

WR-2721 药对放烧复合伤预防效应的实验观察

施 炎 郭朝华 王志文 周燕虹 罗成基

(第三军医大学复合伤研究所 重庆 400038)

摘要 研究 WR-2721(氨基硫醇类药)对放烧复合伤的预防效果及其对造血功能的保护作用。结果证明:WR-2721 能明显提高放烧小鼠的活存率,并延长死亡动物的活存时间。用 WR-2721 预防后,放烧小鼠的 LD₅₀ 由对照组的 5.19Gy 增大到 9.53Gy, DRF 为 1.84。WR-2721 对放烧小鼠的预防作用以 200mg/kg 照射前立即给药效果最好。放烧小鼠用 WR-2721 预防后,与对照组相比,外周血白细胞数和骨髓有核细胞数下降幅度少,恢复快,骨髓粒单系祖细胞伤后第 1d 和 7d 及骨髓造血干细胞伤后第 7d 和 14d 明显高于对照组。说明,WR-2721 对放烧小鼠的预防作用,至少部分是通过保护造血功能而实现的。

关键词 氨基硫醇类药(WR-2721),放烧复合伤,造血功能

WR-2721 是氨基硫醇类辐射防护药中效果较好的一种,防护效价高,对多种哺乳动物都有抗辐射作用。放射损伤复合烧伤是核爆炸及核事故时发生的主要伤类之一,发生多、伤类复杂、伤情严重、救治困难。本文研究 WR-2721 对放烧复合伤的预防效果,与单纯放射损伤做对比观察,并研究 WR-2721 对放烧复合伤造血功能的影响。

1 材 料 和 方 法

1.1 实验动物

昆明种雄性小鼠 3502 只,体重 20~24 g,由第三军医大学实验动物中心提供。

1.2 致伤条件

1.2.1 照射 小鼠装在弧形有机玻璃盒内,以⁶⁰Co γ 射线一次全身照射。距离 150cm,照射剂量除不同伤情实验用 3~11Gy 外,其余均用 8Gy,剂量率 46.75~26.82cGy/min。

1.2.2 烧伤 以公式 $S(\text{cm}^2)=9.13\times\sqrt[3]{g^2}$ (体重) 计算小鼠体表面积,于背部剪毛区涂 3%凝固汽油,燃烧 7s,致 15%Ⅲ度烧伤(取不同点皮肤作病理切片证实)。放烧鼠于伤后当天及第 1d 腹腔注生理盐水 1ml。

1.3 分组

活存率影响实验,分为放烧复合伤给药组和对照组;单纯放射损伤给药组和对照组。造血功能影响实验,分正常组、预防组和对照组。

1.4 抗放药

WR-2721 由北京军事医学科学院放射医学研究所提供。WR-2721 用生理盐水溶解,根据小鼠

“八五”基金军队指令性课题
收稿日期:初稿 1997-09-08,修回 1998-03-02

体重按注射 0.5ml 含量 200mg/kg 配制成不同浓度(不同剂量 WR-2721 的预防作用除外)。给药时间:除观察不同给药时间影响实验外,均于照前 30min 腹腔注射。给药剂量:除观察不同给药剂量影响实验外,其它均按体重 200mg/kg 给药。

1.5 观察指标

伤后 30d 活存率;死亡动物平活日(平均活存天数);保护系数 K(K=给药组小鼠 30d 平活日数与对照组小鼠 30d 平活日数之比);剂量减低系数 DRF;采用加权概率单位法测定 LD50/30 计算 DRF 值。伤后第 1、7 和 14d 外周血白细胞数、骨髓有核细胞数、CFU-S(外源法)和 CFU-GM。(各时相点动物数不少于 5 只)。差异的显著性:计量资料用 t 检验;计数资料用 χ^2 检验。

2 实验结果

2.1 对活存率的影响

2.1.1 活存率和平活日 WR-2721 预防组与对照组相比,非常显著地提高了活存率,并明显延长了死亡动物的活存时间(见表 1)。

Tab.1 Effect of pretreatment with agent WR-2721 on survival rate in mice

Group	Total number	30d survivors/%	Increased survival rate/%	Survival days of died mice	Protection factor
Radiation-burn					
Pretreatment	274	84.31 ⁽¹⁾	75.35	10.53±5.60	2.289
Control	279	8.96		9.98±4.43	
Radiation alone					
Pretreatment	269	88.48 ⁽¹⁾	70.85	10.65±4.99	2.116
Control	278	17.63		9.52±3.66	

⁽¹⁾p<0.01 Compared with control

2.1.2 不同伤情小鼠的预防作用 放烧组和单放组以 3~11Gy 照射,经加权概率单位法计算 LD50。放烧预防组为 9.53±0.57Gy,放烧对照组为 5.19±0.56Gy。DRF 为 1.84;单放预防组为 10.3±0.46Gy,单放对照组为 5.75±0.22Gy。DRF 为 1.80。放烧和单放两组均以 8Gy 照后防护效果最好(见表 2)。

2.1.3 不同剂量 WR-2721 的预防作用 放烧组和单放组分别给予 500~100mg/kg,其活存率均显著高于对照组。其中放烧组以 200mg/kg、单放组以 300mg/kg 防护效果最好(见表 3)。

2.1.4 不同时间给予 WR-2721 的预防作用 放烧组和单放组照射前 2h 以内给药,其防护效果均显著高于对照组,尤其照前立即给药效果为最好。照射后给药均无防护作用(见表 4)。

2.2 对造血功能的影响

2.2.1 外周血白细胞计数 预防组与对照组相比,下降幅度少,恢复快,差别非常显著(见表 5)。

2.2.2 骨髓有核细胞计数 对照组伤后急骤下降。预防组虽下降,但仍保持较高水平。伤后第 14d 已接近正常值。两组相比,伤后第 1 和 7d 差别非常显著(见表 6)。

Tab.2 Protective effects of agent WR-2721 on mice with different severity of injury

Irradiation dose/Gy	30d survivors			Survival days of died mice		Protection factor
	Pretreatment control	Increased survival rate/%	Pretreatment	Control		
Radiation+burn						
3	39	35	10.0	7.1±1.5	9.0±5.2	1.075
5	38	26	30.0 ⁽²⁾	14.0±4.3	11.1±6.3	1.248
7	37	10	67.5 ⁽²⁾	7.3±1.5	9.7±4.9	1.912
8	35	4	77.5 ⁽²⁾	11.8±7.1	8.4±4.5	2.634
9	22	1	52.5 ⁽²⁾	6.9±4.7	6.8±3.8	2.658
11	9	0	22.5 ⁽²⁾	7.3±4.9	5.3±2.9	2.353
Radiation alone						
3	38	29	22.5 ⁽¹⁾	10.5±0.7	10.0±4.2	1.185
5	37	21	40.0 ⁽²⁾	7.7±2.5	9.1±4.1	1.413
7	37	18	47.5 ⁽²⁾	9.7±2.5	9.0±2.8	1.545
8	36	9	67.5 ⁽²⁾	10.3±7.1	8.4±4.3	2.115
9	31	7	60.0 ⁽²⁾	9.8±5.1	6.6±4.4	2.228
11	14	2	30.0 ⁽²⁾	6.2±4.2	5.6±3.3	2.152

each group contained 40 mice, ⁽¹⁾ $p < 0.05$, ⁽²⁾ $p < 0.01$ compared with control respectively

Tab.3 Effects of different doses of agent WR-2721 on survival rate in mice

Dose /mg kg ⁻¹	Total number	30d survivor			Survival days of died mice	Protection factor
		Number	Rate/%	Increased survival rate/%		
Radiation+burn						
500	60	18	30.00	21.67	5.10±6.02	1.176
400	60	27	45.00 ⁽¹⁾	36.67	6.85±6.08	1.615
300	60	42	70.00 ⁽¹⁾	61.67	8.78±6.14	2.212
200	60	51	85.00 ⁽¹⁾	76.67	11.78±5.91	2.552
100	60	38	63.00 ⁽¹⁾	54.67	1.36±4.90	2.169
Control	60	5	8.33		8.93±4.74	
Radiation alone						
500	60	46	76.67 ⁽¹⁾⁽²⁾	58.34	3.36±5.03	1.757
400	60	51	85.00 ⁽¹⁾⁽²⁾	66.67	5.66±5.92	1.947
300	60	58	96.67 ⁽¹⁾⁽²⁾	78.34	8.50±3.54	2.164
200	60	55	91.67 ⁽¹⁾	73.34	10.80±5.40	2.099
100	60	44	73.33 ⁽¹⁾	55.00	12.31±4.30	1.868
Control	60	11	18.33		9.84±3.45	

⁽¹⁾ $p < 0.01$ compared with control ⁽²⁾ $p < 0.01$ compared with the same dose radiation-burn

Tab.4 Effect of different treatment time of agent WR-2721 on survival rate in mice

Treatment time	Total number	30d survivor rate			Survival	Protection
		Survivor	Survival rate	Increased survival rate	days of dired mice	factor (K)
Radiation+burn						
-4h	61	16	26.23 ⁽¹⁾	16.64	9.04±3.32 ⁽¹⁾	1.448
-2h	60	29	48.33 ⁽²⁾	38.74	10.13±3.83 ⁽²⁾	1.965
-1h	59	35	59.32 ⁽²⁾	49.73	9.71±3.16 ⁽¹⁾	2.166
-0.5h	55	48	87.47 ⁽²⁾	77.68	13.29±4.86 ⁽²⁾	2.776
0h	57	51	89.47 ⁽²⁾	79.88	15.00±3.35 ⁽²⁾	3.093
+0.5h	64	8	12.50	2.91	10.41±3.53 ⁽²⁾	1.281
Control	73	7	9.59		7.92±3.82	
Radiation alone						
-4h	59	18	30.51	13.05	9.95±4.13	1.270
-2h	62	49	79.03 ⁽²⁾⁽³⁾	61.57	13.54±5.52 ⁽²⁾	2.099
-1h	61	53	86.89 ⁽²⁾⁽³⁾	69.43	14.88±6.83 ⁽²⁾	2.215
-0.5h	53	47	88.68 ⁽²⁾	71.22	13.50±7.45 ⁽²⁾	2.224
0h	60	58	93.33 ⁽²⁾	75.87	16.75±4.99 ⁽²⁾	2.302
+0.5h	60	13	18.33	0.87	8.35±3.02	0.974
Control	63	11	17.46		8.98±3.73	

⁽¹⁾ $p<0.05$, ⁽²⁾ $p<0.01$ compared with control (3) $p<0.01$ compared with radiation-burn

Tab.5 Effect of agent WR-2721 on WBC count in mice with combined radiation-burn injury

Group	Percentage of normal WBC count/%		
	1d	7d	14d
Pretreatment	39.16±8.91 ⁽¹⁾	69.65±5.97 ⁽¹⁾	142.04±12.67 ⁽¹⁾
Control	21.18±5.29	14.24±1.45	75.60±12.16

⁽¹⁾ $p<0.01$ compared with control

Tab.6 Effect of agent WR-2721 on BMC in mice with combined radiation-burn injury

Group	BMC count post-injury 1×10^6 cells/fenur		
	1d	7d	14d
Normal	12.80±2.71	12.88±2.19	13.73±2.06
Pretreatment	4.22±0.61 ⁽¹⁾	6.06±1.30 ⁽¹⁾	13.73±2.06
Control	2.61±0.68	1.72±0.25	8.60±3.15

⁽¹⁾ $p<0.01$ compared with control

2.2.3 骨髓粒单系祖细胞(CFU-GM) 伤后 1 和 7d CFU-GM 均受到明显抑制,而预防组显示了良好的保护作用。与对照组相比,第 1 和 7d 差别非常显著(见表 7)。

Tab.7 Effect of agent WR-2721 on CFU-GM in mice with combined radiation-burn injury

Group	CFU-GM clony count post-injury 1×10^5 BMC		
	1d	7d	14d
Normal	107.13±15.28	100.22±9.25	112.53±14.36
pretreatment	64.94±13.54 ⁽¹⁾	77.36±11.63 ⁽¹⁾	111.57±9.95
Control	52.69±11.25	43.58±7.59	108.67±12.45

⁽¹⁾ $p<0.01$ compared with control

2.2.4 骨髓造血干细胞(CFU-S) 对照组伤后的 CFU-S 一直处于低水平,为正常的 14.06~19.29%。预防组第 7d 为正常的 81.18%,第 14d 为正常的 142.13%,两组差别非常显著(见表 8)。

Tab.8 Effect of agent WR-2721 on CFU-S in mice with combined radiation-burn injury

Group	CFU-S post-injury/spleen (1×10^5 BMC)		
	1d	7d	14d
Normal	38.4±1.85	37.2±5.07	39.4±1.86
Pretreatment	9.6±10.23	30.2±3.31 ⁽¹⁾	56.0±5.83 ⁽¹⁾
Control	5.4±1.02	6.8±1.33	7.6±1.50

⁽¹⁾ $p<0.01$ compared with control

3 讨论

小鼠 8Gy γ 射线照射复合 15%Ⅲ度烧伤,造成以放射损伤为主的极重度放烧复合伤,其临床经过和转归放射损伤起主导作用。大量实验和临床资料证明^[1~3],WR-2721 是氨基硫醇类辐射防护药中效果较好的一种。其防护效价高,对多种哺乳动物都有抗辐射作用。本实验应用 WR-2721 预防,对放烧复合伤提高生存率和延长死亡动物平均活存时间,都明显优于单放组,其 DRF 也高于单放组。说明 WR-2721 对放复合伤也是一种较好的抗放药。

每种抗放药都有其最佳保护剂量、最佳给药剂量和最佳给药时间。本实验表明 WR-2721 对放烧复合伤 5~11Gy 之间均有保护作用,而以 8Gy 照射保护效果最好。此剂量范围与单放组基本相同。WR-2721 的有效保护剂量为 100~500mg/kg,剂量太大,出现毒性作用。辐射防护剂一般是在照射前短时间内或照射当时使用效果最好,实验结果以照射前 2h 内给药效果明显,照射前立即给药效果最好,照射后给药完全无效。

WR-2721 的抗辐射作用不仅表现在提高照射动物的活存率,而且它还能明显减轻一些重要的辐射敏感组织的损伤。它可明显减低骨髓多向性造血干细胞(CFU-S)的辐射敏感性;可明显减低照射小鼠骨髓细胞的微核率及红细胞造血损伤^[4]。实验观察到 WR-2721 无论对外周血白细胞、骨髓有核细胞,还是对骨髓造血祖细胞和造血干细胞均显示保护作用。

Delaney^[5]证明,照前将 WR-2721 使用于大鼠小肠粘膜表面,能显著地减少放射损伤。Carroll^[6]报道,WR-2721 对腹部放疗后大小肠有保护作用。刘晓宏^[7]报道,小鼠伤前腹腔注入 WR-2721 能有效地减轻放烧复合伤引起的脂质过氧化作用。何庆嘉^[8]证明,WR-2721 能提高放烧小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能,促进腹腔巨噬系分裂细胞的恢复。Herrera^[9]以 10Gy γ 射线给犬腹部照

射前 30min, 静脉内注入 WR-2721 150mg/kg 能提高活存率, 并降低小肠损伤, 改善肠吸收功能。以上研究结果说明, WR-2721 对放烧小鼠的防护作用至少部分是通过保护造血功能而实现的。

参 考 文 献

- 1 Liu T, Liu Y, He S *et al*. Cancer, 1992, 69:2820
- 2 Kinnamon K E, Ketterling L L, Ledney G D *et al*. Radiat Res, 1980, 82(1):215
- 3 France H G, Jirtle R L, Mansbach C M *et al*. Gastroenterology, 1986, 91:644
- 4 程天民, 罗成基, 阎永堂. 防原医学, 上海科学技术出版社, 1986, 271
- 5 Delaney J P, Bonsack M E, Felemoviciu I *et al*. Cancer, 1994, 74(8):2379
- 6 Carroll M P, Zera R T, Roberts *et al*. Dis Colon Rectum, 1995, 38(7):716
- 7 刘晓宏, 施炎. 第三军医大学学报, 1994, 16(2):141
- 8 何庆嘉. 第三军医大学学报, 1994, 16(3):55
- 9 Herrera J L, Vigneulle R M, Gage T *et al*. Dig Dis Sci, 1995, 40(1):211

PROTECTIVE EFFECT OF WR-2721 ON THE COMBINED RADIATION-BURN INJURY IN MICE

Shi Yan Guo Zhaoehua Wang Zhiwen Zhou Yanhong Luo Chengji

(*Institute of Combined Injury, Third Military Medical University, Chongqing 400038*)

ABSTRACT Protective effect of agent WR-2721 on hematopoiesis and prophylaxis for the combined radiation-burn injury were investigated in the present study. It was found that pretreatment with WR-2721 could significantly raised the survival rate and survival time of mice with the combined radiation-burn injury. Prophylactic use of WR-2721 resulted in an increase of LD₅₀ value from 5.19 Gy of the control to 9.53 Gy of the pretreatment. DRF (dose reduction factor) was 1.84. Prophylactic effect of WR-2721 was gained by the immediate use before irradiation with the dose of 200 mg/kg. Pretreatment of WR-2721 in mice with the combined injury brought about a lesser decrease in peripheral WBC count and an earlier recovery compared with the control. Bone marrow myelocyte and monocyte counts were markedly higher than the control at day 1 and 7 post-injury and bone marrow hematopoietic stem cell count was significantly higher than the control at day 7 and 14. Prophylactic effect of WR-2721 on the combined radiation-burn injury was at least partially due to its protective effect on hematopoiesis.

KEYWORDS Agent WR-2721, The combined radiation-burn injury, Hemapoiesis