

急性一氧化碳中毒迟发性脑病免疫学机制研究进展

高红雨² 张援月¹ 邱绘颖² 陈进玲¹ 成颖¹

1 唐山工人医院急诊内科 2 华北理工大学

DOI:10.32629/bmtr.v2i3.1674

[摘要] 一氧化碳中毒是急诊科常见的中毒性疾病,可同时并发多种严重疾病,极大地影响着人们的健康。其中,一氧化碳中毒后迟发性脑病是一氧化碳中毒最常见的并发症,严重影响患者后期的生活质量。关于一氧化碳中毒机制的学说有很多,但目前尚无统一定论。一氧化碳中毒后迟发性脑病的发病机制大致可以归纳为以下几种学说:免疫反应学说、缺血缺氧学说、细胞凋亡与细胞自噬学说、缺血-再灌注及自由基损伤学说、兴奋性氨基酸学说等。我们对该病发病机制进行综述,以便为今后预测一氧化碳中毒后迟发性脑病提供新的方法和新思路。

[关键词] 急性一氧化碳中毒; 一氧化碳中毒迟发性脑病; 免疫学机制

中图分类号: R749.6+3 **文献标识码:** A

Research Progress on Immunological Mechanism of Delayed Encephalopathy by Acute Carbon Monoxide Poisoning

Hongyu Gao² Yuanyue Zhang¹ Huiying Qiu² Jinling Chen¹ Ying Cheng¹

1 Department of Emergency Medicine, Tangshan Gongren Hospital

2 North China University of Science and Technology

[Abstract] Carbon monoxide poisoning is a common acute toxic disease in emergency department. It can be complicated by multiple serious diseases at the same time, which greatly affects people's health. Among them, delayed encephalopathy after carbon monoxide poisoning is the most common complication of carbon monoxide poisoning, which seriously affects the quality of life of patients in the later period. There are many theories about the mechanism of carbon monoxide poisoning, but there is no unified conclusion yet. delayed encephalopathy after carbon monoxide poisoning can be roughly summarized into the following theories: immune response theory, ischemia-hypoxia theory, apoptosis and autophagy theory, ischemia-reperfusion and free radical damage theory, excitatory amino theory, etc. We review the pathogenesis of the disease in order to provide new methods and new ideas for predicting delayed encephalopathy after carbon monoxide poisoning in the future.

[Key words] acute carbon monoxide poisoning; delayed encephalopathy after carbon monoxide poisoning; immunological mechanism

许多国家的中毒报告表明,50%以上的病例是由一氧化碳(carbon monoxide, CO)中毒造成的^[1]。急性一氧化碳中毒后迟发性脑病(delayed encephalopathy after acute carbon monoxide poisoning, DEACMP)系指CO中毒患者在急性中毒症状消失后,经过2-60天的假愈期后,再次出现一系列以急性痴呆、精神症状以及锥体束和锥体外系症状为主要症状的神经系统疾病。若未能对CO中毒的患者采

取及时有效的治疗,则会有大约13%-50%的严重中毒患者发生该疾病^[2]。本病的治疗费用高且预后较差,会给家庭和社会带来沉重的负担,而且目前该病的发病机制仍不十分明确。如何才能更早、更精准的发现有发生DEACMP风险的患者,是现如今医学界关注的热点问题之一。因此,对其发病机制进行深入商讨就显得尤为关键。现结合中外文献就该病的免疫机制进展的主要研究综述如下。

1 免疫反应学说

近年来,学者们发现CO中毒后的脑损伤不仅仅是由缺氧引起的。因为单靠缺氧并不能完全解释迟发性脑病的发病原因,所以,免疫反应机制就得到了人们的关注。目前认为脱髓鞘是中枢神经系统自身免疫反应异常的结果,涉及到多种免疫细胞和免疫因子,最终导致脑白质广泛脱髓鞘和双侧苍白球对称性软化,并可在病灶内见到“袖套”样淋巴细胞

浸润。碱性髓鞘蛋白(MBP)是组成中枢神经系统髓鞘的主要蛋白,也是神经组织所特有的膜蛋白组分,可以反应中枢神经系统是否受到实质性损害,是中枢神经系统损害和急性脱髓鞘的特定生化指标^[3]。目前,国内外许多学者发现DEACMP患者脑脊液中的MBP升高,表明该病的发生与免疫介导有关。浓度升高不仅是DEACMP的危险因素,也预示着该病的不良预后。因此,对于其增高的患者可以早期、短程应用激素。

1. 1 免疫细胞

1. 1. 1 淋巴细胞

T细胞主要是淋巴细胞的组成部分,并具有多种生物学功能,例如直接杀死靶细胞,并且可以抑制或辅助B细胞产生抗体,从而产生细胞因子,并对特定抗原和促分裂原产生反应。主要识别MHC类分子递呈的外源性抗原肽是CD4⁺的T细胞;而主要识别MHC类分子递呈的内源性抗原肽的是CD8⁺的T细胞。CD4⁺是Th细胞(辅助性T淋巴细胞)的重要表面抗原。Th细胞接受刺激被激活后,转化为两种主要亚型:Th1型和Th2型。Th1型细胞主要分泌一些可以激活巨噬细胞的细胞因子,例如:肿瘤坏死因子-β(TNF-β)、干扰素-γ(IFN-γ)和白细胞介素(IL)-2等。这些因子可以引起T淋巴细胞介导的细胞免疫和细胞毒作用,并产生依赖于吞噬细胞的炎症反应,最终造成脑组织的损伤。另外,脱髓鞘后产生的蛋白质可使T细胞致敏,使神经纤维髓鞘受到CD4⁺T淋巴细胞、中性粒细胞和巨噬细胞的攻击和破坏,T细胞致敏过程与假愈合期相符^[4]。

1. 1. 2 白细胞(无淋巴细胞的分析)

中性粒细胞是白细胞重要的组成成分。白细胞在局灶区血管内聚集会阻塞微小血管,从而形成“无复流”现象,即虽然缺血局部血流被重新开放,但因为白细胞聚集体的阻塞,使得缺血区并不能得到充分的灌注。白细胞在微血管内聚集,释放炎症介质,吸引更多的白细胞聚集。中性粒细胞是炎症反应的主要因素,其在机体缺氧状态下会分泌许多炎症因子,如弹性蛋白酶、过氧化物酶和氧自由基等,这些炎症因子会增加血管的

通透性,并导致组织水肿。最终,脾脏及边缘池贮存的中性粒细胞、血小板和白细胞会迅速回流到血液循环中。另外,这些因子也可反作用于中性粒细胞使其升高^[5]。炎症反应会导致外周血中性粒细胞计数、血小板计数升高和淋巴细胞计数降低,从而使总体表现为NLR和PLR比值升高^[6-7]。张娴^[8]等研究发现,患者中毒程度越严重,中性粒细胞计数、血小板计数和白细胞计数越高,而淋巴细胞计数越低;中性粒细胞的形态与患者中毒程度之间存在着显著的相关性,患者中毒程度越严重,其形态改变越明显;在健康人群和轻度中毒患者中几乎看不见或很少能看见毒性颗粒,然而却在中、重度中毒患者体内的细胞质中发现了大小、数量不一的毒性颗粒,毒性颗粒数量和体积随着毒性加重而增加。

1. 2 免疫因子

炎症细胞因子有着强大的致炎作用,并且参与了缺血后的炎症过程,其可以刺激其它细胞因子和炎症介质的产生,并进一步诱导粘附分子的表达、炎症细胞的活化和浸润。相关研究表明^[9],炎症因子:TNF-α, IFN-γ, 白细胞介素-2、4、6、10和C-反应蛋白(CRP)均可能参与DEACMP的发生与发展,迟发性脑病患者的血清和中枢神经系统中,上述细胞因子表达水平有不同程度的升高,且与病情严重程度呈正相关,这些研究结果也进一步说明了迟发性脑病的发病过程是一种神经免疫损伤过程。

IL-4作为特征性细胞因子,通过对中性粒细胞进行选择趋化,使其释放氧自由基和溶酶体酶等,造成组织细胞损伤,但是其还具有抑制细胞免疫,促进体液免疫,进而增强细胞杀伤的作用,会增强机体的免疫功能。IL-10、TGF-β1是体内主要的抑制性细胞因子,IL-10可以下调促炎症反应因子的表达,可以抑制炎症反应、巨噬细胞的杀伤活性;TGF-β1在机体免疫系统中主要起负性调节的作用,即抑制免疫功能的作用。IFN-γ参与本病的炎症反应和免疫应答的诱导阶段,可抑制抗体形成,提高细胞免疫应答,可以活化毒性细胞和效应细

胞。张前燕^[10]研究发现,IL-10、TGF-β1可能协同进行免疫抑制,而IL-4则具有保护作用。在DEACMP大鼠模型中发现,IL-4、IL-10、IFN-γ和TGF-β1等因子发生明显改变,IL-4和IFN-γ分泌增多,IL-10和TGF-β1水平下降。其中IL-4和IFN-γ是触发免疫应答的因子,会增强机体的免疫功能,IL-10和TGF-β1是神经系统中抑制免疫应答的两种主要因子,他们会降低炎症因子的水平,使得免疫应答转变为免疫耐受状态。另外,其变化程度与患者的认知功能损害程度有相关性。

IL-6具有神经保护和神经毒性双重作用,DEACMP后痴呆患者的局部脑组织中IL-6表达升高,可与白细胞、中性粒细胞协同启动或加重炎症反应,致使氧自由基、蛋白水解酶释放增多,从而使脑神经的损伤加重。CRP是机体炎症反应的敏感指标,急性CO中毒会导致机体组织细胞损伤,并可激活机体的免疫细胞,使其产生大量的炎症细胞因子。这些细胞因子不仅在体内介导和调控机体的急性时相反应,而且还可以诱导肝细胞合成和分泌CRP,并将其释放到血液循环中。CRP能随CO中毒患者的中毒程度升高而明显增加,并能使单核细胞活化并激活补体系统,对血管造成直接或间接损伤。IL-6、CRP对中枢神经系统具有双重作用,不但可以发挥神经营养和神经保护的作用,还具有神经毒性的作用。张振贵^[11]研究发现,随着一氧化碳中毒程度的加重,患者的CRP值逐渐升高;轻、中度中毒患者,因其中毒程度轻,机体具有一定代偿能力,所以经过积极的治疗患者恢复正常可能性较大;但是,重度中毒患者由于中毒程度重、机体损伤大,并且急性期反应重且时间长,可提示有并发DEACMP的风险,在监测与诊疗过程中应给予高度重视。魏钢^[12]发现,CRP的水平与CO中毒患者的不良预后密切相关,不良预后组其水平显著上升,可能与机体损伤后的免疫应答反应有关。因此,CRP的水平对于CO中毒患者的预后判断具有重要的意义。另外,CRP的水平与DEACMP患者痴呆程度呈正相关,随着痴呆程度

的加重,其水平急剧升高。

单核细胞趋化蛋白-1(MIP-1 α)和血管内皮细胞黏附分子(VCAM-1)是两种常见的免疫因子,参与了许多炎症和免疫反应的发生。MIP-1 α 是属于CC亚族的一种趋化性细胞因子,主要由中性粒细胞、单核/巨噬细胞和小胶质细胞产生,并趋化单核/巨噬细胞、T淋巴细胞和NK细胞等。VCAM-1是属于免疫球蛋白超家族的一种细胞间黏附分子,与配体LFA-1相结合,主要在内皮细胞和淋巴细胞上表达,介导中性粒细胞、淋巴细胞和单核细胞,并可激活内皮细胞^[13]。这两种因子主要参与免疫反应中免疫细胞的浸润过程,它们共同介导免疫细胞穿越血脑屏障到达炎症部位。首先是内皮细胞表面和淋巴细胞表面的趋化因子受体相结合,并激活黏附因子,随后介导两者牢固黏附,最后,淋巴细胞在趋化因子的作用下穿过血管内皮,在炎症部位发挥作用。

2 缺血缺氧机制

这是最早提出的发病机制。一氧化碳是由含碳物质不完全燃烧产生,因其无色、无味、无刺激性,被呼吸吸入体内时极不易被察觉。CO与血红蛋白的结合力比氧气与血红蛋白的结合力大240倍,CO入血后迅速与血红蛋白结合,生成无携氧能力的碳氧血红蛋白(COHB),导致机体组织缺氧和血管内皮损伤,从而释放多种细胞因子、炎症介质^[14-15],进一步造成机体组织受损,导致多个脏器中毒性损伤^[16-17]。脑组织血管分支少,但代谢非常旺盛,所以对氧的需求量极大,也对缺氧最为敏感^[18]。脑细胞缺氧6分钟即可对神经系统造成不可逆性的损害。虽然缺血缺氧机制是人们所接受的DEACMP的最早机制,但是同时就有一部分学者提出了疑问,CO中毒后的一些神经、精神方面的症状大多数出现在急性CO中毒的后期,此时经过高压氧等治疗,患者已经把大部分的CO排出体外了,很明显一些DEACMP患者的某些临床表现和病理改变不能单纯用CO中毒造成的缺氧解释了。这一学术疑问,使越来越多的学者们去探索其他可以解释DEACMP的发病机制。

3 细胞凋亡与自噬学说

细胞凋亡是细胞的程序性死亡,它不是一件被动的过程,而是主动过程,涉及一系列基因的激活、表达以及调控等的作用,是为更好地适应生存环境而主动争取的一种死亡过程。自噬是出现在细胞胞质中的膜性结构将大分子物质和受损的细胞器包裹,并与溶酶体结合后将其降解、消化并产生氨基酸等物质的自我吞噬的过程。有学者研究发现^[19],CO中毒后的大鼠海马区椎体细胞在刚中毒后并未发生明显的变化,而是在接触CO有毒气体后的第3天才开始出现细胞数目的明显减少,这种现象一直持续到中毒后的第7天,这些说明一氧化碳中毒后脑神经细胞神经损伤的迟发性,而且脑神经细胞损伤发生的时间段与细胞凋亡发生的高峰时间几乎是同时发生的,这种在时间上的一致有力地提示,急性CO中毒后脑组织的迟发性损伤与神经细胞凋亡存在密不可分的关系。

HIF-1具有细胞凋亡和细胞自噬的双重作用。HIF-1 α 为其活性亚基,它可以促进凋亡,也可以抑制凋亡,缺氧的程度能够决定其发挥什么样的作用;在轻度缺氧的情况下,可以发挥抑制细胞凋亡的作用,具有细胞保护的作用,然而在重度缺氧的情况下,则发挥促进细胞凋亡的作用。李晟^[20]对急性CO中毒患者的数据进行深层分析,关于rs4899056基因型分布频率,DEACMP组TT基因型分布频率较非DEACMP组低,考虑HIF-1 α 基因rs4899056位点的变异对DEACMP中枢神经脱髓鞘损伤及DEACMP的发生有一定的作用,基因变异导致编码相关蛋白的氨基酸序列改变,从而影响相关HIF蛋白功能表达的稳定性,是DEACMP发生的独立预测因子之一。

4 缺血-再灌注及自由基损伤学说

CO中毒时机体处于缺氧状态,但在脱离中毒环境后常积极给予常规吸氧及高压氧治疗,从而使血液微循环得到改善,组织器官恢复供氧,即缺氧-复氧阶段,此时存在缺血-再灌注损伤的病理过程。在急性CO中毒后,脑组织内的过氧化

氢酶及其他过氧化物显著增加,谷胱甘肽过氧化酶等明显减少;而富含多价不饱和脂肪酸的神经元,更容易发生自由基损伤。

4.1 黄嘌呤氧化酶(XO)

XO是生成自由基的重要催化酶,实验研究表明^[21],在大鼠DEACMP模型中,去掉XO,可减少大鼠认知功能的损害,说明由XO产生的自由基与DEACMP的发生存在着密不可分的相关性。

4.2 一氧化氮(NO)

一氧化氮是一种神经递质,结构内存在1个未配对电子,是一种自由基,是由精氨酸通过一氧化氮合酶(NOS)催化而成,该酶是体内生成一氧化氮的关键酶。NOS有以下三种类型:神经元型、内皮型和诱导型。急性CO中毒后,体内神经元型一氧化氮合酶升高,所以由他催化而成的NO则可能参与初期的神经损伤。内毒素、白细胞介素-1等其他因子可诱导产生诱导型NOS,诱导型NOS具有作用强、时间久的特点,所以一旦生成,体内就会有大量一氧化氮生成,从而进一步加重神经元的损伤。在动物实验中,一些小鼠被给予特异性NOS抑制剂或者被敲除了NOS基因,从而抑制了体内NO的升高,减少了DEACMP的发生率。

通过上面所述可以归纳出自由基学说,即在急性CO中毒后,脑组织中自由基大量增加,这也是导致DEACMP的一个主要途径。细胞膜脂质过氧化反应的增强,可以导致体内线粒体功能障碍,并进一步影响细胞的能量代谢,严重损害细胞或导致细胞死亡。当体内有大量自由基产生时,会诱发自身的免疫反应,导致白质脱髓鞘的发生,加速DEACMP的发生。

5 兴奋性氨基酸(EAA)学说

急性CO中毒后,体内兴奋性氨基酸的浓度明显增加,尤其是谷氨酸,其作用的靶点主要位于突触后膜受体上。在小鼠CO中毒模型中,注射谷氨酸受体抑制剂可以减少小鼠海马区的神经元损伤,这提示谷氨酸在促进DEACMP的发生中起到很重要的作用。推测机制如下:谷氨酸会导致细胞内钙离子超载,细胞膜磷脂被水解,最终导致细胞膜破坏,细胞器受损。

正常情况下,细胞间不会有大量EAA聚集,因其在发挥生理作用后体内能通过相应摄取机制将其清除,但是CO中毒会使EAA不能得到正常的降解,从而使神经细胞处于毒性EAA浓度中。首先,在EAA作用后,一部分神经元胞体的阳离子通道开放引起细胞持续去极化,钠离子、氯离子和水被动的流入到细胞内,引起组织细胞的水肿,线粒体代谢功能紊乱从而导致供能障碍,在几分钟内即可发生组织细胞的急性坏死和凋亡^[22];其次,剩余神经元的胞内线粒体仍可满足神经元能量供应,但是已经出现了代谢缺陷,这可能与弱兴奋性毒性损伤有关。这个过程包括一氧化氮合酶和活性氧的产生。一氧化氮合酶及活性氧的升高会增加EAA对神经元的毒性作用,从而形成恶性循环,神经元经过一段时间后的水盐代谢紊乱、线粒体功能衰竭,最终会发生细胞凋亡,即“延迟性神经综合征”。

综上所述,DEACMP的发病机制仍不十分明确,是当今医学界的一大难题,虽有免疫反应学说、缺血缺氧学说、细胞凋亡与细胞自噬学说、缺血一再灌注及自由基损伤学说、兴奋性氨基酸学说等多种学说,但是还不能完全解释DEACMP的某些发病特点和临床表现,而且许多机制至今仍停留在假说阶段,需进一步实验证实。DEACMP是一氧化碳中毒后的常见并发症,临床医师应高度重视,密切关注患者病情变化,及早发现有发生EDACMP风险的患者,以提高患者的生活质量。

【参考文献】

[1]Raub JA, Mathieu-Noif M, Hampson NB, et al. Carbon monoxide poisoning --a public health perspective[J]. Toxicology,2000,145(1):1-14.

[2]Xiang W, Xue H, Wang B, et al. Combined application of dexamethasone and hyperbaric oxygen therapy yields better efficacy for patients with delayed encephalopathy after acute carbon monoxide poisoning[J]. Drug design, development and therapy,2017,11:513-519.

[3]Azurmendi L, Degos V, Tiberti N, et al. Neopterin plasma concentrations in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: correlation with infection and long-term outcome[J]. J Neurosurg, 2016,124(5):1287-1299.

[4]周永林,冀亚兵.高压氧联合依达拉奉治疗一氧化碳中毒迟发性脑病临床研究[J].基层医学论坛,2012,(31):4101-4102.

[5]Onec B, Okutan H, Albayrak M, et al. The Predictive Role of the Neutrophil/Lymphocyte Ratio in Survival with Multiple Myeloma: A Single Center Experience[J]. J Clin Lab Anal,2017,31(2):1-8.

[6]Gibson PH, Croal BL, Cuthbertson BH, et al. Preoperative neutrophil-lymphocyte ratio and outcome from coronary artery bypass grafting[J]. Am Heart J,2007,154(5):995-1002.

[7]Feng JF, Huang Y, Chen QX. Preoperative platelet lymphocyte ratio (PLR) is superior to neutrophil lymphocyte ratio (NLR) as a predictive factor in patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. World J Surg Oncol,2014,12:58.

[8]张娟,刘若伟,蒲立志,等.血小板与淋巴细胞比值、中性粒细胞与淋巴细胞比值与早期一氧化碳中毒程度的关系[J].广西医科大学学报,2018,35(8):1089-1092.

[9]余小骊,刘莉琼,吴豫,等.一氧化碳中毒及迟发性脑病与血清中免疫相关细胞因子的表达[J].中国免疫学杂志,2014,30(1):121-122+125.

[10]张前燕,朱滨,冯家银,等.一氧化碳中毒后迟发性脑病患者S100 β 、JNK通路蛋白及相关细胞因子水平变化及其临床意义[J].中国神经免疫学和神经病学杂志,2018,25(3):198-201.

[11]张振贵,景建军,俞作发,等.C-反应蛋白预测急性一氧化碳中毒并迟发性脑病的价值[J].新疆医学,2019,49(3):244-247.

[12]魏钢,孙学斌,桑玉婷,等.急性一氧化碳中毒患者超敏C-反应蛋白变化与预后关系研究[J].宁夏医学杂志,2017,39(2):170-172.

[13]曹小彪,陈同欣,李金声,等.急性

一氧化碳中毒大鼠脑内MIP-1 α 和ICAM-1的表达及高压氧干预后的变化[J].中国急救医学,2011,31(11):999-1002.

[14]韩永燕,王岩,赵国强,等.中性粒细胞与淋巴细胞比值和急性一氧化碳中毒心肌损伤的关系[J].中华劳动卫生职业病杂志,2018,36(5):362-364.

[15]Fan DF, Hu HJ, Sun Q, et al. Neuroprotective effects of exogenous methane in a rat model of acute carbon monoxide poisoning[J]. Brain Res,2016, 1633:62-72.

[16]Jang DH, Kelly M, Hardy K, et al. A preliminary study in the alterations of mitochondrial respiration in patients with carbon monoxide poisoning measured in blood cells[J]. Clinical toxicology (Philadelphia, Pa), 2017,55(6):579-584.

[17]Pilgrim JL, Jenkins EL, Baber Y, et al. Fatal acute poisonings in Australian children(2003-13)[J]. Addiction(Abingdon,England),2017,112(4):627-639.

[18]黄博雅.高压氧对一氧化碳中毒迟发性脑病小鼠的影响及机制的研究[D].内蒙古医科大学,2017.

[19]曹义战,李金声,晋兴,等.急性一氧化碳中毒大鼠迟发性神经元损伤与记忆功能改变[J].中国急救医学,2002,22(10):569-571.

[20]李晟,陈潜妙,池学锋,等.急性一氧化碳中毒后迟发性脑病预测因子的研究[J].浙江医学,2019,41(11):1150-1153.

[21]Goda N, Ryan HE, Khadivi B, et al. Hypoxia-inducible factor 1 α is essential for cell cycle arrest during hypoxia[J]. Mol Cell Biol,2003,23(1):359-369.

[22]Hynd MR, Scott HL, Dodd PR. Glutamate-mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer's disease[J]. Neurochem Int,2004,45(5):583-595.

通讯作者:

张援月(1962--),男,汉族,河北唐山人,本科,研究方向:急性中毒救治。