

氢溴酸山莨菪碱 对有机磷农药中毒所致机体炎症反应机制的研究进展

范润聪 乔楚珂 赵国磊 单鸿伟^{通讯作者}

内蒙古医科大学 内蒙古 呼和浩特 010000

摘要: 有机磷农药中毒的机制是通过抑制胆碱酯酶的作用导致乙酰胆碱大量蓄积, 过度兴奋胆碱能神经, 与此同时, 还会引发强烈的炎症反应, 导致机体的损害。有研究表明采用阿托品或解磷定联合氢溴酸山莨菪碱治疗, 通过介导 NF- κ B 通路影响炎症反应的发生发展, 减少或减轻对脏器以及组织的损害, 改善有机磷中毒患者的预后。本篇综述聚焦有机磷中毒伴发的炎症损害, 结合临床氢溴酸山莨菪碱的应用及机理, 分析现阶段对 NF- κ B 通路的研究, 进一步阐述氢溴酸山莨菪碱通过 NF- κ B 通路对有机磷所致炎症的影响。

关键词: 有机磷农药中毒; 氢溴酸山莨菪碱; TOLL 样受体通路; NF- κ B; 炎症反应

中国人口总数位列全球前列, 且以农民占比最多。有机磷类农药 (Organophosphorus, OP) 是农民在农务劳动中应用最广的农药, 也正是因为这种农药在生活中的普遍性, 一些意外误服甚至刻意饮用该农药的事情时有发生。调查研究显示急性有机磷农药中毒 (Acute organophosphorus pesticide poisoning, AOPP) 的致死率高达 40%, 这使如何有效的救治有机磷中毒患者成了当今社会迫在眉睫的一个问题。有机磷农药中毒的机制是通过抑制胆碱酯酶发挥作用进而导致乙酰胆碱的大量聚集, 使胆碱能神经持续的兴奋, 但同时, 有机磷中毒还会引发炎症反应 (Inflammation), 导致机体损害。常规治疗有机磷农药中毒以阿托品和解磷剂为基础, 但联合应用氢溴酸山莨菪碱 (Anisodamine hydrobromide) 治疗有机磷中毒的动物实验 (大鼠) 中发现细胞中 NF- κ B 通路相关蛋白的表达量明显降低, NF- κ B 通路作为机体的炎症反应通路, 不仅会影响机体炎症反应的进展, 还会促进乙酰胆碱酯酶的活化。所以通过应用氢溴酸山莨菪碱进一步影响 NF- κ B 通路, 改善有机磷中毒所致的炎症反应, 更有效的治疗有机磷中毒, 减少治疗过程中的并发症, 改善预后。

1 有机磷中毒所致炎症的机制

有机磷属于有机磷酸酯类化合物, 有机磷中毒是通过影响乙酰胆碱酯酶导致其发生不可逆性的抑制。乙酰胆碱酯酶主要存在于中枢与外周神经系统、神经肌肉接头及红细胞之中。有机磷中毒后, 有机磷中的磷原子与乙酰胆碱酯酶酯解部位的丝氨酸上的氧原子共价结合, 同时酯键断裂, 通过羟基磷酸化结合乙酰胆碱酯酶, 进而合成磷酸化酶, 然

而磷酸化酶的脱磷酸反应极慢, 甚至可以认为是零, 因此它无法转变为自由酶, 导致乙酰胆碱不能及时分解, 出现体内蓄积, 使神经受到持续刺激而不断发送冲动, 导致一系列的临床症状, 甚至乙酰胆碱积累到一定程度可以导致多脏器功能衰竭。因为上述机制的存在, 我们通过判断患者体内的胆碱酯酶活性来进行临床判定, 将有机磷农药中毒分为三个阶段, 分别是初始胆碱能危象、中间综合征以及迟发性多发性神经病。然而通过众多研究表明, 除了抑制乙酰胆碱酯酶之外, 有机磷中毒还会引起机体的强烈炎症反应 (Systemic inflammatory response syndrome, SIRS)。

关于有机磷所致的炎症反应, 在历年的有机磷中毒相关文献之中, 都有一些相关阐述, 机体中可影响炎症反应进行的信号通路有很多, 比如: Jak/Stat 通路、NF-KappaB 通路、TLRs 通路、BCR 通路、TCR 通路等等。当发生 AOPP 时, 有机磷分子通过刺激迷走神经诱导乙酰胆碱释放, 并激活丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路, 该信号通路包括细胞外信号调节蛋白激酶 (ERK)、c-Jun 氨基末端激酶 (JNK) 和 p38-MAPK, 过量激活的乙酰胆碱可与巨噬细胞上的 $\alpha 7$ 烟碱乙酰胆碱受体结合, 抑制作为 p38-MAPK 的下游的 NF- κ B 炎症信号通路的核转位, 并加剧炎症反应中细胞因子的产生。NF- κ B 通路在其中起主要作用, 作为炎症通路的代表, 该通路包括受体及受体近端衔接分子、I κ B 激酶复合物、I κ B 蛋白及 NF- κ B 二聚体, 通过控制的不同基因和不同的调节蛋白来影响炎症反应过程, 而其所激活的 NF- κ B 二聚体则作为炎症反应的主调节因子, 可以编码促炎细胞因子和趋化因子, 使百种以上的靶细胞表达, 从而进一步加速炎症

反应的进展。

2 NF- κ B 介导炎症反应

2.1 Toll 样受体通路的激活

当发生有机磷中毒后,人体第一道防线:免疫系统被破坏时,这些有机磷分子便会被模式识别受体识别并启动人体的炎症反应通路,该通路分为髓样分化因子88依赖通路(MYD88)和MYD88非依赖通路。MYD88通路上存在Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)结构域的接头蛋白,接头蛋白被具有复杂配体特异性的TLR4异源二聚体捕获后,通过两个辅助蛋白:内毒素结合蛋白(LPS)和CD14的作用,TLR4二聚体与MyD88蛋白结合,通过将IL-1相关激酶4(IRAK4)招募至TLRs,解离出激酶TRAF6,再同转化生长因子 β -激酶1(TAK1)相互作用,导致IKK复合体和丝裂原活化蛋白激酶的活化,激活下游NF- κ B信号通路。

2.2 NF- κ B 通路相关组成及初步激活

下游被激活的NF- κ B二聚体是一种普遍存在于各种生物体细胞质中的快反应转录因子,既被称为人类免疫反应的中枢调节剂也是调节人体应激反应的重要因素之一,一方面,NF- κ B二聚体参与了众多炎症基因的表达,另一方面也对细胞的生长和癌变有着不容忽略的影响。NF- κ B二聚体并不是一个单一的转录蛋白,而是由五个相关蛋白组成,这五种NF- κ B/Rel蛋白的亚基分别为cRel、RelA、RelB、p105(NF- κ B1)和p100(NF- κ B2),它们可以形成众多同源或异源二聚体,再同NF- κ B家族蛋白抑制剂(I κ B)结合且稳定存在于细胞质中。而控制NF- κ B通路是否活化的主要机制是同I κ B及I κ B激酶(IKK)的相互作用。所有I κ B蛋白都通过一个中心锚蛋白重复结构域(ANK)的介导与NF- κ B二聚体作用,导致磷酸化的发生以及通路的进一步激活。NF- κ B通路的激活首先涉及到I κ B翻译后的修饰,这是通过经典途径(CP)和非经典途径(AP)发生的。经典的途径依赖于IKK β ,由微生物产物和促炎细胞因子(如TNF- α 和IL-1)激活。相对于经典途径,非经典途径仅以少部分刺激物激活,比如B细胞激活因子(BAFF)和淋巴毒素 β (LT β),且局限于淋巴器官。

2.3 NF- κ B 介导炎症的具体过程

在静息状态下,NF- κ B同I κ B以失活三聚体的形式与免疫球蛋白K轻链结合,隔离于未受刺激的细胞质中,并隐藏相关Rel蛋白的核定位序列。NF- κ B可以通过 κ B激酶复合物(IKK)快速激活。IKK由两个催化亚单位(IKK α 和IKK β)和一个调节亚单位(NEMO)组成,IKK α 的激活被证明可以限制细菌感染期间的炎症反应,并抑制经典NF- κ B

通路的激活,相反,失活则会导致炎症和感染性休克的易感性增加。另外,IKK α 介导的磷酸化会导致NF- κ B通路负反馈调节。NEMO是一个非催化亚单位,将IKK α 和IKK β 结合成一个调节性全复合物,是导致蛋白质寡聚化和信号传导的泛素化反应的必需条件之一。具备了上述条件,在有机磷中毒的情况下,IKK的激活可以导致核因子 κ B的磷酸化和泛素化,I κ B在酪蛋白激酶II作用下对C末端的PEST结构域以及N端的第32和36位丝氨酸磷酸化,再进一步使N端第21和22位的赖氨酸泛素化,在泛素酶泛素后构象发生改变,被多催化性ATP依赖性26S蛋白酶识别并降解,I κ B得以脱落,NF- κ B二聚体核定位信息被暴露,NF- κ B二聚体移至细胞核,进一步调控及启动各类炎症因子、黏附因子、趋化因子、C反应蛋白等转录和表达。

3 临床应用氢溴酸山莨菪碱改善有机磷农药中毒反应及改善炎症的机制

氢溴酸山莨菪碱是我国特有的从植物中提取的天然生物碱,它是一种烟碱型胆碱受体拮抗剂,能够十分有效的抑制有机磷中毒引起的毒蕈碱样症状,并拮抗胆碱能受体、抑制胆碱能过度兴奋,比如可以达到抑制腺体分泌、支气管扩张、抑制胃肠运动和改善循环的效果。在有机磷中毒常规治疗时,需要对患者进行短时间内反复给予阿托品治疗,阿托品的血药浓度难以掌握,且本身便具有一定的毒性,使用不当甚至会加重病情。而通过给予阿托品治疗的同时,联合大剂量的氢溴酸山莨菪碱静脉输注可以更有效地解除毒蕈碱样症状并且减少阿托品的用量。一方面,氢溴酸山莨菪碱本身不良反应相对较小,在少量阿托品的协同作用下,可增强机体解毒作用,增强治疗效果。另一方面,氢溴酸山莨菪碱还可以维持阿托品治疗时的阿托品化,避免阿托品的不良反应,降低患者死亡率。

除外联合阿托品,氢溴酸山莨菪碱联合碘解磷定对急性有机磷农药中毒患者的治疗效果更佳。应用氢溴酸山莨菪碱联合碘解磷定治疗急性有机磷农药中毒的患者,可以有效降低其血清乳酸、NF- κ B二聚体水平,升高胆碱酯酶水平并可以保护血管内皮、改善机体内皮功能。

氢溴酸山莨菪碱通过拮抗胆碱能受体,可逆性地抑制血管内皮的毒蕈碱型受体,激活胆碱能抗炎通路,并通过影响迷走神经活动,控制细胞因子的产生。同时可兴奋呼吸中枢,缓解部分中枢神经系统症状,并且可以进一步影响炎症通路,一方面,氢溴酸山莨菪碱可以改善脂多糖诱导的NF- κ B二聚体DNA的结合活性,从而影响NF- κ B炎症通路,减弱该通路的激活以及信号传导,减少TNF- α 、IL-1 β 和

IL-18 的合成,另一方面,它可以提高细胞对缺氧及缺血等情况的耐受性,在有机磷中毒的情况下,可以减少炎症因子及白细胞的粘附,从而减轻炎症反应。

4 氢溴酸山莨菪碱通过影响 NF- κ B 对有机磷中毒所致炎症影响

有机磷中毒会涉及全身系统,其中以中枢、外周神经系统为甚。有机磷农药中毒会引发人体的炎症反应,表现为白细胞大量涌入、发红、疼痛、肿胀,最终导致全身多器官功能障碍。长时间暴露于低水平有机磷农药,即使在缺乏乙酰胆碱酯酶抑制和有机磷中毒明显临床症状的情况下也会引发炎症反应。虽然慢性有机磷暴露诱导炎症的机制尚未确定,可能是有机磷直接与炎症细胞相互作用,导致炎症介质的释放。无论哪种情况,发生有机磷中毒时,细胞因子和病原体相关分子模式(pathogen-associated molecules, PAMPs)刺激包括TLRs在内的细胞表面受体,启动信号级联,导致NF- κ B的激活,NF- κ B驱动介导细胞增殖的靶基因表达,释放抗菌分子和细胞因子。当局部细胞识别PAMPs导致细胞因子释放时,炎症级联反应便开始了。

NF- κ B通过控制炎症相关基因的表达来达到抗炎的目的。联合氢溴酸山莨菪碱治疗有机磷中毒远远优于单独应用阿托品和东莨菪碱的治疗。一方面,氢溴酸山莨菪碱通过阻断毒蕈碱受体,刺激乙酰胆碱通路的 $\alpha 7$ 烟碱乙酰胆碱受体($\alpha 7nAChR$),进一步激活胆碱能抗炎通路,抑制胆碱能过度兴奋状态,控制细胞因子的产生,减少高分泌以及松弛平滑肌的痉挛,消除毒蕈碱症状。另一方面,氢溴酸山莨菪碱可以通过刺激迷走神经释放乙酰胆碱并显著抑制巨噬细胞释放TNF- α 等细胞因子的能力,从而减轻有机磷中毒所致的全身炎症反应。氢溴酸山莨菪碱对NF- κ B通路也会产生明显的影响,通过抑制NF- κ B上游的I κ B的降解,影响参与介导内皮细胞活化的蛋白质及细胞因子的表达,使得NF- κ B通路无法被激活,干扰其的核移位,从而降低炎症反应反应的发生。

5 小结

因为有机磷中毒在生活中的常见性,使得尽快完善治疗方案成为当今社会更为迫切的要求。通常临床上均以抑制

胆碱酯酶方面来考虑有机磷中毒的紧急治疗,但随着医学研究的不断发展,对NF- κ B通路各个环节的理解更加清晰,控制有机磷所致的炎症反应也成为决定患者治疗质量与预后的关键因素。氢溴酸山莨菪碱做为中国的一种传统药物,阿托品或解磷定联合氢溴酸山莨菪碱治疗不仅仅对胆碱酯酶产生一系列抑制作用,还可以对NF- κ B通路调控炎症的过程产生一定的影响,为氢溴酸山莨菪碱应用于有机磷中毒的治疗提供了一条新的思路。但目前资料尚不完善,我们仍需要对氢溴酸山莨菪碱进行更进一步的研究,它是如何影响I κ B的降解,是否在NF- κ B通路的其他步骤上也存在一定的作用。相信有机磷中毒在之后的治疗中能够更加完善,患者的生存率和预后也能得到显著的提高,值得期待。

参考文献:

- [1] 林雪霞. 急性有机磷农药中毒发病机制与治疗现状[J]. 蛇志, 2020, 32(01):111-113.
- [2] 玛依拉·阿扎提, 肖克来提·霍加合买提, 彭鹏, 高冉冉. 山莨菪碱联合碘解磷定对急性有机磷农药中毒患者乳酸、NF- κ B及内皮功能的影响[J]. 疑难病杂志, 2020, 19(11):1106-1110.
- [3] Cirimi S, Maugeri A, Russo C, Musumeci L, Navarra M, Lombardo GE. Oleacein Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Inflammation in THP-1-Derived Macrophages by the Inhibition of TLR4/MyD88/NF- κ B Pathway. Int J Mol Sci. 2022 Jan 21;23(3):1206.
- [4] 曾焯, 邱艳, 江文丽, 杜小强. 氢溴酸山莨菪碱改善微循环障碍的机制研究进展[J]. 江苏大学学报(医学版), 2021, 31(01):23-27.
- [5] 应德琴. 山莨菪碱维持阿托品化治疗急性有机磷农药中毒166例分析[J]. 重庆医学, 2011, 40(29):2984-2986.

作者简介:

范润聪(1997.09-),男,河北省邢台市,研究生,研究方向:有机磷农药中毒。

通讯作者:单鸿伟(1979.07-),内蒙古自治区呼和浩特市,博士,教授,有机磷中毒。