防暑汤对士兵高温训练前后外周血中 HSP72 表达及血液生化的影响

杨剑虹,陈晓娟,唐忠志 (广州军区武汉总医院急诊科,湖北 武汉 430070)

[摘 要] **目的** 研究防暑汤对高温训练前后士兵外周血中淋巴细胞热休克蛋白72(HSP72)的表达和血液生化的影响,为防暑药物增强士兵热耐力、预防中暑提供实验依据。**方法** 选取某部普通士兵 120 人,随机分为两组,每组 60 人。未饮用防暑汤者为对照组,饮用防暑汤者为实验组。进行高温训练任务的 1 周内,实验组士兵每日饮用防暑汤 300 mL,饮用前及 1 周后抽取各组外周静脉血,分别进行淋巴细胞 HSP72 含量、血液常规及生化指标测定。**结果** 饮用前后两组血液常规及生化检测值均在成年男子的正常值范围之内。饮用前,实验组 HSP72 的表达与对照组比较无显著差异($P>0.05$);饮用后,实验组 HSP72 表达显著高于训练前及对照组($P<0.05$);HSP72 表达的增长值,实验组显著高于对照组($P<0.05$);部分血液常规及生化指标存在显著差异。**结论** 防暑汤能提高士兵受热刺激后表达 HSP72 的能力,从而起到增强士兵热耐力、预防中暑的作用。

[关键词] 防暑汤;高温训练;HSP72;血常规;生化指标
[中图分类号] R594.12;R446.11 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2011)01-0036-03

Effect of heatstroke prevention soup on expression of blood and heat shock protein 72 and blood biochemical index in soldiers trained under high temperature

YANG Jian-hong, CHEN Xiao-juan, TANG Zhong-zhi (Emergency Department, Wuhan General Hospital of Guangzhou Military Command, Wuhan Hubei 430070, China)

Abstract: Objective To study the effect of heat stroke prevention soup on the expression of heat shock protein 72 (HSP72) and blood biochemical index in soldiers trained under high temperature in order to provide references to heat stoke prevention. **Methods** Totally 120 soldiers were divided into control group and experiment group ($n=60$). No heat stroke prevention soup was provided to control group while 300 mL heat stroke prevention soup was given to experimental group every day within one week of training. The blood from peripheral vein of all soldiers were collected and tested before and after training to determine the expression of HSP72 and to do blood routine test and blood biochemical index detection. **Results** The indexes of blood routine test and blood biochemical detection were in the normal range of adult man. No significant difference in the expression of HSP72 was detected between two groups before taking heatstroke prevention soup ($P>0.05$). The expression of HSP72 increased obviously in experiment group after taking the soup, higher than that in control ($P<0.05$), meanwhile, there were significant differences in some biochemical indexes between two groups ($P<0.05$). **Conclusion** Heatstroke prevention soup can enhance the heat tolerance of soldiers and prevent heatstroke due to training under high temperature by up regulating the expression of HSP72.

Keywords: heatstroke prevention soup; training under high temperature; HSP72; blood routine test; biochemical index

中暑在夏季军事训练中时常发生,常常影响到训练效果,因而在夏季高温训练中加强对士兵健康的监护、预防中暑具有重要的现实意义。有研究表明热休克蛋白 72(heat shock protein 72, HSP72)表达的高低在中暑的发病机制中占有重要地位,HSP72 的表达在中暑患者体内降低[1-3],而 HSP72 表达的上调可以增强生物的热耐受性,延缓中暑的发生、抵抗中暑的危害[4]。因此,适当诱导 HSP72 表达上调可达到增强热耐受性,预防中暑的目的[5]。目前,尚未见通过药物上调人体内 HSP72 表达的报道。本研究通过观察传统中药组方对高温训练前后士兵外周血中淋巴细胞 HSP72 表达和血液生化的影响,探讨其作用效果,并为通过药物增强士兵热耐受性、预防中暑、提高部队战斗力提供参考依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象及主要试剂与仪器

选择某部男性士兵 120 名(近 4 周无类似训练任务),健康状况良好,无吸烟、饮酒等嗜好,无家族遗传病史。120 人随机分为对照组和实验组,每组 60 人,两组人员的年龄、入伍时间接近,具有可比性。淡盐水为士兵平时训练所用常规饮品,其氯化钠浓度同正常汗液。防暑汤每剂组成为:二花 15 g,菊花 15 g,桑叶 6 g,绿豆 20 g,鲜芦根 15 g,百合 20 g,陈皮 15 g,山楂

[作者简介] 杨剑虹(1974-),男,湖北省武汉市人,主治医师,硕士,主要从事急诊医学方面的研究。电话:(027)68879736, E-mail:13871162939@139.com

[收稿日期] 2010-12-08 [修回日期] 2011-01-02

15 g,香需 9 g,甘草 9 g,玉竹 15 g,苡米 15 g,西瓜衣 15 g。由广州军区武汉总医院制剂厂提供。淋巴细胞分离液(上海试剂二厂),TritonX－100(Sigma 公司),兔抗人 HSP72(华中科技大学同济医学院职业医学研究所研制),异硫氰酸荧光素(FITC)标记羊抗兔 IgG(北京中山生物试剂公司),流式细胞仪(美国 BD 公司)。

1.2 实验方法

进行高温训练任务的 1 周内,两组每日同时于高温下(30～36 ℃)进行同样强度的训练 3 h。训练过程中,对照组按需饮用淡盐水(0.3% 氯化钠液体),不饮用防暑汤;实验组士兵每日在训练过程中饮用上述淡盐水及防暑汤 1 剂约 300 mL。

1.3 血液常规及血液生化指标测定

每组于训练开始前及训练 1 周后各采血 1 次,分别抽取 10 mL静脉血,分置于两个含有 EDTA 钠的抗凝管中,迅速混匀。一管送广州军区武汉总医院检验科进行血液常规及生化指标检测,另一管经密度梯度法离心分离淋巴细胞[5-6]。血液常规指标包括白细胞、红细胞、血小板计数、血红蛋白;血液生化指标包括 ALT(丙氨酸转氨酶)、Bun(尿素氮)、Cr(肌酐)等反映代谢情况的指标和血液中 Na^+(钠离子)、Cl^-(氯离子)、Ca^{2+}(钙离子)、K^+(钾离子)等。

1.4 外周血淋巴细胞 HSP72 表达水平测定

在分离得到的淋巴细胞中加入 4% 多聚甲醛固定液 500 μl,混匀。取经 4% 多聚甲醛固定的细胞离心(600 *g*, 4 min),弃上清。加入含 1% 牛血清白蛋白的 PBS (PBS-1% BSA,w/v)1 mL;震匀离心(600 *g*,4 min),弃上清。将细胞沉淀悬浮于 100 μl 按 1∶500 比例稀释的兔抗人 HSP(用 PBS-1% BSA 稀释,其中含 0.05% 的 Triton X-100,v/v),震匀后室温放置 20 min;加入 1 mL PBS－1% BSA 终止,震匀离心(600 *g*, 4 min),弃上清;重悬于 100 μl 稀释度为 1∶100 的 FITC 标记羊抗兔 IgG 中(PBS-1% BSA 稀释,含 0.05% TritonX-100),震匀后室温放置 20 min;加入 1 mL PBS 终止,震匀后 600 *g* 离心 4 min,弃上清;用 0.4 mL PI 浓度为 100 μg/mL 的冰冷 PBS 溶液重悬浮,震匀后转入流式上机管中,用流式细胞仪计数 5 000 个淋巴细胞,测定其中的 HSP72 含量。

1.5 统计分析

所有实验数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用 SPSS 11.5 软件进行统计分析。两组训练前后均数比较采用单因素方差分析(LSD 法)。两组 HSP72 表达增长值的比较采用秩和检验。检验标准$\alpha = 0.05$,以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 两组间血液常规比较

两组训练前后的白细胞、红细胞、血小板计数、血红蛋白检测值均在成年男子的正常值范围之内[6]。训练前,实验组和对照组各项指标无显著性差异。训练后,实验组白细胞计数增高,与训练前及对照组比较均有显著差异($P < 0.05$);实验组红细胞及血红蛋白与训练前比较降低($P < 0.05$),但较对照组增高($P < 0.05$);血小板计数比较无显著性差异($P > 0.05$),见表 1。

表 1 两组训练前后血常规检查($\bar{x} \pm s, n = 60$)

组别	白细胞(10^9/L)	红细胞(10^{12}/L)	血红蛋白(g/L)	血小板(10^9/L)
对照组训练前	6.76 ± 1.31	5.15 ± 0.31	157.65 ± 10.92	213.48 ± 47.63
对照组训练后	5.79 ± 1.42	4.62 ± 0.39	142.71 ± 10.16	209.36 ± 49.27
实验组训练前	6.74 ± 1.41	6.74 ± 1.41	154.15 ± 10.71	214.35 ± 46.56
实验组训练后	7.42 ± 1.81 *#	4.98 ± 0.39 *#	149.19 ± 9.16 *#	217.32 ± 45.72

*:与对照组训练后比较,$P < 0.05$;#:与实验组训练前比较,$P < 0.05$

2.2 两组血液生化指标统计结果

两组血液生化指标检验的统计结果见表 2。训练前后,各组指标测量值均在成年男子的正常值范围之内[5]。血清肌酐在各组间无显著性差异($P > 0.05$)。训练前,各项指标各组间差异无显著性。训练后,实验组及对照组中 ALT、Bun、Ca^{2+}、Na^+、Cl^-、K^+均低于各自训练前($P < 0.05$);实验组与对照组比较,各指标差异均无显著性 ($P > 0.05$)。

表 2 两组训练前后血液生化检验结果($\bar{x} \pm s, n = 60$)

组别	ALT(u/L)	Bun(mmol/L)	Cr(umol/L)	Ca2 +(mmol/L)	K +(mmol/L)	Na +(mmol/L)	Cl －(mmol/L)
对照组训练前	27.35 ± 9.47	5.20 ± 1.03	77.33 ± 10.36	2.39 ± 0.07	4.12 ± 0.37	142.27 ± 1.74	100.27 ± 2.21
对照组训练后	20.84 ± 7.05 *	4.25 ± 1.08 *	78.54 ± 10.13	2.21 ± 0.34 *	3.66 ± 0.27 *	140.22 ± 1.63 *	96.64 ± 1.42 *
实验组训练前	28.04 ± 9.78	5.27 ± 1.07	76.57 ± 11.61	2.42 ± 0.11	4.23 ± 0.41	142.77 ± 1.82	101.05 ± 2.02
实验组训练后	20.51 ± 6.93 #△	4.31 ± 0.96 #△	77.89 ± 9.64 △	2.20 ± 0.15 #△	3.58 ± 0.39 #△	139.97 ± 1.72 #△	97.03 ± 1.46 #△

*:与对照组训练后比较,$P < 0.05$;#:与实验组训练前比较,$P < 0.05$

2.3 两组训练前后外周血淋巴细胞 HSP72 的表达

训练前实验组 HSP72 的表达与对照组比较无显著差异($P > 0.05$)。训练后实验组 HSP72 表达显著高于训练前及对照组($P < 0.05$);HSP72 表达增长值,实验组显著高于对照组($P < 0.05$),见表 3。

表 3 两组训练前后 HSP72 表达的比较($\bar{x} \pm s$, $n = 60$)

组别	训练前	训练后	增长值
对照组	1 280.86 ± 149.28	1 551.84 ± 129.70	283.48 ± 53.26
实验组	1 312.13 ± 123.04	2 513.39 ± 269.15 *#	1 204.25 ± 89.67 *

*:与对照组训练后比较,$P < 0.05$;#:与实验组训练前比较,$P < 0.05$

3 讨论

中暑是高温环境下由于机体热耐受能力的减弱或丧失,热平衡和(或)水电解质代谢紊乱而导致的以中枢神经系统和心血管系统功能障碍为主要表现的急性疾病,士兵在夏季训练和考核中十分常见。高温、训练及由此可能导致的心理紧张将形成联合应激,诱导一系列应激反应,形成热耐受[7]。由于热耐受的形成存在个体差异,且受体内外多种因素影响,一旦热耐受不能正常形成,将导致中暑[8]。防暑汤取自传统中药组方,常被用来预防中暑,但其作用及机理尚未被系统观察过。

本研究发现,两组的血常规及生化检测值在训练前后均处于正常值范围内,由此可以认为正确饮用防暑汤对人体无不良影响。训练前上述指标在两组间无显著性差异,训练后实验组及对照组中 ALT、Bun、Ca^{2+}、Na^{+}、Cl^{-}、K^{+} 比较无差异,但均低于各自训练前,提示高温运动或作业有导致人体电解质紊乱的趋势,与我们前期的研究一致。高温训练后,实验组白细胞计数增高,与自身训练前及对照组比较差异显著($P<0.05$)。在我们前期的实验中已发现高温可导致白细胞增高,可能与高温应激有关[9]。本次研究过程中,两组士兵均未发生中暑,表明两组应激反应在正常范围内。实验组白细胞较对照组增高($P<0.05$),提示服用防暑汤后人体对高温的应激性有增强的趋势。众所周知,适当的应激对于人体抵抗压力、适应外界环境是必要的。同时,我们发现训练后两组红细胞及血红蛋白较训练前降低($P<0.05$),但实验组降低的程度比对照组小($P<0.05$),提示服用防暑汤可能会对人体自身调节产生影响,其作用机制尚需进一步研究。

本研究还发现,实验组士兵和对照组士兵体内的 HSP72 的表达均较训练前上升,同时实验组 HSP72 表达的上升幅度大于对照组($P<0.05$)。HSP72 是一种高度保守性的应激蛋白,具有促使细胞或生物从各种应激中恢复并保护它们免遭应激因素损害的能力,HSP72 在生物热耐受的形成中起主要作用,它的表达上调可以增强生物的热耐受性[10]。动物实验证实,敲除了 HSP72 基因的小鼠,其热耐受性明显下降;而 HSP72 过表达的转基因小鼠对热的耐受性明显增强[3]。HSP72 过表达有助于实验动物形成热耐受性,从而抵抗高温、动脉血压过低和脑缺血所带来的一系列损伤;同时,这种保护作用与 HSP72 的表达水平相一致[4-5]。在我们的研究中,实验组 HSP72 表达的上升幅度远远大于对照组($P<0.05$),显示饮用防暑汤可以显著提高高温训练后士兵体内 HSP72 的表达,从而促进热耐受的形成,增强抵抗热损伤的能力。实验组士兵训练后白细胞、红细胞和血红蛋白较对照组升高,可能与 HSP72 的表达上调到一定程度后的保护性反应有关[12]。虽然防暑汤影响 HSP72 表达的作用机制尚须进一步探讨,但是,应用防暑汤可为增强士兵热耐受性、预防中暑、提高部队战斗力提供参考。

[参考文献]

[1] Whitham M, Fortes MB. Heat shock protein 72: release and biological significance during exercise[J]. Front Biosci, 2008, 13(1): 1328 - 1339.

[2] Kalmar B, Greensmith L. Induction of heat shock proteins for protection against oxidative stress[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2009, 261(4): 310 - 318.

[3] Argaud L, Ferry T, Le QH, et al. Short-and long-term outcomes of heatstroke following the 2003 heat wave in Lyon, France[J]. Arch Intern Med, 2007, 167(20): 2177 - 2183.

[4] Lee WC, Wen HC, Chang CP, et al. Heat shock protein 72 overexpression protects against hyperthermia, circulatory shock, and cerebral ischemia during heatstroke[J]. J Appl Physiol, 2006, 100(6): 2073 - 2082.

[5] 马 强,王洪飞,马 建,等. 演习人员外周血淋巴细胞热休克蛋白 70 的表达及相关因素分析[J]. 华南国防医学杂志, 2010, 24(4): 283 - 285.

[6] 沈关心,周汝麟. 现代免疫学实验技术[M]. 第 2 版. 武汉:湖北科学技术出版社, 1998: 377 - 390.

[7] 陈文彬,潘祥林,康鑫熊,等. 诊断学[M]. 第 6 版. 北京:人民卫生出版社, 2007: 189 - 200.

[8] 谢培增,卞玉和,汪先兵,等. 南沙守岛官兵疾病调查分析[J]. 华南国防医学杂志, 2010, 24(3): 220 - 222.

[9] 苏 磊,徐秋林. 中暑发病机制及其与基因的关系[J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18(9): 574 - 576.

[10] Tang ZZ, Weng SF, Peng S, et al. Influence of Exercise at high temperature on blood biochemical indexes and HSP72 expression in adult males [J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2008, 28(5): 504 - 507.

[11] Yamada P, Amorim F, Moseley P, et al. Heat shock protein 72 response to exercise in humans[J]. Sports Med, 2008, 38(9): 715 - 733.

[12] 卢艳梅. 热应激与运动条件下热休克蛋白 70 的表达[J]. 科技信息, 2010, (14): 197 - 198.

(编辑:周小林)