

精氨酸加压素在调节性低温中的作用及其机制的研究进展

杨永录, 沈字玲, 黄涛

(成都医学院基础医学院生理教研室, 成都 610083)

【摘要】 大动物及人降低体温有利于对中枢神经系统缺血和其他外伤性损伤的恢复。低温治疗的效果受体温降低类型的影响(调节性和非调节性)。许多不同病理生理性伤害可引起啮齿类动物调节性低温反应。目前认为, 调节性低温可能是取得低温治疗最好的手段。本文就调节性低温的病理生理意义和精氨酸加压素在调节低温中的作用及其可能机制作一综述。

【关键词】 精氨酸加压素; 调节性降温; 病理生理性伤害; 保护作用

【中图分类号】 R 595 4 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1674-2257(2009)01-0061-05

Research Progress on the Role of Arginine Vasopressin in Regulated Hypothermia and Its Mechanisms

YANG Yong-lu, SHEN Zi-ling, HUANG Tao

(Department of Physiology, Chengdu Medical College, Chengdu 610083, China)

【Abstract】 Larger species, including humans may benefit from a lower body temperature when recovering from CNS ischaemia and other traumatic insults. The therapeutic efficacy of the hypothermic treatment is likely to be influenced by the nature of the reduction in body temperature (that is forced versus regulated). Rodents subjected to many types of pathophysiological insults undergo a regulated hypothermic response. Regulated hypothermia would seem to be the best means of achieving a therapeutic benefit. This review focuses on pathophysiological significance of regulated hypothermia, and role of arginine vasopressin in regulated hypothermia and its mechanisms.

【Key words】 arginine vasopressin; regulated hypothermia; pathophysiological insults; protective response

精氨酸加压素(AVP)是由下丘脑视上核和室旁核神经元胞体合成的一种九肽神经激素,具有升高血压、抗利尿和参与记忆的作用。但分布于隔区、杏仁核、孤束核、终纹床核以及下丘脑外侧的AVP纤维与体温调节中枢整合能力有密切的关系,在体温调节和退热中有重要作用^[1,2]。在猪、狗、羊、豚鼠、大鼠以及家兔中研究均证明,AVP具有限制发热、促进退热和抑制应激性体温过高的作用,因而认为AVP是体内一种重要的内源性退热物质^[1-3]。近年来的研究又发现,AVP参与病理生理性伤害引起的调节性低温(Regulated hypothermia)反应过程^[4-6]。这种调节性低温反应不仅是缺氧、失血、低血糖以及某些化学毒剂中毒等因素在体内引起的一

种病理生理性保护性反应^[7-10],而且人们还认识到调节性低温可能是实现低温治疗的一种理想的方法^[8,9]。在此,本文结合我们近年来的研究工作就调节性低温的病理生理意义和内源性退热物质AVP在调节性低温中的作用及其可能机制作一综述。

1 调节性低温反应的病理生理意义

体温温度低于35℃称为低温。低温能明显促进创伤性脑损伤、中枢神经系统缺血和其他器官病理生理性伤害的恢复^[11,12]。临床上低温治疗通常将体温被动的降低到正常体温调定点水平以下时,可立即引起产热增加和散热减少反应^[8,9]。这种方法不仅可以阻遏低温治疗的效果,还可引起一系列的不良反应,严重时可出现凝血障碍、心功能衰竭、异位心率和低血压等,这些反应将使治疗复杂化^[11-13]。调节性低温(即,体温调定点降低到正常水平以下)动物优先选择较冷的环境,引起自身散热增加与产热减少,使机体处于低温状态,不仅可以防

收稿日期 2008-06-30 修回日期 2008-09-10

基金项目 国家自然科学基金资助项目(NO:30572428)

作者简介 杨永录(1949-),男,甘肃省人,教授,从事体温调节和退热机制的研究。

Tel: 028-68289165, E-mail: ylyang@cmc.edu.cn

止或减少被动性低温治疗引起的各种不利因素的发生,而且机体的耗能也最低,有利于提高低温治疗的效果^[8,9]。动物实验和临床证明,许多病理生理性因素(如:缺氧、内毒素血症、某些化学毒剂中毒、脱水、低血糖、失血和饥饿等)都可以引起低温反应^[4,7,8,10,14],其共同的特征是动物选择低温环境或者冷环境的行为性体温调节反应,同时出现代谢率降低、外周血管舒张、耗能减少和散热增加,所以认为是调节性低温反应^[7,8,14,15]。目前研究比较多是某些化学毒剂中毒、缺氧和内毒素血症引起的调节性低温反应^[8,9,10,14]。这里简要介绍抗胆碱酯酶剂中毒、缺氧和内毒素血症引起调节性低温的病理生理意义。

1.1 调节性低温与抗胆碱酯酶剂中毒

用无线遥测技术连续测量动物的体温发现,口饲有机磷杀虫剂毒死蜱(CHP)能引起大鼠和小鼠的正常体温下降 $2\sim 3^{\circ}\text{C}$,皮下注射微量($6\mu\text{g}/100\text{g}$)的化学战剂梭曼也可引起明显的低温反应^[8,16,17]。许多研究证明,将小鼠和大鼠暴露到某些化学毒剂(有机磷杀虫剂、梭曼和乙醇)中时,动物均优选冷环境,出现调节性低温反应^[8,9]。通常乙醇、有机磷杀虫剂和其他化学毒剂的剂量接近半数致死剂量(LD₅₀)时可引起体温降低,但是当环境温度升高到热中性温度区,降温效应减弱,而毒性则提高^[8,9]。

有机磷杀虫剂引起的调节性低温反应与体内胆碱酯酶(ChE)活性降低,导致生理作用部位乙酰胆碱积聚有关^[8]。胆碱能神经突触前膜释放的乙酰胆碱作用于突触后膜上的胆碱能受体,导致后膜钠、钾等离子通透性的改变和钙离子的转移,激活腺苷酸环化酶系统,引起生理效应。乙酰胆碱引起生理效应后,后膜的乙酰胆碱立即被ChE水解,而阻止乙酰胆碱在时间上继续发挥作用。由于在体温调节中,中枢乙酰胆碱参与机体的散热过程,所以有机磷杀虫剂抑制ChE的活性后,使中枢乙酰胆碱大量积聚,可引起明显的低温反应^[8]。

对有机磷杀虫剂危险率的评估,通常是利用其对血浆或血清中ChE活性的抑制程度以及机体某些生理指标的变化(如低温反应),这对于确定脑组织和外周组织中ChE活性降低的阈值是非常重要的。当有机磷杀虫剂使大鼠脑内ChE活性被抑制82.5%时,体温降低达 3.0°C ;将小鼠暴露到化学战剂沙林中,视前区-下丘脑前部的ChE活性降低超过52%时,动物也出现低温反应^[8]。通常在室温

下,大脑内ChE活性抑制超过50%是引起啮齿动物低温反应的阈值^[8,9]。

啮齿动物散热温度效应器的活动是受体温调节中枢胆碱能通路所控制,往中枢注射拟胆碱药物可导致散热通路兴奋,引起快速的低温反应;而注射中枢性胆碱能阻断剂东莨菪碱可阻断有机磷杀虫剂CHP和化学战剂梭曼引起的低温反应,说明中枢神经系统胆碱能通路的兴奋是有机磷毒剂引起急性低温反应的主要原因^[8,9,17]。

1.2 调节性低温与缺氧

大鼠放入温度梯度箱中,用无线遥控测温技术连续测量体温、心率和动物选择环境温度的变化,给69%的氧气能使体温从 37°C 降低到 34.5°C ,并出现优选低温环境的反应,即动物从 30°C 的环境自动转移到 24°C 的环境中;同时伴有心率增加现象,使循环系统运送更多的血液到缺氧组织^[9]。缺氧也可以引起机体散热增加和CO₂产生减少,反射性地使外周血管舒张和降低代谢率;甚至单细胞草履虫缺氧时,在微型的温度梯度箱中也优选较低的温度环境^[9,14]。将低氧气体换给正常氧量气体时,动物则选择较高的温度环境,体温快速恢复到正常水平^[9]。

缺氧引起的低温反应有明显的保护中枢神经系统的作用和提高血红蛋白对氧的亲合力,保证了大量的氧运输到缺氧组织,能明显提高动物在缺氧环境中生存率^[9,10,14]。正常体温大鼠和小鼠缺氧的死亡率高于低温大鼠和小鼠^[9]。将小鼠暴露在4.5%的氧气中,当体温上升到 41.5°C 时,生存的时间是以对数形式的降低^[8,9]。小鼠暴露在 34°C 的模拟高海拔急性缺氧环境中,其致死的最高海拔为9144m;而环境温度降低为 16°C 时,缺氧导致致死的海拔则提高到14630m^[8,9]。这些资料说明,缺氧引起的低温反应是调节性体温降低,而低温状态和低温环境有利于动物在缺氧环境中的生存。

1.3 调节性低温与内毒素血症

给大鼠静脉注射小剂量细菌性脂多糖(LPS)10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或腹腔注射50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 可以激活发热通路而引起调节性体温升高,较大剂量的LPS能引起快速的调节性低温反应^[9,15]。这是由于带有大量内毒素的大鼠出现行为性和生理性体温调节活动导致极度的散热反应,而明显掩盖了被激活了的发热通路,最终的结果是出现低温反应^[15]。

体温降低是败血症性休克患者常见的体温调节

反应,也是提高生存的一个重要因素。将大鼠置于温度梯度箱内,静脉注射 LPS 0.5 mg/kg(相当于发热剂量的 50 倍)动物表现出突然优选冷环境,接着出现体温降低。由于动物能够通过行为性活动选择冷环境,而提高体热的散失,因而认为这种低温现象是全身炎症和内毒素休克引起的一种调节性低温反应^[15]。有实验证明,中度低温可以提高内毒素休克大鼠的存活率,其原因是低温能够降低组织损伤或感染,代谢所需要的剧烈的能量消耗^[9,15]。

2 AVP 在调节性低温中的作用

现在还不完全清楚,为什么许多病理生理性伤害因素能长时间地降低啮齿动物和其他哺乳动物的体温调定点,使体温维持在正常水平以下 1~6℃的低温状态,以提高对机体的保护作用。例如,持续缺氧大鼠通过行为调节和自动温度效应器的调节引起的低温状态,最少可以维持 6 h;给大鼠口饲接近于 LD₅₀剂量的有机磷毒剂将维持低温状态长达 12~24 h^[8,9]。令人感兴趣的是已经发现,AVP 在正常体温调节和病理生理性因素引起调节性低温中有重要的作用^[4,6]。

2.1 AVP 在正常体温调节中的作用

最初的研究发现,将垂体后叶提取物直接注入动物脑内,可引起动物体温下降。后来许多学者在猪、狗、羊、豚鼠、大鼠以及家兔中研究了 AVP 对体温调节的作用,往动物边缘前脑腹中隔区(VSA)注射退热剂量的 AVP 能引起正常动物体温降低;当狗的前脑基底部局部受热时,可见血浆中 AVP 浓度明显增加,视前区及隔区受热时,AVP 增加尤其明显;若将动物暴露在冷环境中或同样区域冷却时,可抑制 AVP 的释放和降低血浆中 AVP 的浓度^[1,3]。我们用无线遥控测温技术观察到 AVP V₁受体阻断剂可导致正常大鼠体温明显升高,其特点是昼光大鼠的体温升高后持续的时间较暗光中,说明内源性 AVP 不仅对正常体温有负调节作用,而且也参与生理状态下体温昼夜周期性波动的调节过程^[18]。

2.2 AVP 在调节性低温中的作用

实验已证明,AVP 参与病理生理伤害性因素引起的调节性低温的形成过程^[4,6]。这里就 AVP 在缺氧、失水、内毒素血症和抗胆碱酯酶剂引起调节性低温中的作用简要介绍如下:①缺氧引起的调节性低温,缺氧引起的低温反应时,血浆和脑脊液的

AVP 的水平明显提高^[4]。②失水引起的调节性低温:当限制恒温动物和变温饮水或禁水,然后将其置于温度梯度箱内时,动物则出现优选低温度环境的行为性体温调节反应,同时代谢率降低,减少产热和增加散热,而引起降温反应,这种效应与机体失水引起 AVP 分泌和释放增加有关^[19]。我们实验室证明,当家兔禁水引起脑脊液和血浆中 AVP 含量升高时,正常体温也出现明显降低反应。③内毒素性休克引起的调节性低温:当内毒素性休克引起大鼠低温反应时,血浆中 AVP 的浓度明显增加,静脉注射 AVP V₁受体阻断剂能明显阻断这种低温反应^[6,20]。④抗胆碱酯酶剂引起的调节性低温:我们实验室用无线遥测技术在研究抗胆碱酯酶剂引起大鼠调节性低温机制时发现,内源性抗热物质 AVP V₁受体阻断剂可明显阻断梭曼和毒死蜱的降温效应,以及梭曼和毒死蜱引起动物出现低温反应时,血浆中 AVP 的浓度出现升高现象^[16,21]。图 1 是我们用无线遥控测温技术连续测量 48 h 的实验结果^[16]。从图中可见,毒死蜱能引起动物出现明显的低温反应,AVP V₁受体阻断剂几乎可以完全阻断其引起的低温反应。因而我们认为,AVP 参与有机磷毒剂引起的调节性低温反应过程。

3 AVP 在正常体温调节和调节性低温中的作用机制

3.1 AVP 能兴奋 PO/AH 热敏神经元和抑制冷敏神经元

视前区-下丘脑前部(PO/AH)在体温调节中起重要作用,而隔区是 AVP 引起降温反应的最敏感作用部位^[1,2]。我们往第 II 脑室和隔区注射 AVP 能提高 PO/AH 热敏神经元的放电活动和降低冷敏神经元的放电活动,而注射 AVP 抗血清则可阻断 AVP 的作用^[2];侧脑室注射 AVP 和隔区微电泳 AVP 均能兴奋隔区热敏神经元和抑制冷敏神经元的放电活动,特别是 AVP 对隔区热敏神经元的兴奋作用明显大于对冷敏神经元的抑制作用^[23]。董军等电刺激 VSA 可使 PO/AH 热敏神经元放电频率增加,冷敏神经元放电频率减少^[24]。他们最近的工作证明,VSA 是通过 AVP V₁受体来调节 PO/AH 温敏神经元的活动^[25]。这些研究提示,AVP 的降温作用与 AVP 能兴奋 PO/AH 热敏神经元和抑制冷敏神经元的活动,以及直接兴奋大脑隔区的热敏神经元和抑制冷敏神经元的活动有关。

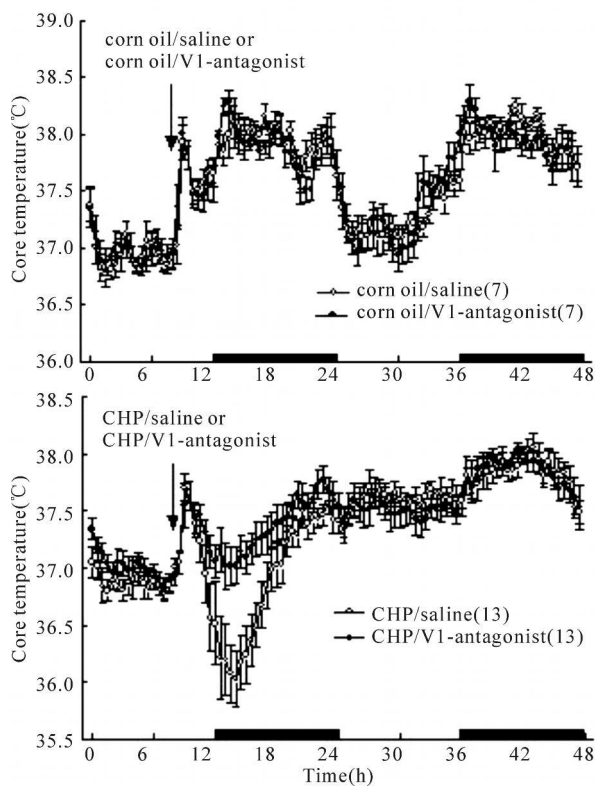


图 1 AVP V_1 受体阻断剂对有机磷杀虫剂毒死蜱引起低温反应的阻断作用

Fig 1 The blockade effect of AVP V_1 -receptor antagonist on the organophosphate insecticide chlorpyrifos induced hypothermia in the rats

图中黑色粗条表示为 24 h 明暗周期中的暗光期

Dark horizontal bar represents the dark phase of photoperiod (from Yang YL. Pharmacology and toxicology, 2003)

3.2 推测 AVP 降温可能与体温调定点降低有关

体温的恒定是受体温调定点的调控, PO/AH 热敏神经元和温度不敏感神经元是调控与维持体温调定点恒定的神经元基础(图 2), 这些神经元群以突触联系的方式控制着分散的效应神经元群, 产生各种不同的体温调节反应^[26-28]。正是这些相互拮抗的突触对效应神经元的作用, 构成体温调定点的温度^[26]。实验证明, AVP 不仅能兴奋 PO/AH 热敏神经元和抑制冷敏神经元的活动, 而且在环境温度 4℃、24℃和 32℃时, AVP 对发热大鼠的降温效应明显大于未发热大鼠, 但在 4℃下, AVP 能使机体产热减少, 降温效应更明显^[29]。通常机体在冷环境中是代谢率升高, 产热增加, 使体温维持在正常水平, 而 AVP 能促进冷环境下动物体温降低。所以, 推测 AVP 降温可能与体温调定点降低有关^[29]。

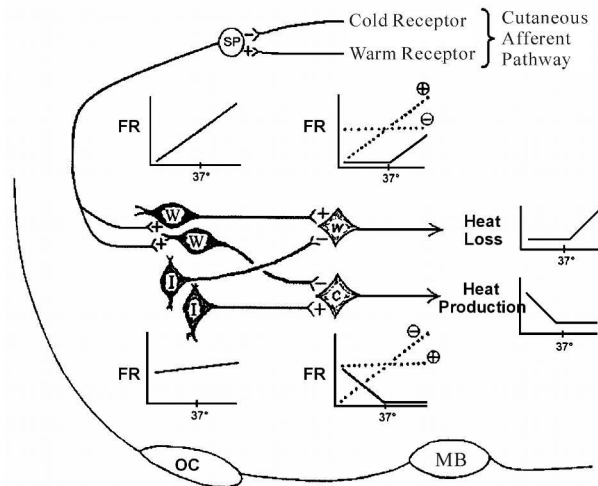


图 2 Hammel 解释体温调定点的神经网络模型

Fig 2 Hammel proposed a neuronal model to explain set-point thermoregulation

大 W: 热敏神经元; 大 I: 温度不敏感神经元; 小 w: 热效应神经元; 小 i: 冷效应神经元; FR: 神经元放电频率

W: warm-sensitive neuron; I: temperature-insensitive neuron; w: heat loss effector neuron; i: heat production effector neuron; FR: firing rates of each neuron (from Boulant, J Appl Physiol 2006)

3.3 AVP 与中枢胆碱能系统在调节性低温中可能有相互协调的作用

根据抗胆碱酯酶剂毒死蜱和梭曼引起调节性低温与生理所用部位乙酰胆碱积聚增多所致的原理^[8,9,17], 我们用无线遥测技术初步观察了 AVP 对拟胆碱能药氧化震颤素引起低温反应的影响。给大鼠皮下注射氧化震颤素能引起正常体温快速降低达 2℃以上, 而 AVP V_1 受体阻断剂能够明显阻断氧化震颤素引起的低温效应^[16]。实验结果提示, AVP 与中枢胆碱能系统在调节性低温中可能有相互协调的作用。

3.4 AVP 的外周降温作用

实验发现, 体外培育兔全血细胞内毒素诱生内源性致热原(EP)过程中加入 AVP 获得的 EP, 其致热效应明显降低, 说明 AVP 退热机制之一是 AVP 能抑制内毒素诱生 EP 的生成和对抗 EP 的致热活性^[30]。另外, 损毁下丘脑前部不影响静脉或者腹腔注射 AVP 引起的降温作用, 但阻断颈动脉窦压力感受器的传入神经可以明显减弱 AVP 的降温作用^[31]。所以认为, AVP 的外周降温作用是通过颈动脉窦压力感受性反射引起交感神经传出降低, 使棕色脂肪组织产热减少和外周血管舒张引起散热增

加所致^[16,31]。

4 问题与展望

上述资料表明,许多病理生理伤害性因素引起的调节性低温是一种保护性的适应反应,而且人们已经认识到调节性低体温可能是实现低温治疗的一种理想的方法。但调节性低温的机制还不完全清楚,有许多问题有待阐明,如某些伤害性因素是如何引起体温调定点下移而引起调节性低温反应。另外,目前还没有一种既可以使体温调定点下移引起调节性低温,而生理应激反应又最小的药物。所以,进一步研究调节低温的作用及其机制,不仅对深入了解生理和病理生理情况下的体温调节有重要的意义,更重要的是能为临床低温治疗的途径和机制提供新的理论依据。

参考文献

- [1] Richmond CA. The Role of Arginine Vasopressin in Thermoregulation during Fever[J]. *J Neurosci Nurs*, 2003, 35(5): 281-286
- [2] Pittman QJ, Chen X, Mouchate A, *et al*. Arginine Vasopressin, Fever and Temperature Regulation[J]. *Prog Brain Res*, 1998, 119(2): 383-392
- [3] Roth J. Endogenous Antipyretics[J]. *Clin Chim Acta*, 2006, 371(1-2): 13-24
- [4] Steiner AA, Branco LGS. Hypoxia-induced Anapnoea: Implications and Putative Mediators[J]. *Annu Rev Physiol*, 2002, 64: 263-88
- [5] Saia RS, Carnio EC. Thermoregulatory Role of Inducible Nitric Oxide Synthase In lipopolysaccharide-induced Hypothermia[J]. *Life Sci*, 2006, 79(15): 1473-1478
- [6] Carnio EC, Stabile AM, Battalio ME, *et al*. Vasopressin Release during Endotoxaemic Shock in Mice Lacking Inducible Nitric Oxide Synthase[J]. *Pflugers Arch*, 2005, 450(6): 390-394
- [7] Brown JW, Whitehurst ME, Gordon CJ, *et al*. Thermoregulatory Set Point Decreases after Hemorrhage in Rats[J]. *Shock*, 2005, 23(3): 239-242
- [8] Gordon CJ. Regulated Hypothermia: an Adaptive Response to Toxic Insult In: *Temperature and Toxicology*[J]. CRC Press, New York, 2005, P51-167
- [9] 杨永录,樊萌,何彦芳. 调节性低温对机体病理生理性伤害的保护作用[J]. *中国危重病急救医学*, 2006, 18(9): 571-573
- [10] Bicego KC, Barros RC, Branco LG. Physiology of Temperature Regulation: Comparative Aspects[J]. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 2007, 147(3): 616-39
- [11] Froehler MT, Geocadin RT. Hypothermia for Neuroprotection after Cardiac Arrest: Mechanisms, Clinical Trials and Patient Care[J]. *J Neurol Sci*, 2007, 261(1-2): 118-126
- [12] Hemmen TM, Lyden PD. Induced Hypothermia for Acute Stroke[J]. *Stroke*, 2007, 38(2): 794-799
- [13] Jordan JD, Carhuapoma J R. Hypothermia: Comparing Technology[J]. *J Neurol Sci*, 2007, 261(1-2): 35-38
- [14] Branco LGS, Gargaglioni LH, Barros RCH. Anapnoea during Hypoxia[J]. *J Therm Biol*, 2006, 31(1-2): 82-89
- [15] Leon LR. Hypothermia in Systemic Inflammation: Role of Cytokines[J]. *Front Biosci*, 2004, 9: 1877-1888
- [16] Yang YL, Gordon CJ. Possible Role of Vasopressin in the Thermoregulation to Clopyrifos in the Rat[J]. *Pharmacol Toxicol*, 2002, 90(6): 311-316
- [17] Yang YL, Zhi DX, Wang XM, *et al*. Effect of Cholinergic Antagonist on Soman-induced Hypothermia in the Rat[J]. *Chin J Pathophysiol*, 2004, 20(1): 60-62
- [18] 杨永录,方军. AVP V₁受体阻断剂对昼光和暗光中正常大鼠体温的影响[J]. *中国病理生理学杂志*, 2003, 19(1): 83-86
- [19] Ladyman M, Bradshaw D. The Influence of Dehydration on the Thermal Preferences of the Western Tiger Snake, *Notemacheilus Scutatus*[J]. *J Comp Physiol B*, 2003, 173(3): 239-246
- [20] Giusti-Paiva A, Branco LG, De Castro M, *et al*. Role of the Nitric Oxide in Thermoregulation during Septic Shock: Involvement of Vasopressin[J]. *Pflugers Arch*, 2003, 447(2): 175-180
- [21] Yang YL, Liu LH, Zhang Y. Role of Endogenous Arginine Vasopressin in Soman-induced Hypothermia in Rats[J]. *Chin J Pathophysiol*, 2003, 19(2): 240-243
- [22] 杨永录,陈邦勇. 隔区注射 AVP 和 AVP 抗血清对家兔温敏神经元放电的影响[J]. *生理学报*, 1994, 46(2): 141-147
- [23] 杨永录,石胜刚,陈邦勇. 侧脑室注射注射 AVP 与微电泳 AVP 对家兔隔区温敏神经元放电活动的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 2000, 16(1): 32, 82
- [24] 董军,陆大祥,付咏梅,等. 电刺激腹中隔区对兔视前区前下丘脑温敏神经元放电的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2001, 17(5): 411-414
- [25] Dong J, Xie XH, Lu DX, *et al*. Effects of Electrical Stimulation of Ventral Septal Area on Firing Rates of Pyrogen-treated Thermosensitive Neurons in Preoptic Anterior Hypothalamus from Rabbits[J]. *Life Sci*, 2007, 80(5): 408-413
- [26] Boulant JA. Neuronal Basis of Hammel's Model for Set-point Thermoregulation[J]. *J Appl Physiol*, 2006, 100(4): 1347-1354
- [27] Griffin JD. Central Thermosensitivity and the Integrative Responses of Hypothalamic Neurons[J]. *J Therm Biol*, 2004, 29(4-5): 327-331
- [28] Tabarean IV, Conti B, Behrens M, *et al*. Electrophysiological Properties and Thermosensitivity of Mouse Preoptic and Anterior Hypothalamic Neurons in Culture[J]. *Neuroscience*, 2005, 135(2): 433-449
- [29] Bicego-Nahas KC, Steiner AA, Carnio EC, *et al*. Antipyretic effect of Arginine Vasotocin in Toads[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2000, 278: 1408-1414
- [30] 胡巢凤,李楚杰,张穗梅,等. 精氨酸加压素对家兔血细胞生成内生致热原的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 1994, 10(4): 358-361
- [31] Srividya R, Mallick HN, Kumar VM. Changes in Brain Temperature and Thermoregulation Produced by Destruction of Medial Septal Neurons in Rats[J]. *Brain Res Bull*, 2005, 66(2): 143-148