

光气急性染毒大鼠的血液流变学变化

赵赞梅^a, 郑亦沐^a, 张雁林^a, 李树强^a, 赵海燕^b

摘要:

[目的] 探讨光气染毒对大鼠血液流变学指标的影响。

[方法] 将健康成年雄性SD大鼠随机分为对照组、光气染毒组, 每个时间点6只, 每组共30只。将大鼠置于染毒箱内, 对照组吸入空气5 min, 染毒组吸入浓度为8.33 mg/L的光气5 min。在染毒后1、3、6、12、24 h, 将大鼠用质量分数为20%的乌拉坦腹腔注射麻醉后, 采集血液样本, 进行血常规、血气分析及血液流变学相关指标检测。

[结果] 染毒组大鼠吸入光气3 h后, 动脉氧分压和氧合指数出现明显下降, 6 h后达到最低点, 分别为58.67、202.30 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa), 此时氧分压达临床呼吸衰竭标准(<60 mmHg); 氧合指数达到急性肺损伤诊断标准(<300 mmHg), 接近急性呼吸窘迫综合征诊断标准(<200 mmHg)。同对照组相比, 染毒组大鼠的二氧化碳分压在各个时间点均升高, pH值的变化与氧分压和氧合指数的变化大致相同。染毒组大鼠的红细胞计数在1、3 h时明显低于对照组($P<0.01$), 6、12 h时与对照组无明显差异, 在24 h时再次低于对照组($P<0.05$); 红细胞压积在各时间点均有升高, 且在6、12 h与对照组的差异有统计学意义($P<0.01$); 血小板在各时间点均较对照组有明显降低($P<0.05$)。染毒组大鼠在不同切变率下的全血黏度均较在对照组有所升高, 特别是在6 h时, 除切变率为 $10 s^{-1}$ 外, 其余切变率下二者的差异均有统计学意义($P<0.01$)。在1 h时, 染毒组大鼠的血浆黏度有明显的升高, 之后逐渐下降, 在24 h时与对照组相比差异无统计学意义。染毒组大鼠的红细胞最大变形指数在1 h时已出现明显降低, 12 h时达到最低值, 24 h时略有回升。

[结论] 光气染毒可导致大鼠出现急性肺损伤及明显的血液流变学异常。

关键词: 光气; 中毒; 急性肺损伤; 血液流变学

引用: 赵赞梅, 郑亦沐, 张雁林, 等. 光气急性染毒大鼠的血液流变学变化[J]. 环境与职业医学, 2017, 34(11): 964-968. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2017.17369

Changes in hemorheology of rats with acute phosgene exposure ZHAO Zan-mei^a, ZHENG Yi-mu^a, ZHANG Yan-lin^a, LI Shu-qiang^a, ZHAO Hai-yan^b (a. Department of Occupational Disease b. Department of Neurology, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China). Address correspondence to ZHAO Hai-yan, E-mail: hailan200159@sina.cn · The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract:

[Objective] To investigate the effects of phosgene exposure on hemorheological indicators of rats.

[Methods] Health adult male SD rats were randomized into a control group ($n=30$) and a phosgene exposure group ($n=30$). Blood samples of rats were collected at 1, 3, 6, 12, and 24 h after 5-min air or phosgene (8.33 mg/L) inhalation and after intraperitoneal injection with 20% urethane anesthesia. Routine blood test, blood gas analysis, and hemorheological indicator detection were performed.

[Results] The levels of arterial oxygen partial pressure and oxygenation index decreased at 3 h after phosgene inhalation and reached bottom at 6 h, being 58.67 and 202.30 mmHg (1 mmHg=0.133 kPa), respectively. The arterial oxygen partial pressure at 6 h reached the clinical standard of respiratory failure (<60 mmHg); the oxygenation index at 6 h reached the diagnostic criteria for acute lung injury (<300 mmHg) and was close to the diagnostic criteria for acute respiratory distress syndrome (<200 mmHg). Compared with the control group, the exposure group showed elevated partial pressure of carbon dioxide at each designed time point, and the trend of pH was aligned with oxygen partial pressure and oxygenation index. The red blood cell counts at 1, 3, and 24 h were lower in the

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金项目(编号: 81402641)

[作者简介] 赵赞梅(1976—), 女, 博士, 主治医师; 研究方向: 职业病基础与临床; E-mail: zzmpla@163.com

[通信作者] 赵海燕, E-mail: hailan200159@sina.cn

[作者单位] 北京大学第三医院 a. 职业病科 b. 神经内科, 北京 100191

exposure group than in the control group ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), except 6 and 12 h. Packed cell volume was increased in the exposure group and showed statistical differences at 6 and 12 h compared with the control group ($P < 0.01$). Platelet count was decreased in the exposure group at all time points ($P < 0.05$). In addition, the rats administered with phosgene showed higher whole blood viscosity than the control group at varied shear rates, especially at 6 h, and except the shear rate of 10 s^{-1} , the whole blood viscosity at other shear rates showed statistical differences between the two groups ($P < 0.01$). The plasma viscosity of the exposure group was increased at 1 h, then decreased, and no difference was found at 24 h compared with the control group. The maximum erythrocyte deformability index of the exposure group was obviously decreased from 1 h, reached bottom at 12, but rebounded slightly at 24 h.

[Conclusion] Phosgene can induce acute lung injury and significant changes in hemorheological indicators in rats.

Keywords: phosgene; intoxication; acute lung injury; hemorheology

Citation: ZHAO Zan-mei, ZHENG Yi-mu, ZHANG Yan-lin, et al. Changes in hemorheology of rats with acute phosgene exposure[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2017, 34(11): 964-968. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2017.17369

光气(phosgene)，也被称为二氯碳酸(dichlorocarbonic acid)、碳酰氯(carbonyl chloride)、氯化氯甲酰(chloroformyl chloride)或氧氯化碳(carbon oxochloride)，是一种高毒类刺激性气体。它是合成多种化工产品的基础原料，广泛用于农药、染料、塑料、制药等生产领域，常因防护不当或意外泄漏导致人员中毒；同时，它也是火灾烟雾的主要成分之一。光气毒作用主要表现为损害呼吸系统，其临床特点是容易导致迟发性急性肺损伤(acute lung injury, ALI)，严重时可以引起急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)。迄今对光气中毒致肺损伤的机制见解不一，亦无特效的治疗方法，故病死率较高^[1-2]。

有研究表明，肺循环功能的恶化在ALI的发病过程中起重要作用，是其发病的启动点^[3]，但极少有研究关注光气中毒时血液循环的变化情况。因此，本研究拟观察光气染毒不同时间后大鼠血液流变学变化及其与低氧血症的关系，为光气中毒的研究提供新思路。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康成年雄性SD大鼠(200~250 g)由北京大学医学部实验动物中心提供，动物许可证号为SCXK(京)2016-0010。在实验前饲养3 d使动物适应环境，给予啮齿类动物饲料并自由饮水。

1.2 主要仪器和试剂

Rapidlab 348型血气分析仪(Bayer, 德国), MEK-6318K全自动血细胞分析仪(日本光电工业株式会社, 日本), R80型自动冲洗血流变仪(北京世帝公司, 中国), LBY-BX2型激光衍射仪(北京普利生公司, 中国)。

N,N-二甲基甲酰胺(上海阿拉丁生化科技股份

有限公司, 中国)经高效液相色谱鉴定其纯度大于99.9%(质量分数)，各项理化指标均合格；三光气(北京国药集团化学试剂有限公司, 中国)，纯度98%(质量分数)；环己烷(分析纯, 北京国药集团化学试剂有限公司, 中国)；pH值为7.4的磷酸盐缓冲液(北京中科科奥生物科技有限公司, 中国)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组及处理 将动物随机分为对照组、光气染毒组，设5个时间点，每个时间点6只，每组共30只；对照组动物置于染毒箱内吸入空气5 min，参考研究结果，将染毒组动物置于染毒箱内吸入浓度为8.33 mg/L的光气5 min^[4-5]；染毒1、3、6、12、24 h后，将动物用质量分数为20%的乌拉坦腹腔注射麻醉后，采集血液样本。

1.3.2 血气分析 在吸入或静脉注射后1、3、6、12、24 h，用肝素预处理注射器由腹主动脉取动脉血0.5 mL，摇匀，在37℃条件下用血气分析仪进行血气分析检测。目前动物无呼吸衰竭、ALI或ARDS的诊断标准，文献中均参照人的标准执行^[6]。

1.3.3 血常规测定 取全血10 μL，稀释后，用全自动血细胞分析仪进行血细胞分类、计数检测。

1.3.4 全血黏度、血浆黏度 抽取0.8 mL全血，肝素抗凝，用自动冲洗血流变仪测200、101、50、10、1 s⁻¹切变率下的全血黏度。用枸橼酸钠抗凝管收集4 mL全血，静置0.5 h，2 500 r/min低温低速离心10 min(离心半径16 cm)，取0.8 mL血浆(上层黄色液体)，用自动冲洗血流变仪测200、101、50 s⁻¹切变率下的血浆黏度。

1.3.5 红细胞变形率测定 取40 μL肝素抗凝血，加入5 mL质量分数为15%的聚乙烯吡咯烷酮中，配置成 2×10^7 个/mL的红细胞悬液，取600 μL红细胞悬液，用激光衍射仪测全血中红细胞在切变率为50~1 000 s⁻¹范

围内的最大变形指数。

1.4 统计学分析

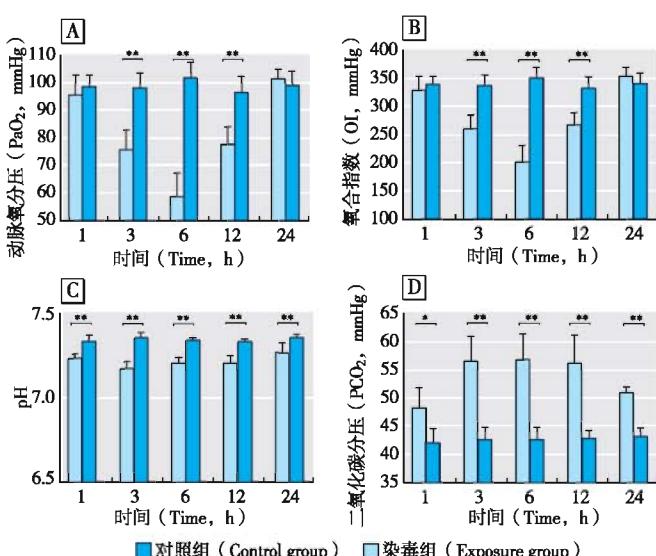
应用SPSS 13.0软件进行统计学分析, 数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间差异采用方差分析, 然后用Student-Newman-Keuls检验每两组间的差异。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 血气分析指标的变化

与对照组相比, 染毒组大鼠吸入光气3 h后, 动脉氧分压和氧合指数出现明显下降($P<0.01$)。动脉氧分压在6 h时平均值为58.67 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa), 达到临床呼吸衰竭标准(<60 mmHg)。在6 h时氧合指数达到最低点, 为202.30 mmHg, 达到ALI诊断标准(<300 mmHg), 接近ARDS诊断标准(<200 mmHg); 随后缓慢恢复; 24 h时, 接近对照组水平($t=1.334$, $P=0.214$)。见图1。

同对照组相比, 染毒组大鼠的二氧化碳分压在各个时间点均升高(1 h, $t=2.602$, $P=0.035$; 3 h, $t=5.006$, $P=0.002$; 6 h, $t=4.83$, $P=0.002$; 12 h, $t=4.395$, $P=0.003$; 24 h, $t=9.208$, $P=0.000$); pH值的变化与动脉氧分压和氧合指数的变化趋势大致相同, 但染毒组最低值出现在染毒3 h后, 同对照组比较, 染毒组pH值均有明显降低(1 h, $t=4.677$, $P=0.002$; 3 h, $t=7.113$, $P=0.000$; 6 h, $t=7.698$, $P=0.000$; 12 h, $t=5.594$, $P=0.000$; 24 h, $t=2.728$, $P=0.002$)。见图1。



[注]与对照组比较, *: $P<0.05$; **: $P<0.01$ 。

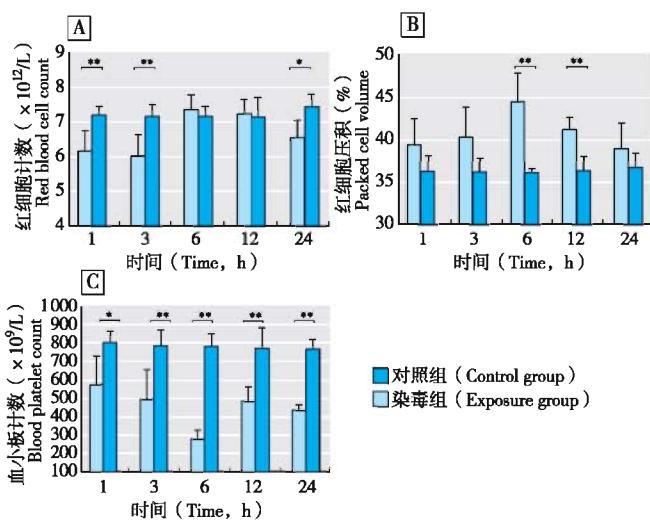
[Note]Compared with the control group, *: $P<0.05$; **: $P<0.01$.

图1 光气染毒后不同时间点大鼠血气分析指标的变化

Figure 1 The changes of blood gas analysis indicators in phosgene infected rats at different time points

2.2 红细胞计数、红细胞压积、血小板计数的变化

染毒组大鼠的红细胞计数在1、3 h时明显低于对照组(1 h, $t=3.826$, $P=0.003$; 3 h, $t=3.771$, $P=0.004$), 6、12 h时与对照组的差异无统计学意义(6 h, $t=0.895$, $P=0.397$; 12 h, $t=0.291$, $P=0.779$), 在24 h时再次低于对照组($t=3.315$, $P=0.011$)。染毒组的红细胞压积在各时间点均有升高, 且在6、12 h与对照组的差异有统计学意义(6 h, $t=5.467$, $P=0.000$; 12 h, $t=4.633$, $P=0.002$)。染毒组的血小板在各时间点均低于对照组(1 h, $t=3.243$, $P=0.010$; 3 h, $t=3.821$, $P=0.004$; 6 h, $t=11.76$, $P=0.000$; 12 h, $t=4.249$, $P=0.003$; 24 h, $t=13.24$, $P=0.000$)。见图2。



[注]与对照组比较, *: $P<0.05$; **: $P<0.01$ 。

[Note]Compared with the control group, *: $P<0.05$; **: $P<0.01$.

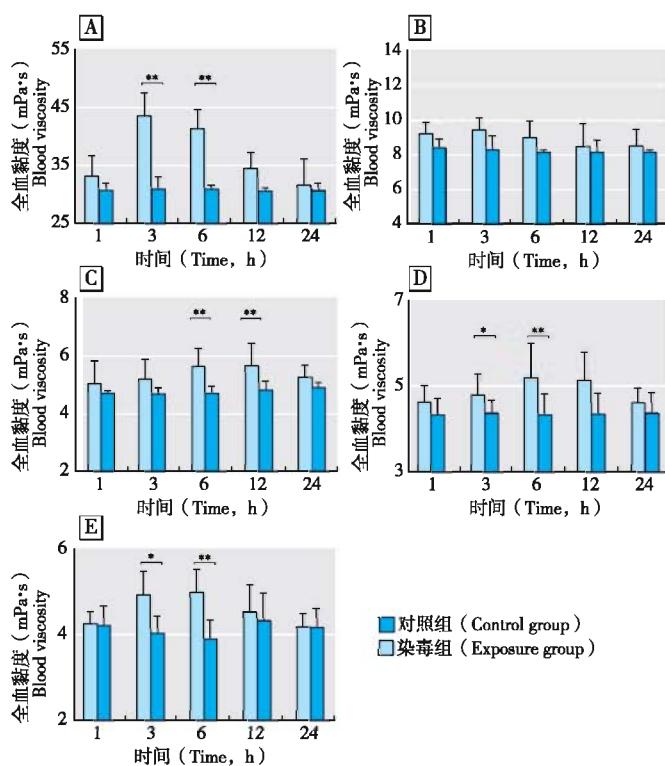
图2 光气染毒后不同时间点大鼠红细胞计数、红细胞压积、血小板计数的变化

Figure 2 The changes of red blood cell count, packed cell volume, and blood platelet count in phosgene infected rats at different time points

2.3 血液流变学指标的变化

染毒组大鼠在不同切变率下的全血黏度均较对照组有所升高, 特别是在6 h时, 除切变率为 10 s^{-1} 外, 其余切变率下二者的差异均有统计学意义(1 s^{-1} , $t=5.27$, $P=0.002$; 10 s^{-1} , $t=1.489$, $P=0.197$; 50 s^{-1} , $t=3.221$, $P=0.004$; 101 s^{-1} , $t=3.076$, $P=0.006$; 200 s^{-1} , $t=3.436$, $P=0.008$)。见图3。

血浆黏度的变化与全血黏度变化的趋势并不相同: 在1 h时, 染毒组的血浆黏度有明显的升高(50 s^{-1} , $t=2.777$, $P=0.024$; 101 s^{-1} , $t=7.05$, $P=0.000$; 200 s^{-1} , $t=3.363$, $P=0.012$), 之后逐渐下降, 在24 h时与对照组相比差异无统计学意义。见图4。

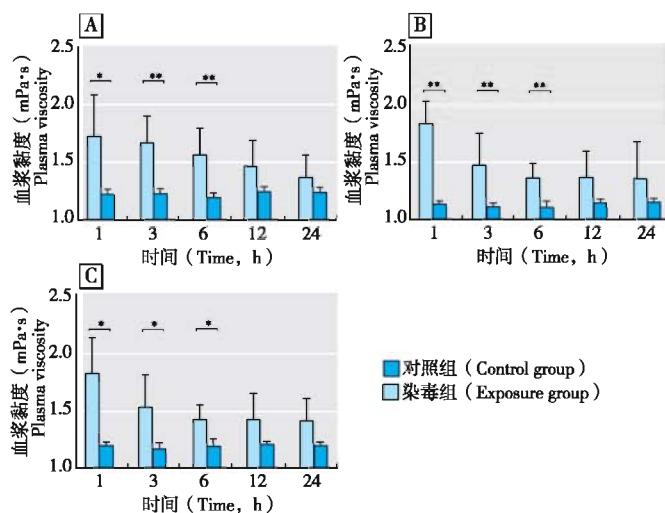


[注]与对照组比较, *: $P<0.05$; **: $P<0.01$ 。A、B、C、D、E切变率分别为 $1, 10, 50, 101, 200\text{s}^{-1}$ 。

[Note] Compared with the control group, *: $P<0.05$; **: $P<0.01$. The shear rates of A, B, C, D, and E are $1, 10, 50, 101$, and 200s^{-1} , respectively.

图3 光气染毒后不同时间点大鼠全血黏度的变化

Figure 3 The changes of blood viscosity in phosgene infected rats at different time points



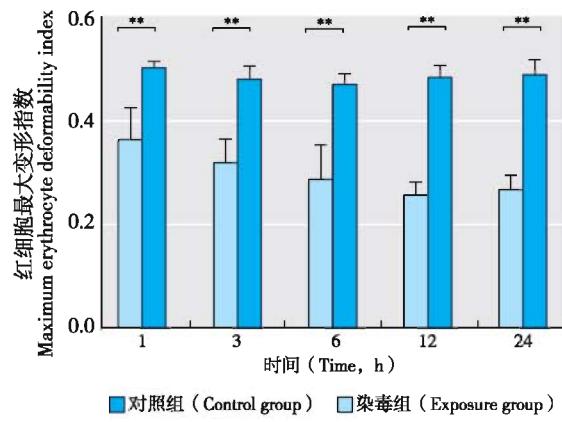
[注]与对照组比较, *: $P<0.05$; **: $P<0.01$ 。A、B、C指切变率分别为 $50, 101, 200\text{s}^{-1}$ 。

[Note] Compared with the control group, *: $P<0.05$; **: $P<0.01$. The shear rates of A, B, and C are $50, 101$, and 200s^{-1} , respectively.

图4 光气染毒后不同时间点大鼠血浆黏度的变化

Figure 4 The changes of plasma viscosity in phosgene infected rats at different time points

染毒组大鼠的红细胞最大变形指数在1 h时已出现明显降低($t=4.334, P=0.002$), 12 h时达到最低值($t=13.88, P=0.000$), 24 h时略有回升, 但仍低于对照组($t=11.67, P=0.000$)。见图5。



[注]与对照组比较, **: $P<0.01$ 。

[Note] Compared with the control group, **: $P<0.01$.

图5 光气染毒后不同时间点大鼠红细胞最大变形指数的变化

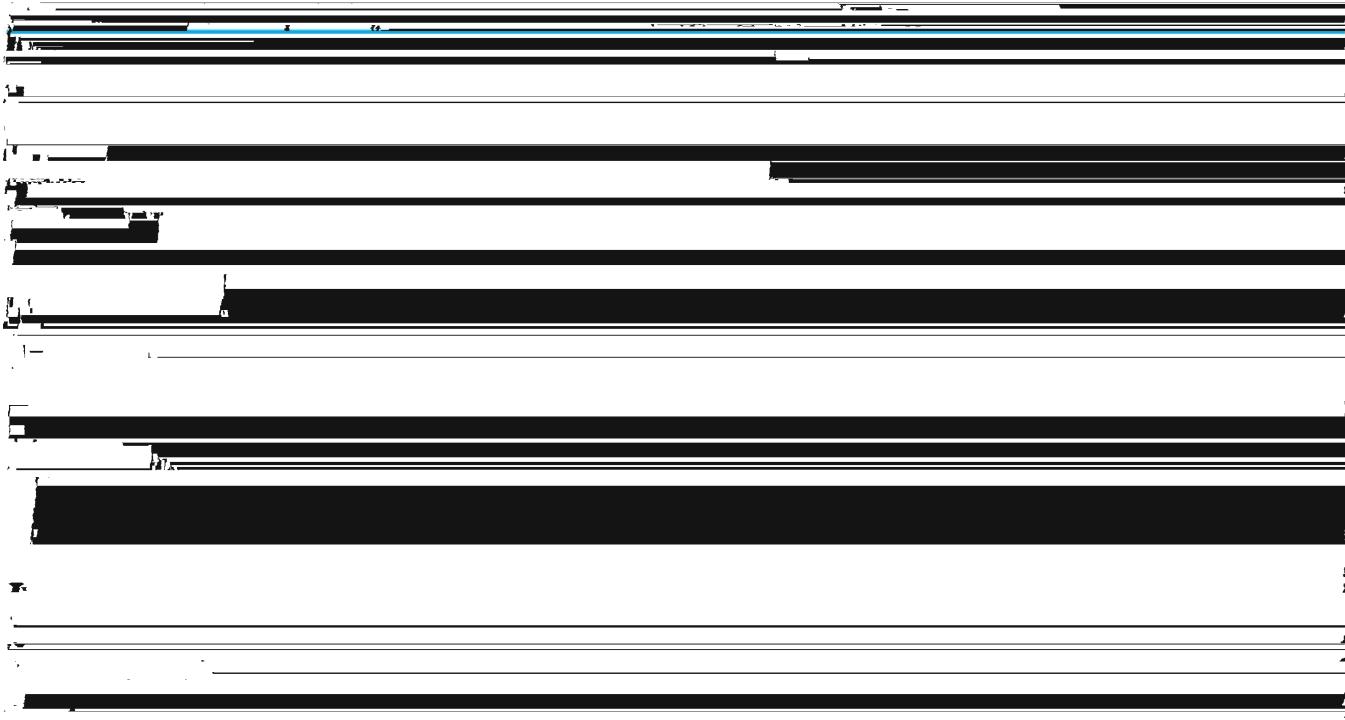
Figure 5 The changes of maximum erythrocyte deformability index in phosgene infected rats at different time points

3 讨论

光气中毒机制学说颇多, 诸如酰化作用、直接作用、盐酸作用、神经反射作用等, 各有实验依据, 但任何一种假说都不能圆满地解释光气致ALI的发生与发展过程^[1-2]。

光气中毒患者的临床特点是难以纠正的低氧血症, 即ALI, 其中并不涉及通气功能的障碍; 因此, 其ALI主要是肺内血流变化, 致使通气/血流比例失调, 从而出现低氧血症。已有研究结果表明, 发生ALI或ARDS时, 患者全身及肺内凝血和纤溶系统异常, 存在明显的高凝状态^[7]。

本研究发现, 光气染毒后大鼠动脉血氧分压、氧合指数、pH值明显下降, 在3~6 h时达到高峰, 这与既往的研究结果一致^[8]。在光气导致的ALI模型中, 不同切变率下全血黏度在3~6 h时有明显的升高。血液黏度主要取决于血浆黏度、血细胞压积、红细胞变形性等因素, 本身缺乏特异性; 血浆黏度主要决定于血浆中化学成分的多寡; 红细胞的变形性是影响高切变率下全血黏度的主要因素, 也是良好微循环灌注的必要条件, 同时还是红细胞寿命的决定因素; 红细胞最大变形指数可以反映其变形性。本实验发现, 大鼠发生ALI时血浆黏度有明显的升高, 红细胞压积有明显的上升, 而红细胞变形指数有明显下降, 同时血



小板的数量急剧、持续降低。

因此推测，光气致 ALI 时，循环功能异常主要由以下原因引起：(1)低氧血症引起组织水肿、水分外渗、血管内容量减少，血浆黏度增加；(2)红细胞变形能力降低、红细胞压积增加，导致红细胞间缝隙缩小，使血液的黏度增加，流动性降低；(3)ALI 时高凝状态，导致大量血小板性微血栓的形成，堵塞毛细血管，阻碍血液流动。以上变化的最终结果是通气/血流比例失调，导致低氧血症。

单纯的通气/血流比例失调对二氧化碳分压的影响甚微，但本实验中观察到染毒组大鼠的二氧化碳分压在各个时间点均较对照组升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)，这可能与组织水肿导致呼吸膜厚度增加、微血栓形成及血管阻塞导致有效循环减少有关。

综上所述，循环障碍在光气致 ALI 的发生发展中起到不可忽视的作用，应该对其具体机制进行深入的探索研究，为光气中毒的治疗打开新窗口提供新思路。但大鼠与人存在种属差异，同时本实验动物数量较少，因此所得结论需要进一步验证。

参考文献

[1]Plahovinsak JL, Perry MR, Knostman KA, et al. Characterization

[J]. Inhal Toxicol, 2015, 27(14): 832-840.

[2]Filipezak PT, Senft AP, Seagrave J, et al. NOS-2 inhibition in phosgene-induced acute lung injury [J]. Toxicol Sci, 2015, 146(1): 89-100.

[3]Poole LG, Massey VL, Siow DL, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 is critical in alcohol-enhanced acute lung injury in mice [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2017, 57(3): 315-323.

[4]Diller W F. Pathogenesis of phosgene poisoning [J]. Toxicol Ind Health, 1985, 1(2): 7-15.

[5]Mehlman M A. Health effects and toxicity of phosgene: scientific review [J]. Def Sci J, 1987, 37(2): 269-279.

[6]袁震, 赵杰, 申捷. 血管生成素-2与血管生成素-1比值在大鼠光气急性肺损伤中的变化 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2011, 29(8): 608-610.

[7]Amin Z, Rahmawati F N. Recent insight into potential acute respiratory distress syndrome [J]. Saudi Med J, 2017, 38(4): 344-349.

[8]丁娇艳, 赵远鹏, 叶枫, 等. L-精氨酸治疗光气中毒大鼠肺损伤的实验研究 [J]. 第三军医大学学报, 2016, 38(24): 2580-2586.

(收稿日期: 2017-05-31; 录用日期: 2017-08-10)