

• 研究报告 •

高密度脂蛋白对严重烫伤大鼠肾功能的保护作用

蔡少甫 郑庆亦 胡安根 张闯峰 陈锦河 郑健生

【关键词】 烧伤； 肾脏； 脂蛋白类, 高密度脂蛋白； 细胞间黏附分子-1； 肿瘤坏死因子-α

高密度脂蛋白(HDL)是一类由多种载脂蛋白、脂质成分、相关酶类等组成的异质性脂蛋白颗粒,主要介导细胞胆固醇逆向转运,直接抑制动脉粥样硬化形成^[1]。近期研究表明,HDL还具有抗炎、抗氧化作用,在缺血/再灌注或严重感染引起的脏器损伤中具有保护作用^[2-6]。严重烧伤患者血液中HDL水平显著下降,并与高感染率及住院时间延长等预后相关^[7]。笔者拟观察烫伤大鼠不同时间点血清中细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、氧化型低密度脂蛋白(oxLDL)的含量及肾功能和肾脏组织病理学变化,以探讨HDL对严重烧伤时肾功能的保护作用。

1 材料与与方法

1.1 实验分组及处理:Wistar大鼠(南京军区福州总医院实验动物中心)135只,体重220~240g,雌雄不限。按随机数字表法分为假手术组(n=15)、烫伤组(n=60)和实验组(n=60)。经质量分数为3%的戊巴比妥(60mg/kg)腹腔注射麻醉后,将大鼠背部放于98℃恒温水槽中浸烫18s,造成30%总体表面积(TBSA)Ⅲ度烫伤(经病理切片证实),伤后30min腹腔注射平衡盐液(50ml/kg)复苏;实验组伤后即由尾静脉注入HDL(80mg/kg)治疗;假手术组麻醉后仅剃毛不进行烫伤处理。

1.2 标本采集:烫伤组和实验组分别于伤后12、24、48和72h随机取15只大鼠,经腹主动脉采血8~10ml;48h采血后立即活杀取肾脏标本。假手术组于48h点采血后活杀。

基金项目:全军“十一五”计划课题资助项目(06MA107)

作者单位:363000 福建漳州,解放军第一七五医院(厦门大学附属东南医院),南京军区烧伤整形研究所

通讯作者:郑庆亦,教授,硕士生导师,主任医师,Email:zqy588@163.com

作者简介:蔡少甫(1964-),男(汉族),福建省人,主任医师。

表1 各组大鼠伤后不同时间点血清中BUN、Cr、oxLDL、ICAM-1、TNF-α含量的比较(̄x±s)

组别	时间	动物数	BUN (mmol/L)	Cr (μmol/L)	oxLDL (μg/L)	ICAM-1 (μg/L)	TNF-α (ng/L)
假手术组		15	5.5±1.4	54±7	221±83	1.96±0.11	2.83±0.21
烫伤组	12 h	15	11.2±3.0 ^a	89±9 ^a	496±125 ^a	2.92±0.20 ^a	3.34±0.23 ^a
	24 h	15	13.9±3.2 ^a	102±10 ^a	559±141 ^a	3.33±0.23 ^a	3.92±0.33 ^a
	48 h	15	14.4±3.6 ^a	142±16 ^a	586±127 ^a	3.42±0.25 ^a	4.04±0.28 ^a
	72 h	15	13.7±3.4 ^a	135±13 ^a	513±120 ^a	3.22±0.18 ^a	3.50±0.17 ^a
实验组	12 h	15	9.1±2.5 ^{ab}	76±8 ^{bc}	402±107 ^{ab}	2.12±0.14 ^{ac}	3.06±0.22 ^{ac}
	24 h	15	10.3±2.7 ^{ac}	85±9 ^{ac}	450±113 ^{ab}	2.31±0.16 ^{ac}	3.59±0.34 ^{ab}
	48 h	15	10.9±3.1 ^{ac}	97±12 ^{ac}	461±116 ^{ac}	2.24±0.14 ^{ac}	3.35±0.22 ^{ac}
	72 h	15	11.0±2.8 ^{ab}	94±10 ^{ac}	420±105 ^{ab}	2.14±0.12 ^{ac}	3.14±0.23 ^{ac}

注:与假手术组比较,^aP<0.01;与烫伤组同期比较,^bP<0.05,^cP<0.01

1.3 检测指标及方法:①血清学检测:分离血清,-20℃保存。用全自动生化分析仪(日本日立公司)检测血尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)、oxLDL的含量,参照试剂盒(北京中山生物技术有限公司)说明书要求操作;采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测ICAM-1及TNF-α的含量,参照试剂盒(深圳晶美生物工程公司)说明书操作。②组织病理学检查:一部分肾脏标本用体积分数为10%的甲醛水溶液固定,常规石蜡包埋、切片、苏木素-伊红(HE)染色,光镜下观察;另一部分用30g/L戊二醛及10g/L锇酸双固定,乙醇逐级脱水,环氧树脂Epon 812包埋、切片、醋酸铀和枸橼酸铅双染,透射电镜(日本日立公司)下观察。

1.4 统计学处理:检测结果以均数±标准差(̄x±s)表示,用SPSS 10.0软件进行独立样本均数t检验,P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清学检测结果(表1):烫伤组及实验组伤后各时间点血清BUN、Cr、oxLDL、ICAM-1及TNF-α含量均明显高于假手术组(P均<0.01);与烫伤组比较,实验组伤后各时间点含量均明显降低(P<0.05或P<0.01)。

2.2 组织病理学观察(彩色插图1,图2):伤后48h烫伤组光镜下观察肾小

球毛细血管扩张充血,肾小管上皮细胞浊肿,部分上皮细胞嗜酸性变性,小部分细胞坏死,管腔内蛋白浓缩成管型,大量炎性细胞浸润;透射电镜下观察肾小管上皮细胞核染色质浓缩边聚,部分固缩、碎裂呈不规则块状,吞饮小泡增多,线粒体大小不等,出现脱颗粒现象,粗面内质网及高尔基体数量明显减少。实验组肾小管上皮细胞病理变性及炎性细胞浸润现象较烫伤组明显减轻。

3 讨论

近年来研究表明,机体在缺血/再灌注或严重感染引发肾功能损害时,HDL含量显著下降,血液中oxLDL、ICAM-1及TNF-α含量明显升高,提示肾功能损害可能与HDL水平下降及oxLDL形成和ICAM-1、TNF-α表达增加有关^[2-3,8]。临床研究也表明,合并多器官功能障碍综合征(MODS)、严重脓毒症、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)或全身炎症反应综合征(SIRS)患者血清HDL、低密度脂蛋白(LDL)显著降低,且与TNF-α呈显著负相关,表明脂蛋白水平与多器官功能衰竭患者预后具有相关性^[5-6]。严重烧伤患者血液中HDL水平显著下降,并与高感染率及住院时间延长等预后相关^[7]。严重烧伤复苏后,体内氧自由基大量生成,使LDL脂质过氧化产生oxLDL,导致内皮细胞ICAM-1和血管细胞黏附因

子-1(VEAM-1)等黏附分子表达增加,促使中性粒细胞、巨噬细胞与内皮细胞的黏附性增强,进而穿过血管内皮,到达损伤组织而被活化,释放大量的TNF- α 、白细胞介素-1等炎症介质,造成组织器官损伤。同时,TNF- α 等炎症因子释放增加还可刺激ICAM-1、VEAM-1的表达增强,进一步加重组织器官损伤。

HDL通过Akt途径激活内皮细胞一氧化氮合酶(NOS)活性,抑制氧自由基形成和LDL的过氧化,减少oxLDL生成,降低ICAM表达,减少TNF- α 等炎症介质释放,发挥抗炎作用,保护内皮细胞免受损伤^[2,8]。Thiemermann等^[3]在Wistar大鼠肾缺血、缺氧研究中发现,HDL通过抑制ICAM-1、P-选择素表达,减少多形核白细胞的浸润,对肾脏起保护作用。本结果显示,与假手术组比较,烫伤组大鼠ICAM-1、TNF- α 表达均显著增加,oxLDL含量明显升高,该结果与Cockerill等^[9]和McDonald等^[10]报道的oxLDL、ICAM-1、TNF- α 参与了肾脏缺血、缺氧后肾功能损伤的结论相符。实验组大鼠伤后各时间点血清oxLDL、ICAM-1、TNF- α 、BUN和Cr含量均较烫伤组明显降低,伤后48h肾小管上皮细胞病理损害及炎性细胞浸润现象较烫

伤组明显减轻,提示HDL可能通过抑制oxLDL生成,抑制ICAM-1等黏附分子的表达,降低炎性细胞的激活,减少TNF- α 等炎症介质的释放,减轻烧伤后缺血/再灌注损伤或失控性炎症反应对肾脏损伤,从而对严重烧伤后肾功能起保护作用。

参考文献

- [1] Rader D L. Molecular regulation of HDL metabolism and function: implications for novel therapies [J]. J Clin Invest, 2006, 116 (12): 3090-3100.
- [2] Barter P J, Nicholls S, Rye K A, et al. Antiinflammatory properties of HDL [J]. Circ Res, 2004, 95 (8): 764-772.
- [3] Thiemermann C, Patel N S, Kvale E O, et al. High density lipoprotein (HDL) reduces renal ischemia/reperfusion injury [J]. J Am Soc Nephrol, 2003, 14 (7): 1833-1843.
- [4] 郑庆亦, 胡安根, 蔡少甫, 等. 高密度脂蛋白对严重烧伤大鼠心功能的保护作用 [J]. 中华烧伤杂志, 2005, 21 (6): 442-444.
- [5] 郭强, 黄建安, 金钧, 等. 急性呼吸窘迫综合征患者早期脂蛋白和凝血指标水平的临床意义 [J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18 (6): 380-381.

[6] 李茜, 孙仁华, 杨向红, 等. SIRS患者脂蛋白与细胞因子相关性及其对预后影响的研究 [J]. 中国危重病急救医学, 2004, 16 (7): 430-431.

[7] Vanni H E, Gordon B R, Levine D M, et al. Cholesterol and interleukin-6 concentrations relate to outcomes in burn-injured patients [J]. J Burn Care Rehabil, 2003, 24 (3): 133-141.

[8] Lee C M, Chien C T, Chang P Y, et al. High-density lipoprotein antagonizes oxidized low-density lipoprotein by suppressing oxygen free-radical formation and preserving nitric oxide bioactivity [J]. Atherosclerosis, 2005, 183 (2): 251-258.

[9] Cockerill G W, McDonald M C, Mota-Filipe H, et al. High density lipoproteins reduce organ injury and organ dysfunction in a rat model of hemorrhagic shock [J]. FASEB J, 2001, 15 (11): 1941-1952.

[10] McDonald M C, Dhady P, Cockerill G W, et al. Reconstituted high-density lipoprotein attenuates organ injury and adhesion molecule expression in a rodent model of endotoxic shock [J]. Shock, 2003, 20 (6): 550-557.

(收稿日期: 2007-10-09)

(本文编辑: 李银平)

• 科研新闻速递 •

失血性休克大鼠液体复苏时人工氧载体的作用

经聚乙二醇(PEG)修饰的血红蛋白微囊(HbVs)是一种人工氧载体,能通过磷脂囊泡包被浓缩的血红蛋白液体。有研究发现,与输注红细胞相比,HbVs对失血性休克动物模型具有更好的复苏效果,但其循环机制包括生成和降解过程尚无研究报道。日本研究者最近将HbVs悬浮于重组人血清白蛋白,对失血性休克Wistar大鼠进行液体复苏,观察14d变化过程。将大鼠经股动脉放血50%后造成失血性休克,并随机分为HbV复苏组和自体血复苏组。结果发现:两组动物血流动力学及血气指标均能迅速恢复;由于HbV聚集和髓外造血作用,HbV组出现较明显的脾肿大,14d内能消退;降低的血细胞比容在7d内恢复正常。随着HbV在肝、脾中的降解,用抗PEG抗体进行免疫组化观察到PEG连接的脂质在14d内消失。因此研究者认为,输注HbV较输注红细胞具有更好的复苏效果,其刺激造血功能的作用使血细胞比容在7d内完全恢复。

侯经元, 周国勇, 编译自《Shock》, 2008-05-26(电子版); 胡森, 审校

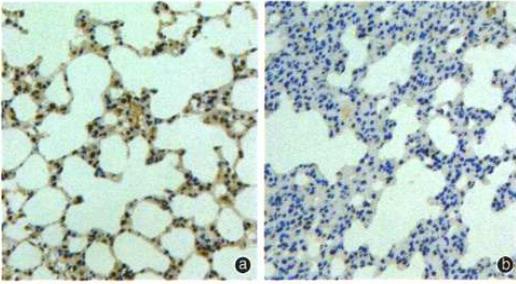
连续心肺复苏救治院外心脏停搏

为了评估院外心脏停搏时进行连续心肺复苏(MICR)对患者存活率的影响,美国研究人员对2005年1月1日—2007年11月22日亚利桑那州两大城市的2460例患者在院外发生心脏停搏时实施MICR(一种急救措施)前后进行评价,再将接受MICR与接受标准加强生命支持的患者进行比较。MICR包括先给予连续的200个胸外按压,再立即给予200个电击胸外按压及尽早给予肾上腺素和延迟气管插管。结果显示,886例存活患者出院率在实施MICR后从1.8%(4/218)提高到5.4%(36/668,优势比(OR)3.0,95%可信区间(CI)1.1~8.9)。174例心室颤引起心脏停搏患者存活率在实施MICR后从4.7%(2/43)提高到17.6%(23/131,OR 8.6,95% CI 1.8~42.0)。MICR可明显提高心脏停搏患者存活率(9.1%(60/661)比3.8%(69/1799),OR 2.7,95% CI 1.9~4.1),但仍需要进行随机实验对上述结论加以证实。

包呈梅, 编译自《JAMA》, 2008, 299 (10): 1158-1565; 胡森, 审校

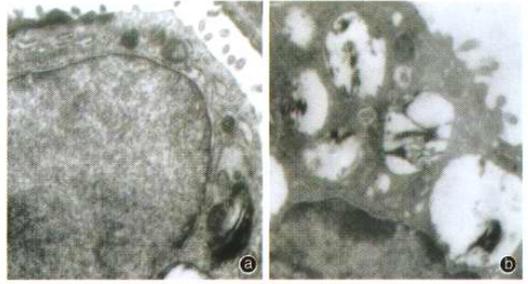
急性胰腺炎肺组织肺表面活性蛋白A的表达及功能改变

(正文见390页)



①:Sham组; ②:SAP组

图2 各组大鼠肺组织SP-A的改变(免疫组化, ×400)

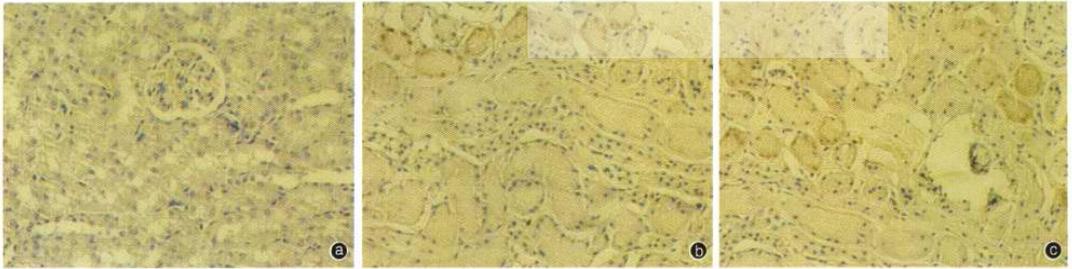


①:Sham组; ②:SAP组

图3 各组大鼠肺泡II型上皮细胞电镜结果(钨酸, ×8 000)

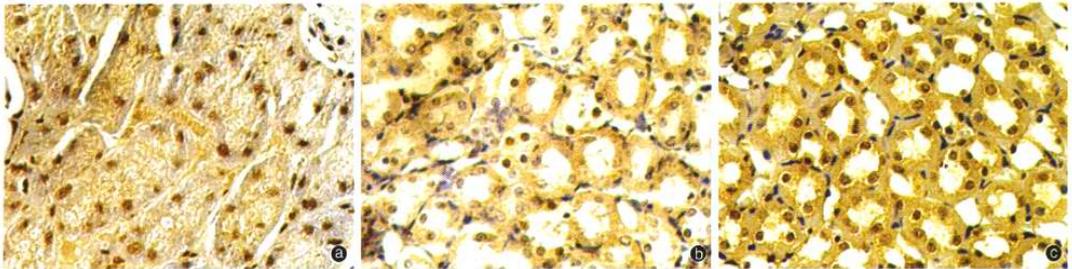
高原不同海拔地区大鼠严重烫伤延迟复苏后 肾组织细胞凋亡及低氧诱导因子-1 α 的表达

(正文见397页)



①:CG组; ②:海拔1517 m DFR组; ③:海拔3848 m DFR组

图1 CG组和DFR组大鼠伤后12 h肾组织细胞凋亡的阳性表达(TUNEL, ×400)

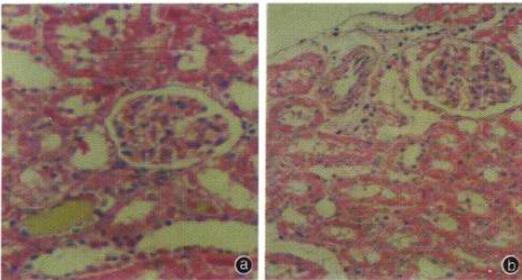


①:海拔3848 m IFR组伤后6 h; ②:海拔1517 m DFR组伤后12 h; ③:海拔3848 m DFR组伤后12 h

图2 IFR组和DFR组大鼠肾组织HIF-1 α 的阳性表达(免疫组化, ×400)

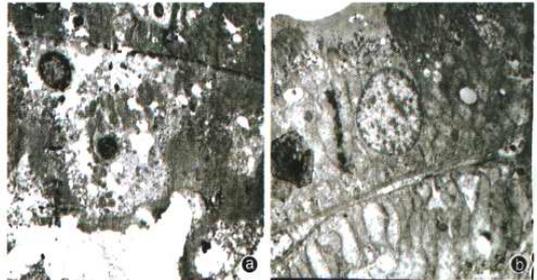
高密度脂蛋白对严重烫伤大鼠肾功能的保护作用

(正文见430页)



①:烫伤组; ②:实验组

图1 光镜下观察两组大鼠伤后48 h肾组织病理学变化(HE, ×100)



①:烫伤组; ②:实验组

图2 电镜下观察两组大鼠伤后48 h肾组织病理学变化(醋酸铀-枸橼酸铅双染, ×13 000)