DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.12.007
1042 第25卷第12期 2003年6月 第三军医大学学报 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Vol. 25, No. 12 Jun. 2003

论著

文章编号:1000-5404(2003)12-1042-03

# 梭曼中毒对大鼠脑组织ATP酶及腺苷酸代谢的影响

李云鹏[1],董兆君[1],赵吉清[1],蔡 颖[1],恽榴红[2],阮金秀[2] ([1]第三军医大学预防医学系军事毒理学教研室,重庆 400038;[2]军事医学科学院,北京 100850)

提 要:目的 研究梭曼中毒后大鼠脑组织能量代谢的变化特点。方法 Wistar大鼠以72 μg/kg的剂量梭曼皮下中毒,分离海马及小脑并以生化法检测$Na^+$,$K^+$-ATPase、$Ca^{2+}$-ATPase、$Mg^{2+}$-ATPase的活性,HPLC法检测全脑ATP、ADP及AMP含量。结果 梭曼中毒10~20 min 3种ATP酶活性均显著升高($P<0.05$),1~6 h酶活性逐渐下降并低于对照组,于中毒后48 h恢复至正常对照水平。ATP含量于中毒12 h显著低于对照组,随着时间延长呈逐渐升高的趋势。AMP含量中毒12 h升高显著($P<0.01$),其后于48 h恢复正常。结论 梭曼对脑组织ATP酶和能量代谢均产生广泛的影响。

关键词:梭曼;ATP酶;小脑;海马
中图法分类号:R322.81;R329.2+5;R996 文献标识码:A

## Effects of soman on ATPase activity and levels of ATP, ADP and AMP in rat brain

LI Yun-peng, DONG Zhao-jun, ZHAO Ji-qing, CAI Ying, YUN Liu-hong, RUAN Jin-xiu (Department of Military Toxicology, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

**Abstract**: Objective To study the effect of soman intoxication on the contents of adenosine phosphates in rat brain. Methods Wistar rats were subcutaneously injected with 72 μg/kg soman and their hippocampus and cerebellum tissue were isolated carefully. $Na^+$, $K^+$-ATPase, $Ca^{2+}$-ATPase and $Mg^{2+}$-ATPase activities were measured at different time points as designed by biochemical methods and ATP, ADP, AMP levels were determined by HPLC. Results At the earlier stage of soman intoxication (10—20 min), activities of $Na^+$, $K^+$-ATPase, $Ca^{2+}$-ATPase and $Mg^{2+}$-ATPase in both brain areas significantly increased ($P<0.05$). An obvious decrease of all the enzyme activities was observed at the later stage (1—6 h) after soman intoxication. All of the three enzyme activities recovered to normal level at 48 h. At the time point of 12 h, the concentration of ATP in rat brain was the lowest after soman intoxication and then gradually increased in a time-dependent manner. However, the concentration of AMP increased remarkably ($P<0.01$) at 12 h and recovered to normal level at 48 h. Conclusion Soman extensively affects brain energy metabolism and ATPase activities.

**Key words**: soman; ATPase; cerebellum; hippocampus

梭曼是一种有机磷酸酯类化合物,具有毒性强、作用快,难防、难治等特点而受到普遍重视。梭曼中毒后不可逆性地抑制胆碱酯酶[1],导致乙酰胆碱在体内大量蓄积而引起神经系统功能紊乱,是梭曼对机体发挥毒害作用的主要原因。正常神经元细胞膜内外的正常离子梯度有赖于ATP酶的主动转运作用,$Na^+$,$K^+$-ATPase、$Ca^{2+}$-ATPase和$Mg^{2+}$-ATPase在维持细胞内外离子平衡中起着重要的作用。本研究系统分析了梭曼中毒后小脑和海马组织上述3种ATP酶活性及ATP、ADP和AMP的动态变化,以探讨梭曼中毒后脑组织ATP酶及能量代谢的变化特点,为神经性毒剂中毒的预防和救治提供理论支持。

## 1 材料和方法

### 1.1 动物和药品

1.1.1 动物 中毒Ⅰ组:Wistar大鼠(第三军医大学实验动物中心提供)54只,雌雄不拘,体质量180~240 g,分为对照组(6只),中毒组(72 μg/kg,48只),用于ATP酶活性测定。中毒Ⅱ组:Wistar大鼠24只,雌雄不拘,体质量180~240 g,分为对照组(6只),中毒组(72 μg/kg,18只)。

1.1.2 药品 梭曼(纯度97.2%)由军事医学科学院六所提供,临用前以生理盐水配制[2]。ATP酶检测试剂盒购自南京建成生物公司,5′-ATP钠盐、5′-ADP钠盐、5′-AMP(上海生化所)。

基金项目:全军"九五"重点课题资助项目(96L015)
作者简介:李云鹏(1971—),男,陕西省安康市人,硕士研究生,助理实验师,主要从事神经毒理学方面的研究。电话:(023)68752356
通信作者:董兆君,电话:(023)68752285
收稿日期:2003-03-12;修回日期:2003-05-20

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

### 1.2　方法

1.2.1　脑组织ATP 酶活性测定　　对照组按 0.1 ml/100 g 的剂量背部皮下注射生理盐水, 断头处死, 冰上分离小脑、海马; 中毒组按 72 μg/kg 的剂量背部皮下注射梭曼, 分别于中毒后 10、20、30 min、1、6、12、24 h 取小脑、海马, 方法同上。检测方法参照试剂盒说明书。蛋白定量采用 Lowry 法。

1.2.2　脑组织 ATP、ADP 及 AMP 含量测定　　参照孟宪清等[3]的方法。对照组按 0.1 ml/100 g 的剂量背部皮下注射生理盐水, 72 μg/kg 梭曼中毒后 12、24、48 h 处死, 冰上分离全脑, 称取脑组织 100 mg 加 5% 高氯酸于冰浴中研磨, 用 0.1 mol/L NaOH 中和, 以高效液相色谱仪分析脑组织中 ATP、ADP 及 AMP 含量。

### 1.3　统计学处理

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 进行方差分析。

## 2　结果

### 2.1　梭曼中毒对大鼠小脑 ATP 酶的影响

梭曼中毒后 10 min, $Na^+$, $K^+$-ATPase、$Ca^{2+}$-ATPase 和 $Mg^{2+}$-ATPase 均升高, 而后随着时间延长逐渐降低, 中毒后 24 h 仍低于正常水平, 分别相当于正常的 93.42%、83.15% 和 98.02%。中毒后 48 h 恢复至正常对照水平, 见表 1。

表 1　梭曼中毒小脑 ATP 酶活性变化(Mpi/mgprot/h, $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Tab 1　ATPase activities of rat cerebellum induced by soman intoxication(Mpi/mgprot/h, $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

| | Control | Time points after soman intoxication | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 10 min | 20 min | 30 min | 1 h | 6 h | 12 h | 24 h | 48 h |
| $Na^+$, $K^+$-ATPase | 17.02±2.07 | 26.99±1.87 | 16.83±2.15** | 17.39±2.04 | 14.25±1.54* | 13.15±1.82** | 13.22±1.38** | 15.90±3.69* | 16.94±2.85 |
| $Ca^{2+}$-ATPase | 19.29±3.94 | 27.70±5.42** | 21.97±3.64* | 16.24±2.77* | 15.85±1.85** | 14.20±2.11** | 14.61±1.59** | 16.04±2.29** | 18.59±3.02 |
| $Mg^{2+}$-ATPase | 17.18±1.95 | 26.35±4.07** | 18.39±2.79 | 16.88±2.95 | 16.07±2.86* | 15.65±2.61* | 16.37±2.94 | 16.84±2.50 | 17.43±2.91 |

*: $P<0.05$,　**: $P<0.01$ *vs* control group

### 2.2　梭曼中毒对大鼠海马 ATP 酶的影响

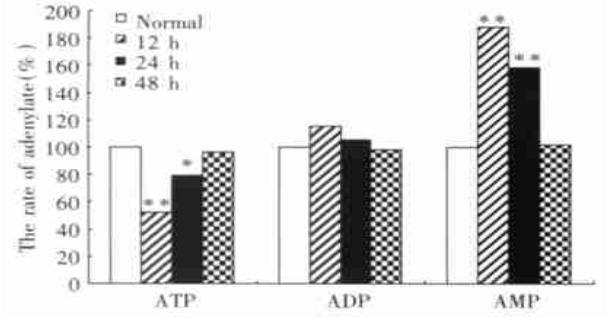
梭曼中毒后 10 min, 海马 $Na^+$, $K^+$-ATPase、$Ca^{2+}$-ATPase 活性显著升高, 然后随着时间延长而降低, 至中毒后 24 h 仍低于正常对照组。中毒后48 h 二酶活性恢复至正常水平。而 $Mg^{2+}$-ATPase 在中毒早期短暂升高, 于中毒后 30 min 恢复正常水平, 见表 2。

表 2　梭曼中毒大鼠海马 ATP 酶活性变化(Mpi/mgprot/h, $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Tab 2　ATPase activities of rat hippocampus induced by soman intoxication(Mpi/mgprot/h, $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

| | Control | Time points after soman intoxication | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 10 min | 20 min | 30 min | 1 h | 6 h | 12 h | 24 h | 48 h |
| $Na^+$, $K^+$-ATPase | 19.19±2.70 | 50.83±9.15** | 47.42±4.27** | 18.44±2.76 | 12.25±1.97** | 11.58±2.24** | 12.53±1.65** | 15.52±2.41** | 18.72±2.37 |
| $Ca^{2+}$-ATPase | 31.05±2.37 | 51.85±8.55** | 32.15±3.68 | 26.49±4.07* | 15.17±2.26** | 15.25±2.50** | 14.60±2.49** | 17.61±3.39** | 28.49±4.31 |
| $Mg^{2+}$-ATPase | 15.59±1.47 | 34.62±5.02** | 21.67±3.45** | 16.87±2.63 | 15.07±1.93 | 15.42±1.85 | 16.13±1.51 | 15.37±2.80 | 15.18±2.61 |

*: $P<0.05$　**: $P<0.01$ *vs* control group




*: $P<0.05$　**: $P<0.01$ *vs* normal group

图 1　梭曼中毒大鼠脑组织腺苷酸的变化

**Fig 1　Changes of adenylate in brain tissue induced by soman intoxication in rats ($n=6$)**

### 2.3　梭曼中毒对脑组织 ATP、ADP 和 AMP 的影响

72 μg/kg 梭曼中毒后 12 h ATP 含量最低, 为正常对照值的 52.07%, 并呈逐渐上升趋势, 至 48 h 恢复至正常对照水平。ADP 未见明显变化。AMP 在中毒后 12 h 升高显著, 为正常对照值的188.26%, 并呈逐渐下降趋势, 至 48 h 已恢复到正常对照水平, 见图 1。

## 3　讨论

梭曼是一种强有力的、不可逆性的作用于中枢及外周胆碱酯酶的抑制剂[4]。其症状主要包括呼吸困难、惊厥, 大剂量中毒导致死亡[5]。梭曼是典型的神经性毒剂, 其中毒机制主要是选择性抑制胆碱酯酶的活性, 使乙酰胆碱在体内蓄积, 引起胆碱能神经神经功能紊乱。而梭曼中毒可引起脑组织乙酰胆碱酯酶的广泛抑制, 亦包括小脑及海马。梭曼中毒亦可引起 ATP 酶活性改变, 但各酶变化不一。Lintem 等[6] 报道梭曼对大鼠脑皮质 $Na^+$, $K^+$-ATPase 有明显的抑制作用, 并呈时间、剂量依赖关系。Hoskins 等[7] 以梭曼 120 μg/kg 的剂量皮下注射未观察到大鼠纹状体 $Ca^{2+}$-ATPase 及 $Mg^{2+}$-ATPase 有显著变化。而梭曼中毒对于海马及小

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

脑 ATP 酶的影响国内外未见报道，本实验结果显示：大剂量梭曼中毒初期海马、小脑 $Na^+$，$K^+$-ATPase、$Ca^{2+}$-ATPase 及 $Mg^{2+}$-ATPase 活性均明显升高，而后 $Na^+$，$K^+$-ATPase、$Ca^{2+}$-ATPase 活性逐渐下降，至中毒后 24 h 仍未恢复至正常水平。$Mg^{2+}$-ATPase 活性在中毒后迅速升高，至中毒后 1 h 恢复至正常水平；海马较之于小脑酶活性变化更为明显。

脑组织 $Na^+$，$K^+$-ATPase 主要来源于脑组织微血管内皮和突触膜。它的基本功能是将 $K^+$ 自细胞外运到细胞内，将 $Na^+$ 自胞内转移到胞外，从而维持细胞内外的离子平衡。在正常状态下，细胞外 $Na^+$ 高于细胞内 3 倍。本实验结果表明：72 $\mu g/kg$ 梭曼中毒，导致 $Na^+$，$K^+$-ATPase、$Ca^{2+}$-ATPase 及 $Mg^{2+}$-ATPase 活性抑制，ATP 含量降低，AMP 含量升高。其具体机制可能是由于梭曼中毒引起脑组织有氧代谢抑制，导致组织游离脂肪酸含量和自由基生成增加，影响呼吸链，致 ATP 合成减少，ATP 消耗增多。而当脑缺氧时，组织损坏，$Ca^{2+}$ 内流引起 ATP 减少，$Na^+$，$K^+$-ATPase 活性随之降低，进而磷脂酶 $A_2$ 被激活，磷脂降低，引起 $Ca^{2+}$-ATPase 活性下降。$Na^+$，$K^+$-ATPase、$Ca^{2+}$-ATPase 活性下降，导致 $Na^+$、$Ca^{2+}$ 流入细胞内，细胞内 $Na^+$ 浓度升高引起细胞水肿，而细胞内 $Ca^{2+}$ 浓度增加将进一步抑制 $Na^+$，$K^+$-ATPase 和 $Mg^{2+}$-ATPase 的活性。

由本实验结果推测：在梭曼中毒早期可能由于机体代偿功能增加可见 $Na^+$，$K^+$-ATPase、$Ca^{2+}$-ATPase 和 $Mg^{2+}$-ATPase 活性升高，但后期由于机体缺氧，ATP 合成减少而消耗增多导致 3 种酶活性均下降，特别是 $Ca^{2+}$-ATPase 活性降低造成细胞内高 $Ca^{2+}$ 环境，进一步抑制了 $Na^+$，$K^+$-ATPase 和 $Mg^{2+}$-ATPase 的活性。由此可见，梭曼中毒可广泛影响脑组织 ATP 酶活性，导致细胞能量代谢障碍，可能是梭曼中毒脑损伤的重要原因之一。

参考文献：


[1] Kassa J, Bajgar J. Changes of acetylcholinesterase activity in various parts of brain following nontreated and treated soman poisoning in rats[J]. Mol Chem Neuropathol, 1998, 33(3): 175－184.

[2] 刘 勇，程天民，王仕丽. 梭曼中毒对大鼠心功能的影响[J]. 第三军医大学学报，1998，20(6)：546－548.

[3] 孟宪清，李群伟，朱大安，等. 高效液相色谱法测定组织中 ATP、ADP、AMP 含量的方法[J]. 哈尔滨医科大学学报，1995，29(6)：490.

[4] Baille V, Dorandeu F, Carpentier P, *et al*. Acute exposure to a low or mild dose of soman: Biochemical, behavioral and histopathological effects [J]. Pharmacol Biochem and Behav, 2001, 69(3-4): 561－569.

[5] Carpentier P, Foquin A, Dorandeu F, *et al*. Delta activity as an early indicator for soman-induced brain damage: a review[J]. Neuro Toxicology, 2001, 22(3): 299－315.

[6] Lintem M C, Wetherell J R, Smith M E. Differential recovery of acetylcholesterate in guinea pig muscle and brain regions after soman treatment [J]. Hum Exp Toxicol, 1986, 17(3): 157－162.

[7] Hoskins B, Liu D D, Ho I K. Acute effects of soman sarin, and tabun on microsomal and cytosolic components of the calmodulin system in rat striatum[J]. J Neurochem, 1986, 46(1): 265－269.


（编辑 汪勤俭）

（上接 1041 页）

快穿孔。⑤大网膜薄而短，限制感染能力差，穿孔后易致弥漫性腹膜炎。⑥易与非手术治疗的疾病相混淆，如上呼吸道感染、原发性腹膜炎、结核性腹膜炎、肠炎、肠系膜淋巴结炎、肠蛔虫症、美克耳憩室炎、胰腺炎、腹型紫癜症等。小儿阑尾炎诊疗的关键是在穿孔前给予明确诊断，采取适当的治疗。否则，当阑尾穿孔后，增加了病情的严重程度和复杂性，给治疗带来许多麻烦和困难。在小儿阑尾炎诊断上应：①详细耐心地了解病史，尽可能取得患儿的配合，注意症状、体征及检查结果之间的因果关系。②对婴儿有哭闹、腹痛、呕吐、发热等，应想到阑尾炎之可能。③腹部检查先从不痛的腹区进行，应轻柔、仔细，反复检查，左右对比。④如婴儿哭闹、扭动不配合时，可给予水合氯醛合剂或保留灌肠，待患儿入睡后再进行腹部检查，当每次按压右下腹患儿拒按、扭动甚至哭闹，即可考虑为急性阑尾炎。⑤右下腹部叩击痛是早期诊断小儿急性阑尾炎的重要体征，方法同腹部叩诊。当腹内发炎的阑尾受到震动时，患儿感到疼痛，此体征可作为早期诊断的可靠指标。⑥B 超对急性阑尾炎的诊断有所帮助，有报道 B 超对急性阑尾炎的诊断符合率在 90％以上[3]，它是一种安全的辅助诊断手段。⑦CT 对小儿急性阑尾炎的诊断有一定价值，可适当选择应用。⑧所有患急性腹痛的小儿均应进行肛门、直肠内指诊，并涂片镜检。⑨对于诊断不清又不能排除急性阑尾炎之可能，均可进行诊断性腹腔穿刺，必要时可行诊断性腹腔灌洗。

### 2.3 合理的手术治疗

小儿急性阑尾炎应争取早期诊断，早期手术治疗以减少并发症。对部分不能排除阑尾炎者应早期手术探查为宜。对极个别病例，我们不主张长时间观察，致使阑尾穿孔导致弥漫性腹膜炎后再行手术治疗，这将造成更多的并发症。为避免阑尾炎穿孔或使穿孔率降至最低，应允许阑尾的误切。

关键词：小儿；阑尾炎；肠梗阻；误诊

中图法分类号：R725.746.1 文献标识码：B

参考文献：


[1] Gray E H. Acute appendicitis[A]. In: Waldo E N. Textbook of Pediatrics [M]. 15th ed. Philadelphia: Pennsylvania, 1996. 1109－1111.

[2] 孙步明. 小儿急性阑尾炎误诊 32 例分析[J]. 中国误诊学杂志，2001，1(12)：1839－1840.

[3] 杨 威. 208 例小儿急性阑尾炎临床分析[J]. 华夏医学，2001，14(6)：907－908.


（编辑 郭建秀）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net