DOI:10.16016/j.1000-5404.1989.03.007

人参总皂甙对大鼠烟雾吸入性肺损伤的疗效与其抗氧化作用的关系

张 敏 黄铖华 李新芳（药理学教研室）

提 要 本实验采用大鼠烟雾吸入性肺损伤模型，观察了致伤后立即腹腔注射人参总皂甙(GS)对该损伤的作用。发现GS可明显减轻烟雾吸入所致PMVP增加，减少BALF中WBC计数和蛋白含量，使肺内WBC浸润，肺水肿，肺充血、出血等病变减轻。GS还可抑制致伤大鼠肺和血清MDA的升高，使已降低了的肺SOD活性恢复至正常水平以上。体外实验也发现，GS可有效地抑制肺匀浆过氧化脂质生成和清除O_2^-、$OH\cdot$。提示GS的治疗效果与其抗氧化作用有关。

关键词 人参；肺；烧伤，吸入性；超氧化酶；丙二醛

吸入性肺损伤的死亡率目前仍然很高，其病理变化主要表现为肺微血管通透性（PMVP）增加，肺水肿形成，进而导致呼吸衰竭，死亡。在这种肺水肿的形成过程中，除补体激活以及组织胺和TXA_2等增加外，还可能与自由基反应有关[1]。因此，应用抗氧化剂有可能是治疗吸入性肺损伤的途径之一。

人参是五加科人参属植物(Panax ginsen G.A Meyer)，人参总皂甙(ginsenosides, GS)是人参的有效成分。我们曾用GS治疗家兔烟雾吸入性肺损伤，有明显疗效，本实验再用GS治疗大鼠烟雾吸入性肺损伤，旨在进一步确定GS的疗效，并观察GS的抗氧化作用与减轻吸入性肺损伤的关系。

材料与方法

1．整体实验动物和分组

Wistar系大白鼠，体重200～250g，雌雄兼用。将实验动物分成盐水对照组，GS对照组（60mg/kg），致伤1、2、6h组，致伤加中剂量GS 1、2、6 h组（60mg/kg），致伤加小剂量GS 2h组(30mg/kg)和大剂量GS2h组(120mg/kg)，各组均为8只大鼠。

2．药品与试剂

人参总皂甙粉剂（重庆桐君阁药厂提供），四乙氧基丙烷（瑞典Fluka公司），黄嘌呤氧化酶、鲁米诺（Luminol）为Sigma产品，超氧化物歧化酶（SOD，上海生物化学研究所）。

3．仪器

MPF－4型荧光分光光度计（日立），FJ－2101G型双道液体闪烁计数器（西安262厂）。

4．烟雾吸入性肺损伤模型制备

采用本校烧伤中心的模型稍作改变。将清醒大鼠放在烟雾温度为58±2°C的烟箱中自动呼吸2min后，间歇了3 min，再重复2次，共吸烟6 min。分别于伤后立即腹腔注射生理盐水（1 ml/kg）或GS（30mg、60mg、120mg/kg），伤后1、2、6h取样。盐水对照组和GS对照组给予盐水或GS（60mg/kg）6h后取样。

5．整体实验的测定指标及方法

（1）PMVP的测定——动物于致伤前30min，由尾静脉注入伊文思蓝（20mg/kg），分别于致伤后1、2、6h处死动物，取肺组织，按伊文思蓝荧光法[2]测定并计算每100mg肺组织中伊文思蓝含量，由此表示PMVP的大小。（2）丙二醛（MDA）的测定——肺MDA的测定采用Buege等的TBA比色法[3]，血清MDA则根据Yagi的TBA荧光法[4]。（3）肺SOD活性的测定——用0.1mol PBS缓冲液（pH7.8）制备10%肺匀浆，取50μl，加上述缓冲液0.95ml，无水乙醇0.5ml和氯仿0.25ml，剧烈振荡1 min，18000×g离心60min，取上清，依据李益新等的方法[5]用液闪仪测定SOD的活性。（4）支气管肺泡灌洗液（BALF）中WBC计数和蛋白定量——用10ml生理盐水分两次灌洗支气管和肺泡腔，灌洗液作WBC计数，并用Lowry法测定蛋白含量。(5)肺组织病理检查——取右肺下叶，按光镜常规处置标本并观察其病理变化。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

6．离体实验的测定指标及方法

（1）肺匀浆过氧化脂质生成的测定——用4 °C生理盐水制备5 %肺匀浆，按Riely法[6]进行。（2）GS对超氧阴离子自由基（O_2^-）的清除作用——根据Ponti等的方法[7]，仅将显色反应时间延长为30min。（3）GS对羟自由基（OH·）的清除作用——参照 Shelley 等的方法[8]，改用冰浴终止反应代替用三氯醋酸终止反应。

7．统计分析

将各组数据用电子计算机进行单因素、多因素方差分析和线性回归处理，结果用平均数±标准差（$\bar{X}\pm SD$）表示。

结　果

一、GS对烟雾吸入伤大鼠PMVP的影响

动物致伤后，PMVP明显增加，给予中剂量GS可减少PMVP的增加，其作用在给药后2h明显，维持6h仍有显著效果（见图1）。并且，GS的作用呈剂量依赖性增强（见图2）。

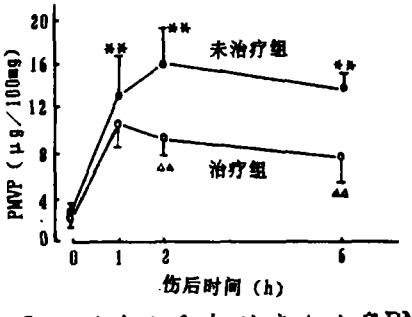


图1　治疗组和未治疗组大鼠PMVP变化的时效曲线

**P<0.01（与伤前值比）△△P<0.01（治疗组与未治疗组比）

二、GS对烟雾吸入伤大鼠肺及血清MDA的影响

肺MDA在伤后1h就开始明显升高，2h达高峰，6h仍保持高水平，中剂量GS可明显抑制伤后2h、6h肺MDA的升高（见图3），其效应也呈剂量依赖性增强（见图4）。

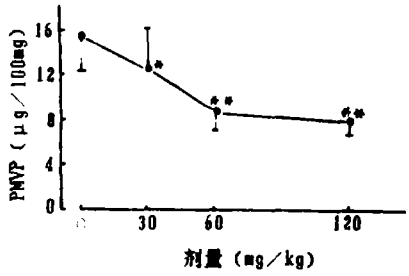


图2　GS抑制大鼠烟雾吸入后2h PMVP增加的量效曲线

*P<0.05，**P<0.01

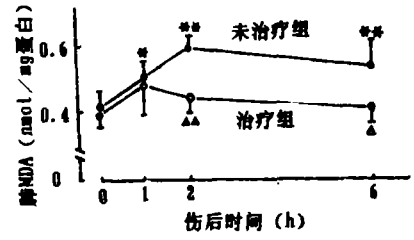


图3　治疗组和未治疗组肺MDA变化的时效曲线

*P<0.05，**P<0.01（与伤前值比）

△P<0.05，△△P<0.01（治疗组与未治疗组比）

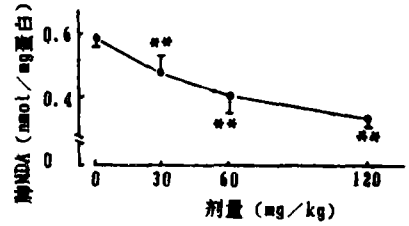


图4　GS抑制大鼠烟雾吸入后2h肺MDA增加的量效曲线

**P<0.01

血清MDA水平在伤后2 h才略为升高，6 h显著升高（见表1）。中剂量GS可明显抑制伤后6 h血清MDA的升高（见表2）。

三、GS对致伤大鼠肺SOD活性的影响

肺SOD活性在伤后降低，2 h降至最低水平，

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

6 h仍未恢复至正常（见表1）。中剂量GS可使伤后6 h的大鼠肺SOD活性明显升高，比致伤对照组增加了66.8%，比正常对照组增加28.4%。但GS对未致伤大鼠肺SOD活性则是降低（见表2）。

表1　大鼠伤前和伤后血清MDA、肺SOD活性以及BALF中白细胞计数、蛋白含量变化

	未致伤组	致伤组		
	n=8	1 h n=8	2 h n=8	6 h n=8
血清MDA(nmol/ml)	5.81±0.48	5.79±0.47	6.06±0.35	7.40±0.90**
肺SOD(u/mg蛋白)	380.2±78.5	342.6±142.9	271.0±63.6*	292.8±81.8*
WBC(×10⁻⁶/ml)	5.01±0.96	9.32±1.35**	11.11±2.29**	10.38±1.81**
PMNs(%)	(1)	(10)	(20)	(15)
蛋白(mg/ml)	0.194±0.012	0.268±0.044**	0.586±0.058**	0.534±0.124**

*P<0.05，**P<0.01（与未致伤组比）

表2　GS对正常和伤后6 h大鼠血清MDA、肺SOD、BALF中白细胞计数、蛋白含量的影响

	治疗		未治疗	
	未致伤 n=8	致伤 n=8	正常对照 n=8	致伤 n=8
血清MDA(nmol/ml)	5.76±0.48	6.22±0.41**	5.81±0.48	7.40±0.90**
肺SOD(u/mg蛋白)	279.0±48.4△	488.3±146.4**	380.2±78.5	292.8±81.8*
WBC(×10⁻⁶/ml)	5.00±1.51	7.83±1.22**	5.01±0.96	10.38±1.81**
蛋白(mg/ml)	0.206±0.018	0.361±0.066**	0.194±0.012	0.534±0.124**

*P<0.05，**P<0.01（与正常对照组比），**P<0.01（GS治疗组与致伤未治疗对照组比），△P<0.05（正常对照组与GS处理，未致伤组比）。

四、GS对致伤大鼠BALF中WBC计数和蛋白含量的影响

BALF中WBC计数伤后明显增加，其中中性多形核粒细胞（PMNs）比例也增加（见表1），中剂量GS可明显抑制伤后6 hBALF中WBC计数的增加（见表2）。此外，BALF中蛋白含量也在伤后明显增加（见表1），中剂量GS可明显抑制伤后6 hBALF中蛋白含量的增加（见表2）。

五、GS对致伤大鼠早期肺部病理改变的影响

大体标本可见，伤后2 h肺部呈现弥漫性出血点，肺充血，气管和支气管内有大量粘液和脓性物质。光镜下见伤后2 h，肺充血、出血，间质和肺泡内轻度到中度水肿，间质内大量WBC浸润。中剂量GS可明显减轻伤后2 h的上述变化（见图5）。

六、GS对正常大鼠肺匀浆过氧化脂质生成的影响

温育前肺匀浆MDA水平很低（14nmol/g肺湿重），温育1h后增加到68nmol/g肺湿重（P<0.01）。GS在终浓度为40.3～323μg/ml范围，可抑制肺匀浆过氧化脂质的生成，并且其抑制效应随剂量增大加强，抑制率为20.4～72.2%。

七、GS对O_2^-的清除作用

GS在终浓度为0.33～333.3μg/ml范围，清除效应随浓度增大而增大，其Ic50值为17.1μg/ml。

八、GS对OH·的清除作用

GS在终浓度为10～300μg/ml范围，其清除效

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

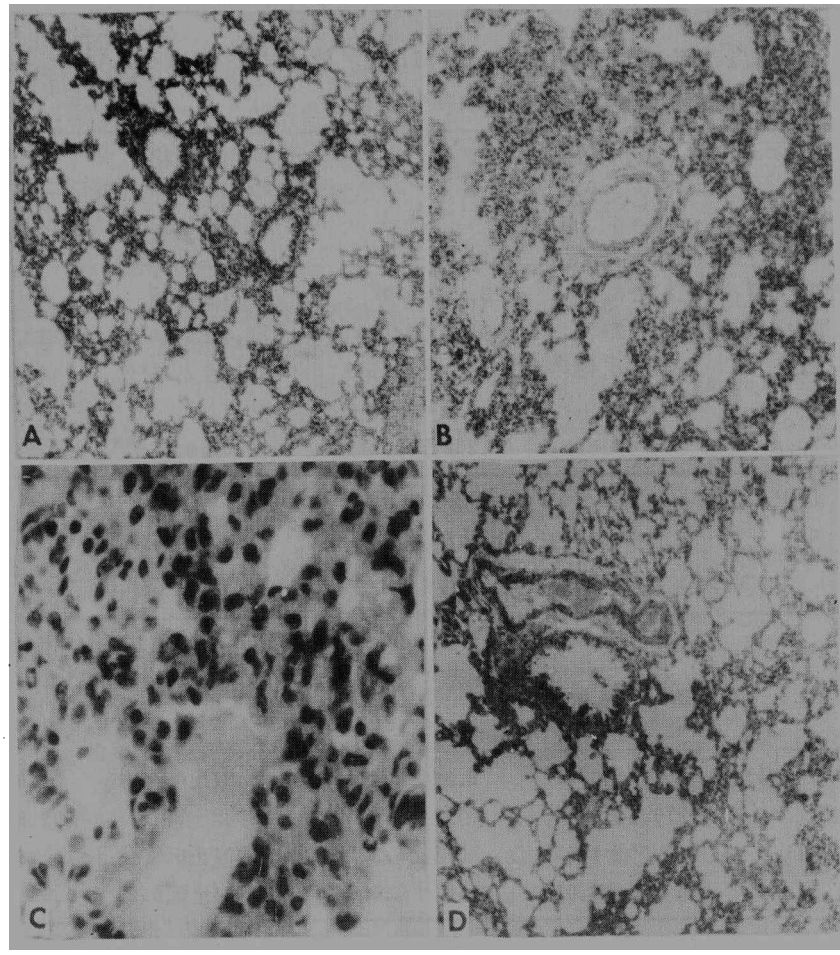


图 5　GS对致伤大鼠肺组织病理改变的影响

A. 正常肺组织，HE×100；　B. 伤后2 h，肺充血、出血、水肿，HE×100；　C. 伤后2 h，肺泡腔内水肿液形成，间质和肺泡内WBC浸润，HE×400；　D. 给予GS（60mg/kg）2 h后，肺充血、出血、水肿，WBC浸润减轻，HE×100

应随浓度增大而增大，其Ic50值为120.2μg/ml，而已知的OH·清除剂苯甲酸钠的Ic50值为723.9μg/ml。

讨　论

引起吸入性肺损伤的主要因素是热损伤和化学性损伤，而烟雾吸入性肺损伤又是化学性损伤中最常见的原因。关于吸入性肺损伤的治疗，迄今尚无特别有效的药物。本实验证实GS可明显减轻伤后早期PMVP的增加，减少BALF中WBC和蛋白含量，病理检查肺水肿等病变减轻，表明GS对烟雾吸入性肺损伤有治疗作用。

据报道[9]，自由基可直接损伤血管内皮细胞，降解胶原和透明质酸，影响微血管完整性。本实验发现，致伤动物PMVP增加和肺水肿形成的同时，肺和血清MDA水平也平行增加，且肺MDA的峰值在血清MDA升高峰值之前，提示肺是原发部位，血清MDA增加可能继发于肺。由于MDA是未饱和脂肪酸受自由基攻击而生成的脂质过氧化产物之一，其含量的多少反映了体内脂质过氧化的水平，脂质过氧化的结果可导致生物膜结

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

构和功能改变。因此，上述结果提示，致伤动物PMVP增加和肺水肿形成除因热损伤和吸入烟雾中化学物质如丙烯醛等造成的直接损害外，还与自由基引起的肺脂质过氧化密切相关。GS在减轻肺部病变的同时，可使肺及血清MDA水平降低；体外实验也证实GS确有抑制肺过氧化脂质生成的作用，同时还具有直接清除O_2^-、OH·的作用，提示GS减轻肺损伤、肺水肿的作用与抑制肺脂质过氧化有关，而肺及血清MDA水平降低又与GS直接清除O_2^-、OH·有关。

此外，体内存在着强大的抗氧化系统，SOD即为抗氧化酶中的一种。本实验观察到烟雾吸入后，大鼠肺SOD活性下降，GS可逆转这种SOD活性降低，提示GS提高体内抗氧化酶活性也是其抑制肺脂质过氧化，减轻肺损伤的途径之一。但是，GS对正常动物肺SOD活性则是降低，其机理有待进一步研究。

参考文献

1. 赵琢道，等。山羊烟雾吸入性损伤后早期肺损伤与活性氧的关系。烧伤整形专辑，第三军医大学，1986:169～185
2. Saria A, et al. Evens blue fluorescence quantitative and morphological evaluation of vascular permeability in animal tissues. J Neurosic Methods 1983; 8:41
3. Buege JA, et al. Microsomal lipid peroxidation Method in enzymology 1978; 52:302
4. Yagi K. A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. Biochem Med 1976; 15:212
5. 李益新，等。超氧化物歧化酶活力测定的新方法——化学发光法。生物化学与生物物理进展 1983; 1:59
6. Riely CA, et al. Ethane evolution: new index of lipid peroxidation. Science 1974; 183:208
7. Ponti V, et al. Studies on the reduction of nitroblue tetrazolium chloride mediated through the action of NADH and phenazine methosulphate. Chem-Biol interact 1978; 23:281
8. Shelley MK, et al. Production of formaldehyde during metabolism of dimethyl sulfoxide by hydroxyl radical generating systems. Biochemistry 1981; 20:6006
9. Del maestro RF, et al. Free radicals as mediators of tissues injury. Acta Physiol Scand 1980; 492(Suppl):43

(收稿：1988.4.19；修回：1989.2.14)

The Relationship between the Antioxidation of Ginsenoside and Effects on Smoke Inhalation Injury in Rats

Zhang Min, et al. (Department of Pharmacology, Third Military Medical College)

The smoke inhalation injury of lung of rats model is used to investigate the effects of ginsenosides(GS). GS alleviates the pulmonary microvascular permeability (PMVP), reduces the protein and leukocytes(WBC) in bronchoalveoli lavage fluid(BALF)in the inhalation injuried rats. Vascular WBC accumulation, interstitial WBC infiltration, interstitial and intra-alveolar edema, hemorrhage and vascular congestion by histopathological examination are reduced distinctly by GS. GS also inhibits the elevation of malondialdehyde (MDA) in lung and serum and revers the increased activity of superoxide dismutase in lung after smoke inhalation. The experiments in vitro also show the inhibition of lipid peroxida-

(下转192页)

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

diazepam increases the effect of AA, picrotoxin and isoniazid reduce it and antagonize the analgesia effect of ACTH; diazepam increases the content of 5-HT in hipocampus, hypothalamus and midbrain; diazepam + ACTH increases, more than ACTH or diazepam singly, the level of5-HT in the 3 brain regions; picrotoxin and isoniazid reverse the effect of diazepam and ACTH on the content of 5-HT in the 3 brainsites; potentiation of diazepam on AA is antagonized by naloxone and atropine.

Key Words: Diazepam/PD; Drug combination; ACTH/PP; Serotonin; γ-aminobutyric acid; Picrotoxin; Isoniazid; Spectrometry, fluorescence;

(上接187页)

tion of lung homogenate, and scavenging of superoxide anion and hydroxyl radical effectively in proper doses. These results imply a close relationship between the efficacy of GS treatment for lung inhalation injury and its antioxidation.

Key Words: Ginseng/ZY; Lung/IN; Burns, inhalation/ES; Superoxide dismutase; Malondialdehyde

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net