

替普瑞酮对中暑大鼠多器官功能损伤保护作用*

高俊涛¹, 赵永岐², 任旷³, 田晶¹, 王春艳¹, 刘志洋¹, 金麟毅¹, 陈默然¹, 赵行宇¹, 范明²

摘要:目的 观察替普瑞酮对中暑大鼠保护作用并探讨其机制。方法 选择清洁级 Wistar 大鼠 50 只, 随机分为 5 组, 分别为常温对照组、中暑模型组和替普瑞酮低、中、高剂量组。将模型组和替普瑞酮组大鼠持续暴露于 43 °C 热舱中, 持续 70 min, 中暑后迅速取出, 采血, 检测大鼠血清肌酐 (CR)、血清尿素氮 (SUN)、谷草转氨酶 (AST)、谷丙转氨酶 (ALT) 水平, 常规苏木素-伊红染色, 观察肺组织病理改变。结果 中暑模型组大鼠 CR、SUN、AST 及 ALT 水平分别为 (64.89 ± 1.55) μmol/L、(8.11 ± 0.63) mmol/L、(162.84 ± 7.52) U/L、(62.51 ± 3.39) U/L, 明显高于常温对照组; 与中暑模型组比较, 高剂量替普瑞酮预处理后 CR、SUN、AST 及 ALT 水平分别降至 (47.96 ± 1.97) μmol/L、(5.16 ± 0.34) mmol/L、(130.63 ± 5.53) U/L、(43.76 ± 1.76) U/L, 替普瑞酮预处理组肺组织病理改变有不同程度减轻。结论 替普瑞酮能减轻中暑大鼠多器官功能损害。

关键词: 热; 热应激; 中暑; 替普瑞酮

中图分类号: R 135.3

文献标志码: A

文章编号: 1001-0580(2012)12-1592-03

Potective effect of geranylgeranylacetone on multiple organ injury in heat-stroke rats

GAO Jun-tao*, ZHAO Yong-qi, REN Kuang et al (* Department of Physiology, Jilin Medical College, Jilin, Jilin Province 132013, China)

Abstract: Objective To examine whether geranylgeranylacetone (GGA) could attenuate heat-induced multiple organ dysfunction in rats. **Methods** Fifty female anesthetized Wistar rats of clean degree were randomly divided into normothermic control group (NT, n = 10), heatstroke model group (HS, n = 10), low dose GGA group (GGA1, n = 10), moderate dose GGA group (GGA2, n = 10), and high dose GGA group (GGA3, n = 10). The model and GGA groups were orally administered vehicle (arabic gum) or GGA of 50 mg/kg, 100 mg/kg and 200 mg/kg respectively, followed by the exposure to heat (43 °C for 70 min) before recovery at room temperature (RT, 24 °C). The normal control group rats were treated with vehicle and were kept at RT. A DKB-501S high precision water bath and circulation chamber of water were used to establish heatstroke model. The environment temperature was kept at 22-24 °C and the water temperature was kept at 45.0 °C for more than one hour, and then the temperature in the chamber was kept at 43.0 °C. **Results** Compared with normothermic controls, all vehicle-treated heatstroke rats displayed hepatic and renal dysfunction, including increased levels of serum urea nitrogen, creatinine, aspartate aminotransferase, and alanine aminotransferase. The heat-stress response indicators were all significantly suppressed by GGA pretreatment. The pathological changes of lungs in heatstroke rats were also attenuated by GGA pretreatment. **Conclusion** GGA preconditioning attenuates heat-induced multiple organ injury in rats.

Key words: heat; heat stress; heatstroke; geranylgeranylacetone

中暑是由高温环境引起的体温调节中枢功能发生障碍,使体温迅速升高,产生以中枢神经系统与循环系统为主要临床表现的一组急症。表现为体温 > 40 °C、谵妄、惊厥或昏迷^[1]。通常采用物理降温来缓解中暑症状,如抢救不及时可导致迅速死亡或遗留永久性神经症状,迄今尚无满意的预防中暑药物问世。替普瑞酮是一种萜烯类化合物,在临床应用

中,对急、慢性胃炎和胃溃疡具有良好疗效^[2]。本研究探讨替普瑞酮对中暑大鼠多器官功能损伤保护作用,为有效预防中暑提供新的思路和方法。

1 材料与方法

1.1 实验动物 选择清洁级 SD 大鼠(吉林大学白求恩医学部实验动物中心) 50 只,雄性,体重 180 ~ 220 g,许可证号: SCXK(吉) 2003-0001。

1.2 仪器与试剂 DKB-501S 型超级恒温水浴(上海精宏实验设备有限公司),Hitachi 7600 生化分析仪(日本 Tokyo 公司);替普瑞酮(日本卫材公司),2% 阿拉伯胶溶解 4 °C 保存。

1.3 大鼠中暑模型建立方法 使用超级恒温水浴,连接有机玻璃夹层水循环舱,保持室温为 23.0 ~ 24.0 °C,控制水温为 45.0 °C,保持热循环舱实测温

* 基金项目: 吉林省教育厅“十一五”科学技术研究项目(吉教科合字[2010]第 256 号);吉林医药学院科研基金(院资 200901);国家自然科学基金(31071042)

作者单位: 1. 吉林医药学院生理学教研室,吉林 吉林 132013; 2. 解放军军事医学科学院基础医学研究所; 3. 吉林医药学院基础医学院

作者简介: 高俊涛(1976-),男,吉林人,讲师,博士,主要从事特殊环境损伤防治研究。

通讯作者: 赵永岐, E-mail: yqzhaopr@ yahoo. com. cn; 范明, E-mail: fanming@ nic. bmi. ac. cn

度为 43 ℃, 稳定 1 h 以上。将麻醉大鼠(20% 氨基甲酸乙酯 5 mL/kg), 置于大小合适固定器中, 放入热舱内, 实时监测热舱内温度, 使热舱内温度稳定在 43 ℃, 持续 70 min。

1.4 分组与处理 将 50 只大鼠随机分为 5 组, 常温对照组、模型组和替普瑞酮低、中、高剂量组, 每组 10 只, 热暴露前 48 h 分别灌胃给予等体积阿拉伯胶、阿拉伯胶 + 替普瑞酮 50、100、200 mg/kg, 然后将模型组和替普瑞酮各剂量组大鼠暴露于 43 ℃ 热舱中, 70 min 后, 迅速取出, 腹主动脉采血, 静置, 离心后取血清, 检测大鼠血清肌酐(creatinine, CR), 血清尿素氮(serum urea nitrogen, SUN), 谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST), 谷丙转氨酶

(alanine aminotransferase, ALT) 水平。常规病理制片, 苏木素-伊红染色, 观察肺组织病理改变。

1.5 统计分析 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 11.5 软件对定量资料进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 替普瑞酮对中暑大鼠肝肾功能损伤保护作用(表 1) 与常温对照组比较, 中暑模型组大鼠血清中 AST、ALT、SUN、CR 含量均明显升高($P < 0.05$); 与中暑模型组比较, 替普瑞酮高剂量组大鼠血清中 AST、ALT、SUN、CR 含量均明显下降($P < 0.05$)。

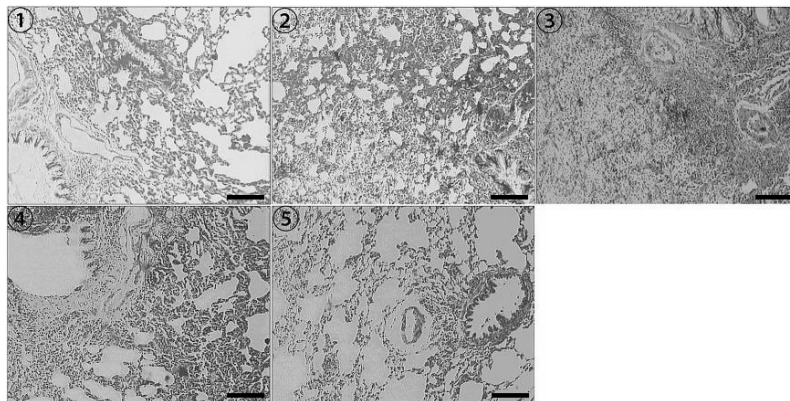
表 1 中暑对肝肾功能指标的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别(mg/kg)	ALT(U/L)	AST(U/L)	CR($\mu\text{mol/L}$)	SUN(mmol/L)
常温对照组	37.29 ± 0.79	98.61 ± 2.44	35.54 ± 0.86	3.37 ± 0.18
中暑模型组	62.51 ± 3.39 ^a	162.84 ± 7.52 ^a	64.89 ± 1.55 ^a	8.11 ± 0.63 ^a
替普瑞酮 50	63.29 ± 2.06	160.55 ± 6.39	61.24 ± 1.42	7.95 ± 0.42
100	60.39 ± 3.65	152.30 ± 4.40	58.25 ± 1.52	7.02 ± 0.52
200	43.76 ± 1.76 ^b	130.63 ± 5.53 ^b	47.96 ± 1.97 ^b	5.16 ± 0.34 ^b

注: 与常温对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与中暑模型组比较, ^b $P < 0.05$ 。

2.2 病理观察结果(图 1) 模型组(图 1-②) 支气管周围淋巴组织增生, 大部分肺泡结构不清晰, 肺泡及间隔呈灶状出血, 肺泡上皮细胞坏死脱落, 间质

细胞增生, 可见血管扩张, 少量炎细胞浸润; 替普瑞酮预处理组(图 1-③④⑤), 上述肺组织病理改变有不同程度减轻。



注: ①: 常温对照组; ②: 中暑模型组; ③~⑤: 替普瑞酮低、中、高剂量组。

图 1 各组大鼠肺组织病理改变(苏木素-伊红染色, $\times 400$)

3 讨论

环境高温可导致啮齿类动物内脏缺血, 并产生内毒素血症^[3-4], 内毒素血症可诱导炎症因子如白细胞介素 1(interleukin 1, IL-1)、IL-1 β 、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α) 以及白细胞介素(interleukin 6, IL-6) 的产生^[5], 系统性炎症反应引起细胞缺血缺氧损伤, 并最终导致多器官损伤^[6]。热休克蛋白(heat shock proteins, HSPs) 能够调节免疫和炎症反应。细胞内 HSPs 积累抑制了

TNF- α 和 IL-1 转录和分泌^[6], 提示细胞内 HSPs 积累有助于减轻中暑时炎症因子释放。对抗中暑损伤的保护作用与 HSP72 水平有关, 给予热应激处理后, 脑中 HSP72 含量会增加^[7-8], 诱导产生的 HSP72 在解剖学、组织化学、血液动力学方面具有很好保护作用。HSP72 能够减轻动脉低血压、脑缺血及神经元损伤而增加中暑大鼠生存时间^[7]。中暑诱导 HSP70 在孤束核表达, 减轻中暑引起的严重低血压和心动过缓^[9]。

替普瑞酮是一种有效、低毒 HSP70 诱导剂, 可

诱导大鼠中枢神经系统 HSP70 表达。其机制可能是通过诱导蛋白激酶 C 表达,上调 HSP70 表达。推测替普瑞酮抗热损伤作用的可能机制为替普瑞酮对抗热损伤引起的炎症反应和循环休克,延长生存时间,减少氧自由基产生。

参考文献

[1] Bouchama A ,Knochel JP. Heat stroke [J]. N Engl J Med 2002 , 346(25) : 1978 - 1988.

[2] 尹泉,王启仪.替普瑞酮的作用机制及临床应用探讨[J].实用医学杂志 2010 26(14) :2660 - 2662.

[3] 吕阳,罗炳德,杨光,等.青蒿琥酯抗中暑内毒素血症的机制研究[J].中国公共卫生 2006 22(12) :1514 - 1515.

[4] 杨光,罗炳德,李文,等.热毒平抗中暑内毒素血症机制研究[J].中国公共卫生 2005 21(12) :1416 - 1417.

[5] Hall DM ,Buettnner GR ,Oberley LW et al. Mechanisms of circulatory

and intestinal barrier dysfunction during whole body hyperthermia [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2001 280: H509 - 521.

[6] Bouchama A ,Ollivier V ,Roberts G et al. Experimental heatstroke in baboon: analysis of the systemic inflammatory response [J]. Shock , 2005 24: 332 - 335.

[7] Kregel KC. Heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance [J]. Journal of Applied Physiology 2002 92: 2177 - 2186.

[8] Wang JL ,Ke DS ,Lin MT. Heat shock pretreatment may protect against heatstroke-induced circulatory shock and cerebral ischemia by reducing oxidative stress and energy depletion [J]. Shock , 2005 23: 161 - 167.

[9] Li PL ,Chao YM ,Chan SH et al. Potentiation of baroreceptor reflex response by heat shock protein 70 in nucleus tractus solitarii confers cardiovascular protection during heatstroke [J]. Circulation , 2001 ,103: 2114 - 2119.

收稿日期: 2011-08-02

(解学魁编辑 周欣琳校对)

• 实验研究 •

辽宁省汉城型汉坦病毒基因亚型分析*

耿英芝,田疆,刘芸,王博,孙英伟,李鑫,姚文清

摘要:目的 分析辽宁省汉城型汉坦病毒(HV)的基因亚型及其分布情况。方法 收集辽宁省内主要肾综合征出血热(HFRS)流行地区的鼠肺和病人血清标本,采用间接免疫荧光法(IFA)检测鼠肺中HV抗原,应用HV特异性引物以RT-PCR方法扩增标本中M和S基因片段的特异性核苷酸序列,测序后与已知病毒序列进行比较分析,构建系统发生树,以明确其型别和亚型及其地理分布情况。结果 辽宁省HFRS疫区褐家鼠携带的病毒均为汉城型病毒(SEOV);对鼠肺及病人携带HV的部分M片段及部分S片段进行核苷酸序列分析表明,发现SEOV的同源性较高,变异较小,稳定性较高,而且地理位置相近地区基因组核苷酸序列的同源性很高(>98.8%),具有小范围的地理聚集现象。结论 辽宁省流行的SEOV均为S3亚型,基因亚型分布比较单一。

关键词: 汉坦病毒(HV);汉城型病毒(SEOV);基因亚型;系统发生分析;分布

中图分类号: R 373.9

文献标志码: A

文章编号: 1001-0580(2012)12-1594-03

Genetic subtypes and distribution of Seoul hanta virus in Liaoning province

GENG Ying-zhi ,TIAN Jiang ,LIU Yun ,et al(Department of Endemic Disease Control ,Liaoning Provincial Center for Disease Control and Prevention ,Shenyang Liaoning Province 110005 ,China)

Abstract: Objective To investigate the genetic subtype and distribution of Seoul hanta virus in Liaoning province. **Methods** Rat lung samples and serum samples of the patients were collected in major epidemic areas and hantavirus antigens in the rat lungs were detected by indirect immunofluorescence assay. Partial M and S segments were amplified by nested reverse-transcription polymerase chain reaction(RT-PCR) using hantavirus specific primer and then sequenced , analyzed and compared with known sequences. The phylogenetic trees were constructed to analyze subtypes and geographical distribution. **Results** The Seoul hanta virus(SEOV) were carried by *Rattus norvegicus* in Liaoning province. The analytic results of partial M and S segments carried by rat lungs and patients indicated that the homology and variation of SEOV were high. The homology of nucleotides sequence was above 98.8% for samples from similar geographical areas ,with a high homology for adjacent geographical areas. **Conclusion** The popular SEOV is S3 subtypes in Liaoning province and the gene subtypes distribution is single.

Key words: hantavirus; Seoul hanta virus; genetic subtype; phylogenetic analysis; distribution

汉坦病毒(hantavirus ,HV)属于布尼亚病毒科

汉坦病毒属,是分节段的单股负链RNA病毒,主要导致肾综合征出血热(hemorrhagic fever with renal syndrome ,HFRS)及汉坦病毒肺综合征(hantavirus pulmonary syndrome ,HPS)。目前已发现的HV至少可分为40种血清型或基因型^[1-2],而且每一型均来自1种或少数几种密切相关的啮齿动物,并在宿

* 基金项目: 国家科技重大专项(2009ZX10004-209)
 作者单位: 辽宁省疾病预防控制中心感传所,沈阳 110005
 作者简介: 耿英芝(1979-),女,辽宁沈阳人,主管技师,硕士,主要从事病毒病原学及分子生物学研究工作。
 通讯作者: 姚文清, E-mail: yaowenqing@lncdc.com