

索曼对中枢胆碱酯酶抑制的组织化学改变

许小珊 (军事医学科学院药理毒理研究所, 北京 100800)

提要 用组织化学技术探讨了索曼系统中毒对啮齿动物(主要为大鼠)中枢 ChE 抑制的形态改变. 在低于致死剂量索曼中毒条件下, 中枢神经组织 ChE 呈现区域性抑制图像. 超过致死剂量则常呈现广泛性抑制. 在区域抑制范围内往往见以小动脉为中心, 而毛细血管壁上仍保留 ChE 活性. 很可能是索曼容易从小动脉或细动脉壁直接浸润到周围组织中去, 对此现

现象发生的原因作了简要的讨论.

关键词 索曼; 胆碱酯酶; 组织细胞化学; 中枢神经系统

1981年12月22日收稿 1982年4月26日修回

索曼(soman, 特己基甲氟磷酸酯)为强效的胆碱酯酶(ChE)抑制剂, 动物吸收中毒导致机体内乙酰胆碱积蓄, 产生一系列中枢及外周胆碱能神经传导的兴奋症状, 迅速转为惊厥和神经传导麻痹致死。关于中毒动物中枢神经组织内索曼的分布, 迄今未见报道。又由于索曼毒性强烈, 哺乳动物一般注射中毒致死剂量约低于 0.1 mg/kg, 采用同位素标记的索曼作试验时, 放射自显影技术不易显示出动物组织中中毒情况。故本文用 ChE 组织化学技术观察索曼对啮齿动物中枢 ChE 抑制的形态改变, 报道索曼在中枢的分布并探讨它通过血流向组织中散布的特点。

方 法

曾采用两种啮齿动物进行实验, 包括大鼠及家兔, 在索曼中毒后它们中枢神经组织ChE的抑制形态均极相似, 本文报道的以大鼠为主。不同途径注射中毒引起中枢神经组织 ChE 的抑制形态也很相似, 本文报道的以 im 中毒为主, 大鼠 MLD = 0.075 mg/kg、家兔 MLD = 0.03 mg/kg。并做了部分大鼠的局部颈总动脉的浸润中毒, 所谓局部动脉浸润中毒就是将大鼠麻醉后暴露动脉干, 在其壁外涂以索曼 5—10 μg (10 μl), 在不影响血流动态的情况下观察索曼渗透入血流后向组织中散布的形态。为了维持大鼠存活较长时间, 必要时给与中枢安定剂及抗胆碱能药物, 避免使用对中枢 ChE 有明显影响的药物。ChE 组织化学采用硫胆碱法⁽¹⁾, 中枢神经组织作 30 μm 的冰凍切片, 2-4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 24 h, 可得到较清晰的显微镜下图像。真性和假性两种 ChE 的染色采用乙酰硫胆碱为底物, 真性 ChE(AChE) 在孵育液中加 Iso-OMPA 0.05 mM。

结 果 和 讨 论

小剂量索曼中毒中枢 ChE 呈区域性抑制的形态改变 在低于致死剂量中毒大鼠或家兔的脑和脊髓中往往呈现 ChE 的区域性抑制图像。这种区域性抑制的特点有三: (1) 与供血

动脉进入中枢后的分布有一定的关系——例如中毒后脊髓 ChE 的抑制区往往在中央管附近较广泛, 前后角的 ChE 抑制区较小, 符合脊髓的供血动脉是从中央管附近向前后角分布的解剖图像(图 A, B)。大脑皮质 ChE 的抑制区往往浅层较深层广泛, 符合皮质的供血动脉从浅层向深层分布的解剖图像(图 C)。如果采用一侧颈总动脉浸润中毒, 则往往见到同侧脑组织 ChE 的广泛抑制, 而对侧未被抑制或有区域抑制(图 D)。(2) 与中毒剂量和中枢神经组织的供血量有一定的关系。例如较小剂量中毒时, 大脑皮质呈区域性抑制, 而皮质下尾状核则未见抑制(图 C), 如果剂量增大则大脑皮质呈广泛性抑制而皮质下尾状核方呈区域性抑制(图 E)。因为大脑皮质较皮质下供血丰富⁽²⁾。(3) 区域性抑制以小动脉或细动脉为中心。在抑制区中央往往查见小动脉或细动脉存在, 而抑制区的形态常与该动脉断面的形态相吻合(图 F, G)。在抑制区域内常保留毛细血管壁上 ChE 活性(图 G)。这些现象均说明索曼由血流进入中枢后, 容易从小动脉壁穿透向组织中散布, 不像一般药物通过毛细血管壁透入脑组织。

大剂量索曼中毒中枢 ChE 呈广泛性抑制的形态改变 在超过致死剂量索曼中毒大鼠的脑和脊髓中, 常呈现广泛的 ChE 抑制。当中毒剂量达 2 个以上致死量, 则中枢方呈现全部广泛性抑制(图 H)。如果剂量在 1-2 个致死剂量之间, 则中枢 ChE 除大部分呈现广泛性抑制外, 在大鼠原来 ChE 活性较强的组织(如基底节、下丘脑、延髓的迷走神经背核和舌下神经核、脊髓的前后角等)常保留未被抑制的区域(图 I)。

外周 ChE 较丰富的组织中, 也可查见区域性抑制的形态改变 总的说来, 由于外周组织中 ChE 的活性和分布不像中枢那样丰富和广泛, 所以不易观察到区域性抑制的图像。在适当剂量索曼中毒的条件下, 有些外周组织也存在 ChE 的区域性抑制, 例如肝脏是假性

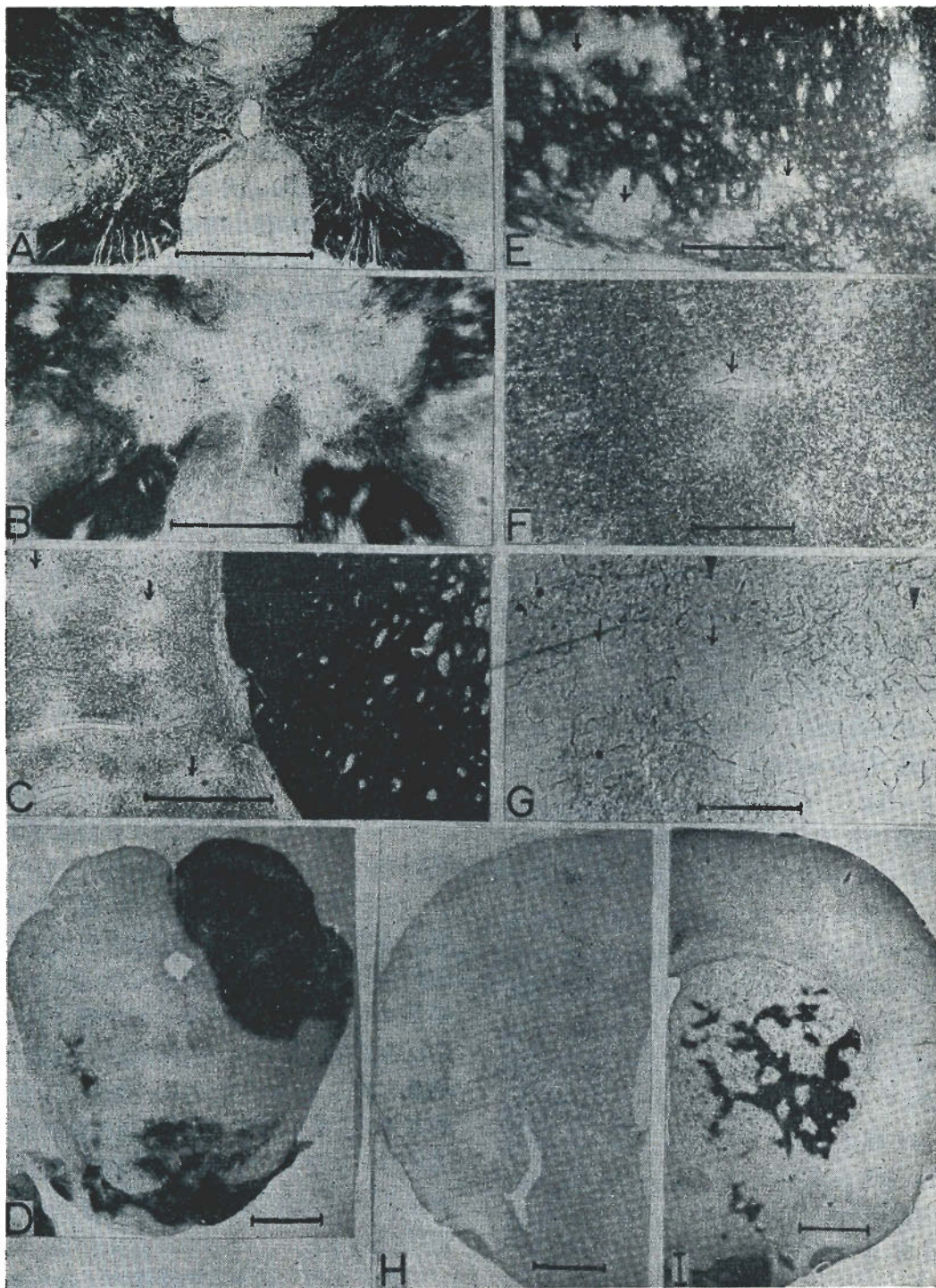


Fig A) Cervical spinal cord of rabbit showing normal distribution of ChE. B) Cervical spinal cord of rabbit showing more extensive ChE inhibition around the central canal and smaller inhibited areas in ventral and dorsal horns. C) Regional AChE-inhibited areas (arrows) in cerebral cortex and no inhibition in caudate nucleus of rat. D) Midbrain of rat infiltrated with soman on right common carotid artery showing extensive ChE inhibition on right side but regional inhibition on left side. E) Caudate nucleus of rat showing regional AChE-inhibited areas (arrows). F) Regional AChE inhibition of rat

cerebral cortex showing a small artery (arrow) at the center of an inhibited area. G) Regional ChE inhibition of rat cerebral cortex. Arrows show arterioles and triangles show venules. The inhibited areas retained ChE activity on capillaries. H) Right hemisphere of rat brain showing total extensive ChE inhibition. I) Left hemisphere of rat brain showing extensive ChE inhibition and small uninhibited areas remaining in caudate nucleus and hypothalamus. Scale 1 mm except E-G 0.2 mm.

ChE 活性丰富的组织, 中毒后也可查见明显的区域性抑制形态。此外外周神经节, 消化道粘膜肌层和骨骼肌运动终板系列中, 由于这些组织 ChE 活性较丰富, 中毒后也都可查见区域性抑制的形态。

在组织化学和细胞化学观察下, 中枢神经组织(主要是灰质)中 ChE 的分布非常广泛, 它不但定位于胆碱能神经元的细胞体、树突和轴突的膜结构上, 而且存在于广泛分布的突触上, 假性 ChE 更广泛地定位于神经胶质和毛细血管壁上⁽³⁾, 所以一旦中枢形成小区域酶的抑制就容易显示出来。Butcher 等曾作大鼠颅内穿刺浸润 DFP 1.5 μg (1 μl), 查见穿刺孔旁 AChE 有明显的区域抑制⁽⁴⁾。索曼为更高效的 ChE 抑制剂, 它的不可逆性比 DFP 更强, 微量索曼更容易在中枢神经组织形成 ChE 的区域性抑制。可以认为, 中枢 ChE 的区域性抑制图像能反映索曼在中枢神经组织内的分布形态。而系统注射中毒动物的中枢出现上述区域抑制形态是可能的; 由于剂量太小则显不出抑制, 剂量太大则呈广泛性抑制, 自索曼⁽⁵⁾发表以来国内外长期未见此种形态改变的报道, 可能这是原因之一。

通常药物或毒物由血流进入组织主要是从毛细血管壁向组织中散布, 本文证明索曼比较特殊, 它进入中枢神经组织主要是从小动脉壁直接渗透入脑组织中, 对这一现象应如何解

释? 初步设想可能有两方面原因: (1) 索曼为穿透性极强的 ChE 抑制剂, 实验中看到, 它很容易从动脉壁渗透入血流(局部动脉浸润中毒), 可以理解, 它必然也容易从小动脉壁渗透入组织中去。(2) 它为什么不容易从毛细血管壁渗透入脑组织中呢? 实验中看到中枢区域抑制的范围内往往查见毛细血管壁上保留 ChE 活性, 推想毛细血管壁上的酶活性可能正是起到阻止索曼穿透毛细血管壁的屏障(图 G), 另外在酶活性强的组织中也看到索曼不容易在组织中扩散(即保留未被抑制的区域, 图 I)。这些现象都说明 ChE 在组织上的存在能起到对索曼渗透的阻隔作用。文献中也有类似的假说, 即中枢毛细血管壁上 ChE 的作用之一可能与维持血脑屏障的功能有关⁽⁶⁾。

参 考 文 献

- 1 Karnovsky MJ, Root LA. *J Histochem Cytochem* 1964 Mar; 12 (3):219
- 2 Kety SS. The cerebral circulation. In: John F, ed. *Neurophysiology*, vol 3. 1st ed. Washington: Am Physiol Soc Press, 1960:1754-5
- 3 Silver A. The biology of cholinesterases. In: Neuberger A, Tatum EL, eds. *Frontiers of biology*, vol 36. 1st ed. Amsterdam: North-Holland Press, 1974:106-9 & 366-7
- 4 Butcher LL, Bilezikjian L. *Eur J Pharmacol* 1975 Nov; 34 (1):115
- 5 Harris LW, Fleisher JH, Krey J, Cliff WJ. *Fed Proc* 1963 Apr 17; 22 (2):311
- 6 Flumerfelt BA, Lewis PR, Gwyn DC. *Histochem J* 1973 Jan; 5 (1):67

Acta Pharmacologica Sinica 1983 Mar; 4 (1): 10-14

HISTOCHEMICAL CHANGES OF CENTRAL CHOLINESTERASES INHIBITED BY SOMAN

XU Xiao-san

(Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100800)

ABSTRACT Histochemical localization of the central cholinesterases (ChE) was

studied after inhibition by systematic intoxication of soman (methyl pinacolyl

phosphonofluoridate) in rodents (mainly in rats). There was a regional ChE inhibition figure in central nervous tissues below the lethal dose of soman. Larger than a lethal dose usually yielded an extensive inhibition. There was always a small artery at the center of each regional ChE-inhibited area, but the ChE activity of capillary

walls still remained in the area. It was very likely that the infiltration of soman into surrounding tissues was easier through the wall of small arteries or arterioles than through that of capillaries. The reason for this phenomenon was discussed briefly.

KEY WORDS soman; cholinesterases; histochemistry; central nervous system

* * *

* * *