

# 热休克反应对大鼠中暑休克的影响及意义

罗炳德, 王 斌, 邹 飞, 陈光忠, 万为人, 郭进强

(第一军医大学高温医学研究室, 广东 广州 510515)

**摘要:** 目的 探讨热休克反应(HSR)对大鼠中暑休克的影响及其意义。方法 SD 雄性大鼠随机分为 3 组: 热休克组(HS group), 热休克对照组(HSC group), 正常对照组(NC group)。HS 组给予热休克预处理, 而 HSC 组则否。两组常温恢复 20 h 后予以高温热暴露处理, 其间监测记录血压、心电图; 热暴露至 73 min 时终止实验, 检测血清丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)含量; 运用 Chart 软件, 获取平均动脉压(MAP)、收缩压(Ps)、舒张压(Pd)、心率(HR)等数据。NC 组不予任何处理, 以获得上述数据的正常值。结果 (1) 热暴露 73 min 时, HS 与 HSC 组动物的 MAP、Ps、Pd 值明显低于 NC 组( $P < 0.01$ ), HR 值高于 NC 组( $P < 0.01$ ); HS 与 HSC 组相比表现出更高的 MAP、Ps、Pd( $P < 0.01$ ), HR 值( $P < 0.05$ )。 (2) 热暴露 73 min 时, HSC 组血清 MDA、NO 含量显著高于 NC 组( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 而此时 HS 组血清 MDA 含量明显低于 HSC 组( $P < 0.05$ ), 并与 NC 组差异无显著性, 其血清 NO 含量亦较 HSC 组明显为低( $P < 0.01$ )。结论 HSR 能减轻大鼠中暑休克的发生, 其机理可能与抑制 MDA、NO 的过量生成有关。

**关键词:** 热休克反应; 中暑; 休克; 丙二醛; 一氧化氮

中图分类号: R135.3 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2004)02-0065-03

## Effects and significance of heat shock response on heat stroke in rats

LUO Bing-de, WANG Bin, ZOU Fei, CHEN Guang-zhong, WAN Wei-ren, GUO Jin-qiang

(Department of Heat Environmental Medicine, The First Military Medical University, Guangzhou 510515, China)

**Abstract:** **Objective** To study the effects and significance of heat shock response (HSR) on heat stroke (HS). **Method** SD male rats were randomly divided into three groups i.e., HS group, HS control group (HSC) and normal control group (NC). Rats in HS group were pretreated by heat and those in the HSC group were not. Twenty hours later, the rats in HS group were placed in a heat cabin for 73 minutes to cause them HS and blood pressure and electrocardiograph were monitored for them during they stayed in the heat cabin. Serum levels of malonyl dialdehyde (MDA) and nitric oxide (NO) were measured for the rats after heat exposure. No treatment for the rats in NC groups was given. Their mean arterial pressure (MAP), systolic pressure (SP), diastolic pressure (DP), heart rate (HR) were obtained for all the rats by Chart software. **Result** (1) MAP, SP and DP in HS and HSC groups were significantly lower than those in NC,  $P < 0.01$ , and HR was higher in HS and HSC than that in NC,  $P < 0.01$ . MAP, SP, DP and HR in HS group were significantly higher than those in HSC,  $P < 0.01$  and  $P < 0.05$  respectively. (2) Serum levels of MDA and NO were significantly higher in HSC than those in NC,  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ , respectively, at 73 minutes after heat exposure, and serum levels of MDA was significantly lower in HS group than those in HSC one,  $P < 0.05$ , but not significantly differing from those in NC one. Content of NO in HS group was also lower than in HSC group ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** HSR could reduce occurrence of heat stroke in rats, possibly by inhibiting over synthesis of MDA and NO.

**Key words:** Heat shock response; Heat stroke; Shock; Malonyl dialdehyde; Nitric oxide

各种生物细胞在受到多种理化刺激(如高温、缺氧、重金属、病毒感染等)时,可产生一种以迅速增加热休克蛋白(heat shock protein, HSP)基因表达和 HSP 合成为特征的反应,称为热休克反应(heat shock response, HSR)。本文采用整体高温来诱导大鼠产生 HSR,通过检测大鼠中暑休克时血清丙二醛(malondialdehyde, MDA)、一氧化氮(nitric oxide, NO)

的水平,探讨 HSR 对大鼠中暑休克的影响及其意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

健康 SD 大鼠 24 只,雄性,体重 200~250 g,第一军医大学动物实验中心提供。Powlab/8sp 生理记录仪,澳大利亚 Adinstruments 公司产品;仿真模拟气候舱,第一军医大学热带军队卫生学系制造;戊巴比妥钠为上海化学试剂厂产品。

### 1.2 方法

大鼠饲养于常温,干球温度( $25 \pm 1$ ) $^{\circ}\text{C}$ ,湿球温

收稿日期: 2003-07-14; 修回日期: 2003-09-30

基金项目: 十五军队指令性课题(01H051)

作者简介: 罗炳德(1952-),男,研究员,从事中暑基础与应用研究。

度 (16±1)℃, 相对湿度 (43±3)%。采用整体高温来诱导 HSR, 即使动物直肠温度达到 42℃, 并持续 15 min<sup>[1-3]</sup>。动物随机分为 3 组, 每组 8 只: (1) 热休克组 (heat shock group, HS group): 以 1% 的戊巴比妥钠 (40 mg/kg) 腹腔注射麻醉动物后放入模拟热气候舱中, 监测直肠温度。舱内气象条件为干球温度 (38.5±0.5)℃, 湿球温度 (33.0±0.5)℃, 相对湿度 (65±3)%。待动物直肠温度达到 42℃后, 维持此温度 15 min; (2) 热休克对照组 (heat shock control group, HSC group): 仅给予上述同等剂量的戊巴比妥钠, 而不给予热休克预处理。两组动物经上述处理后, 常温恢复 20 h, 然后进行如下处理: 戊巴比妥钠 (50 mg/kg) 腹腔注射麻醉; 解剖分离股动脉, 插入 polyethylene 管 (PE50), 连接到血压换能器; 连接心电电极, 信号被输入 Powlab/8sp 生理记录仪, 连续监测记录血压、心电; 该记录仪采样率设置为 4 kHz, 以保证波形的精确。操作完毕后, 对两组动物进行高温热暴露处理, 气象条件为干球温度 (39.5±0.5)℃, 湿球温度 (34.0±0.5)℃, 相对湿度 (65±3)%。热暴露至 73 min 时终止实验, 迅速通过股动脉对两组动物进行取血; 离心后, 取血清-80℃冻存待测 MDA、NO 值; 运用软件 Chart V4.1.2, 得出

表 1 热暴露 73 min 时各组 MAP、Ps、Pd、HR 值 (n=8,  $\bar{x} \pm s$ )

Tab 1 MAP、Ps、Pd、HR of each group at 73 min after heat exposure (n=8 Mean±SD)

组别 (Group)	MAP (kPa)	Ps (kPa)	Pd (kPa)	HR (b/min)
正常对照组 (NC)	14.3±1.3	17.5±1.6	12.5±1.0	377.0±26.9
热休克对照组 (HSC)	7.9±0.8*	10.8±1.5*	6.3±0.9*	589.3±19.8*
热休克组 (HS)	12.4±1.3# (**)	14.5±0.9# (**)	10.5±0.9# (**)	613.4±19.2# (#)

\* P<0.01 vs NC, # P<0.01 vs NC, # P<0.05 vs HSC, \*\* P<0.01 vs HSC

2.2 热暴露至 73 min 时血清 MDA、NO 含量的比较

实验结果显示, 热暴露至 73 min 时, 大鼠血清 MDA、NO 含量显著上升, HSC 组血清 MDA、NO 含量显著高于 NC 组 (P<0.05, P<0.01), 而此时 HS 组血清 MDA 含量明显低于 HSC 组 (P<0.05), 与 NC 组比较差异无显著性; HS 组血清 NO 含量亦较 HSC 组明显为低 (P<0.01)。见表 2。

表 2 热暴露 73 min 时动物血清 MDA、NO 含量 (n=8  $\bar{x} \pm s$ )

Tab 2 The content of MDA and NO of serum at 73 min after heat exposure (n=8, Mean±SD)

组别 (Group)	MDA (nmol/ml)	NO (μmol/L)
正常对照组 (NC)	5.42±0.90	53.4±15.8
热休克对照组 (HSC)	6.50±0.70#	172.6±35.4*
热休克组 (HS)	5.48±1.00**	125.2±20.5##

\* P<0.01 vs NC, \*\* P<0.05 vs HSC, # P<0.05 vs NC, ## P<0.01 vs HSC

此时平均动脉压 (mean arterial pressure, MAP)、收缩压 (systolic pressure, Ps)、舒张压 (diastolic pressure, Pd)、心率 (heart rate, HR) 等数据<sup>[4]</sup>。(3) 正常对照组 (normal control group, NC group): 不予任何处理, 以获得 MAP、Ps、Pd、HR, 血清 MDA、NO 含量的正常值。

MDA 测定采用硫代巴比妥酸法, MDA 结果以 nmol/ml 表示; NO 测定采用硝酸还原酶法, NO 结果以 μmol/L 表示; 试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.3 统计处理

所有数据以均数±标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 应用 SPSS for windows (10.0) 统计软件包进行处理分析, 两组之间比较应用 t 检验, 3 组之间比较应用方差分析。

2 结果

2.1 热暴露 73 min 时平均动脉压等生理数据的比较

实验结果显示, 热暴露至 73 min 时, HS 与 HSC 组动物的 MAP、Ps、Pd 值均明显低于 NC 组 (P<0.01), HR 值高于 NC 组 (P<0.01); HS 与 HSC 组相比表现出更高的 MAP、Ps、Pd (P<0.01)、HR 值 (P<0.05)。见表 1。

3 讨论

持续热暴露将导致机体发生中暑休克, 且一旦休克发生, 生还的可能性很小, 死亡率可高达 17%~80%, 因此高温诱导的中暑休克是热环境下动物死亡的重要原因。本研究显示, 热暴露 73 min 时, HSC 组动物即出现中暑休克 (MAP<9.31 kPa); 同时, 血清 MDA 及 NO 含量均明显增高, 提示 MDA 及 NO 可能参与了中暑休克的发生。研究证实: 动物热暴露后, 血浆、组织的内毒素、细胞因子水平显著升高<sup>[5,6]</sup>, 使得 iNOS 大量表达, 从而导致 NO 异常增高<sup>[7]</sup>; 大量的 NO 可对心血管系统产生极为不利的影响, 是休克发生发展的重要因素: (1) NO 通过激活可溶性的鸟苷酸环化酶形成 cGMP, cGMP 可激活蛋白激酶使肌浆蛋白轻链去磷酸化, 从而引起血管平滑肌舒张; (2) 过量的 NO 还有负性肌力作用, 使心功能

受抑<sup>[8]</sup>; (3) 细胞毒性作用, NO 通过与细胞中含硫中心的酶结合, 使之失去活力, 干扰能量代谢和 DNA 合成。而升高的自由基和反应中生成的脂质过氧化物如 MDA 等可造成蛋白质功能丧失、膜运输功能紊乱、细胞自溶<sup>[9]</sup>等, 从而对心肌细胞产生极大的损害作用。另外, NO 还能与自由基产生协同作用, 其可与自由基中的  $O_2^{\cdot -}$  反应生成过氧亚硝基阴离子 (peroxynitrite,  $ONOO^-$ ),  $ONOO^-$  可干扰线粒体电子传递, 使细胞的过氧化反应加快, 造成细胞代谢紊乱, 从而导致中暑休克发生<sup>[10]</sup>。

HSR 是生物体在受到外界刺激时产生的一种保护性反应, 通过 HSR 生物体可对外界有害应激进行自我防御。本文研究表明 (表 1), 热暴露 73 min 时 HSC 组 MAP、Ps、Pd 显著低于 NC 组, 且  $MAP < 9.31$  kPa, 动物出现明显休克、循环衰竭 (动物受热过程中 MAP 降至 9.31 kPa 为休克标准), 而此时 HS 组虽然 MAP、Ps、Pd 也低于 NC 组, 但明显高于 HSC 组 (包括 HR 值), 且  $MAP > 9.31$  kPa, 提示 HSR 可显著减轻中暑休克。本实验证实 (表 2), HSR 抑制了热暴露大鼠血清 MDA、NO 的过量生成, HS 组血清 MDA、NO 含量明显较 HSC 组为低, 其中 MDA 含量与 NC 组相比差异亦无显著性; 同时, 随着 HSR 对 MDA、NO 生成的抑制, 动物中暑休克也明显减轻, MAP 等生理数据显著高于 HSC 组 (表 1), 提示 HSR 的保护作用与抗自由基过氧化、减少 NO 过量生成有关。国外的研究也证实, HSR 诱导了机体 HSP70 过量表达, 而 HSP70 可作为分子伴侣 (molecular chaperon) 保护 SOD 及 CAT 等细胞内抗氧化自由基酶免受损伤或直接激活抗氧化自由基酶, 发挥抗氧化作用; HSR 还能抑制 iNOS 基因转录和 iNOS 的合成, 降低 iNOS 活性, 减少 NO 的合成, 从而减轻 NO、 $ONOO^-$  等因子对机体

的损害作用<sup>[11]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] 谭红梅, 吴伟康, 罗汉川, 等. 热休克反应对缺血-再灌心肌保护作用的机制探讨 [J]. 中国病理生理杂志, 1999, 15(10): 868-870.
- [2] Yamashita N, Hoshida S, Nishida M, et al. Time course of tolerance to ischemia reperfusion injury and induction of heat shock protein 72 by heat stress in the rat heart [J]. J Mol Cell Cardiol, 1997, 29 (7): 1815-1821.
- [3] Currie RW, Kamazyn M, Kloc M, et al. Heat-shock response is associated with enhanced postischemic ventricular recovery [J]. Circ Res, 1988, 63 (3): 543-549.
- [4] 王斌, 罗炳德, 刘瑶, 等. 微电脑辅助的大鼠全套血压波形参数获得系统的建立 [J]. 第一军医大学学报, 2002, 22(7): 614-616.
- [5] 罗炳德, 闫文生, 万为人, 等. 热性发热兔血浆脂多糖 (LPS) 浓度与生理反应的变化 [J]. 中国应用生理学杂志, 1998, 14 (2): 166-169.
- [6] Bouchana A, Parhar RS, El-Yazigi A, et al. Endotoxemia and release of tumor necrosis factor and interleukin  $1\alpha$  in acute heatstroke [J]. J Appl Physiol, 1991, 70 (6): 2640-2644.
- [7] Le Greves P, Shama Hs, Westman J, et al. Acute heat stress induces edema and nitric oxide synthase upregulation and downregulates mRNA levels of the NMDAR1, NMDAR2A and NMDAR2B subunits in the rat hippocampus [J]. Acta Neuochir Suppl (Wien), 1997, 70275-70278.
- [8] Lorente JA, Landin L, Renes E, et al. Role of nitric oxide in the hemodynamic changes of sepsis [J]. Crit Care Med, 1993, 21 (5): 759-767.
- [9] Otani H, Engelman RM, Rousou JA, et al. Cardiac performance during reperfusion improved by pretreatment with oxygen free-radical scavengers [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 1986, 91 (2): 290-295.
- [10] Bechman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and the ugly [J]. Am J Physiol, 1996, 271 (cell physiol 40): 1424-1437.
- [11] Hauser GL, Dayao EK, Wasserloos K, et al. HSP induction inhibits iNOS mRNA expression and attenuates hypotension in endotoxin-challenged rats [J]. Am J Physiol, 1996, 271(6 Pt 2): 2529-2535.

## · 消 息 ·

### 中华预防医学会职业病专业委员会第十五次全国学术交流会征文通知

根据 2003 年 4 月在上海召开的中华预防医学会职业病专业委员会常委会会议的决定, 以及 2003 年度学术活动计划的安排, 为宣传、贯彻、落实《职业病防治法》, 本专业委员会拟于 2004 年第四季度在广东召开第十五次全国职业病学术交流会。现将征稿事宜通知如下。

#### 1 征文内容

(1)《职业病防治法》及配套法规的贯彻实施经验、体会; (2)重大职业病危害事故的预防与控制; (3)职业病诊断、鉴定与管理; (4)农药中毒诊断、处理与预防; (5)职业病临床治疗经验与进展; (6)有关实验研究进展。

#### 2 征文文稿要求

(1)每篇论文限 4000 字以内, 同时附 500~800 字的中文摘要。文稿用 word 文档格式录入, A4 纸打印。用软盘或电子邮件寄送论文全文、摘要电子版; (2)来稿请注明作者、作者单位、单位地址、邮政编码; (3)征稿截止日期: 2004 年 8 月 15 日; (4)投稿请寄: 广州市新港西路海康街 68 号, 胡世杰、李伟均收, 邮政编码: 510310 联系电话: 020-89021772, 电子邮件地址: hushijie@163.com; (5)每篇论文收取稿件处理费 20 元, 随论文寄至稿件收取人。

征稿文章全文或摘要汇集成册,《中国工业医学杂志》等刊物将择优录用。大会期间举办学术进展讲座。

中华预防医学会职业病专业委员会 中华预防医学会学术会务部