DOI: 10.16016/j.1000-5404.1997.03.001


# 模拟高原缺氧条件下梭曼中毒的神经毒作用*

论著

余争平** 程天民 伊规须英辉*** (第三军医大学预防医学系复合伤研究室)重庆,630038

提 要 目的:通过模拟高原缺氧复合梭曼中毒,观察缺氧、梭曼中毒复合效应的神经毒作用。方法:通过低压舱模拟 3 000 m高原缺氧;梭曼皮下注射中毒造成不同程度的高原缺氧复合梭曼中毒的实验动物模型,以惊厥活动的定量分析为指标,观察神经毒效应;通过梭曼中毒有、无惊厥大鼠血气变化的对比研究,探讨惊厥与缺氧、代谢性酸中毒的关系。结果:① 单纯模拟 3 000 m米高原缺氧 6 h在小鼠未诱发严重惊厥;② 梭曼皮下注射中毒 50 mg/kg剂量未诱发严重惊厥而 100μg/kg中毒则诱发严重惊厥;③ 梭曼中毒合并缺氧,复合效应表现为加重惊厥的协同作用;④ 惊厥可加重机体缺氧和代谢性酸中毒。结论:惊厥的定量分析可客观反映缺氧梭曼中毒复合效应的神经毒作用;惊厥可诱发缺氧和代谢性酸中毒,因此,抗惊厥治疗在拮抗神经毒作用,保护脑功能的措施中有其特殊重要意义。

关键词 缺氧;梭曼;神经毒作用;惊厥

中图法分类号 R827.172

梭曼(Soman)属有机磷酸酯类化合物,具有毒性强、作用快、中毒难防难治等特点。作为神经毒主要装备战剂,历来受外军重视,因而对梭曼中毒的毒理作用及医学防护的研究极受关注[1]。人员快速进驻高原地区可造成机体缺氧性损害,高原缺氧复合梭曼中毒是一类在高原地区发生的特殊化学损伤。迄今未见此类损伤的公开文献报道,缺氧和梭曼中毒两因素复合作用有何特点仍是未知数。

梭曼的中枢神经毒作用以中毒后出现惊厥活动为特征[2];急性严重缺氧也可诱发中枢性惊厥。本模拟高原缺氧复合梭曼中毒,以惊厥活动定量分析为指征,观察缺氧、梭曼中毒复合作用的神经毒作用特点;并通过对有、无发生惊厥的梭曼中毒大鼠对比研究其血气变化,探讨惊厥活动与缺氧的关系及意义。

## 1 材料和方法

### 1.1 动物与试剂

雄性 Sea: ddY系小鼠体重(30± 2) g雄性 Wistar系大鼠体重(350± 20) g均购于成和实验动物公司(福冈,日本),实验动物管理及处置均符合日本国实验动物保护法及产业医科大学实验动物保护条例。梭曼纯度 96.2%用丙二醇-生理盐水稀释后备用。其它常规试剂均购自 Sigma公司(圣路易斯,美国)。

### 1.2 动物致伤模型

实验动物置于体积为 1.2 $m^3$的圆柱型减压舱内模拟 3 000 m高度减压维持 6 h,模拟高度用高度计监测;于"3 000 m"停留 6 h后分别按组别给动物皮下注射不同剂量梭曼以复制不同伤情的模型。

### 1.3 观察指标及方法

惊厥活动定量分析按文献[3]报道的方法进行,动物在致伤后置于 Sony TR850摄像监测系统监测 10 min,动物行为再现于彩色监视器,记录 10 min以内的最小全惊厥(Minmal full seizure, MFS),阵挛性惊厥频率(Frequency of clonic seizure, FCS),强直性惊厥频率(Frequency of tonic seizure, FTS)与阵挛性惊厥的潜时(Latency to clonic seizure LCS)及强直性惊厥持续时间(Duration of tonic seizure, DTS)。大鼠在梭曼 72μg/kg,皮下注射中毒后按 10 min内有无阵挛性惊厥分组对照,在惊厥出现后 5、15、30、120 min吸入乙醚浅麻醉下经颈动脉取动脉血作血液气体分析,血二氧化碳分压($P_{CO_2}$)、氧分压($P_{O_2}$)、酸碱度(pH)及乳酸盐浓度均在 ABL 2B型血气分析仪上自动分析(Radiometer 丹麦)。

### 1.4 统计分析

惊厥活动量分析结果用 Mann-Whitney检验作组间差别显著性检验;血氧分析结果用 Student's $t$检验作组间及组内显

* 全军"九五"攻关项目,并获日本犀川奖学金资助

** 余争平,男,35岁,副研究员,博士

*** 日本产业医科大学环境毒理研究所

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

著性检验。统计分析在 NEC486i计算机(NEC,日本)上完成,所用统计软件为 Minitab 4.0(1994年版),作图软件为 Microrigin 3.0(1994年版),为美国 Microsoft公司产品。

## 2 结果

### 2.1 不同致伤条件下惊厥活动的计量分析

2.1.1 单纯模拟 3 000 m高原缺氧 缺氧 6 h,小鼠未诱发惊厥活动,各项参数并无有意义的变化。

2.1.2 单纯不同剂量梭曼中毒 单纯梭曼 50μg/kg,皮下注射中毒,在小鼠未诱发严重惊厥活动,该组 15只动物,除记录到 MFS外,仅在 3只动物记录到 FCS;随梭曼中毒剂量增大,惊厥活动加重,100μg/kg,皮下注射中毒较之 50μg/kg,皮下注射中毒,MFS,FCS,FTS及 DTS分别增加 171%、400%、200%及 720%,而 LCS缩短 73%,见表 1 2,统计分析差异均显著或非常显著。

表 1 模拟 3 000 m高原梭曼中毒对小鼠惊厥活动影响的量效作用($n$= 15)

Tab 1 Dose-dependent effect of soman poisoning in simulated altitude of 3 000 mon seizure activity in mice ($n$= 15)

| Treatment | Seizure activity | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | MFS | FCS | FTS | LCS | DTS |
| 3 000 m | 0 | 0 | 0 | 600 | 0 |
| Soman 50μg/kg, sc | 21 | 0 | 0 | 600 | 0 |
| Soman 100μg/kg, sc | 36** | 22** | 2** | 262** | 41** |
| 3 000 m plus Soman 50μg/kg, sc | 52**△ | 31**△ | 3**△ | 126**△ | 67**△ |
| 3 000 m plus Soman 100μg/kg, sc | 63**+△△ | 38**+△△ | 3**+△△ | 83**+△△ | 86**+△△ |

*: $P$ < 0.05,**: $P$ < 0.01 *vs* the group of soman 50μg/kg, sc poisoning; △: $P$ < 0.05, △△: $P$ < 0.01 *vs* the group of soman 100μg/kg, sc. poisoning; +: $P$ < 0.05 *vs* the group of soman 50μg/kg, sc poisoning in simulated altitude of 3 000 m (Mann-Whitney test)

2.1.3 复合致伤 缺氧、梭曼中毒表现为加重惊厥的协同效应,即梭曼中毒合并缺氧时,惊厥活动较之相同条件的单纯中毒,惊厥活动出现早而重。统计分析表明,低剂量(50μg/kg,sc)中毒复合缺氧时 MFS、FCS、FTS、DTS均非常显著地高于单纯中毒;LCS非常显著地短于单纯中毒,高剂量(100μg/kg,sc)中毒复合缺氧时 MFG、FCS、DTS均非常显著地增高;FTS显著地增高;LCS非常显著地缩短,见表 1 2 单纯低剂量(50μg/kg,sc)梭曼中毒未诱发严重惊厥活动,复合缺氧时,出现严重惊厥,与单纯中毒相比,MFS、FCS、FTS和 DTS分别增加至 247%、540%、及 1200%,LCS缩短 79.6%,见表 2

2.1.4 不同条件致伤时惊厥严重程度的比较 表 2中所示数据进一步显示了不同致伤条件下惊厥活动的严重程度。与单纯低剂量(50μg/kg,皮下注射)中毒相比,惊厥活动各参数百分率比较,结果进一步揭示① 单纯梭曼中毒、惊厥活动随中毒剂量增大而加重;② 梭曼中毒合并缺氧可加重惊厥活动,惊厥出现早而重。

表 2 不同伤情条件下惊厥严重程度(%)的比较

Tab 2 Comparison of seizure intensity (%) under various conditions of injuries

| Group | Seizure activities | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | MFS | FCS | FTS | LCS | DTS |
| Soman alone | | | | | |
| 50μg/kg, sc(A) | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 100μg/kg, sc(B) | 171** | 400** | 200** | -73** | 720** |
| Combination | | | | | |
| H3,000+ plus A | 247** | 540** | 300** | -80** | 1220** |
| H3,000+ plus B | 305** | 760** | 300** | -86** | 1630** |

+: hypoxia in simulated altitude of 3 000 m;

*: $P$≤ 0.05,**: $P$≤ 0.01 *vs* soman 50μg/kg, sc(A)

### 2.2 血气分析及乳酸浓度测定见表 3

血气分析结果表明,惊厥大鼠出现严重缺氧和代谢性酸中毒,表现为惊厥出现后 15min开始 $P_{O_2}$非常显著地低于对照值,

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

且较之非惊厥大鼠相应时间点也有非常显著(15 min)和显著(30、120 min)降低; $P_{CO_2}$在惊厥出现后 30、120min较之对照值及非惊厥大鼠值,均有非常显著升高;代谢性酸中毒均于 30 min出现,而惊厥大鼠代谢性酸中毒更为严重,血乳酸浓度惊厥后 30 min开始显著增高,120 min显著高于非惊厥组。

表 3　梭曼 72μg/kg,sc中毒惊厥与非惊厥大鼠动脉血气、pH及乳酸浓度的变化

**Tab 3　Changes in arterial blood gases, pH and lactate in seizure and non-seizure rats with soman ($W_B$/72μg·kg$^{-1}$, sc) intoxication**

| | Soman intoxication | |
|---|---|---|
| | Seizure ($n$ = 7) | Non-seizure ($n$ = 6) |
| $P_{CO_2}$(kPa) | | |
| Control | 36± 3 | 37± 3 |
| 5 min | 43± 6 | 55± 4 |
| 15 min | 44± 9 | 40± 3 |
| 30 min | 58± 6*☆ | 37± 5 |
| 120 min | 48± 4*☆ | 36± 3 |
| $P_{O_2}$(kPa) | | |
| Control | 99± 3 | 98± 3 |
| 5 min | 89± 8 | 94± 4 |
| 15 min | 63± 8**★ | 89± 6 |
| 30 min | 72± 6**☆ | 85± 6* |
| 120 min | 75± 5**☆ | 88± 5 |
| pH | | |
| Control | 7.36± 0.05 | 7.37± 0.04 |
| 5 min | 7.37± 0.04 | 7.36± 0.04 |
| 15 min | 7.34± 0.06 | 7.37± 0.05 |
| 30 min | 7.31± 0.04 | 7.33± 0.05 |
| 120 min | 7.26± 0.05* | 7.30± 0.03 |
| Latacte(mM) | | |
| Control | 1.53± 0.81 | 1.62± 0.34 |
| 5 min | 1.62± 0.04 | 1.68± 0.28 |
| 15 min | 1.68± 0.63 | 1.67± 0.22 |
| 30 min | 2.78± 0.65** | 2.31± 0.42* |
| 120 min | 8.61± 0.75**☆ | 6.24± 0.51** |

*: $P < 0.05$,**: $P < 0.01$ *vs* control;
☆: $P < 0.05$,★: $P < 0.01$ *vs* non-seizure

## 3　讨论

### 3.1　惊厥作为梭曼中毒、特别是复合致伤时神经毒效应的指征及意义

惊厥活动作为梭曼中毒中枢效应的主要临床指征,不仅在临床诊断和预后方面有重要意义,而且惊厥作为梭曼中毒的基本病理过程,研究惊厥活动为理解梭曼毒理作用机理,寻找救治措施方面提供了大量的线索。McLeod等[4]发现梭曼中毒惊厥大鼠大脑多个脑区出现神经元灶性坏死等病变,而非惊厥鼠不出现上述病变,由此推测出现惊厥是引起脑形态损伤的先决条件;实验性抗惊厥治疗,在灵长类和啮齿类动物均可减轻和阻断脑病理学改变[5];严重的惊厥活动可增加能量消耗,因而恶化病情促进衰竭发生。

梭曼中毒惊厥发生机理可能与胆碱能效应有关,直接的证据是,将 ACh抑制剂直接注射到杏仁核,可诱发惊厥及脑病理学变化[6]。近年的研究表明,梭曼的非胆碱能作用,肯定在惊厥的发生与发展中也起作用[7]。

本研究表明,定量分析惊厥活动作为评价缺氧、梭曼中毒双因素复合致伤神经毒作用的指征,能客观、清楚地反映复合效应的某些特点,缺氧复合梭曼中毒,复合效应表现为惊厥加重,惊厥严重程度随梭曼中毒剂量增大而加重。

### 3.2　惊厥引起的缺氧效应

梭曼中毒缺氧存在与否以及与惊厥活动的关系仍待阐明[8]。本研究通对梭曼中毒大鼠按有无惊厥进行对照研究血气参数的变化,为解答惊厥与缺氧的关系问题提供了直接的实验依据。梭曼中毒惊厥可导致机体缺氧,表现为动脉血 $P_{O_2}$降低;而不出现惊厥时仅有一过性血 $P_{O_2}$降低,并快速恢复至对照水平;同时惊厥诱发体内 $CO_2$蓄积动脉血 $P_{CO_2}$升高,提示呼吸功能下降;此外,惊厥可加重机体代谢性酸中毒,血乳酸浓度较无惊厥更高。据此,可以认为,惊厥可直接引起和加重梭曼中毒机体缺氧。

### 3.3　几点初步结论

综上所述,本实验获得以下几点初步结论:① 模拟 3 000 m高原缺氧 6 h,在小鼠未诱发惊厥活动;② 梭曼中毒惊厥活动,无论是否复合缺氧,均随中毒剂量增大而加重;③ 梭曼中毒复合模拟 3 000 m高原缺氧,其复合效应表现为加重惊厥,复合致伤条件下惊厥出现早而重;④ 惊厥活动可加重机体缺氧和代谢性酸中毒。上述几点认识,既往文献中未见记载。

致谢:感谢日本产业医科大学松冈雅人教授和第三军医大学欧阳子倩教授的启发性讨论。

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

## 参考文献

1 Maynard R L, Beswich F W. OP compounds as chemical warfare agents. In: Ballantyne B, Marrs T C Eds. Clinical and experimental toxicology of organophosphates and carbamates. Oxford: Bullernorth-Heinemann, 1992: 373~385

2 Savolainen K M, Hirvonen M R. Second messengers in cholinergic-induced convulsion and neuronal injury. Toxicol Lett, 1992; 64(5): 437

3 Igisu H, Izumi K, Fukuda T *et al*. Suppression of seisures by taurine-specific or non-specific? Brain Res, 1978; 76(2): 171

4 Mcleod C G, Singer A W, Harrington D G *et al*. Acute neuropathology in soman poisoned rats. Neurotoxicology, 1984; 5(1): 53

5 Castro C A, Larsen T, Finger A V *et al*. Behavioral efficacy of diazepam against nerve agent exposure in rhesus monkeys. Pharmacol Biochem Behav, 1992; 41(2): 159

6 McDonough J H, Mcleod C G, Nipwoda M T. Direct microinjection of soman and VX into the amygdala produces repetitive limbic convulsions and neuropathology. Brain Res, 1987; 435(2): 123

7 Gass P, Prior P, Kisesling M. Correlation between seisure intensity and stress protein expression after limbic epilepsy in the rat brain. Neuroscience, 1995; 65(1): 27

8 Blanchet G, Carpentier P, Lallement G *et al*. Prevention et traitement de l'etat de mal epiletiqe provoque par le soman. Ann Pharma Fr, 1994; 52(1): 11


(收稿: 1996-12-10;修回: 1997-04-23)

(编辑 冷怀明)

# A study of the neurotoxicity of hypoxia at a simulated high altitude in combination with soman intoxication

Yu Zhenping, Cheng Tianmin, H. Igisu (Department of Radiation Medicine, Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

**Abstract** **Objective**: To observe the neurotoxicity of hypoxia at high altitude in combination with soman intoxication. **Methods**: The experimental model of the combined injury was established in rats by simulating hypoxia in a hypobaric chamber and injecting various doses of soman subcutaneously. Quantitative analysis of seizure activities was used as the indicator of neurotoxicity of hypoxia alone or in combination with soman intoxication. Furthermore, the analysis of blood gas was comparatively conducted in rats with or without seizure after soman injection to elucidate the possible relationship between seizure activity and hypoxia. **Results**: ① No seizure was found in mice with hypoxia at a simulated altitude of 3,000 m; ② Severe seizure was found in those mice with injection of soman at a dose of 100 g/kg; ③ hypoxia and soman intoxication acted in a synergistic manner to intensify seizure activity; ④ Seizure resulted in severe hypoxia and metabolic acidosis. **Conclusion**: Soman intoxication alone or in combination with hypoxia at high altitude can exert remarkable neurotoxic effects. Therefore, treatment of seizure in cases of combined injury of hypoxia and soman intoxication plays an important role in protecting the brain from injury and antagonizing neurotoxicity.

**Key words** hypoxia; soman; neurotoxicity; seizure; rat

# 书 讯

## 《CT的临床应用》

易习之等数10位专家教授参阅了国内外最新文献,结合自身数10年的临床经验编写的《CT的临床应用》近日将由四川科学技术出版社出版。统一书号: ISBN 7-5364-3557-6/R·768 定价: 24元。欲购者请与本刊汪勤俭小姐联系。

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