

· 论 著 ·

# 不同剂量乌司他丁对劳力型热射病大鼠血浆二胺氧化酶活性及D-乳酸浓度的影响研究

苗利辉<sup>1</sup>, 刘自双<sup>1</sup>, 张 婷<sup>2</sup>, 陈洁坤<sup>3</sup>, 胡 婕<sup>4</sup>, 宋 青<sup>4\*</sup>

(1.首都医科大学北京康复医院老年康复中心,北京 100144;2.解放军总医院第一医学中心麻醉科,北京 100853;  
3.解放军总医院第八医学中心麻醉科,北京 100832;4.解放军总医院第一医学中心重症医学科,北京 100853)

**[摘要]** 目的 探讨不同剂量乌司他丁(ulinastatin, UTI)对劳力型热射病(exertional heat stroke, EHS)大鼠肠黏膜屏障的保护作用。方法 本研究选取雄性SD大鼠134只,并采用随机分组的方式,将其划分为以下4组:空白对照组(Normal-Control,  $n=8$ )、劳力型热射病组(EHS,  $n=42$ )、小剂量乌司他丁治疗组(SUTI-EHS,  $n=42$ )、大剂量乌司他丁治疗组(LUTI-EHS,  $n=42$ )。对于EHS组、SUTI-EHS组和LUTI-EHS组这3组大鼠,通过施加热应激并配合运动的方式构建EHS模型。待模型构建成功之后,立刻通过尾静脉分别给3组大鼠注射2 mL浓度为0.9%的氯化钠溶液、 $2 \times 10^4$  U/kg UTI、 $5 \times 10^4$  U/kg UTI,每组随机取10只大鼠观察各组大鼠存活时间、8 h病死率,其余大鼠于发病后30 min、2 h、4 h、6 h 4个时间点,检测血浆二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)活性及D-乳酸浓度,同时对小肠组织进行病理学检查与损伤评分。结果 与EHS组相比,SUTI-EHS、LUTI-EHS 2组大鼠的存活时间显著延长[(3.705±1.849) h vs. (6.618±3.169) h, (3.705±1.849) h vs. (9.748±5.551) h, 均 $P<0.05$ ], 8 h病死率明显下降(100% vs. 50%, 100% vs. 30%, 均 $P<0.05$ )。EHS组大鼠血浆DAO活性及D-乳酸浓度在发病后迅速升高,0.5 h达峰,随后逐渐下降,各时间点均高于对照组,LUTI-EHS组和SUTI-EHS组DAO水平均低于同期EHS组。重复测量方差分析显示,DAO与D-乳酸均在组间(DAO:  $F=4.166$ ,  $P=0.016$ ; D-乳酸:  $F=5.294$ ,  $P=0.004$ )和时点间(DAO:  $F=4.082$ ,  $P=0.032$ ; D-乳酸:  $F=6.022$ ,  $P=0.003$ )差异有统计学意义,组间·时点间交互作用差异无统计学意义(均 $P>0.05$ )。多重比较显示在发病后0.5 h, EHS组血浆DAO活性及D-乳酸浓度明显高于LUTI-EHS组[(1 028.436±511.666) U/L vs. (714.171±129.778) U/L, (6.007±1.959) U/L vs. (4.831±0.839) U/L, 均 $P<0.05$ ], 同时SUTI-EHS组高于LUTI-EHS组[(944.160±862.023) U/L vs. (714.171±129.778) U/L, (5.724±1.562) U/L vs. (4.831±0.839) U/L], 差异有统计学意义(均 $P<0.05$ );在发病后2 h EHS组血浆DAO活性及D-乳酸浓度明显高于LUTI-EHS组[(827.217±460.838) U/L vs. (604.533±163.234) U/L, (5.401±1.315) U/L vs. (4.002±0.510) U/L], 差异有统计学意义(均 $P<0.05$ )。组织病理学显示,UTI治疗能显著减轻肠黏膜绒毛水肿、脱落及炎性细胞浸润,降低Chiu's评分( $F=108.648$ ,  $P<0.05$ )。结论 乌司他丁对劳力型热射病大鼠肠黏膜屏障功能具有一定保护作用,该效应呈剂量依赖性,尤其在发病初期保护作用更显著,能够改善预后、降低病死率。

**[关键词]** 热射病;乌司他丁;二胺氧化酶;D-乳酸 doi:10.3969/j.issn.1007-3205.2026.04.009

**[中图分类号]** R594.12 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-3205(2026)04-0432-08

## Study on the effects of different doses of ulinastatin on plasma diamine oxidase activity and D-lactic acid concentration in rats with exertional heat stroke

MIAO Li-hui<sup>1</sup>, LIU Zi-shuang<sup>1</sup>, ZHANG Ting<sup>2</sup>, CHEN Jie-kun<sup>3</sup>, HU Jie<sup>4</sup>, SONG Qing<sup>4\*</sup>

(1. Geriatric Rehabilitation Center, Beijing Rehabilitation Hospital, Capital Medical University, Beijing 100144, China; 2. Department of Anesthesiology, the First Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China; 3. Department of Anesthesiology, the Eighth Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100832, China; 4. Department of Critical Care Medicine, the First Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

[收稿日期] 2025-11-24

[作者简介] 苗利辉(1987-),女,河北邯郸人,首都医科大学北京康复医院医师,医学硕士,从事热射病、急危重症、老年重症肺炎诊治研究。

\*通信作者。E-mail: songqing3010301@sina.com



**[Abstract] Objective** To investigate the protective effects of different doses of ulinastatin (UTI) on the intestinal mucosal barrier in rats with exertional heat stroke (EHS). **Methods** In this study, 134 male SD rats were selected and randomly divided into the following four groups: the blank control group (Normal-Control,  $n=8$ ), the EHS group ( $n=42$ ), the small-dose ulinastatin treatment group (SUTI-EHS,  $n=42$ ), and the large-dose ulinastatin treatment group (LUTI-EHS,  $n=42$ ). For the EHS group, the SUTI-EHS group, and the LUTI-EHS group, the EHS model was constructed by applying heat stress combined with exercise. Once the model was successfully established, 2 mL of 0.9% sodium chloride solution,  $2 \times 10^4$  U/kg UTI, and  $5 \times 10^4$  U/kg UTI were injected into each group of rats through the tail vein immediately. For each group, 10 rats from each group were randomly selected to observe the survival time and 8-hour mortality rate. The remaining rats were tested at four time points (30 min, 2 h, 4 h, and 6 h) after the onset of the disease to measure the plasma diamine oxidase (DAO) activity and D-lactic acid concentration. Meanwhile, pathological examination and injury scoring of the small intestinal tissue were performed. **Results** Compared with the EHS group, the survival time of rats in the SUTI-EHS and LUTI-EHS groups was significantly prolonged [ $(3.705 \pm 1.849)$  h vs.  $(6.618 \pm 3.169)$  h,  $(3.705 \pm 1.849)$  h vs.  $(9.748 \pm 5.551)$  h, both  $P < 0.05$ ], and the 8-hour mortality rate decreased significantly (100% vs. 50%, 100% vs. 30%, both  $P < 0.05$ ). The plasma DAO activity and D-lactic acid concentration in the EHS group rapidly increased after the onset of the disease, reaching a peak at 0.5 h, and then gradually decreased; At each time point, they were higher than those of the control group. The DAO levels in the LUTI-EHS and SUTI-EHS groups were lower than those of the EHS group at the same time points. Repeated measures variance analysis showed that there were significant main effects of group (DAO:  $F=4.166$ ,  $P=0.016$ ; D-lactic acid:  $F=5.294$ ,  $P=0.004$ ) and time (DAO:  $F=4.082$ ,  $P=0.032$ ; D-lactic acid:  $F=6.022$ ,  $P=0.003$ ), and the interaction effect of time  $\times$  group was not significant (all  $P > 0.05$ ). Multiple comparisons showed that at 0.5 h after the onset of the disease, the plasma DAO activity and D-lactic acid concentration in the EHS group were significantly higher than those in the LUTI-EHS group [ $(1\ 028.436 \pm 511.666)$  U/L vs.  $(714.171 \pm 129.778)$  U/L,  $(6.007 \pm 1.959)$  U/L vs.  $(4.831 \pm 0.839)$  U/L, both  $P < 0.05$ ], and higher in the SUTI-EHS group than in the LUTI-EHS group [ $(944.160 \pm 862.023)$  U/L vs.  $(714.171 \pm 129.778)$  U/L,  $(5.724 \pm 1.562)$  U/L vs.  $(4.831 \pm 0.839)$  U/L, both  $P < 0.05$ ], showing significant differences. At 2 h after the onset of the disease, the plasma DAO activity and D-lactic acid concentration in the EHS group were significantly higher than those in the LUTI-EHS group [ $(827.217 \pm 460.838)$  U/L vs.  $(604.533 \pm 163.234)$  U/L,  $(5.401 \pm 1.315)$  U/L vs.  $(4.002 \pm 0.510)$  U/L], showing significant differences (both  $P < 0.05$ ). Histopathology showed that UTI treatment could significantly alleviate intestinal mucosal villus edema, shedding, and inflammatory cell infiltration, and reduce the Chiu's score ( $F=108.648$ ,  $P < 0.05$ ). **Conclusion** UTI has a certain protective effect on the intestinal mucosal barrier function in rats with EHS in a dose-dependent manner, and it is more significant in the early stage of onset, thereby improving the prognosis and reducing the mortality rate.

**[Key words]** heat stroke; ulinastatin; diamine oxidase; D-lactic acid

劳力型热射病 (exertional heat stroke, EHS) 是热射病的一个特定类型, 是机体在进行中高强度训练或体力活动时 (尤其是在高温/高湿环境中), 由于产热与散热失衡造成体内严重热蓄积, 进而引发重要器官与组织发生严重的实质性损伤, 最终形成一种以多器官功能障碍为特征的急性临床综合征<sup>[1]</sup>。在临床观察中, 该病症在健康青年群体中具有较高的发病率, 其中尤以夏季参与训练的官兵以及从事体育运动的运动员更为多见<sup>[2]</sup>。此病症的显著特征之一便是发病迅速, 往往在短时间内就会出现明显的症状表现, 导致多脏器功能损伤, 病情进展快, 病死率高。基于一项多中心研究的数据, 热射病的总体病死率处于较高水平, 高达 32.4%, 在这些热射病患者中, EHS 患

者所占的比例为 26.4%, 其病死率则为 30%<sup>[3]</sup>。尽管在临床治疗过程中, 已积极采取降温手段以缓解患者的全身炎症反应, 同时实施全面的脏器支持治疗措施, 然而热射病的病死率依旧维持在较高水平。目前认为, 在热射病的发病进程中, 胃肠道属于首当其冲遭受损害的重要器官之一。于疾病发病的早期阶段, 患者便会表现出胃肠道功能紊乱的相关症状<sup>[4]</sup>, 表现为恶心、呕吐、腹痛或腹泻等症状。越来越多的研究认为, EHS 会大大加剧胃肠道功能紊乱, 并且与劳力性热应激的程度成正比, 导致肠黏膜通透性增加, 伴有内毒素血症<sup>[5]</sup>。乌司他丁 (ulinastatin, UTI) 是一种广谱蛋白酶抑制剂, 具有抗炎、稳定溶酶体膜、保护内皮细胞等多重作用, 有研究证实 UTI 在脓

毒症、休克等危重症中显示对肠黏膜的保护潜力<sup>[6]</sup>。本实验在此基础上,初步探讨UTI对EHS大鼠血浆肠黏膜屏障损伤标志物及肠道形态学影响,旨在明确UTI对EHS大鼠肠黏膜屏障保护作用并探索量效关系,对推进相应的治疗措施、改善EHS患者的预后具有重要意义。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 本实验选用成年雄性SD大鼠,其级别为无特定病原体级,周龄为8周,体重范围为225~285 g。大鼠均由中国人民解放军总医院医学实验动物中心负责提供,许可证编号0257114。为保证实验动物个体间互不干扰,本次实验的大鼠采用分笼饲养模式。在整个实验进程里,动物的饲养管理以及所有相关实验操作,均严格遵循实验动物伦理与福利的相关规定和要求,以此确保实验的科学性、合理性与伦理性。

本动物实验经解放军总医院伦理委员会审查批准(批准文号:309202011301010)。

**1.2 实验试剂与设备** 本实验所使用的各类物资来源明确、规格合规,具体如下:环境训练实验室、实验动物运动跑台(国家体育总局体育科学研究所);乌司他丁注射液(广东天普生化医药公司生产,国药准字H19990134);二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒以及D-乳酸ELISA试剂盒均采购自上海西唐生物科技有限公司;此外,还配备了Powlab28 sp生理记录仪、直肠测温探头、定时秒表、生物组织包埋机、组织切片机以及光学显微镜、离心机、EP管、动物解剖实验台及解剖器材。

**1.3 EHS动物模型制备** 将134只大鼠均进行6 d适应性递增负荷跑台训练,首日速度为10 m/min跑步10 min,次日开始速度每天增加1 m/min,至第6天增至15 m/min,时间固定在30 min。将环境训练实验室的温度精准调控至 $(40.0 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ ,湿度设定为 $70\% \pm 5\%$ 。与此同时,把具备5条跑道的实验动物运动跑台安置于该实验室内,待其预热至符合实验要求的温湿度条件后,对实验大鼠进行标记处理,随后,将大鼠逐一安置于动物跑台的各个独立跑道,启动并开展跑步运动。在此实验阶段,跑台坡度统一设定为 $0^\circ$ ,速度恒定维持在15 m/min。实验进行期间,采用专业的体温监测设备,每隔5 min对大鼠的直肠温度进行精准测量,并详细记录大鼠出现发病症状的具体时

间。上述监测与记录工作均严格依据实验性热射病诊断标准执行<sup>[7]</sup>(参考动物热射病诊断标准),以确保实验数据的准确性与可靠性:当大鼠因遭受到高温应激刺激的情况下,其核心体温会升高到 $42.5^\circ\text{C}$ ,或者动脉收缩压先升到最高点,接着开始往下下降的这个转折时刻,依据实验性热射病诊断标准,可判定该大鼠已发生中度热射病。在本实验研究过程中,将大鼠直肠温度首次达到 $42.5^\circ\text{C}$ 的时刻精确记录为发病时间,以此作为后续实验数据分析与评估的重要时间节点<sup>[8-9]</sup>。

**1.4 动物分组及处理** 完成训练的大鼠随即被赋予随机编号,随后借助计算机软件开展分析工作,依据完全随机分组的原则,将所有大鼠划分为4个实验组:分别为空白对照组(Normal-Control组)8例、劳力型热射病组(EHS组)42例、小剂量乌司他丁治疗组(SUTI-EHS组)42例、大剂量乌司他丁治疗组(LUTI-EHS组)42例。空白对照组不做任何处理,置于温度 $(26 \pm 1)^\circ\text{C}$ ,湿度 $60\% \pm 5\%$ 的环境下1 h。EHS组在造模成功后立即给予2 mL 0.9%氯化钠尾静脉注入。于造模成功之时,SUTI-EHS组即刻通过尾静脉注入的方式给予剂量为 $2 \times 10^4$  U/Kg UTI。与此同时,LUTI-EHS组在造模成功后也立即经尾静脉注入剂量为 $5 \times 10^4$  U/Kg UTI。EHS大鼠在造模成功后,停止运动及热应激,给予相应处理后均置于温度 $(26 \pm 1)^\circ\text{C}$ ,湿度 $60\% \pm 5\%$ 的环境下。

**1.5 观察指标及标本采集** 观察并记录各组实验大鼠从造模开始到造模成功的一般形态、核心体温(肛温)变化情况。实验分为两部分,第一部分:EHS组和SUTI-EHS组、LUTI-EHS组建模后予以相应尾静脉注入药物处理,随后各取10只大鼠,持续观察并记录其存活时间。待观察周期结束后,依据记录数据计算大鼠在8 h时间节点内的病死率;第二部分:Normal-Control组静置1 h后,其余EHS组、SUTI-EHS组和LUTI-EHS组大鼠随机分为4组,分别在30 min、2 h、4 h、6 h这4个时间节点,采用浓度为10%的水合氯醛作为麻醉剂,按照300 mg/kg的给药剂量,对各组大鼠实施腹腔注射麻醉操作。待完成注射后,使用止血钳夹持大鼠尾部,观察大鼠反应。当大鼠对夹尾刺激无任何反应时,判定其已达到适宜麻醉深度,此时将大鼠以仰卧位妥善固定于手术台上,为后续实验操作做好准备。对实验大鼠实施左侧颈外静脉置管术,通过该置管通道采集血液样本5 mL并置于生化管内妥善保存。完成采血后,对

实验动物进行系统解剖,开展肠道组织取材工作。选取回肠末端为参照点,在其近心端5 cm处,使用无菌器械剪取长度为10 cm的肠段。随后,采用生理盐水对该肠段进行缓慢灌注,为了能够彻底清除小肠内部所残留的内容物。而后切取一小段肠管组织样本,随即迅速将其转移至预先盛装足量甲醛固定液的普通小瓶内,而后样本将作为后续苏木精-伊红(hematoxylin and eosin staining, HE)染色分析的关键实验材料,以观察肠道组织的病理学变化。

**1.6 肠黏膜通透性及肠黏膜形态的观察** 空白对照组静置1 h后,以及随机分为4组的EHS组、SUTI-EHS组和LUTI-EHS组大鼠,在各时间点(30 min、2 h、4 h、6 h),取血5 mL经离心(1 500 r/min, 15 min),取上层血清用ELISA检测血清中DAO、D-乳酸水平,严格按说明书要求操作。小肠组织蜡块常规制备成5  $\mu$ m厚的组织切片,HE染色,于每张切片中随机选取3个光镜视野(放大倍数为 $\times 100$ ),依据Chiu's法<sup>[10]</sup>所制定的损伤分级标准进行评估。在该分级体系中,评分与损伤严重程度呈正相关,即评分数值越高,意味着组织所遭受的损伤越严重。其评判标准如下,0分:表现为黏膜绒毛处于正常状态;1分:可见上皮下间隙增大,此现象通常出现在绒毛的尖端部位,且常伴有毛细血管淤血的情况;2分:上皮下间隙出现扩张,上皮层与固有层呈现中度分离状态;3分:绒毛两侧的上皮层大量与固有层分离,同时部分绒毛顶端出现损害;4分:绒毛受到损害且伴有固有层毛细血管暴露,同时能够观察到固有层的细胞成分有所增加;5分:固有层出现破损、不完整的情况,伴有出血和溃疡形成。

**1.7 统计学方法** 应用SPSS 17.0统计软件分析数据。正态分布的计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用Dunnnett-*t*检验,多时间点计量资料的比较采用重复测量方差分析;计数资料以例数(%)表示,组间比较采用 $\chi^2$ 检验;球形假设不满足时,采用Greenhouse-Geisser法进行校正。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 一般状态观察** 在实验观察中,空白对照组的大鼠表现出正常的行为模式,其反应灵敏,当受到外界刺激时,能够迅速作出明显且有效的逃避行为。与之形成鲜明对比的是,经过造模处理

后的EHS大鼠,精神状态极差,其口唇出现紫绀现象,呼吸变得深大且急促,腹部紧紧地贴附在跑道上,失去了自主活动的能力。在受到刺激时,这些大鼠没有表现出明显的逃避行为,与空白对照组大鼠的反应差异显著。

**2.2 存活时间、病死率** 3组大鼠存活只数逐渐增加(EHS组=0只, SUTI-EHS组=5只, LUTI-EHS组=7只),EHS组大鼠全部在8 h内死亡,平均存活时间仅为 $(3.705 \pm 1.849)$  h, UTI干预显著改善了预后, SUTI-EHS组与LUTI-EHS组的平均存活时间分别延长至 $(6.618 \pm 3.169)$  h与 $(9.748 \pm 5.551)$  h, 8 h病死率分别降至50%与30%,与EHS组相比差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。大剂量组在存活时间、降低病死率方面表现出优于小剂量组的趋势。见表1。

表1 各组间存活时间及8 h病死率比较

Table 1 Comparison of survival time and 8-hour mortality rate among different groups

组别	存活时间( $\bar{x} \pm s$ , h)	8 h病死率(例数, %)
EHS组	3.705 $\pm$ 1.849	10(100.0)
SUTI-EHS组	6.618 $\pm$ 3.169	5(50.0)*
LUTI-EHS组	9.748 $\pm$ 5.551*	3(30.0)*
<i>F</i> / $\chi^2$ 值	6.189	10.769
<i>P</i> 值	0.006	0.005

\* $P$ 值 $< 0.05$ 与EHS组比较(Dunnnett-*t*检验或 $\chi^2$ 检验)

### 2.3 各组大鼠血清DAO、D-乳酸浓度检测

**2.3.1 血清DAO变化** EHS组大鼠造模后DAO水平显著升高,0.5 h达峰,随后逐渐下降,各时间点均高于对照组, LUTI-EHS组和SUTI-EHS组DAO水平均低于同期EHS组,3组中组间( $F=4.166$ ,  $P=0.016$ )、时点间( $F=4.082$ ,  $P=0.032$ )差异均有统计学意义,组间·时点间交互作用差异无统计学意义( $P=0.564$ )。见表2。

**2.3.2 血清D-乳酸变化** EHS组大鼠造模后D乳酸水平显著升高,0.5 h达峰,随后逐渐下降,各时间点均高于对照组, LUTI-EHS组和SUTI-EHS组D乳酸水平均低于同期EHS组,3组中D乳酸水平组间( $F=5.294$ ,  $P=0.004$ )、时点间( $F=6.290$ ,  $P=0.003$ )差异均有统计学意义,组间·时点间交互作用差异无统计学意义( $P=0.616$ )。见表3。

**2.4 小肠组织形态观察** Normal-Control组肠黏膜绒毛结构完整、排列整齐。EHS组大鼠小肠组织呈现典型损伤:具体表现为肠上皮绒毛顶端上

表2 各组大鼠不同时间点 DAO 水平比较

Table 2 Comparison of DAO levels in rats at different time points among different groups

(n=8,  $\bar{x} \pm s$ , U/L)

组别	DAO水平			
	0.5 h	2 h	4 h	6 h
Normal-Control组	499.369±140.065	499.369±140.065	499.369±140.065	499.369±140.065
EHS组	1 028.436±511.666	827.217±460.838	686.529±265.872	581.100±213.442
SUTI-EHS组	944.160±862.023	714.049±239.179	589.158±235.221	558.208±181.709
LUTI-EHS组	714.171±129.778	604.533±163.234	542.734±117.910	522.275±150.119
组间		F值=4.166	P值=0.016	
时间点		F值=4.082	P值=0.032	
组间·时间点		F值=0.789	P值=0.564	

表3 各组大鼠不同时间点 D-乳酸水平比较

Table 3 Comparison of D-lactate levels in rats at different time points among different groups

(n=8,  $\bar{x} \pm s$ , U/L)

组别	D-乳酸水平			
	0.5 h	2 h	4 h	6 h
Normal-Control组	2.971±1.057	2.971±1.057	2.971±1.057	2.971±1.057
EHS组	6.007±1.959	5.814±1.548	5.401±1.315	5.152±0.527
SUTI-EHS组	5.724±1.562	5.012±1.040	4.830±0.594	4.237±0.552
LUTI-EHS组	4.831±0.839	4.659±0.619	4.002±0.510	3.639±0.600
组间		F值=5.294	P值=0.004	
时间点		F值=6.022	P值=0.003	
组间·时间点		F值=0.802	P值=0.616	

皮出现大面积的脱落与坏死现象，绒毛间质显著增宽，同时伴有大量炎性细胞的浸润。与之形成鲜明对比的是，采用2种不同剂量UTI进行治疗的组别，其大鼠肠黏膜的损伤程度相较于EHS组明显减轻，表现为肠上皮绒毛顶端上皮脱落、坏死

减少，上皮完整性得到较好维持，但仍可见炎性细胞浸润、血管扩张等，其中LUTI-EHS组的改善最为显著，提示UTI治疗对EHS造成的肠黏膜损伤有部分减轻作用。见图1。

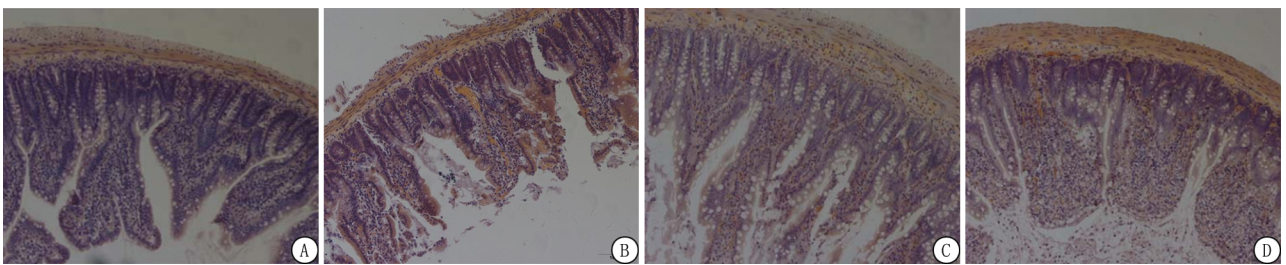


图1 各组大鼠小肠组织黏膜形态(HE染色 ×100)

A. Normal-Control组; B. EHS组; C. LUTI-EHS组; D. SUTI-EHS组

Figure 1 Morphology of intestinal mucosa rats from each group (HE staining ×100)

2.5 肠黏膜损伤评分 通过定量分析评估肠黏膜损伤程度，结果显示，EHS组大鼠的肠黏膜损伤Chiu's评分处于最高水平，与之相比，SUTI-EHS组和LUTI-EHS组的肠黏膜损伤评分均降低，提示采用UTI进行治疗能够在一定程度上改善EHS大鼠的肠黏膜组织损伤状况。见表4。

### 3 讨论

热射病的病理生理核心是热应激直接导致的细胞毒性、全身炎症反应综合征和多器官功能障碍综合征<sup>[11]</sup>。越来越多研究<sup>[12-13]</sup>证实胃肠道黏膜屏障功能受损在热射病的发病机制中具有重要作用，肠道被视为“发动机”和“放大器”<sup>[14]</sup>。在热射病的发病进程中，机体遭受来自环境因素或劳

表4 各组大鼠肠黏膜 Chiu's 评分比较  
Table 4 Comparison of Chiu's scores of intestinal mucosa in rats from each group

( $n=8, \bar{x} \pm s, \text{分}$ )

组别	肠黏膜评分
Normal-Control组	0.000±0.000
EHS组	4.375±0.518*
SUTI-EHS组	2.750±0.463#
LUTI-EHS组	3.500±0.756 $\Delta$
F值	108.638
P值	<0.001

\*P值<0.05与Normal-Control组比较 #P值<0.05与EHS组比较  $\Delta$ P值<0.05与SUTI-EHS组(Dunnett-t检验)

力性活动所引发的热应激刺激,此刺激会激活机体的热休克反应以及体温调节机制,进而引发内脏血流的重新分布,与此同时体内核心温度持续升高,肠道作为对缺血缺氧较为敏感的器官,率先出现缺血缺氧的现象,导致肠道组织发生水肿现象,细胞间的连接结构被打开,屏障功能遭受损害,最终一系列病理生理改变致使肠道黏膜出现损伤<sup>[15]</sup>,上皮细胞发生凋亡,肠道的渗漏情况加剧。随着肠黏膜屏障受损,肠腔内的细菌和毒素发生易位经门静脉循环入血,引发内毒素血症,诱导瀑布样炎症反应,出现全身炎症反应综合征和多器官功能障碍综合征,并对肠道产生二次打击<sup>[16-17]</sup>。

在本研究中,为客观地评估肠黏膜屏障的通透性状况,最终选取了DAO以及D-乳酸这2个指标作为观察对象,同时对小肠组织进行病理学检查与Chiu's损伤评分。DAO是一种具备高活性的细胞内酶,在机体处于正常生理状态时,血液中的DAO含量极低,然而,一旦肠黏膜上皮细胞遭受损伤,细胞内的DAO释放量会显著增加,这些释放出的DAO可通过肠细胞间隙、淋巴管以及血液循环等途径进入血浆,引起血浆中DAO活性的升高<sup>[18]</sup>。值得注意的是,DAO在外周血中的活性表现出相对稳定的特征,这一特性为其作为生物标志物提供了重要基础。该指标不仅特异性强、灵敏度高,而且可以精准地反映肠屏障受损的严重程度<sup>[19-20]</sup>。D-乳酸作为肠道细菌发酵过程中所生成的代谢产物,在机体正常的生理状态下,因肠黏膜生物屏障具备完整的结构与功能,可有效阻隔D-乳酸,使其无法透过该屏障进入血液循环系统。然而,一旦肠黏膜生物屏障遭受损伤,其通透性随之增大,此时D-乳酸便能够突破受损的

肠黏膜,进入血液之中,进而导致血液中D-乳酸水平发生改变。所以血液中D-乳酸的水平变化可作为间接反映肠黏膜通透性改变的重要指标<sup>[21-22]</sup>。本研究结果显示,在EHS大鼠发病之后,对其血清进行检测发现,DAO以及D-乳酸这2项指标均呈现出显著升高的态势,提示EHS大鼠肠黏膜屏障受损、通透性显著升高。另外,通过观察肠黏膜病理并进行损伤分级,发现EHS大鼠肠上皮绒毛有部分坏死脱落,绒毛间质增宽,炎性细胞浸润,以及固有层充血,可观察到固有层的细胞成分增加。上述结果从组织病理上和生物化学方面均证实了,EHS大鼠在发病早期存在肠黏膜屏障的损伤,该结果与目前国内外研究相一致<sup>[23-24]</sup>。

对于热射病的防治,除“快速降温”这一首要措施外,将“维护肠黏膜屏障完整性”作为核心治疗策略,对于遏制肠源性内毒素血症与细菌移位的发生,具有重要临床意义。UTI属于广谱型胰蛋白酶抑制剂,在生物学范畴内展现出多元且关键的生物学活性。它具有抑制蛋白酶活性、稳定溶酶体膜、清除氧自由基、抑制炎症介质的过度释放、改善微循环等多种生物学活性<sup>[25-26]</sup>。UTI在脓毒症、休克等临床危重症的治疗进程中,展现出多方面的积极治疗效应,具体涵盖抑制炎症反应进程、减轻氧化应激损伤、优化局部微循环状态以及降低细胞凋亡发生率等<sup>[27-28]</sup>。近年来大量研究聚焦于UTI对肠道黏膜的保护机制,从现有的研究数据和成果来看已经有确凿的证据可以证实UTI对多种疾病导致的肠黏膜损伤有着明显的保护作用。有研究<sup>[29]</sup>显示UTI不仅能缓解脓毒症大鼠肠黏膜组织损伤,并上调肠道紧密连接蛋白(如闭合蛋白)的表达,从功能和结构2方面修复肠黏膜屏障。靳高超等<sup>[30]</sup>的研究验证了UTI可降低血清DAO水平、减轻大鼠肠黏膜病理损伤。一项最新研究<sup>[31]</sup>显示,UTI通过抑制脓毒症小鼠肠道组织中Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)/髓样分化因子88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)/核因子 $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)通路活化,阻断该通路介导的炎症级联反应,减轻肠道炎症、保护肠黏膜屏障结构与功能,进而改善小鼠预后。Gould等<sup>[32]</sup>对近期EHS患者进行了系统评估,发现热不耐受个体表现出更高的肠道炎症标志物水平,为理解EHS后肠道功能改变提供了临床依据。Wang等<sup>[33]</sup>研究发现,UTI通过激活核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2,

Nrf2) 通路提升谷胱甘肽过氧化物酶等抗氧化酶活性, 降低丙二醛等氧化产物水平, 减轻胰腺炎引发的肠道氧化应激, 保护肠黏膜细胞结构完整, 同时 UTI 可上调紧密连接蛋白 (闭合蛋白、紧密连接蛋白 1) 表达, 改善肠黏膜紧密连接结构, 减少肠黏膜通透性标志物 DAO、D-乳酸释放, 降低肠道细菌移位风险, 从而有效改善了急性胰腺炎大鼠的胃肠黏膜损伤情况。曹才文等<sup>[34]</sup> 研究显示, UTI 可减轻非劳力型大鼠肠黏膜屏障损伤, 降低了血浆 DAO 活性与 D-乳酸浓度。本研究发现, 不同 UTI 干预组 DAO、D-乳酸总体水平整体升高后逐渐下降特征, 在发病早期存在统计学差异, 而组间·时点间交互效应差异无统计学意义提示 UTI 干预未改变 DAO、D-乳酸的时间变化趋势, 仅影响其幅度。因此发病初期 LUTI-EHS 组的降低更显著, 有效缓解了肠黏膜通透性的增高, 在发病初期 UTI 保护作用最显著, 推测可能于 UTI 通过抗炎、抗氧化等机制发挥作用有关。与 EHS 组相比, UTI 组小肠黏膜绒毛水肿、坏死脱落现象减轻, 炎性细胞浸润减少, 病理学 Chiu's 评分较 EHS 组明显降低, 缓解 EHS 所致的肠黏膜屏障功能的破坏, 阻止了病情的进一步恶化<sup>[35]</sup>。

综上所述, 本研究主要观察了 EHS 大鼠肠黏膜屏障的损害, 结果发现 EHS 破坏肠上皮绒毛, 导致绒毛间质增宽、炎性细胞浸润等, 进而导致肠黏膜通透性升高, 且 UTI 对 EHS 大鼠受损的肠黏膜屏障展现出了一定的保护效应, 尤其在发病初期。本研究的不足之处在于样本量小, 且未直接检测全身或局部炎症因子水平, 未能完整描绘从肠道损伤到全身炎症反应的实时动态变化。未来的研究将重点扩大样本量, 监测细胞因子谱系变化, 并可能结合中和抗体等工具, 进一步明确特定炎症通路在本模型肠道损伤—多器官衰竭链条中的核心作用, 从而更精准地验证乌司他丁等药物的干预靶点。

#### [参考文献]

- [1] 全军热射病防治专家组, 全军重症医学专业委员会. 中国热射病诊断与治疗指南(2025版)[J]. 解放军医学杂志, 2025, 28(4): 367-386.
- [2] Périard JD, DeGroot D, Jay O. Exertional heat stroke in sport and the military: Epidemiology and mitigation [J]. *Exp Physiol*, 2022, 107(10): 1111-1121.
- [3] Shi LY, Wang B, Wu Q, et al. Heatstroke: A multicenter study in southwestern China [J]. *Front Public Health*, 2024, 12: 1349753.
- [4] Snipe RMJ. Exertional heat stress-induced gastrointestinal perturbations: Prevention and management strategies [J]. *Br J Sports Med*, 2019, 53(20): 1312-1313.
- [5] Liu SY, Song JC, Mao HD, et al. Expert consensus on the diagnosis and treatment of heat stroke in China [J]. *Mil Med Res*, 2020, 7(1): 1.
- [6] Zhu LX, Chen Y, Chen XF, et al. Systematic review and meta-analysis of the clinical efficacy of octreotide in combination with ulinastatin in the treatment of acute pancreatitis [J]. *Drugs R D*, 2025, 25(3): 195-207.
- [7] Shen KH, Chang CK, Lin MT, et al. Interleukin-1 receptor antagonist restores homeostatic function and limits multiorgan damage in heatstroke [J]. *Eur J Appl Physiol*, 2008, 103(5): 561-568.
- [8] 张婷, 宋青, 周飞虎, 等. 经典型与劳力型热射病动物模型之比较 [J]. 解放军医学院学报, 2013, 34(12): 1209-1212.
- [9] 罗正汉, 胡丹, 张琪, 等. 热射病大鼠建模及血清中炎症因子水平研究 [J]. 热带医学杂志, 2023, 23(11): 1501-1505.
- [10] Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, et al. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal [J]. *Arch Surg*, 1970, 101(4): 478-483.
- [11] Bouchama A, Abuyassin B, Lehe C, et al. Classic and exertional heatstroke [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2022, 8(1): 8.
- [12] Lian P, Braber S, Garssen J, et al. Beyond heat stress: Intestinal integrity disruption and mechanism-based intervention strategies [J]. *Nutrients*, 2020, 12(3): 734.
- [13] Li L, Wang Y, Pei Y, et al. Lactoferrin prevents heat stroke-induced intestinal barrier damage by reducing ferroptosis via regulating MAPK signaling pathway: In vitro and in vivo studies [J]. *Int J Biol Macromol*, 2025, 319(Pt 2): 145454.
- [14] Snipe RMJ, Khoo A, Kitic CM, et al. The impact of exertional-heat stress on gastrointestinal integrity, gastrointestinal symptoms, systemic endotoxin and cytokine profile [J]. *Eur J Appl Physiol*, 2018, 118(2): 389-400.
- [15] Du L, Jiang W, Zhu X, et al. Rifaximin alleviates intestinal barrier disruption and systemic inflammation via the PXR/NF- $\kappa$ B/MLCK pathway and modulates intestinal Lachnospiraceae abundance in heat-stroke mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 143(Pt 2): 113462.
- [16] Shan N, Wang L, Duan C, et al. Pretreatment with astragalus polysaccharide alleviates heat stroke-induced intestinal injury in mice [J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1612852.
- [17] Sun M, Li Q, Zou Z, et al. The mechanism behind heatstroke-induced intestinal damage [J]. *Cell Death Discov*, 2024, 10(1): 455.
- [18] Gludovacz E, Schuetzenberger K, Resch M, et al. Human diamine oxidase cellular binding and internalization in vitro and rapid clearance in vivo are not mediated by N-glycans but by heparan sulfate proteoglycan interactions [J]. *Glycobiology*, 2021, 31(4): 444-458.
- [19] Lyu SC, Zhong GQ, Shi RJ, et al. Diamine oxidase as a biomarker for depression and disease activity in inflammatory

- bowel disease: A cross-sectional observational study [J]. *World J Psychiatry*, 2025, 15(8):106971.
- [20] Tan Lx, Li Y, Ding CL, et al. Serum biomarkers of intestinal barrier dysfunction predict postoperative endoscopic recurrence in Crohn's disease patients [J]. *BMC Gastroenterol*, 2025, 25(1):668.
- [21] Remund B, Yilmaz B, Sokollik C. D-lactate; Implications for gastrointestinal diseases [J]. *Children (Basel)*, 2023, 10(6):945.
- [22] Wang JJ, Yan J, Shi L, et al. Intestinal barrier function as a key determinant of inflammation and nutritional status in digestive surgery patients: A real-world study [J]. *Front Nutr*, 2025, 12: 1637877.
- [23] King MA, Rollo I, Baker LB. Nutritional considerations to counteract gastrointestinal permeability during exertional heat stress [J]. *J Appl Physiol (1985)*, 2021, 130(6):1754-1765.
- [24] Wang YC, Jin XY, Lei Z, et al. Gastrointestinal manifestations of critical ill heatstroke patients and their associations with outcomes: A multicentre, retrospective, observational study [J]. *World J Gastroenterol*, 2024, 30(4):346-366.
- [25] Feng X, Ma W, Chen J, et al. Ulinastatin alleviates early brain injury after traumatic brain injury by inhibiting oxidative stress and apoptosis [J]. *Acta Cir Bras*, 2023, 37(1):e370108.
- [26] 张思琦, 高明, 王琪. 乌司他丁抑制 TLR4/NF- $\kappa$ B 通路介导的炎症反应改善急性胰腺炎相关肠功能障碍 [J]. *中国普通外科杂志*, 2025, 34(3):506-515.
- [27] Li J, Li M, Li L, et al. Real-world safety of ulinastatin: A post-marketing surveillance of 11252 patients in China [J]. *BMC Pharmacol Toxicol*, 2022, 23(1):51.
- [28] Wang Q, Fang JH, Zhang SQ, et al. Ulinastatin inhibits macrophage M1 polarization to improve acute pancreatitis-associated intestinal barrier dysfunction by promoting Nrf2 signaling pathway activation [J]. *Eur J Med Res*, 2025, 30(1):676.
- [29] Li X, Yang C, Gulifeire T, et al. Ulinastatin protects intestinal mucosal barrier by inhibiting the activation of intestinal NLRP3 inflammasomes in septic rats [J]. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*, 2021, 33(2):192-197.
- [30] 靳高超, 邢盼盼, 王玉, 等. 乌司他丁联合生长抑素减轻急性胰腺炎大鼠肠道损伤 [J]. *基础医学与临床*, 2025, 45(2): 203-209.
- [31] Wen YS, Jing H, Ying L, et al. The role of TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B in the protective effect of ulinastatin on the intestinal mucosal barrier in mice with sepsis [J]. *BMC Anesthesiol*, 2023, 23(1):414.
- [32] Gould AAM, Walsh NP, Tipton M, et al. Faecal microbiome, gastrointestinal integrity, inflammation and thermoregulation in recent exertional heat illness patients and matched controls [J]. *Exp Physiol*, 2026, 111(2):403-425.
- [33] Wang Q, Fang J, Zhang S, et al. Ulinastatin inhibits macrophage M1 polarization to improve acute pancreatitis-associated intestinal barrier dysfunction by promoting Nrf2 signaling pathway activation [J]. *Eur J Med Res*, 2025, 30(1):676.
- [34] 曹才文, 何旋, 李莉, 等. 乌司他丁预防重症中暑早期肠黏膜损害的实验研究 [J]. *解放军医学杂志*, 2016, 41(12):1054-1057.
- [35] Armstrog LE, Lee EC, Armstrog EM. Interactions of gut microbiota, endotoxemia, immune function, and diet in exertional heatstroke [J]. *J Sports Med (Hindawi Publ Corp)*, 2018, 2018:5724575.

(本文编辑:王聪)