

ω -3 多不饱和脂肪酸对热应激小鼠肝脏损伤的保护作用研究

王亚娜 杨慧娣 李光鹏

摘要 **目的** 探讨 ω -3 多不饱和脂肪酸 (ω -3 polyunsaturated fatty acid, ω -3 PUFA) 对热应激小鼠肝脏损伤的影响。**方法** 成年雄性健康野生型 C57BL/6C 小鼠 16 只和 FAD3 转基因小鼠 16 只分为 C57BL/6C 组 ($n=8$)、C57BL/6H 组 ($n=8$)、FAD3C 组 ($n=8$) 和 FAD3H 组 ($n=8$)。C57BL/6C 组和 FAD3C 组给予室温环境 ($23 \pm 1^\circ\text{C}$)，C57BL/6H 组和 FAD3H 组给予高温处理 (30°C)，自由取食饮水，每 4 天记录 1 次小鼠体质量和直肠温度，第 7 周末，取血后处死小鼠并取其肝脏组织，称重并记录肝重。计算平均体质量增量、平均日摄食量以及肝重比 (肝重/终体质量)。采用酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 检测血清天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 和丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 的含量，以评估小鼠肝脏损伤的状况。实时荧光定量聚合酶链反应 (real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR) 检测肝脏中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素-10 (interleukin-10, IL-10)、单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1) 以及热休克蛋白 72 (heat shock proteins 72, HSP72) mRNA 表达水平。**结果** 与 C57BL/6C 组比较，C57BL/6H 组小鼠肝脏 HSP72、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、MCP-1 mRNA 表达水平以及血清 AST、ALT 含量均显著增加 ($P<0.05$)；然而，与 C57BL/6H 组比较，FAD3H 组小鼠肝脏 HSP72、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、MCP-1 mRNA 表达水平以及血清 AST、ALT 含量均显著降低 ($P<0.05$)。**结论** ω -3 PUFA 通过抑制高温诱导的热应激小鼠肝脏中促炎性细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 以及 MCP-1 mRNA 的表达水平，降低血清 AST 和 ALT 的含量，下调 HSP72 mRNA 表达水平，进而缓解热应激小鼠肝脏的损伤。

关键词 热应激 热休克蛋白 72 炎症 ω -3 多不饱和脂肪酸

中图分类号 R339

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2023.01.010

Protective Effect of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid on Hepatic Damage Induced by Heat Stress in Mice. WANG Yana, YANG Huidi, LI Guangpeng. Basic Medical College of Inner Mongolia Medical University, Inner Mongolia 010110, China

Abstract **Objective** To explore the effect of omega-3 polyunsaturated fatty acid (ω -3 PUFA) on hepatic damage induced by heat stress in mice. **Methods** 16 adult male healthy C57BL/6C wild-type mice and 16 FAD3 transgenic mice were divided into four groups: C57BL/6C group ($n=8$), C57BL/6H group ($n=8$), FAD3C group ($n=8$) and FAD3H group ($n=8$). The mice of the C57BL/6C group and FAD3C group were given room temperature ($23 \pm 1^\circ\text{C}$), and mice of the C57BL/6H group and FAD3H group were given high temperature (30°C) intervention with free access to food and water. The body weight and rectal temperature of the mice were recorded every 4 days. At the end of the 7th week, the mice were sacrificed after blood collection and liver tissues were collected, weighed and liver weight was recorded. Average weight gain, average daily feed intake, and liver weight ratio (liver weight/final body weight) were calculated. The serum aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) were detected by the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), which were used to evaluate the status of hepatic injury in mice. The mRNA expression level of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 beta (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), and heat shock proteins 72 (HSP72) were detected by real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR). **Results** The HSP72, TNF- α , IL-1 β , IL-6 and MCP-1 mRNA expression levels of the liver and serum AST and ALT levels in the C57BL/6H group were significantly higher than those in the C57BL/6C group ($P<0.05$). However, The hepatic HSP72, TNF- α , IL-1 β , IL-6 and MCP-1 mRNA expression levels of the liver as well as serum AST and ALT levels in the FAD3H

基金项目:国家自然科学基金资助项目(32160247);内蒙古自治区自然科学基金资助项目(2020MS03059)

作者单位:010110 呼和浩特,内蒙古医科大学基础医学院(王亚娜、杨慧娣);010070 呼和浩特,内蒙古大学省部共建草原家畜生殖调控与繁育国家重点实验室(李光鹏)

通信作者:杨慧娣,教授,硕士生导师,电子信箱:yanghuidi1980@163.com

group were significantly lower than those in the C57BL/6C group ($P < 0.05$). **Conclusion** $\omega - 3$ PUFA can reduce the mRNA expression level of TNF- α , IL-1 β , IL-6, MCP-1, decrease the content of AST and ALT in serum, and down-regulate the mRNA expression level of HSP70 in the liver of mice induced by heat stress, so as to alleviate the hepatic damage induced by heat stress.

Key words Heat stress; HSP72; Inflammation; $\omega - 3$ polyunsaturated fatty acid

热应激(heat stress, HS)对人类和动物可产生负面影响,对公共卫生和畜牧业造成了巨大的经济损失^[1]。近年来,全球气温持续上升,据统计,欧洲因中暑死亡的案例平均每年超过 2.5 万例^[2]。此外,热应激的不利影响将随着全球变暖而逐渐恶化^[3]。有报道称,热应激在人类、肉仔鸡、猪和啮齿类动物中可引起局部和全身性炎症^[4-7]。也有研究表明,热应激在大脑、肾脏、脾脏、肝脏和肺等器官中可以引起炎症反应,特别是作为哺乳动物主要代谢和解毒器官的肝脏,在热应激诱导下可以产生炎症^[8-12]。在一项大鼠模型的研究中发现,热应激导致大鼠产生过量促炎性细胞因子,引发肝功能紊乱^[13]。因此,抑制炎症对热应激的预防和(或)治疗具有重要意义。

$\omega - 3$ 多不饱和脂肪酸主要包括 $\alpha -$ 亚麻酸(α -linolenic acid, ALA)、二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)和二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)^[14]。既往研究表明, $\omega - 3$ 多不饱和脂肪酸($\omega - 3$ polyunsaturated fatty acid, $\omega - 3$ PUFA)对健康具有潜在的益处,被认为是哺乳动物的必需营养物质^[15]。由于人类等哺乳动物体内缺乏 $\omega - 3$ 脂肪酸脱氢酶,不能将 $\omega - 6$ PUFA 转化为 $\omega - 3$ PUFA,因此, $\omega - 3$ PUFA 必须从饮食中获取。 $\omega - 3$ PUFA 具有强大的抗炎特性,已被证明可以预防和(或)治疗部分由炎症细胞因子诱导的肝病,包括非酒精性脂肪肝、药物诱导的肝毒性、酒精性肝病和高脂饮食诱导的肝损伤^[16-19]。 $\omega - 3$ PUFA 极不稳定,比其他类型的脂肪酸更容易被氧化,目前 $\omega - 3$ PUFA 对肝脏炎症的影响仍存在争议。本研究采用 FAD3 转基因小鼠作为动物模型,进一步探讨 $\omega - 3$ PUFA 对热应激小鼠肝脏炎症的作用^[20]。

本研究采用的 FAD3 转基因小鼠为携带胡麻 FAD3 基因的小鼠。FAD3 基因可编码 $\omega - 3$ 脂肪酸脱氢酶,此酶能将 $\omega - 6$ PUFA 转化成 $\omega - 3$ PUFA,从而使 FAD3 转基因小鼠自身合成 $\omega - 3$ PUFA,特别是 EPA 和 DHA 的含量显著增多。此外,与 C57BL/6 野生型小鼠比较,FAD3 转基因小鼠的 $\omega - 6$ PUFA/ $\omega - 3$ PUFA 比值在肝脏、心脏和小肠等组织中明显降低。

因此,FAD3 转基因小鼠为研究 $\omega - 3$ PUFA 的生物功能、各种生理过程以及疾病中 $\omega - 6$ PUFA/ $\omega - 3$ PUFA 比值的重要性提供了一个非常好的动物模型^[20]。

对象与方法

1. 研究对象:5 周龄 SPF 级成年健康雄性 C57BL/6 野生型小鼠 16 只{购自北京维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(京)2016-0006]},FAD3 转基因小鼠 16 只(内蒙古大学实验动物中心赠送),初始体质量 18~20g,饲养于内蒙古大学实验动物中心[实验动物许可证号:SYXK(蒙)2014-0002]。动物房内环境温度为 $23 \pm 1^\circ\text{C}$,光照时间为 8:00~20:00 时,环境相对湿度为 50%~60%,给予国家标准啮齿类动物干燥饲料喂养,自由取食饮水。实验开始前单笼($30\text{cm} \times 15\text{cm} \times 20\text{cm}$)饲养,适应 1 周后分别在室温($23 \pm 1^\circ\text{C}$)和高温(30°C)环境下饲养。高温环境(30°C)由江苏金怡仪器科技有限公司的 DB-IV 数显恒温电热板 24h 循环提供。所有操作在内蒙古大学省部共建草原家畜生殖调控与繁育国家重点实验室内完成,遵循内蒙古大学动物使用相关伦理要求(批号:YKD2019142)。实验分为 C57BL/6C 组($n = 8$):室温($23 \pm 1^\circ\text{C}$)下野生型 C57BL/6C 小鼠;C57BL/6H 组($n = 8$):高温(30°C)下野生型 C57BL/6C 小鼠;FAD3C 组($n = 8$):室温($23 \pm 1^\circ\text{C}$)下 FAD3 转基因小鼠;FAD3H 组($n = 8$):高温(30°C)下 FAD3 转基因小鼠。第 7 周末,夜间禁食 12h 后,次日上午(8:00~9:00 时)从小鼠眼底采集血样后,用过量 CO_2 处死动物,获取小鼠肝脏组织进行实验研究。迅速剪取肝脏组织,依次用 0.9% 氯化钠溶液冲洗,滤纸擦拭后称重,随后将部分肝脏组织立即置于液氮中冷冻, -80°C 冰箱内冻存储用。

2. 研究方法:(1)实验开始前给予小鼠足够量的饲料块,称取并记录初始体质量和加饲料量。上午 9:00~10:00 时用电天平称取并记录体质量和剩余饲料量(精确到 0.01g),每 4 天测量 1 次。计算每组小鼠的平均体质量增量和平均日摄食量。食物摄入量采用食物平衡法测定,即平均日摄食量 = (供给饲料 - 剩余饲料)/4。(2)上午 9:00~10:00 时,测量小鼠直肠温度,每 4 天测量 1 次。具体方法如下:

在肛温计探头上涂抹少许凡士林,轻柔缓慢插入小鼠直肠约 3cm 左右并固定,待示数稳定时(约 30s),测取直肠温度并记录(精确到 0.1℃)。测定之前反复抓取几次小鼠,使其熟悉测定过程,避免产生抓持应激。(3)各组小鼠眼底采集血样后,离心(4℃,2500 × g,15min),收集血清,-20℃冰箱保存备用。(4)采用 AST 试剂盒(货号:QC10487,中国上海钦诚生物公司)和 ALT 试剂盒(货号:HS4638,中国上海沪峥生物公司)检测 AST 和 ALT 的含量。(5)采用实时荧光定量聚合酶链反应(real-time quantitative polymerase chain reaction,RT-qPCR)检测肝脏组织炎症细胞因子肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-1β(interleukin-1 beta, IL-1β)、白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)、单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)以及热休克蛋白 72(heat shock proteins 72, HSP72)mRNA 表达水平。具体操作过程:使用 RNA 提取液(货号:G3013,武汉赛维尔生物科技有限公司)提取肝脏组织总 RNA,用超微量分光光度计测定 RNA 浓度和纯度,然后用试剂盒(武汉赛维尔生物科技有限公司)将总 RNA 反转录合成 cDNA。PCR 扩增引物由武汉赛维尔生物科技有限公司设计提供,详见表 1。使用荧光定量 PCR 仪(ABI7500,美国 ABI 公司)进行实时 PCR 扩增。PCR 反应体系由武汉赛维尔生物科技有限公司提供。具体过程为:在 PCR 管中加入以下试剂:2.0μl cDNA,1.5μl 的 2.5μmol/L 基因引物(上游引物和下游引物),7.5μl 的 2 × SYBR Green qPCR Master Mix (High ROX)和 4.0μl 的无 RNA 酶的双蒸水(ddH₂O)。反应程序为:95℃ 欲变性 10min,95℃ 变性 15s,然后 60℃ 退火/延伸 30s,共 40 个循环。反应完成后采用 2^{-ΔΔCt}法计算本研究荧光定量 PCR 所有靶基因的相对表达量。由以下公式得 ΔΔCt 值:ΔΔCt = (Ct_{靶基因} - Ct_{GAPDH})_{处理组} -

(Ct_{靶基因} - Ct_{GAPDH})_{对照组}。靶基因的相对表达水平的变化公式:靶基因相对表达倍数 = 2^{-ΔΔCt}。

表 1 目的基因引物序列

基因名称	引物序列(5'→3')	片段长度(bp)
TNF-α	上游引物:CCCTCAGACTCACAAACCACC	93
	下游引物:CTTTGAGATCCATGCCGCTTG	
IL-1β	上游引物:GCATCCAGCTTCAAATCTCGC	256
	下游引物:TGTTTCATCTCGGAGCCTGTAGTG	
IL-6	上游引物:CCCCAATTTCGAATGCTCTCC	141
	下游引物:CGCACTAGGTTTGCCGAGTA	
IL-10	上游引物:TTTAAGGGTTACTTGGGTTGCC	106
	下游引物:AATGCTCCTTGATTCTTGGGC	
MCP-1	上游引物:ACCAGCAAGATGATCCCAATG	299
	下游引物:GTGCTTGAGGTGCTGTGGA	
HSP72	上游引物:CGAGGCTGACAAGAAGAAGGT	298
	下游引物:ACAGTCCTCAAGGCCACATATC	
GAPDH	上游引物:CCTCGTCCCGTAGACAAAATG	133
	下游引物:TGAGGTCAATGAAGGGTCTGT	

3. 统计学方法:应用 SPSS 25.0 统计学软件对数据进行统计分析,计量资料以均数 ± 标准误差($\bar{x} \pm SEM$)表示,统计学意义由双因素方差分析和 Turkey HSD 多重比较检验来确定,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

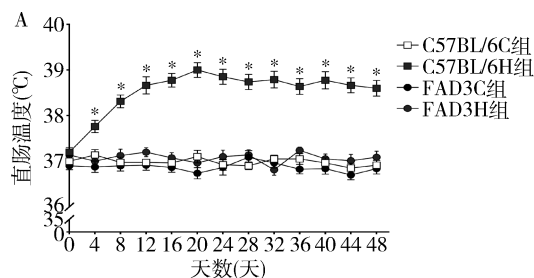
1. 各组平均体质量增量、平均日摄食量、肝重以及肝重比的比较:经过高温处理后,C57BL/6H 组小鼠平均体质量增量和平均日摄食量比 C57BL/6C 组明显降低($P < 0.05$),肝重和肝重比比 C57BL/6C 组明显增加($P < 0.05$)。平均体质量增量、平均日摄食量、肝重和肝重比在 FAD3H 组与 FAD3C 组、FAD3C 组与 C57BL/6C 组间比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。此外,温度与 ω-3 PUFA 之间对平均体质量增量、平均日摄食量以及肝重比有交互作用($P < 0.05$),对肝重没有交互作用($P > 0.05$),详见表 2。

表 2 各组小鼠生长性能参数比较($\bar{x} \pm s$)

项目	C57BL/6C 组 (n = 8)	C57BL/6H 组 (n = 8)	FAD3C 组 (n = 8)	FAD3H 组 (n = 8)	P [#]			F [#]		
					高温	ω-3 PUFA	交互 作用	高温	ω-3 PUFA	交互 作用
平均体质量增量(g)	0.69 ± 0.11	0.11 ± 0.03 *	0.61 ± 0.09	0.62 ± 0.14	0.008	0.043	0.006	7.789	4.343	0.043
平均日摄食量(g)	4.60 ± 0.20	2.35 ± 0.25 *	4.84 ± 0.29	4.19 ± 0.35	0.000	0.001	0.007	27.211	13.988	8.137
肝重(g)	0.80 ± 0.07	1.12 ± 0.06 *	0.83 ± 0.08	0.87 ± 0.09	0.030	0.180	0.078	5.204	1.891	3.342
肝重比(g/kg)	40.88 ± 3.85	59.80 ± 3.43 *	42.49 ± 4.37	41.71 ± 4.02	0.029	0.045	0.018	5.320	4.394	6.278

与其他 3 组比较,* $P < 0.05$ 。#采用双因素方差分析

2. 各组直肠温度比较:经过高温处理后,C57BL/6H 组的直肠温度比 C57BL/6C 组明显升高 ($P < 0.05$), 而 FAD3H 组与 FAD3C 组、FAD3C 组与 C57BL/6C 组的直肠温度比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$,图 1A)。



3. 各组 HSP72mRNA 表达水平比较:经过高温处理后,C57BL/6H 组 HSP72mRNA 表达水平比 C57BL/6C 组明显增加 ($P < 0.05$)。而 FAD3H 组的 HSP72mRNA 表达水平明显低于 C57BL/6H 组 ($P < 0.05$,图 1B)。

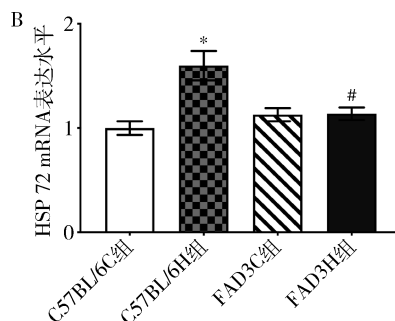


图 1 各组直肠温度和 HSP72mRNA 表达水平

A. 直肠温度;B. HSP72mRNA 表达水平。与 C57BL/6C 组比较, * $P < 0.05$;与 C57BL/6H 组比较, # $P < 0.05$

4. 各组血清 AST 和 ALT 含量比较:经过高温处理后,C57BL/6H 组的血清 AST 和 ALT 含量比 C57BL/6C 组明显升高 ($P < 0.05$)。而 FAD3H 组的

血清 AST 和 ALT 含量显著低于 C57BL/6H 组 ($P < 0.05$,图 2)。

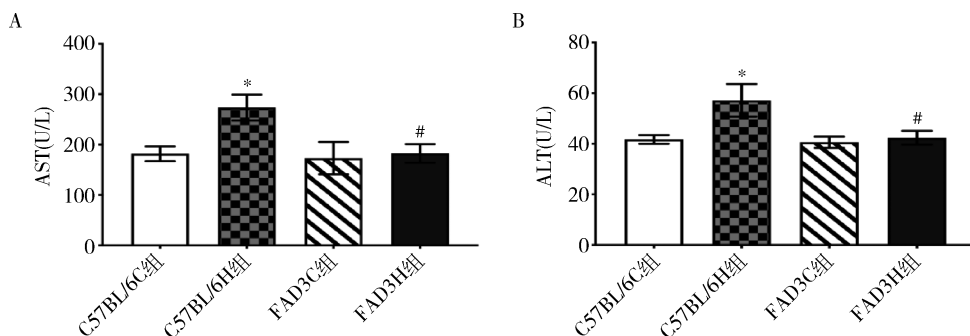


图 2 各组血清 AST 和 ALT 含量

A. AST;B. ALT。与 C57BL/6C 组比较, * $P < 0.05$;与 C57BL/6H 组比较, # $P < 0.05$

5. 各组炎症相关指标在肝脏中的基因表达水平比较:经过高温处理后,C57BL/6H 组肝脏 MCP-1、TNF- α 、IL-1 β 以及 IL-6mRNA 表达水平明显高于 C57BL/6C 组 ($P < 0.05$)。而 FAD3H 组肝脏 MCP-1、TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6mRNA 表达水平明显低于 C57BL/6H 组 ($P < 0.05$), 且与 FAD3C 组和 C57BL/6C 组比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。此外,IL-10mRNA 表达水平在 4 组之间比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),详见图 3。

讨 论

ω -3 PUFA 已被证明对肝脏的损伤具有保护作用^[16~19]。普遍认为,AST 和 ALT 通常在肝细胞中表达。然而,在肝脏受损的情况下,ALT 和 AST 释放到

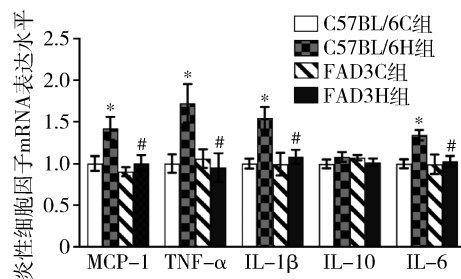


图 3 各组肝脏中促炎性细胞因子表达水平

与 C57BL/6C 组比较, * $P < 0.05$;与 C57BL/6H 组比较, # $P < 0.05$

血液循环中会导致血清中 ALT 和 AST 的活性增加。因此,血清中 AST 和 ALT 活性的升高被认为是肝损伤的特异性标志^[21]。有研究发现,热应激可增加肉

仔鸡血清 AST 和 ALT 的活性^[22]。本研究发现,通过高温饲养和转基因(内源性补充 $\omega-3$ PUFA)的方法,可降低高温诱导小鼠血清 AST 和 ALT 含量的增加,改善热应激引起的肝损伤。由于小鼠缺少汗腺,高温环境中的小鼠不能及时散发出多余的热量,热应激可以使机体直肠温度、平均体质量增量、平均日摄食量、肝重和肝重比均受到负面影响。本研究结果显示,热暴露使小鼠平均体质量增量和平均日摄食量明显降低,直肠温度和 HSP72mRNA 表达水平明显增加,表明高温诱导小鼠产生了热应激。同时热应激小鼠血清 AST、ALT、肝重以及肝重比升高,暗示热应激小鼠发生了肝损伤。然而,补充 $\omega-3$ PUFA 可改善热应激诱导的平均体质量增量、平均摄食量、直肠温度、肝重和肝重比的负面影响。

在高温环境下,机体会产生多种细胞因子(如 TNF- α),可导致肝脏等多个器官的出血和坏死。有研究认为,炎性细胞因子的产生与 HSP72 的过度表达有关^[23]。本研究发现,热应激小鼠肝脏中 HSP72、促炎性细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 以及趋化因子 MCP-1 mRNA 表达水平均异常升高,而抗炎性细胞因子 IL-10 mRNA 表达水平没有变化,表明热应激诱导了小鼠肝脏中促炎性细胞因子的过表达,破坏了炎性细胞因子的动态平衡,进而使肝脏产生炎症。大多数研究表明, $\omega-3$ PUFA 可抑制肝脏产生的促炎性细胞因子 TNF- α 、IL-6 以及趋化因子 MCP-1 的释放,也可抑制肝脏中巨噬细胞的浸润^[24, 25]。本研究结果显示, $\omega-3$ PUFA 抑制了热应激小鼠肝脏中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 以及 MCP-1mRNA 表达水平,这说明 $\omega-3$ PUFA 可以降低促炎性细胞因子的过表达,进而改善肝脏炎症。MCP-1 又称趋化因子配体 2,是 CC 类趋化因子中的一个重要成员,是典型的炎性趋化因子,主要通过协调单核细胞在炎症组织中的募集而发挥重要作用^[26]。在本研究中,热应激使 MCP-1mRNA 水平显著上调,暗示热应激在肝脏炎症中的作用可能是由于 MCP-1mRNA 水平直接上调所致。既往研究发现, $\omega-3$ PUFA 通过抑制 MCP-1 基因表达水平来缓解 2 型糖尿病(diabetes mellitus type 2, T2DM)患者的炎性反应^[27]。既往研究还表明,抑制肝脏中异常升高的 MCP-1 含量可以缓解小鼠的肝脏炎症程度^[28]。本研究结果显示, $\omega-3$ PUFA 抑制了热应激小鼠肝组织中 MCP-1mRNA 的表达水平。因此, $\omega-3$ PUFA 减轻热应激小鼠肝脏炎症可能是通过靶向抑制 MCP-1 的表达来实现的。

综上所述, $\omega-3$ PUFA 可以通过抑制趋化因子 MCP-1 和促炎性细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 以及 HSP72mRNA 的表达水平,降低血清 AST 和 ALT 的含量,进而改善热应激诱导的肝损伤。这些结果表明, $\omega-3$ PUFA 可能是预防和(或)治疗热应激相关肝病的潜在治疗剂,为热应激所致肝脏损伤的治疗提供理论依据。此外,有必要增加组织学和免疫组化检测,观察肝脏的组织学改变与炎症情况,进一步探究 $\omega-3$ PUFA 对肝脏保护作用机制。也可以设计良好体外细胞学和动物学实验进一步探讨 $\omega-3$ PUFA 的 3 种类型(ALA、EPA 和 DHA)对肝脏作用的差异,以明确对肝脏发挥主要作用的 $\omega-3$ PUFA 的脂肪酸类型。

参考文献

- White DL, Castro FLS, Jones MK, *et al.* The effect of a dacitic (rhyolitic) tuff breccia on growth, intestinal health, and inflammatory and antioxidant responses in broilers challenged with a chronic cyclic heat stress[J]. J Appl Poultry Res, 2022, 31(1): 100213
- Leyk D, Hoitz J, Becker C, *et al.* Health risks and interventions in exertional heat stress[J]. Dtsch Arztebl Int, 2019, 116(31-32): 537-550
- Leon LR, Bouchama A. Heat stroke[J]. Comprehensive Physiology, 2015, 5(2): 611-647
- Leon LR. Heat stroke and cytokines[J]. Prog Brain Res, 2007, 162: 481-524
- Song ZH, Cheng K, Zheng XC, *et al.* Effects of dietary supplementation with enzymatically treated artemisia annua on growth performance, intestinal morphology, digestive enzyme activities, immunity, and antioxidant capacity of heat-stressed broilers[J]. Poult Sci, 2018, 97(2): 430-437
- Montilla SI, Johnson TP, Pearce SC, *et al.* Heat stress causes oxidative stress but not inflammatory signaling in porcine skeletal muscle[J]. Temperature (Austin), 2014, 1(1): 42-50
- Kim KJ, Yoon KY, Hong HD, *et al.* Role of the red ginseng in defense against the environmental heat stress in sprague dawley rats[J]. Molecules, 2015, 20(11): 20240-20253
- Zhang Y, Deng Z, Li Y, *et al.* Mesenchymal stem cells provide neuroprotection by regulating heat stroke-induced brain inflammation[J]. Front Neurol, 2020, 11: 372
- Zhao YH, Shen CF, Wang GJ, *et al.* Curcumin alleviates acute kidney injury in a dry-heat environment by reducing oxidative stress and inflammation in a rat model[J]. J Biochem Mol Toxic, 2021, 35(1): e22630
- He S, Yu Q, He Y, *et al.* Dietary resveratrol supplementation inhibits heat stress-induced high-activated innate immunity and inflammatory response in spleen of yellow-feather broilers[J]. Poultry Sci, 2019, 98(12): 6378-6387
- Chen Y, Cheng Y, Wen C, *et al.* Protective effects of dietary mannan oligosaccharide on heat stress-induced hepatic damage in broilers[J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2020, 27(23): 29000-29008
- 耿焱, 彭娜, 童华生, 等. 热休克蛋白 70 对中暑大鼠急性肺损伤的保护作用及机制研究[J]. 解放军医学杂志, 2017, 42(4): 295-300

(下转第 51 页)

- and reperfusion[J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): 9887–9892
- 8 Mills KF, Yoshida S, Stein LR, *et al.* Long-term administration of nicotinamide mononucleotide mitigates age-associated physiological decline in mice[J]. *Cell Metab*, 2016, 24(6): 795–806
 - 9 Tarantini S, Valcarcel MN, Toth P, *et al.* Nicotinamide mononucleotide supplementation rescues cerebromicrovascular endothelial function and neurovascular coupling responses and improves cognitive function in aged mice[J]. *Redox Biol*, 2019, 15(24): 101–112
 - 10 Whitson JA, Bitto A, Zhang H, *et al.* SS-31 and NMN: two paths to improve metabolism and function in aged hearts[J]. *Aging Cell*, 2020, 19(10): 132–138
 - 11 Yoshino J, Mills KF, Yoon MJ, *et al.* Nicotinamide mononucleotide, a key NAD(+) intermediate, treats the pathophysiology of diet- and age-induced diabetes in mice[J]. *Cell Metab*, 2011, 14(4): 528–536
 - 12 王晓楠, 徐茜, 张励, 等. 烟酰胺单核苷酸对低血糖后葡萄糖再灌注大鼠学习记忆的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2021, 41(1): 135–138
 - 13 徐宇彤, 贾俊可, 张学敏, 等. 烟酰胺单核苷酸对睡眠剥夺幼鼠神经发生减退的影响[J]. *中华麻醉学杂志*, 2021, 41(11): 1334–1337
 - 14 Diguët N, Trammell SAJ, Tannous C, *et al.* Nicotinamide riboside preserves cardiac function in a mouse model of dilated cardiomyopathy[J]. *Circulation*, 2018, 137(21): 2256–2273
 - 15 Ma S, Feng J, Lin X, *et al.* Nicotinamide riboside alleviates cardiac dysfunction and remodeling in pressure overload cardiac hypertrophy[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 33(17): 554–561
 - 16 Frederick DW, Loro E, Liu L, *et al.* Loss of NAD homeostasis leads to progressive and reversible degeneration of skeletal muscle[J]. *Cell Metab*, 2016, 24(2): 269–282
 - 17 Covarrubias AJ, Perrone R, Grozio A, *et al.* NAD⁺ metabolism and its roles in cellular processes during ageing[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(2): 119–141
 - 18 Jadeja RN, Martin PM, Chen W. Mitochondrial oxidative stress and energy metabolism: impact on aging and longevity[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 31(5): 9789–9798
 - 19 宋利娜, 柳茵, 李琳, 等. 姜黄素改善糖尿病小鼠心脏抗氧化及葡萄糖摄取能力[J]. *医学研究杂志*, 2014, 43(9): 124–127
 - 20 Sharma P, Sampath H. Mitochondrial DNA integrity: role in health and disease[J]. *Cells*, 2019, 8(2): 100–109

(收稿日期: 2022-03-28)

(修回日期: 2022-03-30)

(上接第 41 页)

- 13 Cheng K, Yan E, Song Z, *et al.* Protective effect of resveratrol against hepatic damage induced by heat stress in a rat model is associated with the regulation of oxidative stress and inflammation[J]. *J Therm Biol*, 2019, 82: 70–75
- 14 晁红娟, 雷占兰, 刘爱琴, 等. Omega-3 多不饱和脂肪酸性质、功能及主要应用[J]. *中国食品添加剂*, 2019, 30(10): 122–130
- 15 Li M, Ouyang H, Yuan H, *et al.* Site-specific fat-1 knock-in enables significant decrease of N-6PUFAs/N-3PUFAs ratio in pigs[J]. *G3 (Bethesda)*, 2018, 8(5): 1747–1754
- 16 郭悦承, 陆伦根. omega-3 多不饱和脂肪酸治疗非酒精性脂肪性肝病的研究进展[J]. *临床肝胆病杂志*, 2020, 36(01): 198–200
- 17 Liu Y, Lin J, Chen Y, *et al.* Omega-3 polyunsaturated fatty acids inhibit IL-11/STAT3 signaling in hepatocytes during acetaminophen hepatotoxicity[J]. *Int J Mol Med*, 2021, 48(4): 1–10
- 18 Wang M, Zhang X, Ma LJ, *et al.* Omega-3 polyunsaturated fatty acids ameliorate ethanol-induced adipose hyperlipolysis: a mechanism for hepatoprotective effect against alcoholic liver disease[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2017, 1863(12): 3190–3201
- 19 Echeverría F, Valenzuela R, Bustamante A, *et al.* High-fat diet induces mouse liver steatosis with a concomitant decline in energy metabolism: attenuation by eicosapentaenoic acid (EPA) or hydroxytyrosol (HT) supplementation and the additive effects upon EPA and HT co-administration[J]. *Food Funct*, 2019, 10(9): 6170–6183
- 20 魏著英. N-3 多不饱和脂肪酸调控小鼠肌肉线粒体能量代谢的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2018
- 21 Zhang J, Xu L, Zhang L, *et al.* Curcumin attenuates D-galactosamine/lipopolysaccharide-induced liver injury and mitochondrial dysfunction in mice[J]. *J Nutr*, 2014, 144(8): 1211–1218
- 22 Chen Y, Cheng Y, Wen C, *et al.* Protective effects of dietary mannan oligosaccharide on heat stress-induced hepatic damage in broilers[J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2020, 27(23): 29000–29008
- 23 Hoekstra SP, Wright AKA, Bishop NC, *et al.* The effect of temperature and heat shock protein 72 on the ex vivo acute inflammatory response in monocytes[J]. *Cell Stress Chaperones*, 2019, 24(2): 461–467
- 24 Huang W, Wang B, Li X, *et al.* Endogenously elevated n-3 polyunsaturated fatty acids alleviate acute ethanol-induced liver steatosis[J]. *Biofactors*, 2015, 41(6): 453–462
- 25 Wang M, Zhang XJ, Yan C, *et al.* Preventive effect of α -linolenic acid-rich flaxseed oil against ethanol-induced liver injury is associated with ameliorating gut-derived endotoxin-mediated inflammation in mice[J]. *J Funct Foods*, 2016, 23: 532–541
- 26 Joshi N, Kumar D, Poluri KM. Elucidating the molecular interactions of chemokine CCL2 orthologs with flavonoid baicalin[J]. *ACS Omega*, 2020, 5(35): 22637–22651
- 27 Mazaherioun M, Djalali M, Koohdani F, *et al.* Beneficial effects of N-3 fatty acids on cardiometabolic and inflammatory markers in type 2 diabetes mellitus: a clinical trial[J]. *Med Princ Pract*, 2017, 26(6): 535–541
- 28 Mridha AR, Wree A, Robertson AAB, *et al.* NLRP3 inflammasome blockade reduces liver inflammation and fibrosis in experimental NASH in mice[J]. *J Hepatol*, 2017, 66(5): 1037–1046

(收稿日期: 2022-04-06)

(修回日期: 2022-04-25)