

急性低温暴露对家兔心肝肾功能的影响

吴丽珍^{1, 3)}, 杜兴华^{2, 3)}, 雷艳^{3, 4)}, 蔡颖³⁾, 董兆君³⁾

(1) 云南省中西医结合医院功能科; 2) 检验科, 云南昆明 650224; 3) 第三军医大学军事预防医学
院毒理学研究所; 4) 基础部外科应用解剖与手术学教研室, 重庆 400038)

[摘要] **目的** 探讨急性低温暴露对家兔心、肝、肾功能的影响. **方法** 15 只家兔随机分为 3 组, 20℃组、-20℃组、2℃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℃实验冰柜中. 各组在置于实验温度后 0、30、60、90、120 min 时间点经颈动脉插管采血并分离血浆, 采用生化方法测定肝功能指标包括门冬氨酸氨基转移酶 (AST)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、碱性磷酸酶 (ALP)、L-γ 谷氨酰基转移酶 (GGT); 肾功能指标尿素 (BU)、肌酐 (CREA)、尿酸 (UA); 心肌酶谱指标包括门冬氨酸氨基转移酶 (AST)、肌酸激酶 (CK) 及同工酶 (CKMB)、乳酸脱氢酶 (LDH) 和 α-羟丁酸脱氢酶 (α-HBDH) 的含量. **结果** 急性低温暴露能显著影响家兔心、肝、肾功能血生化指标, -20℃暴露组更明显. **结论** 急性低温暴露可对家兔心、肝、肾功能造成损伤, 低温暴露强度越强损伤越明显.

[关键词] 急性低温暴露; 心肝肾功能; 血生化指标; 损伤

[中图分类号] Q494 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-4706 (2013) 05-0043-07

Effects of Acute Cold Exposure on Rabbit Heart, Liver and Renal Function

WU Li-zhen^{1, 3)}, DU Xing-hua^{2, 3)}, LEI Yan^{3, 4)}, CAI Ying³⁾, DONG Zhao-jun³⁾

(1) Dept. of Function, The integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital of Yunnan Province, Kunming Yunnan 650224; 2) College of Military Preventive Medicine, The Third Military Medical University, Chongqing 400038; 3) College of Military Preventive Medicine, Toxicology Research Institute of Third Military Medical University; 4) Department of Applied Surgical Anatomy and Operation, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

[Abstract] **Objective** To explore the effects of acute cold exposure on the rabbits heart, liver and renal function. **Methods** 15 rabbits were randomly divided into 3 groups, 20℃ group, -20℃ group and 2℃ group, with 5 rabbits in each group. Animals were anesthetized by intraperitoneal injection, then were treated with the left common carotid artery intubation. According to the grouping, they were exposed to freezer at 20℃, 2℃ and -20℃, respectively. At 0, 30, 60, 90 and 120 min after exposure, the blood was collected by the way of carotid intubation, and plasma was separated. Then, the biochemical method was used to determine the contents of liver function indexes including aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP) and L-γ-glutamyl transferase (GGT); of renal function indexes including urea (BU), creatinine (CREA), uric acid (UA); and of heart function indexes including aspartate aminotransferase myocardial enzyme (AST), creatine kinase (CK) and isoenzyme (CKMB), lactate dehydrogenase (LDH) and α-hydroxybutyrate dehydrogenase (α-HBDH) content. **Results** Acute exposure to low temperature could significantly affect the heart, liver and renal function indexes in rabbits, and exposed in -20℃ was the most obvious. **Conclusion** Acute cold exposure can cause damage to the heart, liver and renal function in rabbits, and the lower temperature has the more obvious damage.

[Key words] Acute cold exposure; Heart liver and renal function; Serum biochemical index; Damage

[基金项目] 军队“十一五”医学科研攻关基金资助项目 (06G077)

[作者简介] 吴丽珍 (1971~), 女, 云南玉溪市人, 医学学士, 主治医师, 主要从事超声医学临床工作.

我国的寒区面积广大,约有1/3的国土面积、超过1/2的陆地边界位于寒冷地区,生活着我国近50%的人口和2/3的驻军,战略意义十分重要。在北方高寒地区冬季,部队执行野外巡逻和站岗任务的士兵需要暴露在寒冷环境中,如果防护措施不当则很容易造成急性冻伤。由于人类维持正常生命活动所需的体温范围较窄,超出机体耐受能力的寒冷暴露可导致中心体温的下降,机体出现神经传导速度和肌肉力量的降低、作业精细度下降、甚至认知障碍等,严重影响人们的体力和脑力劳动效率。同时,寒冷作为一种应激原,可以诱导机体发生寒冷应激反应,产生一系列的特异性或非特异性生物学效应,长时间过强的寒冷应激可以对心血管系统、免疫系统、中枢神经系统以及骨关节系统产生不同程度的损害,甚至威胁人们的生命。因而研究低温环境对于机体的影响及其作用机制有着重要的意义。目前,人们对于低温环境对机体损伤机制的研究多限于长期的慢性暴露模型,而急性的低温暴露模型很少有相关内容的报道。为此,本实验采用急性低温暴露动物模型,观察不同低温环境对家兔血液心、肝、肾功能指标含量的影响,以期为低温环境对机体心、肝、肾重要脏器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 实验动物及分组

普通级日本大耳白兔15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3组,即-20℃组、2℃组、20℃组、每组各5只。

1.2 实验方法

采用腹腔注射戊巴比妥钠(40 mg/kg),动物麻醉后仰卧位固定于手术台上。沿颈正中线作一长约5 cm的切口,用血管钳分离颈部肌群,充分暴露左侧颈总动脉,彻底分离附着于动脉管壁的组织及神经后,结扎远心端,近心端上动脉夹。用眼科剪在动脉壁上作一45°斜切口,约为管径的1/3,插入充满肝素溶液的动脉导管,插入长度约2~4 cm。结扎近心端,松开动脉夹,用远心端的结扎线固定导管。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℃;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),-80℃超低温冰箱冻存。

1.3 实验仪器

日立7020型全自动生化分析仪,为HITACHI公司产品。

1.4 检测指标

包括门冬氨酸氨基转移酶(aspartate transaminase, AST)、丙氨酸氨基转移酶(alanine transferase, ALT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、L-γ谷氨酰基转移酶(L-glutamyl transferase, GGT)、尿素(urea, BU)、肌酐(creatinine, CREA)、尿酸(uric acid, UA)、肌酸激酶(CK)及同工酶(CKMB)、乳酸脱氢酶(LDH)和α-羟丁酸脱氢酶(a-HBDH),采用四川迈克生物科技公司所提供的试剂盒进行含量测定。

1.5 统计学处理

各指标测定值用($\bar{x} \pm s$)表示,采用SPSS统计软件进行双因素方差分析,组内、组间比较采用LSD检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 肝功能指标的变化

2.1.1 门冬氨酸氨基转移酶(AST)的变化 2℃组、-20℃组与相同时相点20℃组相比,AST均呈升高趋势,作用时间90、120 min时显著升高($P < 0.05$);随低温暴露强度增强和(或)时间的延长AST逐渐增高,且随低温暴露强度增强增高的时间提前,-20℃组于低温作用30 min时出现AST增高,2℃组于低温作用60 min时出现AST增高,在致伤后120 min,2℃组、-20℃组是同组0 min时的AST的1.46、2.35倍;各组的AST检测结果见表1。

2.1.2 丙氨酸氨基转移酶(ALT)的变化 -20℃组与同时相点20℃、2℃组相比,ALT含量呈升高趋势,60、90、120 min时尤为显著($P < 0.05$);且随低温暴露强度增强和(或)作用时间的延长,2℃组、-20℃组ALT逐渐增高,在致伤后120 min,2℃组、-20℃组是同组0 min时的ALT的1.24、1.24倍。各组的ALT检测结果见表2。

2.1.3 碱性磷酸酶(ALP)的变化 2℃组、-20

℃组的 ALP 含量均明显高于同时相点 20 ℃组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。在致伤 120 min 时, 仅 2 ℃组 ALP 明显升高 ($P < 0.05$)。各组的 ALP 检测结果见表 3。

2.1.4 L-γ 谷氨酰基转移酶 (GGT) 的变化 与 20 ℃组相比, 2 ℃组、-20 ℃组 GGT 变化不明显, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。在低温作用下随时间延长, GGT 变化不明显 ($P > 0.05$)。各组的 GGT 检测结果见表 4。

2.2 肾功能指标的变化

2.2.1 尿素 (BU) 的变化 2 ℃组、-20 ℃组的 BU 含量较 20 ℃组相比, BU 均呈升高趋势, 作用时间 60、90、120 min 时相明显升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。随着低温作用时间的延长, BU 呈逐渐升高趋势, 在致伤后 120 min, 2 ℃组、-20 ℃组是同组 0 min 的 BU 的 1.23、1.49 倍。各组的 BU 检测结果见表 5。

2.2.2 肌酐 (CREA) 的变化 2 ℃组、-20 ℃组的 CREA 含量较 20 ℃组相同时相点明显升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)；随着低温强度的增强及作用时间的延长, CREA 呈逐渐升高趋势, 在致伤后 120 min, 2 ℃组、-20 ℃组是同组 0 min 的 CREA 的 1.20、1.39 倍。各组的 CREA 检测结果见表 6。

2.2.3 尿酸 (UA) 的变化 2 ℃组、-20 ℃组与 20 ℃组相同时相点相比, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。2 ℃组随低温暴露时间的延长 UA 逐渐降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。各组检测结果见表 7。

2.3 心肌酶谱指标的变化

2.3.1 CK 的变化 2 ℃组与相同时相点 20 ℃组相比, CK 显著升高, 60、90、120 min 时相点差异有统计学意义 ($P < 0.05$)；-20 ℃组与 20 ℃组相

同时相点相比, CK 降低, 但随低温暴露时间的延长, 不同低温组 CK 均显著升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)；在致伤后 120 min, 2 ℃组、-20 ℃组是同组 0 min 时的 CK 的 2.33、1.60 倍；各组的 CK 检测结果见表 8。

2.3.2 CK-MB 的变化 2 ℃组、-20 ℃组与相同时相点 20 ℃组相比, CK-MB 显著升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)；不同低温组随低温暴露时间的延长, CK-MB 呈升高趋势, 90、120 min 时差异有统计学意义 ($P < 0.05$)；在致伤后 120 min, 2 ℃组、-20 ℃组是同组 0 min 时的 CK-MB 的 1.27、1.78 倍；各组的 CK-MB 检测结果见表 9。

2.3.3 LDH 的变化 2 ℃组、-20 ℃组与相同时相点 20 ℃组相比, LDH 显著升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)；不同低温组随低温暴露时间的延长, LDH 呈升高趋势, 90、120 min 时差异有统计学意义 ($P < 0.05$)；且随低温暴露强度增强 LDH 增高的时间提前, -20 ℃组于低温作用 30 min 时出现 AST 增高, 2 ℃组于低温作用 60 min 时出现 LDH 增高,；在致伤后 120 min, 2 ℃组、-20 ℃组是同组 0 min 时的 LDH 的 1.41、1.92 倍；各组的 LDH 检测结果见表 10。

2.3.4 HBDH 的变化 2 ℃组、-20 ℃组与相同时相点 20 ℃组相比, HBDH 显著升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)；不同低温组随低温暴露时间的延长, HBDH 呈升高趋势, 90、120 min 时差异有统计学意义 ($P < 0.05$)；且随低温暴露强度增强 LDH 增高的时间提前, -20 ℃组于低温作用 30 min 时出现 HBDH 增高, 2 ℃组于低温作用 60 min 时出现 HBDH 增高, 在致伤后 120 min, 2 ℃组、-20 ℃组是同组 0 min 时的 HBDH 的 1.54、1.86 倍；各组的 HBDH 检测结果见表 11。

表 1 急性低温暴露兔血浆 AST 含量变化 [U/L, ($\bar{x} \pm s$)] AST

Tab. 1 The content of AST in the plasma of rabbits exposed to low temperature [U/L, ($\bar{x} \pm s$)] AST

组别	n	实验温度作用时间 (min)				
		0	30	60	90	120
20℃组	5	16.00 ± 3.67	15.20 ± 5.63	17.00 ± 3.08	15.40 ± 4.88	21.80 ± 12.74
2℃组	5	29.60 ± 8.02	29.40 ± 6.07 [△]	33.20 ± 4.32 ^{*△}	36.00 ± 6.44 ^{*△}	43.20 ± 3.56 ^{*△}
-20℃组	5	15.80 ± 3.56	18.60 ± 3.21 [△]	23.20 ± 4.76 ^{*△}	27.60 ± 10.85 ^{*△}	37.20 ± 12.30 ^{*△}

与同组 0 min 比较, * $P < 0.05$; 与同时相 20 ℃组比较, [△] $P < 0.05$ 。

表 2 急性低温暴露兔血浆 ALT 含量变化 [U/L, ($\bar{x} \pm s$)]Tab. 2 The content of ALT in the plasma of rabbits exposed to low temperature [U/L, ($\bar{x} \pm s$)]

组别	n	实验温度作用时间 (min)				
		0	30	60	90	120
20℃组	5	41.60 ± 7.99	41.64 ± 12.14	42.80 ± 9.26	38.00 ± 9.63	37.60 ± 7.23
2℃组	5	28.80 ± 10.62	29.80 ± 8.04	30.00 ± 6.08	34.40 ± 7.20*	35.60 ± 5.27*
-20℃组	5	42.80 ± 15.29	43.80 ± 18.82 [▲]	46.60 ± 19.77* ^{△▲}	48.80 ± 22.98* ^{△▲}	53.20 ± 21.63* ^{△▲}

与同组 0 min 比较, * $P < 0.05$; 与同时相 20℃组比较, $\Delta P < 0.05$; 与同时相 2℃组比较, $\blacktriangle P < 0.05$.

表 3 急性低温暴露兔血浆 ALP 含量变化 [U/L, ($\bar{x} \pm s$)]Tab. 3 The content of ALP in the plasma of rabbits exposed to low temperature [U/L, ($\bar{x} \pm s$)]

组别	n	实验温度作用时间 (min)				
		0	30	60	90	120
20℃组	5	136.20 ± 7.56	126.60 ± 10.52	124.20 ± 14.84	119.40 ± 10.21	112.20 ± 12.76
2℃组	5	165.20 ± 52.22	153.60 ± 48.08 [△]	146.60 ± 36.08 [△]	150.00 ± 40.93 [△]	254.00 ± 44.13* [△]
-20℃组	5	135.00 ± 16.90	132.40 ± 20.02 [△]	131.00 ± 16.73 [△]	129.20 ± 19.97 [△]	125.80 ± 20.45 [△]

与同组 0 min 比较, * $P < 0.05$; 与同时相 20℃组比较, $\Delta P < 0.05$.

表 4 低温复合 NaCN 中毒兔血液含量 GGT 含量变化 [U/L, ($\bar{x} \pm s$)]Tab. 4 The content of GGT in the plasma of rabbits exposed to low temperature [U/L, ($\bar{x} \pm s$)]

组别	n	实验温度作用时间 (min)				
		0	30	60	90	120
20℃组	5	8.20 ± 0.84	7.20 ± 1.48	7.00 ± 2.00	6.00 ± 1.22	6.60 ± 2.07
2℃组	5	6.00 ± 1.87	6.00 ± 2.55	5.80 ± 2.28	6.00 ± 0.71	5.80 ± 1.92
-20℃组	5	5.80 ± 1.48	5.50 ± 1.14	5.60 ± 2.07	6.00 ± 1.22	7.00 ± 1.22

表 5 低温复合 NaCN 中毒兔血浆 BU 含量变化 [U/L, ($\bar{x} \pm s$)]Tab. 5 The content of BU in the plasma of rabbits exposed to low temperature [U/L, ($\bar{x} \pm s$)]

组别	n	实验温度作用时间 (min)				
		0	30	60	90	120
20℃组	5	8.00 ± 1.85	8.10 ± 0.80	7.64 ± 0.78	7.58 ± 0.62	7.48 ± 0.37
2℃组	5	8.80 ± 0.46	8.94 ± 0.43	9.50 ± 1.16* [△]	10.12 ± 1.15* [△]	10.84 ± 1.39* [△]
-20℃组	5	7.10 ± 0.52	7.00 ± 0.62	7.86 ± 0.70	9.34 ± 1.50* [△]	10.58 ± 2.06* [△]

与同组 0 min 比较, * $P < 0.05$; 与同时相 20℃组比较, $\Delta P < 0.05$.

表 6 低温复合 NaCN 中毒兔血浆 CREA 含量变化 [U/L, ($\bar{x} \pm s$)]Tab. 6 The content of CREA in the plasma of rabbits exposed to low temperature [U/L, ($\bar{x} \pm s$)]

组别	n	实验温度作用时间 (min)				
		0	30	60	90	120
20℃组	5	46.80 ± 12.13	45.40 ± 15.40	49.40 ± 14.94	52.40 ± 19.35	58.20 ± 19.97
2℃组	5	56.00 ± 12.31	56.40 ± 12.66 [△]	57.60 ± 16.16 [△]	61.40 ± 18.51* [△]	67.40 ± 22.60* [△]
-20℃组	5	62.80 ± 16.48	64.20 ± 14.65 [△]	71.20 ± 15.80* [△]	79.60 ± 16.18* [△]	87.20 ± 22.64* [△]

与同组 0 min 比较, * $P < 0.05$; 与同时相 20℃组比较, $\Delta P < 0.05$.

表 7 低温复合 NaCN 中毒兔血浆 UA 含量变化 [U/L, ($\bar{x} \pm s$)]Tab. 7 The content of UA in the plasma of rabbits exposed to low temperature [U/L, ($\bar{x} \pm s$)]

组 别	n	实验温度作用时间 (min)				
		0	30	60	90	120
20℃组	5	9.00 ± 4.85	8.80 ± 3.77	6.60 ± 3.21	5.40 ± 4.61	11.20 ± 7.33
2℃组	5	12.80 ± 3.03	8.00 ± 3.61*	7.20 ± 1.64*	6.80 ± 2.68*	8.00 ± 2.74*
-20℃组	5	10.40 ± 4.67	8.00 ± 4.42	6.60 ± 4.16	6.00 ± 2.35	9.40 ± 4.77

与同组 0 min 比较, * $P < 0.05$.

表 8 低温复合 NaCN 中毒兔血浆 CK 含量变化 [U/L, ($\bar{x} \pm s$)]Tab. 8 The content of CK in the plasma of rabbits exposed to low temperature [U/L, ($\bar{x} \pm s$)]

组 别	n	实验温度作用时间 (min)				
		0	30	60	90	120
20℃组	5	865.00 ± 433.78	822.00 ± 393.18	719.40 ± 312.66	702.80 ± 318.21	791.80 ± 182.25
2℃组	5	1141.80 ± 187.63	1219.20 ± 47.01* Δ	1612.00 ± 294.65* Δ	2061.80 ± 423.45* Δ	2665.20 ± 616.40* Δ
-20℃组	5	480.00 ± 17.69	535.00 ± 41.64* Δ	598.20 ± 30.10* Δ	694.80 ± 72.10* Δ	767.60 ± 99.95* Δ

与同组 0 min 比较, * $P < 0.05$; 与同时相 20℃组比较, $\Delta P < 0.05$.

表 9 低温复合 NaCN 中毒兔血浆 CK-MB 含量变化 [U/L, ($\bar{x} \pm s$)]Tab. 9 The content of CK-MB in the plasma of rabbits exposed to low temperature [U/L, ($\bar{x} \pm s$)]

组 别	n	实验温度作用时间 (min)				
		0	30	60	90	120
20℃组	5	521.80 ± 132.92	419.40 ± 152.80	385.60 ± 116.11	329.80 ± 122.89	381.20 ± 100.68
2℃组	5	1275.00 ± 182.78	1213.80 ± 215.05 Δ	1280.40 ± 198.99 Δ	1366.29 ± 289.98* Δ	1623.80 ± 291.69* Δ
-20℃组	5	566.80 ± 118.79	566.60 ± 139.70 Δ	700.00 ± 198.82 Δ	838.48 ± 309.77* Δ	1010.20 ± 422.44* Δ

与同组 0 min 比较, * $P < 0.05$; 与同时相 20℃组比较, $\Delta P < 0.05$.

表 10 低温复合 NaCN 中毒兔血浆 LDH 含量变化 [U/L, ($\bar{x} \pm s$)]Tab. 10 The content of LDH in the plasma of rabbits exposed to low temperature [U/L, ($\bar{x} \pm s$)]

组 别	n	实验温度作用时间 (min)				
		0	30	60	90	120
20℃组	5	101.60 ± 6.58	91.20 ± 17.09	77.80 ± 10.21	78.60 ± 15.57	95.00 ± 42.03
2℃组	5	192.20 ± 42.27	188.60 ± 36.56 Δ	214.80 ± 33.95* Δ	228.40 ± 41.58* Δ	271.00 ± 38.27* Δ
-20℃组	5	99.80 ± 22.10	120.40 ± 43.80* Δ	138.80 ± 30.18* Δ	169.80 ± 50.94* Δ	191.20 ± 62.66* Δ

与同组 0 min 比较, * $P < 0.05$; 与同时相 20℃组比较, $\Delta P < 0.05$.

表 11 低温复合 NaCN 中毒兔血浆 HBDH 含量变化 [U/L, ($\bar{x} \pm s$)]Tab. 11 The content of HBDH in the plasma of rabbits exposed to low temperature [U/L, ($\bar{x} \pm s$)]

组 别	n	实验温度作用时间 (min)				
		0	30	60	90	120
20℃组	5	77.20 ± 13.03	62.60 ± 20.79	66.00 ± 12.98	64.40 ± 13.37	83.40 ± 37.42
2℃组	5	168.40 ± 34.17	161.41 ± 39.60 Δ	190.40 ± 57.65* Δ	211.80 ± 72.33* Δ	259.40 ± 87.88* Δ
-20℃组	5	67.80 ± 14.29	93.40 ± 42.12* Δ	99.40 ± 19.17* Δ	104.60 ± 32.38* Δ	126.40 ± 59.54* Δ

与同组 0 min 比较, * $P < 0.05$; 与同时相 20℃组比较, $\Delta P < 0.05$.

3 讨论

寒冷地区的冬季,人们在户外活动时会暴露于低温环境中.从事低温环境作业的人员和参加特殊环境军事活动的官兵也经常暴露于低温环境中.由于防护措施不当或意外事件的发生,人们会在低温暴露中受到伤害.低温环境对机体的影响和如何预防低温暴露相关疾病一直是人们研究的热点.目前,对于急性寒冷损伤的研究多集中在体表皮肤及肌肉组织的冻伤,而体内脏器在急性低温暴露时受到的影响及机制很少见到相关报道.从目前的研究现状来看,人们对于寒冷损伤机制的研究多使用长期的慢性暴露模型,采取较温和的低温暴露方式以研究在冷适应过程中的激素和酶学水平的改变,而急性的剧烈的低温暴露模型较少有人应用.机体暴露于低温环境后,需要动员产热以维持体温.虽然在此时肌肉的寒颤产热占主导作用,但肝脏作为体内最大的糖原储存器官和静息状态的主要产热器官,也可能参与到急性低温暴露下机体的应激过程中;同时急性低温暴露时机体的应激反应亦可能造成心、肾等重要器官的损害.本研究结果初步表明,急性低温暴露能显著影响心、肝、肾功能血生化指标,提示急性低温暴露可对家兔心、肝、肾功能造成损伤,且低温暴露强度越强、致伤时间越长,损伤越明显.

在寒冷应激状态下,机体的下丘脑-垂体-甲状腺-肾上腺轴发生活化,垂体前叶细胞促肾上腺皮质激素(ACTH)分泌增多,肾上腺髓质可在交感神经控制下分泌大量肾上腺素和去甲肾上腺素,一方面促使皮肤及皮下的小血管收缩,使散热减少,同时也促进了机体代谢过程.肾上腺皮质在寒冷刺激下,通过下丘脑-垂体前叶作用,使糖皮质激素分泌大量增加.另外,促甲状腺激素释放激素分泌增加,引起甲状腺素的水平上升,促进能量代谢.上述反应对于提高组织代谢、增加产热、保持体温具有重要作用.但是,长时间高水平激素的作用可以抑制细胞的能量代谢,诱导细胞的凋亡.研究发现,高水平的糖皮质激素可以诱导心肌细胞凋亡,并引起心功能紊乱.寒冷应激反应中脂质过氧化反应明显增强,脂质自由基和脂质过氧化物明显增多,细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)也明显增高,而抗氧化系统明显减弱,细胞出现明显的氧化应激,导致细胞损伤发生.ROS升高是冷应激导致细胞凋亡的重要细胞学现象,而ROS增多也是线粒体功能损伤的表

现.ROS具有很高的生物活性,很容易与细胞内大分子反应,如对核物质的作用可以导致碱基修饰、碱基丢失、单链和双链DNA的断裂、DNA交联、癌基因的激活或失活等,特别是染色质位于核小体之间的组蛋白成分是ROS攻击的主要目标,从而导致DNA降解、细胞凋亡^[1].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^[2],这可能是导致心肌细胞凋亡的重要机制.在低温暴露大鼠肝脏,Venditti等^[3]发现脂质和蛋白氧化与对氧化过程的易感性相伴随.肝脏内含有大量的线粒体及糖原并且血供充足.在低温暴露后,代谢强度增加,肝糖原大量消耗^[4],分解为葡萄糖而为机体提供能量底物^[5].此过程中,肝脏并不代谢更多的能量底物生成ATP而是通过偶联作用产热^[6],这一过程可以使肝脏出现氧化应激损伤^[7].同时,机体其他组织和器官的大量能量代谢中间产物可以通过血液运输到肝脏,在肝脏内进行生物转化,形成新的能量底物或被肝脏代谢.以上应答反应可导致肝脏代谢率增加和活性氧产生增加,如过氧化氢、羟自由基和超氧阴离子基团,他们可以引起脂质过氧化^[8,9],引起肝脏氧化损伤.抗氧化防御系统功能的降低和线粒体释放ROS增加是低温暴露后肝脏氧化损伤的主要原因^[10,11].此外,寒冷暴露时细胞离子的一些改变也可通过氧化应激诱导损伤.低温导致Na⁺、K⁺泵、Na⁺、Ca²⁺泵等细胞膜离子转运体功能障碍,可导致细胞外Ca²⁺内流,从而使细胞内Ca²⁺超载,而Ca²⁺超载是细胞损伤的主要原因之一;低温暴露细胞内Fe²⁺增多,而减少Fe²⁺可以对细胞起到保护作用.Ca²⁺、Fe²⁺作用的靶器官都是线粒体,线粒体出现损伤,活性氧的产物增多,从而诱导细胞损伤发生.在寒冷引起肾脏皮层细胞凋亡中,发现前凋亡蛋白Bax表达增多^[12],Huang, J.^[13]研究发现,细胞高表达Bcl-xL可以抑制寒冷应激引起的线粒体Bax转位,从而抑制细胞凋亡.众多的研究结果显示,寒冷暴露诱发机体氧化应激是机体组织、细胞损伤的主要因素,并且和细胞凋亡发生密切相关.氧化应激损伤时,氧自由基大量产生和堆积可造成心、肝、肾细胞膜、线粒体和其他细胞器的损害,而致使这些受损脏器细胞内酶释放入血,从而导致某些血清酶的升高.目前的研究表明,ALT在肝脏中含量最多,且ALT仅存在于细胞浆内,肝内酶活性比血清高约100倍,只要有1%的肝细胞坏死,即可使血清酶活性升高1倍,是最敏感的肝功能指标之一,任何肝细胞的损害、包膜通透性增高和细胞坏死都将导致血清中该酶的活性升高;AST见于肝细胞的线粒体及

细胞浆内, 也可见于心肌、骨骼肌、肾、脑组织中, 肝细胞受损时, 血清中 AST 的活性也升高; 业已证实, ALT、AST 同时升高, 提示肝损伤的存在. 心肌酶谱是反应心脏功能的特异性指标, 其各项指标的变化能够客观反应心脏功能的变化情况. BU、CREA、UA 尤其是 BU、CREA 是反映肾脏功能的最敏感指标, 也是目前最常使用的衡量肾脏功能的血生化指标, 当肾脏细胞受到损伤时, 肾脏功能也会受到影响. 本研究中发现急性低温暴露时, 血清 AST、ALT、BU、CREA、CK、CK-MB、LDH、HBDH 明显增高, 且低温暴露强度越强、致伤时间越长, 变化越明显. 本实验结果提示: 急性低温暴露时有心、肝、肾功能损伤的存在, 且低温暴露强度越强、致伤时间越长, 损伤越明显. 肝血清酶、各项心肌酶含量及肾功能指标的改变程度反应了心、肝、肾功能损伤的程度. 急性低温暴露可能因氧化应激损伤导致游离氧自由基增加, 进而加重心、肝、肾细胞损伤.

[参考文献]

- [1] DING W, HUDSON L G, LIU K J, et al. 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.
- [2] 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.
- [3] VENDITTI P, DE ROSA R, CALDARONE G, et al. Arch biochem biophys effect of prolonged exercise on oxidative damage and susceptibility to oxidants of rat tissues in severe hyperthyroidism, 2005, 442(2): 229-237.
- [4] ADRIANO MENECHINI, CELSO FERREIRA, LUIZ CARLOS DE ABREU, et al. Cold stress effects on cardiomyocytes nuclear size in rats: light microscopic evaluation [J]. *Rev Bras Cir Cardiovasc*, 2008, 23(4): 530-533.
- [5] LOUZAOMC, VIEYTESMR, BOTANALM. Effect of okadaic acid on glucose regulation [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2005, 5: 207-215.
- [6] MOLLICA M P, LIONETTI L, CRESCENZO R, et al. Cold exposure differently influences mitochondrial energy efficiency in rat liver and skeletal muscle [J]. *FEBS Letters*, 2005, 579: 1978-1982.
- [7] PVENDITTI, RDE ROSA, SDI MEO. Effect of cold-induced hyperthyroidism on H₂O₂ production and susceptibility to stress conditions of rat liver mitochondria [J]. *Free Radic Biol Med*, 2004, 6: 348-358.
- [8] HEISE K, PUNTARULO S, PORTNER H O, et al. Production of reactive oxygen species by isolated mitochondria of the antarctic bivalve *Laternula elliptica* (King and Broderip) under heat stress [J]. *Comp Biochem Physiol*, 2003, 134: 79-90.
- [9] SELMAN C, GRUNE T, STOLZING A, et al. The consequences of acute cold exposure on protein oxidation and proteasome activity in short-tailed field voles, *Microtus agrestis* [J]. *Free Radic Biol Med*, 2002, 33: 259-265.
- [10] VENDITTI P, DE ROSA R, PORTERO-OTIN M, et al. Cold-induced hyperthyroidism produces oxidative damage in rat tissues and increases susceptibility to oxidants [J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2004, 36: 1319-1331.
- [11] PVENDITTI, R. PAMPLONA, V. AYALA, R. et al. Differential effects of experimental and cold-induced hyperthyroidism on factors inducing rat liver oxidative damage [J]. *The Journal of Experimental Biology*, 2006, 209: 817-825.
- [12] BELLEMARE S, VIGNEAULT N, MADORE F, et al. Enhanced development of caspase-independent cortical cell death during cold storage in kidneys of non-heart-beating donors [J]. *Transplantation*, 2002, 73(17): 42-51.
- [13] HUANG J, NAKAMURA K, ITO Y, et al. Bcl-xL gene transfer inhibits Bax translocation and prolongs cardiac cold preservation time in rats [J]. *Circulation*, 2005, 112: 76-83.

(2013-01-10 收稿)