硫化氢吸入中毒肺毒理学及救治方案研究

欧阳子倩 余争平 (第三军医大学卫防系毒理学教研室)(630038)

提 要 应用支气管肺泡灌洗术、超速离心、光镜和电镜技术对大鼠硫化氢吸入中毒肺毒理学进行了研究。以支气管肺泡灌洗液(BALF)中的酶活性改变(LDH、AKP、ACP、ACE)作为细胞损伤的指标;BALF 中白细胞数的变化作为炎症反应的指标;蛋白浓度和伊文思蓝浓度的改变作为通透性变化的指标。此外,还对硫化氢所致的脂质过氧化及天然抗氧化系统的作用,能量物质的受损以及 BALF 中磷脂含量的变化进行了研究,结合光镜和电镜观察,所得结果表明:(1)硫化氢对肺有强烈的细胞毒作用,因而导致肺各型细胞和肺组织严重损伤,并出现明显的肺水肿;(2)硫化氢所致的肺水肿是多种因素综合作用造成的;(3)生化改变较之病理变化出现早,恢复快。

对硫化氢吸入中毒的防治药物进行了筛选,证明高铁血红蛋白形成剂对小鼠、家兔、犬均有显著效果,但不能预防或减轻肺损伤;伍用激素、自由基清除剂、血管活性物质对减轻和促进肺损伤的恢复有良好作用。

根据实验研究结果,提出了硫化氢吸入中毒的救治方案。

关键词 肺/损伤;肺水肿;硫化氢/中毒;过氧化脂质类;肺泡表面活性剂

硫化氢(H_2S)俗称"阴沟气",是广泛存在于自然界和若干工作场所(化工、油气井、鞣革、制毡、造纸、化粪池)具有特殊腐蛋臭味的无色剧毒气体。经呼吸道吸入可引起中毒者迅速死亡,而肺是 H_2S 中毒的主要靶器官。文献报道多为临床中毒病例,对肺的毒理作用的研究较少见。本文目的是在阐明 H_2S 吸入中毒所致肺损伤的性质及肺水肿发生机制的基础上,提出合理的救治方案,以提高 H_2S 吸入中毒的救治水平,而后者是目前有待于进一步完善和急需解决的问题[1-3]。

1 实验材料和方法

本文实验材料和方法按文献4~12进行。

2 结果

2.1 硫化氢肺毒理学

2.1.1 硫化氢对肺的细胞毒作用

大鼠(n =90) H_2S 0、100、200ppm. 3h 吸入中毒,动态分析支气管肺泡灌洗液(BALF)中反映细胞损伤的酶学指标(乳酸脱氢酶,LDH;碱性磷酸酶,AKP;酸性磷酸酶,ACP;血管紧张素转换酶,ACE),蛋白质、唾液酸、总细胞数、嗜中性多形核白细胞(PMN)、肺泡吞噬细胞(PAM),结合光镜和电镜观察,发现 H_2S 吸入 3h 后立即(0 h)出现明显的酶学、蛋白质、唾液酸及细胞学和组织学改变;6~12h 生化指标改变最为明显,120h 恢复正常。实验结果表明 H_2S 对肺组织细胞有强烈的细胞毒作用;其损伤程度与吸入 H_2S 的浓度有关;生化指标的改变较组织学改变出现早,恢复快[5]。

2.1.2 肺亚细胞结构损伤

取 H_2S 中毒大鼠肺(n =64)制备肺匀浆并低温超速离心,分离各亚细胞成分。测定血清及亚细胞结构中线粒体、微粒体、细胞核及胞浆中 LDH、ACP、CPK、Na^+K^+ATP 酶活性变化。结果表明,H_2S 吸入后亚细胞水平的肺损伤具有发生快、维持时间长等特点。中毒后3h 溶酶体、线粒体破裂,细胞能量代谢抑制,细胞破裂及血清酶活性增高;12h 亚细胞损伤达高峰,随后逐渐恢复,72h 恢复至正常水平。血清酶活性变化与亚细胞水平变化高度相关,提示血清酶变化源于肺损伤。测定血清酶活性也能较好地反映亚细胞水平的肺损伤[6]。

2.1.3 肺病理形态改变

应用光镜及电镜,观察 H_2S100ppm. 3h 大鼠(n = 30)吸入中毒肺的病理变化。结果表明 H_2S 对肺有广泛的损伤作用。病变累及支气管上皮、肺泡上皮、肺血管

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

内皮及肺间质。肺水肿是 H_2S 急性肺损伤的重要特征。基本病理变化为：①广泛的肺血管损伤导致肺水肿与肺出血；②肺泡上皮及支气管上皮细胞改变尤为明显；③肺间质炎症改变、炎细胞退变及间质结缔组织增生。这些病变随 H_2S 中毒时间推移而不同[7]。

2.1.4 硫化氢吸入中毒肺水肿发生机制

2.1.4.1 肺微血管通透性增高

硫化氢250ppm. 3h 大鼠(n =96)吸入后肺血通透性(PMVP，以 BALF 中及无血肺伊文思蓝含量增高表示)改变与中毒性肺水肿的发生与发展呈相应的动态变化过程。肺含水量与 PMVP 改变呈负相关(r = -0.87，P <0.01)，而细胞学变化及蛋白质漏出均与 PMVP 改变显著正相关 (r 分别为 0.83，0.98，P < 0.01)，表明 PMVP 增强导致水、蛋白质进入肺泡而发生肺水肿。此与病理观察结果是一致的[7,8]。

2.1.4.2 脂质过氧化作用增强及天然抗氧化系统削弱

大鼠(n =84)H_2S 100、200ppm. 3h 吸入中毒，肺组织及 BALF 中丙二醛(MDA)显著增加；BALF 中蛋白浓度、有核细胞数均明显增高。相关分析表明肺组织 MDA 含量与 BALF 中蛋白浓度、有核细胞数显著相关(r 值分别为0.71，0.75，P <0.01)。说明 BALF 中蛋白浓度和有核细胞数与硫化氢引起脂质过氧化导致组织和细胞损伤有关。同时，体内天然抗氧化系统 SOD、GSH 及 VE 含量迅速降低或抑制，且维持时间较长[9]。各项指标的变化程度与吸入 H_2S 的剂量有关[9]。

2.1.4.3 肺毛细血管内皮细胞损伤

大鼠(n =90) H_2S 100、200ppm. 3h 吸入中毒后 0h，BALF 中 ACE 活性即明显增高，1h 达峰值，72h 仍显著高于正常值，至第5天接近正常。BALF 中 ACE 活性变化与蛋白含量呈显著正相关 (r =0.87，P < 0.01)。

ACE 活性变化与肺病理形态早期变化也基本一致。中毒后0h 即可见肺各叶血管扩张充血，3h、6h 病变加重，充血明显，管壁水肿，结构疏松，血管内皮细胞肿胀，线粒体退变，细胞出现较多深浅不一的裂隙[5,7]。

2.1.4.4 肺泡表面活性物质受损

测定了大鼠(n =90)H_2S 中毒后 BALF 磷脂含量的变化，中毒后早期(0h，1h)增高。6h 降至对照水平，3d、5d 再次增高。结合电镜观察，0h 肺泡腔内即有少数表面活性物质碎片(SFD)，3h 肺泡腔内 SFD 及水肿液明显可见。肺泡腔内水肿液及 SFD 主要见于中毒后 2d、3d，说明 BALF 中磷脂含量的变化能够反映 SF 的受损情况，并表明 SF 受损参与了中毒性水肿的形成[5,7]。

2.1.4.5 能量物质受损

大鼠(n =90)H_2S 吸入中毒，无论是肺匀浆 ATP 酶活性或肺细胞线粒体 Na^+K^+ATP 酶及 CPK 活性早期均明显抑制。如肺匀浆 ATP 酶活性在吸入 H_2S (100ppm. 3h)后0h、1h、6h 及12h 分别降至原有水平的 15.5%，15.8%，57.7%和77.5%，且降低的程度与剂量大小有关；线粒体 Na^+K^+ATP 酶及 CPK 活性中毒后3h 显著降低，12h 降至最低水平。ATP 酶、Na^+k^+ ATP 酶、CPK 活性变化能灵敏地反映细胞能量代谢状况。早期能量代谢抑制可使 ATP 合成减少，影响细胞功能，从而导致肺损伤[5,6]。

2.2 硫化氢吸入中毒的防治

2.2.1 毒性及中毒表现

小鼠、家兔和犬的绝对致死积(Lct_{100})分别为 33918±1440ppm. min，17736. 7±484. 4ppm. min 和 18041. 3±300. 6ppm. min。家兔及犬1000ppm 吸入中毒立即出现呼吸深快，后依次转为呼吸浅快、不规则、强烈兴奋、四肢强直、惊厥、大小便失禁、肌肉松弛、呼吸微弱以至停止。心脏在呼吸停止后2min 左右停止跳动。从中毒至心跳动停止，死亡时间分别为 16.7±4.5min，15.7±2.4min[10]。

2.2.2 防治药物筛选

2.2.2.1 H_2S 吸入中毒的预防

小鼠(n =668)H_2S 绝对致死量吸入中毒前30min 预防应用高铁血红蛋白形成剂、激素、血管活性药物、止血剂、自由基清除剂、抗惊药等6类25种，观察24h 存活率。发现有预防效果的10种。按预防效价依次为对氨基苯丙酮(PAPP)、亚硝酸钴钠、氯丙嗪、亚硝酸钠、地塞米松、VE、山莨菪碱等[10]。犬 H_2S 吸入前30min 口服 DAPP 复方可完全预防 H_2S 中毒引起的死亡。

2.2.2.2 H_2S 吸入中毒的治疗

家兔(n =25)H_2S 1062.4±28.1ppm 吸入中毒，待动物出现全身痉挛、角弓反张或睑反射消失后分别一次性静注对—二甲氨基酚(4-DMAP)、PAPP、$NaNO_2$及地塞米松，继续中毒至吸入剂量达到 $Lct_{100.1}$ 时终止中毒，观察3d 存活率。对照组5只全部死亡，四药的救治存活率分别为5/5、4/5、3/5、0/5。地塞米松组5只在中毒后虽全部死亡，但其中2只于用药后中毒症状完全消失，继续中毒并未出现中毒症状，且活存时间分

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

别为2.06h 和4.7h，比对照动物平均存活时间长7～17倍。

犬(n =15) H_2S 1291±56.4ppm 吸入中毒至出现惊厥、睑反射消失或呼吸暂停时肌注4-DMAP；另一组为联合用药(4-DMAP＋地塞米松＋VE＋山莨菪碱)。给药后继续中毒至吸入剂量达到 $Lct_{100.1}$ 时终止中毒，观察3d 存活率。对照犬5只全部死亡；4-DMAP 组5只虽全部活存，但仍出现明显的肺损伤；联合用药组5只不仅全部活存，且有减轻、预防和促进肺损伤愈合作用[10,11]。

2.2.2.3 4-DMAP、$NaNO_2$抗硫化物中毒效果比较

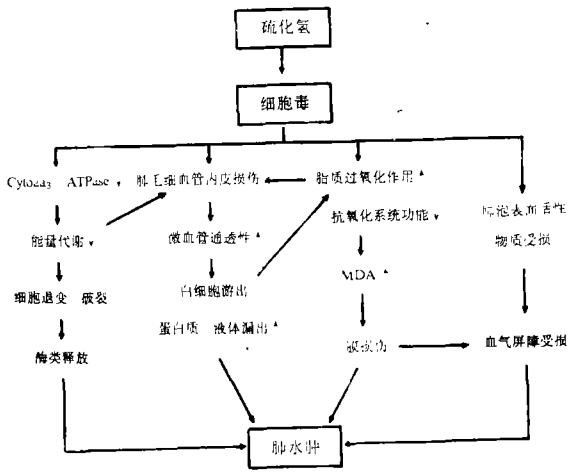
亚硝酸钠国外用作硫化物的解毒剂。家兔(n = 55) Na_2S 1.5LD 静注中毒，用4-DMAP 静注急救，80%动物被救活(未用其它措施)，应用亚硝酸钠无一救活，可见4-DMAP 急救效果明显优于亚硝酸钠[12]。

2.3 硫化氢吸入中毒救治方案建议

根据本实验研究结果，H_2S 急性严重中毒者，应用DMAP，并伍用地塞米松、VE 以及山莨菪碱为主的救治方案效果较好[11,12]。

3 讨论

Lopez(1987)认为 H_2S 中毒性肺水肿的起因目前尚未弄清，是否为炎性、心源性或神经性，抑或不同原因的联合作用仍有待阐明。根据本实验室研究表明，H_2S 中毒性肺水肿的形成并非单一因素而是综合因素联合作用造成的。归纳各方面的因素以图解法表示如下：



硫化氢急性中毒的救治措施各家不一，Ravizza 等认为不需应用 $NaNO_2$。支持疗法、给氧即可治愈 H_2S 中毒者。新近出版的医学毒理学[14]则提出除主要依靠支持疗法、人工呼吸、给氧外，对严重 H_2S 中毒病例可给予解毒剂亚硝酸类化合物，如亚硝酸钠，但应注意其本身毒性。有人推荐 $Na_2S_2O_3$，但吾等实验表明 $Na_2S_2O_3$ 对之无效；VC 的作用不及 VE。

(参加该研究工作的同志有：刘勇、胡贵方、董兆君、叶明福、朱俊信、喻凯、杨文杰、赵清)

参考文献

1. Lopez P, Prior M, Yong S, et al. Biochemical and cytological alterations in the respiratory tract of rats exposed for 4 hour to hydrogen sulfide. Fundam Appl Toxicol 1987; 9:573
2. Beck JF, Bradbury CM, Connors AJ, et al. Nitrite as an antidote for acute H_2S intoxication? Am Ind Hyg Assoc J 1981; 42:805
3. Burnett WW, King EG, Grace M, et al. Hydrogen sulfide poisoning: review of 5 years experience. Can Med Assoc J 1977; 117:1277
4. 欧阳子倩 。检测肺损伤的新途径。预防医学情报 1989;5(3):144
5. 欧阳子倩 喻 凯 余争平，等。硫化氢对大鼠肺的损伤作用。第三军医大学学报 1991;13(3):226
6. 余争平 欧阳子倩 杨文杰，等。硫化氢中毒对大鼠肺亚细胞结构标记酶的影响。第三军大学学报 1991; 13(3):231
7. 叶明福 陈意生 欧阳子倩，等。大鼠硫化氢中毒肺的病理形态学研究。第三军医大学学报 1992;14(4):
8. 余争平 欧阳子倩 杨文杰。硫化氢吸入中毒肺微血管通透性改变与肺水肿发生的关系。中国药理学与毒理学杂志 1991;5(2):156
9. 朱俊信 刘 勇 欧阳子倩。自由基机制在硫化氢中毒性肺损伤中的作用。第三军医大学学报 1991; 13(2):156
10. 欧阳子倩 余争平 董兆君，等。硫化氢吸入中毒救治实验研究。中国人民解放军预防医学杂志 1992; 10(4):
11. 胡贵方 余争平 欧阳子倩。预防给药对大鼠 H_2S 吸

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

入中毒肺脂质过氧化作用及抗氧化系统的影响。第三军医大学学报 1991；13(6)：569

12. 欧阳子倩 余争平 杨文杰。4-DMAP，$NaNO_2$抗 Na_2S 中毒的效果比较。中华劳动卫生职业病杂志 1991；9(4)：244

13. Ravizza AG，Carugo D，Cerchiari，et al. The treatment of H_2S intoxication：oxygen versus nitrites. Vet Hum Toxicol 1982；24：241

14. Mathew JE，Donald GB. Medical Toxicology：diagnosis and treatment of human poisoning. Elsevier Science Pub. Amsterdam Netherlands，1988：839～840

（收稿：1991-09-21；修回：1992-03-27）

Pulmonary Toxicology of H_2S inhalation and its postulated therapy

Ouyang Ziquan，Yu Zhengping. (Department of Toxicology，Third Military Medical College，Chongqing. 630038)

Abstract The pulmonary toxicology after H_2S inhalation was studied with bronchoaleveolar lavage (BAL)，ultracentrifuge，and optical and electron microscopy in rats.

The changes of the activities of lactate dehydrogenase，alkaline phosphatase，acid phosphatase and angiotension converting enzyme in BAL fluid were used as indicators of cellular damages，those of leucocytic count as the indicator of inflammatory response，and those of the concentration of protein and Evans blue as the indicator of the alterations of vascular permeability. In addition，the effects of H_2S on lipid peroxidation，natural antioxidative system and energy substances and the changes of phospholipid concentration in BAL fluid were also studied.

The results were as follows：(1)Inhalation of H_2S exerted a severe cytotoxic effect on the lung tissues resulting in damages on various types of cells and a severe edematogenic effect on lung parenchyma. (2)The development of pulmonary edema in H_2S intoxication resulted from a combination of different pathogenic factors. (3)The biochemical changes and their recovery occurred earlier than those of the pathological changes.

The effecacy of 6 categories of drugs including 25 medicaments against H_2S intoxication was evaluated in mice，and 10 drugs were found prophylactically effective. The effects of various methemoglobin-forming substances and some other drugs were also investingated in their treatment for H_2S intoxication in rabbitsand dogs. It was concluded that methemoglobin-forming substances could be used as specific antidotes but could not prevent or diminish the lung damages due to H_2S inhalation unless they were administered in association with dexamethasone，vitamin E，and anisodamine.

Eventually，a postulated scheme of the medical treatment for H_2S intoxication was presented.

Key words lung/IN；pulmonary edema；hydrogen sulfide/PO；lipid peroxides；pulmonary surfactant

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net