

本文引用:何嘉骥,张静,倪军.早期重度中暑巴马小型猪肾组织病理学特点及相关炎症因子表达[J].新乡医学院学报,2022,39(7):601-605. DOI:10.7683/xyxyxb.2022.07.001.

### 【基础研究】

# 早期重度中暑巴马小型猪肾组织病理学特点及相关炎症因子表达

何嘉骐<sup>1</sup>, 张 静<sup>2</sup>, 倪 军<sup>2</sup>

(1. 新乡医学院, 河南 新乡 453003; 2. 中国人民解放军陆军第八十三集团军医院肾脏内分泌科, 河南 新乡 453000)

**摘要:** **目的** 探讨早期重度中暑巴马小型猪肾脏组织病理学变化及相关炎症因子的表达。**方法** 将12只健康雄性巴马小型猪随机分为对照组和模型组,每组6只。模型组巴马小型猪于温度42~45℃、湿度70%~80%透明恒温恒湿箱中进行热暴露制备早期重度中暑模型,对照组巴马小型猪不做任何处理。造模成功后,立即采集2组巴马小型猪腹腔静脉血及膀胱内尿液并处死,使用全自动生物化学分析仪测定血清肌酐、尿素氮水平,采用全自动尿液分析仪检测尿液中尿蛋白水平。2组巴马小型猪处死后立即随机取一侧肾组织进行常规石蜡包埋、切片,采用免疫组织化学法检测肾组织中肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素(IL)-1 $\alpha$ 表达,采用Paller评分法评估2组巴马小型猪肾小管病理损伤程度。采用苏木精-伊红(HE)染色法观察2组巴马小型猪肾组织病理学改变。**结果** 模型组巴马小型猪热暴露时间为(4.17 $\pm$ 0.24)h,核心体温达到42℃的时间为(3.17 $\pm$ 0.41)h,造模成功时核心体温为(43.25 $\pm$ 0.29)℃,均出现结膜充血及提睾反射、角膜反射明显减弱或消失;模型组巴马小型猪热暴露时间内,对照组巴马小型猪核心体温为(38.25 $\pm$ 0.15)℃,均未出现结膜充血及提睾反射、角膜反射减弱。模型组巴马小型猪的血清肌酐、尿素氮及尿蛋白水平均显著高于对照组( $P$ <0.05)。模型组巴马小型猪肾组织中TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\alpha$ 阳性细胞比例显著高于对照组( $P$ <0.05)。对照组和模型组巴马小型猪Paller评分分别为(0.80 $\pm$ 0.18)、(5.00 $\pm$ 0.33)分,模型组巴马小型猪的Paller评分显著高于对照组( $P$ <0.05)。对照组巴马小型猪肾组织中仅有少量中性粒细胞浸润,未发现组织间隙水肿、淤血和微血栓形成以及肾小管坏死;模型组巴马小型猪肾组织中出现明显的组织间隙水肿、中性粒细胞浸润、淤血、微血栓形成及肾小管坏死,淤血和微血栓形成及中性粒细胞浸润主要发生在近端肾小管中;模型组巴马小型猪肾脏组织中中性粒细胞浸润、组织间隙水肿、肾小管坏死、微血栓所占面积百分率均显著高于对照组( $P$ <0.05)。**结论** 重度中暑巴马小型猪早期肾组织中即出现明显的病理学改变及肾功能损伤,且肾组织中IL-1 $\alpha$ 和TNF- $\alpha$ 表达水平明显升高。

**关键词:** 重度中暑;肾脏损伤;肿瘤坏死因子- $\alpha$ ;白细胞介素-1 $\alpha$

中图分类号: R594.1 文献标志码: A 文章编号: 1004-7239(2022)07-0601-05

## Histopathological characteristics and the expression of related inflammatory factors in renal tissues of Bama minipigs with early severe heat stroke

HE Jiaqi<sup>1</sup>, ZHANG Jing<sup>2</sup>, NI Jun<sup>2</sup>

(1. *Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China*; 2. *Department of Renal Endocrinology, the 83<sup>rd</sup> Army Hospital of Chinese PLA, Xinxiang 453000, Henan Province, China*)

**Abstract:** **Objective** To investigate the histopathological changes and the expression of related inflammatory factors in renal tissues of Bama minipigs with early severe heat stroke. **Methods** Twelve healthy male Bama minipigs were randomly divided into the control group and the model group, with six Bama minipigs cases in each group. The Bama minipigs in the model group were exposed to heat in a transparent constant temperature and humidity box at a temperature of 42 to 45 °C and a humidity of 70% to 80% to prepare early severe heat stroke model. The Bama minipigs in the control group did not receive any treatment. After successful modeling, the peritoneal venous blood and bladder urine of Bama minipigs were collected immediately and the Bama minipigs were sacrificed in the two groups, and the serum creatinine and urea nitrogen levels of Bama minipigs were measured by automatic biochemical analyzer, and the level of urine protein of Bama minipigs was measured by automatic urine analyzer. When the Bama minipigs in the two groups were sacrificed, one side of the kidney tissue was randomly selected for routine paraffin embedding and sectioning immediately, and the expressions of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin (IL)-1 $\alpha$  were detected by immunohistochemistry method. The degree of renal tubular pathological damage of Bama minipigs was evaluated by the Paller score method in the two groups. The histopathological changes of the kidney of Bama minipigs were detected by hematoxylin-eosin (HE) staining method. **Results** The heat exposure time of the Bama minipigs in the model group was

DOI:10.7683/xxvxyxb.2022.07.001

收稿日期:2021-02-06

基金项目:2020 年陆军第八十三集团军医院军队后勤科研计划项目(编号:CLJ20J026)。

作者簡介:何嘉驊(1992-),男,河南周口人,碩士,住院醫師,研究方向:腎臟病。

通信作者:倪 军(1971-),男,河南汝南人,硕士,副主任医师,研究方向:肾脏内科临床研究;E-mail:kouzhong110@163.com。

( $4.17 \pm 0.24$ ) h, and the time for the core body temperature reaching to  $42\text{ }^{\circ}\text{C}$  was ( $3.17 \pm 0.41$ ) h, and the core body temperature was ( $43.25 \pm 0.29$ )  $^{\circ}\text{C}$  when the model was successfully established. The Bama minipigs in the model group all had conjunctival hyperemia, cremasteric frex and corneal reflex obviously weakened or disappeared. During the heat exposure time of the Bama minipigs in the model group, the core body temperature of the Bama minipigs in the control group was ( $38.25 \pm 0.15$ )  $^{\circ}\text{C}$ , and there was no conjunctival hyperemia, and the cremasteric reflex and corneal reflex were not weakened. The serum creatinine, urea nitrogen and urine protein levels of Bama minipigs in the model group were significantly higher than those in the control group ( $P < 0.05$ ). The rates of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\alpha$  positive cells in renal tissues of Bama minipigs in the model group were significantly higher than those in the control group ( $P < 0.05$ ). The Paller scores of Bama minipigs in the control group and the model group were ( $0.80 \pm 0.18$ ) and ( $5.00 \pm 0.33$ ), respectively; the Paller score of Bama minipigs in the model group was significantly higher than that in the control group ( $P < 0.05$ ). In the control group, there was only a small amount of neutrophil infiltration in renal tissues of Bama minipigs, and there was no interstitial edema, congestion, microthrombosis and renal tubular necrosis. In the model group, there were obvious interstitial edema, neutrophil infiltration, congestion, microthrombosis and renal tubular necrosis, and the congestion, microthrombosis and neutrophil infiltration mainly occurred in the proximal renal tubules. The area percentages of microthrombosis of neutrophil infiltration, interstitial space edema, renal tubular necrosis and microthrombosis in kidney tissue of the Bama minipigs in the model group were significantly higher than those in the control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The Bama minipigs with severe heat stroke have obvious renal histopathological changes and renal function damage in the early stage, and the levels of IL-1 $\alpha$  and TNF- $\alpha$  in renal tissues are increased.

**Key words:** severe heat stroke; kidney damage; tumor necrosis factor- $\alpha$ ; interleukin-1 $\alpha$

重度中暑是指在高温环境中长时间暴露或剧烈运动后导致机体核心温度高于  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 并出现中枢神经系统异常, 如神志不清、抽搐或昏迷的急性疾病。重度中暑患者常出现广泛的组织损伤、横纹肌溶解、弥散性血管内凝血和多器官功能障碍<sup>[1-3]</sup>。重度中暑是危及生命的一种疾病, 随着全球气温的升高, 其病死率逐年增加<sup>[4-5]</sup>。有研究表明, 重度中暑是一种与全身炎症反应密切相关的高热状态, 会导致包括急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)在内的多器官功能障碍<sup>[6]</sup>。白细胞和肾小管细胞在 AKI 患者受损的肾脏中会释放白细胞介素(interleukin, IL)-6 和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )等一系列促炎细胞因子, 从而加重肾功能损伤<sup>[7-10]</sup>。有研究发现, 将雄性巴马小型猪进行约 4 h 的严重热暴露后, 巴马小型猪出现自主行为异常、核心体温升高、生理反射迟钝或消失等重度中暑早期症状<sup>[11]</sup>。目前, 关于重度中暑的相关研究主要是以小鼠为模型, 以大型动物为模型的相关研究较少。基于此, 本研究旨在探讨早期重度中暑巴马小型猪肾组织病理学变化及相关炎症因子的表达, 以期对重度中暑患者的早期预防和临床研究提供参考。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 健康雄性巴马小型猪 12 只, 体重  $10 \sim 15\text{ kg}$ , 购自泰州泰和生物科技有限公司动物实验中心, 生产许可证号: SCXK(苏)2017-0010, 饲养于中国人民解放军陆军第八十三集团军医院动物实验室, 温度( $24.92 \pm 0.41$ )  $^{\circ}\text{C}$ , 12 h 交替自然光照射, 间断通风, 普通饲料适应性喂养 1 周。

**1.2 主要试剂与仪器** 兔抗 IL-1 $\alpha$  多克隆抗体、兔抗 TNF- $\alpha$  多克隆抗体购自北京 Affinity Biosciences 公司, 山羊抗兔免疫球蛋白 G 购自北京中杉金桥生物技术有限公司, 盐酸艾司氯胺酮注射液购自江苏恒瑞医药股份有限公司, 苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)试剂盒购自上海生物工程科技有限公司。改良型 F800-Z 恒温恒湿气候舱购自广东富宸电器有限公司, 全自动生物化学分析仪购自美国贝克曼库尔特公司, 全自动尿液分析仪购自爱威科技股份有限公司, 高灵敏度电子体温计购自湖南省瑞博科技有限公司, 高精度专业电子计数秤购自永州衡器有限公司, 光学显微镜购自厦门麦克奥迪有限公司。

## 1.3 方法

**1.3.1 实验分组及早期重度中暑模型构建** 将 12 只巴马小型猪按随机数字表法分为对照组和模型组, 每组 6 只。2 组巴马小型猪适应性喂养 1 周后, 禁食、禁水 12 h, 将模型组巴马小型猪于温度  $42 \sim 45\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 湿度 70% ~ 80% 透明恒温恒湿箱中进行热暴露; 每间隔 30 min 记录 1 次模型组巴马小型猪的核心体温、结膜颜色、角膜反射、提睾反射、精神状态, 当核心体温达  $42\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 结膜充血, 提睾反射、角膜反射明显减弱或消失即为造模成功<sup>[11]</sup>。对照组巴马小型猪不做任何处理。本研究经中国人民解放军第八十三集团军医院动物伦理委员会审核批准。

**1.3.2 2 组巴马小型猪血清肌酐、尿素氮及尿蛋白水平检测** 造模成功后, 立即在室温下用  $20\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  盐酸艾司氯胺酮注射液(江苏恒瑞医药股份有限公司, 国药准字 H20193336)耳后注射麻醉 2 组巴马小型猪, 麻醉后将 2 组巴马小型猪固定于动物

解剖实验台上,采集腹腔静脉血及膀胱内尿液送检,然后处死。取 2 组巴马小型猪腹腔静脉血 10 mL,3 500 r · min<sup>-1</sup>离心 3 min,分离血清,使用全自动生物化学分析仪测定血清肌酐及尿素氮水平。取 2 组巴马小型猪膀胱内尿液 10 mL,使用全自动尿液分析仪检测尿液中尿蛋白水平。

**1.3.3 免疫组织化学染色法检测 2 组巴马小型猪肾组织中 TNF-α 和 IL-1α 表达** 2 组巴马小型猪处死后立即随机取一侧肾脏,生理盐水灌注后用中性甲醛缓冲液固定,送医院病理科进行常规石蜡包埋、切片(厚 4 μm)。取肾组织切片,烤片脱蜡、水化;浸入酸碱度为 6.0 的柠檬酸盐缓冲液中并在压力锅内加热进行抗原热修复 4 min,蒸馏水冲洗 2 次,磷酸盐缓冲溶液冲洗 2 次,每次 3 min;再将切片浸泡于体积分数 3% 内源性过氧化物酶封闭,室温静置 20 min,磷酸盐缓冲溶液冲洗 3 次,每次 5 min;滴加兔抗 IL-1α 多克隆抗体(滴度 1 : 100)和兔抗 TNF-α 多克隆抗体(滴度 1 : 100),4 ℃ 孵育过夜,滴加山羊抗兔免疫球蛋白 G 室温孵育 30 min;二氨基联苯胺显色、苏木精复染,梯度乙醇脱水、二甲苯透明、中性树胶封片,置于光学显微镜下观察染色情况。染色强度分为未染色(阴性)、淡黄色(弱阳性)、黄色(阳性)、棕黄色(强阳性)<sup>[12-15]</sup>。光学显微镜下(×400)随机取 5 个视野,计数每个视野内 TNF-α、IL-1α 强阳性及阳性细胞数及视野内总细胞数,取均值。阳性细胞比例=(强阳性细胞数+阳性细胞数)/视野内总细胞数×100%。

**1.3.4 HE 染色法观察 2 组巴马小型猪肾组织病理学改变** 取肾组织切片,将切片经二甲苯脱蜡,梯度乙醇水洗、苏木精和伊红溶液依次染色、常规脱水、透明后,用中性树胶封片,晾干后于光学显微镜下(×400)随机选取 5 个视野观察并拍照。分别计算每个视野下中性粒细胞浸润、组织间隙水肿、肾小管坏死、淤血和微血栓所占面积的百分率,取均值,百分率越高表示肾组织病理学改变程度越严重。

**1.3.5 Paller 评分法评估 2 组巴马小型猪肾小管病理损伤程度** 取经 HE 染色并晾干后的肾组织切片,使用光学显微镜(×400)随机选取 5 个视野观察肾小管损伤程度,并采用 Paller 评分法<sup>[16]</sup>评估。Paller 评分法评分标准:肾小管明显扩张,细胞扁平计 1 分;刷状缘损伤计 1 分;刷状缘脱落计 2 分;细胞质空泡计 1 分;间质水肿计 1 分;肾小管腔内有脱落的坏死细胞,未形成管型或碎片计 1 分,形成管型或碎片计 2 分;Paller 评分越高表示肾小管病理

损伤程度越严重。

**1.4 统计学处理** 应用 SPSS 24.0 软件进行数据统计与分析。符合正态分布的计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,2 组间比较采用独立样本 *t* 检验,*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

**2.1 2 组巴马小型猪核心体温、结膜炎色和生理反射变化** 模型组巴马小型猪热暴露时间为(4.17 ± 0.24) h,核心体温达到 42 ℃ 的时间为(3.17 ± 0.41) h,造模成功时核心体温为(43.25 ± 0.29) ℃,均出现结膜充血及提睾反射、角膜反射明显减弱或消失。模型组巴马小型猪热暴露时间内,对照组巴马小型猪核心体温为(38.25 ± 0.15) ℃,均未出现结膜充血,提睾反射、角膜反射减弱。

**2.2 2 组巴马小型猪血清肌酐、尿素氮及尿蛋白水平比较** 结果见表 1。模型组巴马小型猪血清肌酐、尿素氮及尿蛋白水平显著高于对照组,差异均有统计学意义(*P* < 0.05)。

表 1 2 组巴马小型猪血清肌酐、尿素氮及尿蛋白水平比较  
Tab.1 Comparison of serum creatinine,urea nitrogen and urine protein levels of Bama minipigs between the two groups ( $\bar{x} \pm s$ )

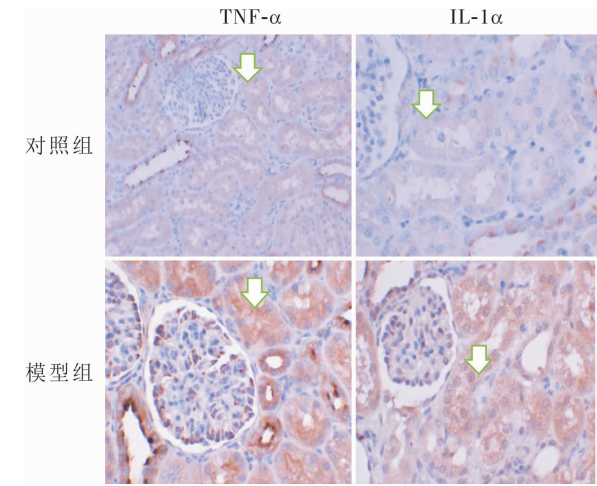
组别	<i>n</i>	血清肌酐/(μmol · L <sup>-1</sup> )	尿素氮/(mmol · L <sup>-1</sup> )	尿蛋白/(g · L <sup>-1</sup> )
对照组	6	44.67 ± 6.06	2.83 ± 0.38	0.30 ± 0.06
模型组	6	76.00 ± 5.18	5.42 ± 0.88	1.10 ± 0.28
<i>t</i>		9.634	6.568	6.761
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05

**2.3 2 组巴马小型猪肾组织中 TNF-α、IL-1α 表达比较** 结果见表 2 和图 1。免疫组织化学染色显示,TNF-α、IL-1α 阳性表达细胞主要分布于近端肾小管中,模型组巴马小型猪肾组织主要为棕黄色的强阳性染色,对照组巴马小型猪肾组织主要为淡黄色的弱阳性染色。模型组巴马小型猪肾组织中 TNF-α、IL-1α 阳性细胞比例显著高于对照组,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。

表 2 2 组巴马小型猪肾组织中 TNF-α、IL-1α 阳性细胞比例比较

Tab.2 Comparison of the rate of TNF-α and IL-1α positive cells in kidney tissue of Bama minipigs between the two groups ( $\bar{x} \pm s$ )

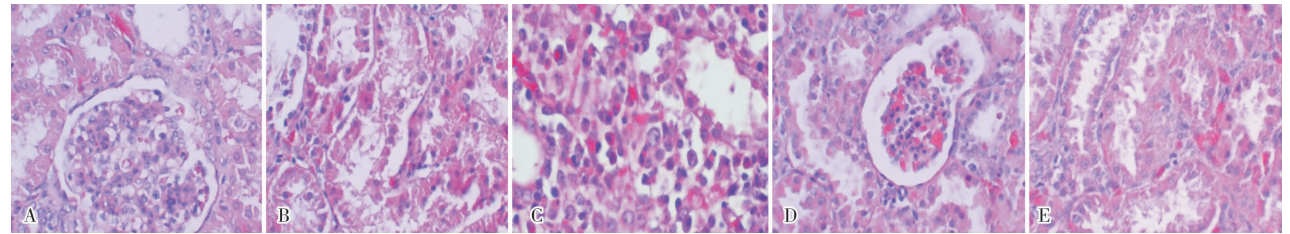
组别	<i>n</i>	阳性细胞比例/%	
		TNF-α	IL-1α
对照组	6	3.44 ± 0.60	3.53 ± 0.57
模型组	6	37.54 ± 2.53	31.04 ± 1.56
<i>t</i>		32.162	40.467
<i>P</i>		<0.05	<0.05



↓:表示对照组巴马小型猪肾组织中的弱阳性表达以及模型组巴马小型猪肾组织中的阳性或强阳性表达。

图 1 2 组巴马小型猪肾组织中 TNF-α、IL-1α 表达 (免疫组织化学染色, ×400)

Fig.1 Expressions of TNF-α and IL-1α in kidney tissues of Bama minipigs in the two groups ( immunohistochemical staining, ×400)



A:对照组正常肾组织;B:模型组组织间隙水肿;C:模型组中性粒细胞浸润;D:模型组微血栓;E:模型组肾小管坏死。

图 2 2 组巴马小型猪肾组织病理学变化 (HE 染色, ×400)

Fig.2 Histopathological changes in kidney tissues of Bama minipigs in the two groups (HE staining, ×400)

2.5 2 组巴马小型猪 Paller 评分比较 对照组和模型组巴马小型猪 Paller 评分分别为 (0.80 ± 0.18)、(5.00 ± 0.33) 分。模型组巴马小型猪的 Paller 评分显著高于对照组,差异有统计学意义( $t = 27.111, P < 0.05$ )。

### 3 讨论

人体持续暴露于高温高湿环境中,体温调节功能会受损,易出现中暑症状甚至发展成热射病,其中运动员、户外劳工和军人患病的风险最大<sup>[17]</sup>。重度中暑具有临床症状重、进展快、病死率高的特点。研究表明,重度中暑的发生受环境因素及高代谢因素影响<sup>[18]</sup>。通过检索国内外文献发现,近年来在国内几乎没有对重度中暑大型动物建模的研究,多采用小鼠进行建模,但小型动物具有局限性,对于一些特殊的干预条件无法满足(如血液净化等);国外有关重度中暑的研究多采用狒狒,但成本高且不易获取。有研究表明,大型动物的免疫系统与人类类似,其中猪与人类的免疫系统有 80% 以上的共同点,且猪对内毒素休克比较敏感,是肾脏研究中最受欢迎的大

2.4 2 组巴马小型猪肾脏病理学改变程度比较 结果见表 3 和图 2。HE 染色显示,对照组巴马小型猪肾组织中仅有少量中性粒细胞浸润,未发现组织间隙水肿、淤血、微血栓形成及肾小管坏死;模型组巴马小型猪肾组织中均出现明显的组织间隙水肿、中性粒细胞浸润、淤血、微血栓形成及肾小管坏死,淤血和微血栓形成、中性粒细胞浸润主要发生于近端肾小管中。模型组巴马小型猪肾组织中性粒细胞浸润、组织间隙水肿、肾小管坏死、微血栓所占面积百分率均显著高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 3 2 组巴马小型猪肾脏病理学改变比较

Tab.3 Comparison of pathological changes of kidney of Bama minipigs between the two groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	面积百分率/%			
		中性粒细胞浸润	组织间隙水肿	肾小管坏死	微血栓
对照组	6	4.74 ± 0.23	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
模型组	6	44.98 ± 0.51	27.94 ± 1.77	23.48 ± 0.86	18.76 ± 0.45
t		177.468	38.593	66.535	102.507
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

型动物之一<sup>[19-21]</sup>。本研究选择雄性巴马小型猪为研究对象,在研究重度中暑动物肾损伤方面具有一定的先进性。

本研究借鉴了国内外重度中暑动物模型构建的实验方法及诊断标准,通过模拟高温高湿环境构建猪重度中暑模型。本研究中模型组巴马小型猪热暴露时间为(4.17 ± 0.24)h,核心体温达到 42℃ 的时间为(3.17 ± 0.41)h,造模成功时核心体温为(43.25 ± 0.29)℃,且均出现结膜充血及提肛反射、角膜反射明显减弱或消失,说明本研究成功构建早期重度中暑模型<sup>[11]</sup>。

本研究结果显示,模型组巴马小型猪的血清肌酐、尿素氮及尿蛋白水平均显著高于对照组,说明高温高湿环境对巴马小型猪肾功能造成明显的损伤。肾脏是重度中暑所致多器官功能障碍的重要靶器官。重度中暑会导致 AKI 甚至急性肾衰竭,这与局部炎症反应和全身炎症反应有着密切的关系。有研究表明,重度中暑患者会出现全身性炎症反应综合征、弥散性血管内凝血,甚至是多器官功能障碍综合征<sup>[22]</sup>。重度中暑的严重程度很大程度上取决于促

炎因子水平和炎症反应发展的程度,如果不在早期进行干预,重度中暑患者很快就会死亡<sup>[23]</sup>。AKI 在病理生理学上表现为炎症反应、免疫损伤、氧化应激、肾灌注减少以及细胞死亡和凋亡等<sup>[24-25]</sup>。AKI 发生后,肾脏和其他组织中受损的细胞会释放预警因子和致病因子<sup>[26]</sup>,预警因子和致病因子与肾脏细胞和白细胞表面识别受体结合可诱导有促炎功能的 M1 型巨噬细胞活化,活化后的 M1 型巨噬细胞会分泌如 IL-1 $\alpha$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  等一系列促炎细胞因子及活性氧,进而促进 AKI 的发展<sup>[27]</sup>。本研究结果发现,TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\alpha$  阳性表达细胞主要分布于近端肾小管中,且模型组巴马小型猪肾脏组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\alpha$  阳性细胞比例显著高于对照组,这表明早期重度中暑即可使肾组织中 IL-1 $\alpha$  和 TNF- $\alpha$  水平明显升高,进而可能促进 AKI 的发展。

本研究结果显示,模型组巴马小型猪肾脏组织中均出现明显的组织间隙水肿、中性粒细胞浸润、淤血、微血栓形成和肾小管坏死,其中,淤血、微血栓形成和中性粒细胞浸润主要发生于近端肾小管中,且模型组巴马小型猪的 Paller 评分显著高于对照组,说明重度中暑巴马小型猪早期肾组织即出现不同程度的病理损伤。其原因可能是由于除了炎症因子对重度中暑肾组织产生损伤外,肾组织中形成的广泛淤血及微血栓也参与了早期肾损伤的发生发展。

综上所述,重度中暑巴马小型猪早期肾组织即出现明显的病理学改变及肾功能损伤,且肾组织中 IL-1 $\alpha$  和 TNF- $\alpha$  表达水平明显升高。

参考文献:

[1] LEON L R, HELWIG B G. Heat stroke; role of the systemic inflammatory response[J]. *J Appl Physiol* (1985), 2010, 109 (6): 1980-1988.

[2] RAJ V M F, ALLADIN A, PFEIFFER B, *et al.* Therapeutic plasma exchange in the treatment of exertional heat stroke and multiorgan failure[J]. *Pediatr Nephrol*, 2013, 28: 971-974.

[3] RIMMELE T, KELLUM J A. High-volume hemofiltration in the intensive care unit; a blood purification therapy[J]. *Anesthesiology*, 2012, 116 (6): 1377-1387.

[4] HIFUMI T, KONDO Y, SHIMIZU K, *et al.* Heat stroke[J]. *J Intensive Care*, 2018, 6: 30.

[5] ARGAUD L, FERRY T, LE Q H, *et al.* Short- and long-term outcomes of heat stroke following the 2003 heat wave in Lyon, France [J]. *Arch Intern Med*, 2007, 167 (20): 2177-2183.

[6] BOUCHAMA A, KNOCHEL J P. Heat stroke[J]. *N Engl J Med*, 2002, 346 (25): 1978-1988.

[7] LEE D W, FAUBLE S, EDELSTEIN C L. Cytokines in acute kidney injury (AKI) [J]. *Clin Nephrol*, 2011, 76 (3): 165-173.

[8] WELC S S, CLANTON T L, DINEEN S M. Heat stroke activates a stress-induced cytokine response in skeletal muscle [J]. *J Appl Physiol* (1985), 2013, 115 (8): 1126-1137.

[9] OMASSOLI J, HILL N E, WOODS D R, *et al.* Variation in renal responses to exercise in the heat with progressive acclimatisation

[J]. *J Sci Med Sport*, 2019, 22 (9): 1004-1009.

[10] LAITANO O, LEON L R, ROBERTS W O, *et al.* Controversies in exertional heat stroke diagnosis, prevention, and treatment[J]. *J Appl Physiol* (1985), 2019, 127 (5): 1338-1348.

[11] 杨彦文, 张静, 毛玉玲, 等. 高温高湿环境下重度中暑模型猪的建立[J]. *中国组织工程研究*, 2022, 26 (17): 2678-2684.

YAGN Y W, ZHANG J, MAO Y L, *et al.* Establishment of a severe heat stroke pig model under high-temperature and high-humidity environment[J]. *J Clin Rehabil Tissue Eng Res*, 2022, 26 (17): 2678-2684.

[12] 左丹, 周立宁, 谢峰, 等. 高温复合脂多糖应激大鼠肾组织 TNF- $\alpha$  表达变化[J]. *南方医科大学学报*, 2009, 29 (8): 1629-1631, 1634.

ZUO D, ZHOU L N, XIE F, *et al.* Immunohistochemical study of TNF- $\alpha$  expression in the kidney of rats with lipopolysaccharide and heat stresses [J]. *J South Med Univ*, 2009, 29 (8): 1629-1631, 1634.

[13] KHAN T N, SINNIH R. Renal tubular antiproteinase (alpha-1-antitrypsin and alpha-1-anti chymotrypsin) response in tubulointerstitial damage [J]. *Nephron*, 1993, 65 (2): 232-239.

[14] RUI-MEI L, KARA A U, SINNIH R. Dysregulation of cytokine expression in tubulointerstitial nephritis associated with murine malaria [J]. *Kidney Int*, 1998, 53 (4): 845-852.

[15] SINNIH R, RUI-MEI L, KARA A. Up-regulation of cytokines in glomerulonephritis associated with murine malaria infection [J]. *Int J Exp Pathol*, 1999, 80 (2): 87-95.

[16] HE S X, LI R, YANG H H, *et al.* Optimization of a rhabdomyolysis model in mice with exertional heat stroke mouse model of EHS-rhabdomyolysis [J]. *Front Physiol*, 2020, 11: 642.

[17] GAUER R, MEYERS B K. Heat-related illnesses [J]. *Am Fam Phys*, 2019, 99 (8): 482-489.

[18] BROTHERHOOD J R. Heat stress and strain in exercise and sport [J]. *J Sci Med Sport*, 2008, 11 (1): 6-19.

[19] RUSSELL P S, HONG J, WINDSOR J A, *et al.* Renal lymphatics: anatomy, physiology, and clinical implications [J]. *Front Physiol*, 2019, 10: 251.

[20] PABST R. The pig as a model for immunology research [J]. *Cell Tissue Res*, 2020, 380 (2): 287-304.

[21] PACKIALAKSHMI B, STEWART I J, BURMEISTER D M, *et al.* Large animal models for translational research in acute kidney injury [J]. *Ren Fail*, 2020, 42 (1): 1042-1058.

[22] EPSTEIN Y, YANOVICH R. Heat stroke [J]. *N Engl J Med*, 2019, 380 (25): 2449-2459.

[23] YE N, YU T, GUO H, *et al.* Intestinal injury in heat stroke [J]. *J Emerg Med*, 2019, 57 (6): 791-797.

[24] ZUK A, BONVENTRE J V. Acute kidney injury [J]. *Annu Rev Med*, 2016, 67: 293-307.

[25] YANG Y, SONG M, LIU Y, *et al.* Renoprotective approaches and strategies in acute kidney injury [J]. *Pharmacol Ther*, 2016, 163: 58-73.

[26] PRASADA R, MUKTESH G, SAMANATA J, *et al.* Natural history and profile of selective cytokines in patients of acute pancreatitis with acute kidney injury [J]. *Cytokine*, 2020, 133: 155177.

[27] ATRI C, GUERFALI F Z, LAOUINI D. Role of human macrophage polarization in inflammation during infectious diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19 (6): 1801.

( 本文编辑: 郭 潇 )