DOI:10.16016/j.1000-5404.1991.06.016

预防给药对大鼠硫化氢吸入中毒肺脂质过氧化和抗氧化系统的影响

胡贵方 欧阳子倩 余争平 （第三军医大学卫防系 毒理教研室） 630038

提 要 本文观察了DMAP、$NaNO_2$、VE、地塞米松、山莨菪碱对大鼠H_2S吸入中毒所致的肺脂质过氧化和天然抗氧化系统改变的预防作用。测定了H_2S中毒后6、12h肺组织及支气管肺泡灌洗液中的MDA，肺SOD，GSH和VE的含量。结果表明，给药组MDA含量显著低于中毒组，其中DMAP，VE和$NaNO_2$等组的MDA含量与正常无差异(但BALF中VE组，$NaNO_2$组含量高于正常对照水平，$P<0.01$)。各组SOD活性增强，GSH、VE的含量增加。上述结果提示这些药物均能在不同程度上降低H_2S中毒时肺自由基的含量。从而减轻因自由基含量升高而引起的肺损伤。提示DMAP，VE，$NaNO_2$，地塞米松，山莨菪碱等药对大鼠H_2S吸入中毒有预防作用，其中以DMAP，VE，$NaNO_2$的效果相对较好。

关键词 过氧化脂质类；抗氧剂；游离基类；硫化氢类/中毒；肺/损伤；亚硝酸钠；维生素E；地塞米松

硫化氢（H_2S）为剧毒气体，毒理作用除抑制细胞色素氧化酶外，并可直接引起肺损伤和肺水肿[1]。作为自由基损伤的方式之一，脂质过氧化作用在H_2S吸入中毒后显著增强，肺组织损伤程度与脂质过氧增强高度相关[2]。有研究证明对二甲氨基酚（DMAP），亚硝酸钠（$NaNO_2$），维生素E（VE），地塞米松，山莨菪碱对H_2S吸入有较好的预防作用。本文拟进一步观察上述药物对H_2S中毒所致的脂质过氧化作用和天然抗氧化系统损伤的预防效果。

1 材料与方法

1.1 动物及药品

健康Wistar大鼠78只由本校动物所提供。雌雄不拘，体重205±15g。按表1随机分组。DMAP盐酸盐为本室合成，纯度99%，用时配成5%注射液。其余药品均为市售针剂。

表1 实验设计

Tab. 1 Experiment design[a]

PEH[b] (h)	Control	Intoxicated[c]	Pretreated				
			DMAP	$NaNO_2$	Vit E	DEX	ANI
6	6	6	6	6	6	6	6
12	6	6	6	6	6	6	6

Note. a: Number of total rats = 78; b: Postexposure hour; c: H_2S conc and exposure time = 200ppm. 3h; DEX: Dexamethasone; ANI: Anisodamine

1.2 中毒模型的复制

分别按DMAP20mg/kg，$NaNO_2$25mg/kg，VE200mg/kg，地塞米松8 mg/kg，山莨菪碱8 mg/kg给大鼠肌注，20min后放入本室研制的MT3-84呼吸道动力装置中，中毒组也一并放入。在200ppm的H_2S中暴露3 h，取出分别于6、12h给腹主动脉放血活杀取肺。

1.3 检测指标及方法

根据文献[3]的方法收集大鼠支气管肺泡灌洗液（BALF）；制备10%的无血肺组织匀浆；过氧化脂质

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

分解产物丙二醛(MDA)按文献[4]的方法测定，四氮唑兰还原法测定超氧化物歧化酶（SOD）的活力[5]；用比色法[6]和荧光法[7]分别测定谷胱甘肽（GSH）和VE的含量。

1.4 统计处理

全部实验结果在Apple-Ⅱ型微机上用单、双因素方差分别及配对资料t检验进行显著性检验。

2 结 果

2.1 MDA含量的变化

中毒组MDA含量显著高于对照组。DMAP组MDA含量低于中毒组，与对照组相差不显著；$NaNO_2$组亦显著低于中毒组，肺组织及中毒后6 h的BALF中MDA含量与正常水平相似，VE组肺MDA含量维持在正常水平，BALF中MDA水平低于中毒组但高于对照组；地塞米松组MDA含量低于中毒组但高于对照组；山莨菪碱组仅BALF中MDA水平低于中毒组，肺组织中MDA含量仍停留于中毒组水平。各给药组之间以DMAP降MDA效果最好，山莨菪碱作用最差（图1、2）。

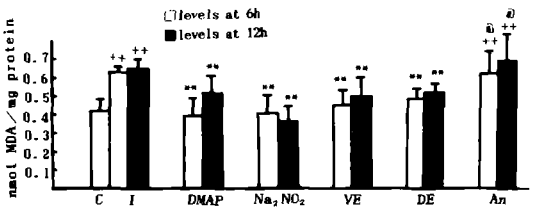


图1 药物对肺MDA含量的影响

Fig. 1 Effects of the drugs on lung MDA level

Results are expressed as $\bar{x}\pm s$, n=6. **, * $P<0.01$, 0.05, significantly different from intoxicated group (I); ++, +: $P<0.01$, 0.05, significantly differentfrom contol group; a $P<0.05$ significantly diffeent fromr other pretreated groups. Symbolsin Fig.2, 3, 4, 5 are defined as in Fig. 1.

2.2 肺VE的变化

中毒组VE含量显著低于对照组，各给药组均显著高于中毒组低于对照组（图3）。

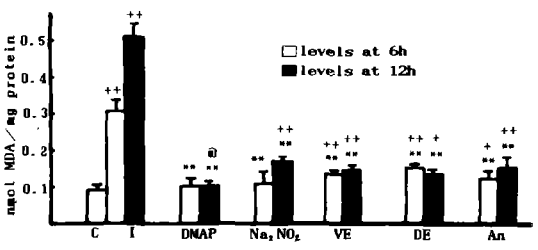


图2 药物对BALF中MDA含量的影响

Fig. 2 Effect of the drugs on BALF MDA level

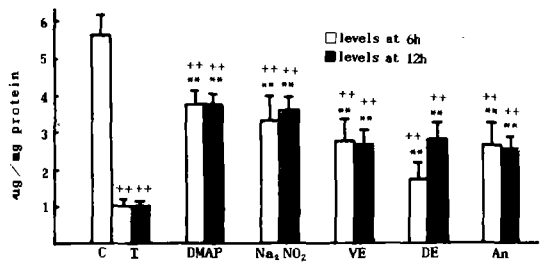


图3 药物对肺VE含量的影响

Fig. 3 Effects of the drugs on lung VE level

2.3 肺SOD的变化

DMAP组和$NaNO_2$组12h，VE组SOD明显高于正常。地塞米松、山莨菪碱组仅于中毒后12h高于中毒组。各给药组以VE组升SOD作用最强，地塞米松。山莨菪碱相对较弱（图4）。

2.4 肺GSH的变化（图5）。

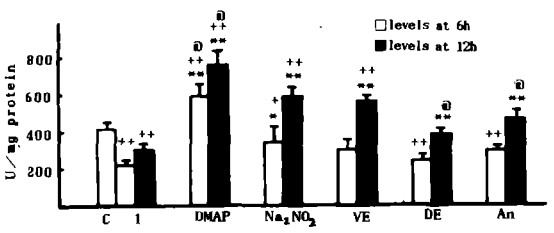


图4 药物对肺SOD含量的影响

Fig. 4 Effects of the drugs on lung SOD level

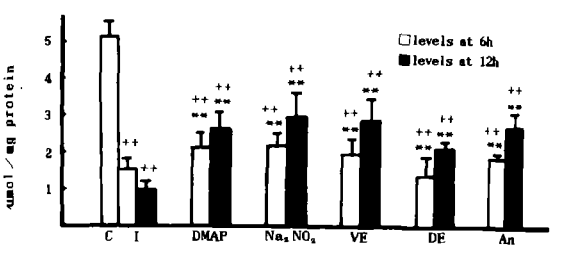


图5 药物对肺GSH含量的影响

Fig. 5 Effects of the drugs on lung GSH level

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

3 讨 论

在机体抗氧化系统中，SOD能特异性清除氧自由基，GSH-px可通过氧化GSH而使H_2O_2和其它一些有机过氧化物解毒[8]。本实验结果表明，在未给预防药的情形下，H_2S中毒可使大鼠肺组织及BALF中MDA升高，肺组织SOD活力、VE含量、GSH含量下降。这与文献[2]报道相一致。

已有报道[1][2]，H_2S中毒的机理是抑制细胞色素氧化酶，并直接损伤肺，其损伤程度与脂质过氧化程度高度相关，DMAP，$NaNO_2$，VE，地塞米松，山莨菪碱对H_2S中毒有预防作用。本实验结果表明上述药物能降低H_2S中毒时MDA含量，使SOD活力增强，VE和GSH含量增加。提示使用上述药物可使H_2S中毒时自由基产生减少和/或清除能力增强，肺损伤因而减轻。使机体在H_2S中毒时脂质过氧化程度减轻以及保护抗氧化系统活性可能是这些药物的预防作用机制之一。

正常情况下，由于体内含有天然的抗氧化物（如SOD等）和自由基清除剂（VE等），故能维持体内自由基产生与清除两种机能的动态平衡。当氧中毒，缺氧或其它病理因素导致机体防御机能低下时，这种平衡就会打破，导致自由基产生过度，活性较强的氧自由基与所接触的非自由基分子形成另一自由基分子，呈链式蔓延，导致细胞和组织损害[9][10]。本实验结果提示DMAP等5种药物可能通过维持体内自由基产生与清除动态平衡而减轻H_2S中毒性肺损伤。DMAP，$NaNO_2$能阻止H_2S与细胞色素氧化酶结合，提高H_2S中毒时细胞用氧能力，从而使由于氧利用障碍而致自由基产生增加的因素得以削弱；DMAP组，$NaNO_2$组的VE含量，GSH含量，SOD活性高于中毒组，说明这两种药物能减轻H_2S对机体抗氧化系统的损害，抗氧化系统仍有清除自由基的能力，因而它们能使H_2S中毒时大鼠肺MDA含量维持在正常水平。

VE作为一种自由基清剂，本实验亦证明它确能增强大鼠机体对自由基的清除能力。地塞米松能稳定生物膜，尤其是溶酶体膜；减少渗出，改善肺水肿。自由基能破坏生物膜的完整性和流动性，而生物膜的完整性一旦遭受破坏又会加剧自由基的产生，呈恶性链式反应[9]。地塞米松降低H_2S中毒时MDA的含量，其主要原因可能是保护生物膜的完整性。山莨菪碱能解除支气管平滑肌和微血管痉挛，从而改善肺通气和微循环，减轻肺水肿，使机体缺氧状况改善。因细胞外环境缺氧所致的自由基产生增多和脂质过氧化损害也从而减轻，这可能就是BALF中MDA含量降低的原因。由于H_2S中毒主要是细胞利用氧能力下降，而山莨菪碱并不能提高细胞利用氧的能力，因而给予山莨菪碱肺MDA并未见下降。

综上所述，DMAP，$NaNO_2$，VE，地塞米松，山莨菪碱等均能不同程度降低H_2S中毒时脂质过氧化程度和/或减轻H_2S对机体抗氧化系统的抑制，而使中毒性肺损伤得以减轻而起预防作用。其可能的预防机制如下：提高细胞在H_2S中毒时利用氧的能力；作为一种自由基清除剂；保护生物膜尤其是溶酶体膜的完整性；减轻肺水肿，改善微循环，保证细胞外环境供氧。

参 考 文 献

1. 欧阳子倩 喻 凯 余争平。H_2S吸入对肺的损伤作用。第三军医大学学报 1991；13(8)：226～230
2. 朱俊仪 刘 勇 欧阳子倩。自由基机制在H_2S中毒性肺损伤中的作用。第三军医大学学报 1991；13(2)：156～160

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

3. Lopez A, Prior M. Biochemical and Cytologic Alterations in the Respiratory Tract of Rats Exposed for 4 hours to Hydrogen Sulfide. Fundam Appl Toxicol 1987; 9: 753～762
4. 钟福孙。硫代巴比妥酸比色法测定血清过氧化脂质。临床检验杂志 1986; 4(3):129
5. 李益新。超氧化物歧化酶活力测定的新方法——化学发光法。生物物理生物化学进展1983; (2):59
6. 张嘉麟。血液中谷胱甘肽过氧化物酶活力微量测定。中华医学检验杂志 1985; 8(4):199
7. 侯少范 朱振源。生物材料中生育酚的荧光测定法。分析化学 1986; 10(9):305
8. Hafeman DG. Effect of dietary selenium on erythrocyte and liver glutathione peroxidase in the rat. J Nutr 1974; 104(5):280
9. Ferrari R, Ceconi C. Oxygen Free Radicals and Reperfusion Injury: The Effect of Ischaemia and Reperfusion on the Cellular Ability to Neuralise Oxygen Toxicity. J Mol Cell Cardiol 1986; 18(Suppl. 4):67
10. Murphy ME, Kehrer JP. Free Radicals:A Potential Pathogenic Mechanism in Inherited Muscular Dysrophy. Life Sci 1986; 39(24):2271

(收稿: 1991-05-16; 修回: 1991-09-10)

The effects of drug prevention on pulmonary lipid peroxidation and oxidation protectant system after H_2S inhalation in rats

Hu Guifang, OuYang Ziqian, Yu Zhengping (Department of Toxicology, Third Military Medical College, Chongqing, 630038)

Abstract The preventive effects of some drugs on pulmonary lipid peroxidation and inborn oxidation protectant system in the lungs were observed in rats after the animals were exposed to 200 ppm of hydrogen sulfide (H_2S) for 3 hours. Malondialdehyde (MDA) level of the lungs and bronchoalveolar lavage fluid (BALF), superoxide dismutase (SOD) activity, glutathione (GSH) and vitamin E (VE) levels of the lungs were determined in the 6th and 12th hour after H_2S inhalation. It was found that a significant increase of MDA level of both the lungs and BALF and a significant decrease of SOD activity and GSH and VE level occured after a single exposure to 200 ppm of H_2S inhalation. On the contrany, the MAD level of every group of which the animals had been medicated for prevention was lower than that of the intoxicated groups. Among the premedicated groups, the MDA level of 4-dimethylaminophenol (DMAP) group, VE group, and $NaNO_2$ group was not different from that of the normal except that the MDA level in BALF was higher in VE and $NaNO_2$ group than in the control. In every premedicated groups, SOD activity was increased and GSH and VE levels were elevated.

These facts suggest that DMAP, $NaNO_2$, VE, dexamethasone and anisodamine all could reduce the MDA level and elevate the capacity of the oxidation protectant system of the lungs after H_2S inhalation. It is concluded that there are drugs to protect victims from H_2O intoxication while DMAP, $NaNO_2$ and VE are relatively more potent among the drugs used in this study.

Key words lipid peroxides; antioxidants; free radicals; hydrogen sulfide/PO; lung/IN; sodium nitrite; vitamin E; dexamethasone

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