

急性有机磷中毒的非毒蕈碱样治疗现状及靶点

赵敏 张鹏思

有机磷农药是一种广泛的乙酰胆碱酯酶抑制剂,由它导致的中毒在世界范围内具有很高的发病率和病死率,每年造成约 30 万人死亡。当前治疗急性有机磷中毒的药物包括阿托品、肟类和苯二氮卓类。然而,即使有这些治疗,在世界范围内,有机磷中毒的病死率仍高达 40%^[1-2]。其实,并非所有的有机磷中毒表现和治疗都是一样的。在其毒性、脂溶性、和对肟类的治疗反应上均存在显著的差异。有机磷农药导致的非毒蕈碱样症状,如急性和慢性神经肌肉接头障碍和中枢性呼吸衰竭,是很严重的表现。目前的治疗效果不佳,本文着重介绍关于非毒蕈碱样效应,为有机磷农药中毒治疗提供新的可能性。

1 有机磷中毒概述及治疗现状

急性有机磷中毒在世界范围内均导致很高的发病率和病死率,由于有机磷与军事神经毒物相似的作用机制,越来越引起国内国际上的重视。大多数研究都集中在针对急性有机磷中毒对乙酰胆碱受体和乙酰胆碱酯酶抑制作用上。尽管持续了 40 多年的研究,急性有机磷中毒的病死率仍然高达 40%,而且在近 30 年内没有研究出新的治疗方法。

急性有机磷农药中毒主要是由于有机磷抑制乙酰胆碱酯酶,影响突触中的乙酰胆碱,由此产生胆碱能毒性和肌肉无力。有机磷中毒目前的治疗主要应用氧和阿托品;其次是肟类[如解磷定(2-PAM)]恢复胆碱酯酶活性;应用苯二氮卓类药物来减轻神经功能损伤^[3]。然而,2-PAM 具有一个有限的窗口效能,一旦有机磷的烷基链老化后则不能恢复乙酰胆碱酯酶的活性。此外,最近一项关于

2-PAM 的随机对照试验表明,2-PAM 与生理盐水安慰剂相比较,发现其对机体存在着不良影响^[4];还有研究发现^[5],给予肟类治疗的患者,中间综合征(intermediate syndrome, IMS)发病率增高;肟类还可以引起心律失常、呼吸骤停和肌肉强直^[6]。其它的治疗方法,比如碱化、新鲜冰冻血浆、血液灌流等,结论也不一致^[7-10]。急性有机磷农药中毒解毒的疗效因此严重受限,如果找到新的有机磷中毒治疗方案,例如应用靶向治疗药物,将可以产生更好的治疗结果。

有机磷中毒临床表现主要影响三个方面,分别有各自的发病时间:(1)急性胆碱能危象,(2)有机磷引起的迟发性神经病(OP-induced delayed neuropathy, OPIDN),和(3)IMS。由于乙酰胆碱的大量积聚,急性胆碱能综合征可引起毒蕈碱样、烟碱样和中枢神经系统症状。OPIDN 是一种罕见的多发性神经病,中毒大约 1~3 周后开始出现症状。IMS 是一种常见的并发症,是导致 OP 中毒高病死率的主要原因。IMS 的首发症状是肌麻痹,常发生于急性胆碱能综合征出现的 1~4 d 后。最近的 IMS 病例研究发现,IMS 会更早发生^[11-12]。严重的 IMS 常表现呼吸肌无力,甚至需要长时间的机械通气。

IMS 的病理生理机制尚不清楚,一般认为是神经肌肉接头处乙酰胆碱持续过剩所引起^[13]。在 20 年前刚刚认识 IMS 时,没有深入进行神经肌肉接头或有机磷农药烟碱样症状的研究^[14]。直到 2008 年,才有关于 IMS 发生和诊断的前瞻性试验研究的文章发表^[15],这种神经肌肉接头障碍已经经过电生理研究证实,而且肟类对这种接头障碍没有预防作用^[16]。因此,笔者认为针对神经肌肉接头的干预,可能会降低有机磷中毒的发病率和病死率,这将对临床治疗具有重大意义。

尽管有机磷农药都可以抑制胆碱酯酶,但由于自身的化学特性,各种不同的有机磷类型在急性中

DOI:

基金项目:国家自然科学基金项目(81171793);中国医科大学盛京自由研究者计划(2013)

作者单位:110004 沈阳,中国医科大学附属盛京医院急诊科
通信作者:赵敏,Email:zhaom@sj-hospital.org

毒中往往有其独有的特点,包括毒性、大鼠口服半数致死量、人的病死率等等^[17]。美国国家健康机构(National Institutes of Health, NIH)的防范化学威胁的对策(counter measures against chemical threats, CounterACT)确定了六种具有较高危险性的有机磷农药(磷酸-Chlorfenvin、毒死蜱、百治磷、乙拌磷、甲胺磷、对硫磷)^[1]。

因此,有机磷中毒的临床病例情况和死亡原因会各有不同。例如,敌敌畏中毒后死亡的发生非常迅速,有的甚至于没有到达医院时就死在路上了,而乐果中毒后几个小时后才会出现症状。无论是哪种农药,渐进性肌肉麻痹和呼吸衰竭往往在早期临床表现中占主导地位。

另一个被忽视的方面是,不同特性的有机磷农药中毒对解磷定治疗的疗效也不同。尽管解磷定广泛应用在大多数的国家,但最近研究表明,解磷定对有些农药(如乐果)中毒的治疗无效,而且不同种类的农药中毒均采用相同的解磷定治疗方案是不合理的^[7-8]。Buckley等^[18]研究表示目前没有足够的证据说明肟类在治疗急性有机磷中毒方面究竟是有益还是有害。Sharma等^[19]研究如果将肟类变构,它的治疗作用将会大大改善。因此,根据解磷定对不同农药的不同作用机制,治疗上迫切需要新的方案。

确定有机磷农药对乙酰胆碱酯酶完全的抑制(包括毒蕈碱样和烟碱样作用)的不良影响,以及有机磷农药对机体其他方面的直接影响,将是未来的主要研究方向。例如,尽管进行了最积极的治疗,机体摄入非常高浓度的乐果后仍可导致心脏骤停的发生,死亡时间大约在摄入后的10~20 h,也由此导致有机磷中毒的平均死亡时间约为摄入后的24 h^[1]。

大约24%的有机磷中毒患者需要气管插管。其中,约50%的患者可能会死亡^[12]。绝大部分死因是急性呼吸衰竭,可能是中枢性呼吸抑制、呼吸肌无力、或直接对肺的影响如支气管痉挛或支气管分泌物过多导致。但离体小鼠膈肌的研究表明^[20],加强乙酰胆碱酯酶活性的恢复可以增加肌肉收缩力。说明,改善神经肌肉传递和/或提高乙酰胆碱酯酶活性的这种治疗方法是有益的^[21]。

2 神经肌肉接头生理及有机磷对其的影响

神经肌肉接头由突触前轴突末梢和突触后终板

组成。在突触前神经轴突末梢有包含乙酰胆碱的囊泡。大多数这些囊泡会被突触蛋白结合于肌动蛋白细胞骨架上。当动作电位引起钙离子通道开放,轴浆内钙离子浓度增加,促进突触蛋白磷酸化。这种磷酸化可以使囊泡从细胞骨架上被游离出来^[22]。

囊泡从细胞骨架游离出来后,被结合在称为“活化区”的区域中的突触前膜末端。这种“对接”允许囊泡的快速出胞。对接由被称为SNARES(突触囊泡蛋白)的蛋白介导完成。SNARES附着于突触前膜末端,可以与囊泡上的蛋白形成复合物。含有SNARE复合物蛋白包括囊泡表面的囊泡相关膜蛋白,以及在突触前膜末端的SNAP-25(突触体相关蛋白)和突触融合蛋白。细胞内钙离子升高,使另一种对接蛋白即突触结合蛋白发生磷酸化反应。这种磷酸化可以促进SNARE复合物的融合,并且促进囊泡的出胞。出胞是由突触囊泡膜与突触前膜末端的融合完成的。然后突触前膜末端形成凹陷小窝,并被网格蛋白覆盖,这就完成了一次囊泡的再循环。这些网格蛋白覆盖的凹陷小窝脱离突触前膜末端后形成囊泡。乙酰胆碱合成并被包裹在囊泡中^[23]。

突触后膜重度折叠内陷。在交界褶皱的顶部能发现乙酰胆碱受体,而且电压敏感的钠离子通道都集中在褶皱处。乙酰胆碱受体允许与乙酰胆碱可逆的结合。当结合后,突触后膜上的离子通道开放,大量钠离子内流,导致突触后膜短暂的去极化。如果这个终板电位足够大,则可以产生肌纤维动作电位,从而导致肌肉收缩。残留在突触的乙酰胆碱迅速被胆碱酯酶降解,肌肉可以再次极化^[24]。有机磷农药中毒引起神经肌肉接头和肌细胞的多种变化,都是由于乙酰胆碱酯酶被抑制。目前对急性有机磷中毒导致神经肌肉接头失效的原因和机理尚不清楚。一些学者推测,神经肌肉接头失效是由于过度刺激乙酰胆碱受体,产生突触处乙酰胆碱浓度过高或神经毒性的直接损伤。Chapleau等^[27]认为乙酰胆碱酯酶的受抑制除了影响乙酰胆碱的清除,并且改变了终板电位的持续时间等多方面。并通过神经肌肉接头的模型确认:通过提高乙酰胆碱的催化速度,降低乙酰胆碱与胆碱酯酶抑制剂的结合能力,而不是增加胆碱酯酶活化剂的浓度,从而降低有机磷的毒性。这些推测的分子机制不清,但可能涉及乙酰胆碱受体的脱敏。神经肌肉接头失效也有可能是涉及到突触前膜功能障碍、囊泡的消耗或突

触结构的破坏, 比如神经末梢发生了回缩^[28]等等。

3 烟碱受体拮抗剂

烟碱型乙酰胆碱受体 (nAChR) 大致可分为两类: 神经肌肉型和神经型。神经型烟碱乙酰胆碱受体存在于大脑、交感、副交感神经节和肾上腺髓质^[29-30]。这些受体在急性有机磷中毒的病理生理中的作用有限, 而且由于这些药物可以造成显著的低血压, 因此对于治疗有机磷中毒的神经节拮抗剂的药理学前景期望不高。

然而, 神经肌肉型乙酰胆碱受体, 是一个很有吸引力的治疗靶点。因为急性有机磷农药中毒引起肌束颤动和过度刺激以致这些受体活性逐步衰弱, 由此可以推理出神经肌肉型乙酰胆碱受体的竞争性拮抗剂可以减轻有机磷对机体的影响^[31-32]。最新的研究是应用烟碱型乙酰胆碱受体拮抗剂药物保护神经肌肉接头^[33]。Breningstall 等^[34]发表了一篇病例报告关于间歇注射泮库溴铵治疗先天性神经肌肉接头终板乙酰胆碱缺乏症。虽然没有进行详细的神经生理研究, 但他们发现泮库溴铵治疗后提高了患者的潮气量和用力肺活量, 疗效持续达几个月。Besser 等^[35]发表了三项研究表明, 有机磷中毒后应用泮库溴铵可以提高复合肌肉动作电位 (CMAP) 的能力。在其中一项研究发现, 两例急性重度有机磷农药中毒呈单诱发电位 CMAP 重复放电和强烈电刺激神经 CMAP 显著递减的反应。通过小剂量注射泮库溴铵, 可以改善这些异常放电的发生, 效果持续了几个小时。遗憾的是, 所有这些患者都是在有机磷中毒几天后才给予注射泮库溴铵 (除了一个患者是在中毒后 5 h 内注射了泮库溴铵), 对于临床来说, 我们需要中毒后更早地应用。

这些结果支持这一假设: 胆碱能受体拮抗剂可改善急性有机磷中毒后肌肉能力^[27]。那么, 通过动物实验对照研究, 应用烟碱型受体来治疗功能性神经肌肉障碍和观察神经肌肉接头结构的变化, 来确定这类药物是否用于急性有机磷农药中毒, 这将是今后治疗的又一新的靶点。

4 结语

急性有机磷中毒具有显著的非毒蕈碱样作用, 包括烟碱样症状, 神经肌肉接头功能障碍和神经毒性作用。针对这些方面, 尤其是神经肌肉接头, 将

会是一个减少急性有机磷农药中毒的发病率和病死率的强大靶向治疗目标。

参考文献

- [1] Eddleston M, Eyer P, Worek F, et al. Differences between organophosphorus insecticides in human self-poisoning: a prospective cohort study [J]. *Lancet*, 2005, 366 (9495): 1452-1459.
- [2] Rosenbaum C, Bird SB. Non-muscarinic therapeutic targets for acute organophosphorus poisoning. [J]. *J Med Toxicol*, 2010, 6 (4): 408-412.
- [3] Chowdhary S, Bhattacharyya R, Banerjee D. Acute organophosphorus poisoning [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2014, 431: 66-76.
- [4] Eddleston M, Eyer P, Worek F, et al. Pralidoxime in acute organophosphorus insecticide poisoning—a randomised controlled trial [J]. *PLoS Med*, 2009, 6 (6): e1000104.
- [5] Mirfazaelian H, Nikfar S, Salarian AA, et al. An updated meta-analysis on the efficacy of oximes in acute human organophosphorus poisoning [J]. *Int J Pharmacol*, 2014, 10 (7): 345-356.
- [6] Peter JV, Moran JL, Graham P. Oxime therapy and outcomes in human organophosphorus poisoning: an evaluation using meta-analytic techniques [J]. *Crit Care Med*, 2006, 34 (2): 502-510.
- [7] Peter JV, Moran JL, Pichamuthu K, et al. Adjuncts and alterations to Oxime therapy in organophosphorus poisoning—is there evidence of benefit in human poisoning? A review [J]. *Anaesth Intensive Care*, 2008, 36 (3): 339-350.
- [8] Mirfazaelian H, Nikfar S, Abadollahi M. Efficacy of oximes transfusion in acute human organophosphorus poisoning: A systematic review and meta-analysis [J]. *Int J Pharmacol*, 2014, 10 (6): 299-306.
- [9] Liu L, Ding G. Effects of different blood purification methods on serum cytokine levels and prognosis in patients with acute severe organophosphorus pesticide poisoning [J]. *Ther Apher Dial*, 2015, 19 (2): 185-190.
- [10] Kassa J, Sepsova V, Matouskova L, et al. A comparison of the reactivating and therapeutic efficacy of two novel bispyridinium oximes (K727, K733) with the oxime HI-6 and obidoxime in sarin-poisoned rats and mice [J]. *Toxicol Mech Methods*, 2015, 25 (3): 229-233.
- [11] Jayawardane P, Senanayake N, Dawson A. Electrophysiological correlates of intermediate syndrome following acute organophosphate poisoning [J]. *Clin Toxicol (Phila)*, 2009, 47 (3): 193-205.
- [12] Hulse EJ, Davies JO, Simpson AJ, et al. Respiratory complications of organophosphorus nerve agent and insecticide poisoning. Implications for respiratory and critical care [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2014, 190 (12): 1342-1354.
- [13] Turner SR, Chad JE, Price M, et al. Protection against nerve agent poisoning by a noncompetitive nicotinic antagonist [J].

- Toxicol Lett, 2011, 206 (1): 105-111.
- [14] Jayawardane P, Dawson AH, Weerasinghe V, et al. The spectrum of intermediate syndrome following acute organophosphate poisoning: a prospective cohort study from Sri Lanka [J]. PLoS Med, 2008, 5 (7): e147.
- [15] Skytte C, Makin A. Measurement of cardiovascular effects in minipigs using telemetry [J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2008, 58 (2): 172.
- [16] Karami-Mohajeri S, Nikfar S, Abdollahi M. A systematic review on the nerve-muscle in human organophosphorus exposure [J]. Hum Exp Toxicol, 2014, 33 (1): 92-102.
- [17] Casida JE, Durkin KA. Anticholinesterase insecticide retrospective [J]. Chem Biol Interact, 2013, 203 (1): 221-225.
- [18] Buckley NA, Eddleston M, Szinicz L. Oximes for acute organophosphate pesticide poisoning [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2005, (1): CD005085.
- [19] Sharma R, Gupta B, Singh N, et al. Development and structural modifications of cholinesterase reactivators against chemical warfare agents in last decade: a review [J]. Mini Rev Med Chem, 2015, 15 (1): 58-72.
- [20] Eddleston M, Mohamed F, Davies JO, et al. Respiratory failure in acute organophosphorus pesticide self-poisoning [J]. QJM, 2006, 99 (8): 513-522.
- [21] Eddleston M, Eyer P, Worek F, et al. Pralidoxime in acute organophosphorus pesticide poisoning—a randomized controlled trial [J]. PLoS Med, 2009, 6 (6): e1000104.
- [22] Schiavo G, Matteoli M, Montecucco C. Neurotoxins affecting neuroexcitotoxicity [J]. Physiol Rev, 2000, 80 (2): 717-766.
- [23] Lotti M. Clinical toxicology of anticholinesterase agents in humans. Handbook of Pesticide Toxicology [M]. San Diego: Academic, 2001: 1043-1085.
- [24] Strang CE, Long Y, Gavrikov KE, et al. Nicotinic and muscarinic acetylcholine receptors shape ganglion cell response properties [J]. J Neurophysiol, 2015, 113 (1): 203-217.
- [25] Karami-Mohajeri S, Nikfar S, Abdollahi M. Systematic review on the nerve-muscle electrophysiology in human organophosphorus pesticide exposure [J]. Hum Exp Toxicol, 2014, 33 (1): 92-102.
- [26] Karami-Mohajeri S, Hadian MR, Fouladdel S, et al. Mechanisms of muscular electrophysiological and mitochondrial dysfunction following exposure to malathion, an organophosphorus pesticide [J]. Hum Exp Toxicol, 2014, 33 (3): 251-263.
- [27] Chapleau RR, Robinson PJ, Schlager JJ, et al. Potential new therapeutic modality revealed through agent-based modeling of the neuromuscular junction and acetylcholinesterase inhibition [J]. Theor Biol Med Model, 2014, 11: 42.
- [28] Padmaja D, Mantha S. Monitoring of neuromuscular junction [J]. Indian J Anaesth, 2002, 46 (4): 279-288.
- [29] Zabrodskii PF, Gromov MS, Maslyakov VV, et al. Activation of alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor as a mortality reduction factor in the early phase of sepsis at acute poisoning with organophosphorus compounds [J]. Toksikologicheskii Vestnik, 2014, N3: 22-25.
- [30] Changeux JP, Corringer PJ, Maskos U. The nicotinic acetylcholine receptor: From molecular biology to cognition [J]. Neuropharmacology, 2015, 96 (Pt B): 135-136.
- [31] Sheridan RD, Smith AP, Turner SR, et al. Nicotinic antagonists in the treatment of nerve agent intoxication [J]. J R Soc Med, 2005, 98 (3): 114-115.
- [32] White SM, Palfreman TM. Nicotinic antagonists and nerve gas poisoning [J]. J R Soc Med, 2005, 98 (7): 336.
- [33] Fukushima A, Chazono K, Hashimoto Y, et al. Oseltamivir produces hypothermic and neuromuscular effects by inhibition of nicotinic acetylcholine receptor functions: Comparison to procaine and bupropion [J]. Eur J Pharmacol, 2015, 762: 275-282.
- [34] Breningstall GN, Kurachek SC, Fugate JH, et al. Treatment of congenital endplate acetylcholinesterase deficiency by neuromuscular blockade [J]. J Child Neurol, 1996, 11 (4): 345-346.
- [35] Besser R, Vogt T, Gutmann L. Pancuronium improves the neuromuscular transmission defect of human organophosphate intoxication [J]. Neurology, 1990, 40 (8): 1275-1277.

(收稿日期: 2015--)

(本文编辑:)