

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.36.005

## SD 大鼠极端高温高湿环境暴露的实验研究\*

刘刚<sup>1,2</sup>,刘诗颖<sup>2</sup>,黄伍蓉<sup>2</sup>,简毅<sup>3</sup>,呼永河<sup>4</sup>,吴丽娟<sup>2△</sup>

(1.西南交通大学生命科学与工程学院,成都 610031;2.中国人民解放军成都军区总医院转化医学科/高湿医学全军重点实验室,成都 610083;3.中国人民解放军成都军区总医院病理科,成都 610083;4.中国人民解放军成都军区总医院中医科,成都 610083)

**[摘要]** 目的 调查极端高温高湿环境暴露对 SD 大鼠生存、血液生化指标的影响及对主要脏器的伤害。方法 26 只 SD 大鼠分为常温常湿组和极端高温高湿组。观察 SD 大鼠在极端高温高湿环境中的死亡情况并于半数致死时间点捕杀动物进行血清生化指标测定和心、肺、肾、脑、肌肉和小肠 6 种组织的病理检测。结果 极端高温高湿环境暴露可导致 SD 大鼠死亡,半数致死时间为 48 h;极端高温高湿组与常温常湿组相比,SD 大鼠血清肌酐(Scr)显著性升高( $P < 0.05$ ),血清碱性磷酸酶(ALP)、缺血修饰性清蛋白(IMA)明显下降( $P < 0.05$ ),其他生化指标无显著性改变;极端高温高湿组 SD 大鼠心、肺、肾、小肠组织可见炎性细胞浸润,脑和肌肉组织未见明显病理性改变。结论 极端高温高湿环境暴露对 SD 大鼠有明显伤害,可引起某些血液生化指标异常和心、肺、肾、小肠组织的炎性改变,甚至造成死亡。

**[关键词]** 高温;高湿;环境暴露;大鼠,Sprague-Dawley;生物学标记;病理学,临床

**[中图分类号]** Q494 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2017)36-5052-03

### The experimental research of the SD rats exposed to the high-temperature and high-humidity environment\*

Liu Gang<sup>1,2</sup>, Liu Shiyong<sup>2</sup>, Huang Wurong<sup>2</sup>, Jian Yi<sup>3</sup>, Hu Yonghe<sup>4</sup>, Wu Lijuan<sup>2△</sup>

(1. School of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu, Sichuan 610031, China; 2. Department of Translational Medicine/Key Laboratory of High Humidity Medicine, Chengdu Military General Hospital, Chengdu, Sichuan 610083, China; 3. Department of Pathology, Chengdu Military General Hospital of PLA, Chengdu, Sichuan 610083, China; 4. Department of Traditional Chinese Medicine, Chengdu Military General Hospital, Chengdu, Sichuan 610083, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effect of extremely high temperature and high humidity exposure on the survival and blood biochemical indexes of SD rats and the to the major organs. **Methods** Twenty - six SD rats were divided into the normal temperature and humidity group and the extremely high-temperature and high-humidity group. The mortality of SD rats in extremely high-temperature and high humidity environment was observed, and at the median lethal time, the living rats were undergoing the tests of serum biochemical indicators and the pathological examination of the heart, lung, kidney, brain, muscles and intestinal tissues. **Results** The exposure to the extremely high-temperature and high-humidity environment could lead to the death of SD rats, the median lethal time was 48 h. The serum creatinine(Scr) increased significantly( $P < 0.05$ ), and the serum alkaline phosphatase (ALP) and ischemia modified albumin (IMA) decreased significantly ( $P < 0.05$ ) when compared with the normal temperature and humidity group, and there was no significant difference in other biochemical indicators. The inflammatory cell infiltration was observed in heart, lung, kidney and intestines, and there were no obvious pathological changes in brain and muscle. **Conclusion** The exposure to the extremely high-temperature and high-humidity environment has obvious lesion on SD rats, it can lead to the abnormality of some biochemical indicators, the inflammatory changes in heart, lung, kidney and intestines, and even death.

**[Key words]** high-temperature; high-humidity; environmental exposure; rats, Sprague-Dawley; biological markers; pathology, clinical

高温高湿环境会导致机体不能有效散热,体温升高,引起机体一系列的生理应激反应,呼吸加深加快、心率增加、消化吸收功能下降等,严重时能导致神经内分泌、能量代谢及免疫功能等系统及组织器官功能的改变<sup>[1]</sup>。西南战区部队官兵在夏季进行野外军事训练时,常会经受极端高温高湿环境的考验,为了探究极端高温高湿环境对机体造成的生理病理影响,本研究采用人工气候箱模拟极端高温高湿环境,观察 Sprague-Dawley(SD)大鼠的生存情况、血液生化指标改变及主要脏器的病理损伤,为进一步研究极端高温高湿环境对人体的损伤作

用、分子机制和干预措施提供实验依据。

### 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 雄性 SD 大鼠 26 只,6~8 周龄,体质量(180±10)g,成都达硕生物科技有限公司提供,实验动物许可证号 scxk(川)2008-24。本研究获得成都军区总医院伦理委员会批准。

**1.2 主要仪器与试剂** 多段编程人工气候箱(RXZ-100A,中国宁波江南仪器厂),Beckman AU5800 全自动生化仪,转轮式切片机(徕卡-2016,德国)等。多聚甲醛、中性树胶等由四川生

\* 基金项目:四川省科技厅青年科技创新研究团队资助(2013TD0016)。 作者简介:刘刚(1991-),硕士,主要从事生物化学与分子生物学研究。 △ 通信作者,E-mail:wulijuan1638@126.com。

工科技有限公司提供,各项生化指标试剂盒由北京九强生物技术有限公司提供。

**1.3 方法** SD 大鼠按随机数字表法分为极端高温高湿组和常温常湿组,每组 13 只。人工气候箱模拟温度与湿度气候环境,极端高温高湿组设置为温度(35.0±0.5)℃、相对湿度(95±5)%;常温常湿组设置为温度(25.0±0.5)℃、相对湿度(50±5)%。两组大鼠置于相应的环境下持续饲养,24 h 不间断暴露于模拟气候条件中。实验中,记录大鼠存活状态与死亡情况,当极端高温高湿组死亡数量达到 1/2 时,对存活大鼠以水合氯醛麻醉,采集 SD 大鼠腹主动脉血进行血清生化指标检测并取心、肺、肾、脑、肌肉和小肠 6 种组织进行病理检查。常温常湿组在极端高温高湿组达到半数致死时选取 6 只 SD 大鼠,按照相同的方法采集血标本及组织标本。

**1.4 指标检测**

**1.4.1 生化指标测定** 使用美国 BD 黄头采血管(含血清分离胶)采集血液样本 4 mL,静置 30 min 后 3 000 r/min 离心 15 min 分离血清,随即对钾(K<sup>+</sup>)、钠(Na<sup>+</sup>)、氯(Cl<sup>-</sup>)、尿素氮(BUN)、血清肌酐(Scr)、总胆红素(TBIL)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、γ 谷氨酰基转移酶(GGT)、血清碱性磷酸酶(ALP)、缺血修饰性清蛋白(IMA)和肌酸激酶(CK)共计 12 项血液生化指标,按照北京九强生物技术有限公司提供的试剂盒说明书在全自动生化仪上检测。

**1.4.2 病理检查** SD 大鼠解剖暴露胸腹腔后,肉眼观察并记录主要脏器形态特点,摘取心、肺、肾、脑、肌肉和小肠 6 种组织,经 10%多聚甲醛固定、脱水、包埋、切片及染色后,做常规病理分析,显微镜下观察组织病理改变并拍照记录。

**1.5 统计学处理** 采用 SPSS18.0 软件统计处理,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析,检验水准  $\alpha = 0.05$ ,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 致死效应** 极端高温高湿组 SD 大鼠暴露于人工气候模拟箱提供的极端高温高湿环境 10 h 后开始明显出现活动量减少,呼吸急促,反应迟钝的现象。在 20.5 h 之前无死亡发生,27.5 h 死亡 2 只,48.0 h 死亡 5 只,累计死亡过半剩 6 只。SD 大鼠的半数致死时间为 48 h。常温常湿组 SD 大鼠在实验期间反应迅速,状态无异常,48 h 内未出现死亡。SD 大鼠生存曲线见图 1。

**2.2 血液生化指标检测结果** 通过对血液生化指标的测定与分析,极端高温高湿组与常温常湿组相比,K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、Cl<sup>-</sup>、ALT、AST 5 项生化指标降低但差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),ALP 和 IMA 降低差异有统计学意义( $P < 0.05$ );BUN、TBIL、GGT 和 CK 升高但差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),Scr 明显升高且差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。上述各项指标的详细检测结果见表 1。

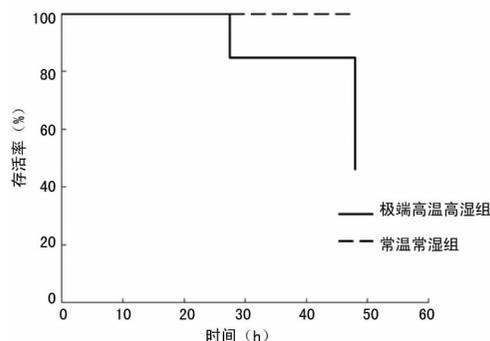


图 1 SD 大鼠生存曲线

表 1 两组血液生化指标比较( $\bar{x} \pm s$ )

项目	常温常湿组	极端高温高湿组
K <sup>+</sup> (mmol/L)	6.03±0.39	5.41±1.35
Na <sup>+</sup> (mmol/L)	157.45±16.83	139.95±3.94
Cl <sup>-</sup> (mmol/L)	107.08±13.45	98.83±1.88
BUN(mmol/L)	6.43±1.26	6.91±1.55
Scr(μmol/L)	24.50±5.00	34.67±6.31 <sup>a</sup>
TBIL(μmol/L)	0.69±0.29	1.02±0.33
ALT(IU/L)	51.60±9.15	42.98±8.19
AST(IU/L)	208.33±25.46	180.67±24.02
GGT(IU/L)	4.48±0.32	4.50±0.45
ALP(IU/L)	406.85±61.41	281.77±76.47 <sup>a</sup>
IMA(U/L)	79.38±3.62	74.65±1.75 <sup>a</sup>
CK(IU/L)	1 684.30±606.95	1 698.23±205.29

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ ,与常温常湿组比较

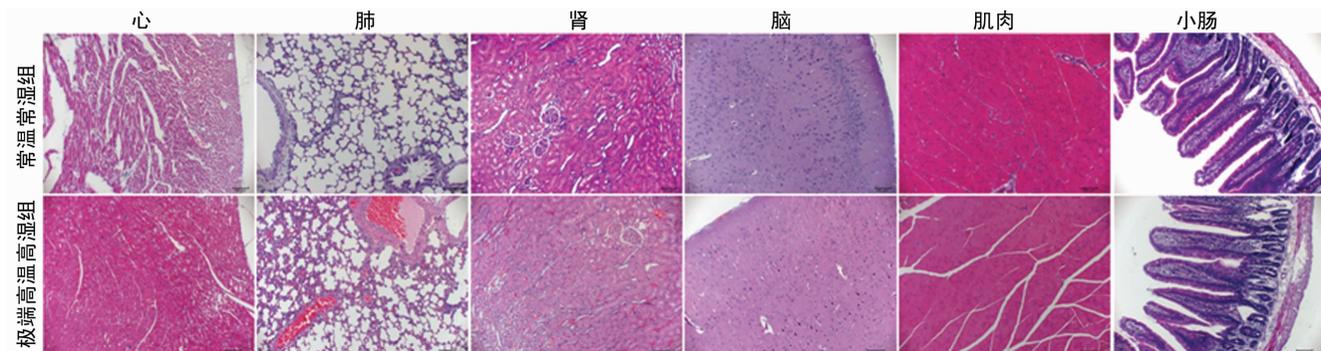


图 2 两组心、肺、肾、脑、肌肉、小肠组织病理检查结果(HE×100)

**2.3 病理检查结果** 解剖发现与常温常湿组比较,极端高温高湿组大鼠肉眼可见心脏颜色暗红,肺脏轻微充血,小肠与肾脏轻度肿胀,其他脏器无肉眼可见差异。六大脏器的病理检查发现,极端高温高湿组 SD 大鼠心组织出现轻微心肌纤维水肿

伴嗜酸性粒细胞浸润;肺组织出现血管扩张充血、轻微肺间质增宽伴淋巴细胞浸润;小肠绒毛排列整齐紧密、黏膜出血且黏膜层内有淋巴细胞及浆细胞浸润;肾组织出现间质充血伴淋巴细胞浸润、肾小球未见血管增生、肾小管无浊肿变性;脑和肌

肉组织结构完整,无明显病理改变。常温常湿组 SD 大鼠心、肺、肾、脑、肌肉和小肠组织结构完整,无明显病理改变。病理检查结果见图 2。

### 3 讨论

高温对机体的影响及其机制已经被人们了解,但高湿对机体的影响还鲜为人知。本课题组在高湿医学全军重点实验室专项资金的资助下,开展了系列高湿环境暴露对实验动物机体伤害的基础医学研究,其中在慢性伤害研究中,课题组为了尽量减少动物少食[高温和(或)高湿时动物主动少食]带来的干扰,采取了间断性暴露(每天 12 h 暴露,12 h 修整)30 d 以上,结果表明高湿环境暴露对机体免疫系统<sup>[2]</sup>、水通蛋白表达<sup>[3]</sup>等存在明显影响,且高温与高湿环境暴露存在协同效应,能够加重实验动物的慢性高湿损伤<sup>[4]</sup>。

本研究旨在模拟我国南方尤其是西南地区夏季处于极端炎热和极端高湿的气候条件,设置相对湿度(95±5)%、环境温度(35.0±0.5)℃,使 SD 大鼠 24 h 不间断暴露于上述极端高温高湿环境中,发现 48 h 暴露即可导致半数实验大鼠死亡,提示极端高温高湿环境暴露对实验动物具有致死效应。在接下来对暴露 48 h 仍然存活实验大鼠的研究中,本研究将极端高温高湿组与常温常湿组各项血清学检测指标和病理检查结果进行了逐一比较发现:(1)暴露 48 h 存活 SD 大鼠的血清电解质(K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、Cl<sup>-</sup>)无明显变化,提示极端高温高湿环境暴露 48 h 内存活 SD 大鼠体内渗透压平衡未受明显影响。(2)暴露 48 h 存活 SD 大鼠的血清 BUN 和 Scr 水平均出现升高,其中 Scr 升高差异有统计学意义(P<0.05),同时病理检查也提示肾组织出现间质充血伴淋巴细胞浸润,上述结果表明极端高温高湿环境对肾脏造成了明显的病理损伤,提示肾功异常是极端高温高湿环境暴露引起 SD 大鼠急性死亡的重要原因。该结果与本课题组杨芸等<sup>[3]</sup>在高湿环境致 SD 大鼠慢性伤害研究中[环境温度(25.0±0.5)℃,相对湿度(90±2)% ,连续间断暴露 30 d]的结果一致。(3)暴露 48 h 存活 SD 大鼠血清 ALT、AST、ALP、GGT 均出现降低,其中 ALP 降低,差异有统计学意义(P<0.05),血清 TBIL 升高但差异无统计学意义,据此本研究认为极端高温高湿暴露可导致血清酶水平降低。程建波等<sup>[5]</sup>认为机体可以通过体温调节中枢抑制甲状腺功能而引起 ALP 降低支持了本研究发现;但是上述结果与汪晓<sup>[6]</sup>的研究报道明显不同,汪晓采用环境湿度(35±2)℃、相对湿度(80±10)%气候条件,用 1.00 mA 电流电击大鼠强迫实验大鼠运动力竭,并在大鼠被迫运动 15 min 时采样检测,因此本研究认为汪晓的研究结果需要排除电击、恐慌和极限运动等带来的影响才能反映环境温度和湿度对实验大鼠的影响。(4)暴露 48 h 存活 SD 大鼠的血清 CK 水平出现升高,病理检查中肌肉和脑组织结构完整、无明显病理改变,仅在心脏组织中发现存在轻微心肌纤维水肿伴嗜酸性粒细胞浸润的情况,说明极端高温高湿环境暴露可致大鼠心脏病理损伤,是极端高温高湿环境暴露引起 SD 大鼠死亡的又一重要原因。(5)暴露 48 h 存活 SD 大鼠的血清 IMA 水平显著性下降;血清蛋白(serum albumin, ALB)由肝脏合成,在 ALB 的氨基末端存在与铜、钴、镍等

过渡金属离子结合的位点,当体内出现组织缺血缺氧的氧化应激<sup>[7]</sup>及组织炎症<sup>[8]</sup>时,ALB 氨基末端序列中的一个或多个氨基酸发生 N-乙酰化、缺失或替换,ALB 即转变成为了 IMA,与上述过渡金属离子的结合能力降低,因此血清 IMA 水平能反映组织缺血缺氧的氧化应激程度及组织的炎症程度,临床上已经将血清 IMA 作为心肌缺血等的灵敏指标<sup>[9]</sup>;理论上,高温环境暴露可导致体内血液由内脏转向皮肤,引起机体脏器处于相对缺血缺氧的状态,本研究在心、肺、肾及小肠病理检查中均观察到了存在炎性细胞浸润,笔者预期高温会导致血清 IMA 升高,但本研究却发现血清 IMA 下降,具体原因有待进一步探讨。

总之,通过对极端高温高湿环境下大鼠生存情况、血液生化指标及主要脏器病理损伤的监测,加深了极端高温高湿环境对机体生理病理影响的认识。极端高温高湿环境暴露引起生化指标的改变与病理损伤存在哪些联系,这一过程中生化指标随暴露时间的变化及哪些通路的改变引起了这一系列变化,这都有待进一步研究。

### 参考文献

- [1] Liu ZF, Li BL, Tong HS, et al. Pathological changes in the lung and brain of mice during heat stress and cooling treatment[J]. *World J Emerg Med*, 2011, 2(1): 50-53.
- [2] 郭鑫, 李昆, 王超, 等. 高湿环境对大鼠免疫功能的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 2014, 30(1): 89-92.
- [3] 杨芸, 李昆, 李薇, 等. 高湿环境致大鼠肾功能损害与水通道蛋白-2 的表达[J]. *西南国防医药*, 2014, 42(2): 123-125.
- [4] 李昆, 陈欣, 冯亚星, 等. 高温高湿环境习服对大鼠肺脏细胞凋亡及能量代谢的影响[J]. *第三军医大学学报*, 2016, 38(19): 2144-2147.
- [5] 程建波. 过瘤胃  $\gamma$ -氨基丁酸对热应激奶牛的应用效果及其抗应激机制研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2014.
- [6] 汪晓. 高温高湿条件下运动致大鼠多脏器损伤及其机制研究[D]. 福州: 福建医科大学, 2013.
- [7] Demir B, Ozyazgan S, Korkmaz GG, et al. The relationship between ischemia modified albumin and oxidative stress parameters in patients with cardiac syndrome X[J]. *Clin Lab*, 2013, 59(11/12): 1319-1329.
- [8] Kumar A, Subramanian K. The role of ischemia modified albumin as a biomarker in patients with chronic liver disease[J]. *J Clin Diagn Res*, 2016, 10(3): BC09-12.
- [9] Reddy VS, Perugu B, Garg MK. Ischemia-modified albumin must be evaluated as an oxidative stress marker together with albumin and bilirubin in individuals with acute appendicitis[J]. *Clinics (Sao Paulo)*, 2015, 70(7): 531-532.

(收稿日期: 2017-07-07 修回日期: 2017-08-09)