

急性一氧化碳中毒家兔脑血流变学和凝血功能的变化

王喜福¹, 王现伟², 关里¹, 张雁林¹, 赵金垣^{1*}

(1 北京大学第三医院职业病研究中心, 北京 100083 2 北京大学医学部生物物理系, 北京 100083)

摘要: 目的 探讨急性一氧化碳 (CO) 中毒家兔脑血流变学和凝血功能的变化及其在迟发性脑病 (DEACMP) 中的可能作用。方法 腹腔注射 CO 制备急性中毒模型, 使血 HbCO 浓度达 50% 以上持续 30~36 h 动态检测初次染毒后 30 min、6 h 及末次染毒后 10 min、6 h、12 h、18 h、24 h、3 d、7 d、14 d 颈静脉血的全血粘度 (200^s、100^s、50^s、3^s)、血浆粘度、血浆纤维蛋白原 (Fib)、血浆钙离子浓度 ($[Ca^{2+}]$)、部分活化凝血酶原时间 (APTT)、活化部分凝血酶时间 (PT) 的变化, 并进行全血细胞分析。结果 家兔末次染毒后 10 min 不同切变率下全血粘度即有显著降低, 24 h 后则逐渐升高, 14 d 时仍高于正常; 末次染毒后 10 min 至 14 d 血浆纤维蛋白原及血浆粘度亦均高于对照组; 部分活化凝血酶原时间、活化部分凝血酶时间于末次染毒后 10 min 明显延长, 3 d 后方大致恢复正常; 血浆 $[Ca^{2+}]$ 于末次染毒后 10 min 明显下降, 24 h 后恢复正常; 红细胞 (RBC) 计数和红细胞压积 (Hct) 于末次染毒后 18 h 升高, 14 d 仍高于对照组。结论 急性 CO 中毒早期, 脑循环即出现血液浓缩和凝血功能异常, 表现为 RBC 和 Hct 升高, 血 $[Ca^{2+}]$ 下降、凝血时间延长等; 3 d 后凝血功能虽见恢复, 但血液浓缩未见改善, RBC Hct 全血粘度和血浆粘度持续升高, 这些脑循环障碍的高危因素可能是急性 CO 中毒迟发性脑病发病的重要病理生理学基础。

关键词: 急性一氧化碳中毒; 迟发性脑病; 血液流变学; 凝血功能

中图分类号: R595.1 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2008)06-0347-04

Hemorheological and hemocoagulative changes of cerebral circulation in rabbits with acute carbon monoxide poisoning

WANG Xi fu, WANG Xian wei, GUAN Li, ZHANG Yan lin, ZHAO Jin yuan*

(1. Research Center of Occupational Medicine, The Third Hospital of Peking University, Beijing 100083, China)

2. Department of Biophysics, Medical College, Peking University, Beijing 100083, China)

Abstract: Objective To explore the hemorheological and hemocoagulative changes in cerebral circulation of rabbits with acute carbon monoxide (CO) poisoning and their possible roles in pathogenesis of delayed encephalopathy after acute CO poisoning. Methods The acute CO poisoning animal model was made by intraperitoneally injection with CO at regular interval, the levels of HbCO in blood might keep 50% or higher for 30~36 h, then the viscosity in whole blood (200^s、100^s、50^s、3^s) and plasma fibrinogen (Fib) and Ca^{2+} levels in plasma, activated partial thromboplastin time (APTT) and prothrombin time (PT), and whole blood cell counts were measured at 30 min and 6 h after first CO injection, and 10 min、6 h、12 h、18 h、24 h and 3、7 and 14 days after last injection of CO. Results The results showed that the whole blood viscosity at different shear rates decreased significantly at 10 min after last injection of CO, then gradually rose 24 h later and lasted for 14 days; the viscosity and fibrinogen in plasma were also increased since last injection of CO. APTT and PT were prolonged markedly from 10 min after last injection of CO, which recovered to normal range at the 3rd day after CO injection, while the concentration of Ca^{2+} in plasma was declined since 10 min after last injection of CO, which recovered to normal range 24 h later; the RBC counts and hematocrit were also increased at 18 h after last injection of CO and were higher obviously than that in control even after 14 days. Conclusions The results showed that at the very beginning of acute CO poisoning, there were some abnormalities such as pachenia and dysfunction of hemocoagulation despite that there was some ameliorated in hemocoagulation 3 days later, but the pachenia was still not recovered. All these changes in cerebral circulation might be the main pathophysiological basis in the development of delayed encephalopathy caused by acute CO poisoning.

Key words: Acute carbon monoxide poisoning; Delayed encephalopathy; Hemorheology; Hemocoagulative function

收稿日期: 2008-07-16

基金项目: 国家自然科学基金项目 (编号: 30471439)

作者简介: 王喜福 (1975-), 男, 博士, 研究方向: 化学中毒的分子机制。

*: 通讯作者, E-mail: zhaojinyuan@sina.com

一氧化碳 (carbon monoxide, CO) 是生活和生产过程中常见的窒息性气体。急性 CO 中毒经及时治疗, 多数可以治愈, 但仍有 10% 的患者经过数日或数周表现为正常或基本正常的“假愈期”后, 再次

出现以痴呆为主要临床表现的“急性 CO中毒迟发性脑病 (DEACMP)”。虽经过数十年的广泛研究,但其发病机制仍未完全明了,成为临床医学久攻未克的难题。本病好发于老年患者,且常伴有高血压、脑梗塞等心脑血管疾病^[1],提示脑循环障碍在本病的发病机制中可能占有重要地位。本文拟对急性 CO中毒家兔血液流变学和凝血功能的变化进行细致观察,以对脑循环功能障碍在本病发病中的可能作用作出更精确的评估。

1 材料与方法

1.1 动物及模型制备

参照文献 [2] 略加改动,普通健康雄性新西兰大耳白兔,体重 2.0~2.5 kg (北京大学医学部动物中心提供),实验前一天禁食。将动物随机分为对照组和 CO染毒组,后者又分为初次注射 CO后 30 min、6 h 及末次注射 CO后 10 min、6 h、12 h、18 h、24 h、3 d、7 d、14 d 共 10 个亚组,每组 8 只动物。染毒组家兔采用腹腔间隔注射 CO (由北京燕山石化气体公司提供,99.9%) 进行染毒,首次剂量 200 ml/kg,以后按 6 h 间隔共追加注射 5 次,剂量改为 100 ml/kg,使血浆 HbCO 水平维持在 50% 以上持续 30~36 h。对照组按同样方法注射空气。各组家兔于染毒后抽取颈静脉血待测。

1.2 检测指标

1.2.1 全血和血浆粘度测定 取肝素抗凝血 0.8 ml R80B 型自动冲洗血流变仪 (北京中勤世帝科学仪器公司) 测定 200^s、100^s、50^s、3^s 切变率下的全血粘度;取肝素抗凝血 3 ml 3 000 r/min 离心 20 min 后,取上层血浆 0.8 ml R80B 型自动冲洗血流变仪测定血浆粘度。

1.2.2 全血细胞分析 取 3.2% 枸橼酸钠抗凝血 20 μ l 红细胞稀释液 1:50 000 稀释后,全自动血球分析仪 (820 Sysmex Japan) 检测血细胞分类计数和血红蛋白 (Hb) 含量等。

1.2.3 红细胞压积 用微量压积管吸取肝素抗凝血 10 μ l 3 F2 型多功能微量高速离心机 (北京医用离心机设备中心),10 000 r/min 离心 5 min 计算红细胞压积。

1.2.4 血浆纤维蛋白原 (Fib) 及凝血酶原时间 (PT)、部分活化凝血酶原时间 (APTT) 测定 取 3.2% 枸橼酸钠抗凝血 0.5 ml 3 000 r/min 离心 10 min 取上层血浆,血小板聚集凝血因子分析仪 (IG-PABER-1 北京世帝科学仪器公司) 测定血浆 Fib 的含量及 PT、APTT。

1.2.5 血浆钙离子浓度 ($[Ca^{2+}]$) 的测定 取非抗凝血样 0.5 ml 采用美国 MEDICAL 公司生产的自动生化仪测定。

1.3 统计学分析

实验数据以均数 \pm 标准差表示,采用 SPSS1.0 统计软件进行单因素方差分析 (LSD)。

2 结果

2.1 全血粘度的变化 (表 1)

不同切变率下 (200^s、100^s、50^s、3^s),初次染毒后 30 min、6 h 组家兔全血粘度无明显变化;而未次染毒后 10 min 即见全血粘度明显低于正常,染毒后 7 d 全血粘度明显升高,14 d 时仍高于正常。

2.2 血浆纤维蛋白原含量的变化 (表 1)

初次染毒后 30 min、6 h 组家兔血浆纤维蛋白原含量无明显变化,而未次染毒后 10 min 家兔血浆纤维蛋白原浓度开始升高,持续至 14 d 时仍高于正常。

2.3 PT、APTT 时限的变化

初次染毒后 30 min、6 h 组家兔 PT、APTT 无明显延长,而未次染毒后 10 min 明显延长,而后呈现缩短的趋势,中毒后 7 d 左右方基本恢复正常,见表 1。

2.4 全血细胞计数及红细胞压积变化

末次染毒后 18 h 红细胞计数和红细胞压积明显升高,至 14 d 仍未恢复正常,见表 2。

2.5 血浆 $[Ca^{2+}]$ 变化

初次染毒后未见明显变化,至末次染毒后 10 min 血浆 $[Ca^{2+}]$ 明显降低,约维持至 24 h 见表 2。

2.6 血浆粘度的变化

初次染毒后 30 min、6 h 组家兔血浆粘度无明显变化,而未次染毒后 10 min 血浆粘度开始升高,14 d 时仍高于正常,见表 2。

3 讨论

近十年来,随着生物物理学研究进展,血液流变学取得了长足的进步,它不仅能从细胞水平、亚细胞水平,而且能从分子水平以及微观水平更客观、更准确地反映血液循环的功能状况。血液的流动性和粘滞性是血液作为一种特异性流体所拥有的最基本的物理性质,也是血液组成成分物理性质的综合表现和反映^[3]。

本研究结果显示,在急性 CO 中毒即刻,全血粘度发生了有利于微循环灌注的变化,表现为全血粘度明显下降,其可能是机体对抗缺氧的一种代偿性反应。而后即渐趋恶化,并呈现不利于脑循环的趋势,如末次染毒 24 h 后,全血粘度开始逐渐增高;红细胞计数和压积于末次染毒后 18 h 开始升高;血浆纤维

表 1 急性 CO中毒家兔不同切变率下颈静脉血全血粘度、PT APTT和 Fb的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	全血粘度 (mPa·s)				PT (s)	APTT (s)	Fib (g/L)
		200 ^{s⁻¹}	100 ^{s⁻¹}	50 ^{s⁻¹}	3 ^{s⁻¹}			
对照组	8	3.98 ± 0.56	4.41 ± 0.37	5.13 ± 0.47	13.92 ± 1.80	20.42 ± 2.36	18.72 ± 2.24	3.90 ± 0.20
初次染毒								
30 m 组	8	3.88 ± 0.24	4.25 ± 0.42	5.08 ± 0.56	12.65 ± 1.23	19.72 ± 2.12	17.93 ± 2.01	3.84 ± 0.13
6 h 组	8	3.76 ± 0.27	4.05 ± 0.26	5.01 ± 0.43	12.12 ± 1.08	18.91 ± 2.05	17.65 ± 1.98	3.80 ± 0.19
末次染毒								
10 m 组	8	3.03 ± 0.31**	3.23 ± 0.25**	3.54 ± 0.37**	8.19 ± 0.98**	32.26 ± 2.08**	31.68 ± 2.65**	4.27 ± 0.11**
6 h 组	8	3.06 ± 0.48**	3.30 ± 0.28**	3.62 ± 0.41**	8.21 ± 0.96**	32.03 ± 2.15**	32.56 ± 2.98**	4.29 ± 0.19*
12 h 组	8	3.14 ± 0.38**	3.41 ± 0.32**	3.85 ± 0.52**	9.14 ± 1.12**	30.15 ± 2.17**	29.94 ± 2.33**	4.30 ± 0.16*
18 h 组	8	3.19 ± 0.30**	3.46 ± 0.31**	3.93 ± 0.41**	9.36 ± 1.05**	28.65 ± 2.47**	28.53 ± 2.14**	4.30 ± 0.21**
24 h 组	8	3.25 ± 0.28**	3.67 ± 0.26**	3.97 ± 0.32**	10.97 ± 1.31**	26.50 ± 1.34**	26.47 ± 2.60**	4.34 ± 0.13**
3 d 组	8	4.03 ± 0.36	4.50 ± 0.37	4.97 ± 0.61	13.51 ± 1.20	23.61 ± 2.07*	23.08 ± 3.05*	4.54 ± 0.14**
7 d 组	8	5.13 ± 0.35**	5.69 ± 0.36**	6.08 ± 0.54**	18.49 ± 0.98**	20.20 ± 2.33	18.14 ± 1.79	4.99 ± 0.22**
14 d 组	8	4.14 ± 0.23*	4.89 ± 0.38*	5.76 ± 0.27*	16.01 ± 1.79*	19.61 ± 1.75	17.85 ± 1.35	4.18 ± 0.24*

与对照组比较, * P<0.05 ** P<0.01. 表 2同。

表 2 急性 CO中毒家兔全血 RBC计数、Hb含量、Hct 血浆粘度及血浆 [Ca²⁺] 浓度的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	RBC ($\times 10^{12}/L$)	Hb (g/L)	Hct (%)	血浆粘度 SHR100 (mPa·s)	血浆 [Ca ²⁺] (mmol/L)
对照组	8	5.09 ± 0.26	109.67 ± 2.31	33.67 ± 2.37	1.18 ± 0.06	3.38 ± 0.11
初次染毒						
30 m 组	8	5.01 ± 0.24	108.52 ± 2.16	32.98 ± 2.21	1.19 ± 0.05	3.36 ± 0.12
6 h 组	8	4.96 ± 0.19	108.10 ± 2.41	32.05 ± 1.85	1.20 ± 0.04	3.33 ± 0.08
末次染毒						
10 m 组	8	4.71 ± 0.29	107.00 ± 3.61	31.75 ± 1.32	1.29 ± 0.09*	2.65 ± 0.11**
6 h 组	8	4.85 ± 0.27	107.65 ± 2.23	32.27 ± 2.33	1.30 ± 0.05*	2.89 ± 0.13**
12 h 组	8	4.96 ± 0.26	108.64 ± 2.42	34.67 ± 2.27	1.30 ± 0.11*	3.01 ± 0.20**
18 h 组	8	5.58 ± 0.23*	114.62 ± 3.85*	39.05 ± 2.39*	1.31 ± 0.08**	3.12 ± 0.15*
24 h 组	8	5.67 ± 0.18*	115.33 ± 3.79*	39.27 ± 3.22*	1.32 ± 0.09**	3.15 ± 0.09*
3 d 组	8	6.00 ± 0.52**	121.00 ± 1.73**	41.40 ± 3.15**	1.34 ± 0.06**	3.26 ± 0.13
7 d 组	8	5.73 ± 0.28*	115.00 ± 1.32*	38.12 ± 3.06*	1.38 ± 0.12**	3.29 ± 0.11
14 d 组	8	5.70 ± 0.20*	115.33 ± 2.51*	37.90 ± 3.83*	1.27 ± 0.07*	3.35 ± 0.17

蛋白原也于末次染毒后逐渐增高,上述变化均持续至实验结束(14 d)。由此可见,急性 CO中毒动物所出现的上述血液流变学变化,很有可能是导致中毒后脑循环淤滞以及 DEACMP发生的病理和生化基础。

占血细胞体积 95%的红细胞是影响全血粘度高低的重要因素,红细胞数增多、压积升高,全血粘度增加。本实验中,急性 CO中毒家兔所出现的红细胞增多和血液浓缩(Hc增加)现象,可能是机体对抗缺氧的代偿性反应,但却成为中毒后全血粘度由低粘向高粘转化的主要原因。此外,全血粘度还受到血浆、血清等无形成分的影响^[3],其中以纤维蛋白原对血浆粘度影响最大。本实验动物在末次染毒后 10 m 血浆纤维蛋白原即开始升高,其峰值在第 7 天左右,至染毒后 14 d 时仍高于正常,提示中毒后血浆纤维蛋白原的持续增加亦是导致急性 CO中毒后全血粘度升高的重要原因。

生理情况下,凝血与抗凝机制处于动态平衡,以保证血液在血管内的正常流动。疾病所产生的促凝刺

激能启动或活化凝血正反馈机制,导致血栓的形成。大量研究表明^[4],全血高凝状态是许多心、脑血管疾病,如心肌梗死、脑梗塞进展期的高危因素,它的存在加速了上述疾病的发展过程。目前,早期应用抗凝药物如低分子肝素等已成为防治心脑血管疾病的重要策略,并取得了良好的疗效。本实验结果发现,在急性 CO中毒早期,染毒动物出现凝血机制的异常变化,表现为 PT和 APTT明显延长、血钙降低,持续 1~3 d 此种旨在维持正常脑循环状态的代偿性反应从理论上解释了急性 CO中毒死亡病人血液不凝的现象,也解释了动物末次染毒后不同切变率下全血粘度出现明显而短暂降低的原因^[6]。本实验还发现,在停止染毒后,延长的 PT和 APTT逐渐向正常时限恢复,而脑循环障碍的高危因素逐渐突显,如血液浓缩(RBC和 Hc持续高水平状态)、全血粘度和血浆粘度增加及血浆纤维蛋白原水平持续增高等。这些因急性 CO中毒遗留而发生的血循环异常变化,实际上也为脑内微血栓形成和脑循环障碍提供了生理和生化基础。

急性 CO中毒即刻所出现的全血低粘、低凝状态可能与中毒后脑血管扩张、脑血流增加等机体的代偿性调节反应有关,其目的是增加脑血流量^[9]、改善脑循环、提高脑组织氧供,以避免和减少脑组织因严重缺氧所发生的变性坏死。而随着 CO排除体外,机体逐渐出现全血粘度升高、微血栓形成、血流阻力增加等恶性现象,从而加剧了脑组织的灌注不良。结合迟发性脑病流行病学特点:(1)发病部位——主要集中于白质、海马、苍白球等供血比较薄弱的部位^[7];(2)高危因素——主要是老年,以及既往有高血压、冠心病及脑梗塞等心脑血管疾病的患者^[1];(3)迟发性——CO中毒后需经数日或数周的“假愈期”才出现迟发性脑病。以上均提示以血流变学变化为基础的脑循环障碍可能是诱发急性 CO中毒性迟发性脑病的关键环节。同时本实验的结果还提示,动物中毒后所出现的血液浓缩现象不支持临床上广泛应用大量利尿剂治疗急性 CO中毒的方案,因过度脱水势必会使脑血液浓缩现象进一步加重、血流阻力进一步加大、脑组织的血流灌注进一步恶化,并更易导致微血栓形成,从而促进迟发性脑病的发生。

本课题组前期的研究工作已经证实^[8],动物经 CO染毒后血浆 ET-1含量明显增加,7 d左右时达峰值,可见内皮细胞病变亦参与了本病的发生。这种在全血粘度上升基础上发生的血管收缩将进一步增加血流阻力,且利于血小板与内皮细胞黏附、白细胞向内皮细胞迁移,尤其在原有动脉粥样硬化的基础上,易

导致血栓形成,最终发生迟发性脑病。

综上所述,血液流变学、凝血功能及内皮细胞等循环系统的各个环节均参与了本病的发生发展过程,如能从降低血粘度、扩张脑血管、抗凝、改善微循环等环节入手,早期进行临床干预,对彻底攻克急性 CO中毒迟发性脑病这一临床医学难题,无疑将会展示一个新的视野,值得进一步探索。

参考文献:

- [1] Thom SR Carbon monoxide poisoning: review epidemiology patho-physiology clinical findings and treatment options including hyperbaric oxygen therapy [J]. Clin Toxicol 1989 27: 41-51
- [2] 温涛, 赵金垣, 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
- [3] 王鸿儒, 阮晓声. 血液流变学 [M]. 北京: 北京医科大学/中国协和医科大学联合出版社, 1997: 46-76
- [4] Folsom AR Cushman M Tsai M Y et al A prospective study of venous thromboembolism in relation to factor V Leiden and related factors [J]. Blood 2002 99: 2720-2725
- [5] Masahito Hirotsugu Munehiro Niwa Akhiro Takatsu Changes in blood viscosity by heparin and agatroban [J]. Thrombosis Research 2001 104: 371-374
- [6] Des Gomar H Huang Yi Lin Chris William Blockade of haem oxygenase and nitric oxide synthetase causes cortical dysfunction in sheep exposed to carbon monoxide [J]. Toxicology 2005 209: 237-243
- [7] Lapresle J Fardeau M The central nervous system and carbon monoxide poisoning: anatomical study of brain lesion following intoxication with carbon monoxide [J]. Prog Brain Res 1967 24: 31
- [8] 王耀宏, 赵金垣, 崔书杰, 等. 急性一氧化碳中毒对大鼠脑循环的影响 [J]. 中国工业医学杂志, 2003 16 (5): 257-260

· 病例报道 ·

药源性铅中毒腹绞痛误诊为阑尾炎 1例

A case report: Plumbism abdominal angina from medicine source misdiagnosed as appendicitis

焦晓敏, 唐洪伟

(1. 大连市第四人民医院职业病防治院, 辽宁 大连 116034; 2. 辽宁陆军预备役高射炮兵第二师第三团卫生队, 辽宁 大连 116000)

1 病例介绍

患者, 男, 15岁, 学生。以持续性腹痛, 间断加剧 20 d 入住我院。追问病史, 自幼患癫痫病。自述 2001年 9月至 2002年 3月 28日一直服用一种乡村医生自制的白色粉末状“偏方”, 3月 29日患者突然出现剧烈腹痛, 当地医院诊断为急性阑尾炎, 并行阑尾切除术。术后腹痛如前。4月 4日就

于市某综合性医院, 以腹痛待查住院, 给予对症治疗, 症状缓解出院。但 2 d后复发, 再次住院, 怀疑铅中毒, 检验尿铅 $4.30 \mu\text{mol/L}$, 尿棕色素 (++++)。4月 6日来我院行驱铅治疗。查体: 痛苦面容, 营养欠佳, 面色暗黄, 腹平软, 脐周压痛, 无反跳痛及肌紧张, 右下腹可见一长 4 cm 手术疤痕。实验室检查尿铅 $4.35 \mu\text{mol/L}$, 尿棕色素 (++++), 尿汞 $0.0787 \mu\text{mol/L}$, 腹部透视示肠管扩张积气明显, 未见明显液平面。腹部 B超因积气回声欠佳, 肠蠕动明显减弱。余未见明显阳性体征, 会诊排除外科疾病。最终诊断为药源性铅中毒。予口服二巯基丁二酸钠 0.5 g tid 治疗 5个疗程后症状消失, 复查尿铅正常出院。随访至今未见复发。

2 讨论

药源性铅中毒时有发生, 只要详细询问病史, 及时做好必要的检查一般不难诊断。本例误诊的主要原因有以下几点: (1) 接诊医师采集病史不详, 诊断时仅凭当时症状和经验主观臆断导致误诊。同时, 缺乏对铅中毒知识的了解及检查不细, 不能进行有效的鉴别诊断。(2) 患者迷信土方偏方治疗, 缺乏语言沟通和对病史的自述能力, 使医务人员在诊断疾病时缺乏有效的依据。