

急性一氧化碳中毒大鼠脑血液流变学变化及其意义探讨

崔书杰, 赵金垣, 王耀宏

(北京大学第三医院职业病研究中心, 北京 100083)

摘要: 目的 探讨脑循环血液流变学在急性 CO 中毒后的变化及在急性 CO 中毒迟发脑病发病中的可能作用。方法 通过腹腔间隔注射 CO 制备急性 CO 中毒模型, 动态检测染毒后大鼠 (即刻组、1 d、3 d、7 d、14 d、21 d) 颈静脉血的全血粘度 ($1s^{-1}$ 、 $5s^{-1}$ 、 $30s^{-1}$ 、 $200s^{-1}$)、血浆粘度、纤维蛋白原, 并作全血细胞分析。结果 在不同的切变率下 ($1s^{-1}$ 、 $5s^{-1}$ 、 $30s^{-1}$ 、 $200s^{-1}$), 染毒即刻组大鼠脑循环全血粘度显著降低, 染毒后 1~14 d 显著增高; 染毒后 1、7、14 d, 大鼠脑循环血浆粘度均显著升高; 染毒即刻组大鼠红细胞压积显著降低, 后又逐渐恢复, 染毒后 7 d, 红细胞压积明显高于染毒前; 染毒后脑循环血浆纤维蛋白原浓度急剧升高, 14 d 后逐渐恢复正常; 染毒即刻组大鼠 RBC、Hb、HCV 明显降低, 后即恢复正常。结论 急性 CO 中毒大鼠恢复期脑血液全血粘度及血浆粘度升高, 从而增加血流阻力和减慢流速, 导致脑循环灌注不良, 发生脑循环障碍。急性 CO 中毒大鼠早期脑血液全血粘度及红细胞压积、RBC、Hb、HCV 明显降低, 提示 CO 生理特性可能参与对血液的影响效应。

关键词: 急性 CO 中毒; 迟发脑病; 血液流变学; 全血粘度; 血浆粘度

中图分类号: R135. 14; R595. 1 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2002)06-0321-04

Hemorheological changes in cerebral circulation of rats with acute carbon monoxide poisoning and its significance

CUI Shu-jie, ZHAO Jin-yuan, WANG Yao-hong

(Center for Occupational Diseases, The third Hospital of Peking University, Beijing 100083, China)

Abstract: Objectives To study the hemorheological change after acute carbon monoxide (CO) poisoning and its possible role in etiology of delayed encephalopathy after acute CO poisoning. **Methods** Animal model of acute CO poisoning was prepared by intraperitoneal injection of CO at regular interval. Whole blood viscosity (with shear rates of $1s^{-1}$, $5s^{-1}$, $30s^{-1}$, $200s^{-1}$), plasma viscosity, plasma level of fibrinogen and whole blood cell count were measured, for blood samples collected from jugular vein, immediately after exposure to CO, and 1, 3, 7, 14 and 21 days after exposure. **Results** Whole blood viscosity in cerebral circulation of the rats decreased significantly immediately after exposure to CO with varied shear rates, and increased significantly from 1 day to 14 days after exposure. Plasma viscosity in cerebral circulation of the rats increased significantly 1, 7 and 14 days after exposure. Hematocrit (PCV) decreased significantly in the rats immediately after exposure to CO, then gradually restored, and it was significantly higher 7 days after exposure than that before exposure. Plasma level of fibrinogen in cerebral circulation increased abruptly after exposure, and restored to normal 14 days after exposure. Red blood cell count, hemoglobin and hematocrit decreased significantly immediately after exposure, then restored to normal. **Conclusions** Whole blood viscosity and plasma viscosity in cerebral circulation increased during the recovery stage of acute CO poisoning in rats, causing increase in circulatory resistance and slowdown in blood flow, poor cerebral infusion, and cerebral circulatory disturbance. During the early stage of acute CO poisoning, whole blood viscosity, hematocrit, red blood cell count and hemoglobin decreased significantly, indicating CO with its specific physiological characteristics could be involved in the effects on blood.

Key words: Acute carbon monoxide poisoning; Delayed encephalopathy after carbon monoxide poisoning; Hemorheology; Whole blood viscosity; Plasma viscosity

一氧化碳 (Carbon monoxide) 是生活环境和生产环境中最常见的窒息性气体, 其中毒及死亡人数在我国各种急性中毒中均高居首位。急性 CO 中毒经及时治疗, 多数可以痊愈, 但其中部分患者于意识障碍恢

复后, 经数日到数周的“假愈期”, 还会出现 CO 中毒迟发脑病^[1,2]。近些年来, 基础和临床各个领域都对其开展了大量研究, 旨在弄清迟发脑病的发生机制, 并提出多种理论, 但仍无定论^[3]。血液流变学是从宏观和微观两方面研究血液与血管的相互关系及其在血管内的流动特性和规律的科学; 在脑的微循环方面, 血粘度对组织的灌流尤其起着决定性作用, 血液

收稿日期: 2002-07-17; 修回日期: 2002-09-04

基金项目: 国家自然科学基金课题 (30070651)

作者简介: 崔书杰 (1963-), 男, 河南平顶山人, 国内访问学者 (河南平顶山市职业病防治所), 副主任医师, 主要从事化学中毒防治研究。

流变学的变化将严重地影响脑血流的再灌注^[4]。本研究拟通过观察分析CO中毒大鼠的血液流变学有关指标,探讨脑循环与CO中毒迟发脑病的关系,为临床有效防治迟发脑病提供新线索。

1 材料与方法

1.1 动物及模型制备

健康、雄性Sprague-Dawley二级大鼠,体质量260~300g,由医科院实验动物中心供应,于动物室商品化干块料饲养,自由饮水;实验前1d禁食。大鼠随机分为染毒前组(12只,腹腔间隔注射空气),即刻组(染毒后10min),1d、3d、7d、14d、21d组(每组20只,因CO中毒大鼠的死亡率较高),腹腔间隔注射CO,首次注射剂量120ml/kg,维持剂量60ml/kg,以4min为间隔,3次重复注射;分别于染毒前和末次注射后10min、1d、3d、7d、14d、21d抽取颈静脉血。CO纯品气体(99.95%)由北京康福气体公司提供;其余试剂均为市售分析纯产品。

1.2 血碳氧血红蛋白浓度测定

采用改良双波长碳氧血红蛋白定量法^[5],尾尖采血监测各组大鼠血碳氧血红蛋白(HbCO)浓度(每组3只):取大鼠尾血0.1ml加0.4mol/L氢氧化铵20ml,混匀,加20mg低亚硫酸钠,混匀;10min内于538nm及578nm波长测定其吸光度。按照下列公式计算HbCO含量(%):

$$\text{HbCO}(\%) = (2.44 \times A_{538} / A_{578} - 2.68) \times 100\%$$

1.3 血液流变学测定

1.3.1 血样采集 各组随机取大鼠5只,腹腔注射乌拉坦(1.0g/kg)麻醉,采颈静脉血4ml,肝素抗凝20U/ml,4h内完成血液粘度测定。

1.3.2 全血及血浆粘度测定 取血样0.8ml,在R80型自动冲洗血流变仪(R80,北京世帝公司)上测定 200 s^{-1} 、 30 s^{-1} 、 5 s^{-1} 、 1 s^{-1} 切变率下的全血粘度。取血样3ml,3000r/min,离心20min后,在R80型自动冲洗血流变仪上测定血浆粘度。

1.3.3 全血细胞分析 取血样 $20\text{ }\mu\text{l}$,1:50000稀释后,在全自动血球计数仪(820, Sysmex, Japan)上测定白细胞数(WBC)、红细胞数(RBC)、血红蛋白含量(Hb)、血小板数(PLT)、红细胞压积(HCT)、平均红细胞体积(HCV)。

1.3.4 血浆纤维蛋白原(FIB)浓度测定 各组随机取大鼠5只,腹腔注射乌拉坦(1.0g/kg)麻醉,采颈静脉血2ml,用3.8%枸橼酸钠抗凝,取枸橼酸钠抗凝血浆在全自动凝血分析仪(ACL-200,库尔特公司,德国)上监测大鼠FIB含量。

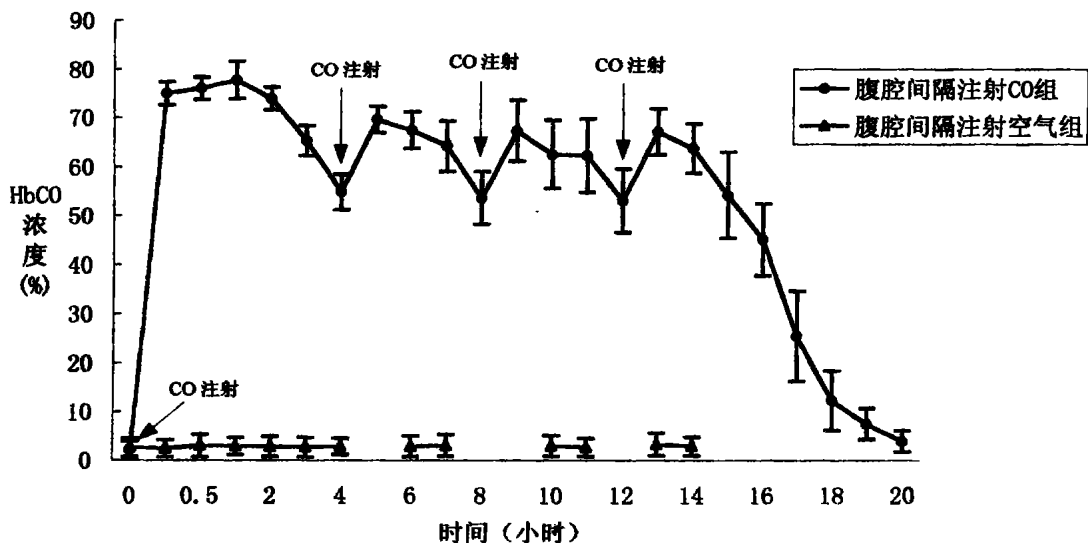
1.4 统计学分析

实验数据以均值±标准差表示,采用SPSS8.0统计软件进行单因素方差分析,组间进行q检验。

2 结果

2.1 血碳氧血红蛋白浓度

经腹腔间隔注射CO后,血COHb浓度在50%以上水平可维持16h;注射空气组大鼠血HbCO水平始终低于5%(见图1)。注射CO组大鼠经腹腔间隔注射CO后,中毒症状明显,5~10min后出现烦躁、撞笼,15min后陆续出现少动、四肢瘫软、抽搐、昏迷,部分发生角弓反张,粘膜及肢端皮肤呈樱桃红色;部分死亡大鼠尸检发现内脏重度充血伴散在出血点,脑组织充血水肿严重。注射空气组大鼠无异常表现。



2.2 大鼠染毒后脑循环血液流变学变化

2.2.1 全血粘度变化 在不同的切变率下 (1 s^{-1} 、 5 s^{-1} 、 30 s^{-1} 、 200 s^{-1})，染毒后即刻组大鼠全血粘

度显著降低，染毒后 1~21 d 大鼠的脑循环血液全血粘度均高于染毒前 (见表 1)。

表 1 急性 CO 中毒大鼠不同时间不同切变率下全血粘度变化 ($n=5$) ($\bar{x}\pm s$)

组别	1 s^{-1}	5 s^{-1}	100 s^{-1}	200 s^{-1}
染毒前	32.43 ± 2.05	11.88 ± 0.59	5.92 ± 0.20	3.77 ± 0.39
即刻组	$19.95\pm 3.13^{**}$	$8.10\pm 0.83^{**}$	$4.40\pm 0.23^{**}$	$3.06\pm 0.20^{**}$
1 d 组	$37.37\pm 1.92^{**}$	$13.16\pm 0.43^{**}$	$6.97\pm 0.51^{**}$	$4.53\pm 0.40^{**}$
3 d 组	$38.38\pm 1.88^{**}$	$13.95\pm 0.66^{**}$	$6.89\pm 0.24^{**}$	$4.76\pm 0.14^{**}$
7 d 组	$40.97\pm 1.61^{**}$	$14.73\pm 0.62^{**}$	$7.25\pm 0.43^{**}$	$4.73\pm 0.30^{**}$
14 d 组	$38.50\pm 2.97^{**}$	$14.52\pm 0.87^{**}$	$7.29\pm 4.56^{**}$	$4.81\pm 0.18^{**}$
21 d 组	$37.71\pm 3.08^{*}$	$13.60\pm 1.10^{*}$	$6.49\pm 0.36^{*}$	$4.48\pm 0.39^{*}$

与染毒前比较, * $P<0.05$ ** $P<0.01$, 下同

2.2.2 血浆粘度变化 染毒后 1、7、14 d 大鼠的颈静脉血浆粘度均显著高于染毒前，至 21 d 方逐渐恢复 (见图 2)。

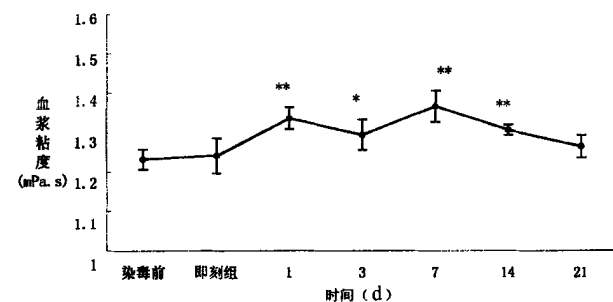


图 2 急性一氧化碳中毒大鼠颈静脉血浆粘度的变化

2.2.3 红细胞压积变化 染毒即刻组大鼠红细胞压积与染毒前比较显著降低，后逐渐恢复，至染毒后

7 d，红细胞压积明显高于染毒前 (见图 3)。

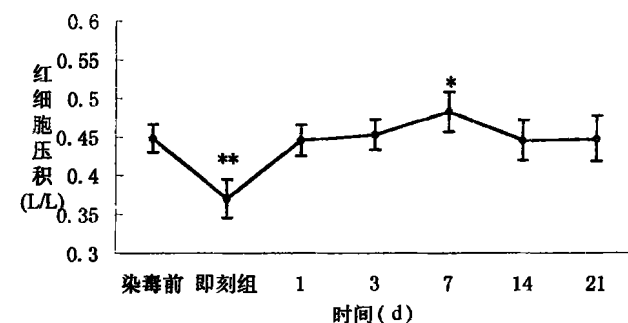


图 3 急性一氧化碳中毒大鼠脑循环 HCT 的变化

表 2 大鼠急性一氧化碳中毒后全血细胞变化 ($\bar{x}\pm s$)

组别	WBC ($\times 10^9/L$)	RBC ($\times 10^{12}/L$)	Hb (g/L)	HCV (fl)	PLT ($\times 10^9/L$)
染毒前	14.99 ± 2.97	7.93 ± 0.39	162.14 ± 9.42	55.70 ± 1.76	604.57 ± 64.04
即刻组	14.13 ± 2.41	$6.87\pm 0.34^{*}$	$135.75\pm 7.50^{*}$	$51.85\pm 1.92^{*}$	548.75 ± 84.76
1 d 组	14.04 ± 2.46	8.09 ± 0.26	163.00 ± 13.71	55.72 ± 1.84	569.00 ± 70.48
3 d 组	15.82 ± 2.32	7.85 ± 0.32	158.2 ± 10.42	58.70 ± 3.55	710.20 ± 96.55
7 d 组	14.63 ± 2.43	8.33 ± 0.54	169.67 ± 8.64	57.41 ± 3.71	737.50 ± 60.31
14 d 组	15.56 ± 1.23	8.35 ± 0.39	164.00 ± 13.26	52.84 ± 1.35	632.20 ± 51.97
21 d 组	15.08 ± 1.33	8.18 ± 0.53	161.60 ± 11.50	52.98 ± 1.58	590.20 ± 74.32

2.2.4 全血细胞分析结果 染毒即刻组大鼠 RBC、Hb、HCV 与染毒前比较明显降低，1d 后血液细胞成分即恢复染毒前水平 (见表 2)。

2.3 大鼠染毒后颈静脉血浆 FIB 测定结果

大鼠染毒后脑循环血浆 FIB 浓度急剧升高, 染毒后 1、3 d 与染毒前比较有非常显著差异, 即刻组 7 d 组与染毒前比较差异有显著性, 至 14 d 时恢复染毒前水平 (见图 4)。

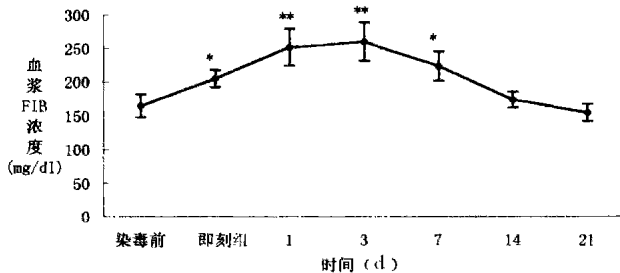


图 4 急性一氧化碳中毒大鼠脑循环血浆 FIB 浓度变化

3 讨论

一氧化碳通过与含铁色素蛋白 (如血红蛋白、肌红蛋白、细胞色素氧化酶、过氧化物酶等) 结合而造成中毒。本实验采用 4 h 腹腔间隔注射法染毒, 可使大鼠血 HbCO 长时间 (16 h) 维持在高浓度水平 (50% 以上), 染毒大鼠昏迷时间较长, 中毒症状明显, 十分接近临床上重度 CO 中毒; 并避免了染毒过程中可能存在的缺氧的影响; 且可及时监控染毒动物血中 COHb 水平。本实验建立的大鼠 CO 染毒方式, 可作为急性 CO 中毒迟发脑病的动物模型, 为进一步探索其发病机制提供了条件。

本研究结果显示 CO 染毒动物脑循环的全血粘度经历一个先显著降低后明显增高的趋势, 以低切变率下的改变最为明显, 并持续维持到 21 d; 同时, 血浆粘度及血浆中的纤维蛋白原于染毒后即显著升高, 并持续 14 d 之久。此种改变必然导致脑循环血液流速降低、血液淤滞, 从而成为导致脑循环灌注不良的重要生理基础; 提示持续的血液高粘滞性可能是急性 CO 中毒后脑循环异常的特征性变化之一。

红细胞压积是影响全血粘度最重要的因素; 本研究发现现在染毒后第 7 d 脑循环血液中红细胞压积显著升高, 全血粘度此时亦出现峰值。血浆粘度是影响全血粘度另一重要因素, 血浆粘度升高, 全血粘度也随之增高; 血浆纤维蛋白原是决定血浆粘度的最主要因素, 本研究结果显示, 急性一氧化碳中毒后 7 d 内, 脑循环中纤维蛋白原浓度显著升高, 推测这是血浆粘度乃至全血粘度升高的主要原因之一。

CO 中毒后血液粘度和红细胞压积均显著增高, 与缺氧和酸中毒对血液流变学的改变相似, 但 CO 对

流变学的影响显然有其特征性。一些临床资料表明, 缺血性脑血管疾病随着脑血流的减少血液粘滞性常出现不同程度的升高^[6], 但 CO 中毒早期全血粘度和红细胞压积是显著下降的, 这可能与 CO 本身生理特性有关。近年来, 大量研究表明 CO 是生物体内重要的气体信使分子之一, 具有舒张血管、维持血管紧张度和调节血压的重要生理作用^[7]。大量 CO 进入机体, 除可迅速与含铁色素蛋白结合, 导致相应的蛋白或酶类失活而引起中毒外, 一定浓度的游离 CO 亦同时发挥对机体的生理调节作用, 使 CO 中毒所致的缺氧和酸中毒对血粘度的影响作用被抵消, 这可能是中毒早期血液粘度和红细胞压积下降的重要原因。CO 中毒早期血液流变学特异性改变可能还有其他原因, 但也从侧面证实了 CO 中毒有不同于单纯缺氧之处, CO 气体信使分子这一特点在急性 CO 中毒及中毒迟发性脑病发生中扮演何种角色值得进一步探讨, 如将其生理功能和作用机制引入迟发性脑病发病机理的研究, 可能有利于开辟一条新的研究途径, 并将是今后工作的一个新方向、新起点。

综上所述, CO 中毒后血液流变学变化明显, 其中全血粘度持续异常升高, 并对微循环产生不利影响, 加重脑循环灌注不良, 导致脑循环障碍, 提示脑循环血液粘度增加可能是急性 CO 中毒迟发性脑病发病的关键因素之一。故临床上疏通血流、改善脑循环可能是防治迟发性脑病的一个新思路, 为临床诊断和治疗该病提供了新的线索和解决途径。

参考文献:

- [1] Walker E, Hay A. Carbon monoxide poisoning. *Brit Med J*, 1999, 319: 1082-1083.
- [2] Miê ò, casademont J, Bamientos, et al. Mitochondrial cytochrome C oxidase inhibition during acute carbon monoxide poisoning [J]. *Pharm Toxicol*, 1998, 82: 199-202.
- [3] 温韬, 赵金垣, 赵伯阳. 急性一氧化碳中毒迟发脑病的发病机制研究进展 [J]. *中国工业医学杂志*, 2001, 14 (2): 97-99.
- [4] 王怡, 王仰宗. 实用临床血液流变学 [M]. 北京: 学苑出版社, 1994. 101-123.
- [5] 冯仁丰. 实用医学检验学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1996. 72.
- [6] Grotta J, Ackeman R, Correia J, et al. Whole blood viscosity parameters and cerebral blood flow [J]. *Stroke*, 1982, 13 (3): 296-303.
- [7] Maines M D. The heme oxygenase system: a regulator of second messenger gases [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1997, 37: 517-554.