论著

文章编号:1000-5404(2006)05-0428-03

失血性休克复合氰化钠中毒对兔血清氧化应激水平的影响

朱乐明,董兆君 (第三军医大学军事预防医学院军事毒理学教研室,重庆 400038)

提 要:目的 探讨失血性休克复合氰化钠中毒对兔血清氧化应激水平的影响。**方法** 日本大耳白兔15只,随机分为对照、失血性休克、氰化钠中毒、失血性休克复合氰化钠中毒和4-DMAP治疗共5组。动物麻醉后行左侧颈总动脉插管手术,连接三通管和RM6240生理信号系统,建立失血性休克复合中毒模型(血压控制在5.3 kPa)。腹腔注射2.5 mg/kg氰化钠及抗氰药物4-二甲氨基苯酚(4-dimethyl aminophenol, 4-DMAP)3.2 mg/kg,分别于0.5 h、1 h以及2 h抽取血液样本,采用分光光度法检测血清超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活力、丙二醛(malondialdehyde, MDA)和活性氧(active oxygen, ROS)的含量。**结果** 失血性休克、氰化钠中毒以及失血复合中毒后SOD活力明显下降($P<0.01$),MDA、ROS含量显著上升($P<0.01$),复合致伤组与单纯休克以及单纯中毒组有明显差异($P<0.01$);4-DMAP干预后SOD活力较复合致伤组明显提高,MDA和ROS的含量则明显降低($P<0.01$)。**结论** 失血性休克条件下,氰化钠中毒严重影响兔血清氧化应激水平,4-DMAP能部分改善此作用。

关键词:失血性休克;氰化钠;氧化应激

中图法分类号:R349.1;R595.02;R605.971 **文献标识码**:A

Effects of hemorrhagic shock and sodium cyanide intoxication on rabbit serum oxidative stress

ZHU Le-ming, DONG Zhao-jun (Department of Military Toxicology, College of Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of sodium cyanide (NaCN) and hemorrhagic shock on the level of serum oxidative stress in rabbits. **Methods** A total of 15 Japanese white rabbits were randomly divided into 5 groups: sham operation, hemorrhagic shock (HS), NaCN intoxation, HS + NaCN and HS + NaCN + 4-dimethy laminophenol (4-DMAP). The rabbits were anesthetized for left arteria carotis communis cannulation, and connected with three-way tube and RM6240 electronic physiological signal recording system. The models of hemorrhagic shock and/or sodium cyanide intoxation (blood pressure was controlled at 5.3 kPa) were established. At 0.5, 1 and 2 h after the intraperitoneal injection of 2.5 mg/kg NaCN and/or 3.2 mg/kg 4-DMAP, the blood were drawn. The serum superoxide dismutases (SODs), content of malonaldehyde (MDA) and active oxygen (ROS) were detected by spectrophotometric method. **Results** After HS, NaCN intoxation, HS + NaCN, the SODs decreased significantly ($P<0.01$), the content of MDA and ROS ascended obviously ($P<0.01$). The SODs ascended significantly ($P<0.01$), the content of MDA and ROS decreased obviously ($P<0.01$) after the intervention of 4-DMAP. **Conclusion** Under the condition of hemorrhagic shock, NaCN can cause severe interference in the level of serum oxidative stress in rabbits, and 4-DMAP can partially improve the interference of NaCN.

Key words: hemorrhagic shock; sodium cyanide; oxidative stress

氰化物是典型的速杀性化学战剂,来源广、毒性大、染毒途径多、中毒难防难治。氰化物进入机体后迅速释放出氰离子(CN^-),CN^-与细胞色素氧化酶的三价铁(Fe^{3+})结合形成氰化高铁细胞色素氧化酶,阻断呼吸链电子传递,导致氧利用障碍,机体因呼吸抑制而死亡[1]。失血性休克是战伤中最严重的并发症之一,一般战伤休克的发生率为10%~15%,未来高技术局部战争条件

基金项目:全军医学科学技术研究"九五"计划指令性课题(96L015)
Supported by the Key Research Project of the "Tenth Five-Year Plan" of PLA (96L015)

作者简介:朱乐明(1973-),男,江苏省姜堰市人,硕士研究生,主治医师,主要从事化学毒剂复合伤方面的研究。电话:(023)68752356,E-mail:zlm_1973@yahoo.com.cn

通讯作者:董兆君,电话:(023)68752285

收稿日期:2005-11-05;修回日期:2006-01-25

中，休克的发生率可能高达25% ~30%[2]。失血性休克合并化学毒剂中毒在化学毒剂复合伤中所占的比例较大，伤情复杂，死亡率高，国内外少有系统研究的公开报道，也少见成熟的救治方案。本研究拟建立失血性休克合并氰化钠中毒实验模型，以研究联合损伤条件下血清氧化应激水平及其伤情变化规律，为失血性休克合并氰化物中毒的救治方案研究提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　试剂和仪器

氰化钠（NaCN）和4-二甲氨基苯酚（4-dimethyl aminophenol, 4-DMAP），由军事医学科学院提供，纯度>98%。其他试剂均为国产分析纯。RM6240生理信号采集处理系统购自成都仪器厂，配置YP100型压力传感器。Spectrumlab 22pc型可见光分光光度计购自上海棱光技术有限公司。

1.2　动物失血性休克模型的建立

采用Wiggers改良模型[3]。放血至平均动脉压5.3 kPa，并维持1 h。

1.3　实验动物及分组

日本大耳白兔15只，体质量（2±0.2）kg，雌雄不拘，由第三军医大学实验动物中心提供。将动物分为对照（sham operation, SO）、失血性休克（hemorrhagic shock, HS）、氰化钠中毒（sodium cyanide intoxication, NaCN）、失血性休克复合氰化钠中毒（hemorrhagic shock combined sodium cyanide intoxication, HS+NACN）和4-DMAP治疗（drug treatment, DT）5组，每组3只。腹腔注射戊巴比妥钠（40 mg/kg）麻醉后，将兔固定于手术平台上行左侧颈总动脉插管术，连接压力换能器、三通管和20 ml注射器，建立颈动脉放血和血压监测系统。手术后，对照组不作处理；失血性休克组颈动脉放血，使血压降至5.3 kPa（10 min内）；中毒组予氰化钠腹腔注射（2.5 mg/kg）；失血性休克复合氰化钠中毒组先放血控制血压于5.3 kPa，再予氰化钠腹腔注射；4-DMAP治疗组放血控制血压于5.3 kPa，予氰化钠腹腔注射，立即肌肉注射4-DMAP（3.2 mg/kg）。各组分别于处理后0.5、1和2 h抽血采样。

1.4　检测指标

包括血清超氧化物歧化酶（superoxide dismutase, SOD）、丙二醛（malondialdehyde, MDA）和活性氧（active oxygen, ROS），采用南京建成生物工程研究所提供的测定试剂盒进行检测，应用可见分光光度计测定光密度值，根据公式，计算SOD活性和MDA、ROS含量。

1.5　统计学处理

结果以$\bar{x}\pm s$表示，采用SPSS12.0统计软件进行双因素析因分析。

2　结果

2.1　SOD活力的变化

SOD检测结果（表1）显示，单纯失血性休克组和氰化钠中毒组兔血清SOD活力较正常对照组均出现明显降低（$P<0.01$），复合致伤组SOD活力降低更为显著，经4-DMAP干预后，复合致伤组兔血清SOD活力显著高于未经干预的复合致伤组（$P<0.01$），但仍低于正常对照组水平（$P<0.01$）。且致伤时间越长，各实验组SOD活力变化越明显。在致伤后120 min，失血性休克组、氰化钠中毒组、失血性休克复合氰化钠中毒组兔血清SOD活力分别相当于正常对照组的64.24%、53.00%和48.30%，4-DMAP干预组兔血清SOD活力分别相当于正常对照和复合致伤组的61.74%和127.82%。

表1　失血性休克复合氰化钠中毒兔血清SOD活力的变化（$n=3$, $\bar{x}\pm s$）

组别	时间（h）		
	0.5	1	2
SO	147.60±5.72	144.68±4.53	145.85±4.81
HS	128.72±9.95[a]	108.85±3.95[a]	93.69±8.07[a]
NaCN	109.10±7.08[a]	81.86±7.68[a]	75.15±14.18[a]
HS+NaCN	81.41±5.00[a]	73.97±3.83[a]	70.45±12.50[a]
DT	116.95±15.48[a b]	102.21±7.18[a b]	90.05±3.20[a b]

a：$P<0.01$，与SO组比较；b：$P<0.05$，与NaCN组比较

2.2　MDA含量的变化

MDA检测结果（表2）显示，单纯失血性休克组和氰化钠中毒组兔血清MDA含量较正常对照组均出现明显升高（$P<0.01$），复合致伤组MDA含量升高更为显著，经4-DMAP干预后，复合致伤组兔血清MDA活力显著低于未经干预的复合致伤组（$P<0.01$），但仍高于正常对照组水平（$P<0.01$）。且致伤时间越长，各实验组MDA含量变化越明显。在致伤后120 min，失血性休克组、氰化钠中毒组、失血性休克复合氰化钠中毒组兔血清MDA含量分别相当于正常对照组的147.02%、149.40%和168.15%，4-DMAP干预组兔血清MDA含量分别相当于正常对照和复合致伤组的113.39%和67.43%。

表2　失血性休克复合氰化钠中毒兔血清MDA含量变化（$n=3$, $\bar{x}\pm s$）

组别	时间（h）		
	0.5	1	2
SO	3.41±0.15	3.36±0.26	3.36±0.12
HS	4.04±0.56[a]	4.82±0.14[a]	4.94±0.10[a]
NaCN	4.47±0.79[a]	4.88±0.66[a]	5.02±0.49[a]
HS+NaCN	5.32±0.27[a]	5.57±0.32[a]	5.65±0.13[a]
DT	3.74±0.26[a b]	3.76±0.07[a b]	3.81±0.25[a b]

a：$P<0.01$，与SO组比较；b：$P<0.05$，与NaCN组比较

2.3　ROS含量的变化

ROS检测结果（表3）显示，单纯失血性休克组和氰化钠中毒组兔血清ROS含量较正常对照组均出现明显升高（$P<0.01$），复合致伤组ROS含量升高更为显著，经4-DMAP干预后，复合致伤组兔血清ROS含量显著低于未经干预的复合致伤组（$P<0.01$），但仍高于正常对照组水平（$P<0.01$）。且致伤时间越长，各实验组ROS含量变化越明显。在致伤后120

min,失血性休克组、氰化钠中毒组、失血性休克复合氰化钠中毒组兔血清 ROS 含量分别相当于正常对照组的 176.91%、157.46% 和 190.95%,4-DMAP 干预组兔血清 ROS 含量分别相当于正常对照和复合致伤组的 122.61% 和 64.21%。

表3 失血性休克复合氰化钠中毒兔血清 ROS 含量变化
($n=3$, $\bar{x}\pm s$)

组别	时间 (h)		
	0.5	1	2
SO	382.93 ± 13.73	384.28 ± 18.65	387.22 ± 21.08
HS	530.19 ± 10.36[a]	655.24 ± 40.89[a]	685.02 ± 11.49[a]
NACN	568.62 ± 12.64[a]	585.55 ± 6.07[a]	609.71 ± 15.89[a]
HS + NACN	648.66 ± 26.50[a]	726.32 ± 14.71[a]	739.39 ± 16.31[a]
DT	446.71 ± 7.99[a b]	464.42 ± 9.14[a b]	474.76 ± 6.81[a b]

a:$P<0.01$,与 SO 组比较; b:$P<0.05$, 与 NaCN 组比较

3 讨论

刘艳等[4]报道,失血性休克后,大鼠 MDA 含量高于对照组,SOD 活性低于对照组。马宝玺等[5]发现,氰类毒剂接触人员 ROS、MDA 含量增加,SOD 活力下降。而关于失血性休克合并氰化钠中毒对氧化应激水平的影响尚少见文献报道。本研究初步表明,失血性休克或(和)氰化钠中毒均可引起兔血清 SOD 活力的下降、MDA 及 ROS 的含量增加,提示氧化应激机制在休克合并氰化物中毒中发挥一定作用。

氰化物可抑制琥珀酸脱氢酶进而抑制三羧酸循环和线粒体电子传递链复合物Ⅱ,而线粒体功能障碍可引起 ROS 增加,这些自由基可以通过氢抽提作用使膜脂中的多不饱和脂肪酸氧化,引起生物膜脂质过氧化[6];Salvatore 等[7]研究发现,氧自由基是休克、缺血损伤的重要介质。失血性休克后,脂质过氧化产物增多,机体发生氧化应激反应,产生大量 ROS 和脂质过氧化物(LOOH)的分解产物——丙二醛。SOD 是体内唯一直接清除氧自由基的酶,其活力下降必然导致氧化应激产物的增加。本研究证实,休克和氰化物中毒后,血清 MDA 和 ROS 含量增加($P<0.01$),SOD 活力下降($P<0.01$)。各指标的变化幅度远大于单纯休克或单纯中毒的效应,提示说明化学中毒和失血性休克对机体的氧化应激可能具有联合效应。

化学中毒与失血性休克两种因素同时作用于机体可产生联合效应,而联合效应的性质可能与损伤因素有关。本实验结果说明,休克合并中毒 1 h 对 SOD 活力的影响(73.97 ± 3.83) U/ml 仅仅是在单纯休克(108.85 ± 3.95) U/ml 或单纯中毒(81.86 ± 7.68) U/ml 的基础上的简单增加,而不是两种因素单独效应之和。对 MDA 和 ROS 的影响亦然。本结果提示,休克合并中毒对机体氧化应激功能的影响可能不是药理学意义上的协同效应,可能由于氰化物中毒加重缺氧所造成。梁敏等[8]报道,美蓝进入机体后,能与分子氧竞争黄嘌呤氧化酶传递的电子,从而抑制超氧化物的生成,同时也可通过降低一氧化氮水平而减轻氧化损伤,因而可对氰化钠所致的红细胞损伤提供有效的保护作用。4-DMAP 作用机制与美蓝相似[9]。比较本实验 DT 和 NACN 组结果可见,4-DMAP 使 MDA 和 ROS 含量明显降低($P<0.01$),SOD 活力明显增强($P<0.01$)。这进一步证实氰化钠抑制细胞色素氧化酶所造成的组织缺氧,可能是休克合并中毒损伤条件下氧化应激反应增强的主要原因。

综上所述,失血性休克条件下,氰化钠中毒严重影响兔血清氧化应激水平,4-DMAP 能部分改善此作用。

参考文献:

[1] 袁菊芳,叶华虎,李奇慧,等. 4-DMAP 对缺氧红细胞生成高铁血红蛋白的效应特点[J]. 第三军医大学学报, 2003, 25(14): 1227-1229.

[2] 刘玉春,王建荣,马燕兰,等. 失血性休克早期液体复苏及护理[J]. 解放军护理杂志, 2002, 19(3): 40-41.

[3] 胡同增,张自云. 实验外科学[M]. 第2版. 北京:人民卫生出版社, 2000: 287-289.

[4] 刘 艳,吴伟康,杨成梯,等. 从氧自由基、一氧化氮探讨四逆汤抗急性失血性休克的肝脏机制[J]. 中国病理生理杂志, 2003, 19(6): 810-814.

[5] 马宝玺,崔金山,柏 松,等. 丙烯腈对男工脂质过氧化作用研究[J]. 中国工业医学杂志, 2003, 16(1): 17-19.

[6] ARDELT B K, BOROWITZ J L, MADUH E U, *et al*. Cyanide-induced lipid peroxidation in different organs: subcellular distribution and hydroperoxide generation in neuronal cells[J]. Toxicology, 1994, 89(2): 127-137.

[7] CUZZOCREA S, RILEY D P, CAPUTI A P, *et al*. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury[J]. Pharmacol Rev, 2001, 53(1): 135-159.

[8] 梁 敏,庞学雷,魏小斌,等. 美蓝对静滴普鲁卡因致红细胞过氧化损伤影响的临床观察[J]. 中国急救医学, 2002, 22(1): 13-15.

[9] 罗成基,欧阳子倩. 核、化学武器损伤防治学[M]. 北京:人民军医出版社, 1994: 154-165.

(编辑 栾 嘉)