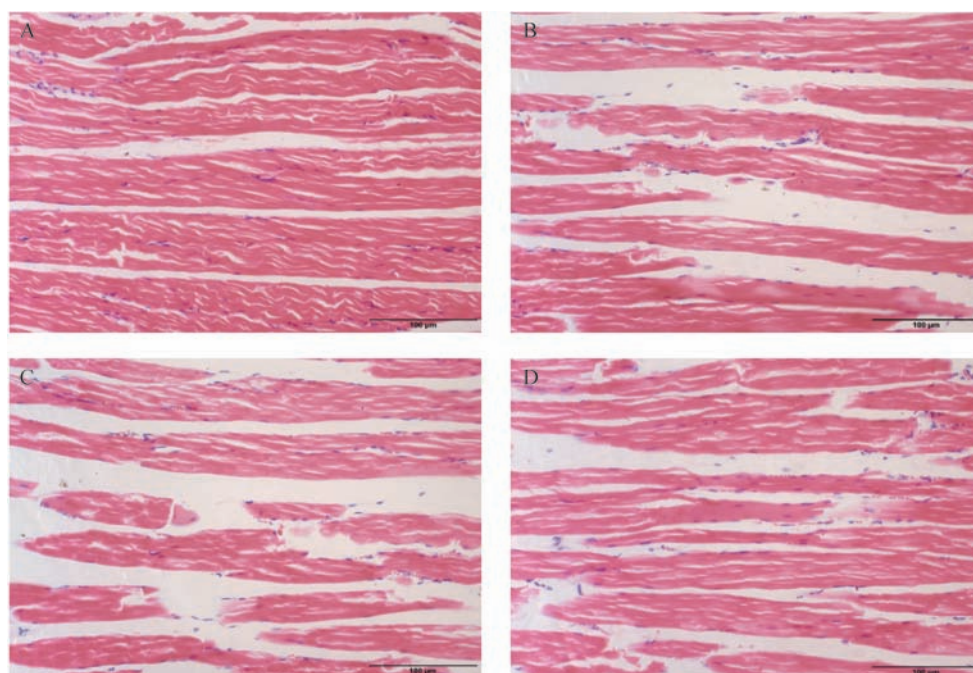
2.4 TUNEL 染色检测大鼠受压部位骨骼肌细胞的凋亡情况

TUNEL 染色结果显示, sham 组仅有少数阳性染色细胞核, 模型组阳性细胞数显著增加。与模型组相比, 凋亡细胞数在热干预组进一步增加, 而在冷干预组有所减少 (见图 7、图 8)。

3 讨论

近年研究显示^[3], 缺血再灌注损伤是压疮形成最主要的机制, 而其诱导的深部组织损伤 (deep tissue injury, DTI) 是压疮发展的重要原因, 因此本实验以肌肉组织为中心研究压疮损伤。骨骼肌和其他组织不同, 细胞内含有丰富的内质网, 负责蛋白质合成、储存钙离子等^[7]。在压疮形成过程中, 局部组织由于受压产生缺血、缺氧, 氧自由基增多, 钙超载等病理现象, 骨骼肌细胞受到这些病理因素刺激致使内质网稳态失衡, 形成内质网应激 (ERS)。而过度的 ERS 会通过活化相关因子介导凋亡途径而导致细胞死亡^[2]。因此, 抑制 ERS 介导的细胞凋亡成为减轻压疮损伤的关键。

过去在临床防治压疮时, 多应用局部热干预, 在《基础护理学》教材中写到^[8]: 对 II 期压疮用红外线照射疮面, III 期压疮应用鹅颈灯照射, 通过促进受压部位血液循环, 提高细胞功能来减少组织损

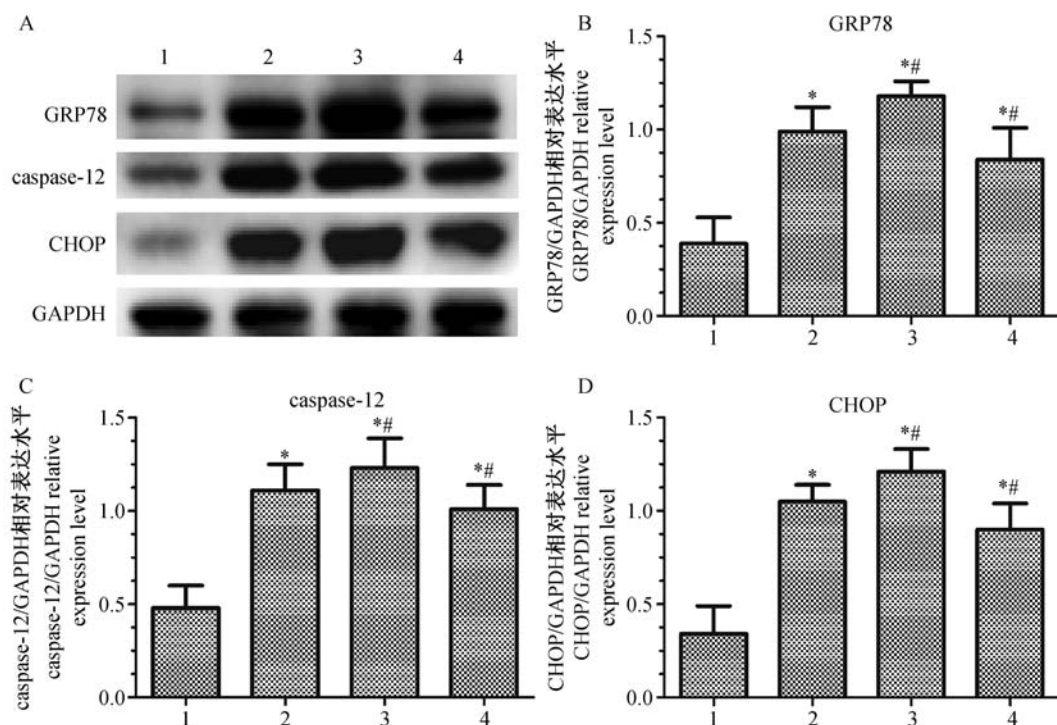


注: A: Sham 组; B: 模型组; C: 热干预组; D: 冷干预组。

图 3 各组骨骼肌 HE 染色病理变化 ($\times 200$)

Note. A: Sham group; B: Model group; C: High-temperature intervention group; D: Low-temperature intervention group.

Fig. 3 Pathological changes of the skeletal muscle tissues in the rats. HE staining



注:A:蛋白 GRP78、caspase-12 和 CHOP 的 Western blot 检测结果;B、C、D:分别为 GRP78、caspase-12 和 CHOP 的 Western blot 检测结果柱形图。1:Sham 组;2:模型组;3:热干预组;4:冷干预组。与 sham 组相比,* $P < 0.05$;与模型组相比,# $P < 0.05$ 。

图 4 Western blot 检测各组 GRP78、caspase-12 和 CHOP 的表达水平

Note. A: Electrophoretic map of the proteins. B, C, D: Histograms of the protein expressions. 1: Sham group; 2: Model group; 3: High-temperature intervention group; 4: Low-temperature intervention group. Compared with the sham group, * $P < 0.05$. Compared with the model group, # $P < 0.05$.

Fig. 4 Expression levels of GRP78, caspase-12 and CHOP proteins in the pressure ulcer tissues of the rats detected by Western blot

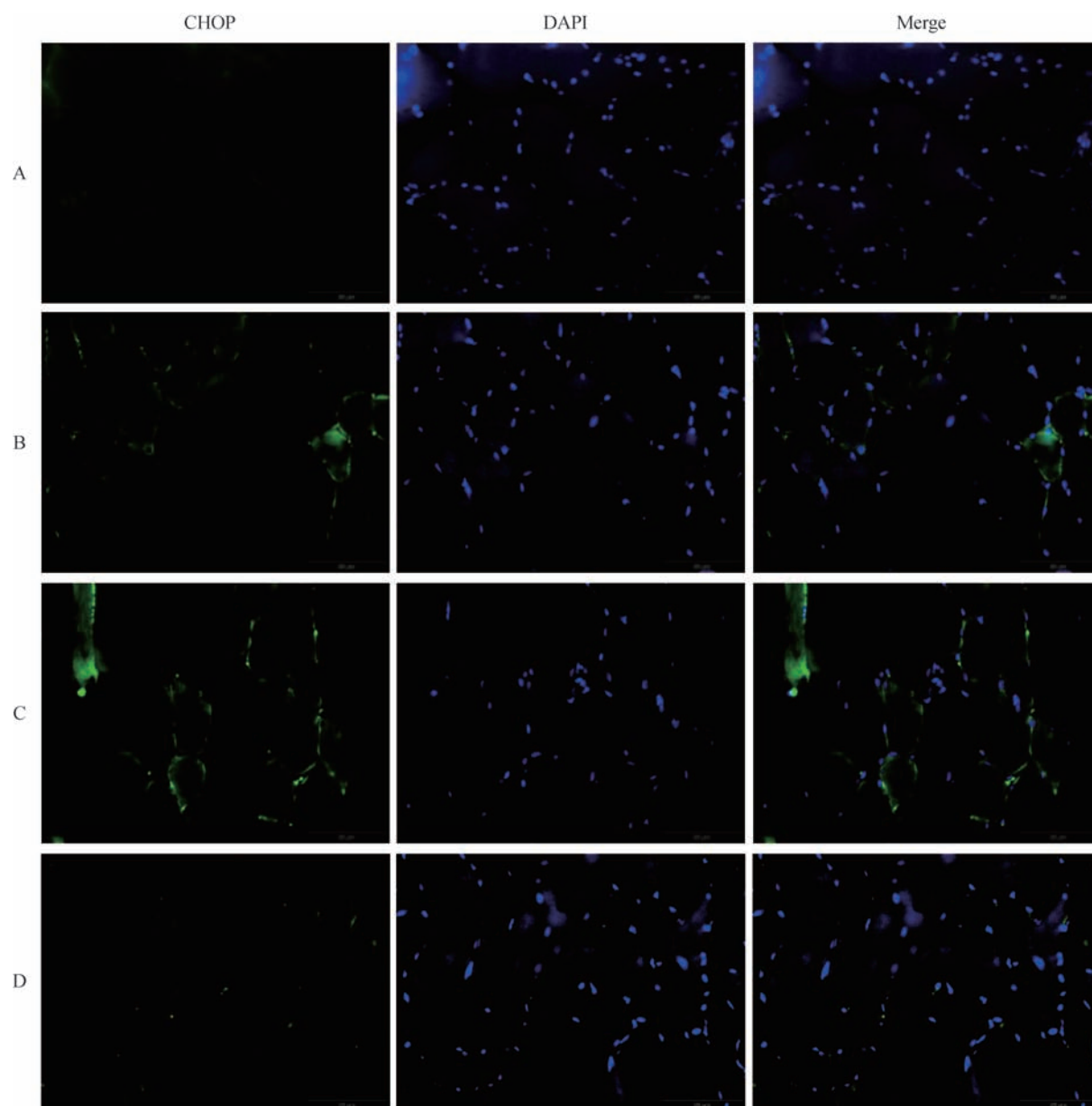
伤。但近些年的研究显示^[2]:当受压区域温度升高时,会增加局部组织的代谢氧需要量,从而增加压疮的易发性。相反,降低局部温度可通过降低组织代谢,减少需氧量,抑制炎症因子扩散等来减轻缺血再灌注损伤^[6]。近来陆续有研究显示^[9-11],在压疮的防治过程中,应用局部冷干预具有良好的效果。目前关于压疮温度干预的研究大多为临床上的研究,通过基础实验获得的理论支持不足。因此,通过对 ERS 相关蛋白及其介导的细胞凋亡的研究,对比局部冷、热干预对大鼠压疮的治疗效果,为临床防治压疮提供依据。

本实验 HE 和 TUNEL 结果显示,模型组骨骼肌损伤严重,出现大量凋亡细胞,说明造模成功。而冷干预组与模型组相比损伤减轻,凋亡细胞减少,说明降低局部温度可减轻压疮缺血再灌注损伤,这与 Lee 等^[6]的研究结果相同。热干预组与模型组相比损伤加重,说明局部温度升高会加重压疮组织的损伤。

为了进一步探讨各组大鼠压疮组织中内质网应激介导凋亡的情况,本实验研究了 ERS 相关蛋白 GRP78、caspase-12 与 CHOP 的表达情况。GRP78 是

内质网分子伴侣,正常情况下与跨膜蛋白结合以维持内质网稳态,对内质网内环境极度敏感,当内质网稳态被破坏,即发生 ERS 时,GRP78 会与跨膜蛋白解离而表达增高^[12]。因此,GRP78 作为内质网应激的标志性蛋白,一定程度上反映 ERS 的程度。在本实验中,模型组 GRP78 蛋白表达高于 sham 组,表明压疮缺血再灌注损伤会破坏内质网稳态,诱发 ERS,这与 Koyama 等^[13]的研究结果一致。与模型组相比,热处理组 GRP78 蛋白表达进一步上升,表明局部热处理会加重 ERS 反应程度;而冷处理组 GRP78 表达有所下降,说明局部冷处理会在一定程度上抑制 ERS 反应,这与高宇等^[14]的研究结果相同。

研究表明^[4],适度的 ERS 可促进内质网稳态的恢复,增加细胞对刺激的耐受力,但持续而严重的 ERS 会通过多种途径诱导细胞凋亡,造成细胞损伤。在这个过程中,CHOP、caspase-12 起关键作用。CHOP 是 ERS 早期凋亡相关转录因子,在多条 ERS 介导的凋亡通路中充当下游凋亡信号分子,可阻滞细胞分裂诱导细胞凋亡。因此,CHOP 一定程度上可反映 ERS 介导的细胞凋亡水平^[7]。caspase-12 以酶原的形式定位于内质网外膜,产生于内质网,在



注:A:Sham 组;B:模型组;C:热干预组;D:冷干预组。

图 5 免疫荧光检测各组 CHOP 的表达($\times 400$)

Note. A: Sham group; B: Model group; C: High-temperature intervention group; D: Low-temperature intervention group.

Fig. 5 Expression of CHOP in the pressure ulcer tissues of rats detected by immunofluorescence assay

发生 ERS 时被激活,是内质网应激特异性的凋亡因子^[15]。这两种因子介导了 ERS 诱导的凋亡途径,在压疮的发生发展中起重要作用。

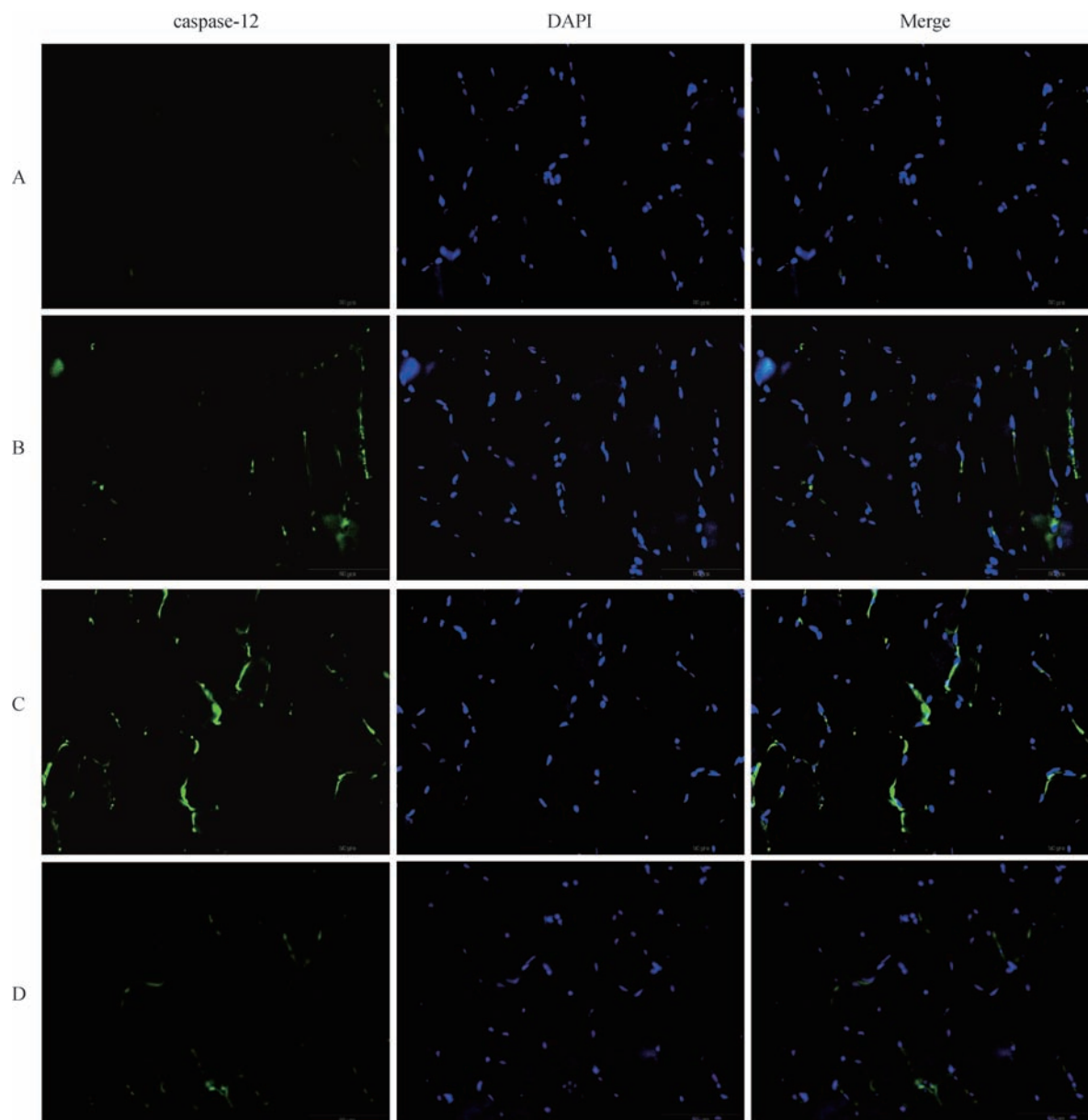
Western blot 和免疫荧光结果显示,与 sham 组相比,模型组能够显著上调 CHOP、caspase-12 的表达,说明压疮损伤诱发内质网应激,介导凋亡通路生成,引起骨骼肌细胞凋亡;而局部热干预使这两种因子的表达在模型组的基础上进一步升高,说明温度升高可能会因加剧 ERS 而促进细胞凋亡的发生;经局部冷干预后,压疮组织中 CHOP、caspase-12 的表达水平下降,说明冷干预会抑制细胞凋亡的进

展,这可能与低温抑制 ERS 有关。

综上,本实验结果显示,局部冷干预可能通过抑制内质网应激介导的凋亡通路而减轻大鼠压疮损伤;与之相反,局部热干预可能会因加剧 ERS 而促进细胞凋亡的发生,进而加重大鼠压疮损伤。因此,在对压疮的临床防治过程中,可能不宜使用热干预方法,使用冷干预可能会有良好效果。

参考文献:

- [1] Tannen A, Dassen T, Halfens R. Differences in prevalence of pressure ulcers between the Netherlands and Germany—associations between risk, prevention and occurrence of pressure



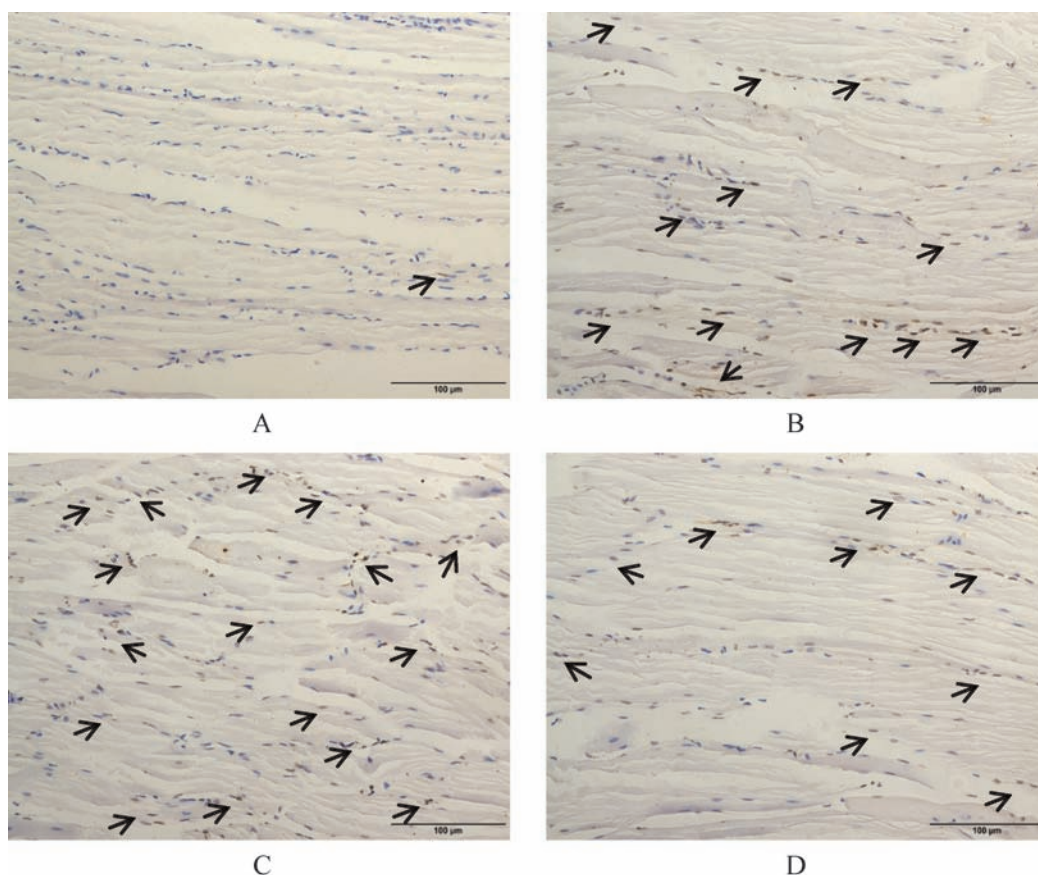
注:A:Sham 组;B:模型组;C:热干预组;D:冷干预组。

图 6 免疫荧光检测各组 caspase-12 的表达($\times 400$)

Note. A: Sham group; B: Model group; C: High-temperature intervention group; D: Low-temperature intervention group.

Fig. 6 Expression of caspase-12 in the pressure ulcer tissues of the rats detected by immunofluorescence assay

- ulcers in hospitals and nursing homes [J]. J Clin Nurs, 2008, 17(9): 1237-1244.
- [2] Jan YK, Liao F, Rice LA, et al. Using reactive hyperemia to assess the efficacy of local cooling on reducing sacral skin ischemia under surface pressure in people with spinal cord injury: a preliminary report [J]. Arch Phys Med Rehabil, 2013, 94(10): 1982-1989.
- [3] Kendall AC, Whatmore JL, Harries LW, et al. Changes in inflammatory gene expression induced by hyperbaric oxygen treatment in human endothelial cells under chronic wound conditions [J]. Exp Cell Res, 2012, 318(3): 207-216.
- [4] 张春雪, 闵鹤鸣, 闵连秋. 2-脱氧葡萄糖诱导大鼠内质网应激预处理模型的最佳剂量 [J]. 中国实验动物学报, 2011, 19(1): 74-78, 98.
- [5] 蔡福满, 姜丽萍, 杨晔琴, 等. 褥疮不完全性缺血再灌注损伤简易模型的建立 [J]. 中国病理生理杂志, 2009, 25(4): 830-832.
- [6] Lee B, Benyajati S, Woods JA, et al. Effect of local cooling on pro-inflammatory cytokines and blood flow of the skin under surface pressure in rats: feasibility study [J]. J Tissue Viability, 2014, 23(2): 69-77.
- [7] Sano R, Reed JC. ER stress-induced cell death mechanisms [J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1833(12): 3460-3470.
- [8] 殷磊. 护理学基础 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 221.
- [9] 曹燕, 钱丹, 蔡亚萍, 等. 医用降温贴对重症监护室病人压疮的预防作用 [J]. 护理研究, 2015, 29(9): 1120-1121.
- [10] 王莉, 曾俊, 刘娟, 等. 低温碘伏治疗手术体位致压疮效果

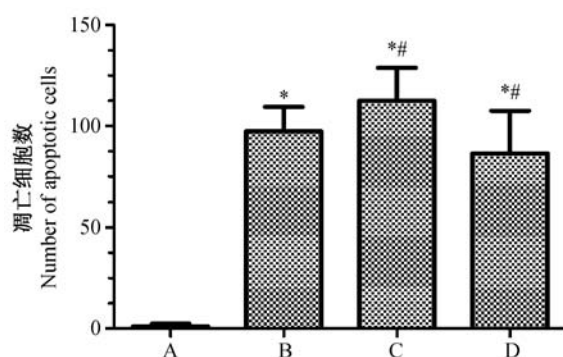


注:A:Sham 组;B:模型组;C:热干预组;D:冷干预组。箭头指示凋亡细胞。

图 7 TUNEL 检测各组骨骼肌细胞凋亡情况($\times 200$)

Note. A: Sham group; B: Model group; C: High-temperature intervention group; D: Low-temperature intervention group. Arrows indicate apoptotic cells.

Fig.7 Cell apoptosis in the pressure ulcer tissues of rats detected by TUNEL assay



注:A:Sham 组;B:模型组;C:热干预组;D:冷干预组。与 sham 组相比,* $P < 0.05$;与模型组相比,# $P < 0.05$ 。

图 8 TUNEL 检测各组凋亡细胞数量

Note. A: Sham group; B: Model group; C: High-temperature intervention group; D: Low-temperature intervention group. Compared with the sham group,* $P < 0.05$. Compared with the model group,# $P < 0.05$.

Fig.8 Number of apoptotic cells in the pressure ulcer tissues of the rats detected by TUNEL assay

观察[J]. 护理学杂志, 2014, 29(4): 47-48.

- [11] Tzen YT, Brienza DM, Karg PE, et al. Effectiveness of local cooling for enhancing tissue ischemia tolerance in people with spinal cord injury [J]. J Spinal Cord Med, 2013, 36(4): 357-364.
- [12] 陈凯, 张承英, 李建民, 等. 缬沙坦对糖尿病大鼠肾脏中内质网应激及炎症反应的抑制作用[J]. 中国实验动物学报, 2015, 23(2): 132-138.
- [13] Koyama M, Furuhashi M, Ishimura S, et al. Reduction of endoplasmic reticulum stress by 4-phenylbutyric acid prevents the development of hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2014, 306(9): H1314-H1323.
- [14] 高宇, 金利, 吴淋, 等. 低温对大鼠全脑缺血再灌注时海马内质网应激的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2015, 35(9): 1146-1149.
- [15] Dalal S, Zha Q, Daniels CR, et al. Osteopontin stimulates apoptosis in adult cardiac myocytes via the involvement of CD44 receptors, mitochondrial death pathway, and endoplasmic reticulum stress [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2014, 306(8): H1182-H1191.