

乙醇引起大鼠低温反应与棕色脂肪组织产热变化的关系

咎 旺 杨永录 王 诚 沈字玲

摘 要 **目的** 研究乙醇引起低温反应与棕色脂肪组织(brown adipose tissue, BAT)产热变化的关系。**方法** 实验用成年雄性 SD 大鼠,在 22℃ 环境温度下,明暗时间各 12h,昼光时间为上午 6 时~下午 6 时,用无线遥控技术测量体核温度、BAT 温度、动物活动和尾部皮肤温度。上午 10 时给大鼠腹腔注射乙醇(3g/kg)或生理盐水。**结果** 腹腔注射乙醇后能快速引起 BAT 温度降低,并且伴有体核温度明显降低反应,同时大鼠的活动也出现降低反应。另外,乙醇也能引起尾部皮肤温度明显降低。**结论** 乙醇引起大鼠低温与其能抑制 BAT 产热和降低动物活动有关。

关键词 乙醇 低温 体核温度 棕色脂肪组织温度

Ethanol Induced Hypothermic Response in Rats and Its Relationship with the Thermogenic Activity of Brown Adipose Tissue. Zan Wang, Yang Yonglu, Wang Cheng, Shen Ziling. Key Laboratory of Thermoregulation and Inflammation of Sichuan Higher Education Institutes, Chengdu Medical College, Sichuan 610500, China

Abstract Objective To determine ethanol-induced hypothermic response and its relationship with changes in the thermogenic activity of brown adipose tissue(BAT). **Methods** The core temperature, BAT temperature, motor activity and tail skin temperature were measured by telemetry in adult male Sprague-Dawley rats at an ambient temperature of 22℃ during a 12h light:12h dark photoperiod. At 10:00 am the rats were dosed intraperitoneally with ethanol (3g/kg) or saline. **Results** Intraperitoneal injection of ethanol could elicit rapid drop in BAT temperature combined with a marked decrease in core temperature, and could also decrease motor activity in rats. In addition, ethanol also caused a marked decrease in tail skin temperature. **Conclusion** Our data indicated that ethanol-induced hypothermia attributed to the suppression of BAT thermogenesis and the decrease decrease motor activity in rats.

Key words Ethanol; Hypothermia; Core temperature; BAT temperature

乙醇是酒及酒精性饮料的主要成分。在我国酒及酒精性饮料作为一种常用的饮品具有悠久的历史。适量饮酒,能促进血液循环,具有养生保健的功效。若过量摄取乙醇,短期易导致头晕、恶心、呕吐等不适症状,长期饮酒还易导致酒精性脂肪肝和肝硬化^[1,2]。实验研究^[3~5]也发现,乙醇也可以引起明显的低温反应。但目前人们不仅对乙醇中毒导致的低温反应未引起重视,而且对乙醇引起低温的机制和对健康的影响均研究不多,在国内几乎是空白。所以,本实验观察了乙醇引起低温反应与棕色脂肪组织(brown adipose tissue, BAT)温度、动物活动和皮肤散热变化的关系,旨在证明乙醇引起的低温是否与 BAT

产热、机体活动和皮肤散热变化有关。

材料与方法

1. 实验动物和试剂:实验用成年雄性 SD 大鼠 32 只(四川医学科学院实验动物研究所提供),体重 230~280g。腹腔注射前 30min,将无水乙醇(Sigma 公司产品)用 0.9% 的生理盐水稀释成为 20% 乙醇浓度。用无线遥控测温系统(美国 DSI 公司产品)连续同步测定大鼠体核温度、BAT 温度、尾部皮肤温度和动物活动的变化。

2. 双探头无线遥测温度传感器的种植方法:腹腔注射 4% 戊巴比妥钠溶液(40mg/kg)麻醉动物,剃去手术部位的毛,并用碘伏消毒腹部手术部位。用常规手术方法,在腹中部正中线上做 1.5cm 切口,将双探头无线遥测传感器种植到腹腔,其中传感器的一个温度探头留置于腹腔以备测量体核温度,另一个温度探头(温度探头导线长 148mm,直径 3mm)经左侧腹壁穿出,沿皮下将温度探头引导并放置于肩胛间区 BAT 下,以备测量 BAT 温度。详见笔者所在实验室以往的研究^[6,7]。手术后肌内注射青霉素 2×10^4 U 以防感染。动物分别单笼饲养,恢复 7 天以后进行实验。

3. 同步测量体核温度、BAT 温度和动物活动以及判定体

基金项目:四川省教育厅科研基金资助项目(12ZB204);成都医学院学科建设项目专项基金资助项目(CYXK2012003)

作者单位:610500 成都医学院体温与炎症四川省高校重点实验室

通讯作者:杨永录,电子信箱:ylyang@cmc.edu.cn

温变化的指标:用美国 DSI 公司生产的双探头无线遥测温度传感器(DSI, Model TL10M2 - F40 - TT)测量大鼠的体核温度、BAT 温度和活动。大鼠体内无线遥测探头采集实验数据的时间为每间隔 5min 采集一次温度和活动信号,由遥测接收板接收后,输入计算机储存和数据处理。

实验前一天下午将动物称重后,置于 22℃ 的人工气候箱内(重庆永生实验仪器厂产品),动物处于自由活动、进食和进水状态,进行适应性过夜。人工气候箱内明暗时间各为 12h,昼光时间为上午 6 时~下午 6 时。实验当天上午 6 时开始记录大鼠体核温度、BAT 温度和活动,上午 10 时给实验组大鼠腹腔注射乙醇(3g/kg),对照组注射等容量的生理盐水,注射后至少要连续观察 6h 体温和活动的变化。体温反应指标用体温变化时间曲线和体温反应最大幅度与基线体温之间的差(ΔT)表示。

4. 大鼠尾部皮肤温度的测量:用美国 DSI 公司无线遥测测温系统记录大鼠尾部皮肤温度^[8]。为了让动物能适应尾部测温,在实验前 1 天下午用直径 2.5cm 的有机玻璃固定槽将无线遥测传感器(TA10TA - F20)固定于大鼠尾部背侧距尾根部 1.0cm 处,进行适应性过夜。实验当天上午 6 时开始记

录数据,上午 10 时给药,所有动物给药后均连续观察 6h 以上。

5. 统计学方法:实验数据用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,统计处理用 SPSS 13.0 软件进行分析,各处理组之间比较 t 检验用单因素方差(One-way ANOVA)分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 乙醇对正常大鼠体核温度和活动的影响:注射乙醇前,大鼠的平均体核温度为 $36.91 \pm 0.13^\circ\text{C}$ 。上午 10 时腹腔注射乙醇后,体核温度出现快速降低反应,在注射后 2h 体核温度平均降低到 $35.41 \pm 0.12^\circ\text{C}$, ΔT 为 -1.47°C ($P < 0.01$)。注射乙醇后 6h,体核温度才逐渐恢复到给药前基线水平。对照组注射生理盐水后,体核温度首先出现快速而短暂的体温升高反应,这种现象是由于注射的刺激作用和移动动物而引起的应激性体温升高反应,然后体核温度的变化与给药前水平一致(图 1)。

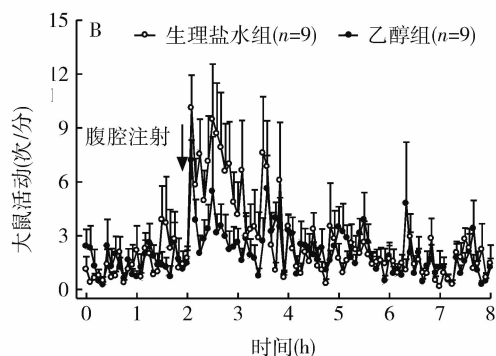
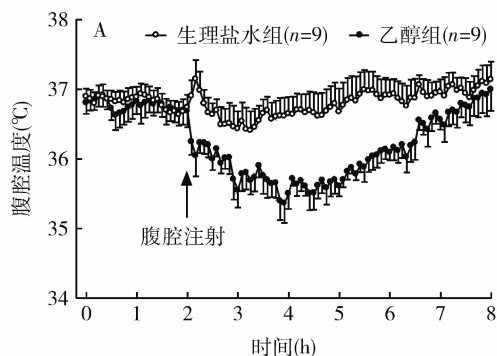


图 1 腹腔注射乙醇对大鼠体核温度和活动的影响

给动物腹腔注射乙醇后,大鼠的活动出现明显降低现象,持续时间大约 70 min(图 1)。

2. 乙醇引起正常大鼠低温反应与 BAT 温度变化的关系:给药前对照组和乙醇组大鼠的 BAT 温度的基线水平分别为 $35.72 \pm 0.09^\circ\text{C}$ 和 $35.56 \pm 0.11^\circ\text{C}$, 较体核温度基线水平低 1°C 左右。对照组腹腔注射盐水后,BAT 温度曲线无明显变化。当腹腔注射乙醇后,BAT 温度则出现明显降低反应,在给药后 2h, BAT 温度降低到 $34.80 \pm 0.12^\circ\text{C}$, ΔT 为 -0.92°C ($P < 0.01$)。在给乙醇 6h 后, BAT 温度恢复到接近给药前基线水平(图 2)。

2. 乙醇引起大鼠低温反应与尾部皮肤温度变化:给药前,对照组和乙醇组大鼠的尾部皮肤温度分别为 $30.04 \pm 0.23^\circ\text{C}$ 和 $29.74 \pm 0.35^\circ\text{C}$, 二者温度相

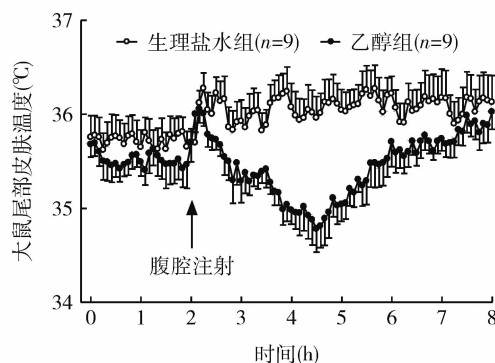


图 2 腹腔注射乙醇对大鼠棕色脂肪温度的影响

似(图 3)。给大鼠腹腔注射乙醇引起体核温度降低时,尾部皮肤温度也出现快速降低现象。在注射乙醇后 1h,尾部皮肤温度由给药前 $29.74 \pm 0.35^\circ\text{C}$ 降低到

$25.25 \pm 0.29^{\circ}\text{C}$ (图 3), ΔT 为 -4.5°C ($P < 0.01$)。皮肤温度降低反应持续在 25°C 左右 3h 后才逐渐地出现恢复,到给乙醇 6h 时皮肤温度恢复到接近给药前基线水平(图 3)。

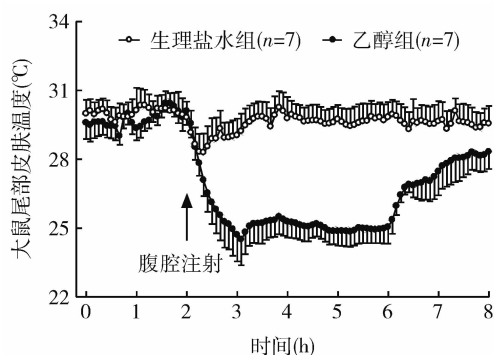


图 3 腹腔注射乙醇对大鼠尾部皮肤温度的影响

讨 论

人在寒冷的户外活动时,有时会饮酒。虽然饮酒后人会有温暖的感觉,但摄入乙醇可以明显影响人对冷觉的感知和判断能力,同时乙醇可以改变体温调节功能^[5]。特别是当人处于寒冷环境中,饮酒能引起人出现体温过低的危险,严重时可导致死亡^[5,9]。所以,乙醇毒性作用对体温调节功能的影响引起了人们的重视。动物研究发现,在中性环境温度中(22°C),给大鼠和小鼠腹腔注射乙醇可引起明显的低温反应,随着环境温度的降低,乙醇降温效应几乎与环境温度降低成直线关系^[10]。由此可见,乙醇与许多其他化学毒性物质一样,可以引起啮齿类动物出现明显的调节性低温反应^[9,10]。临床研究也证明,在可控制的条件下给人乙醇后,人与啮齿类一样也出现调节性低温反应^[4,10]。

为了研究乙醇引起低温的机制,本实验首先用美国 DSI 公司最近新研制的双探头无线遥测温度传感器连续同步观察了乙醇引起大鼠低温反应与 BAT 温度变化的关系。因为 BAT 是人和动物冷适应、非战栗性产热的主要来源,参与维持体温和能量的平衡^[11]。食物的摄取和寒冷刺激是激活 BAT 代谢的重要诱发因素之一,主要是通过去甲肾上腺素介导的神经系统向 BAT 释放信号,依次激活棕色脂肪细胞内的肾上腺素能受体而使其产热增加^[12]。虽然 BAT 大约只占体重的 1% 左右,但其代谢产热量却比其他组织产热量约高两个数量级,所以认为 BAT 温度的变化能够反应其产热的变化^[13]。最近笔者实验

室发现,在昼光和暗光互相转换时,不仅 BAT 温度上升速率快,而且开始上升和下降的时间均在同步记录的体核温度上升或下降之前。实验结果进一步证明, BAT 昼夜节律性产热在维持体温昼夜节律变化中有重要的作用,因为体温的昼夜节律与机体节律性产热和散热有关^[7,8]。因而本实验以 BAT 温度为指标,观察乙醇引起低温反应与 BAT 温度变化的关系。实验结果显示,乙醇能引起大鼠体核温度明显降低,其持续时间长达 6h(图 1A),同时也引起 BAT 温度明显降低, BAT 温度变化的时间曲线与体核温度相似(图 2)。实验证明,乙醇引起的低温反应与其抑制 BAT 产热作用有关。这里需要指出的是正常 BAT 温度较体核温度低 1°C 左右,这是由于肩胛间区棕色脂肪是位于皮下,因而其温度低于体核温度^[7]。实验也观察到,乙醇能降低动物的活动(图 1B),说明乙醇引起动物活动减少也是引起低温反应的原因之一。

关于乙醇引起低温与皮肤散热的关系,由于实验方法和条件不同,有关研究^[5]结果也不同。大鼠的尾部是主要的散热器官,虽然大鼠尾部的面积只占全身总体表面积的 7%,但环境温度在 28°C 以下时,大鼠体内的热量大约 25% 经尾部皮肤血管扩张散失^[8]。所以,我们用无线遥测温度传感器连续观察了乙醇引起大鼠低温反应与大鼠尾部皮肤温度变化的关系。有趣的是在乙醇低温反应过程中,则伴有尾部皮肤温度明显降低现象(图 3)。机体主要是通过调节皮肤血流量控制散热,皮肤温度降低提示乙醇能引起大鼠尾部血管收缩使血液运输到皮肤的热量减少所致。本实验使用无线遥控测温技术,让动物处于无任何干扰的生理条件下获得的实验结果。本实验证明,乙醇不提高大鼠尾部皮肤散热反应。关于以往报道,乙醇引起低温伴有皮肤温度升高使散热增加的现象,可能与人工测量尾部温度导致动物应激反应而影响了实验结果的准确性有关。

总之,本实验用无线遥控测温技术研究的结果证明,乙醇引起大鼠低温反应与过抑制 BAT 产热和降低动物活动有关。实验结果不支持乙醇引起低温反应伴有尾部皮肤散热增加的现象,因为乙醇不仅未提高大鼠尾部皮肤温度,而且引起尾部皮肤温度明显降低。

参考文献

- 1 陈旭,王建国. 乙醇在体内的代谢及对机体的损害[J]. 科技信息, 2008, 283(35): 469
- 2 余贤恩,罗綺凝. 外源性一氧化氮对豚鼠酸化乙醇性胃黏膜损伤的保护[J]. 世界华人消化杂志, 2000, 8(2): 224

- 3 Taylor AN, Tio DL, Bando JK, *et al.* Sex differences in ethanol – induced hypothermia in ethanol – naive and ethanol – dependent/withdrawn rats[J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2009, 33(1): 60 – 69
- 4 Yoda T, Crawshaw LI, Nakamura M, *et al.* Effects of alcohol on thermoregulation during mild heat exposure in humans [J]. *Alcohol*, 2005, 36(3): 195 – 200
- 5 Freund BJ, O'Brien C, Young AJ. Alcohol ingestion and temperature regulation during cold exposure[J]. *Journal of Wilderness Medicine*, 1994, 5(1): 88 – 98
- 6 杨永录, 沈宇玲, 唐瑜, 等. 同步遥测分析大鼠棕色脂肪产热与体温昼夜节律变化的时间关系[J]. *中国应用生理学杂志*, 2011, 27(3): 348 – 352
- 7 Yang YL, Wang N, Shen ZL, *et al.* Simultaneous telemetric monitoring of the circadian changes in core and BAT temperature in rats: endogenous vasopressin may contribute to reduced BAT thermogenesis and body temperature in the light phase of the circadian cycle[J]. *J Therm Biol*, 2012, 37(4): 316 – 332
- 8 Gordon CJ, Puckett E, Padnos B. Rat tail skin temperature monitored noninvasively by radiotelemetry: characterization by examination of vasomotor responses to thermomodulatory agents[J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2002, 47(2): 107 – 114
- 9 Jones AW. Fatality from drinking denatured alcohol and hypothermia [J]. *J Anal Toxicol*, 2011, 35(5): 316 – 318
- 10 Gordon CJ. Response of the thermoregulatory system to toxic insults [J]. *Front Biosci (Elite Ed)*, 2010, 2: 293 – 311
- 11 Virtanen KA, Lidell ME, Orava J, *et al.* Functional brown adipose tissue in healthy adults[J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(15): 1518 – 1525
- 12 Yoneshiro T, Aita S, Matsushita M, *et al.* Brown adipose tissue, whole – body energy expenditure, and thermogenesis in healthy adult men[J]. *Obesity*, 2011, 19(1): 13 – 16
- 13 Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance[J]. *Physiol Rev*, 2004, 84(1): 277 – 359
- (收稿日期: 2013 – 05 – 23)
- (修回日期: 2013 – 06 – 14)

加巴喷丁对糖尿病性神经痛大鼠机械痛敏和背根神经节神经元 JNK 及 p – JNK 表达的影响

冯莹娣 倪桂莲 汪利琼 罗远东 吴仲敏

摘 要 目的 观察加巴喷丁 (GBP) 对糖尿病性神经痛 (PDN) 大鼠皮肤机械痛敏以及背根神经节 (DRG) 神经元 c – Jun 氨基末端蛋白激酶 (JNK) 以及磷酸化 JNK (p – JNK) 表达的影响。方法 制作链脲佐菌素 (STZ) 糖尿病大鼠模型, 成模后 6 周, 测定机械痛阈, 出现疼痛行为 (痛觉过敏) 为 PDN 大鼠, 纳入实验对象, 并随机分为 PDN 组和 GBP 组。GBP 组给予 GBP 干预, 按 100mg/kg, 1 次/日, 连续 14 天, 腹腔注射给药, 同时 PDN 组腹腔注射等量生理盐水。实验期间各组大鼠均隔天测定机械痛阈一次并做记录, 实验结束后采用免疫荧光标记方法观察各组大鼠 L5 – DRG, L6 – DRG 和 S1 – DRG 神经元 JNK 和 p – JNK 的表达变化。结果 实验观察期内 PDN 组大鼠皮肤机械痛觉阈值呈现进行性下降, GBP 组痛觉阈值稳中有升, 但不能恢复至正常水平, 和 PDN 组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。L5 – DRG, L6 – DRG 和 S1 – DRG 内 JNK 和 p – JNK 标记阳性神经元大多为中小型细胞, 阳性标记主要位于胞质内, 分别呈深红色和深绿色, PDN 组 JNK 和 p – JNK 标记阳性神经元的数量明显多于 GBP 组, 二者比较差异有显著意义 ($P < 0.05$)。结论 加巴喷丁具有减轻糖尿病性神经痛大鼠皮肤机械痛敏的作用, 其机制可能通过抑制初级感觉神经元 JNK 和 p – JNK 的表达有关, 本研究亦提示阻断或抑制 JNK/SAPK 通路活化可以起到缓解糖尿病性神经痛作用。

关键词 加巴喷丁 糖尿病痛性神经病变 c – Jun 氨基末端蛋白激酶 磷酸化氨基末端蛋白激酶 背根神经节

Effects of Gabapentin on Mechanical Hyperalgesia and JNK / p – JNK Expression of Dorsal Root Ganglia Neurons Induced by Painful Diabetic Neuropathy. Feng Yingdi, Ni Guilian, Wang Liqiong, Luo Yuandong, Wu Zhongmin. Department of Anatpmy, Medical College of Taizhou University, Zhejiang 318000, China

基金项目: 浙江省医学会临床科研基金资助项目 (2012ZYC – A101); 浙江省大学生新苗人才计划项目 (2012R428023); 临海市科技局课题 (12N12)

作者单位: 318000 台州学院医学院人体解剖学教研室 (冯莹娣、汪利琼、罗远东、吴仲敏); 317000 临海, 临海市第一人民医院神经内科 (倪桂莲)

通讯作者: 吴仲敏, 电子信箱: wzmbest@163.com