

基于原子吸收法探究血液灌流对血铊的清除作用

田甜 王永安 聂志勇 王姣 彭晓波 原野 李万华 邱泽武 薛艳萍 熊艺茹

【摘要】目的 基于原子吸收法检测犬全血铊含量,观察血液灌流(HP)对血中铊的清除效能。**方法** 经股动脉取未染毒比格犬的血液,根据实验动物体质量与血容量的换算公式,配制成3组浓度梯度的含硝酸亚铊(TlNO_3)的犬血,充分模拟血液在体环境进行HP,以前一剂量组最后一次灌流结束后犬血中所含 TlNO_3 的总量确定下一组含铊血液样品的配制。应用石墨炉原子吸收仪检测每次灌流前后犬全血铊含量,并对其进行统计分析。**结果** 犬全血铊含量在0~200 $\mu\text{g/L}$ 线性良好,相关系数为0.998 4;日内精密度的 $<4.913\%$,日内回收率96.2%~111.9%;日间精密度的 $<7.502\%$,日间回收率89.6%~105.2%。高、中、低剂量组每次灌流后血铊浓度均明显降低[高剂量组从(453.43 \pm 27.80) mg/L 降至(56.09 \pm 14.44) mg/L , $F=8.820$, $P=0.003$;中剂量组从(64.51 \pm 13.60) mg/L 降至(3.19 \pm 0.23) mg/L , $F=36.312$, $P=0.000$;低剂量组从(5.40 \pm 0.98) mg/L 降至(0.38 \pm 0.25) mg/L , $F=46.240$, $P=0.000$]。高、中、低剂量组4次灌流后总体吸附率分别为(87.63 \pm 2.48)%、(95.06 \pm 1.54)%、(92.76 \pm 4.87)%,组间比较差异无统计学意义($F=4.231$, $P=0.070$)。**结论** 采用石墨炉原子吸收仪检测血铊浓度定量准确、灵敏度高、稳定性强,所测样品处理简单,保存时间长,适合批量样本的检测。HP可以稳定、高效地清除血中的铊,4次灌流即可吸附90%以上的铊;且HP的吸附效率与血铊含量无关,即使血铊含量低,HP也是有效的。

【关键词】 铊; 中毒; 血液灌流; 炭肾

Efficiency of hemoperfusion on clearing thallium based on atomic absorption spectrometry Tian Tian*, Wang Yongan, Nie Zhiyong, Wang Jiao, Peng Xiaobo, Yuan Ye, Li Wanhua, Qiu Zewu, Xue Yanping, Xiong Yiru. *Poisoning Treatment Center of the Army, Department of Poisoning Treatment, the Affiliated Hospital of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China

Corresponding author: Qiu Zewu, Email: qiuzw@em120.com

【Abstract】Objective To determine thallium in whole blood by atomic absorption detection method, and to investigate the eliminating effect of hemoperfusion (HP) for thallium in blood. **Methods** The blood of Beagle dogs which had not exposed to thallium before were obtained for preparation of thallium nitrate (TlNO_3)-containing solution in three concentrations according to the conversion formula based on animal weight and volume of blood. HP was performed in the simulated in vivo environment. The content of TlNO_3 in blood of the next group was determined on the amount of TlNO_3 for the last HP of the former dose group. Thallium quantity in different samples was measured with atomic absorption spectrometer blood samples before and after HP. Finally, the thallium concentration in blood was analyzed statistically. **Results** Thallium concentrations showed a good linear relationship in the range of 0–200 $\mu\text{g/L}$ ($r = 0.998\ 4$). The intra-day precision (RSD) was lower than 4.913%, the intra-day recovery rate was 96.2%–111.9%; the inter-day precision (RSD) was lower than 7.502%, the inter-day recovery rate was 89.6%–105.2%. The concentration of thallium in blood was significantly reduced after HP per time in high, middle, and low dose groups [(453.43 \pm 27.80) mg/L to (56.09 \pm 14.44) mg/L in high dose group, $F = 8.820$, $P = 0.003$; (64.51 \pm 13.60) mg/L to (3.19 \pm 0.23) mg/L in middle dose group, $F = 36.312$, $P = 0.000$; (5.40 \pm 0.98) mg/L to (0.38 \pm 0.25) mg/L in low dose group, $F = 46.240$, $P = 0.000$]. The adsorption rate of four times of HP in high, middle and low dose group were (87.63 \pm 2.48)%, (95.06 \pm 1.54)% and (92.76 \pm 4.87)%, respectively, without significant

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.04.007

基金项目:国家新药创制重大专项资助(2011ZXJ09102-05C, 2011ZXJ-09305, 2011ZXJ09102);全军医学科技“十二五”重大(AWS11C004)及重点(BWS12J042)项目

作者单位:100071 北京,全军中毒救治中心,军事医学科学院附属医院中毒救治科(田甜、王姣、彭晓波、邱泽武);100850 北京,抗毒药物与毒理学国家重点实验室,军事医学科学院毒物药物研究所(王永安、聂志勇、原野、李万华);100020 北京,首都医科大学附属北京朝阳医院放射科(薛艳萍),医务部科训科(熊艺茹)

通讯作者:邱泽武, Email: qiuzw@em120.com

difference ($F = 4.231, P = 0.070$). **Conclusions** The method for measuring thallium was established, and it shows a very stable, simple, sensitive for determination of thallium. HP can effectively remove thallium from blood. Thallium concentration can be reduced by 90% after four times of HP. HP is also effective even when thallium concentration is not high.

【Key words】 Thallium; Poisoning; Hemoperfusion; Charcoal

铊是一种无色无味的稀有重金属,属剧毒类神经毒物,有较强的蓄积毒性^[1]。铊及其化合物可经皮肤、呼吸系统和消化系统进入体内,其中消化道是其主要的吸收途径。可溶性铊经胃肠道吸收后,以离子形式进入血液,随之到达全身组织和器官^[2]。铊中毒的机制至今尚不明确,给临床诊治带来了许多困惑。目前,临床救治铊中毒的措施主要包括:消除毒物、驱铊治疗、血液灌流(HP)以及全身综合治疗等^[2]。常规的洗胃、催吐等治疗措施不能清除已入血的铊,而单用传统金属络合剂是否会引起铊在中枢神经系统的聚集尚有争议^[3-5]。

急性中毒病情凶险,发展迅速,容易出现多器官功能障碍综合征等多种严重并发症^[6],给临床救治工作带来了巨大的挑战。近几十年来,HP技术的兴起和发展在中毒救治领域发挥的作用日益重要^[7],并达到了较好的临床治疗效果^[8]。基于此,我们在临床中应用一次性血液净化装置炭肾对铊中毒患者进行救治后发现,血铊浓度明显降低^[9-12]。但关于炭肾对铊的吸附效率及稳定性尚无基础数据支持。因此,本研究通过制备犬铊中毒模型,利用石墨炉原子吸收仪检测犬全血铊含量,模拟动物在体情况,针对不同血铊浓度用炭肾进行HP治疗,从实验室水平探讨HP对血铊的清除效能,为临床治疗提供基础数据支持。

1 材料与方法

1.1 实验动物、仪器及主要试剂:9只未染铊的比格犬,体质量8~10 kg,由国家北京药物安全评价中心提供,动物合格证号:SCXK(京)2011-0007。炭肾(一次性血液灌流器,廊坊市爱尔血液净化器材厂)。石墨炉原子吸收光谱仪(AAnalyst-800型)。99.999%氩气(军事医学科学院条件处),硝酸亚铊($TlNO_3$,纯度99.99%,美国Alfa Aesar公司),1 g/L铊标准储备液(国家标准溶液,GSBG6207090,批号08051938),硝酸镁 $[Mg(NO_3)_2]$ 、二氯化钯($PdCl_2$)、硝酸(HNO_3)均为分析纯,购于北京国药集团化学试剂有限公司;基体改进剂 $Mg(NO_3)_2-PdCl_2$ -曲通X100混合液[0.60 g/L $Mg(NO_3)_2$ 、1.66 g/L $PdCl_2$ 、2.50%曲通X100];屈臣氏蒸馏水。

1.2 犬全血的获取:健康比格犬以3%戊巴比妥钠30 mg/kg静脉麻醉后固定于解剖台,经穿刺针由股动脉放血收入一次性血液保存袋中,每袋400 mL。在血液收集过程中缓慢摇晃血液保存袋,以使血液与抗凝剂充分混匀,置于4℃冰箱中保存。

1.3 不同浓度含铊血液的配制:比格犬 $TlNO_3$ 半数致死量(LD_{50})为45 mg/kg,犬的血容量为76.5~107.0 mL/kg,经换算,高剂量组按照 LD_{50} 对动物染毒后铊全部入血计算,即犬血中含 $TlNO_3$ 约0.42~0.59 mg/mL。根据动物体质量,称取相应的 $TlNO_3$ 溶于5 mL蒸馏水中,加入冻存犬血,中剂量组和低剂量组 $TlNO_3$ 含量按上一剂量组最后一次灌流结束后血中所含 $TlNO_3$ 的总量确定含铊血液的配置。

1.4 HP体外模型的建立:根据比格犬体温为38.5~39.5℃,设定恒温水箱温度为39℃。连接血灌管路后以封口膜封闭盛放犬血的烧杯口,避免灌流过程中血液蒸发。按照炭肾说明书进行HP,灌流速度为30 mL/min,每次2 h,每个剂量组灌流4次,每次灌流前后取血500 μ L,置于-79℃冰箱中待测。

1.5 石墨炉原子吸收仪的检测方法

1.5.1 建立标准曲线方程:将0.8 mL 0.6%硝酸加入检测管中,分别加入0.1 mL不同浓度铊标准液,再加入0.1 mL不含铊犬全血(空白对照),充分混匀,按样品检验方法学要求,配制成0、3、5、20、50、100、150、200 μ g/L铊标准系列。

1.5.2 仪器工作条件:灯电流6 mA,波长276.8 nm,99.999%氩气流量250 mL/min,狭缝0.7 nm,进样体积20 μ L,基体改进剂5 μ L,纵向塞曼背景校正,读数方式为峰面积;以样品浓度为横坐标,吸光度(A)值为纵坐标,进行线性回归分析求回归方程,即标准曲线方程。

1.5.3 精密度和回收率检测:配制铊浓度为10、30、60、120、180 μ g/L的血液样品,在标准曲线下测得各样品浓度,求得该方法日内、日间的回收率与精密度。取上述浓度样品连测5次得到的数据进行分析,求得日内精密度及回收率;同时对所有样品每日测定1次,连测5 d得到的数据进行分析,求得日间精密度及回收率。

1.5.4 样品的测定:取基体改进剂 1 mL 加入检测管中,置于仪器设定位置,再加入 0.9 mL 0.6% 硝酸和 0.1 mL 血液样品,混匀后上机连续测定 3 次,取平均值。若样品浓度超出标准曲线范围,则用 0.6% 硝酸稀释至 0~200 μg/L。

1.6 数据处理:实验数据结果用 Origin 8.0 软件进行统计学处理,样品均值比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 测定方法学的建立:对标准曲线样品进行测定,并以样品中铊浓度对 A 值进行线性回归,得出标准曲线方程: $y = 0.8881x + 0.7872$, 相关系数 $r = 0.9984$ 。结果表明,全血中铊浓度在 0~200 μg/L 时,铊浓度与 A 值有良好的线性关系。表 1 显示,采用石墨炉原子吸收仪测定犬全血样品的日内精密密度 < 4.913%, 日内回收率 96.2%~111.9%; 日间精密密度 < 7.502%, 日间回收率 89.6%~105.2%。上述结果均符合检测要求,表明该方法定量准确,精密密度良好。

2.2 HP 对犬全血中铊的清除效能 (图 1; 表 2):犬的血型是依照红血球上的特殊抗原 (DEA) 进行分类,根据目前研究显示犬有 8~13 种血型,为了避免不同血液混合后出现凝集反应,本研究各剂量组每次实验所用的血均来自同一动物。本研究共采用了 9 只犬的血液进行 HP。高、中、低 3 个剂量组每次灌流后犬的血铊浓度均明显降低 (均 $P < 0.01$); 尽管各组的起始浓度存在差异,但其下降的趋势是一致的。

表 1 采用石墨炉原子吸收仪检测不同浓度犬血铊样品的日内及日间精密密度与回收率

血铊样品 (μg/L)	日内		日间	
	回收率 (%)	精密密度 (%)	回收率 (%)	精密密度 (%)
10	107.3	1.549	96.3	4.703
30	96.2	3.749	89.6	7.502
60	111.9	1.470	105.2	3.591
120	109.9	2.334	102.8	2.187
180	106.5	4.913	97.2	4.559

2.3 HP 对犬全血中铊的吸附效能 (表 3):按照“吸附率 = (灌流前浓度 - 灌流后浓度) / 灌流前浓度”的公式,计算出单次灌流的血铊吸附率。9 个样品 36 次 HP 的血铊吸附率平均为 (46.65 ± 13.96)%。高、中、低 3 个剂量组组内单次灌流血铊吸附率差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$); 灌流 4 次后血铊总体吸附率分别为 (87.63 ± 2.48)%、(95.06 ± 1.54)% 和 (92.96 ± 4.87)%。高、中、低 3 组间比较差异无统计学意义 ($F = 4.231, P = 0.070$), 平均血铊吸附率为 (91.73 ± 4.41)%。说明 HP 的吸附效率与血中铊含量无关,即使血铊含量低,HP 也是有效的。

表 2 不同剂量犬血铊样品组血液灌流前后血铊浓度变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数 (个)	血铊浓度 (mg/L)					F 值	P 值
		灌流前	灌流 1 次	灌流 2 次	灌流 3 次	灌流 4 次		
高剂量组	3	453.43 ± 27.80	264.47 ± 62.61	195.23 ± 49.44	99.63 ± 29.02	56.09 ± 14.44	8.820	0.003
中剂量组	3	64.51 ± 13.60	29.79 ± 8.38	12.97 ± 1.95	6.25 ± 1.86	3.19 ± 0.23	36.312	0.000
低剂量组	3	5.40 ± 0.98	2.85 ± 0.54	1.24 ± 0.12	0.58 ± 0.28	0.38 ± 0.25	46.240	0.000

注: 3 组间 $F = 8.087, P = 0.006$

表 3 不同剂量犬血铊样品组每次血液灌流后血铊吸附率变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数 (个)	血铊吸附率 (%)				F 值	P 值
		灌流 1 次	灌流 2 次	灌流 3 次	灌流 4 次		
高剂量组	3	43.22 ± 8.76	26.45 ± 2.58	45.89 ± 15.40	42.55 ± 6.71	2.561	0.128
中剂量组	3	53.83 ± 8.02	55.39 ± 5.73	52.53 ± 7.14	45.63 ± 18.20	0.464	0.716
低剂量组	3	45.21 ± 17.50	55.04 ± 11.60	54.56 ± 18.49	39.51 ± 24.55	0.494	0.696

注: 3 组间 $F = 4.231, P = 0.070$

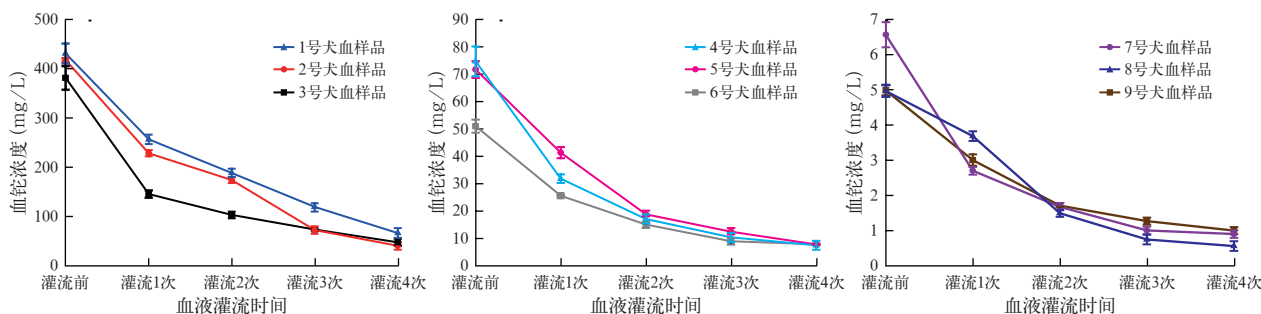


图 1 高 (左)、中 (中)、低 (右) 剂量血铊组血液灌流前后实验犬血铊浓度变化趋势平行对照

3 讨论

近年来,无论在农村还是城市均可见到铊中毒病例的报道,铊的职业暴露少见,多为误食或故意投毒^[13],然而铊的毒代动力学及其中毒机制尚未完全阐明^[14-16]。本课题组前期的基础实验完成了铊在家兔体内的毒代动力学研究,发现当中毒剂量高时会有二次中毒高峰出现,此现象可能与组织中的铊再释放有关,且达峰时间和半衰期明显延迟,提示在临床救治中更要密切关注高剂量中毒患者的血铊变化,应尽早处理并延长治疗周期,尽量减轻对组织器官的损害^[17]。

本研究主要是观察 HP 对血液中重金属离子铊的清除作用,而灵敏、可靠的检测方法是准确考察结果的关键技术支撑和依据,炭肾是血液灌流器的重要组成部分,它的吸附效率是血铊清除效能的表现,与清除效能呈正相关。本研究采用石墨炉原子吸收光谱仪检测犬全血铊浓度,其日内、日间精密密度及回收率均符合检测学要求,且该方法线性良好,灵敏度高,稳定性强,所测样品处理简单,保存条件稳定,保存时间长,适合批量样品的检测。从本研究结果来看,HP 后血中铊含量明显降低,且炭肾对铊的吸附稳定高效,4 次灌流后可吸附 90% 以上的铊。低剂量组结束 HP 后血中铊总量为 251.55 μg。以体质量 60 kg 正常人为参照,上述剂量的铊全部入血,血铊浓度约为 52.4 μg/L,而大多数文献报道认为,血铊 > 100 μg/L 具有诊断意义^[10],故我们的实验剂量未继续进行。

HP 在临床中的应用日益增多,无论是在常见的有机磷农药中毒^[18],还是罕发的重金属(如铊)中毒^[9]或病情凶险的百草枯中毒^[19]的救治过程中,HP 均达到了较好的临床治疗效果。临床数据分析显示,HP 的疗效与实施时间早晚密切相关^[20]。结合既往数据和本研究结果,提示我们在临床治疗铊中毒的患者时,只要患者的基础情况允许,即可行 HP 治疗,治疗时机以尽早为宜,HP 治疗次数依患者血铊动态变化和身体状况而定。

由于本实验是在体外模拟铊中毒,不能反映在体时组织内铊重新释放到血液中的现象。所以,在

临床上遇到铊中毒患者或实验动物铊中毒接受 HP 治疗后,出现血铊水平下降不明显,甚至次日有上升趋势时,并非是 HP 效果不显著或者无效,可能是组织中铊重释放到外周血液循环中的缘故^[16-17]。

参考文献

- [1] 邱泽武,王喆,孙成文. 铊中毒的现状与诊治新进展[J]. 中国急救医学,2008,28(9):822-823.
- [2] 邱泽武,彭晓波. 急性铊中毒的诊断与治疗[J]. 中国临床医生,2012,40(8):15-17.
- [3] Rusyniak DE, Kao LW, Nanagas KA, et al. Dimercaptosuccinic acid and Prussian Blue in the treatment of acute thallium poisoning in rats [J]. J Toxicol Clin Toxicol,2003,41(2):137-142.
- [4] Mulkey JP, Oehme FW. Are 2,3-dimercapto-1-propanesulfonic acid or prussian blue beneficial in acute thallotoxicosis in rats? [J]. Vet Hum Toxicol,2000,42(6):325-329.
- [5] Montes S, Pérez-Barrón G, Rubio-Osornio M, et al. Additive effect of DL-penicillamine plus Prussian blue for the antidotal treatment of thallotoxicosis in rats [J]. Environ Toxicol Pharmacol,2011,32(3):349-355.
- [6] 郭新瑛,钱吉琴,宋文,等. 血液净化治疗多器官功能障碍综合征 46 例[J]. 中华危重病急救医学,2006,18(2):128.
- [7] 冯秀芳,方雪英,任青艳,等. 床边血液灌流抢救重症毒物中毒疗效观察[J]. 中华危重病急救医学,2001,13(1):52.
- [8] 磨红,赵志权. 不同血液净化方式抢救急性中毒并发多器官功能障碍综合征[J]. 中华危重病急救医学,2006,18(10):631.
- [9] 李明喜,李学旺,李莉,等. 血液灌注疗法对急性铊中毒的治疗作用[J]. 中国血液净化,2002,1(10):15-17,21.
- [10] 陈春暖,黄金莎,熊念,等. 急性慢性铊中毒一家六例临床特点及治疗[J]. 中华神经科杂志,2011,44(4):252-256.
- [11] Moore D, House I, Dixon A. Thallium poisoning. Diagnosis may be elusive but alopecia is the clue [J]. BMJ,1993,306(6891):1527-1529.
- [12] 沈伟,邱泽武,彭晓波. 普鲁士蓝联合血液净化救治急性铊中毒 2 例[J]. 药物不良反应杂志,2010,12(6):419-420.
- [13] Emsley J. The Elements of Murder: A History of Poison [M]. Oxford: Oxford University Press,2006:326-327.
- [14] Hoffman RS, Stringer JA, Feinberg RS, et al. Comparative efficacy of thallium adsorption by activated charcoal, prussian blue, and sodium polystyrene sulfonate [J]. J Toxicol Clin Toxicol,1999,37(7):833-837.
- [15] 张晓然,彭晓波,崔文华,等. 铊中毒的治疗进展[J]. 中国医刊,2013,48(3):15-17.
- [16] Galván-Arzate S, Martínez A, Medina E, et al. Subchronic administration of sublethal doses of thallium to rats: effects on distribution and lipid peroxidation in brain regions [J]. Toxicol Lett,2000,116(1-2):37-43.
- [17] 张晓然,裴志勇,崔文华,等. 家兔急性铊中毒的毒代动力学研究[J]. 中国医刊,2013,48(9):96-98.
- [18] 于笑霞,韩和平,李培新,等. 血液灌流治疗急性有机磷农药中毒中间综合征的疗效研究[J]. 中华危重病急救医学,2006,18(1):54-55.
- [19] 刘生. 血液灌流治疗百草枯中毒 16 例临床观察[J]. 中华危重病急救医学,2006,18(6):349.
- [20] 王予冈,张斌,郑山海,等. 血液灌流的临床应用——附 11 例报告[J]. 中华危重病急救医学,2004,16(8):483.

(收稿日期:2014-11-25)

(本文编辑:李银平)

欢迎订阅《中国中西医结合急救杂志》CN 12-1312/R

中国中西医结合学会主办 中文核心期刊 中国科技论文统计源期刊 2014 年核心版影响因子:1.076

全国各地邮局订阅,邮发代号:6-93;本刊社邮购电话:022-23197150