

· 论 著 ·

氯解磷定对急性氧乐果中毒大鼠的疗效和作用机制

朱秋鸿, 黄金祥*, 肖 诚, 林 铮

(中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所, 北京 100050)

摘要: 目的 探讨肟类药物氯解磷定(PAM-Cl)对急性氧乐果中毒大鼠的疗效和作用机制。方法 比较氧乐果染毒(50 mg/kg 灌胃)大鼠PAM-Cl治疗组与未治疗组中毒症状及全血胆碱酯酶(ChE)活力的变化,并用电刺激单纤维肌电图(SSFEMG)研究PAM-Cl对急性氧乐果中毒大鼠神经肌肉传导(NMT)的影响。结果 (1)氧乐果染毒大鼠在给予PAM-Cl治疗后,中毒症状减轻,症状出现时间延迟,存活时间明显延长;(2)PAM-Cl治疗和未治疗组全血ChE活力无明显差异($t=0.19$, $P>0.05$);(3)急性氧乐果中毒大鼠腓肠肌的单肌纤维动作电位平均连续差(MCD) [$(32.78\pm5.79)\mu s$] 比正常对照大鼠 MCD [$(19.33\pm1.30)\mu s$] 明显延长,差异有显著性($t=7.87$, $P<0.001$);在给予PAM-Cl治疗后, MCD [$(24.27\pm6.48)\mu s$] 明显低于治疗前(配对 $t=14.2$, $P<0.001$),而与正常对照大鼠 MCD 差异无显著性($t=1.67$, $P>0.05$)。结论 PAM-Cl对急性氧乐果中毒有治疗作用,该作用是通过改善神经肌肉传导阻滞来实现的,即“非ChE重活化效应”。

关键词: 氧乐果; 氯解磷定; 胆碱酯酶; 神经肌肉传导

中图分类号: R139.3 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2004)04-0209-03

Therapeutic efficacy and mechanism of pralidoxime chloride on acute omethoate poisoned in rats

ZHU Qiu-hong HUANG Jin-xiang XIAO Cheng LIN Zheng

(National Institute of Occupational Health and Poison Control, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100050 China)

Abstract: **Objective** To study the therapeutic efficacy and mechanism of oxime drug pralidoxime chloride (PAM-Cl) on acute omethoate poisoned in rats. **Method** To record the toxic signs and survival time, compare the changes of ChE activity between omethoate exposed rats (50mg/kg p.o) and PAM-Cl treated rats, and study the effect of PAM-Cl on neuromuscular transmission (NMT) in acute omethoate poisoning rats by stimulation single fiber electromyography (SSFEMG). **Result** (1) The alleviated and delayed appearance of toxic signs as well as obvious prolongation of survival time were observed in PAM-Cl treatment group compared with non-treatment group. The alleviated symptoms and delayed occurrence of toxic effects were observed, and the survival time was also prolonged in PAM-Cl treatment group. (2) There was no significant difference of whole blood ChE activities between omethoate exposed group and PAM-Cl treated group ($P>0.05$). (3) The mean consecutive difference (MCD) of single fiber action potential of gastrocnemius was significantly higher [$(32.78\pm5.79)\mu s$] in omethoate-poisoned rats than that [$(19.33\pm1.30)\mu s$] of control rats ($P<0.001$); the MCD of omethoate-poisoned rats after treatment of PAM-Cl showed significantly reduced [$(24.27\pm6.48)\mu s$] than that before treatment ($P<0.001$), which was also no significant difference with that of control group ($P>0.05$). **Conclusion** PAM-Cl has a certain therapeutic effect on acute omethoate poisoning, by the mechanism of improving NMT block, namely the “non-ChE-reactivation effect”.

Key words: Omethoate; Pralidoxime chloride; Cholinesterase; Neuromuscular transmission

氯解磷定(PAM-Cl)为临床上常用的治疗急性有机磷中毒的肟类药物。但在临床实践中发现,肟类对不同的有机磷化合物中毒患者的胆碱酯酶(ChE)活力复能效果不尽相同。有些实验还表明^[1,2],肟类可能存在着“非ChE重活化效应”。氧乐果

(omethoate)是高毒类有机磷农药,主要用作杀虫剂,由其引起的急性中毒事件屡有发生。目前临床上对用PAM-Cl治疗急性氧乐果中毒的疗效尚存在不同看法。本研究通过观察急性氧乐果染毒大鼠PAM-Cl治疗后血液ChE活力及神经肌肉传导功能的改变,探讨PAM-Cl治疗急性氧乐果中毒的疗效和作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 农药及实验试剂 质量分数40%氧乐果乳油,

收稿日期: 2004-03-31; 修回日期: 2004-04-23;

基金项目: 国家科技部“十五”科技攻关项目(2001BA704B06)

作者简介: 朱秋鸿(1970-),女,河南安阳人,硕士研究生,研究方向为有机磷农药中毒。

*通讯作者(jhuang 4246@163.net)

由河北新兴化工有限责任公司生产；吐温-80 由中国医药公司北京采购供应站进口分装；氯解磷定注射液，由北京四环医药科技股份有限公司生产；硫酸阿托品注射液，由天津金耀氨基酸有限公司生产；戊巴比妥钠，由中国医药公司北京采购供应站进口分装。ChE 活力测定主要试剂二硫二硝基苯甲酸和硫代乙酰碘代胆碱由 Sigma 公司生产；水杨酸毒扁豆碱由 Baker 公司生产。

1.1.2 仪器 Dantec 公司产 keypoint portable 诱发电位/肌电图仪，721 型分光光度计，台式离心机，恒温水浴。

1.1.3 实验动物 健康 SD 雄性大鼠，体重 180 ~ 220g，由维通利华实验动物技术有限公司提供，实验前在中国疾病预防控制中心清洁级动物房常规饲养 5 d，以适应实验室环境。实验动物房温度 $(21 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ ，湿度 $(50 \pm 10)\%$ 。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组和处理

实验一：取 12 只大鼠（已禁食 12 h），随机分成 2 组（PAM-Cl 治疗和未治疗组），每组 6 只。未治疗组在经口染毒氧乐果 50mg/kg（2LD₅₀）后 1min 腹腔注射生理盐水（10 ml/kg），治疗组染毒后 1 min 腹腔注射 PAM-Cl（80 mg/kg）。观察两组动物的中毒症状和存活时间。肌束震颤的评分参考 De Bleeker 等^[3]标准进行，0 分：无肌束震颤；1 分：口周肌肉出现肌束震颤，其他肌肉偶见肌束震颤；2 分：腹肌、后肢肌多处出现肌束震颤；3 分：腹肌、后肢肌频繁出现多发性肌束震颤。两组大鼠在染毒前和给予 PAM-Cl 或生理盐水后 0.5 h 剪尾采血 10 μL ，按文献^[4]中改良的 Ellman 方法测定全血 ChE 活力。

实验二：另取 12 只大鼠（已禁食 12 h），随机分成对照组和染毒组，每组 6 只。染毒组经口染毒氧乐果（50 mg/kg），密切观察大鼠中毒症状，待出现流涎、肌束震颤等中毒症状后，腹腔注射阿托品（16 mg/kg）救治。大鼠出现肌无力后，腹腔注射戊巴比妥钠（40 mg/kg）麻醉。于腹腔注射给予 PAM-Cl（80

mg/kg）前后分别进行电刺激单纤维肌电图（SS-FEMG）检查。对照组经口给予质量分数 3% 吐温-80，同样进行麻醉和 SSFEMG 检查。肌无力的判定按 De Bleeker 等^[3]标准进行，正常活动为 0 级；有自主活动，但伴有共济失调为 1 级；无自主活动，给予尾部疼痛刺激后仅见后肢轻微活动者为 2 级；若尾部刺激不能引起肢体活动者为 3 级。

1.2.2 电刺激单纤维肌电图的测定 大鼠固定于木板上，后肢去毛，室温 25°C 下，参照文献^[5, 6]，用 Dantec 公司产 keypoint portable 诱发电位/肌电图仪在后肢腓肠肌行 SSFEMG 检测。刺激电极插入大鼠大腿背侧膝关节上 1 cm 坐骨神经走行处，单肌纤维记录针电极（FCT102F9 型）插入腓肠肌肌腹，参考电极插入尾根背侧皮下，地极插入刺激电极与记录电极之间的皮下。刺激频率为 20 Hz，刺激强度为 1 ~ 4 mA，波宽为 0.1 ms，连续持续放电，由计算机自动贮存和分析单肌纤维动作电位潜伏时平均连续差（mean consecutive difference, MCD）。在腓肠肌不同位置上记录 6 个单肌纤维动作电位（基线平稳，波幅大于 200 μV ，上升支短于 300 μs ）后，比较对照组和染毒组 PAM-Cl 治疗前后 MCD 的差异。

1.3 统计学处理

计量数据用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，采用 t 检验，以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 大鼠中毒表现和全血 ChE 活力测定

经口染毒氧乐果 15 ~ 20 min 后，未治疗组大鼠陆续出现明显的肌颤、流涎、呼吸困难、惊厥及四肢震颤等症状，40 ~ 120 min 内全部死亡；PAM-Cl 治疗组大鼠在染毒后 30 ~ 40 min 出现肌颤、流涎等，但程度较未治疗组减轻，存活时间均超过 6 h（表 1）。氧乐果染毒后 30 min，治疗和未治疗组大鼠全血 ChE 活力均明显低于染毒前，且差异有显著性（ $P < 0.001$ ）；而治疗组与未治疗组大鼠全血 ChE 活力相比较，差异却无显著性（ $t = 0.19$ ， $P > 0.05$ ）。

表 1 染毒大鼠治疗与未治疗组中毒表现和全血 ChE 活力比较

组 别	鼠数	流涎 (%)	惊厥 (%)	呼吸困难 (%)	肌颤评分				存活时间 (h)	全血 ChE 活力($\bar{x} \pm s$)(U/ml)	
					0	1	2	3		染毒前	染毒后 0.5 h
未治疗组(氧乐果+NaCl)	6	100	50	83.3	0	0	0	100	<2	1.73 $\pm$ 0.27	0.48 $\pm$ 0.15
治疗组(氧乐果+PAM-Cl)	6	50	0	16.7	0	0	33.3	66.7	>6	1.72 $\pm$ 0.28	0.47 $\pm$ 0.06

2.2 PAM-Cl 治疗前后染毒组大鼠 SSFEMG 改变

氧乐果染毒大鼠 PAM-Cl 治疗前的 MCD 值较对照

组明显延长, 且差异有显著性 ($t=2.40, P<0.05$); PAM-Cl 治疗后的 MCD 值与对照组相比差异无显著性 ($t=1.87, P>0.05$); PAM-Cl 治疗前后的 MCD 值相比, 差异有显著性 (配对 $t=14.2, P<0.001$) (表 2)。

表 2 氧乐果染毒大鼠在 PAM-Cl 治疗前后 SSFEMG 的改变 ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	SSFEMG (20 Hz) 平均连续差 MCD (μs)
对照组	6	19.33 $\pm$ 1.30
染毒组		
治疗前	6	32.78 $\pm$ 5.79 *
治疗后	6	24.27 $\pm$ 6.48 ** #

与对照组比较, * $P<0.05$, ** $P>0.05$; 治疗前后比较, # $P<0.001$

3 讨论

本研究结果显示, 氧乐果染毒大鼠未治疗组在 15 min 后出现肌颤、流涎、惊厥和呼吸困难等严重的中毒症状, 并且在 2 h 内全部死亡; 而 PAM-Cl 治疗组大鼠的中毒症状出现时间延迟且较轻, 存活时间明显延长。表明 PAM-Cl 可有效对抗氧乐果的毒性作用。急性氧乐果染毒后 30 min, 治疗和未治疗组大鼠全血 ChE 活力均明显低于染毒前, 且差异有显著性 ($P<0.001$), 说明氧乐果可明显抑制全血 ChE 活力; 而 PAM-Cl 治疗组与未治疗组大鼠全血 ChE 活力相比较, 差异无显著性 ($P>0.05$), 提示 PAM-Cl 对抗氧乐果的毒性作用并不是通过恢复 ChE 活力实现的。

应用 SSFEMG 研究 PAM-Cl 对急性氧乐果中毒大鼠神经肌肉传导 (NMT) 的影响发现, 氧乐果染毒后, 大鼠腓肠肌 SSFEMG 测定 MCD 值较对照组明显延长, 差异有显著性 ($P<0.001$), 表明腓肠肌存在 NMT 阻滞现象; PAM-Cl 治疗后 MCD 值明显低于治疗前的 MCD 值, 差异有显著性 ($P<0.001$), 说明 NMT 阻滞明显减轻; 而治疗后的 MCD 值与对照组相比差异无显著性 ($P>0.05$), 表明 NMT 已基本恢复正常。因此, PAM-Cl

对急性氧乐果中毒大鼠的治疗机制可能是明显改善 NMT 阻滞, 而非 ChE 重活化作用。

从上个世纪 90 年代 Van Helden 等^[1]发现, 肟类药物在治疗梭曼染毒动物中可能存在 ChE 重活化作用以外的解毒效应, 即“非 ChE 重活化效应”后, 相继的一些研究结果^[7,8]也表明, 常用的肟类药物确实具有“非 ChE 重活化效应”。此效应的关键作用是在致死性有机磷化合物中毒所致 ChE 活力严重受抑制而难以维持生存的时刻, 可迅速而充分地恢复大脑呼吸中枢神经传导和呼吸肌 NMT 的功能, 从而确保中毒动物得以生存。本研究结果进一步证实肟类药物的“非 ChE 重活化效应”。因此, 在用肟类药物治疗急性有机磷中毒过程中, 不仅要观察其对 ChE 的重活化作用, 而且应高度重视其“非 ChE 重活化效应”。

参考文献:

[1] Van Helden HPM, De Lange J, Busker RW, et al. Therapy of organophosphate poisoning in the rat by direct effects of oximes unrelated to ChE-reactivation [J]. Arch Toxicol, 1991, 65: 586-593.

[2] 琚志昌, 孙金修. 氯解磷定对水胺硫磷中毒大鼠的神经肌肉传导作用 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2002, 20 (6): 425-426.

[3] De Bleeker JL, Willems J, De Reuck J, et al. Histological and histochemical study of paraoxon myopathy in the rat [J]. Acta Neuro Belg, 1991, 91: 255-270.

[4] Tomokuni K, Hasegawa T. Cholinesterase activity in the blood and brain of rats and mice as determined by a rapid colorimetric method [J]. Ind Health, 1985, 23: 75-80.

[5] Yang D, Li T, He F. Electroneurophysiological studies in rats of acute dimethoate poisoning [J]. Toxicol Lett, 1999, 107 (1-3): 249-254.

[6] 李涛, 姜健鹏. 刺激及其操作条件对电刺激单纤维肌电图的影响 [J]. 中华物理医学杂志, 1995, 17: 68-70.

[7] Heman PM, Van Helden RM, Busker BPC, et al. Pharmacological effects of oximes: how relevant are they [J]. Arch Toxicol, 1996, 70: 779-786.

[8] 张建余, 赵金垣. 肟类对急性有机磷农药中毒解毒机制的研究进展 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1998, 16: 371-373.

职业病诊断名词术语中优先推荐的和不赞成使用的名词术语对照表 (一)			
优先推荐的名词术语	不赞成使用的名词术语	优先推荐的名词术语	不赞成使用的名词术语
综合征	症候群, 综合症	分叶核粒细胞	多核白细胞
适应证	适应症	嗜碱粒细胞	嗜碱性粒细胞
禁忌证	禁忌症	嗜酸粒细胞	嗜酸性粒细胞
脑神经	颅神经	神经毒物	亲神经 (性) 毒物, 趋神经 (性) 毒物
皮质	皮层	肝脏毒物	亲肝 (性) 毒物, 趋肝 (性) 毒物
肺源性	肺源性	血液毒物	亲血液 (性) 毒物, 趋血液 (性) 毒物
神经元	神经原	肾脏毒物	亲肾 (性) 毒物, 趋肾 (性) 毒物
意识	神志, 神智	神经衰弱样症状	神经衰弱症候群
中性粒细胞	中性白细胞		