

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, 张闽峰, 陈锦河, 郑健生

(解放军第175医院南京军区烧伤整形研究所, 福建漳州 363000)

[摘要] **目的** 探讨高密度脂蛋白(HDL)对严重烫伤大鼠肾功能的保护作用。**方法** 135只Wistar大鼠随机分为对照组($n=15$)、烫伤组($n=60$)和实验组($n=60$)。烫伤组和实验组大鼠背部造成30% TBSAⅢ度烫伤创面, 实验组伤后即经尾静脉注入HDL(80 mg/kg), 烫伤组及实验组于伤后30 min经腹腔注射平衡液复苏, 对照组不作处理。检测各组大鼠伤后12、24、48、72 h血清尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)、氧化低密度脂蛋白(oxLDL)、细胞间粘附分子-1(ICAM-1)及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)含量; 观察大鼠伤后48 h肾脏组织病理学变化。**结果** 烫伤组及实验组伤后各时相血清BUN、Cr、oxLDL、ICAM-1及TNF- α 含量均明显高于对照组($P<0.01$), 但实验组含量明显低于烫伤组($P<0.05$ 或 0.01)。烫伤组伤后48 h光镜下肾小管上皮细胞肿胀明显、部分坏死, 管腔内蛋白浓缩成管型, 肾间质内炎性细胞浸润; 电镜下肾小管细胞呈现典型凋亡现象。与烫伤组比较, 实验组病理改变明显较轻。**结论**

HDL对严重烫伤大鼠肾功能损伤具有保护作用, 可能与其抑制oxLDL生成和ICAM-1表达有关。

[关键词] 烫伤; 肾脏; 脂蛋白类, HDL; 细胞间粘附分子-1; 肿瘤坏死因子- α

中图分类号: R644 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-271X(2008)03-0164-04

The protective effect of high density lipoprotein on the renal injury of rats with severe burns

CAI Shao-fu, ZHENG Qing-yi, HU An-gen, ZHANG Min-feng, CHEN Jin-he, ZHENG Jian-sheng (The 175th Hospital of PLA, Zhangzhou 363000, Fujian, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the protective effect of high density lipoprotein on the renal injury of rats with severe burns. **Methods** One hundred and thirty-five Wistar rats were employed in the study and were randomly divided into control ($n=15$, without treatment), burn ($n=60$, with 30% TBSA full-thickness burn on the back) and experimental ($n=60$, with the injection of HDL(80 mg/kg) via the caudal vein immediately after burns) groups. The rats in the groups with burns injury were resuscitated with intraperitoneal isotonic saline (50 ml/kg) 30 minutes after burn. The serum contents of BUN, Cr, oxLDL, ICAM-1 and TNF- α of the rats of all the three groups were determined with corresponding methods. The histological changes in the renal tissue of the rats in all groups were observed under light microscope and electronic microscope. **Results** The serum contents of BUN, Cr, oxLDL, ICAM-1 and TNF- α in the control group were obviously lower than those in burn group ($P<0.01$), while those in experimental group were also markedly lower than those in burn group ($P<0.05$ or 0.01). The renal tubule epithelial cell appeared swelling and necrosis, protein casts were found in the renal tubule, inflammatory cell infiltration were found in the glomerulus. Compared with the burn group, the renal injury was less marked in the experimental group at 48 hours postburn. **Conclusion** High density lipoprotein can be beneficial to the protection of renal tissue in protecting from secondary injury rats with severe burns.

[Key words] Burns; kidney; Lipoproteins, HDL; Intercellular adhesion molecules-1; Tumor necrosis factor alpha

基金项目: 全军“十一五”计划课题资助项目(06MA107)

作者简介: 蔡少甫(1964-), 男, 福建漳浦人, 医学学士, 主任医师, 硕士生导师, 从事烧伤外科临床和研究工作。

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^[2-5]。严重烧伤患者血中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^[6]。笔者拟观察烫伤大鼠不同时相血清中细胞间粘附分子-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变化,以探讨HDL对严重烫伤肾功能的保护作用。

1 材料与方法

1.1 实验分组及处理 Wistar大鼠(购自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。将大鼠随机分为对照组($n=15$)、烫伤组($n=60$)和实验组($n=60$)。采用3%戊巴比妥钠(60 mg/kg)腹腔麻醉,剃除背毛。烫伤组和实验组大鼠背部于98℃恒温水浴槽中浸烫18s,造成30% TBSAⅢ度烫伤(经病理切片证实),伤后30min腹腔注射平衡盐液复苏(50 ml/kg);实验组伤后即由尾静脉注入HDL(80 mg/kg,美国Promega公司)治疗;对照组麻醉剃毛假烫伤后不作处理。

1.2 标本采集 烫伤组和实验组大鼠伤后12、24、48、72h经腹主动脉采血8~10ml,每时相各15只;在伤后48h,三组大鼠各15只采血后立即切取肾脏标本。

1.3 检测指标 ①血清学检测:采血后分离血清,于-20℃冰箱中保存。采用7180型全自动生化分析仪(日本日立公司产品)检测BUN、Cr、oxLDL的含量,参照试剂盒(北京中山生物技术有限公司产品)说明书操作;采用酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测ICAM-1及TNF- α 的含量,参照试剂盒(深圳晶美生物工程公司产品)说明书操作。②组织病理学检查:肾脏标本部分采用10%甲醛固定,常规石蜡包埋、切片、行HE染色,于光镜下观察;另一部分用3%戊二醛及1%锇酸双固定,乙醇逐级脱水,环氧树脂Epon812包埋,切片,醋酸铀和枸橼酸铅双染,于透射电镜(日本日立公司产品)下观察。

1.4 统计学处理 数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用SPSS10.0软件进行独立样本均数的 t 检验。

2 结果

2.1 血清学检测 烫伤组及实验组伤后各时相血清BUN、Cr、oxLDL、ICAM-1及TNF- α 含量均明显高于对照组($P<0.01$),但实验组与烫伤组比较,含量明显低($P<0.05$ 或 0.01)。见表1。

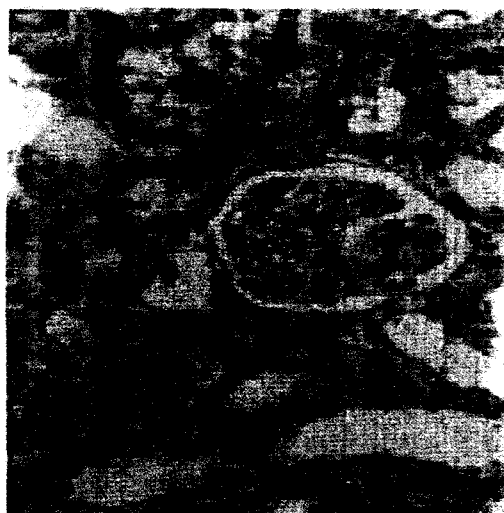
表1 各组大鼠血清中BUN、Cr、oxLDL、ICAM-1、TNF- α 含量的比较($\bar{x} \pm s, n=15$)

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

注:与对照组比较,^a $P<0.01$;与烫伤组比较,^b $P<0.01$,^c $P<0.05$

2.2 组织病理学观察 光镜下观察发现,烫伤组伤后48h肾小球毛细血管扩张充血,肾小管上皮细胞浊肿变性,小部分细胞坏死,管腔内见蛋白管型,间质大量炎性细胞浸润(图1a);透射电镜下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,粗面内质网及高尔基体数量明显减少(图2a)。实验组肾脏病理变化及炎性细胞浸润现象较烫伤组明显减轻(图1b,2b)。



a

烫伤组大鼠伤后 48 h 肾小球毛细血管扩张充血,管腔内见蛋白管型,间质炎细胞浸润明显



b

实验组大鼠伤后 48 h 肾小球轻度扩张充血,间质见少量炎细胞浸润,未见管型及溶解坏死上皮细胞

图 1 两组大鼠肾脏组织的变化 (HE×100)



a

烫伤组大鼠伤后 48 h 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,粗面内质网及高尔基体数量明显减少



b

实验组大鼠伤后 48 h 肾小管上皮细胞病理改变较烫伤组明显减轻

图 2 两组大鼠肾组织的变化 (透射电镜 醋酸铀和枸橼酸铅双染×13 000)

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^[2-4]。严重烧伤复苏后,体内氧自由基大量生成,使低密度脂蛋白脂质过氧化产生 oxLDL,导致内皮细胞 ICAM-1、VCAM-1 (血管细胞粘附分子-1) 等粘附分子表达增加,促使

中性粒细胞、巨噬细胞与内皮细胞的粘附性增强,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 等炎症因子的释放增加还可刺激 ICAM-1、VCAM-1 的表达增强,进一步加重了组织器官的损伤。

HDL 通过 PI3K/Akt (3-磷酸肌醇激酶/蛋白激酶 B, phosphoinositide 3-kinase/Akt) 途径激活内皮细胞一氧化氮合酶的活性,抑制氧自由基形成和低密度脂蛋白的过氧化,减少 oxLDL 的生成,降低细

胞间粘附分子的表达,减少TNF- α 等炎症介质释放,发挥抗炎作用,保护内皮细胞免遭损伤^[2-3]。Thiemermann等^[4]在Wistar大鼠肾缺血缺氧研究中发现,HDL通过抑制ICAM-1、P-选择素的表达,减少多核粒细胞的浸润,对肾脏起保护作用。本研究结果显示,与对照组相比,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^[7-8]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相的血清oxLDL、ICAM-1、TNF- α 、BUN和Cr水平较烫伤组均明显降低,伤后48h肾脏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等粘附分子的表达,降低炎性细胞的激活,减少TNF- α 等炎症介质的释放,减轻烫伤后缺血再灌注损伤或失控性炎症反应对肾脏造成的损伤,从而对严重烫伤后肾功能起保护作用。

参考文献

- [1] Rader DL. Molecular regulation of HDL metabolism and function: implications for novel therapies[J]. J Clin Invest, 2006,

116(12):3090-3100.

- [2] Lee CM, Chien CT, Chang PY, 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.
- [3] Barter PJ, Nicholls S, Rye KA, et al. Antiinflammatory properties of HDL[J]. Circ Res, 2004, 95(8):764-772.
- [4] Thiemermann C, Patel NS, Kvale EO, et al. High density lipoprotein (HDL) reduces renal ischemia/reperfusion injury [J]. J Am Soc Nephrol, 2003, 14(7):1833-1843.
- [5] 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.
- [6] Vanni HE, Gordon BR, Levine DM, et al. Cholesterol and interleukin-6 concentrations relate to outcomes in burn-injured patients[J]. J Burn Care Rehabil, 2003, 24(3):133-141.
- [7] Cockerill GW, McDonald MC, Mota-Filipe H, et al. High density lipoproteins reduce organ injury and organ dysfunction in a rat model of hemorrhagic shock[J]. FASEB, 2001, 15(11):1941-1952.
- [8] McDonald MC, Dhady P, Cockerill GW, 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:2008-04-08)

(本文编辑:黄攸生; 英文编辑:王学文)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊文后参考文献著录格式示例

1 期刊

著录格式:主要责任者. 题名[文献类型标志]. 刊名, 年, 卷(期):引文起页-止页.

- [1] 施毅. 肺炎的诊断与治疗研究进展[J]. 东南国防医药, 2007, 9(6):401-404.
- [2] 刘永才, 张霞, 张松涛, 等. 军事训练致下肢疲劳性损伤123例分析[J]. 人民军医, 2007, 50(1):4-5.
- [3] Kaneko M, Kato Y, Horiuchi H, et al. Molecular characterization of a human monoclonal antibody to B antigen in ABO blood type[J]. Immunol Lett, 2003, 86(1):45-51.

2 专著

著录格式:主要责任者. 题名[文献类型标志]. 其他责任者(例如翻译者). 版本项(1版不著录). 出版地:出版者, 出版年:引文起页-止页.

- [1] 杨宗城. 烧伤治疗学[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社, 2006:119-120.
- [2] 昂温G, 昂温PS. 外国出版史[M]. 陈生铮, 译. 北京:中国书籍出版社, 1988:98-102.
- [3] Smith GG. Gene and protein[M]. 4th ed. New York: McGraw Hill, 2001:776.

3 专著中的析出文献

著录格式:析出文献主要责任者. 析出文献题名[文献类型标志]//专著主要责任者. 专著题名. 版本项. 出版地:出版者, 出版年:析出文献的页码.

- [1] 陈英勇. 气胸[M]//戴自英. 实用内科学. 9版. 北京:人民卫生出版社, 1993:924-926.
- [2] Weinstein L, Swartz MN. Pathogenic properties of invading microorganism [M]//Sodeman WA Jr, Sodeman WA. Pathologic physiology: mechanisms of disease. Philadelphia:Saunders, 1974:745-772.

4 电子文献

著录格式:主要责任者. 题名[文献类型标志/文献载体标志]. 出版地:出版者, 出版年(更新或修改日期). [引用日期]. 获取或访问路径.

- [1] 江向东. 互联网环境下的信息处理与图书管理系统解决方案[J/OL]. 情报学报, 1999, 18(2):4 [2000-01-18]. <http://www.chinainfo.gov.cn/periodical/qkxb/qkxb99/qkxb/990203>.
- [2] TURCOTTE DL. Fractals and chaos in geology and geophysics [M/OL]. New York: Cambridge University Press, 1992 [1998-09-23]. <http://www.seg.org/reviews/mccorm30.html>.