低温和氰化钠对家兔心肌酶含量的影响

吴丽珍[1,2],雷 艳[1,3],蔡 颖[1],董兆君[1] (1. 第三军医大学军事预防医学院毒理学研究所,重庆 400038; 2. 云南省中西医结合医院超声科,云南 昆明 650224;3. 第三军医大学基础部外科应用解剖与手术学教研室,重庆 400038)

[摘 要] **目的** 探讨氰中毒和低温暴露对家兔心脏功能的影响。**方法** 将 25 只家兔随机分为 5 组,20 ℃组、2 ℃组、-20 ℃组、2 ℃氰中毒组、-20 ℃氰中毒组,每组 5 只。动物经腹腔注射麻醉后行左侧颈总动脉插管术,按分组分别置于 20 ℃室温、2 ℃和 -20 ℃冰柜中。中毒组于置冰柜 60 min 后腹腔注射 NaCN 2.0 mg/kg。各组在置于实验温度后 0、30、60、90、120 min 时间点经动脉插管采血并分离血浆,测定门冬氨酸氨基转移酶(AST)、肌酸激酶(CK)及肌酸激酶同工酶(CK-MB)、乳酸脱氢酶(LDH)和 α-羟丁酸脱氢酶(α-HBDH)的含量。**结果** 低温暴露组动物 AST、CK、CK-MB、LDH 和 α-HBDH 的含量均呈升高趋势,低温复合氰中毒组的各项指标均明显高于实验初期($P<0.05$),也明显高于同时相室温组($P<0.05$)。**结论** 急性低温暴露将导致家兔心肌酶含量显著升高,氰化钠中毒可增强这种作用效果。

[关键词] 低温环境;氰化钠;心肌酶

[中图分类号] R318.52;R827.17 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2012)06-0610-03

Effect of NaCN intoxication and hypothermal exposure on rabbit myocardial enzymes

WU Li-zhen, LEI Yan, CAI Ying, DONG Zhao-jun (Institute of Toxicology Research, College of military preventive medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of NaCN intoxication and hypothermal exposure on myocardial enzymes. **Methods** 25 rabbits were randomly divided into 5 groups: 20 ℃ group, 2 ℃ group, -20 ℃ group, 2 ℃ and NaCN intoxication group and -20℃ and NaCN intoxication group. The animals were anesthezed and performed with a cannulate catheterize on the left carotid artery. Then the animals were put into the experimental chambers for thermal exposure in 20 ℃, 2 ℃ and -20 ℃. 60 min later, they were injected with NaCN at the dose of 2 mg/kg. The blood samples were collected at time points of 0, 30, 60, 90, 120 min, respectively. The content of aspartate aminotransferase (AST), creatine kinase (CK) and its isoenzyme (CK-MB), lactic dehydrogenase (LDH) and a-hydroxybutyrate dehydrogenase (a-HBDH) in the blood plasma were determined biochemically. **Results** The content of AST, CK, CK-MB, LDH and α-HBDH of hypothermal exposure group trended higher. All the five parameters measured were significantly increased campared with early experiment and the room temperature group ($P<0.05$). **Conclusion** Acute hypothermal exposure could obviously increase the myocardial enzyme contents, which is enhanced by sodium cyanide intoxication.

Keywords: low temperature environment; sodium cyanide; myocardial enzyme

氰化物泛指分子中含有氰根(CN^-)的化合物,包括氢氰酸(HCN)、氰化钠(NaCN)、氰化钾(KCN)等。此类化合物在冶金、农业、制药和军事等领域广泛应用。因此,氰中毒在平时和战时均有可能发生。氰中毒时心脏功能将受到严重的影响,而低温环境亦可引起心血管系统的损害[1-3]。若在低温环境下遭受 NaCN 中毒,两种不同机制的致伤因素同时作用于机体,心脏功能将会如何变化尚未有确切报道,其防护措施也亟待进一步研究。为此,本实验采用低温环境复合氰中毒的动物模型,观察低温和氰中毒两种因素对家兔动脉血浆心肌酶含量的影响,以期为低温环境下氰中毒对心脏的致伤特点及其机制研究提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 试剂和仪器

NaCN 购自美国 Fluka 公司,纯度大于 98%,临用前新鲜配制,其他试剂均为国产分析纯。日立 7020 型全自动生化分析仪为 HITACHI 公司产品。

1.2 实验动物及分组

普通级日本大耳白兔 25 只,由第三军医大学实验动物中心提供,雌雄不限,体质量(2.0 ± 0.2)kg,按随机数字表法将其分为 5 组,即 20 ℃组、2 ℃组、-20 ℃组、2 ℃氰中毒组、-20 ℃氰中毒组,每组各 5 只。

[基金项目] 军队"十一五"医学科研基金攻关项目(06G077)

[收稿日期] 2012-07-16 [修回日期] 2012-07-26

1.3 实验方法

采用腹腔注射戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉后行左侧颈总动脉插管术。将导管与三通管和 20 mL 注射器相连接,并经导管注入 0.1% 肝素钠溶液(1 mL/kg)。手术后,20 ℃组置于普通实验室内,使用空调将室温控制在 20 ℃;低温组置于冰柜中,使温度分别控制在 2 ℃、-20 ℃;中毒组于置冰柜后 60 min 时予腹腔一次性注射 NaCN 2.0 mg/kg。各组自置于实验温度后开始计时,于第 0、30、60、90、120 min 时间点从左侧颈总动脉抽取动脉血 5 mL,离心分离动脉血血浆(4 ℃,2 000 r/min,离心 10 min)。测量各组各时相点的血浆门冬氨酸氨基转移酶(AST)、磷酸肌酸激酶(CK)、磷酸肌酶激酶同工酶(CK-MB)、乳酸脱氢酶(LDH)、α-羟丁酸脱氢酶(α-HBDH)含量。

1.4 统计学处理

各指标测定值用($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 17.0 统计软件进行方差分析,$P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2 ℃组、-20 ℃组、2 ℃氰中毒组、-20 ℃氰中毒组的 AST、CK、CK-MB、LDH、α-HBDH 含量均呈现逐渐升高趋势。2 ℃组、-20 ℃氰中毒组的 5 项指标含量在实验后期均明显高于对照组($P < 0.05$),-20 ℃组、2 ℃氰中毒组的 CK-MB、LDH 含量在实验后期也明显高于对照组($P < 0.05$)。2 ℃组、-20 ℃组、2 ℃氰中毒组、-20 ℃氰中毒组的 AST、CK 含量在实验后期均明显高于同组 0 min 时间点($P < 0.05$),2 ℃氰中毒组、-20 ℃氰中毒组的 CK-MB、LDH、α-HBDH 含量在实验后期也明显高于同组 0 min 时间点($P < 0.05$)。各组检测指标变化情况见表 1 ~ 表 5。

3 讨论

氰化钠是一种常见的化工原料,氰化钠中毒后将使线粒体电子传递链中断,导致组织缺氧,对机体造成严重的影响。寒冷环境下,人体的心血管系统、免疫系统、神经系统及运动系统功能也都可能遭受一定的损害。有文献报道,冷暴露是部队在寒冷环境中发生冷应激损伤的主要外界诱因,是导致非战斗减员,影响战斗力的重要原因之一[4-5]。我国幅员辽阔,北方许多地区属于高寒地域,冬季气温低,寒冷期长。因此,研究低温环境下氰中毒的伤情特点和防护方法具有重要意义。

表 1 不同时间点各组血浆 AST 含量的变化($\bar{x} \pm s$, $n = 5$, U/L)

组别	0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
20 ℃组	16.00 ± 3.67	15.20 ± 5.63	17.00 ± 3.08	15.40 ± 4.88	21.80 ± 12.74
2 ℃组	29.60 ± 8.02 *	29.40 ± 6.07 *	33.20 ± 4.32 *	36.00 ± 6.44 *	43.20 ± 3.56 #
-20 ℃组	15.80 ± 3.56	18.60 ± 3.21	23.20 ± 4.76 #	27.60 ± 10.85	37.20 ± 12.30 #
2 ℃氰中毒组	21.00 ± 5.70	21.00 ± 5.70	25.00 ± 6.20	28.20 ± 7.98	33.60 ± 7.27 #
-20 ℃氰中毒组	24.00 ± 13.29	27.20 ± 15.48 *	35.80 ± 18.02 *	57.60 ± 20.16 *#	273.40 ± 84.90 *#

*:与同时相 20 ℃组比较,$P < 0.05$;#:与同组 0 min 时比较,$P < 0.05$

表 2 不同时间点各组血浆 CK 含量的变化($\bar{x} \pm s$, $n = 5$, U/L)

组别	0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
20 ℃组	865.00 ± 433.78	822.00 ± 393.18	719.40 ± 312.66	702.80 ± 318.21	791.80 ± 182.25
2 ℃组	1 141.80 ± 187.63	1 219.20 ± 47.01	1 612.00 ± 294.65	2 061.80 ± 423.45 *#	2 665.20 ± 616.40 *#
-20 ℃组	480.00 ± 17.70	535.00 ± 41.64	598.20 ± 30.10 #	694.80 ± 72.10 #	767.60 ± 99.95 #
2 ℃氰中毒组	755.60 ± 190.83	875.00 ± 225.12	899.60 ± 161.14 #	1 266.80 ± 273.45 #	1 705.00 ± 681.56 #
-20 ℃氰中毒组	1 739.80 ± 1 483.32	1 806.60 ± 1 479.80 *	1 932.80 ± 1 535.15 *#	2 233.60 ± 1 762.72 *#	2 632.80 ± 2 244.63 *

*:与同时相 20 ℃组比较,$P < 0.05$;#:与同组 0 min 时比较,$P < 0.05$

表 3 不同时间点各组血浆 CK-MB 含量的变化($\bar{x} \pm s$, $n = 5$, U/L)

组别	0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
20 ℃组	521.80 ± 132.92	419.40 ± 152.80	385.60 ± 116.11	329.80 ± 122.89	381.20 ± 100.68
2 ℃组	1 275.00 ± 182.78 *	1 213.80 ± 215.05 *	1 280.40 ± 198.99 *	1 366.20 ± 289.98 *	1 623.80 ± 291.69 *
-20 ℃组	566.80 ± 118.80	566.60 ± 139.70	700.00 ± 199.82 *	838.40 ± 309.77 *	1 010.20 ± 422.44 *
2 ℃氰中毒组	609.80 ± 172.77	753.00 ± 240.57 *	738.80 ± 261.63 *	924.00 ± 370.42 *	1 043.40 ± 349.20 *#
-20 ℃氰中毒组	422.00 ± 119.64	475.20 ± 183.39	627.00 ± 228.11	892.00 ± 206.00 *#	1 059.60 ± 402.71 *#

*:与同时相 20 ℃组比较,$P < 0.05$;#:与同组 0 min 时比较,$P < 0.05$

表 4 不同时间点各组血浆 LDH 含量的变化($\bar{x} \pm s$, $n=5$, U/L)

组别	0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
20 ℃组	101.60 ± 6.58	91.20 ± 17.09	77.80 ± 10.21	78.60 ± 15.57	95.00 ± 42.03
2 ℃组	192.20 ± 42.47 *	188.60 ± 36.56 *	214.80 ± 33.95 *	228.40 ± 41.58 *	271.00 ± 38.27 *#
-20 ℃组	99.80 ± 22.10	120.40 ± 43.80	138.80 ± 30.18 *	169.80 ± 50.94 *	191.20 ± 62.66 *
2 ℃氰中毒组	104.40 ± 11.13	128.40 ± 42.47	122.20 ± 11.90 *	155.00 ± 31.81 *#	194.00 ± 43.46 *#
-20 ℃氰中毒组	101.00 ± 36.30	117.20 ± 41.81	156.40 ± 43.04 *	269.40 ± 73.15 *#	395.40 ± 108.61 *#

*:与同时相 20 ℃组比较,$P<0.05$;#:与同组 0 min 时比较,$P<0.05$

表 5 不同时间点各组血浆 α-HBDH 含量的变化($\bar{x} \pm s$, $n=5$, U/L)

组别	0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
20 ℃组	77.20 ± 13.03	62.60 ± 20.79	66.00 ± 12.98	64.40 ± 13.37	83.40 ± 37.42
2 ℃组	168.40 ± 34.17 *	161.40 ± 39.60 *	190.40 ± 57.65 *	211.80 ± 72.33 *	259.40 ± 87.88 *
-20 ℃组	67.80 ± 14.29	93.40 ± 42.12	99.40 ± 19.17#	104.60 ± 32.38	126.40 ± 59.54
2 ℃氰中毒组	81.20 ± 11.61	99.00 ± 37.30	100.40 ± 18.28	125.00 ± 40.04	176.80 ± 55.30#
-20 ℃氰中毒组	69.40 ± 14.83	87.60 ± 11.46	115.60 ± 6.50 *#	148.40 ± 17.69 *#	222.00 ± 39.34 *#

*:与同时相 20 ℃组比较,$P<0.05$;#:与同组 0 min 时比较,$P<0.05$

国内外关于低温或氰中毒对机体影响的研究已有不少报道,但对于低温环境复合氰化钠中毒时血浆心肌酶水平的变化情况目前尚未见相关报道。低温对机体的损伤可能与自由基氧化损伤有关。冷损伤可诱导细胞凋亡,凋亡细胞普遍存在于整个损伤过程[6]。冷应激时心肌细胞凋亡率显著增加,其增加程度与冷应激强度呈正相关[7]。冷应激导致细胞凋亡时,细胞内活性氧(ROS)升高。ROS 具有很高的生物活性,可与细胞内的生物大分子发生反应,破坏细胞的结构和功能。ROS 对核酸的作用主要是导致碱基修饰、碱基丢失、单链和双链 DNA 断裂、DNA 交联等,最终导致 DNA 降解、细胞凋亡[5,8]。冷应激后心肌细胞内 ROS 含量明显增加,且随着应激强度的增强而增加[7],这可能是导致心肌细胞凋亡的重要机制。NaCN 中毒时,CN^- 在体内能很快与细胞色素氧化酶中的 Fe_3^+ 结合,抑制该酶的活性,使膜酯的过氧化作用增强,抗氧化防护系统被破坏,氧化磷酸化受阻,从而导致组织不能利用氧,呈现中毒性缺氧功能改变[9]。心肌酶为细胞内酶,心肌细胞受损时,细胞中的某些酶可释放入外周血液,引起血浆中 CK、CK-MB 和 LDH 等酶活性不同程度增高。

本实验利用低温环境复合氰中毒的动物模型,观察低温和氰中毒两种致伤因素对家兔动脉血浆心肌酶的影响,结果证实,急性寒冷暴露后家兔 AST、CK、CK-MB、LDH 和 α-HBDH 含量都有明显升高。这一结果为深入研究低温暴露对心脏功能的影响奠定了基础,也为探讨寒冷环境下化学毒剂伤的伤情特点提供了实验依据。本研究同时观察到,低温暴露复合 NaCN 中毒时家兔血浆心肌酶指标的变化比单纯低温暴露时更为明显。综上所述,急性低温暴露和氰化钠中毒均可引起家兔动脉血浆心肌酶含量升高,低温和氰中毒对家兔心脏功能的影响存在一定程度的复合效应,两个致伤因素的联合作用比单独作用更为显著。

[参考文献]

[1] 赛 燕,叶 枫,李云鹏,等. 缺氧复合氰化纳中毒对大鼠脑组织线粒体影响[J]. 中国公共卫生,2009,25(6):706 - 708.

[2] 董兆君. 高原缺氧环境化学毒剂伤的伤情特点[J]. 解放军医学杂志,2008,33(2):123 - 125.

[3] 张晋煜,蔡 颖,唐 禾,等. 缺氧和氰化钠中毒对犬心电信号及血清 AST、ALT 的影响[J]. 局解手术学杂志,2011,20(3):263 - 265.

[4] Moran DS, Heled Y, Shani Y, et al. Hypothermia and local cold injuries in combat and non-combat situations-the Israeli experience. Aviat Space Environ Med, 2003, 74(3): 281 - 284.

[5] 张 锴,李积胜. 寒冷环境对机体的影响及其机制[J]. 国外医学卫生学分册,2006,33(4):212 - 215.

[6] Moseley PL. Exercise, stress, and the immune conversation[J]. Exerc Sport Sci Rev, 2000, 28(3): 128 - 132.

[7] Nair N, Bedwal S, Prasad S, et al. Short-term zinc deficiency in diet induces increased oxidative stress in testes and epididymis of rats[J]. Indian J Exp Biol, 2005, 43(9): 786 - 794.

[8] Ding W, Hudson LG, Liu KJ. Inorganic arsenic compounds cause oxidative damage to DNA and protein by inducing ROS and RNS generation in human keratinocytes[J]. Mol Cell Biochem, 2005, 279(1 - 2): 105 - 112.

[9] 常惠玲. 缺氧缺血性脑病新生儿心肌酶谱变化的意义[J]. 实用儿科临床杂志,2008,23(18):1470 - 1471.

(编辑:左艳芳)