

本文引用: 杨志军, 王耀峰, 文小军. 急性一氧化碳中毒对小鼠心肌酶学的影响[J]. 新乡医学院学报, 2014, 31(1): 29-31.

【基础研究】

## 急性一氧化碳中毒对小鼠心肌酶学的影响

杨志军<sup>1,2</sup>, 王耀峰<sup>1,2</sup>, 文小军<sup>1</sup>

(1. 新乡医学院基础医学院, 河南 新乡 453003; 2. 新乡医学院三全学院, 河南 新乡 453003)

**摘要:** 目的 观察急性一氧化碳中毒(ACMP)后小鼠心肌酶的变化,探讨一氧化碳(CO)的心肌毒性。方法 健康 C57BL/6J 雄性小鼠 40 只,随机分为对照组(腹腔注射空气 80 mL · kg<sup>-1</sup>)、低剂量组(腹腔注射 CO 40 mL · kg<sup>-1</sup>)、中剂量组(腹腔注射 CO 60 mL · kg<sup>-1</sup>)和高剂量组(腹腔注射 CO 80 mL · kg<sup>-1</sup>),每组 10 只。腹腔注射 24 h 后处死小鼠,比色法检测小鼠心肌中 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-三磷酸腺苷(ATP)酶、乳酸脱氢酶(SDH)活性的变化;全自动生化仪检测血清心肌酶变化;心电图机检测小鼠心肌电位变化。结果 与对照组比较,低剂量组小鼠心肌中 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶、SDH 活性升高,而中、高剂量组小鼠心肌中 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶、SDH 活性显著下降;与对照组比较,血清心肌酶水平随染毒剂量增加而升高,其中高剂量组心肌酶水平较对照组显著升高,差异有统计学意义(P < 0.05)。心电图结果显示,与对照组比较,低、中、高剂量组小鼠心率加快,其中高剂量组部分小鼠出现心律失常。结论 ACMP 会导致小鼠心肌酶水平的改变,提示临床上应重视 CO 中毒后的心肌损伤。

**关键词:** 急性一氧化碳中毒; Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-三磷酸腺苷酶; 琥珀酸脱氢酶; 心肌酶; 小鼠

中图分类号: R541.9 文献标志码: A 文章编号: 1004-7239(2014)01-0029-03

### Effect of acute carbon monoxide poisoning on myocardial enzyme in mice

YANG Zhi-jun<sup>1,2</sup>, WANG Yao-feng<sup>1,2</sup>, WEN Xiao-jun<sup>1</sup>

(1. School of Basic Medical Science, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China; 2. Sanquan College, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China)

**Abstract:** **Objective** To observe the changes of myocardial enzyme after acute carbon monoxide poisoning(ACMP) in mice and explore the cardiac toxicity of carbon monoxide(CO). **Methods** Forty healthy C57BL/6J male mice were randomly divided into control group(80 mL · kg<sup>-1</sup> air, intraperitoneal injection), low dose group(40 mL · kg<sup>-1</sup> CO, intraperitoneal injection), medium dose group(60 mL · kg<sup>-1</sup> CO, intraperitoneal injection) and high dose group(80 mL · kg<sup>-1</sup> CO, intraperitoneal injection), with 10 mice in each group. The mice were killed 24 h after intraperitoneal injection, myocardial Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-adenosine triphosphatase(ATPase) and succinate dehydrogenase(SDH) were detected by colorimetry. Myocardial enzymes in serum were detected by automatic biochemical analyzer. The potential of mouse myocardium was checked by electrocardiogram.

**Results** Myocardial Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase and SDH activity were increased in low-dose group while decreased in medium dose group and high dose group compared with those in the control group. Compared with the control group, myocardial enzymes were increasing as the dose of CO increasing in low dose group, medium dose group and high dose group, and there was significant difference of myocardial enzymes between high-dose group and control group(P < 0.05). Heart rates of mice in low dose group, medium dose group and high dose group increased compared with the control group based on electrocardiogram, in which there were arrhythmia in high-dose group. **Conclusion** The myocardial enzymes were changing after ACMP in mice, which suggesting that cardiac injury should be considered after CO poisoning in clinic.

**Key words:** acute carbon monoxide poisoning; Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase; succinate dehydrogenase; myocardial enzymes; mouse

急性一氧化碳中毒(acute carbon monoxide poisoning, ACMP)是最常见的生活性中毒和职业性中

毒之一,在许多国家已经成为重要的发病和死亡原因,其病死率居各种中毒之首<sup>[1]</sup>。ACMP 是吸入过多一氧化碳(carbon monoxide, CO)引起的全身性中毒疾病,严重者可危及生命。ACMP 可累及全身各个系统,尤其是神经系统最为敏感,也最受关注。临床对 ACMP 引起的心肌损害已有认识,但有关 ACMP 导致心肌病变的研究和报道并不多。ACMP 临床症状隐匿,若不采取有效措施常出现严重的并发

DOI: 10.7683/xyxyxb.2014.01.008

收稿日期: 2013-10-21

基金项目: 河南省高等学校青年骨干教师资助计划(编号: 2009GGJS-451); 河南省教育厅自然科学研究计划项目(编号: 2009A310008); 河南省教育厅科学技术研究重点项目(编号: 13B150216); 新乡医学院高学历人才科研启动基金项目

作者简介: 杨志军(1972-),男,河南南乐人,博士,副教授,主要从事毒物分析及毒理学研究。

症。本研究通过观察小鼠 ACMP 后特异性心肌酶和心电图的改变,探讨 CO 对心肌的毒性。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物及分组** 7~8 周龄无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 级 C57BL/6J 雄性小鼠 40 只,购自苏州爱麦科技有限公司,分笼饲养,环境温度(21±5)℃,相对湿度 50%~75%,光照和黑暗各 12 h,自由饮水及获取食物。将小鼠随机分为对照组、低剂量组、中剂量组和高剂量组,每组 10 只。

**1.2 主要试剂与仪器** 超微量  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 酶、琥珀酸脱氢酶 (succinate dehydrogenase, SDH) 检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所;二价铜离子的硫酸铜 (bicinchoninic acid, BCA) 测定试剂盒购自北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司;高纯度 CO 气体购自济南德洋特种气体有限公司,其他均为市售国产分析纯级产品。Universal 320R 低温高速离心机, AU640 全自动生化分析仪, IKA T10 匀浆器, UVmi-ni-1240 分光光度计。

**1.3 ACMP 模型制备及检测方法** 实验采取腹腔注射 CO 急性染毒<sup>[2]</sup>。对照组、低剂量组、中剂量组和高剂量组小鼠分别腹腔注射 80 mL·kg<sup>-1</sup> 空气、40 mL·kg<sup>-1</sup> CO、60 mL·kg<sup>-1</sup> CO 和 80 mL·kg<sup>-1</sup> CO。各组小鼠 CO 处理 30 min 后,用体积分数 10% 的水合氯醛按 4 mL·kg<sup>-1</sup> 腹腔注射麻醉,10 min 后开始监测心电图。心脏匀浆液的制备: ACMP 小鼠造模 24 h 后,引颈处死,迅速取出心脏,去除血管及心房,仅留心室,用预冷的生理盐水冲净血迹后准确测质量,用眼科小剪剪碎,然后加入预冷的生理盐水 (生理盐水的体积总量为组织块重量的 9 倍),用内切式组织匀浆器,以 10 000 r·min<sup>-1</sup> 匀浆 3 次,每次 10 s,将制备好的质量分数为 10% 的匀浆用低温离心机 2 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 5 min,留取上清弃沉淀。用 AU640 全自动生化分析仪测定心肌酶 [天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST), 肌酸激酶 (creatine kinase, CK), 肌酸激酶同工酶 (isoenzyme

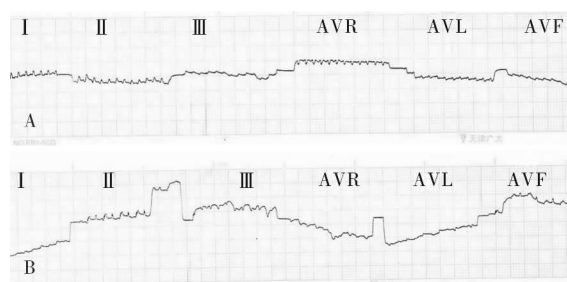
of creatine kinase-MB, CK-MB), 乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH)] 水平;  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATP 酶和 SDH 酶活性的检测按照试剂盒说明书进行。

**1.4 统计学处理** 应用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析,实验结果用均数±标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,多组间比较采用方差分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组小鼠一般情况** 腹腔注射 CO 后,低、中剂量组小鼠先出现精神亢奋状态,随后出现乏力、活动减少、呼吸急促,高剂量组小鼠除上述症状外,口唇、爪子呈现鲜红色,对照组小鼠则无异常表现。

**2.2 各组小鼠心电图结果比较** ACMP 30 min 后,低、中、高剂量组小鼠心率较对照组均有不同程度加快,高剂量组部分小鼠出现心律失常 (图 1)。



A: 对照组; B: 高剂量组。

图 1 对照组和高剂量组小鼠心电图比较

Fig. 1 Comparison of electrocardiogram of the mice between control group and high dose group

**2.3 各组小鼠心肌酶比较** 结果见表 1。在 ACMP 24 h,与对照组比较,低剂量组  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATP 酶和 SDH 活性增加,但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),中、高剂量组  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATP 酶和 SDH 活性降低,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ );随着 CO 染毒剂量的增加,心肌酶 AST、LDH、CK 及 CK-MB 水平增高,与对照组比较,高剂量组心肌酶 AST、LDH、CK 及 CK-MB 水平显著升高,差异有统计学意义 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ );中剂量组仅 CK 较对照组显著升高,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

表 1 各组小鼠心肌酶比较

Tab. 1 Comparison of the myocardial enzymes levels of the mice among different groups

组别	n	$\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATP 酶/ (U·L <sup>-1</sup> )	SDH/ (U·L <sup>-1</sup> )	AST/ (U·L <sup>-1</sup> )	LDH/ (U·L <sup>-1</sup> )	CK/ (U·L <sup>-1</sup> )	CK-MB/ (U·L <sup>-1</sup> )
对照组	10	4.68 ± 1.21	41.10 ± 2.14	26.3 ± 7.9	186.0 ± 29.2	87.0 ± 27.5	13.8 ± 6.5
低剂量组	10	5.30 ± 1.34	42.33 ± 6.04	27.5 ± 6.2	201.0 ± 30.4	93.0 ± 25.5	17.4 ± 7.3
中剂量组	10	3.42 ± 1.12	38.42 ± 5.04	32.5 ± 8.7	224.0 ± 24.2	143.0 ± 24.9 <sup>a</sup>	27.6 ± 4.8
高剂量组	10	2.19 ± 1.23 <sup>a</sup>	30.50 ± 6.00 <sup>a</sup>	62.8 ± 7.6 <sup>b</sup>	295.0 ± 36.5 <sup>a</sup>	176.0 ± 29.7 <sup>a</sup>	46.6 ± 12.3 <sup>b</sup>

注:与对照组比较<sup>a</sup> $P < 0.05$ ,<sup>b</sup> $P < 0.01$ 。

### 3 讨论

既往普遍认为 CO 中毒是由于含碳物质燃烧不完全时,燃烧产物经呼吸道吸入,迅速弥散穿透肺泡、毛细血管,其中大部分与血红蛋白进行可逆性结合,形成碳氧血红蛋白,失去携氧能力,导致低氧血症和组织缺氧,从而导致各个系统损伤。但近年研究发现,CO 可直接引起细胞缺氧,直接弥散入线粒体,损害线粒体功能<sup>[3]</sup>。

SDH 是线粒体内膜的结合酶,是连接氧化磷酸化与电子传递的枢纽之一,为真核细胞线粒体和多种原核细胞需氧和产能的呼吸链提供电子,为线粒体的一种标志酶。本研究结果显示,小鼠 ACMP 后心肌线粒体 SDH 活性降低,可能由于组织缺氧继而导致心肌线粒体损伤;或是由于 CO 可直接与心肌线粒体中 SDH 结合,损伤其活性,具体机制有待进一步研究。ACMP 后低、中、高剂量组小鼠心率较对照组均有不同程度加快,与机体缺氧、心率代偿性增快有关。

$\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶由不连续的  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  离子泵组成,在维持细胞的生理活动、细胞正常生理代谢及细胞内外离子平衡中起重要作用,是心肌细胞生物电产生的基础。本研究发现,小鼠 ACMP 后心肌组织中  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶活性在低剂量组升高,而高剂量组则降低,可能原因为低剂量组由于缺氧而产生  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶的活化,是一种代偿效应,而高剂量组  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶活性降低,导致细胞内高  $\text{Na}^+$ ,细胞外高  $\text{K}^+$ ,容易诱发心律失常,并且增加  $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$  交换,使细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度升高,心肌细胞  $\text{Ca}^{2+}$  超载,从而导致心肌细胞电位异常变化及细胞凋亡。

正常情况下,AST、CK、CK-MB 及 LDH 主要分

布在组织细胞内,尤其在心肌细胞中最多,临床常称为心肌酶谱。当血液中碳氧血红蛋白水平超过一定量时,使心肌细胞水肿、坏死,大量心肌酶释放入血,其增高的程度可反映心肌损害的程度,常被认为是心肌损害的特异性指标<sup>[4]</sup>。本研究结果显示,小鼠 ACMP 后,心肌酶 AST、CK、CK-MB 及 LDH 水平均有不同程度升高,与对照组比较,高剂量组升高较明显,其中 CK 在中剂量组出现升高,CK 为诊断心肌损伤的特异性酶,提示心肌细胞有不同程度损伤。

ACMP 导致心肌损害临床上已有报道<sup>[5]</sup>,但由于各种因素限制,报道不一。多数研究认为,CO 中毒心肌损伤为机体缺氧所致。有研究发现 CO 为人体内重要的气体介质<sup>[6]</sup>,是否会通过其他途径导致心脏损伤还有待进一步研究。本研究结果显示,ACMP 会导致小鼠心肌酶的改变,提示临床上应重视 CO 中毒后的心肌损伤。

#### 参考文献:

- [1] 勾硕. 职业性一氧化碳中毒机理及防治措施[J]. 职业卫生与应急救援, 2011, 29(1): 49-50.
- [2] 付守芝, 刘勇, 杨建业, 等. 腹腔注射法建立一氧化碳中毒迟发性脑病大鼠模型[J]. 中国急救医学, 2007, 27(11): 996-998.
- [3] Queiroga C S, Almeida A S, Vieira H L. Carbon monoxide targeting mitochondria[J]. *Biochem Res Int*, 2012, 2012: 749845.
- [4] 李玉英. 血清肌钙蛋白及心肌酶谱在急性一氧化碳中毒心肌损伤中的临床意义[J]. 山东医学高等专科学校学报, 2013, 35(1): 34-36.
- [5] 谢英新, 张永花. 急性一氧化碳中毒 132 例的临床观察与分析[J]. 中国民康医学, 2011, 23(4): 417.
- [6] 包巍, 杨建华, 郭继强, 等. 脑缺血再灌注损伤大鼠全血内源性一氧化碳含量及海马组织中血红素加氧酶 1 活性的变化[J]. 新乡医学院学报, 2010, 27(5): 441-443.

( 本文编辑: 王 燕 英文编辑: 王 燕)