

正丁酸钠对急性 CO 中毒家兔血液循环的影响

王慧峰^{1,2}, 何先弟¹

[摘要]目的: 观察正丁酸钠对急性 CO 中毒后家兔血液循环的影响, 探讨其脑保护的可能作用机制。方法: 取 24 只普通级健康家兔, 随机分为正常对照组、急性 CO 中毒组(模型组)和急性 CO 中毒正丁酸钠预处理组(干预组), 每组 8 只。家兔腹腔注入高纯 CO 气体制备急性 CO 中毒模型。干预组在家兔造模前 10 min 经耳缘静脉注射 500 mg/kg 正丁酸钠。造模后第 7 天检测血液流变学及血小板聚集率指标。结果: 模型组血液流变学及血小板聚集率各指标较对照组差异均有统计学意义($P < 0.01$), 干预组血液流变学及血小板聚集率各指标均较模型组下降($P < 0.05 \sim P < 0.01$), 而干预组较对照组差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论: 正丁酸钠可明显改善急性 CO 中毒引起的血液循环障碍, 其作用机制极可能是通过抑制核因子- κ B 信号转导途径发挥抗炎效应, 阻断炎症-凝血网络, 从而改善血液循环而发挥脑保护作用。

[关键词] 一氧化碳中毒; 正丁酸钠; 血液流变学; 血小板聚集率

[中国图书资料分类法分类号] R 595.1

[文献标识码] A

Effect of sodium butyrate on blood circulation after acute carbon monoxide poisoning in rabbits

WANG Hui-feng^{1,2}, HE Xian-di¹

(1. Department of ICU, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233004;

2. Department of ICU, The First Affiliated of Henan University, Kaifeng Henan 475001, China)

[Abstract] Objective: To observe the effect of sodium butyrate on blood circulation after acute carbon monoxide poisoning in rabbits, and explore the possible mechanism of brain protection. **Methods:** Twenty-four healthy rabbits were randomly divided into control group, acute CO poisoning group (model group), and sodium butyrate pretreatment group (intervention group) 8 in each group. The high purity CO gas was injected intraperitoneally in rabbits to prepare the model of acute CO poisoning. Sodium butyrate was given by ear vein by 500 mg/kg to intervention group before preparing model ten minutes 7 days after modeled, hemorheology and platelet aggregation rate were tested. **Results:** After acute CO poisoning, all indicators of hemorheology and platelet aggregation of model group compared with control group significantly different ($P < 0.01$), intervention group decreased compared with model group ($P < 0.05 \sim P < 0.01$), while there had no difference statistically between sodium butyrate pretreatment group and control group ($P > 0.05$). **Conclusions:** Sodium butyrate can ameliorate blood circulation disorder significantly which caused by acute CO poisoning, its possible mechanism was through inhibition of nuclear factor- κ B signal transduction pathway to play an anti-inflammatory effect, blocked the inflammation-coagulation network, thus played brain protection function through improvement of blood circulation.

[Key words] carbon monoxide poisoning; sodium butyrate; hemorheology; platelet aggregation rate

临床上, 急性 CO 中毒患者经及时救治后, 多数可以痊愈, 但少数患者经历数日或数周的“假愈期”后仍再次出现以急性痴呆为主要表现的神经精神功能紊乱, 称为急性 CO 中毒迟发性脑病 (delayed neuropsychological sequelae after acute CO poisoning, DNS) [1]。多位学者 [2-4] 通过复制不同动物 DNS 模型均观察到急性 CO 中毒后可引起明显的脑循环障

碍, 其可能是促使迟发性脑病形成的重要原因之一。正丁酸钠是天然存在于动物脂肪中的一种短链 4 碳脂肪酸盐, 具有抗感染、抗肿瘤、调节免疫等多重功效。Huuskonen 等 [5] 报道正丁酸钠可明显抑制内毒素诱导小胶质细胞的炎症。本研究拟通过正丁酸钠对急性 CO 中毒后家兔血液流变学及血小板聚集的影响, 探讨其脑保护的可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物分组及给药 24 只普通级健康家兔, 雌雄各半, 体重 (2.5 ± 0.5) kg, 由蚌埠医学院动物实验中心提供。随机分为正常对照组、急性 CO 中毒组(模型组)和急性 CO 中毒正丁酸钠预处理组(干预组), 每组 8 只。干预组在家兔造模前 10 min 经

[收稿日期] 2011-05-16

[作者单位] 1. 蚌埠医学院第一附属医院 ICU, 安徽 蚌埠 233004;

2. 河南大学第一附属医院 ICU, 河南 开封 475001

[作者简介] 王慧峰 (1978 -), 女, 回族, 硕士研究生, 主治医师。

[通讯作者] 何先弟, 硕士研究生导师, 主任医师。E-mail: bbyfhyxd@

sina.com

耳缘静脉以 500 mg/kg 给予正丁酸钠(购自 Sigma 公司)。

1.2 模型复制 参照文献[6],略加改动制备急性 CO 中毒模型:实验动物造模前禁食 12 h,禁水 4 h,仰卧固定后不麻醉状态下经腹腔注入高纯 CO 气体(纯度 $\geq 99.9\%$,购自南京特种气体厂),首次剂量为 200 ml/kg,间隔 6 h 追加 3 次,每次追加 100 ml/kg,同时观察染毒动物症状及体征。对照组按照同样方法腹腔注入等量空气。

1.3 标本采集及处理 造模后第 7 天,无麻醉状态下直接采家兔心血 8 ml,其中 3 ml 以 3.28% 枸橼酸钠(1:9)抗凝用于血小板聚集率测定;0.5 ml EDTA-2K(1:9)抗凝全血用于红细胞比容(Hct)测定;余下 4.5 ml 以 3.8% 枸橼酸钠(1:9)抗凝用于血液黏度及血浆纤维蛋白原(FIB)测定。所有指标 2 h 内检测完毕。

1.4 方法检测 (1) Hct 测定。采用 MEK-5216K 血细胞分析仪(日本光电工业株式会社生产)测定。(2) 血液黏度测定。37℃恒温条件下,取 1.2 ml 经 3.8% 枸橼酸钠(1:9)抗凝的全血,采用 NXE-1 型锥板式黏度计(成都仪器厂生产)测定高(100 s^{-1})、中(50 s^{-1})、低(10 s^{-1}) 3 个切变率下的全血黏度,余 3.3 ml 抗凝血以 3 500 r/min 离心 15 min,分离出的血浆测定血浆黏度及血浆 FIB。应用 MC-2000 型双

通道血凝仪(德国美创生产)测定血浆 FIB 含量(检测试剂盒购自上海太阳生物技术有限公司)。(3) 血小板聚集率测定。取 3 ml 经 3.28% 枸橼酸钠(1:9)抗凝的血液,以 1 000 r/min 离心 10 min,取上层富含血小板血浆(PRP),剩余再以 3 500 r/min 离心 15 min,该上层血浆即为贫血小板血浆(PPP),以 PPP 调整 PRP 中血小板含量至(300 \pm 30) $\times 10^9/L$ 。应用 PA100 型血小板聚集仪(重庆天海医疗设备有限公司),以浓度 40 $\mu g/ml$ 的 ADP(购自 Sigma 公司)诱导进行血小板聚集测定。

1.5 统计分析 采用方差分析和 q 检验。

2 结果

2.1 家兔染毒后一般症状 家兔腹腔给予高纯 CO 气体 10~15 min 后,开始出现呼吸频率加快,呼吸幅度明显增大,20 min 后逐渐进入昏迷状态。染毒结束 3 h 大部分家兔开始逐渐清醒,少部分家兔 6 h 仍处于昏迷状态。结果染毒组染毒结束后 6~12 h 死亡 2 只,干预组及对照组无死亡。

2.2 3 组家兔血液流变学的变化 模型组家兔高、中、低 3 个切变率下的全血黏度、血浆黏度、FIB 及 Hct 较对照组均明显升高($P < 0.01$);干预组指标较模型组均明显下降($P < 0.01$),与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)(见表 1)。

表 1 3 组家兔血液流变学指标的比较($\bar{x} \pm s$)

分组	n	全血黏度(mPa·s)			血浆黏度(mPa·s)	FIB(g/L)	Hct(%)
		低切(10 s^{-1})	中切(50 s^{-1})	高切(100 s^{-1})			
对照组	8	8.39 \pm 0.36	5.52 \pm 0.40	4.24 \pm 0.26	1.47 \pm 0.11	3.66 \pm 0.17	36.69 \pm 0.63
模型组	6	13.37 \pm 0.80**	6.88 \pm 0.62**	5.29 \pm 0.27**	1.89 \pm 0.19**	4.47 \pm 0.32**	42.32 \pm 1.71**
干预组	8	8.89 \pm 0.38 $\Delta\Delta$	5.86 \pm 0.33 $\Delta\Delta$	4.40 \pm 0.41 $\Delta\Delta$	1.56 \pm 0.09 $\Delta\Delta$	3.84 \pm 0.18 $\Delta\Delta$	37.41 \pm 0.47 $\Delta\Delta$
F	—	183.54	16.51	20.01	19.64	24.42	61.62
P	—	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
MS _{组内}	—	0.269	0.200	0.106	0.017	0.049	0.999

q 检验:与对照组比较** $P < 0.01$;与模型组比较 $\Delta\Delta P < 0.01$

2.3 3 组家兔血小板聚集率的变化 模型组家兔血小板 1 min、3 min、5 min 聚集率较对照组明显升高;干预组血小板 1 min 聚集率较模型组下降($P < 0.05$) 3 min、5 min 聚集率明显下降($P < 0.01$),而较对照组差异无统计学意义(见表 2)。

3 讨论

大量研究发现,急性 CO 中毒后第 7 天左右染毒动物血液呈严重高凝状态,血液循环发生障碍。本实验造模后第 7 天取血检测血液流变学指标,结

表 2 各组家兔血小板聚集率的比较($\bar{x} \pm s$)

分组	n	血小板聚集率(%)		
		1 min	3 min	5 min
对照组	8	34.75 \pm 5.20	58.13 \pm 4.49	53.88 \pm 4.82
模型组	6	43.33 \pm 5.72**	71.00 \pm 5.33**	68.50 \pm 3.83**
干预组	8	37.75 \pm 3.41 Δ	61.63 \pm 2.72 $\Delta\Delta$	56.63 \pm 2.62 $\Delta\Delta$
F	—	5.58	16.72	26.62
P	—	<0.05	<0.01	<0.01
MS _{组内}	—	22.860	17.618	14.961

q 检验:与对照组比较** $P < 0.01$;与模型组比较 $\Delta P < 0.01$; $\Delta\Delta P < 0.05$

果证实模型组血液状态异常改变与文献^[2-4]报道基本一致。全血黏度与血浆黏度均增高,尤其低切变率下的全血黏度改变非常显著。高切变率主要反映红细胞变形性能力,低切变率主要反映红细胞聚集性。红细胞变形性能力下降和聚集性增强,促使血液黏滞性增加。由于 CO 与 Hb 的亲合力比 O₂ 与 Hb 的亲合力高 210 倍,当吸入一定量 CO 时,不仅使 Hb 失去携氧能力,而且 Hb 与 O₂ 结合后,O₂ 不易被释放,从而加重组织缺氧。机体缺氧造成 Hct 代偿性升高,从而血液黏度进一步增大。同时观察到血小板聚集率及 FIB 含量增高,容易形成微血栓。在以上因素作用下促使血液流动性下降,黏滞性增加,最终导致急性 CO 中毒后脑循环血流障碍,这可能是诱导 DNS 发生的重要因素。但如从单一血液状态改变,并不能很好解释与迟发性脑病发生间的关系。血液状态的异常改变可能是多种其他因素的共同结果,是该病发生、发展的一种宏观的综合表现,亦可能是促使该病发生的重要因素。

Thom 等^[7]研究发现,在染毒大鼠脑内检测到巨噬细胞、CD4⁺ 淋巴细胞以及大量活化的小胶质细胞,活化的小胶质细胞攻击抗原性改变的髓鞘碱性蛋白,从而导致了迟发性神经元的损伤。国内学者^[8-9]也分别从局部和系统细胞免疫反应角度进一步证实免疫学损伤机制参与了 DNS 的发病过程。另外,从炎症-凝血网络与血栓形成的关系也可看出,免疫炎症损伤还可导致血液出现高凝状态。由此看来,免疫炎症损伤可能是 DNS 的主要发病机制之一。核因子 κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B) 是免疫应答、炎症反应过程中的关键转录因子,持续激活的 NF- κ B 可导致神经元凋亡^[10]。Huuskonen 等^[5]研究也证实正丁酸钠可通过抑制 NF- κ B 信号转导途径,明显抑制内毒素诱导的小胶质细胞炎症。本实验中干预组的脑循环学各指标较模型组均有明显改善,但进一步将其体外干预血小板聚集实验时,却反而使血小板聚集率增大,得出与体内实验相矛盾的结论。由此推测,正丁酸钠对家兔脑循环改善不是药物直接作用结果,很可能通过抑制 NF- κ B 信号转

导途径发挥抗炎效应,阻断了炎症-凝血网络,从而改善脑循环;同时阻断级联炎症后,还可避免对迟发性神经元的损伤。由以上可说明,抗感染治疗可能较单一抗凝治疗更行之有效。

本研究结果表明,正丁酸钠可明显改善急性 CO 中毒引起的脑循环障碍。虽其对脑保护的确切作用机制仍有待于后续实验进一步研究证实,但本次实验结果不仅为正丁酸钠的临床早期应用提供了一定的理论依据,而且为临床防治迟发性脑病提出了从抗炎角度着手这一更为合理的新见解和新措施。

[参 考 文 献]

- [1] Piantadosi CA. Carbon monoxide poisoning. Undersea & Hyperbaric Medicine [J]. Pro Quest Medical Library, 2004, 31 (1): 167-177.
- [2] 崔书杰,赵金恒,王耀宏. 急性一氧化碳中毒大鼠脑血液流变学变化及其意义探讨 [J]. 中国工业医学杂志, 2002, 15(6): 321-324.
- [3] 温韬,赵金恒,李丹,等. 急性 CO 中毒家兔血液流变学变化及其意义探讨 [J]. 中国工业医学杂志, 2003, 16(4): 195-198.
- [4] 王喜福,王现伟,关里,等. 急性一氧化碳中毒家兔脑血流变学和凝血功能的变化 [J]. 中国工业医学杂志, 2008, 21(6): 347-350.
- [5] Huuskonen J, Suuronen T, Nuutinen T, et al. Regulation of microglial inflammatory response by sodium butyrate and short-chain fatty acids [J]. Br J Pharmacol, 2004, 141(5): 874-880.
- [6] 温韬,赵金恒. 一种制备急性 CO 中毒迟发性脑病动物模型的新方法 [J]. 中国工业医学杂志, 2003, 16(3): 129-132.
- [7] Thom SR, Bhopale VM, Fisher D, et al. Delayed neuropathology after carbon monoxide poisoning is immune-mediated [J]. Proc Nat Acad Sci U S A, 2004, 101(37): 13660-13665.
- [8] 赵天智,常耀明,李金声,等. 急性 CO 中毒大鼠脑内的病理改变及白细胞介素-1 β 、 γ -干扰素表达的免疫组化研究 [J]. 中华航海医学与高气压医学杂志, 2006, 13(1): 26-29.
- [9] 吕晓宁,李金声,常耀明,等. 急性 CO 中毒大鼠脑内 VCAM-1 表达 CD4⁺ T 淋巴细胞浸润规律的研究及高压氧干预后的变化 [J]. 中国急救医学, 2007, 27(3): 225-228.
- [10] Aoki E, Yano R, Yokoyama H, et al. Role of nuclear transcription factor κ B for MPTP(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine)-induced apoptosis in nigral neurons of mice [J]. Exp Mol Pathol, 2009, 86(1): 57-64.

(本文编辑 章新生)