DOI:10.16016/j.1000-5404.1994.06.010

MDL 74405对实验性烟雾吸入伤大鼠血浆及组织MDA水平的影响

张敏 魏斌 吕金胜 张乐之 Grisar JM* (第三军医大学基础部药理学教研室) 630038

提 要 本研究采用大鼠烟雾吸入伤模型,观察了抗氧化剂维生素E(Vit E)同系物MDL 74405(0.2,1,5 mg/kg,气管内给药)对吸入性损伤的疗效。结果发现,MDL 74405能明显降低血浆,肺、肝、心和小肠组织脂质过氧化物丙二醛(MDA)水平,减轻气管及肺组织损伤,使氧分压(PaO_2)升高,二氧化碳分压($PaCO_2$)下降,改善呼吸功能,且疗效比Vit E好,可能与MDL 74405的强大清除自由基作用和高亲水性有关。

关键词 维生素E/类似物和衍生物;游离基类;丙二醛;灼伤,吸入性

中图法分类号 R644;R977.25

吸入性损伤(Inhalation injury)常因呼吸衰竭导致患者死亡。我们以往的研究发现,氧自由基参与肺水肿的发生和发展,腹腔注射抗氧化剂中药人参皂甙对吸入伤引起的肺损害有较好的治疗作用[1]。MDL 74405((S)-(-)-3,4-dihydro-6-hydroxy-N,N,N,2,5,7,8-heptamethyl-2H-1-benzopyran-2-ethanaminium)是维生素E(Vit E)的同系物,体外实验已证明具有清除脂质过氧化物、超氧阴离子自由基(O_2^-)及羟自由基(·OH)的作用,且活性比Vit E更强[2]。其他学者的研究也发现,MDL 74405能减轻由与氧自由基有密切关系的缺血及再灌注引起的心肌组织损伤[3]。因此,本研究采用大鼠烟雾吸入伤模型,考查MDL 74405的疗效,目的在于进一步评估抗氧化剂在吸入伤中的治疗作用,并为其临床治疗提供新的药物。

1 材料与方法

112只Wistar大鼠,雌雄各半,200~250 g,被随机分成正常对照组($n=8$),致伤对照组($n=24$,包括致伤后6、12和24 h组),MDL 74405治疗组($n=40$,包括给予MDL 74405 1 mg·kg^{-1}后6、12和24 h组,及给予MDL 74405 0.2 mg·kg^{-1}和5 mg·kg^{-1}后6 h组)及Vit E阳性药对照组($n=40$,包括给予Vit E 1 mg·kg^{-1}后6、12和24 h组,及给予Vit E 0.2 mg·kg^{-1}和5 mg·kg^{-1}后6 h组)。致伤动物被放置于一特制的充满烟雾的烟箱内吸烟[1]。吸烟方式是动物在烟箱内自由吸烟4 min后取出,在空气中自动呼吸3 min后放入烟箱内,如此再重复2次,即共吸烟12 min。烟雾由150 g干松木屑加30 ml煤油混合燃烧所得,烟箱内温度保持在58±2℃范围。致伤完毕10 min,大鼠用乙醚麻醉后暴露气管,用微量注射器分别将不同浓度的MDL 74405(粉剂,法国Marion Merrell Dow Research Institute Grisar教授提供,用生理盐水配制)、Vit E(针剂,广州侨光制药厂,用无水乙醇配制)或生理盐水沿气管注入,药物及生理盐水注入量为50 μl/200 g大鼠。分别于伤后6、12及24 h各用3%戊巴比妥钠麻醉一批动物,采腹主动脉血行血气分析(IL-1303型血气分析仪,美国);血浆丙二醛(MDA)含量测定[4]及超氧化物歧化酶(SOD)活性测定[5]。取气管及肺组织行病理组织学检查(光镜),取肺、肝、心及小肠组织,测定其MDA含量和SOD活性。

2 结果

2.1 MDL 74405对致伤大鼠PaO_2、$PaCO_2$的影响

表1示大鼠致伤后,腹主动脉血PaO_2明显下降(12 h和24 h点,$P<0.01$),$PaCO_2$则显著增加(6~24 h,$P<0.05$);给予MDL 74405,可部分逆转PaO_2的下降,$PaCO_2$的升高则几乎被完全逆转,以伤后12 h尤为明显($P<0.05$);等剂量的Vit E可使下降之PaO_2略有回升,但无显著性($P>0.05$),对$PaCO_2$的升高也无明显改善作用。

表1 MDL 74405对致伤大鼠PaO_2、$PaCO_2$的影响

Tab 1 The effects of MDL 74405 on the changes of PaO_2 and $PaCO_2$ in inhalation injury rats (kPa, $n=8$, $\bar{x}\pm s$)

Groups	PaO_2				$PaCO_2$			
	before injury	after injury			before injury	after injury		
		6 h	12 h	24 h		6 h	12 h	24 h
Control	10.4±1.6	8.3±2.3	6.5±1.5**	6.3±1.4**	6.6±1.2	8.4±1.2*	8.7±1.6*	8.9±1.7*
MDL 74405 (1 mg·kg^{-1}, i.t.)	—	9.7±2.2	9.3±2.6+	7.8±1.1**+	—	7.4±2.1	6.4±1.5+	7.5±1.7
Vit E (1 mg·kg^{-1}, i.t.)	—	8.7±1.2*	7.6±1.4**	7.3±1.1**	—	8.3±1.2*	8.2±1.3*#	8.3±1.1*

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ *vs* the normal control; + $P<0.05$ *vs* the injured control; # $P<0.05$ *vs* the MDL 74405 treated

* Marion Merrell Dow Research Institute, France Chemistry Department

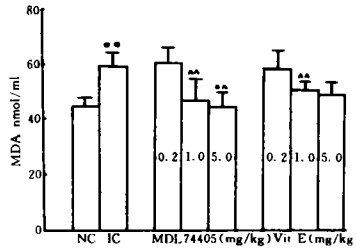
?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.2 MDL 74405对致伤大鼠血浆MDA水平及SOD活性的影响

表2示大鼠致伤后，血浆MDA水平升高，尤以6 h显著（$P<0.01$）；MDL 74405和Vit E均能使升高之MDA显著下降，且呈剂量依赖性（见附图）。血浆SOD活性在致伤后24 h内，无明显改善，MDL 74405和Vit E对SOD活性也无明显影响。

2.3 MDL 74405对致伤大鼠几种脏器MDA水平的影响

表3、4示致伤后24 h内，肺、肝、心、小肠等脏器MDA水平均明显升高（$P<0.05\sim0.01$）；给予MDL 74405治疗后，MDA水平呈剂量依赖性不同程度下降，以肝、心和肺MDA水平下降尤为显著（$P<0.05\sim0.01$）；1 mg/kg Vit E可降低小肠组织MDA水平（12 h和24 h点，$P<0.05$），但对肺、肝、心等脏器作用不显著（$P>0.05$）；将剂量增加到5 mg/kg，可使伤后6 h大鼠肺及小肠MDA水平下降；与Vit E组比，MDL 74405降低各组织MDA水平的作用更明显（$P<0.05\sim0.01$）。



附图　不同剂量MDL 74405和Vit E对致伤6 h后大鼠血浆MDA的影响

Fig　The effects of MDL 74405 and Vit E at different concentrations on the level of plasma MDA in injured rats after 6 hours.

nmol/ml，$n=8$，$\bar{x}\pm s$．$^{**}P<0.01$ *vs* the normal control (NC)；$^{++}P<0.01$ *vs* the injured control (IC).

表2　MDL 74405对致伤大鼠血浆MDA水平及SOD活性的影响

Tab 2　The effects of MDL 74405 on the changes of MDA level and SOD activity in plasma of inhalation injury rats（$n=8$，$\bar{x}\pm s$）

Groups	MDA level ($nmol\cdot ml^{-1}$)				SOD activity ($u\cdot ml^{-1}$)			
	before injury	after injury			before injury	after injury		
		6 h	12 h	24 h		6 h	12 h	24 h
Control	44.9±2.6	59.1±5.5**	50.4±5.8	52.3±12.3	60.7±4.4	60.9±4.0	56.2±2.1	57.5±4.4
MDL 74405 ($1\ mg\cdot kg^{-1}$, i.t.)	—	46.8±8.1^{++}	45.4±7.9	40.6±9.9	—	61.5±5.3	58.5±4.2	57.8±5.2
Vit E ($1\ mg\cdot kg^{-1}$, i.t.)	—	50.3±4.1^{++}	48.9±3.0	50.2±3.6	—	60.3±2.7	59.7±2.3	59.5±2.3

$^{**}P<0.01$ *vs* the normal control；$^{++}P<0.01$ *vs* the injured control

表3　MDL 74405对致伤大鼠几种脏器MDA水平的影响

Tab 3　The effects of MDL 74405 on the changes of MDA level in lungs, livers, hearts and intestina from inhalation injury rats（**nmol/mg protein**，$n=8$，$\bar{x}\pm s$）

Groups	Time (h)	Lung	Liver	Heart	Intestine
Normal control		4.4±1.2	5.3±1.8	4.1±1.1	3.0±0.9
Injured control	6	7.0±1.4**	8.1±2.1*	7.6±1.3**	6.6±1.2**
	12	7.6±2.0**	8.8±1.5**	8.8±1.4**	7.3±1.1**
	24	6.1±1.5**	9.1±1.8**	7.3±2.2**	7.1±1.3**
MDL 74405 treated ($1\ mg\cdot kg^{-1}$, i.t.)	6	5.0±1.4^{-}	5.4±0.7^{++}	5.9±1.2^{*+}	5.6±1.5**
	12	6.4±1.0**	5.1±1.0^{++}	7.1±1.4^{**+}	6.5±1.9**
	24	4.9±1.3^{-}	6.2±0.7^{++}	5.2±1.6	5.3±1.5^{**-}
Vit E treated ($1\ mg\cdot kg^{-1}$, i.t.)	6	6.6±1.0$^{**\#}$	7.1±1.3$^{\#\#}$	7.4±1.5**	5.7±1.3**
	12	6.8±0.7**	7.3±0.6$^{**\#\#}$	7.5±0.6**	5.9±0.7^{**-}
	24	6.6±0.5**	7.3±0.9	7.2±0.5$^{**\#\#}$	5.6±0.5^{**+}

$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$ *vs* the normal control；$^{+}P<0.05$，$^{++}P<0.01$ *vs* the injured control；$^{\#}P<0.05$，$^{\#\#}P<0.01$ *vs* the MDL 74405 treated

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

表4 不同剂量MDL 74405和Vit E对致伤6 h后大鼠肺、肝、心和小肠MDA水平的影响

Tab 4 The effects of MDL 74405 and Vit E at different concentrations on the level of MDA in lungs, livers, hearts and intestina from inhalation injury rats after 6 hours (nmol/mg protein, $n=8$, $\bar{x}\pm s$)

Groups	Doses mg·kg^{-1}	Lungs	Livers	Hearts	Intestine
Normal control	—	4.4±1.2	5.3±1.8	4.1±1.1	3.0±0.9
Injured control	—	7.0±1.4**	8.1±2.1*	7.6±1.3**	6.6±1.2**
MDL 74405	0.2	6.4±0.9**	6.0±0.9+	6.9±0.9**	6.2±1.3**
	1.0	5.0±1.4	5.4±0.7++	5.9±1.2*+	5.6±1.5**
	5.0	4.1±0.2++	3.9±0.9++	5.2±1.4++	3.5±1.0+-
Vit E	0.2	6.8±0.9**	7.9±1.1*##	7.5±1.3**	6.7±1.5**
	1.0	6.6±1.0**#	7.1±1.3##	7.4±1.5**	5.7±1.3**
	5.0	5.5±0.7*+##	6.6±0.6##	7.0±1.5**#	5.0±0.9**+#

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ *vs* the normal control; + $P<0.05$, ++ $P<0.01$ *vs* the injured control; # $P<0.05$, ## $P<0.01$ *vs* the MDL 74405 treated

2.4 MDL 74405对致伤大鼠几种脏器SOD活性的影响

表5示大鼠致伤后，肺、肝、心及小肠组织SOD活性不同程度下降，以肺及心脏组织下降尤为明显；MDL 74405对肺、肝、小肠之SOD活性无明显影响，对心脏组织SOD活性略有升高作用(12 h点，$P<0.05$)；Vit E对各脏器SOD活性也无明显影响。

表5 MDL 74405对致伤大鼠肺、肝、心、小肠SOD活性的影响

Tab 5 The effects of MDL 74405 on the activity of SOD in lungs, livers, hearts and intestina from inhalation injury rats (u/mg protein, $n=8$, $\bar{x}\pm s$)

Groups	Time (h)	Lung	Liver	Heart	Intestine
Normal control		22.6±3.5	15.5±1.4	22.5±4.5	18.9±2.7
Injured control	6	15.9±2.7**	14.3±5.2	10.0±3.7**	17.2±4.7
	12	15.7±2.3**	14.9±2.2	12.6±3.3**	11.1±4.3**
	24	15.7±4.7**	12.2±3.8*	16.0±4.5	16.6±3.5
MDL 74405 treated (1 mg·kg^{-1}, i.t.)	6	17.2±2.0**	13.1±2.9	11.5±1.9**	16.9±5.8
	12	13.6±2.1**	13.8±1.5	17.2±3.5*+	12.2±1.4**
	24	15.5±5.1**	16.3±3.7	16.6±3.4*	19.3±3.2
Vit E treated (1 mg·kg^{-1}, i.t.)	6	18.8±4.7	16.0±2.3	13.3±2.1**	14.1±3.0**
	12	15.9±3.0**	14.9±1.2	12.3±1.3**##	15.9±3.2#
	24	16.0±1.8**	14.2±2.4	13.4±3.3**	16.6±3.0

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ *vs* the normal control; + $P<0.05$, ++ $P<0.01$ *vs* the injured control; # $P<0.05$, ## $P<0.01$ *vs* the MDL 74405 treated

2.5 MDL 74405对致伤大鼠气管及肺组织病理改变的影响

光镜下见，生理盐水对照组大鼠在烟雾吸入后，气管粘膜上皮脱落，管壁轻度及中度水肿，粘膜及粘膜下层大量炎症细胞浸润，部分动物管壁内可见到红细胞聚集及渗出物；肺组织可见明显充血和片状出血，肺泡间隔明显增宽，支气管周围及小血管周围大量炎症细胞浸润呈袖套状，部分肺泡腔内可见炎性渗出物。用MDL 74405治疗的大鼠上述病变明显减轻，Vit E治疗组，气管及肺组织病变也有一定程度减轻。

3 讨论

本研究观察到，大鼠在烟雾吸入致伤后，腹主动脉PaO_2明显下降，$PaCO_2$则明显增加；伤后24 h活杀动物行病理检查后见气管及肺组织有明显的充血、出血、渗

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

出及大量炎症细胞浸润，提示存在肺功能不全，与我们以前的研究结果一致[1]。在致伤后10 min，从气管内局部给予MDL 74405，可明显改善肺的呼吸功能，使PaO_2升高，$PaCO_2$下降，病理组织学检查示病变程度减轻，说明MDL 74405对于吸入伤的治疗有一定意义。

已知氧自由基可使细胞膜上不饱和脂肪酸氧化、细胞内酶失活及核酸断裂，造成组织细胞损伤[6]。MDL 74405是Vit E的胺类同系物，已证明为自由基清除剂。本实验观察到，大鼠被致伤后，血浆中MDA水平及其肺、肝、心、小肠等组织MDA水平均有不同程度升高，且上述几种组织中抗氧化酶SOD活性则有不同程度下降，说明氧自由基参与了烟雾吸入引起的损伤过程；此外，也说明吸入性损伤不仅仅局限于呼吸系统，也可使全身多个组织器官细胞功能发生改变。MDL 74405可明显抑制损伤引起的血浆和肺、肝、心、小肠MDA水平的升高，且以对心脏、肝脏和肺脏的作用尤为明显，提示MDL 74405减轻吸入性损伤的作用与其强大的直接清除氧自由基的作用有关，且这一作用似有心脏、肝脏及肺脏选择性，而与抗氧化酶SOD活性无关。

本研究还观察到，使用同等剂量的Vit E，虽也能部分减轻气管及肺组织损伤，使血浆及组织MDA水平下降，但较MDL 74405的作用弱，因此呼吸功能无明显改善。Klein等人的研究证明[7]，在体内急性注射Vit E并不能改善心肌缺血及再灌注引起的损伤，这可能与其高亲脂性导致Vit E缓慢掺入组织及细胞发挥作用有关，MDL 74405既保留了Vit E清除氧自由基的特性，又具有更强的亲水性[3]，这可能是MDL 74405治疗吸入伤效果优于Vit E的原因，关于MDL 74405治疗吸入伤的疗效，尚需在临床上进一步观察。

参考文献

1 Zhang M, Huang YH, Li XF. The effects of ginsenosides on smoke inhalation injury in rats. J Med Coll PLA (China), 1990, 5(2): 176～180

2 Bolkenius FN, Grisar JM, De Jong W. A water-soluble quaternary ammonium analog of alpha-tocopherol, that scavenges lipoperoxyl, superoxyl and hydroxyl radicals. Free Radic Res Commun, 1991, 14(5～6): 363～372

3 Petty MA, Grisar JM, De Jong W. Protective effects of alpha-tocopherol analogue against myocardial reperfusion injury in rats. Eur J Pharmacol, 1992, 210(1): 85～90

4 沈　乃. 超氧化物歧化酶测定. 见：徐叔云，等主编. 药理实验方法学. 第二版，北京：人民卫生出版社，1991：502～504

5 Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem, 1979, 95(2): 351～358

6 Del Maestro R, Thaw HH, Bjork J, et al. Free radicals as mediators of tissue injury. Acta Physiol Scand, 1980, 492 (Suppl): 43～57

7 Klein HH, Pich S, Lindert S, et al. Combined treatment with vitamins E and C in experimental myocardial infarction in pigs. Am Heart J, 1989, 118(4): 667～673

（收稿：1994-01-17；修回：1994-09-16）

Studies of the MDL 74405 effects on plasma and tissue MDA level after inhalation injury in rats

Zhang Min, Wei Bin, Lü Jinsheng, Zhang Lezhi (Department of Pharmacology, Third Military Medical College, Chongqing, 630038)

Abstract The therapeutic effects of an antioxidant, MDL 74405 ((S)-(-)-3,4-dihydro-6-hydroxy-N,N,N,2,5,7,8-heptamethyl-2H-1-benzopyran-2-ethanaminium), were observed in rats after severe smoke inhalation injury. It was found that MDL 74405 could reduce the level of malodialdehyde in the plasma, the lungs, the liver, the heart and the intestines of the injured rats significantly, alleviate the damages on the trachea, and the lungs and improve the respiratory function showing an increase of PaO_2 and a decrease of $PaCO_2$. The therapeutic effects of MDL 74405 on inhalation injury was more effective than those of vitamin E in the same dosage since the former is an antioxidant and is hydrophilic.

Key words vitamin E/AA; free radicals; malondialdehyde; burns, inhalation; rat

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