维普资讯 http://www.cqvip.com

中华眼镜蛇毒治疗对豚鼠移植于大鼠心脏存活时间的影响*

临床学院普外科 杜成友** 姚檬祥 周洪伟

提 要 本实验选用豚鼠移植于大鼠异种心脏移植模型,观察移植术前3日及术日中华眼镜蛇毒(chinese cobra venom, CCV)0.2mg·kg^{-1}·d^{-1}腹腔注射对豚鼠移植于大鼠心脏存活时间的影响。结果显示:围手术期CCV治疗能使移植豚鼠心脏存活达18±10.2小时,与单纯豚鼠移植于大鼠心脏存活时间0.25±0.12小时比较,差异显著($P<0.01$)。单纯豚鼠移植于大鼠心脏被排斥时,组织病理学表现为超急性排斥反应,即心肌细胞溶解坏死,间质出血,血栓形成,未见炎性细胞浸润,大量补体C3沉积;而CCV治疗下移植心脏被排斥时除有心肌细胞坏死,间质出血外,尚有大量的单核细胞浸润,未见补体C3沉积。上述结果表明,CCV治疗能显著延长异种移植心脏存活时间,与其清除C3作用有关。

关键词 蛇毒;异种心脏移植;存活时间
中图分类号 R617

豚鼠心脏移植于大鼠的排斥反应是补体替代途径被激活所致,使用眼镜蛇毒因子(cobra Venom factor,CVF)[1]能消耗补体C3、C5,显著延长异种心脏存活时间,但其价格昂贵,妨碍了国内对异种移植的深入研究。中华眼镜蛇毒(chinese cobra venom,CCV)中含有CVF,作者在已完成实验基础上[2],进一步研究围手术期CCV治疗对异种移植心脏存活的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康豚鼠,体重150~200g共10只为供体,Wistar大鼠,雄性,体重200~300g共16只,其中3只为供体,13只为受体。

1.1.2 器械 5倍手术放大镜;显微外科器械包,均系上海医疗器械厂产品。

1.1.3 药物 CCV购自广州蛇毒研究所,参照文献所述方法[3]进行蛇毒配制,CCV静脉注射给小鼠半数致死剂量为0.5mg·kg^{-1}。用双蒸水稀释,滤过除菌后调整浓度为1mg·ml^{-1}。

1.1.4 试剂来源 抗C3抗体为即用型工作液,第二抗体和S-P试剂盒均购自迈新公司。

1.2 方法

1.2.1 心脏移植模型的建立 参照文献所用方法[4]。3%戊巴比妥钠30mg·kg^{-1}腹腔注射麻醉后,供心采用先灌后切技术,避免热缺血对心脏的损伤。供心右肺动脉、无名动脉分别与受体颈外静脉,颈总动脉行端端吻合,完毕后先后开放受体颈外静脉,颈总动脉,观察供心复跳情况。供心冷缺血时间平均约45min。

1.2.2 实验分组 共分三个实验组(表1)。CCV腹腔注射给药,术前3日及术日每天各一次,给予剂量为0.2mg·kg^{-1}·d^{-1}。

表1 实验分组(表内n为鼠数)

分组	n	移植类型	处理措施
A	3	大鼠同品系心脏移植	技术对照组
B	4	豚鼠→大鼠心脏移植	无
C	6	同B组	CCV

1.3 结果检测

1.3.1 移植心脏存活时间 从血运恢复供心复跳至其停跳这段时间,定为移植心脏存活时间。观察并记录供心颜色变化,跳动及停跳情况。

1.3.2 移植心脏组织病理学检查及免疫组化分析 移植心脏停跳后,分别取其右心房,放入10%甲醛液中固定保存。

1.3.2.1 组织病理学检查 取甲醛液固定心脏,常规石腊包埋,切片,HE染色,观察移植心脏被排斥后的情况。

结果采用半定量形成计录,即以-,+,++,+++表示,主要观察心脏的心肌细胞,间质出血,血栓形成,炎性细胞浸润情况。—:示无间质出血,无血栓形成,无炎性细胞浸润,心肌细胞结构完整;+:示少量间质出血,少量血栓形成,少量炎性细胞浸润,大量的存活心肌细胞;++:示一定数量的间质出血,血栓形成,炎性细胞浸润,少量存活的心肌

*本课题由重庆医科大学博士后基金资助
**男,1964-07出生,副教授

维普资讯 http://www.cqvip.com

细胞;+++:示广泛间质出血及血栓形成,大量的炎性细胞浸润,未见存活心肌细胞。

1.3.2.2 免疫组化分析 C3染色:用石蜡标本4um连续切片,免疫组化SP法染色,C3 经高压抗原修复,DAB显色.阳性标准为分:—,未见;+,少量;++,适量;+++,大量表达.

1.4 统计学处理 移植心脏存活时间比较采用t'检验,实验结果以$\bar{x}\pm s$表示。

2 结果

2.1 移植心脏存活时间(见表2)。

表2 各组移植心脏存活时间($\bar{x}\pm s$)

分组	存活时间(小时)
A	移植心脏跳动均超过72处死
B	0.25±0.12
C	18±10.2

注:Δ与B组比较,$P<0.01$

2.2 各组组织病理学检查及免疫组化分析(见表3)。

表3 各实验组病理学检查及免疫组化分析

分组	病理分析				免疫组化分析
	心肌细胞	间质出血	血栓形成	炎性细胞	C3
B	+++	+++	+++	—	+++
C	+++	+++	++	+++	—

综合表2及表3,可见单纯豚鼠心脏移植于大鼠(B组) 移植心脏存活时间为0.25±0.12小时,排斥心脏病理检查示超急性排斥反应,表现为心肌细胞溶解坏死,间质出血,广泛微小血栓形成,大量补体C3沉积,未见炎性细胞浸润;CCV治疗下异种移植心脏存活时间显著延长为18±10.2小时($P<0.01$),移植心脏内未见补体C3沉积以及大量单核细胞浸润为其特征。

3 讨论

3.1 CCV治疗对异种移植心脏存活的影响

CCV是眼镜蛇毒的粗提液,内含CVF及神经毒素等,我们的实验结果表明CCV 0.2 $mg\cdot kg^{-1}\cdot d^{1}$—围手术期治疗,能使移植心脏存活时间由0.25±0.12h延长到18±10.2hr($P<0.01$)。这可能是由于它的CVF代替内源性的C3b,导致C3、C5、B因子被消耗,使补体替代途径失活所致。

组织病理学检查及免疫组化分析发现CCV治疗下被排斥的豚鼠心脏,除有心肌细胞坏死,间质出血外,尚有大量的单核细胞浸润,Fryer 报道,浸润细胞以MΦ、NK细胞为主,未发现CD4、CD8 T淋巴细胞[6]。Hancock等[7]认为单核细胞浸润和激活是延迟性异种移植排斥反应(delayed xenograft rejection,DXR)中细胞性排斥的特征。因此,CCV治疗能延长移植心脏存活时间,与进口CVF一样,可以建立研究异种细胞性免疫应答的模型。

3.2 CCV治疗下移植豚鼠心脏被排斥的可能机理

CVF仅能清除C3或C5转化酶,不能清除已形成的C1q、C3a、C5a这些肽类,以及C5b—9复合物[8]。文献报道,这些补体成份,同样具有介导HAR的能力,这也可能是CCV治疗仅能使移植心脏存活达18±10.2小时的重要原因之一。

此外,实验还证实移植术后6小时,移植物内开始出现单核细胞浸润[9],这种浸润主要是通过单核细胞膜上的IgG Fc受体,以及MΦ细胞分泌的单核细胞化学趋化蛋白—1,2(monocyte chemoattractantprotein —1,2),巨噬细胞炎性蛋白—1β(macrophage inflammatoryprotein—1β)及RANTES这些C—C家族因子来完成。激活的MΦ、NK细胞分泌血凝素(lectin),后者可以直接介导MΦ、NK细胞与移植心肌细胞,血管内皮细胞结合,并杀伤之[10]。因此,CCV 治疗下异种移植心脏被排斥是体液和细胞免疫应答共同作用的结果。

参考文献

1. Kemp E. J Intern Med, 1996; 239:287
2. 杜成友, 等. 中国中西医结合杂志 1998; 18(特集):254
3. 舒雨雁,等. 生物化学与生物物理学报 1991; 23:32
4. Chen ZH. Transplantation, 1991; 52:1099
5. 梁仲培,等. 广州医学院学报 1991; 19:36
6. Fryer JP,et al. Transplantation, 1995; 59:171
7. Hancock WW. Kidney Int, 1997; 51:932

维普资讯 http://www.cqvip.com

8. 杜成友,等. 重庆医科大学学报 1998; 23(1):97
9. Candinas D,et al. Transplantation, 1996; 62:336
10.Candinas D,et al.Transplantation, 1996; 62: 1920

(收稿日期 1998－09－11)

Prolongation of cardiac xenografts in guineapig to rat combination by CCV treatment

Du Chengyou, et al
Department of general surgery, college of clinical medicine

In an in vivo guineapig to rat cardiac xenotransplantation model,the prolongation of cardiac xenograft by chinese cobra venom(CCV) was studied. The rats were divided into a control and 2 experimental groups:technical control (group A); no treatment (group B) and CCV treatment(group C). Rats were given i.p. of 0.2mg · kg^{-1} · d^{-1} CCV on day －3, －2, －1 and day 0 relative to heart grafting. The therapy using CCV induced 18±10.2hrs graft survival ($P<0.01$ Vs 0. 25 ± 0.12h in group B) .Histologic and immunohistologic analysis on rejected hearts revealed the typical lesion of hyperacute rejection and massive C3 deposition in group B,and interstitial heamorrhge, myocytolysis and a large humber of monocyte infilitration in group C. Our study showed CCV treatment is effective in prolonging the survival time of guineapig cardiac xenografts.

KEY WORDS Cobra venom; Cardiac xenotransplantation; Survival

糖尿病患者心率信号的功率谱特征分析

第二临床学院内科 李 荣* 严钟德 刘东方
第二临床学院保健科 喻可娟

提 要 心率信号(HRS)携带自主神经系统功能(ANSF)信息。本文分析了87例糖尿病(DM)患者HRS的功率谱数值特征。发现:DM性自主神经病变(AN)的发生率约为63%。与对照组相比较,DM组的总功率、超低频段功率、高频段功率和平衡参数数值具有显著性差异。表明:DM患者可能存在心ANSF的全面减损,迷走神经受损可能稍先于或/和重于交感神经,其中,交感和迷走神经同时受损占较大比例,单一神经受损以迷走病变为主;当ANSF不平衡时,主要表现为交感神经功能相对亢进,因而,运用心率功率谱分析法,可为临床早期预防、诊断、治疗糖尿病AN提供参考。

关键词 糖尿病; 心率功率谱特征; 自主神经系统; 机能失调
中图分类号 587.2

DM是危害人类健康的常见病,DM性神经病变是DM常见的慢性并发症之一,神经系统任何部分均可受累,尤以周围神经与自主神经多见;早期表现隐匿,而待病情进展,临床表现呈多样化。研究表明:糖尿病性AN常影响全身多个系统、器官,严重时可发生无痛性心肌梗塞、心源性猝死及脑血管意外等心脑疾病。因而,早期发现、早期预防特

* 男,1968－01出生,主治医师