

胆碱酯酶抑制剂中毒大鼠肠屏障功能和形态结构变化及宾赛克嗪治疗作用的研究

潘志远 龙超良 汪海

【摘要】 目的 观察胆碱酯酶抑制剂类神经性毒剂中毒后大鼠肠屏障功能和组织形态结构的变化以及宾赛克嗪的治疗作用。方法 40 只雄性 Wistar 大鼠按随机数字表法均分为对照组、维埃克斯染毒模型组及宾赛克嗪 1、3、9 mg/kg 治疗组。皮下注射维埃克斯 13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 染毒；宾赛克嗪组在染毒后 5 min 腹腔注射相应剂量药物。各组于染毒后 3 h 取血，检测血浆 D-乳酸浓度及二胺氧化酶(DAO)活性；同时取小肠组织，观察肠黏膜形态和超微结构变化。结果 与对照组比较，模型组血浆 D-乳酸浓度和 DAO 活性均明显升高[D-乳酸：(87.752 \pm 22.906) mg/L 比(29.072 \pm 6.546) mg/L, DAO：(6.72 \pm 0.93) U/L 比(2.99 \pm 0.43) U/L, 均 $P < 0.01$]；宾赛克嗪 1、3、9 mg/kg 组呈现剂量依赖性降低血浆 D-乳酸浓度和 DAO 活性，其中宾赛克嗪 9 mg/kg 组可逆转染毒后血浆 D-乳酸浓度[(45.290 \pm 11.141) mg/L]和 DAO 活性[(3.17 \pm 0.68) U/L]增高(均 $P < 0.01$)。光镜下观察模型组大鼠空肠和回肠肠壁变薄，皱壁变短，结构紊乱，固有层毛细血管扩张充血，黏膜间质水肿等病理变化；电镜下观察模型组大鼠回肠上皮细胞发生坏死，细胞器损伤，紧密连接破坏等变化。宾赛克嗪 1、3、9 mg/kg 组呈现剂量依赖性抑制小肠的病理变化。结论 胆碱酯酶抑制剂中毒时出现肠黏膜上皮细胞损伤，肠黏膜屏障功能破坏，通透性增加；宾赛克嗪能抑制中毒肠黏膜屏障结构和功能的损伤。

【关键词】 胆碱酯酶抑制剂； 宾赛克嗪； 二胺氧化酶； D-乳酸； 肠屏障功能

Functional and morphological structure changes in the gut barrier during cholinesterase inhibitor intoxication and therapeutic effect of benthiaztzine in rats PAN Zhi-yuan*, LONG Chao-liang, WANG Hai. * Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China
Corresponding author: WANG Hai, Email: wh9588@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To investigate the functional and morphological structure changes in the gut barrier of rats induced by cholinesterase inhibitor VX poisoning, and the therapeutic effect of benthiaztzine. Methods Forty male Wistar rats were randomly divided into five groups: normal saline control group, VX poisoning (model) group, benthiaztzine 1, 3, 9 mg/kg treatment groups, with 8 rats in each group. In the benthiaztzine treatment groups, different dosages of the drug were respectively given (intraperitoneal injection) 5 minutes after VX poisoning (13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ subcutaneous injection). The plasma concentration of D-lactate and the diamine oxidase (DAO) activity, which reflected the gut barrier function, were measured at 3 hours after VX poisoning. At the same time point, the specimens from jejunum and ileum were harvested. The morphological changes in the intestinal mucosa were determined with light microscope and electron microscope. Results After VX poisoning, the plasma D-lactate concentration and the DAO activity in model group were significantly increased compared with those of control group [D-lactate concentration in model group was (87.752 \pm 22.906) mg/L which was higher than that of control group (29.072 \pm 6.546) mg/L; DAO activity in model group was (6.72 \pm 0.93) U/L which was higher than that of control group (2.99 \pm 0.43) U/L, both $P < 0.01$]. These values could be decreased dose-dependently after benthiaztzine 1, 3, 9 mg/kg administration after the VX poisoning. Furthermore, the increase in D-lactate (45.290 \pm 11.141) mg/L and DAO activity (3.17 \pm 0.68) U/L could be totally reversed by 9 mg/kg of benthiaztzine (both $P < 0.01$). In model group, the intestinal mucosal epithelial injury was obvious at 3 hours after VX poisoning as shown under light microscope, including diminution of the mucosal thickness and the height of villi in jejunum and ileum, interstitial edema, angiotectasis. Also electronic microscopic examination revealed damaged organelles and cell tight junction of mucosal epithelium. These pathological changes in intestine could be inhibited by benthiaztzine in dose-dependent manner. Conclusion The gut barrier function in rats was seriously damaged by the cholinesterase inhibitor agents poisoning, as a result of injury to intestinal mucosa and increase of intestinal permeability. Benthiaztzine exerts protection against functional and morphological structure damages of the gut barrier during intoxication.

【Key words】 Cholinesterase inhibitor agents; Benthiaztzine; Diamine oxidase; D-lactate; Gut barrier function

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2010.04.002

基金项目:国家重大新药创制科技重大专项(2009ZXJ09002-014,2009ZX09301-002)

作者单位:100850 北京,军事医学科学院毒物药物研究所(潘志远、龙超良、汪海);100039 北京赛德维康医药研究院(汪海);300050 天津,军事医学科学院卫生环境医学研究所(汪海) 通信作者:汪海,Email:wh9588@yahoo.com.cn

胆碱酯酶抑制剂类毒剂中毒发生快、程度重、病死率高,常导致多器官功能障碍综合征(MODS)的发生。目前已公认肠屏障功能破坏是导致肠内细菌和毒素移位以及 MODS 的启动因素,对危重病的发生发展和转归起着极为重要的作用^[1-3]。在神经毒剂中毒中,人们更多关注于患者神经系统、呼吸系统和循环系统的保护,而忽视了消化系统特别是肠屏障功能。宾赛克嗪是兼具有抗 M/N 样中毒作用的新型抗毒剂,对重度神经性毒剂中毒诱发的循环衰竭具有速效、强效和特效的救治作用,并能抑制维埃克斯中毒小鼠血浆内毒素水平的增高^[4-6]。本研究中进行进一步观察中毒状态下肠黏膜屏障形态和功能的变化以及宾赛克嗪的救治效果,对于阐明神经性毒剂中毒引起多器官功能障碍机制以及开发具有改善肠屏障功能的抗胆碱能药物具有重要价值。

1 材料与方法

1.1 主要试剂:维埃克斯(纯度为 88.2%,军事医学科学院毒物药物研究所提供),宾赛克嗪(北京赛德维康医药研究院提供,批号:20050906,纯度为 99%),D-乳酸标准品和 D-乳酸脱氢酶(美国 Sigma 公司),氧化型辅酶 I(美国 Roche 公司),二胺氧化酶(DAO)测定试剂盒(南京建成生物技术公司),高氯酸、氢氧化钾、甘氨酸和水合联胺为国产分析纯。

1.2 实验动物分组:Wistar 大鼠 40 只,体重 200~260 g,由军事医学科学院动物中心提供[合格证号:SCXK(军)2002-001]。按随机数字表法分为对照组、维埃克斯染毒模型组及宾赛克嗪 1、3、9 mg/kg 救治组,每组 8 只。模型组动物皮下注射毒剂维埃克斯(最大非致死剂量 13 μg/kg);宾赛克嗪组分别于染毒后 5 min 腹腔注射相应剂量的药物进行救治。

1.3 检测指标及方法:各组分别在染毒后 3 h 采血,肝素抗凝,离心取血浆,用于测定 D-乳酸含量和 DAO 活性。同时取距离肠道回盲瓣约 15 cm 的回肠标本约 5 cm,距离胃约 15 cm 的空肠标本约 5 cm,用于病理检查和电镜检查。

1.3.1 血浆 D-乳酸水平测定^[7-8]:用酶学分光光度法测定血浆中 D-乳酸水平,在紫外分光光度计下波长 340 nm 处测定吸光度(A)值;以 D-乳酸标准品制作标准曲线,范围为 3.625~60.000 mg/L。

1.3.2 血浆 DAO 活性测定^[9]:在紫外分光光度计 340 nm 下,采用速率法测定血浆中 DAO 活性,按 DAO 测定试剂盒说明书步骤进行操作。

1.4 小肠形态学观察

1.4.1 光镜下观察:常规制备大鼠回肠和空肠组织

标本,用甲醛水溶液固定,石蜡切片,苏木素-伊红(HE)染色,光镜下观察回肠和空肠结构及黏膜细胞的变化。

1.4.2 电镜下观察:取回肠组织,经戊二醛及锇酸双重固定,醋酸铀-柠檬酸铅双染,蔗糖磷酸缓冲液冲洗,常规方法制备标本,用透射电镜观察肠黏膜上皮细胞的结构、细胞质内细胞器和细胞核,以及细胞间紧密连接情况。

1.5 统计学处理:实验数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用 SAS 统计分析软件进行统计分析,组间比较采用方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 维埃克斯染毒后 3 h 大鼠肠屏障功能和通透性变化及宾赛克嗪的治疗作用(表 1):与对照组比较,模型组血浆 D-乳酸浓度明显升高,较对照组升高了约 2.0 倍($P < 0.01$)。宾赛克嗪 1、3、9 mg/kg 组能剂量依赖性降低染毒大鼠血中 D-乳酸含量,与模型组比较,宾赛克嗪 3 mg/kg 和 9 mg/kg 组血浆 D-乳酸浓度降低明显(均 $P < 0.01$)。与对照组比较,模型组血浆 DAO 活性显著升高,较对照组升高了约 1.2 倍($P < 0.01$)。与模型组比较,宾赛克嗪 1、3、9 mg/kg 组可呈剂量依赖性地逆转染毒大鼠血浆 DAO 活性升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),宾赛克嗪 9 mg/kg 治疗效果最好。表明毒剂中毒后大鼠肠通透性显著增加,肠屏障功能破坏;宾赛克嗪及时救治可剂量依赖性改善甚至逆转此肠屏障功能的破坏。

表 1 维埃克斯染毒后 3 h 大鼠肠屏障功能和通透性的变化及宾赛克嗪的治疗作用($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	D-乳酸(mg/L)	DAO(U/L)
对照组	7	29.072 ± 6.546	2.99 ± 0.43
模型组	8	87.752 ± 22.906 ^a	6.72 ± 0.93 ^a
宾赛克嗪 1 mg/kg 组	7	64.229 ± 24.884 ^a	5.26 ± 0.81 ^{ac}
3 mg/kg 组	7	56.936 ± 10.371 ^{ad}	4.11 ± 1.11 ^{bd}
9 mg/kg 组	7	45.290 ± 11.141 ^{bd}	3.17 ± 0.68 ^d

注:DAO,二胺氧化酶;与对照组比较,^a $P < 0.01$,^b $P < 0.05$;与模型组比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$

2.2 组织病理学变化:观察维埃克斯染毒后 3 h 大鼠小肠组织光镜和电镜下的病理变化以及宾赛克嗪的治疗作用。

2.2.1 空肠病理变化(彩色插图 1):光镜下观察,对照组大鼠空肠可见肠道黏膜结构基本正常,绒毛上皮完整并排列整齐,无上皮脱落和碎屑形成。模型组肠腔明显变大,肠壁(肌层和固有层)变薄,皱壁变短,结构不清并排列紊乱,固有层毛细管扩张充

血,血管中可见积聚的红细胞并可见黏膜间质水肿。宾赛克嗪 1、3、9 mg/kg 组病变显著改善,其中宾赛克嗪 9 mg/kg 组效果最好。

2.2.2 回肠病理变化(彩色插页图 2):光镜下观察,对照组大鼠回肠黏膜结构基本正常,绒毛上皮完整并排列整齐。模型组大鼠回肠病理变化跟空肠变化类似。宾赛克嗪 1 mg/kg 组病理变化仍较明显,但较模型组好转;宾赛克嗪 3 mg/kg 组和 9 mg/kg 组病理变化轻,治疗效果好。

2.2.3 回肠黏膜上皮细胞超微结构变化(图 3):电镜下观察,模型组大鼠回肠黏膜上皮细胞形态结构紊乱,细胞核固缩坏死,核旁大部分细胞器均质化,核周内质网扩张呈现大量空泡,线粒体结构破坏。宾赛克嗪 1、3、9 mg/kg 组比模型组有明显改善。表明染毒造成小肠上皮细胞形态结构损伤明显;宾赛克嗪能剂量依赖性逆转此变化,具有细胞保护作用。

2.2.4 回肠黏膜上皮细胞间紧密连接变化(图 4):模型组除细胞形态异常外,细胞间缝隙增宽非常显

著,细胞间紧密连接破坏明显。宾赛克嗪 3 mg/kg 组和 9 mg/kg 组细胞间连接保持完整。表明染毒造成小肠上皮细胞间的紧密连接破坏明显;3 mg/kg 和 9 mg/kg 的宾赛克嗪能逆转此变化。

3 讨论

急性有机磷农药中毒(AOPP)时,为保护心、脑等重要器官,全身血液重新分配,肠道平滑肌和血管痉挛性收缩,肠道血流减少,引起肠组织缺血、缺氧,造成肠黏膜上皮细胞受损和屏障功能破坏,从而极易导致内毒素血症和脓毒症,引起全身炎症反应综合征(SIRS),形成恶性循环,诱发 MODS^[9]。因此,肠屏障功能的破坏在 MODS 的发生发展中起重要作用^[1-2]。

阿托品和胆碱酯酶复活剂等经典药物的使用已能有效控制胆碱能症状,呼吸机、抗惊厥药物以及心血管药物的使用亦能有效保护心、肺、脑等重要器官损伤,但往往忽视了对消化系统特别是肠道损伤的保护。普遍采用的及时足量“阿托品化”治疗此类中

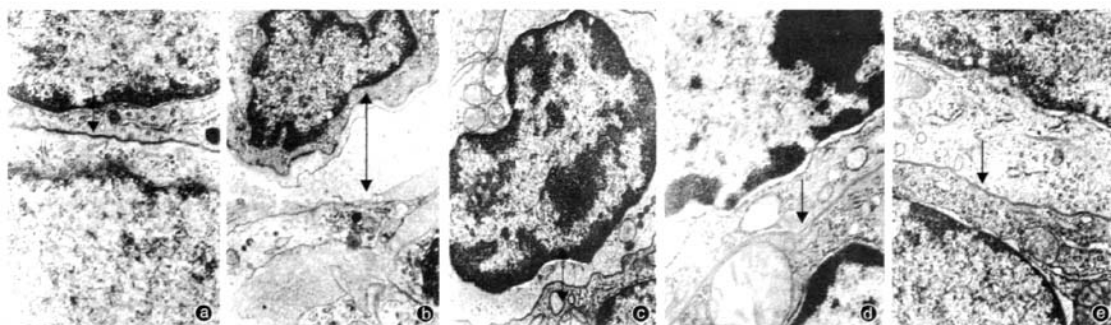


图 3 电镜下观察维埃克斯染毒后 3 h 大鼠回肠黏膜上皮细胞的超微结构变化以及宾赛克嗪的治疗作用 对照组(a)回肠黏膜上皮细胞形态结构清楚,细胞核和核旁细胞器结构清晰,粗面内质网丰富,线粒体结构正常;模型组(b)细胞形态结构紊乱,细胞核固缩坏死,核旁大部分细胞器均质化,核周内质网扩张呈现大量空泡,线粒体结构不清;宾赛克嗪 1 mg/kg 组(c)细胞形态异常,核稍固缩,核旁少量细胞器均质化,仍可见线粒体、内质网等基本结构,但较模型组有明显改善;宾赛克嗪 3 mg/kg 组(d)和 9 mg/kg 组(e)细胞形态结构完好,核结构清晰,粗面内质网丰富,线粒体结构正常,与对照组相近 醋酸铀-柠檬酸铅双染 ×17 000

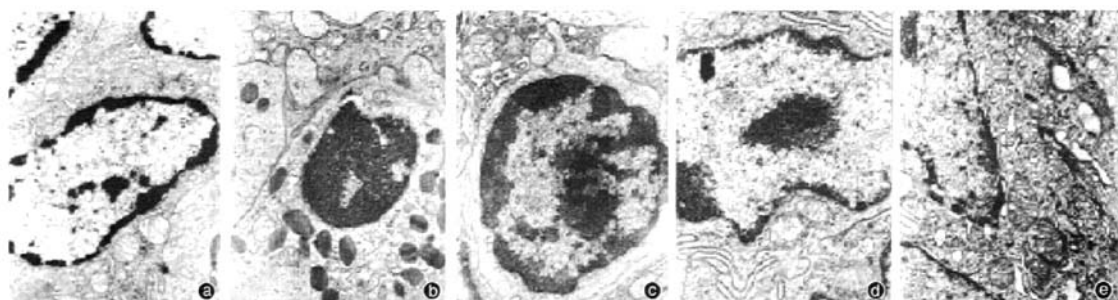


图 4 电镜下观察维埃克斯染毒后 3 h 大鼠回肠黏膜上皮细胞间的紧密连接变化以及宾赛克嗪的治疗作用 对照组(a)回肠黏膜上皮细胞间紧密连接正常,并且界限清楚(箭头所指处);模型组(b)除了细胞形态异常外,细胞间缝隙增宽非常显著,细胞间紧密连接破坏明显(箭头所指处);宾赛克嗪 1 mg/kg 组(c)细胞间隙亦明显增宽,但较模型组稍有改善;宾赛克嗪 3 mg/kg 组(d)和 9 mg/kg 组(e)细胞间紧密连接正常,与对照组相似(箭头所指处) 醋酸铀-柠檬酸铅双染 ×28 000

毒,对于 AOPP 患者,由于阿托品对肠道亲和力高,且用量过大,常导致肠麻痹的发生,进一步加重肠损伤。因此,研究既可有效对抗毒剂中毒,又可避免加重肠损伤甚至改善肠屏障功能的新型抗胆碱能药物具有重要意义。

肠黏膜通透性是反映肠屏障功能的重要指标。近年来,常采用检测血 D-乳酸和 DAO 来反映肠屏障功能损害和通透性变化^[8]。循环 D-乳酸含量的测定是检测肠黏膜通透性主要方法之一。D-乳酸是细菌发酵的代谢产物,在肠黏膜受损和通透性增加时,血中 D-乳酸水平升高,检测血液中 D-乳酸水平就可反映肠黏膜损害程度和通透性变化。DAO 是一种肠黏膜绒毛细胞胞质中具有高度活性的细胞内酶。当肠黏膜上皮细胞受损后,细胞释放 DAO 增加,血浆 DAO 升高,故测定其在外周血中的变化可反映肠黏膜上皮细胞及其构成的肠屏障结构受损情况。

本研究发现,皮下注射最大非致死剂量的维埃克斯(13 μg/kg),大鼠均在 20 min 后出现震颤、流涎、四肢无力等明显的 M/N 样作用;持续 3 h 以上,血浆 D-乳酸浓度和 DAO 活性显著升高,表明中毒会导致肠通透性增加,肠黏膜上皮细胞损伤,肠屏障功能破坏。光镜和电镜结果显示中毒后大鼠小肠发生明显的形态学变化,表现为肠腔明显变大,肠壁变薄,皱壁变短,绒毛上皮细胞结构不清并排列紊乱,固有层毛细血管扩张充血,黏膜间质水肿,细胞间紧密连接破坏。此形态学改变和功能改变与中毒时肠道持续痉挛和肠组织缺血、缺氧密切相关^[10-11]。

本课题组前期研究表明,宾赛克嗪能缩短维埃克斯中毒小鼠血浆中内毒素增高时间,减慢血浆中内毒素增高的速度,以减轻胃肠黏膜屏障功能^[6];宾赛克嗪还可明显提高敌敌畏中毒大鼠的救治成功率,且于救治后 30 min 内使中毒大鼠迅速脱离呼吸衰竭状态^[12]。本研究证实宾赛克嗪除可以明显拮抗中毒导致的 M/N 样效应外,还可以剂量依赖性降

低血中 D-乳酸浓度和 DAO 活性的增高,改善甚至逆转肠道缺血、缺氧造成的病理性损伤。

综上所述,有机磷酯类胆碱酯酶抑制剂中毒时肠道组织发生病理性改变,肠黏膜屏障功能受损,通透性增加。宾赛克嗪救治可减轻肠道病理损伤,保护肠黏膜屏障功能,这与其改善中毒时血浆内毒素水平的增高密切相关。

参考文献

- [1] Swank GM, Deitch EA. Role of the gut in multiple organ failure; bacterial translocation and permeability changes. *World J Surg*, 1996, 20:411-417.
- [2] Rombeau JL, Takala J. Summary of round table conference; gut dysfunction in critical illness. *Intensive Care Med*, 1997, 23:476-479.
- [3] 王佩燕. 肠——多器官功能障碍综合征防治的靶器官? *中国危重病急救医学*, 2001, 13:647-648.
- [4] 刘念, 曹洁玮, 王汝欢, 等. 宾赛克嗪对有机磷农药所致循环衰竭的救治作用. *中国临床药理学与治疗学*, 2007, 12:575-581.
- [5] 张津津, 龙超良, 唐渊, 等. 神经性毒剂梭曼中毒致犬心电图的变化及宾赛克嗪的救治作用. *中国临床药理学与治疗学*, 2008, 13:886-890.
- [6] 宋丽雪, 唐渊, 汪海. 胆碱酯酶抑制剂中毒时血浆内毒素浓度变化的规律及宾赛克嗪的干预作用. *中国危重病急救医学*, 2008, 20:558-560.
- [7] Brandt RB, Siegel SA, Waters MG, et al. Spectrophotometric assay for D-lactate in plasma. *Anal Biochem*, 1980, 102:39-46.
- [8] 朱玉华, 杨广林, 蒋波健. 胃肠黏膜屏障功能的检测方法. *海南医学*, 2004, 15:107-108.
- [9] 林洪远, 盛志勇. 全身炎症反应和 MODS 认识的变化及现状. *中国危重病急救医学*, 2001, 13:643-646.
- [10] Chang JX, Chen S, Ma LP, et al. Functional and morphological changes of the gut barrier during the restitution process after hemorrhagic shock. *World J Gastroenterol*, 2005, 11: 5485-5491.
- [11] Demaude J, Salvador-Cartier C, Fioramonti J, et al. Phenotypic changes in colonocytes following acute stress or activation of mast cells in mice; implications for delayed epithelial barrier dysfunction. *Gut*, 2006, 55:655-661.
- [12] 莫晨, 王汝欢, 孟祥飞, 等. 宾赛克嗪对胆碱酯酶抑制剂中毒大鼠呼吸衰竭的治疗研究. *中国危重病急救医学*, 2009, 21: 652 - 655.

(收稿日期:2009-04-04)

(本文编辑:李银平)

• 科研新闻速递 •

早期联合输血输液可延长难控性失血性休克大鼠的存活时间

最近,日本学者对联合输血、输液能否延长难控性失血动物的存活时间进行了研究。学者们将 24 只大鼠用氟烷轻度麻醉,保持其自主呼吸。15 min 内按 25 ml/kg 的量抽血造成失血性休克,随后切断 75% 长度的鼠尾。切断鼠尾 10 min 后,将大鼠按照随机数字表法分为 4 组,每组 6 只。第 1 组前 5 min 按 30 ml/kg 输血,后 15 min 按 90 ml/kg 输乳酸林格液(LR);第 2 组前 15 min 按 90 ml/kg 输 LR,后 5 min 按 30 ml/kg 输血;第 3 组只按 90 ml/kg 输 15 min 的 LR;第 4 组既不输血也不输液。然后观察大鼠至死亡或者 180 min。结果发现,第 1 组至第 4 组大鼠平均存活时间(min)分别为 138±30、108±22、79±13、55±18,4 组间差异有统计学意义(P<0.05);各组鼠尾残端失血量比较差异则无统计学意义。研究人员认为,难控性失血时只补充晶体液进行复苏是不可取的,延误输血也会缩短存活时间,早期联合输血输液复苏效果最好。

杨明星,编译自《J Trauma》,2010,68:312-316;胡森,审校

胆碱酯酶抑制剂中毒大鼠肠屏障功能和形态结构变化 及宾赛克嗪治疗作用的研究

(正文见197页)

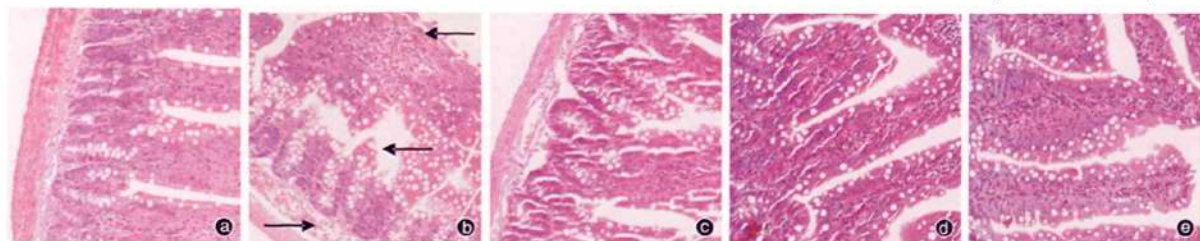


图1 光镜下观察维埃克斯染毒后3h大鼠空肠的病理变化以及宾赛克嗪的治疗作用 对照组(a)肠道黏膜结构基本正常,绒毛上皮完整并排列整齐,无上皮脱落和碎屑形成;模型组(b)肠腔明显变大,肠壁(肌层和固有层)变薄,皱壁变短,结构不清并排列紊乱(-);固有层毛细血管扩张充血,血管中可见积聚的红细胞并可见黏膜间质水肿(-);宾赛克嗪1、3、9mg/kg组(c、d、e)可以改善上述病理变化,其中以宾赛克嗪9mg/kg组效果最好,与对照组没有区别 HE×10

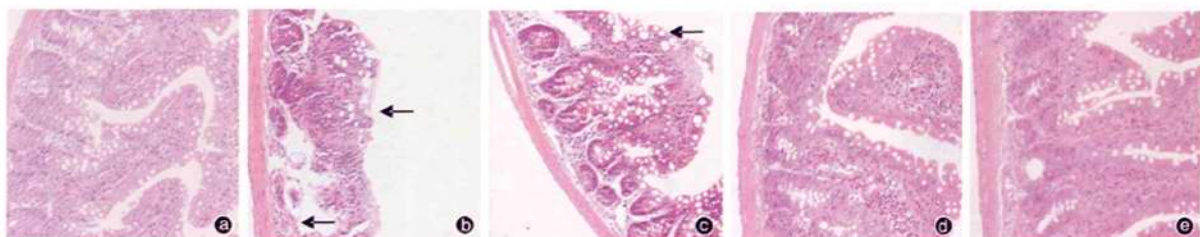


图2 光镜下观察维埃克斯染毒后3h大鼠回肠的病理变化以及宾赛克嗪的治疗作用 对照组(a)肠道黏膜结构基本正常,绒毛上皮完整并排列整齐;模型组(b)肠腔明显变大,肠壁(肌层和固有层)变薄,皱壁变短,结构不清并排列紊乱(-);宾赛克嗪1mg/kg组(c)肠黏膜绒毛上皮细胞结构仍不清,排列紊乱,但厚度较模型组增加(-),有一定的改善;宾赛克嗪3mg/kg组(d)和9mg/kg组(e)可以逆转上述病理变化,与对照组区别不明显 HE×10

二氮嗪对新生儿窒息后血清诱导人近曲肾小管上皮细胞损伤时 线粒体凋亡途径的影响

(正文见214页)

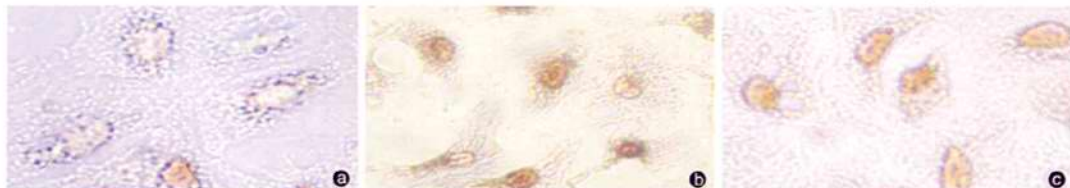


图1 倒置相差显微镜下观察二氮嗪对新生儿窒息后血清诱导人近曲肾小管上皮细胞(HK-2)天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶3(caspase-3)表达的影响 caspase-3阳性表达染色为金黄色和黄褐色,位于胞质,窒息组(b)caspase-3阳性表达明显强于对照组(a);二氮嗪组(c)阳性表达则较窒息组(b)明显减弱 免疫组化×400

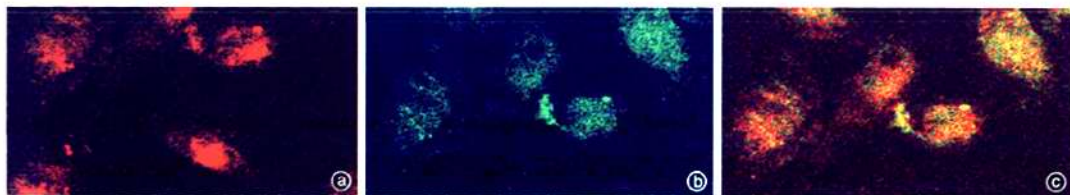


图2 激光共聚焦显微镜下观察二氮嗪对新生儿窒息后血清诱导HK-2细胞Omi/HtrA2胞内转位的影响 对照组(a)胞质中线粒体红色荧光与Omi/HtrA2绿色荧光重叠合成黄色荧光,代表Omi/HtrA2尚未发生转位;窒息组(b)胞质中红色荧光与绿色荧光未发生重叠而相互分离,代表Omi/HtrA2已经发生转位;二氮嗪组(c)有部分红色荧光与绿色荧光重叠 间接免疫荧光双染色×400

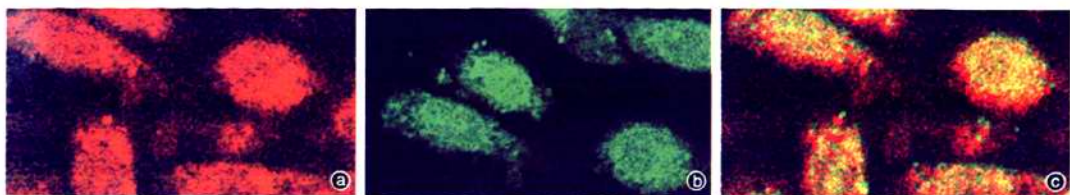


图3 激光共聚焦显微镜下观察二氮嗪对新生儿窒息后血清诱导HK-2细胞线粒体膜电位的影响 当膜电位较高时,可产生红色荧光,膜电位较低时,产生绿色荧光;对照组(a)细胞呈橙红色荧光;窒息组(b)细胞呈黄绿色荧光;二氮嗪组(c)细胞呈黄色荧光 JC-1荧光染色×400

克嗪治疗作用的研究

作者: 潘志远, 龙超良, 汪海

作者单位: 潘志远, 龙超良(军事医学科学院毒物药物研究所, 北京, 100850), 汪海(100039, 北京赛德维康医药研究院; 300050, 天津, 军事医学科学院卫生学环境医学研究所)

刊名: 中国危重病急救医学 ISTIC PKU

英文刊名: CHINESE CRITICAL CARE MEDICINE

年, 卷(期): 2010, 22(4)

被引用次数: 0次

参考文献(12条)

1. 莫晨;王汝欢;孟祥飞 宾赛克嗪对胆碱酯酶抑制剂中毒大鼠呼吸衰竭的治疗研究[期刊论文]-中国危重病急救医学 2009(11)
2. 刘念;曹洁玮;王汝欢 宾赛克嗪对有机磷农药所致循环衰竭的救治作用[期刊论文]-中国临床药理学与治疗学杂志 2007(5)
3. 王佩燕 肠-多器官功能障碍综合征防治的靶器官[期刊论文]-中国危重病急救医学 2001(11)
4. Rombeau JL;Takala J Summary of round table conference:gut dysfunction in critical illness 1997
5. Swank GM;Deitch EA Role of the gut in multiple organ failure:bacterial translocation and permeability changes 1996
6. 林洪远;盛志勇 全身炎症反应和MODS认识的变化及现状[期刊论文]-中国危重病急救医学 2001(11)
7. 朱玉华;杨广林;蒋波健 胃肠黏膜屏障功能的检测方法[期刊论文]-海南医学 2004(6)
8. Brandt RB;Siegel SA;Waters MG Spectrophotometric assay for D-lactate in plasma 1980
9. 宋丽雪;唐渊;汪海 胆碱酯酶抑制剂中毒时血浆内毒素浓度变化的规律及宾赛克嗪的干预作用[期刊论文]-中国危重病急救医学 2008(9)
10. 张津津;龙超良;唐渊 神经性毒剂梭曼中毒致犬心电图的变化及宾赛克嗪的救治作用[期刊论文]-中国临床药理学与治疗学杂志 2008(8)
11. Demaude J;Salvador-Cartier C;Fioramonti J Phenotypic changes in colonocytes following acute stress or activation of mast cells in mice, implications for delayed epithelial barrier dysfunction 2006
12. Chang JX;Chen S;Ma LP Functional and morphological changes of the gut barrier during the restitution process after hemorrhagic shock 2005

相似文献(10条)

1. 学位论文 曹洁玮 宾赛克嗪对胆碱酯酶抑制剂中毒诱发循环衰竭的实验治疗学研究 2006

胆碱酯酶抑制剂(ChEI)中毒一直是民用医学和军事医学普遍关注的重要问题。ChEI中毒致死的主要原因为呼吸衰竭、循环衰竭和惊厥。目前临床上采用人工呼吸技术和抗惊厥药物,呼吸衰竭和惊厥能较为有效地控制,降低其致死率。在救治失败的患者中,循环衰竭为主要死亡原因之一。此种循环衰竭是一种恶性循环,其突出特点是对大多数药物,尤其是升压药物敏感性降低,目前国内外相关的研究报道较少,尚无理想的救治措施,成为ChEI中毒急救中的最大难题。因此对ChEI中毒诱发循环衰竭的特征进行研究以及寻找新的高效抗毒药物具有重要价值。

ChEI中毒是通过抑制中枢胆碱酯酶的活性,导致中枢内源性乙酰胆碱(ACh)过度蓄积,激动中枢M和N受体,从而出现M和N样中毒症状。目前国内外ChEI中毒救治方案中特效抗毒剂虽然在制剂类型上有所变化,但药物种类依然主要为M受体拮抗剂阿托品和胆碱酯酶重活化剂两大类。本室前期研究发现,在ChEI中毒诱发循环衰竭的动物模型上,同时拮抗M、N受体,可提高中毒动物的存活率。可见在ChEI中毒的救治中同时拮抗M、N受体具有重要意义。

宾赛克嗪是一类兼具M、N受体双重拮抗作用的新型化合物。前期研究表明宾赛克嗪具有独特的药理学和治疗学优势,有望发展为一类新型抗ChEI中毒诱发循环衰竭的药物应用于临床。本研究旨在进一步明确宾赛克嗪对不同诱因诱发循环衰竭的救治作用,观察其抗循环衰竭的特异性,为临床发展新型抗胆碱能药物提供实验基础。同时阐明有机磷农药中毒诱发循环衰竭时血流动力学特征和心电图的改变,深化对有机磷农药中毒病理生理学机制的认识,为有机磷农药中毒诱发循环衰竭特异性救治新措施的研究提供理论基础。

一、宾赛克嗪对胆碱酯酶抑制剂敌敌畏诱发循环衰竭的治疗作用

在敌敌畏腹腔注射系统染毒诱发大鼠循环衰竭的实验模型上,观察宾赛克嗪肌肉注射对循环衰竭时血流动力学参数和心电图病理变化的影响。结果发现,与染毒前相比,大鼠循环衰竭时,SBP、DBP、MBP、HR、反映心脏收缩功能的指标+dp/dtmax和Vpm、反应心脏舒张功能的指标-dp/dtmax和

+dp/dtmax/IP显著降低;LVDP和IP是反应心脏舒张功能的另外两个指标,其值越大,表明心脏的舒张功能越低下,与染毒前相比, LVDP和IP显著增高。此时心电图表现为心动过缓、结性心律、P-R间期改变等。给予宾赛克嗒0.5-2.0mg/kg救治,血流动力学参数恢复时间为0.5-3min,心电图异常改变在3-5min内即有显著改善。表明新型抗胆碱药物宾赛克嗒具有抗敌敌畏中毒诱发循环衰竭的作用。

二、宾赛克嗒对胆碱酯酶抑制剂对硫磷诱发循环衰竭的治疗作用

在对硫磷腹腔注射系统染毒诱发大鼠循环衰竭的实验模型上,观察宾赛克嗒肌肉注射对循环衰竭时血流动力学参数和心电图病理变化的影响。结果发现,与染毒前相比,大鼠循环衰竭时,SBP、DBP、HR、+dp/dtmax、Vpm、-dp/dtmax和+dp/dtmax/IP显著降低;与染毒前相比, LVDP和IP显著增高。此时心电图表现为心动过缓、结性心律、窦性P波倒置、P-R间期改变等。给予宾赛克嗒0.5-2.0mg/kg救治后,血流动力学参数恢复时间0.5-3min,心电图异常改变在3-5min内即有显著改善。表明新型抗胆碱药物宾赛克嗒具有抗对硫磷中毒诱发循环衰竭的作用。

三、宾赛克嗒对失血性休克的影响

在大鼠失血性休克的实验模型上,观察宾赛克嗒肌肉注射对休克时血压、心功能指标和心电图异常改变的影响。结果发现,宾赛克嗒0.5-5.0mg/kg剂量范围对大鼠失血性休克的作用:宾赛克嗒0.5mg/kg救治后,血压、心脏收缩功能指标、心率和心脏舒张功能指标恢复时间分别为30min、3-5min和30min;心电图与休克时相比无显著变化。宾赛克嗒2.5mg/kg救治后,血压恢复时间为5-10min,但其改善作用仅能维持5-10min;心率和心功能指标恢复时间为5-10min;心电图与休克时相比无显著变化。宾赛克嗒5.0mg/kg救治后,血流动力学和心电图同休克时相比无显著变化。提示宾赛克嗒对大鼠失血性休克时血流动力学指标和心电图的异常变化改善作用局限,不符合急救药的特点。

四、宾赛克嗒对感染中毒性休克的影响

在大鼠感染中毒性休克的实验模型上,观察宾赛克嗒肌肉注射对休克时血压、心功能指标和心电图异常改变的影响。结果发现,宾赛克嗒0.5-5.0mg/kg剂量范围对大鼠感染中毒性休克的作用:宾赛克嗒0.5mg/kg救治后,血流动力学指标、心电图与休克时无显著变化。宾赛克嗒2.5mg/kg救治后,血压恢复时间为3-10min;心功能各指标、心电图与休克时相比无显著变化。宾赛克嗒5.0mg/kg救治,血压恢复时间为20-45min;心功能各指标、心电图与休克时相比无显著变化。感染中毒性休克的发病机制复杂,临床有其特异性综合治疗措施,宾赛克嗒肌肉注射未收到显著的救治效果。

五、宾赛克嗒对心源性休克的影响

在犬源性休克的实验模型上,观察宾赛克嗒肌肉注射对休克时血压、心功能指标和心电图异常改变的影响。休克时SBP、DBP、MBP、CO、+dp/dtmax、Vpm、-dp/dtmax与休克前相比均显著降低,此时心电图表现为P-R间期延长,QRS宽大畸形,T波高耸等改变。本室前期研究表明,宾赛克嗒在犬上抗神经毒剂中毒诱发循环衰竭作用的药效剂量为0.1mg/kg。本实验结果发现,宾赛克嗒0.1mg/kg救治后,犬源性休克的血压、心脏功能指标恢复时间为10min;同时可改善休克时心电图的异常变化,起效时间为救治后10min。

综上所述,本研究结论如下:

1. 胆碱酯酶抑制剂类有机磷农药敌敌畏和对硫磷系统染毒诱发大鼠循环衰竭,其血流动力学特征体现为,血压、心率、心脏收缩和舒张功能显著下降;心电图异常体现为,心率缓慢,心脏节律紊乱。表明心脏收缩和舒张功能、心脏起搏和传导系统功能均受到显著的抑制。与速杀性神经毒剂沙林、梭曼、塔崩和维埃克斯系统染毒所致循环衰竭的血流动力学特征相似。

2. 在敌敌畏和对硫磷系统染毒诱发大鼠循环衰竭的实验模型上,宾赛克嗒可对敌敌畏和对硫磷诱发大鼠循环衰竭时血流动力学和心电图的异常改变,血压和心率恢复时间为0.5-1min,心功能恢复时间为0.5-3min,心电图恢复时间为3-5min。表明宾赛克嗒具有速效和强效救治有机磷农药中毒时循环衰竭的作用。

3. 在失血、感染和心力衰竭诱发大鼠或犬循环衰竭的实验模型上,宾赛克嗒对大鼠失血性休克的作用:血压恢复时间为5-30min,心功能恢复时间为10min,心电图与休克时相比无显著改善;宾赛克嗒对大鼠感染中毒性休克的作用:血压恢复时间为3-20min,心功能指标、心电图与休克时相比无显著改善;宾赛克嗒对犬源性休克的作用:血压、心功能指标、心电图的异常改变恢复时间为10min。表明宾赛克嗒对胆碱酯酶抑制剂类神经毒剂诱发循环衰竭的救治作用具有特异性。

2. 期刊论文 [王喆, 潘志远, 龙超良, 邱泽武, 汪海, WANG Zhe, PAN Zhi-yuan, LONG Chao-liang, QIU Ze-wu, WANG Hai](#)

宾赛克嗒改善胆碱酯酶抑制剂中毒时学习记忆能力的减退 -中国药理学通报2009, 25 (10)

目的 研究胆碱酯酶抑制剂VX中毒大鼠学习记忆能力的变化以及宾赛克嗒的救治作用。方法 δ Wistar大鼠,随机分为正常对照组、VX模型组、宾赛克嗒0.5、1.5、4.5 mg·kg⁻¹治疗组;模型组皮下注射VX (1×LD50),正常组给予等剂量生理盐水,各治疗组在VX染毒后5 min腹腔注射给予相应药物救治。在染毒后4 h分离海马,用透射电镜观察神经元的变化;在给药后d 8采用Morris水迷宫试验对各组动物进行学习记忆功能检测,包括定位航行实验、空间探索实验和翻转实验。结果 ①定位航行实验及翻转实验表明:模型组大鼠逃逸潜伏期和游程较正常组明显延长(P<0.05或P<0.01),学习记忆能力明显降低;空间探索实验表明:正常组动物在目标象限的时间和游程明显高于其余象限(P<0.01),而模型组动物在目标象限的时间和游程与其余象限无差别,空间探索能力降低;宾赛克嗒0.5、1.5、4.5 mg·kg⁻¹治疗组能缩短染毒大鼠逃逸潜伏期和游程,在目标象限的时间和游程均高于其他象限,改善甚至逆转染毒大鼠学习记忆能力的降低。②染毒后4 h,模型组的大鼠海马神经元超微结构破坏,出现空泡样变,核固缩,细胞器匀质化;宾赛克嗒0.5、1.5、4.5 mg·kg⁻¹治疗组对神经元具有保护作用,宾赛克嗒4.5 mg·kg⁻¹治疗组可完全逆转海马神经元的病理损伤。结论 胆碱酯酶抑制剂中毒时,大鼠学习记忆功能下降;宾赛克嗒能改善大鼠学习记忆功能,与其能保护中毒时海马神经元病理损伤有关。

3. 学位论文 [张津津 胆碱酯酶抑制剂中毒致循环衰竭和心律失常及宾赛克嗒救治作用的研究](#) 2009

目的:我国是国际范围内使用有机磷农药最多的国家,同时在现代化战争和恐怖袭击中,使用最多、毒性最强、杀伤力最大的是有机磷类神经毒剂[1]。而胆碱酯酶抑制剂(ChEI)类神经毒剂致死的三大原因是呼吸衰竭、循环衰竭和脑功能紊乱。其中,呼吸衰竭和脑功能紊乱可用人工呼吸及苯二氮卓类药物有效控制。但中毒后出现的循环衰竭是一种恶性循环衰竭,此时血压对升压药失去有效反应,同时还伴有重度的房室传导阻滞、Q-T间期延长、尖端扭转型室速等恶性心律失常,可导致病情恶化和猝死,因而成为临床救治失败的主要原因之一。

目前,临床上最常用的ChEI中毒救治药物是受体拮抗剂-阿托品,但阿托品仅具有抗M受体作用,而无抗N受体作用。在有机磷中毒患者的临床使用中,阿托品的救治剂量较难掌握,易出现阿托品中毒,因此治疗效果欠佳。而宾赛克嗒是一种兼具拮抗M受体和N受体作用的新型抗毒药物,前期研究发现,它能同时拮抗胆碱M受体和N受体,对ChEI中毒导致的循环衰竭立即用药,取得了满意的治疗效果,有效提高了中毒动物的存活率。临床上ChEI中毒时,情况往往十分复杂,常错过了最佳的抢救时机,使全身多系统产生M样和N样中毒症状,并发多脏器功能障碍(MODS)甚至多器官衰竭(MOF)[5];而在ChEI严重中毒后,循环衰竭和呼吸衰竭这两种严重的致死因素常常并存,并相互加重[2],增加了死亡率和抢救难度。本研究模拟临床上ChEI中毒后发生循环衰竭、恶性心律失常的情况下,观察宾赛克嗒对其救治作用,为临床救治提供理论依据。

方法:

实验1、7只杂种雄性犬,以戊巴比妥钠麻醉后,行人工正压呼吸。分离暴露左右股动脉及一侧股静脉,分别将导管置入左心室、股动脉及股静脉,通过八导生理记录仪,连续记录心功能及动脉压变化。再用梭曼累积染毒,方法为每次肌肉注射1/3 LD梭曼(LD=10 μg/kg),每10 min追加1次。以平均动脉血压降至45 mmHg为标准,以PaO₂<60 mmHg, PaCO₂>50 mmHg, SO₂<90%为呼吸衰竭标准,循环衰竭维持约2-5 h后用宾赛克嗒0.1 mg/kg静脉注射进行抢救。

实验2、21只Wistar δ 大鼠,体重300±30g。随机分为3组:即vx染毒后采用宾赛克嗒1mg/kg(A组)、2mg/kg(B组)和阿托品2mg/kg(C组)肌肉注射救治组,每组7只。以3%戊巴比妥钠腹腔麻醉。气管插管连接小动物呼吸机。分离颈总动脉,将导管置入左心室,通过八导生理记录仪记录心功能。分离一侧股动脉,将导管置入记录动脉血压变化。采用维埃克斯(vx)累积染毒,方法为先给予肌肉注射1 LDvx(LD=30 μg/kg),再依次给予1/2 LDvx,每10min追加1次,以平均动脉血压降至60mmHg为标准开始抢救;动物达到循环衰竭标准1min,出现典型的恶性心律失常后开始救治,分别用宾赛克嗒1mg/kg、2mg/kg、阿托品2mg/kg-次性肌肉注射给药。救治后观察30min。

结果:

1、在呼吸机正压通气情况下,梭曼累积染毒(2LD左右)约1h时,犬出现呼吸衰竭。PaO₂和SaO₂显著降低(P<0.01), PaCO₂显著升高(P<0.01)。平均染毒(4LD左右)约2h时,MAP低于45 mmHg,达到了循环衰竭标准。其后,由于停止给予梭曼,动物的各呼吸指标都有恢复的趋势,但PaCO₂、PaCO₂和SaO₂仍反映动物处于呼吸衰竭状态。循环衰竭后犬的心率和血压在衰竭水平上维持一个相对稳定的状态。在犬发生循环衰竭后2-3 h,心脏的血流动力学发生了显著改变。心率由染毒前的170±19次/min降低到染毒后5h时的22±6次/min(n=4-7)。同时100%出现房室传导阻滞,部分P波消失,出现室性逸搏,结性心律;T波高耸,波峰尖锐。血液中CK-MB和LDH水平显著增加(P<0.05),提示心脏严重受损。

在梭曼致犬中毒发生循环衰竭后2-3 h,给予宾赛克嗒0.1 mg/kg静脉注射进行抢救,犬的心率、血压和心功能各项指标在1-3 min内迅速恢复,脱离了

循环衰竭状态; 57.1%的犬在3-5 min恢复窦性心律, 心率增加, 房室传导阻滞消失, 心电图T波可基本恢复正常。在宾赛克嗒抢救后1h, 犬的心率、血压和各项心脏功能维持稳定, 未再出现心律失常。同时血气分析提示犬脱离了呼吸衰竭状态, 但血液中CK-MB和LDH在救治后无显著恢复。

2、VX染毒致大鼠循环衰竭发生后, 我们也观察到HR和MAP都显著降低($P<0.01$)。大鼠在麻醉状态下, 心电图在未染毒前均为正常窦性心律, P波直立, 心率在390次/分左右。在染毒过程中, 心率减慢, 100%出现房室传导阻滞, P波双向倒置甚至消失, 室性逸搏, 结性心律。

A组和B组在救治后0.5min时, HR和MAP均脱离循环衰竭水平($P<0.05$, $P<0.01$)。A组在1min时有4只(57.1%)大鼠恢复正常心律, B组在1min时均有房室传导阻滞, 6例大鼠全部正常心律, P波直立, 仅1例有P波倒置。2min时均恢复正常的窦性心律。

C组在救治后0.5min时, HR和MAP较循环衰竭时均无改善($P>0.05$), 在1 min时HR较循环衰竭时有差异($P<0.05$), 2min时有显著改善($P<0.01$)。MAP在1 min时有显著提高($P<0.01$)。心电图显示在3min时才全部恢复正常。

结论: 宾赛克嗒既有抗M作用又有抗N作用, 可显著对抗梭曼累积染毒所致的大鼠进行性循环衰竭和呼吸衰竭。在中毒的后期还可对抗抗敏N受体对M受体功能的易化作用, 有利于减轻M样毒性反应。并能较阿托品迅速而有效的纠正严重心律失常, 且剂量小于阿托品, 也能达到良好效果。

4. 期刊论文 [莫晨, 王汝欢, 孟祥飞, 龙超良, 汪海, MO Chen, WANG Ru-huan, MENG Xiang-fei, LONG Chao-liang, WANG](#)

[Hai 宾赛克嗒对胆碱酯酶抑制剂中毒大鼠呼吸衰竭的治疗研究 -中国危重病急救医学2009, 21\(11\)](#)

目的: 评价宾赛克嗒对胆碱酯酶抑制剂敌敌畏中毒致呼吸衰竭(呼衰)的救治效果。方法: 将45只雄性Wistar大鼠按随机数字表法分为对照组、模型组及宾赛克嗒0.5、1.0、2.0 mg/kg救治组, 每组9只。用敌敌畏腹腔注射累积染毒法制备大鼠有机磷农药中毒模型。观察染毒前、呼衰时及救治30 min内各组大鼠的症状、呼吸频率(RR)、动脉血气及电解质分析、血浆超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)的变化以及肺组织病理改变。结果: 敌敌畏染毒至呼衰时, 各组动物均出现不同程度的口唇及四肢发绀、惊厥。宾赛克嗒0.5、1.0和2.0 mg/kg组救治成功率分别为66.7%(6/9)、77.8%(7/9)和88.9%(8/9), 存活动物于救治后1~5 min起症状逐渐缓解, 30 min内全部恢复正常; RR也于救治后30 min恢复至染毒前水平。呼衰发生后, 模型组动脉血氧分压(PaO₂)、动脉血氧饱和度(SaO₂)、SOD水平明显下降, MDA水平均明显升高, 出现明显的呼吸性酸中毒合并代谢性酸中毒; 宾赛克嗒各组救治后30 min, 各指标均显著改善($P<0.01$), 且均恢复至染毒前水平。光镜下模型组动物肺泡间隔增厚, 肺泡壁和毛细血管壁充血、灶状出血, 部分肺泡水肿及炎性细胞浸润; 宾赛克嗒救治各组肺出血、淤血减轻, 肺泡间隔肿胀减轻, 未见肺泡内水肿。结论: 新型抗毒剂宾赛克嗒对有机磷农药引起的呼衰治疗效果良好。

5. 期刊论文 [刘念, 曹洁玮, 王汝欢, 龙超良, 汪海, LIU Nian, CAO Jie-wei, WANG Ru-huan, LONG Chao-liang, WANG Hai](#)

[宾赛克嗒对有机磷农药所致循环衰竭的救治作用 -中国临床药理学与治疗学2007, 12\(5\)](#)

目的: 评价宾赛克嗒对胆碱酯酶抑制剂敌敌畏和失血所致循环衰竭的救治效果。方法: 健康Wistar δ 大鼠42只, 随机分为6组: 敌敌畏染毒后采用宾赛克嗒0.5、1.0、2.0 mg/kg 救治组; 失血性休克后生理盐水救治组及宾赛克嗒0.5、2.5 mg/kg 救治组, 每组7只。敌敌畏染毒组采用累积染毒, 直至平均动脉压(MBP)降至45 mm Hg(1 mm Hg=0.133 kPa)为循环衰竭标准。失血性休克模型组从股动脉快速放血, 15 min内使MBP降至休克水平(35~40 mm Hg), 维持此血压水平30~60 min即造成失血性休克模型, 然后救治。观察休克过程及救治后血流动力学指标及心电图变化。结果: 与染毒前相比, 敌敌畏所致大鼠循环衰竭时, SBP、DBP、MBP、心率以及反映心脏收缩功能的左室内压上升最大变化速率(+dp/dtmax)、心肌纤维缩短速度(Vpm)和+dp/dtmax/IP(等容收缩期压力), 反映心脏舒张功能的左室内压下降最大变化速率(-dp/dtmax)、左室舒张压(LVDP)和IP功能均显著降低($P<0.01$)。心电图显示: 心率缓慢, 有心律失常。敌敌畏所致的大鼠循环衰竭, 在宾赛克嗒0.5 mg/kg 救治后3 min、宾赛克嗒1.0 mg/kg 救治后2 min、宾赛克嗒2.0 mg/kg 救治后1 min, 各个指标均脱离循环衰竭水平, 在观察点60 min内血压维持较平稳。心电图基本在救治后3 min恢复正常。单纯给予宾赛克嗒对失血性休克大鼠的血压有一定的改善作用。宾赛克嗒0.5 mg/kg 较2.5 mg/kg 起效时间慢, 但维持时间长, 且对SBP和DBP均有改善作用; 宾赛克嗒2.5 mg/kg 起效时间快, 但作用时间短, 对SBP改善作用明显, 对DBP改善作用较小。结论: 新型抗毒剂宾赛克嗒对有机磷农药引起的循环衰竭治疗效果更好, 是一种良好的新型抗毒剂。

6. 期刊论文 [莫晨, 龙超良, 王汝欢, 汪海, 宾赛克嗒预防胆碱酯酶抑制剂中毒呼吸衰竭的实验研究 -中国临床药理学与治疗学2010, 15\(2\)](#)

目的: 制作胆碱酯酶抑制剂敌敌畏中毒所致呼吸衰竭的实验动物模型, 评价宾赛克嗒预防敌敌畏中毒呼吸衰竭的效果。方法: 健康Wistar 雄性大鼠40只, 随机分为4组: 模型组、宾赛克嗒0.5 mg/kg预防用药组、1.0 mg/kg预防用药组及2.0 mg/kg预防用药组, 每组10只。预防用药后半小时一次性敌敌畏(2, 2-二氯乙烯基二甲基磷酸酯, DDVP)腹腔注射染毒, 观察出现呼吸衰竭的时间及组别的症状、呼吸频率的改变、动脉血气分析+离子分析的变化及肺组织病理学改变。结果: DDVP染毒后, 中毒对照组动物均出现肌颤、躁动、口鼻大量分泌物、肌无力症状, 直至口唇及四肢紫绀、呼吸困难、惊厥, 均于3~5 min内死亡。宾赛克嗒预防给药各组动物仅出现肌颤、躁动、肌无力等轻度N样症状, 均逐渐自行缓解, 观察至2 h均未出现紫绀、呼吸困难、惊厥等表现。宾赛克嗒预防各组染毒前、染毒后5 min及染毒后半小时内3个时点血气分析和离子分析的结果均无统计学差异。中毒死亡组动物肺组织HE染色可见肺泡间隔增厚, 肺泡壁毛细血管壁充血、灶状出血, 伴炎性细胞浸润, 少量肺泡水肿。宾赛克嗒预防各组动物肺组织结构均大致正常。结论: 新型抗毒剂宾赛克嗒能够有效预防有机磷农药敌敌畏中毒呼吸衰竭的发生。

7. 期刊论文 [刘念, 曹洁玮, 龙超良, 王汝欢, 汪海, LIU Nian, CAO Jie-wei, LONG Chao-liang, WANG Ru-huan, WANG Hai](#)

[宾赛克嗒对胆碱酯酶抑制剂诱发犬循环衰竭和普鲁卡因胺诱发犬源性休克的治疗作用 -中国药理学通报](#)

2008, 24(12)

目的: 在胆碱酯酶抑制剂塔崩诱发犬循环衰竭模型和普鲁卡因胺诱发犬源性休克模型上, 评价新药宾赛克嗒的治疗学作用。方法: 塔崩中毒循环衰竭模型: 3只健康成年 δ 杂种犬, 体重12~18 kg。在麻醉状态下, 肌肉注射塔崩, 直至循环衰竭, 观察循环衰竭前后血流动力学参数、心电图的变化以及宾赛克嗒0.1 mg·kg⁻¹的治疗作用。普鲁卡因胺诱发犬源性休克模型: 4只健康成年 δ 杂种犬, 体重12~15 kg。在麻醉状态下, 静脉快速推注普鲁卡因胺100 mg·kg⁻¹, 直至循环衰竭, 观察循环衰竭前后血流动力学参数、心电图的变化以及宾赛克嗒0.1 mg·kg⁻¹的治疗作用。结果: 2种休克模型, 在循环衰竭时, 收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、平均动脉压(MBP)、心率(HR)、反映心脏收缩功能的心室内压最大上升速率(+dp/dtmax), 反映心脏舒张功能的心室内压最大下降速率(-dp/dtmax)和心肌纤维缩短速度(Vpm), 均明显下降; 左室舒张压(LVDP)和等容收缩期压力(IP)明显增高。塔崩诱发犬循环衰竭模型, 宾赛克嗒0.1 mg·kg⁻¹救治后1 min, 与循环衰竭时相比, 血流动力学指标及心电图开始明显改善。普鲁卡因胺诱发犬源性休克模型, 宾赛克嗒0.1 mg·kg⁻¹救治后10 min, 血流动力学指标开始明显改善, 60 min后心电图才明显改善。结论: 宾赛克嗒对胆碱酯酶抑制剂诱发的循环衰竭具有强效和速效治疗作用, 优于对普鲁卡因胺诱发的心源性休克的治疗作用, 表明其抗循环衰竭作用具有特异性。

8. 会议论文 [王喆, 潘志远, 龙超良, 邱泽武, 汪海, 胆碱酯酶抑制剂中毒时学习记忆能力的变化以及宾赛克嗒的救治作用 2009](#)

胆碱酯酶抑制剂(ChEI)中毒表现为外周和中枢胆碱能神经过度兴奋, 产生一系列临床症状, 如过度分泌, 震颤, 惊厥, 呼吸抑制甚至死亡。在临床救治中阿托品和胆碱酯酶复活剂的应用能够有效对抗外周胆碱能系统的过度兴奋, 显著提高生存率, 但是对中毒导致的中枢神经系统紊乱以及由此带来的脑认知功能损伤和行为缺陷的疗效较差。学习和记忆的损害是ChEI中毒所致脑损伤的主要危害之一, 同时伴随大脑皮层和海马神经元的结构损伤。研究表明尽管东莨菪碱是选择性中樞M受体拮抗剂, 但对中毒后脑损伤所致的认知功能障碍(如学习记忆功能)的保护作用并不明显甚至有副作用。新型抗毒剂宾赛克嗒是具有我国自主知识产权的1类新药, 其抗毒效价高, 对M/N受体具有双重拮抗作用, 对重度ChEI中毒所致呼吸衰竭、循环衰竭、肠功能衰竭等均有强效救治作用, 并能迅速分布到中枢神经系统。本文研究宾赛克嗒对ChEI中毒时脑功能异常的影响。

9. 期刊论文 [宋丽雪, 唐渊, 汪海, SONG Li-xue, TANG Yuan, WANG Hai 胆碱酯酶抑制剂中毒时血浆内毒素浓度变化的规律及宾赛克嗒的干预作用 -中国危重病急救医学2008, 20\(9\)](#)

目的: 观察新型抗毒剂宾赛克嗒对维埃克斯染毒后不同时间点小鼠血浆内毒素浓度变化的影响及其机制。方法: 306只雄性昆明小鼠被随机分为正常对

对照组、维埃克斯染毒模型组以及宾赛克啉、阿托品和山莨菪碱3个治疗组;各治疗组分别于皮下注射维埃克斯0.02 mg/kg染毒后10 min经腹腔注射相应药物。各组均于染毒后1.5、3、6、24、48和72 h取血,检测血浆内毒素浓度。结果与正常对照组[内毒素浓度为(1.90±0.41)kEU/L]比较,模型组1.5 h血浆内毒素浓度为(5.36±1.62)kEU/L,升高了约2倍;之后逐渐升高,至24 h达高峰,浓度为(11.47±3.90)kEU/L,较正常对照组升高了约5倍(P均<0.01),异常增高可持续至48 h,72 h后恢复至正常对照组水平。宾赛克啉治疗组在1.5 h和3 h时内毒素浓度分别为(3.73±0.71)kEU/L和(3.95±1.26)kEU/L,显著低于模型组(P<0.01和P<0.05);6 h和24 h血浆内毒素浓度分别为(8.77±1.85)kEU/L和(11.47±2.51)kEU/L,与模型组比较差异无统计学意义,但显著高于正常对照组(P均<0.01);至48 h恢复至正常对照组水平。在相同实验条件下,阿托品治疗组血浆内毒素浓度在1.5~24 h显著高于模型组(P<0.05或P<0.01);而山莨菪碱治疗组血浆内毒素浓度在6 h达高峰,显著高于模型组(P<0.01)。结论 维埃克斯染毒后1.5~48 h小鼠血浆内毒素浓度显著增高,使用宾赛克啉能减轻胃肠道黏膜屏障功能的损伤,延缓内毒素进入血中的速度,并能缩短内毒素在血中的停留时间。而使用阿托品和山莨菪碱后则能加重胃肠道黏膜屏障功能的损伤。

10. 学位论文 韩芙蓉 失敏态脑N受体与帕金森氏病关系的研究 2007

N受体失敏是指N受体在激动剂的反复或长期刺激下对激动剂的反应降低或消失。传统观点认为,失敏态N受体是一种无功能状态,但是本研究室的前期工作表明,失敏态N受体只是表现为N受体介导的电流以及直接介导的生物化学效应降低甚至消失,并非处于无功能状态,而是具有特定的生物学功能。流行病学研究发现,帕金森病的发病率与吸烟呈负相关性。而吸烟者脑内的N受体在长时期或反复吸烟作用下不是被激活,而是处于失敏态。因此,研究烟碱反复作用所诱导的失敏态脑N受体与帕金森病的关系,有助于深入理解“帕金森病的发病率与吸烟呈负相关性”这一流行病学发现的神经药理学基础。

帕金森病的病理状态下所表现出的胆碱神经功能亢进与胆碱酯酶抑制剂中毒所表现出的胆碱神经功能亢进相比,两者在病理生理、发生机制上并不相同。帕金森病时表现为多巴胺神经功能减弱,胆碱神经功能相对亢进。而胆碱酯酶抑制剂中毒时,中枢胆碱酯酶的活性受到抑制,中枢内源性乙酰胆碱过度蓄积,激动中枢的M和N受体,从而造成中枢胆碱神经功能亢进。目前临床上治疗这两种胆碱神经功能亢进的抗胆碱药均以M受体阻断剂为主。本室前期研究表明,强效抗胆碱酯酶抑制剂中毒的毒物必须兼具强效抗中枢M受体和强效抗中枢N受体的作用,仅具有强效抗M或仅具有强效抗N受体作用的药物,抗毒效价低。为探讨帕金森病时胆碱神经功能亢进的治疗是否存在此规律,本文从行为学角度研究可强效抗胆碱酯酶抑制剂毒性的兼具抗M和抗N受体作用化合物宾赛克啉对于帕金森病时胆碱神经功能亢进的治疗作用,为研究帕金森病治疗的靶向性提供实验依据。

一、失敏态脑N受体与帕金森氏病关系的研究

在6-OHDA单侧损毁黑质建立的帕金森病大鼠模型上,采用不同烟碱剂量诱导脑N受体处于激动态、亚急性失敏态、急性失敏态和慢性失敏态时,观察帕金森病模型大鼠旋转行为的变化。结果表明,脑N受体处于激动态时,帕金森病模型大鼠的旋转行为不受影响,反复给予烟碱诱导脑N受体处于亚急性失敏态、急性失敏态和慢性失敏态时,帕金森病模型大鼠的旋转频率均显著减慢。提示失敏态脑N受体能够改善帕金森病模型大鼠的行为缺陷。以N受体拮抗剂美加明阻断脑N受体功能后,烟碱不再产生改善帕金森病模型大鼠行为缺陷的作用。美加明0.5、0.75、1.0mg/kg三个剂量尾静脉注射均能显著加快帕金森病模型大鼠的旋转频率,提示阻断脑N受体时帕金森病模型大鼠的行为缺陷加重。

为进一步研究失敏态脑N受体缓解帕金森病模型大鼠行为学的可能机制,本文在6-OHDA单侧损毁黑质建立的帕金森病大鼠模型上,反复给予烟碱诱导大鼠脑N受体功能慢性失敏,采用高效液相色谱电化学检测法测定大鼠纹状体多巴胺及其代谢产物3,4-二羟基苯乙酸和高香草酸含量的变化,RT-PCR方法检测大鼠纹状体多巴胺受体D₁、D₂以及多巴胺代谢酶单胺氧化酶B基因表达的变化,观察反复给予烟碱诱导脑N受体功能慢性失敏时帕金森病模型大鼠黑质部位病理变化。结果表明,反复给予烟碱诱导脑N受体功能失敏时可逆转帕金森病模型大鼠纹状体多巴胺及其代谢产物3,4-二羟基苯乙酸和高香草酸含量的降低,抑制多巴胺更新率的增高,同时可增加帕金森病模型大鼠纹状体多巴胺D₁受体的基因表达,降低纹状体多巴胺代谢酶单胺氧化酶B的基因表达,而对多巴胺D₂受体的基因表达水平没有影响;帕金森病模型组大鼠黑质部位神经元细胞数较正常组相比显著减少,反复给予烟碱诱导脑N受体功能失敏时黑质神经元细胞数较模型组相比没有显著变化。提示失敏态脑N受体可能通过增加帕金森病模型大鼠纹状体多巴胺递质的含量,使多巴胺受体D₁型表达增加而单胺氧化酶B表达减少,从而改善帕金森病模型大鼠多巴胺系统功能低下症状。

二、宾赛克啉抗帕金森氏病的研究

为进一步探讨帕金森病时胆碱神经功能亢进的药理学特点,在氟哌啶醇诱导产生的帕金森病动物模型上,观察具有强效抗胆碱酯酶抑制剂毒性的胆碱受体拮抗剂宾赛克啉对氟哌啶醇所致动物帕金森样症状的影响,发现宾赛克啉能够改善氟哌啶醇所致的动物帕金森样症状,但其作用与阿托品相比没有显著的优势。但是,宾赛克啉因其既可拮抗M受体,又可拮抗N受体,从而可强效对抗胆碱酯酶抑制剂的毒性,且显著强于阿托品。此结果进一步证实帕金森病的病理状态下所表现出的胆碱神经功能亢进与胆碱酯酶抑制剂中毒所表现出的胆碱神经功能亢进相比,不仅在病理生理、发生机制上不同,而且在药理学、药物靶标上也不相同。失敏态N受体可缓解帕金森病的症状,但加重胆碱酯酶抑制剂的毒性;阻断N受体可对抗胆碱酯酶抑制剂的毒性,但加重帕金森病的症状。

基于以上研究结果,本文提出以下论点:

1. 失敏态脑N受体能够改善帕金森病模型大鼠的行为缺陷。
2. 反复给予烟碱诱导脑N受体功能失敏时可能通过逆转帕金森病模型大鼠纹状体多巴胺及其代谢产物3,4-二羟基苯乙酸和高香草酸含量的降低,抑制多巴胺更新率的增高,使多巴胺D₁受体基因表达增加而单胺氧化酶B基因表达减少,从而改善帕金森病大鼠多巴胺系统功能低下症状。
3. 失敏态脑N受体与阻断N受体对帕金森模型大鼠行为学的影响不同。失敏态脑N受体能够改善帕金森模型大鼠行为缺陷;而阻断N受体时帕金森模型大鼠行为缺陷加重。
4. 帕金森病的病理状态下所表现出的胆碱神经功能亢进与胆碱酯酶抑制剂中毒所表现出的胆碱神经功能亢进相比,不仅在病理生理、发生机制上不同,而且在药理学、药物靶标上也不相同。失敏态N受体可缓解帕金森病的症状,但加重胆碱酯酶抑制剂的毒性;阻断N受体可对抗胆碱酯酶抑制剂的毒性,但加重帕金森病的症状。

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zgwzbjyxx201004002.aspx

授权使用: qkzgz16(qkzgz16), 授权号: c6e9e625-742f-4668-9e01-9ede01592359

下载时间: 2011年5月9日