

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.05.009

姜黄素预处理对沙漠干热环境猪腹部枪弹伤模型生存时间的影响 *

卫 玮¹ 康 燕^{2Δ} 刘江伟^{1Δ} 钱奎国³ 沈才福¹ 李佳佳¹ 许 琴¹ 是文辉¹(1 新疆军区总医院新疆特殊环境医学重点实验室 新疆 乌鲁木齐 830000; 2 解放军 69240 部队医院 新疆 乌鲁木齐 830000;
3 新疆军区保障部卫生处 新疆 乌鲁木齐 830000)

摘要 目的: 探讨姜黄素预处理对沙漠干热环境腹部枪弹伤动物模型生存时间的影响。**方法:** 将 24 头长白仔猪随机分为 2 组 (n=12): 姜黄素预处理组和对照组。姜黄素预处理组给予长白仔猪姜黄素 100 mg/kg 拌料饲养, 每天 1 次, 连续 7 天, 对照组给予常规饲料喂养。第 8 天, 将两组猪放入西北特殊环境人工实验舱内, 设置环境温度(40.5± 0.5)℃, 相对湿度(10± 2)%, 禁食水, 放置 3 小时后建立腹部枪弹伤模型, 模型成功后继续放在沙漠干热环境中, 每 10 分钟检测体温变化, 并计算长白仔猪的存活时间。**结果:** 姜黄素预处理组平均存活时间为(85.27± 2.39)min, 对照组的动物模型平均生存时间为(60.10± 3.25)min, 姜黄素预处理组的生存时间平均比对照组延长约 25 min, 两组的 Kaplan-Meier 生存曲线经 Log Rank 检验具有显著性差异(P<0.01)。建立腹部枪弹伤模型后, 在相应时间点, 姜黄素预处理组的体温明显低于未处理组(P<0.01), 姜黄素预处理组 70 min 时的体温与对照组 50 min 体温比较差异无统计学意义(P>0.05)。**结论:** 姜黄素预处理可明显提高干热环境下猪腹部枪弹伤模型的生存时间, 体温升高可能是反映干热环境腹部枪弹伤后病程进展的重要指标。

关键词: 姜黄素; 干热环境; 猪; 腹部; 枪弹伤; 生存时间

中图分类号: R-33; R656 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2018)05-843-04

Effects of Curcumin Pretreatment on the Survival Time of Porcine with Abdominal Gunshot Injury in Dry-heat Environment of Desert*

WEI Wei¹, KANG Yan^{2Δ}, LIU Jiang-wei^{1Δ}, QIAN Kui-guo³, SHEN Cai-fu¹, LI Jia-jia¹, XU Qin¹, SHI Wen-hui¹(1 Key Laboratory of the Special Environmental Medicine of Xinjiang, General Hospital of Xinjiang Military Command, Urumqi, Xinjiang, 830000, China; 2 The No.69240 Army Hospital, Urumqi, Xinjiang, 830000, China;
3 Health Office of Logistics Support, Xinjiang Military Command, Urumqi, Xinjiang, 830000, China)

ABSTRACT Objective: To explore the effects of curcumin pretreatment on the survival time of porcine with abdominal gunshot injury in dry-heat environment of desert. **Methods:** 24 Changbai piglets were randomly divided into two groups (n=12): curcumin pretreatment group and control group. The curcumin pretreatment group was given a dose of curcumin with the concentration 100 mg/kg once a day in diet for 7 consecutive days, the control group was given normal diet. On the 8th day, both groups were transferred to the climate cabin (The Simulated Climate Cabin for Special Environment of Northwest of China) with the conditions of (40.5± 0.5)℃ temperature, (10± 2) % relative humidity, food and water were prohibited, after being exposed in the dry-heat environment for 3 h, the abdominal gunshot injury model were established for all the piglets, then the animal models were still placed in the dry-heat environment, the survival time was calculated and the temperature was taken at corresponding time point. **Results:** The mean survival time of curcumin pretreatment group and control group were (85.27± 2.39)min and (60.10± 3.25)min, the curcumin group survived about 25min longer than that of the control group, Kaplan-Meier survival curve showed significant difference tested by Log Rank method(P<0.01). After establishment of the gunshot model, the temperature were lower in the curcumin pretreatment group than that of the control group at corresponding time point(P<0.01), the temperature at 70min had no significant difference compared with the temperature at 50min(P>0.05). **Conclusions:** Curcumin pretreatment could evidently prolong the survival time of porcine abdominal gunshot model, and the rise of temperature may be important indicators reflecting the pathophysiological progression of the abdominal gunshot injury in the dry-heat environment of desert.

Key words: Curcumin; Dry-heat environment; Pig; Abdomen; Gunshot injury; Survival time

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R656 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)05-843-04

* 基金项目: 军队临床高新技术重大项目(2010gxjs016)

作者简介: 卫玮(1984-), 女, 主管技师, 主要从事军事医学与信息技术研究, E-mail: 617975@qq.com

Δ 通讯作者: 刘江伟(1970-), 男, 博士后, 教授, 主任医师, 博士生导师, 主要研究方向: 特殊环境战创伤及普外科临床与基础研究, E-mail: ljw273273@163.com;

康燕(1971-), 女, 本科, 副主任医师, 研究方向: 超声诊断和军事医学研究, E-mail: ky330164406@163.com

(收稿日期: 2017-10-10 接受日期: 2017-11-08)

前言

沙漠地区具有夏季气候高、昼夜温差大、干燥、太阳辐射强等特点^[1]。我们前期在沙漠干热环境下建立了猪的腹部肠管火器贯通伤模型,研究显示在沙漠干热环境下腹部肠管火器贯通伤后,若不及时转移到常温环境,所有动物模型均在 1 小时内死亡,而及时转移到常温环境下的长白猪能够存活 48 小时以上,提示在沙漠干热环境下的腹部火器伤及时转运到常温环境显得尤为重要^[1]。但在沙漠干热环境下的腹部火器伤常常因为地理位置偏僻,交通不便,环境条件差而得不到及时转运,因而如何提高沙漠干热环境下腹部火器伤的生存时间,为后期救治争取更多机会,是目前军事医学和军事卫勤学亟待解决的问题。

姜黄素是从植物姜黄的根须中提取的多酚类化合物,具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤等作用^[2]。研究显示姜黄素预处理能显著提高干热环境大鼠的耐热性,并提高大鼠生存率^[3]。研究表明加速沙漠干热环境腹部火器伤病程进展的主要因素除了创伤本身外更重要的是干热环境本身的致伤因素^[1],因而我们推测姜黄素预处理可能能够延长沙漠干热环境腹部枪弹伤后动物模型的生存时间。本研究在西北特殊环境人工实验舱内模拟沙漠干热环境并建立腹部枪弹伤模型,探讨姜黄素预处理对干热环境腹部枪弹伤动物模型生存时间的影响,旨在为腹部火器伤的救治提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物及材料

24 头本地雄性长白仔猪(25 kg-35 kg, 7-9 周)购自新疆天康畜牧生物技术股份有限公司,实验经新疆军区总医院伦理委员会批准通过,姜黄素购自 Sigma-Aldrich, ST. Louis 公司,模拟环境在西北特殊环境人工实验舱(新疆军区总医院研制)内进行, BL-420 生物测温仪:中国成都泰盟。军用 92 式 9 mm 手枪(新疆军区总医院提供),经专业机构校准:子弹出膛初速度

360± 10 m/s,弹头重量 8 g。

1.2 实验方法

24 头长白仔猪随机分为对照组(n=12)和姜黄素预处理组(n=12),实验动物在新疆军区总医院实验动物科大动物饲养室饲养 7 天,环境温度(25± 2)℃,相对湿度(35± 5)%。姜黄素预处理组给予 100 mg/kg 姜黄素拌料喂养 7 天,自由饮食饮水(均经灭菌处理)。对照组给予常规饲料喂养,第 8 天,实验开始将两组猪放入西北特殊环境人工实验舱内放置 3 小时,设置环境温度(40.5± 0.5)℃,相对湿度(10± 2)%,禁食禁水。3 小时后,根据我们前期的研究方法建立腹部枪弹伤模型^[1]:肌肉注射 5%盐酸氯胺酮注射液 20 mg/kg+0.05%硫酸阿托品注射液 0.04 mg/kg 进行麻醉,麻醉成功后将猪呈四肢自然下垂的“腾空行走位”悬吊,腹部完全暴露,在右侧腹壁的脐水平后方 2 cm 皱襞下缘无毛区标记射击点,专业射手用手枪距猪侧腹壁 30 cm 处瞄准射击点,从右侧腹壁垂直射入,左侧对应位置射出弹头(图 1)。模型成功后,计为 0 时,将模型动物仍然放在人工实验舱的干热环境中,每 10 分钟检测体温变化,观察生命体征,直到猪死亡。

1.3 统计学分析

统计学软件采用 SPSS 23.0, 计量资料以均数± 标准差表示, 多组间比较采用 One-way ANOVA 法, 两组间比较采用 LSD 法, 用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线, 并进行 Log Rank (Mantel-Cox)检验,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 姜黄素预处理对沙漠干热环境腹部枪弹伤模型生存时间的影响

对照组有 2 头猪、姜黄素预处理组有 1 头猪,因建模失败未进入后续研究,故对照组 10 头、姜黄素预处理组 11 头,进入生存分析, Kaplan-Meier 法绘制生存曲线(如图 1),对照组平均生存时间为(60.10± 3.25)min,姜黄素预处理组平均生存时间为(85.27± 2.39)min,差异具有显著性(P<0.01),见图 2。

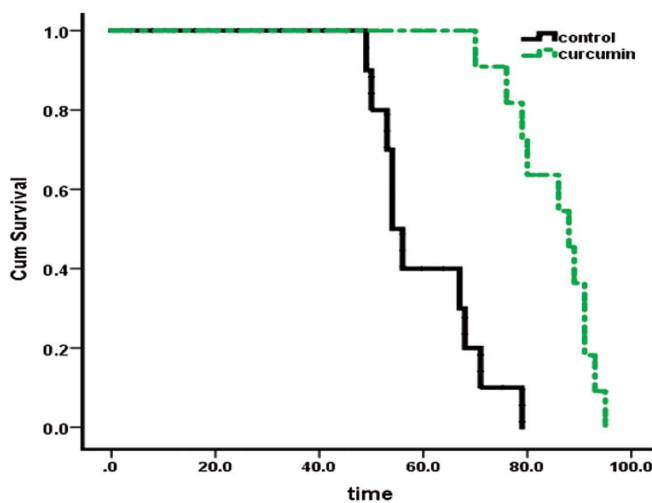


图 1 Kaplan-Meier 法生存曲线

Fig.1 Kaplan-Meier survival curve

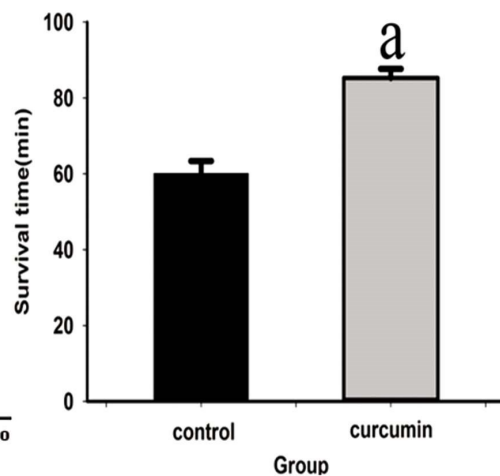


图 2 平均生存时间

Fig.2 Mean survival time

Note: ^aP<0.01 vs control group.

2.2 姜黄素预处理对沙漠干热环境腹部枪弹伤模型体温的影响

进入实验的 10 头对照组猪有 2 头在 50 min 前死亡, 11 头

姜黄素预处理组猪有 1 头不到 70 min 死亡, 故对照组有 8 头、姜黄素预处理组有 10 头进入体温的数据统计。如图 3, 实验

前,两组猪的平均体温比较无明显差异($P>0.05$)。进舱后,两组猪的平均体温均逐渐上升。在模型成功后的 0 min,对照组平均体温 $[(39.18\pm 0.35)^{\circ}\text{C}]$ 明显高于姜黄素预处理组 $[(38.49\pm 0.33)^{\circ}\text{C}]$ ($P<0.01$)。在实验过程中,同一时间点姜黄素预处理组的平均体温明显低于对照组($P<0.01$)。模型成功后,两个实验组在每个时间点的平均体温均较前一个时间点明显增高($P<0.01$),姜黄素预处理组平均体温增长慢于对照组,如姜黄素预处理组在 70 min 平均体温 $[(42.81\pm 0.49)^{\circ}\text{C}]$ 与对照组在 50 min 时的平均体温 $[(42.92\pm 0.38)^{\circ}\text{C}]$ 无显著性差异($P>0.05$)。

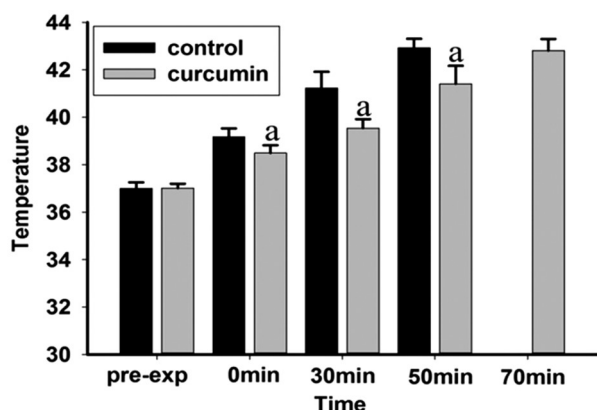


图3 两组平均体温的变化

Fig.3 Changes of the mean temperature in two groups

Note: * $P<0.01$, vs control group.

3 讨论

本研究在模拟的沙漠干热环境中成功建立了沙漠干热环境猪的腹部枪弹伤模型,研究显示经姜黄素预处理 1 周后,长白仔猪在建立沙漠干热环境腹部枪弹伤模型后在沙漠干热环境中能够生存 $(85.27\pm 2.39)\text{min}$,而未经姜黄素预处理的对照组的动物模型生存时间为 $(60.10\pm 3.25)\text{min}$,姜黄素预处理组的生存时间平均比对照组延长约 25 min,两组的 Kaplan-Meier 生存曲线经 Log Rank 检验具有显著性差异,提示姜黄素预处理可明显提高干热环境下猪腹部枪弹伤模型的生存时间,可为干热环境下腹部火器伤的临床救治争取到宝贵的时间。在建立腹部枪弹伤模型后,在相同时间点,姜黄素预处理组体温上升较对照组缓慢,在姜黄素预处理组 70min 时的体温与对照组 50 min 体温相当,姜黄素对干热环境和创伤所造成的内毒素及炎症反应的抑制作用,在某种程度上可反映在体温的变化趋势上。因而,体温上升可作为反映干热环境腹部枪弹伤后机体病理生理进展的重要指标。

我们前期的研究发现姜黄素预处理可提高中暑大鼠的生存时间,并在中暑大鼠多个脏器的损伤过程中具有保护作用^[3-5]。本研究中,姜黄素能够提高沙漠干热环境下腹部枪弹伤猪的生存时间可能与姜黄素发挥的多个脏器保护作用有关。目前,姜黄素的多脏器保护作用已引起学者的广泛关注。Liu S 等^[9]在多器官功能障碍(MODS)大鼠模型研究发现姜黄素能够减少中性粒细胞浸润和渗出,并通过减少 NO 形成、氧化应激、炎症产物和炎症细胞渗出来减少组织损伤,器官功能在应用姜黄素后得到提高,姜黄素可减少 MODS 大鼠模型的 NF- κ B 活性,提示姜

黄素可能通过抑制 NF- κ B 的表达减轻酵母聚糖诱导的 MODS。另外,姜黄素的应用可致全身毒性和体重丢失减少,死亡率降低,从而减轻 MODS 严重程度。目前,研究表明姜黄素的多脏器保护作用体现在:(1)对肝损伤的保护作用:姜黄素预处理可减轻干热环境热射病导致的肝损伤,其机制可能与保护线粒体和抗氧化应激有关^[9]。Yin H 等^[10]研究认为姜黄素通过抑制脓毒症大鼠肝细胞的炎症反应和减少肝细胞凋亡发挥肝细胞保护作用。Lee GH 等^[11]发现姜黄提取物和姜黄素能够通过抑制肝脏的氧化应激反应对急性 CCl_4 诱导的急性肝损伤发挥肝脏保护作用,认为姜黄提取物和姜黄素是一个潜在的抗氧化剂用于治疗急性肝毒性反应。(2)对肾损伤的保护作用:课题组前期研究提示姜黄素对干热环境下大鼠肾损伤的保护作用可能与抑制 NF- κ B 的表达从而降低炎症反应水平有关^[5]。Wu J 等^[12]研究发现姜黄素能够通过调节 AMPK 和 Nrf2/HO-1 信号通路来抑制氧化应激在横纹肌溶解诱导的急性肾损伤中发挥肾脏保护作用,并能够通过激活 PI3K/Akt 通路减轻横纹肌溶解相关的肾损伤和细胞凋亡。Molina-Jijón E 等^[13]研究认为姜黄素在马来酸盐引起的肾损伤的肾保护作用与减少线粒体分裂和自我吞噬有关。(3)对肺损伤的保护作用: Peng Y 等^[14]研究发现姜黄素可抑制热应激引起的支气管上皮细胞凋亡是通过抑制 NADPH 氧化酶 2 和激活 Akt/mTOR 信号通路来实现,从而减轻气道损害。Fan Z 等^[15]发现姜黄素可通过抑制 NF- κ B 通路发挥抗炎和抗氧化作用从而在肠缺血再灌注大鼠引起的肺损伤中发挥有效的保护作用。Kumari A 等^[16]研究发现鼻腔内给予姜黄素可直接靶向肺组织并增加抗氧化水平,可能成为一种治疗脂多糖诱导的急性肺损伤的新策略。(4)对心肌损伤的保护作用: Xiao J 等^[17]研究认为姜黄素发挥心肌保护作用主要通过减少氧化应激、炎症反应、细胞凋亡和纤维化有关,姜黄素在心肌梗塞后引起的心肌纤维化中发挥保护作用是通过激活沉默信息调节因子 2 相关酶 1(SIRT1)来实现。Li W 等^[18]研究发现姜黄素类似物 14p 是具有减少氧化应激反应明显效果的抗氧化剂并通过激活 Nrf2 减少心肌缺血再灌注损伤。(5)对脑损伤的保护作用:我们前期的研究发现姜黄素对沙漠干热环境中中暑大鼠脑组织氧化应激的抑制来发挥脑损伤保护作用^[9]。Li W 等^[19]研究认为姜黄素对脑缺血再灌注损伤的保护作用反映了其抗氧化、抗炎、抗凋亡特性,并通过上调核因子 E2 相关因子(Nrf2)和下调 NF- κ B 的表达来实现。Li X 等^[20]研究提示姜黄素能够通过抑制神经元细胞凋亡,减少神经元细胞的氧化应激和炎症反应来减少氧合血红蛋白引起的脑神经元损害,认为姜黄素对蛛网膜下腔出血后引起的脑损伤具有保护作用。(6)对肠道损伤的保护作用: Kanter M 等^[21]研究发现姜黄素在胆管结扎引起的小肠损伤过程中发挥保护作用,其作用机制是通过抑制胆管结扎引起的氧化应激、凋亡和细胞增殖来实现。

本研究在国内外首先将姜黄素应用在沙漠干热环境猪腹部枪弹伤研究中,研究表明姜黄素可明显延长沙漠干热环境腹部枪弹伤动物模型的生存时间,为沙漠干热环境腹部火器伤的救治争取了宝贵的时间,虽然其机制尚待进一步阐明,我们推测姜黄素发挥的多脏器保护作用是其关键所在。

参考文献(References)

[1] 刘江伟,张永久,李泽信,等.常温和干热环境下腹部肠管火器伤动物

- 模型的建立[J].创伤外科杂志, 2007, 9(5): 408-410
- Liu Jiang-wei, Zhang Yong-jiu, Li Ze-xin, et al. Establishment of porcine models of firearm wound of intestine in normal temperature environment and dry heat environment[J]. J Trauma Surg, 2007, 9(5): 408-410
- [2] Aravind S R, Krishnan L K. Curcumin-albumin conjugates as an effective anti-cancer agent with immunomodulatory properties [J]. Int Immunopharmacol, 2016, 34: 78-85
- [3] 李佳佳,刘江伟,姚刚,等.姜黄素对沙漠干热环境大鼠生存率影响的实验[J].中国比较医学杂志, 2015, (10): 24-28
- Li Jia-jia, Liu Jiang-wei, Yao Gang, et al. The experimental research of the effects of curcumin on survival rate of the rats in dry heat environment of desert[J]. Chin J Comp Med, 2015, (10): 24-28
- [4] 夏亮,刘江伟,沈才福,等.姜黄素预处理通过保护线粒体和抗氧化应激减轻干热环境热射病大鼠肝损伤.现代生物医学进展, 2017, 17(18): 3434-3437, 3466
- Xi Liang, Liu Jiang-wei, Shen Cai-fu, et al. Curcumin pretreatment alleviates the liver injury induced by heatstroke in dry-heat environment through protecting the mitochondria and inhibiting oxidative stress[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2017, 17(18): 3434-3437, 3466
- [5] 肇寅辉,敖其,刘江伟,等.姜黄素预处理对干热环境中暑大鼠肾组织 NF-kB p65 及炎症因子表达的影响 [J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(14): 2622-2426
- Zhao Yin-hui, Ao Qi, Liu Jiang-wei, et al. The effect of curcumin on the expressions of inflammatory factor and NF-kB p56 in the dry-heat environment induced rats [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2017, 17(14): 2622-2426
- [6] 赵荣,刘江伟,许永华,等.姜黄素对沙漠干热环境中暑大鼠脑损伤保护作用研究[J].实验动物科学, 2016, 33(6): 21-24
- Zhao Rong, Liu Jiang-wei, Xu Yong-hua, et al. Study of curcumin neuroprotective effects on heatstroke rats in dry-heat desert environment[J]. Laboratory Animal Science, 2016, 33(6): 21-24
- [7] 许琴,董翔,周娇,等.姜黄素预处理对沙漠干热环境中暑大鼠血清及尿液电解质的影响[J].实验动物科学, 2017, 34(1): 11-15
- Xu Qin, Dong Xiang, Zhou Jiao, et al. Effect of curcumin pretreatment on serum and urine electrolytes in desert environment heatstroke rats[J]. Laboratory Animal Science, 2017, 34(1): 11-15
- [8] 张东辉,刘江伟,许永华,等.姜黄素对沙漠干热环境中暑大鼠生命体征和相关血液指标的影响[J].实验动物科学, 2017, 34(1): 7-10
- Zhang Dong-hui, Liu Jiang-wei, Xu Yong-hua, et al. Effect of curcumin on vital signs and related blood indicators of heatstroke rats in dry-heat desert environment[J]. Laboratory Animal Science, 2017, 34(1): 7-10
- [9] Liu S, Zhang J, Pang Q, et al. The protective role of curcumin in zymosan-induced multiple organ dysfunction syndrome in mice [J]. Shock, 2016, 45(2): 209-219
- [10] Yin H, Qiu M, He D, et al. Protective effect of curcumin on hepatocytes in rats with sepsis [J]. Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue, 2017, 29(2): 162-166
- [11] Lee GH, Lee HY, Choi MK, et al. Protective effect of Curcuma longa L. extract on CCl4-induced acute hepatic stress [J]. BMC Res Notes, 2017, 10(1): 77
- [12] Wu J, Pan X, Fu H, et al. Effect of curcumin on glycerol-induced acute kidney injury in rats[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 10114
- [13] Molina-Jijón E, Aparicio-Trejo OE, Rodríguez-Muñoz R, et al. The nephroprotection exerted by curcumin in maleate-induced renal damage is associated with decreased mitochondrial fission and autophagy [J]. Biofactors, 2016, 42(6): 686-702
- [14] Peng Y, Pu J, Tang C, et al. Curcumin Inhibits Heat-Induced Apoptosis by Suppressing NADPH Oxidase 2 and Activating the Akt/mTOR Signaling Pathway in Bronchial Epithelial Cells [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 41(5): 2091-2103
- [15] Fan Z, Yao J, Li Y, et al. Anti-inflammatory and antioxidant effects of curcumin on acute lung injury in a rodent model of intestinal ischemia reperfusion by inhibiting the pathway of NF-Kb [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(4): 3451-3459
- [16] Kumari A, Tyagi N, Dash D, et al. Intranasal curcumin ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice. Inflammation [J]. Inflammation, 2015, 38(3): 1103-1112
- [17] Xiao J, Sheng X, Zhang X, et al. Curcumin protects against myocardial infarction-induced cardiac fibrosis via SIRT1 activation in vivo and in vitro[J]. Drug Des Devel Ther, 2016, 10: 1267-1277
- [18] Li W, Wu M, Tang L, et al. Novel curcumin analogue 14p protects against myocardial ischemia reperfusion injury through Nrf2-activating anti-oxidative activity[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2015, 282(2): 175-183
- [19] Li W, Suwanwela NC, Patumraj S. Curcumin by down-regulating NF-kB and elevating Nrf2, reduces brain edema and neurological dysfunction after cerebral I/R[J]. Microvasc Res, 2016, 106: 117-127
- [20] Li X, Zhao L, Yue L, et al. Evidence for the protective effects of curcumin against oxyhemoglobin-induced injury in rat cortical neurons[J]. Brain Res Bull, 2016, 120: 34-40
- [21] Kanter M, Takir M, Mutlu HH, et al. Protective Effects of Curcumin on Intestinal Damage in Cholestatic Rats [J]. J Invest Surg, 2016, 29(3): 128-136