

· 论著 · 系统性疾病 ·

血液灌流治疗对有机磷化合物中毒后中性粒细胞吞噬和代谢活性以及促炎细胞因子产生的影响*

宋诗源^{1*} 刘慧¹ 付龙¹ 屠淑敏¹ 于梦龙²

1.商丘市第一人民医院(河南 商丘 476000)

2.河北医科大学(河北 石家庄 050017)

【摘要】目的 探讨血液灌流治疗对有机磷化合物中毒后中性粒细胞吞噬和代谢活性以及促炎细胞因子产生的影响。**方法** 选取2021年4月至2024年4月在我院治疗的68例有机磷化合物中毒患者作为研究对象,随机分为观察组(n=34例)和对照组(n=34例),其中观察组患者接受血液灌流治疗,对照组患者给与常规治疗。比较两组患者临床恢复情况,治疗前后中性粒细胞吞噬率、吞噬指数、活性氧代谢水平和促炎细胞因子水平。**结果** 观察组患者治疗后CNS样症状消失时间、自主意识恢复时间、胆碱酯酶活力提高时间、住院时间、促炎细胞因子IL-8和TNF- α 水平均低于对照组(P<0.05);观察组患者中性粒细胞吞噬率、吞噬指数、活性氧代谢水平均高于对照组(P<0.05)。**结论** 血液灌流治疗可有效治疗有机磷化合物中毒,促进中性粒细胞吞噬和代谢活性,抑制促炎因子的产生。

【关键词】 血液灌流; 有机磷化合物中毒; 中性粒细胞吞噬; 代谢活性; 促炎细胞因子

【中国分类号】 R135.1

【文献标识码】 A

【基金项目】 国家自然科学基金项目(82372198); 商丘市科技计划项目(2023018)

DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2026.2.048

Effects of Hemoperfusion Therapy on the Phagocytosis and Metabolic Activity of Neutrophils and Proinflammatory Cytokine Production after Organophosphorus Compound Poisoning*

SONG Shi-yuan^{1*}, LIU Hui¹, FU Long¹, TU Shu-min¹, YU Meng-long².

1.The First People's Hospital of Shangqiu, Shangqiu 476000, Henan Province, China

2.Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, Hebei Province, China

Abstract: Objective To investigate the effects of hemoperfusion therapy on the phagocytosis and metabolic activity of neutrophils and the production of proinflammatory cytokines after organophosphorus compound poisoning. **Methods** 68 patients with organophosphate poisoning treated in our hospital from April 2021 to April 2024 were randomly divided into an observation group (n=34) and a control group (n=34). Patients in the observation group received hemoperfusion treatment, while patients in the control group received conventional treatment. Compare the clinical recovery status of two groups of patients, including neutrophil phagocytosis rate, phagocytic index, reactive oxygen species metabolism level, and pro-inflammatory cytokine level before and after treatment. **Results** After treatment, the disappearance time of CNS-like symptoms, the recovery time of autonomous consciousness, the recovery time of cholinesterase activity, the length of hospital stay, and the levels of pro-inflammatory cytokines IL-8 and TNF- α in observation group were lower than those in control group (P<0.05). Neutrophil phagocytosis rate, phagocytosis index and active oxygen metabolism level in observation group were higher than those in control group (P<0.05). **Conclusion** Hemoperfusion therapy can effectively treat organophosphorus poisoning, promote neutrophil phagocytosis and metabolic activity, and inhibit the production of proinflammatory factors.

Keywords: Hemoperfusion; Poisoning of Organophosphorus Compounds; Neutrophil Phagocytosis; Metabolic Activity; Proinflammatory Cytokines

有机磷农药中毒的方法通常是口服,其次是呼吸道和皮肤接触^[1]。口服有机磷农药可抑制胆碱酯酶活性,使大量乙酰胆碱(acetylcholine, ACh)聚集,引起胆碱能神经兴奋后衰竭的临床综合征,大量乙酰胆碱诱导患者发生血管痉挛和组织缺氧缺血,导致大量炎症介质的释放和器官功能障碍综合征^[2]。然而,有机磷化合物中毒后单核细胞吞噬系统的吞噬和代谢活性的变化的产生机制尚不清楚。中性粒细胞是第一个被招募到感染部位的免疫细胞类型,一旦被激活,中性粒细胞通过激活烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶复合物,产生大量的超氧化物,过氧化氢和其他活性氧(reactive oxygen, ROS)的前体^[3]。而且,有机磷中毒患者体内毒素的蓄积会导致

中性粒细胞吞噬功能障碍。血液灌流(hemoperfusion, HP)是急性中毒患者体外治疗的重要方式之一,其主要清除高分子量、高脂溶性和分布体积大的毒素。因此,其适用于有机磷化合物中毒患者的救治^[4]。本研究回顾了2021年4月至2024年4月在我院治疗的68例有机磷化合物中毒患者作为研究对象,对比接受血液灌流治疗患者和常规治疗患者治疗后的临床恢复指标,治疗前后吞噬指数、活性氧代谢水平和促炎细胞因子水平,以期为临床治疗有机磷化合物中毒奠定理论基础。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取2021年4月至2024年4月在我院治疗的68例

【第一作者】宋诗源,女,主治医师,主要研究方向:急诊急救。E-mail: song8796526@126.com

【通讯作者】宋诗源

有机磷化合物中毒患者作为研究对象。所有患者均符合有机磷化合物中毒的诊断分类标准,且所有患者全血乙酰胆碱酯酶(acetylcholin esterase, AchE)活性均<30%。本研究获得了所有患者家属的知情同意。

1.2 方法

1.2.1 实验分组 将纳入研究的68例患者随机分为观察组(n=34)和对照组(n=34),其中观察组患者实施血液灌流治疗,对照组患者实施常规治疗。

对照组患者给予常规治疗,包括洗胃、导泻、补液、维持水电解质平衡。予以阿托品、长托宁、解磷定为常规治疗。如果出现与通气相关的适应症,立即给予机械通气;如出现急性呼吸衰竭,动脉氧分压(PaO₂)<8.00 kPa(60mm Hg)、二氧化碳分压(PaCO₂)升高则表明出现肺水肿所致急性呼吸窘迫综合征。在治疗过程中对于严重心律失常、中毒性脑病、脑水肿、脑疝患者,应给予对症治疗,加强生命支持^[5]。

观察组患者在常规治疗的基础上加行血液灌流。建立有效的临时血管通路,采用肝素钠抗凝,肝素负荷剂量常用为0.5~1mg/kg。使用HA330健凡一次性灌流耗材,血液灌流的血流量设定为100~160 mL/min^[6]。

1.2.2 两组患者治疗后临床恢复指标比较 临床恢复指标包括中枢神经系统(central nervous system, CNS)样症状消失时间、自主意识恢复时间、胆碱酯酶活力提高时间和住院时间。

1.2.3 两组患者治疗前后中性粒细胞吞噬率和吞噬指数比较 所有患者治疗前10min及结束治疗后10min分别采集静脉血6mL,测定中性粒细胞吞噬率和吞噬指数。分离患者的中性粒细胞,将血样与等体积的Hanks溶液(pH=7.4)混合,在不连续的Ficoll梯度(1.077和1.119g/mL)上分层,并在20°C下以400 rpm的转速离心30min,分别从Ficoll层的顶部和界面收集中性粒细胞,然后用Hanks溶液洗涤细胞两次。在吞噬实验中,将1×10⁵个粒细胞加入到300μL的Hanks液(含5%热灭活的人AB血清)中,置于载玻片孔中,使细胞在室温下粘附30 min。随后,将非贴壁细胞水洗去,贴壁细胞与FITC-OZ(3×10⁶/孔)在300μL Hanks溶液中孵育,37 °C, 5% CO₂/95%湿化空气中孵育60min。用抗CD14单克隆抗体标记细胞,然后用免疫球蛋白G-偶联Dylight 594荧光染料标记细胞。用4', 6'-二氨基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)染色中性粒细胞,然后将载玻片从室中取出进行显微镜观察。使用

Axioplan荧光显微镜在随机选择的显微镜视野中观察细胞,测定FITC-OZ/细胞的数量。其中吞噬率=100个中性粒细胞中吞噬细菌的细胞数/100×100%。吞噬指数=100个中性粒细胞中吞噬细菌的总数/100×100%^[7]。

1.2.4 两组患者治疗前后中性粒细胞活性氧代谢水平比较 中性粒细胞(106/mL)在含或不含甘氨酸(glycine, Gly)的4-羟乙基哌嗪乙磺酸[4-(2-Hydroxyethyl)piperazine-1-ethanesulfonic acid, HEPES]溶液中于37°C中孵育10min,最后2min加入5μg/mL的Oxyburst-BSA,测量基础ROS释放,然后用fMLP或PMA刺激,当化合物在488nm处激发时,通过在530nm处发出的荧光持续增加来检测细胞外ROS的外观,测量最大荧光增加率以评估活性氧(reactive oxygen species, ROS)的释放量,并以在相同中性粒细胞池中不含Gly时测量的速率的百分比表示。

1.2.5 两组患者治疗前后促炎细胞因子水平比较 晨起抽取空腹3mL肘静脉血,并以2600r·min⁻¹的离心速度16min,酶联免疫吸附法测定白细胞介素-8(IL-8),肿瘤坏死因子-α(TNF-α)。

1.3 统计学方法 采用SPSS 20.0统计软件;计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较用独立样本t检验;计数资料用(%)表示,组间比较用 χ^2 分析;P<0.05为差异有统计意义。

2 结果

2.1 两组患者治疗后临床恢复指标比较 观察组患者治疗后CNS样症状消失时间、自主意识恢复时间、胆碱酯酶活力提高时间和住院时间均低于对照组,差异有统计学意义(P<0.05),见表1。

2.2 两组患者治疗前后中性粒细胞吞噬率和吞噬指数比较 两组患者治疗前中性粒细胞吞噬率和吞噬指数比较,差异无统计学意义(P>0.05);治疗后观察组患者中性粒细胞吞噬率和吞噬指数均高于对照组(P<0.05),见表2。

2.3 两组患者治疗前后中性粒细胞活性氧代谢水平比较 两组患者治疗前中性粒细胞活性氧代谢水平比较,差异无统计学意义(P>0.05);治疗后观察组患者中性粒细胞活性氧代谢水平高于对照组(P<0.05),见表3。

2.4 两组患者治疗前后促炎细胞因子水平比较 两组患者治疗前促炎细胞因子IL-8和TNF-α水平比较,差异无统计学意义(P>0.05);治疗后观察组患者促炎细胞因子IL-8和TNF-α水平均低于对照组(P<0.05),见表4。

表1 两组患者治疗后临床恢复指标比较(n=68)

分组	CNS样症状消失时间(h)	自主意识恢复时间(h)	胆碱酯酶活力提高时间(h)	住院时间(d)
观察组(n=34)	8.05±0.16	51.12±1.08	10.87±1.68	7.36±0.25
对照组(n=34)	13.23±0.43	80.56±2.07	16.23±1.14	10.34±0.66
t	22.990	21.568	20.967	19.359
P	<0.001	<0.001	<0.001	0.001

表2 两组患者治疗前后中性粒细胞吞噬率和吞噬指数比较(n=68)

分组	吞噬率(%)		吞噬指数	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组(n=34)	58.05±2.12	71.25±2.11	1.56±0.09	3.19±0.11
对照组(n=34)	58.95±3.14	63.78±0.16	1.63±0.25	2.34±0.35
t	0.283	15.296	0.202	22.426
P	0.561	<0.001	0.795	<0.001

表3 两组患者治疗前后中性粒细胞活性氧代谢水平比较(n=68)

分组	治疗前(%)	治疗后(%)
观察组(n=34)	23.25±1.13	58.33±2.95
对照组(n=34)	24.23±0.69	40.37±0.65
t	0.275	32.371
P	0.397	<0.001

表4 两组患者促炎细胞因子比较(n=68)

分组	IL-8(μg/mL)		TNF-α(μg/mL)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组(n=34)	61.15±0.12	31.28±0.21	41.22±0.23	20.49±0.18
对照组(n=34)	62.46±0.27	50.96±0.34	41.31±0.29	33.78±0.16
t	0.720	32.854	0.663	26.583
P	0.354	<0.001	0.458	0.001

3 讨论

近年来,有机磷化合物中毒患者显著增加,且没有特定的解毒剂。因此,为了更有效地抢救中毒患者,国内一些医院在急诊科实施了血液净化技术^[8]。在血液净化成为急诊医生独立执行的标准做法之前,HP仅在血液净化室中可用,我们需要将患者转移到血液灌流室,延迟了HP救治时间^[12]。在本研究中,我们观察到HP对有机磷化合物中毒有较好的治疗效果,早期HP治疗对病情进展有显著的阻断和预后改善作用。中性粒细胞是免疫系统不可或缺的一部分,对有毒物质的侵害会引发最初的炎症反应。在中毒情况下,它们可以被激活并被动员到损伤部位,从而导致炎症级联和随后的组织损伤^[9-11]。迄今为止,血液灌流技术主要用于急性、慢性、严重有机磷中毒,在本研究中,观察组采用血液灌流治疗,血液灌流能充分清除脂溶性毒物或与血浆蛋白结合的毒物,尤其是脂溶性有机磷农药,尽可能多地清除血液中的毒物,改善患者的临床治疗效果。有研究报道有机磷化合物中毒进行血液灌流可改善患者预后,同时提高中性粒细胞吞噬功能,部分程度上增强了免疫功能,减少感染的机会,因此相关的感染性炎症亦随之减少^[13-14]。本研究显示,血液灌流后的患者CNS样症状消失时间、住院时间、促炎细胞因子IL-8和TNF-α水平均显著低于对照组;观察组患者吞噬指数、吞噬率、活性氧代谢水平均显著高于对照组。有机磷化合物中毒致器官衰竭可能与有机磷农药的直接作用和间接作用引起的二次损害有关。由于早期呼吸衰竭、脑水肿、缺氧,机体产生损伤效应,释放内毒素和炎症介质,损害机体脏器^[15]。早期血液灌流促进内毒素的消除和炎症介质的吸附,减少全身炎症反应,迅速恢复胆碱酯酶活性,因此血液灌流后治疗后促炎细胞因子水平显著降低^[16]。

笔者分析,经过血液灌流治疗后,有机磷化合物中毒患者的症状显著缓解。血液灌流有效清除了体内残留的有机磷物质,总体治疗效果积极,为后续中性粒细胞功能及细胞因子水平分析奠定了良好基础。试验结果显示,血液灌流治疗后,有机磷化合物中毒患者的中性粒细胞吞噬活性显著增强。与治疗前相比,吞噬率及吞噬指数均有明显提升,表明血液灌流能有效改善中毒导致的中性粒细胞功能障碍。而且,血液灌流治疗后,中毒组中性粒细胞代谢活性显著增强,这是因为呼吸爆发强度提升及糖酵解速率加快。与对照组相比,治疗组的代谢指标均有明显改善,提示血液灌流能有效促进中性粒细胞代谢功能的恢复。此外,有机磷化合物中毒后,患者体内促炎细胞因子TNF-α、IL-6等水平显著升高。经过血液灌流治疗后,这些细胞因子的水平有所下降,表明血液灌流有助于减轻炎症反应。我们推测,血液灌流治疗显著提高了有机磷化合物中毒后中性粒细胞吞噬和代谢活性,并降低了促炎细胞因子水平。这一结果与预期目标相符,表明血液灌流能有效改善中毒后的

免疫功能和炎症反应,其机制与血液灌流治疗通过清除血循环中的炎症介质和有害物质,改善中性粒细胞吞噬和代谢活性,降低促炎细胞因子释放,从而恢复和维持中性粒细胞正常功能,因此建议将血液灌流作为此类中毒治疗的重要手段。

本研究存在一定的局限性。首先,样本量较小,本研究结果的可靠性受到影响。其次,研究主要关注血液灌流的短期效果,对长期影响缺乏深入分析。此外,未考虑个体差异对治疗效果的影响。未来研究可进一步探索血液灌流治疗在不同有机磷化合物中毒模型中的具体机制,评估其对中性粒细胞功能的长期影响,并深入研究促炎细胞因子调控网络。

综上所述,本研究验证了在常规治疗基础上进行血液灌流可有效治疗有机磷化合物中毒,促进中性粒细胞吞噬和代谢活性,抑制促炎因子的产生,值得临床推广应用于治疗有机磷化合物中毒患者。

参考文献

- 蒋召彬, 龚素玲, 魏涛, 等. 急性有机磷农药中毒患者的救治与护理研究进展[J]. 当代护士(下旬刊), 2021, 28(12): 32-35.
- 李响. 急性有机磷农药中毒患者血糖、白细胞、CRP和乙酰胆碱酯酶的变化及其临床意义[J]. 系统医学, 2021, 6(16): 53-55.
- Hulsebus HJ, Najarro KM, McMahan RH, et al. Ethanol intoxication impairs respiratory function and bacterial clearance and is associated with neutrophil accumulation in the lung after streptococcus pneumoniae infection[J]. Front Immunol, 2022, 13: 884719.
- 姚兵明, 温立强. 超早期血液灌流对重度有机磷农药中毒患者急诊救治效果的影响[J]. 岭南急诊医学杂志, 2024, 29(5): 535-537.
- Zhang M, Zhang W, Zhao S, et al. Hemoperfusion in combination with hemofiltration for acute severe organophosphorus pesticide poisoning: A systematic review and meta-analysis[J]. J Res Med Sci, 2022, 27: 33.
- 俞春梅, 王蕾, 陈芬芬, 等. 血液灌流对重度有机磷农药中毒伴心肌损伤患者心肌酶谱和炎症指标变化的影响[J]. 西部医学, 2024, 36(9): 1371-1375.
- Pradeep U, Chiwhane A, Acharya S, et al. The role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in predicting outcomes of acute organophosphorus poisoning: a comprehensive review[J]. Cureus, 2024, 16(5): e60854.
- 兰玲, 蔡平香, 杨沁博, 等. 循证干预结合血液灌流及透析治疗急性中毒的效果分析[J]. 罕少疾病杂志, 2024, 31(3): 111-113.
- 赵景芹, 张颖, 王殿林, 等. 纳洛酮治疗对急性酒精中毒患者临床疗效、肝功能及β-EP、MDA水平的影响[J]. 罕少疾病杂志, 2024, 30(1): 52-54.
- 郑文川, 钟献阳, 顾银中, 等. 胸部CT肺部炎症指数联合乳酸、NLR在新冠肺炎预后中的临床价值[J]. 中国CT和MRI杂志, 2024, 22(4): 45-48.
- 明辉, 刘辉, 赵文献. 重症肺炎患者HRCT图像特征及诊断价值分析[J]. 中国CT和MRI杂志, 2024, 22(7): 63-65.
- 谭赵根, 甘泉, 吴金峰, 等. 血液灌流对重症有机磷中毒患者心肌酶、抢救成功率的影响[J]. 中国医学创新, 2024, 21(27): 32-36.
- 程欣, 杨一红, 李睿杰, 等. 外周血淀粉酶、NLR、胆碱酯酶水平变化与有机磷农药中毒病情及预后的关系分析[J]. 临床和实验医学杂志, 2023, 22(20): 2181-2184.
- Zhang M, Zhang W, Zhao S, et al. Hemoperfusion in combination with hemofiltration for acute severe organophosphorus pesticide poisoning: a systematic review and meta-analysis[J]. J Res Med Sci, 2022, 27: 33.
- Bhusal S, Bhandari R, Dahal S, et al. Organophosphorus poisoning among patients admitted to the intensive care unit of the department of internal medicine in a tertiary care centre: a descriptive cross-sectional study[J]. JNMA J Nepal Med Assoc, 2022, 60(253): 766-769.
- Yao Z, Wang P, Fu Q, et al. Efficacy and safety of plasma exchange combined with hemoperfusion in the treatment of organophosphorus poisoning: a meta-analysis[J]. Blood Purif, 2023, 52(6): 578-590.

(收稿日期: 2025-02-03)

(校对编辑: 韩敏求)