DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.03.022
第24卷第3期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 3
2002年3月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Mar. 2002

文章编号:1000-5404(2002)03-0289-03

论著

缺血预适应对缺血再灌注肾脏粘附分子表达的影响

刘 宏,吴雄飞,金锡御 (第三军医大学附属西南医院全军泌尿中心肾科,重庆 400038)

提 要:目的 探讨缺血预适应对肾脏ICAM-1、E-选择素表达的影响。方法 大鼠4个循环的8 min缺血+5 min再灌注缺血预适应模型,免疫组化观察在体肾脏粘附分子ICAM-1、E-选择素的表达。结果 缺血预适应后肾脏ICAM-1、E-选择素的表达显著降低,局部髓过氧化物酶活性降低。结论 缺血预适应可抑制缺血再灌注损伤后肾脏ICAM-1、E-选择素的表达,减少局部白细胞浸润,改善肾功能。

关键词:肾脏;缺血预适应;粘附分子
中图法分类号:R392.11;R459.9;R692 文献标识码:A

Effects of renal ischemic precoditioning on the expression of ICAM-1 and E-selectin after ischemia-reprefusion injury

LIU Hong, WU Xiong-fei, JIN Xi-yu (Department of Kidney, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract Objective To study the effects of renal ischemic precoditioning on the expression of ICAM-1 and E-selectin after ischemia-reprefusion injury. Methods The kidney ischemic preconditioning was induced by 4 circles of left renal ischemia (8 min) separated by reperfusion (5 min) before ischemia-reperfusion injury, the expression of ICAM-1 and E-selectin were observed by immunohistochemistry. Results The kidney ICAM-1 and E-selectin expression were significantly decreased after ischemic preconditioning, the myeloperoxidase reactivity were decreased too. Conclusions Kidney ischemic preconditioning could inhibit the expression of ICAM-1 and E-selectin and reduce neutrophil-infiltration in kidney after ischemia-reperfusion injury.

Key words kidney; ischemic preconditioning; adhesion molecules

缺血预适应指在长期缺血前多次短期缺血可减少长期缺血后组织器官的坏死范围和程度。目前已证实在肾组织中存在缺血预适应现象,但其作用机制不清。体外培养内皮细胞的"预适应"研究表明粘附分子可能参与预适应的发生机制。本研究采用大鼠在体缺血预适应模型,比较缺血预适应组与对照组粘附分子表达的改变,为阐明其作用机制提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验分组及缺血预适应模型建立

2月龄Wistar大鼠30只,体重150~200 g,随机分为:①假手术组;②缺血再灌注组(I/R组);③缺血预适应组(IP+I/R组)。每组10只动物。各组均常规行右肾切除,I/R组左肾动、静脉夹闭60 min后再灌注;缺血预适应组于肾脏60 min缺血损伤前行4个循环的缺血预适应:缺血8 min+再灌注5 min;假手术组仅行右肾切除,并行下腔静脉穿刺抽血1 ml查血浆肌酐。各实验组均于术后24 h腹主动脉抽血1 ml查血浆肌酐,切除肾脏沿冠状面切为两半,一半组织匀浆后测组织髓过氧化物酶活性,另一半冰冻切片后行常规病理检查及免疫组化研究。

1.2 肾脏ICAM-1,E-选择素免疫组化染色

各组肾脏组织块以4%多聚甲醛固定,梯度蔗糖脱水后冰冻切片,分别以ICAM-1、E-选择素抗血清作一抗,常规行免疫组化染色。以切取的右肾为正常组。

1.3 肾功能检查

正常组及各组再灌注24 h抽血常规方法测血浆肌酐含量。

1.4 肾组织髓过氧化物酶活性测定

称取100 mg(湿重)肾组织溶于2 ml 50 mmol/L pH 6.0磷酸盐缓冲液,匀浆后于4 ℃ 40 000× g超速离心,沉淀以含0.5% HTAB的磷酸盐缓冲液抽提后取上清100 μl与100 μl显色液(50 mmol/L磷酸盐缓冲液pH 6.0,含0.167 mg/ml联大茴香胺和0.0006%过氧化氢)反应,以分光光度计测定460 nm处的吸光度,按标准曲线换算浓度及相对MPO活性,结果以与正常组肾脏MPO活性的比值表示。

1.5 统计学分析

采用第四军医大学Nosa统计软件行统计分析。

2 结果

2.1 缺血预适应对再灌注损伤后ICAM-1、E-选择素表达的影响

正常组肾脏ICAM-1、E-选择素未见明显表达,再灌注24 h肾衰组肾脏ICAM-1、E-选择素表达明显,主要位于肾脏直小血管、肾小管周毛细血管及肾小球,近曲小管ICAM-1阳性染色。缺血预适应组再灌注24 h肾脏ICAM-1、E-选择素阳性染色明显弱于肾衰组,肾小球、皮质肾小管周毛细血管无明显着色。见图1~4。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39870348)
作者简介:刘 宏(1968-),男,湖北省襄樊市人,博士研究生,主治医师,讲师。主要从事急性肾衰及肾移植方面的研究,发表论文7篇。电话:(023)68754188。
收稿日期:2001-04-15;修回日期:2001-07-03

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

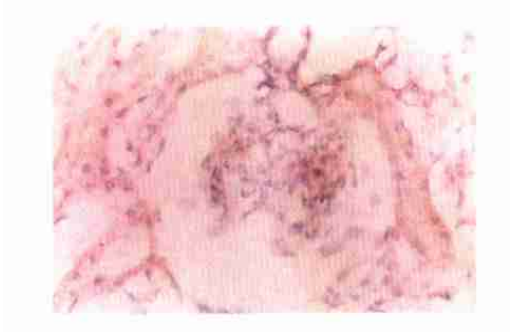


图 1 I/R 组肾小球 ICAM-1 表达 (SABC× 400)
Fig 1 Expression of ICAM-1 in glomerular VECs in I/R group (SABC× 400)

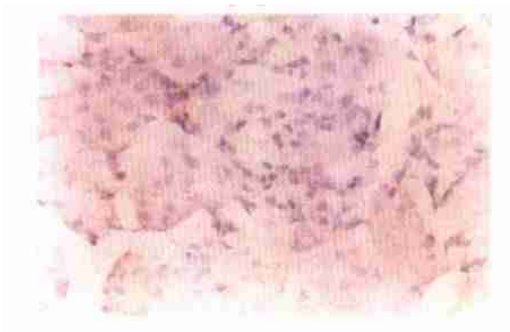


图 2 IP+I/R 组肾小球 ICAM-1 表达 (SABC× 400)
Fig 2 Expression of ICAM-1 in glomerular VECs in IP+I/R group (SABC× 400)



图 3 I/R 组外髓 ICAM-1 表达 (SABC× 400)
Fig 3 Expression of ICAM-1 in outermedulla in I/R group (SABC× 400)



图 4 IP+I/R 组外髓 ICAM-1 表达 (SABC× 400)
Fig 4 Expression of ICAM-1 in outermedulla in IP+I/R group (SABC× 400)

2.2 各实验组肾功能改变

再灌注 24 h I/R 组血浆肌酐值较假手术组显著升高(159.6±22.3 *vs* 44.8±7.3, $P<0.01$),缺血预适应组血浆肌酐值显著低于 I/R 组(118.0±16.5 *vs* 159.6±22.3, $P<0.01$)。见图 5。

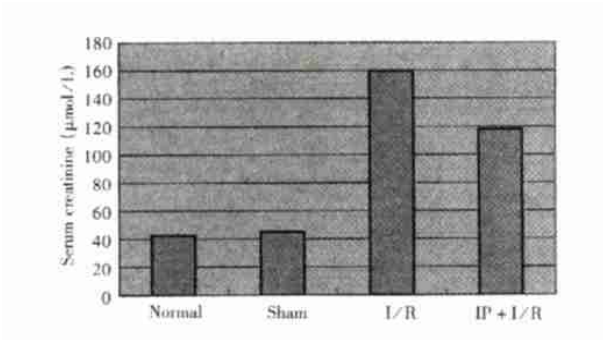


图 5 各实验组血浆肌酐值
Fig 5 Serum creatinine level in experimentd groups

2.3 各实验组髓过氧化物酶活性

再灌注 24 h I/R 组肾组织 MPO 活性显著增加,提示局部炎细胞浸润,缺血预适应可显著缓解肾组织内炎细胞的浸润(5.47±0.39 *vs* 10.23±1.22, $P<0.01$),见图 6。

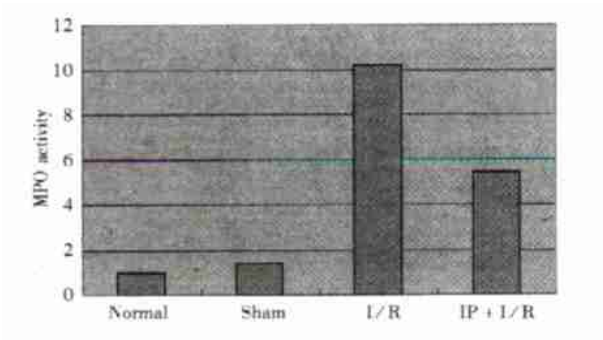


图 6 肾组织 MPO 活性
Fig 6 MPO activity of kidney tissue

3 讨论

1986 年,Murry[1] 首先报道并确定了缺血预适应在心肌细胞的定义,指在长期缺血前多次短期缺血可减少长期缺血后心肌细胞的坏死范围和程度。这种保护程度与腺苷受体的激活有关。其后发现这一现象在非心肌细胞如骨骼肌、脑、肝均有发生。Turman[2] 首先在培养的肾小管上皮细胞发现缺血预适应。预适应后细胞乳酸脱氢酶释出减少,花生四烯酸生成减少,细胞形态改善。Lee[3] 首次采用 8 min 缺血+5 min 再灌注模型证实在体肾脏缺血预适应的存在,并发现其预适应保护源于腺苷 A1 受体的激活。兔全身灌注腺苷也证实对缺血再灌注肾脏损伤有保护作用[4]。但由于急性缺血性肾衰发病机制的复杂性,单纯腺苷保护学说很难圆满的解释缺血预适应对缺血性肾衰保护作用的发生机制。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

研究表明肾脏缺血再灌注后内皮细胞粘附分子的表达增加在介导肾组织白细胞浸润和肾衰发生中有重要作用。损伤后 P、E 选择素和 ICAM-1 等粘附分子的表达增加导致循环白细胞在局部粘附, 于外髓形成梗阻和白细胞介导的内皮通透性增加, 红细胞凝聚, 导致再灌注后的外髓失灌注, 且浸润、激活的白细胞还可导致直接的组织损伤[5]。在体采用 ICAM-1 抗体或 ICAM-1 表达缺失小鼠肾组织髓过氧化物酶活性增加受抑制, 肾功能明显缓解[5,6]。肾脏缺血预适应是否存在对粘附分子的影响值得关注。

采用培养的大鼠主动脉内皮细胞预适应研究表明[7], 粘附分子参与预适应保护机制, 预适应后接受缺氧、氧损伤的内皮细胞粘附分子 ICAM-1 表达减弱, 白细胞粘附减少, 且有氧自由基、NO(一氧化氮)的参与, 其机制可能为 NO、自由基导致蛋白激酶 C 激活从而介导抗氧化防御反应。但未见在体肾缺血预适应对粘附分子表达的影响。本研究采用大鼠在体缺血预适应模型发现, 缺血预适应组再灌注 24 h 肾脏 ICAM-1、E-选择素表达较肾衰组明显减弱。与此同时, 作为组织白细胞浸润的指标[5], 缺血预适应组肾组织髓过氧化物酶活性升高明显缓解, 表明局部浸润白细胞减少。我们推测, 肾脏缺血预适应可通过对内皮的保护作用抑制缺血再灌注损伤后肾血管内皮细胞粘附分子表达的增加, 减少局部白细胞的浸润, 发挥对肾脏缺血再灌注的保护作用。

Zahler[8] 采用氧损伤预适应观察人脐静脉内皮细胞 ICAM-1、E-选择素表达显示, 预适应后 TNF-α 刺激所致 ICAM-1、E-选择素表达较单纯缺氧刺激组明显减弱, 内皮细胞 IL-6、IL-8 分泌显著降低, 这一预适应效果与 NFκB 的激活相关。

白细胞浸润在肾脏缺血再灌注损伤中发挥重要作用, 再灌注损伤后局部血管内皮细胞粘附分子表达增加是导致白细胞浸润的重要原因。深入研究缺血预适应对粘附分子表达影响的发生机制对预防和治疗急性缺血性肾衰、研制新的器官保存药物均有重要的理论和实用价值。

参考文献:

[1] Murry C E, Jennings R B, Reimer K A. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium[J]. Circulation, 1986, 74(5): 1 124—1 136.

[2] Turman M A, Bates C M. Susceptibility of human proximal tubular cells to hypoxia: effect of hypoxic preconditioning and comparison to glomerular cells[J]. Renal Failure, 1997, 19(1): 47—60.

[3]. Lee H T, Emala C W. Protective effects of renal ischemic preconditioning and adenosine pretreatment: role of A1 and A3 receptors[J]. Am J Physiol, 2000, 278(3): F380—F387.

[4]. Egan J C, Knolmayer T J, Bowyer M W, *et al*. Systemic pretreatment with adenosine preserves rabbit renal function after ischemia and reperfusion[J]. Anesthesiology, 1998, 89(3): A390.

[5]. Kelly K J, Williams W W, Colvin R B. Intercellular adhesion molecule-1-deficient mice are protected against ischemic renal injury[J]. J Clin Invest, 1996, 97(4): 1 056—1 063.

[6]. Kelly K J, Williams W W, Colvin R B. Antibody to intercellular adhesion molecule 1 protects the kidney against ischemic injury[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1994, 91(2): 812—816.

[7]. Beauchamp B S, Richard V, Tamion F. Protective effects of preconditioning in cultured rat endothelial cells, effects on neutrophil adhesion and expression of ICAM-1 after anoxia and reoxygenation[J]. Circulation, 1999, 100(5): 541—546.

[8]. Zahler S, Kupatt C, Becker B F. Endothelial preconditioning by transient oxidative stress reduces inflammatory responses of cultured endothelial cells to TNF—α[J]. FASEB J, 2000, 14(3): 555—564.

(编辑　冷怀明)

(上接 288 页)

成功: 临床无自觉症状, 肿胀(—), 松动(—), 叩痛(—), 咬合功能良好, 窦道愈合, X 片显示根尖病变消失或明显缩小。

失败: 有自觉症状, 叩痛(+), 窦道未消失, 松动Ⅱ ~ Ⅲ度, X 片显示尖周病变较术前无变化或根尖稀疏区扩大。

2　结果

经 3 年的临床观察, 疗效见表 1。

表 1　两种方法治疗慢性尖周炎的疗效比较

方法	成功	失败	合计	成功率(%)
空管药物疗法	62	8	70	88.57
根管治疗术	59	8	67	88.06

经 χ^2 检验 $P>0.05$, 表明两种方法治疗慢性尖周炎疗效无差别。

3　讨论

3.1　空管治疗药物在根管中的抗菌作用

空管治疗药物中的强力霉素具有广谱、高效、维持时间长和毒性小的特点, 磺胺增效剂可使强力霉素增效 2 ~ 4 倍, 地塞米松具有抗炎, 缓解急性炎症的作用, 木馏油具有镇痛消毒作用, 它们在根管口通过扩散作用发挥药效, 使感染根管呈无菌状态[2]。该疗法中空管药物的抗菌作用实质上代替了封闭根管的根管冲填。

3.2　本疗法的优点及适应症选择

空管药物疗法勿须扩大根管, 勿须测量根管长度和充填根管, 临床操作更为简便且疗效肯定。牙髓坏死、坏疽、慢性尖周炎等患牙均可采用本疗法, 对于根管钙化、有异物进入等器械难以探入的患牙尤为适用。

3.3　注意事项

严格无菌操作, 彻底清理根管, 根管口需严密封闭, 术后患牙常规降低咬合。

(本文承蒙李忠禹教授审阅、指导, 特此致谢!)

关键词: 空管药物疗法; 慢性尖周炎; 根管治疗术

中图法分类号: R781.341.05　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 杨　是, 石四箴, 主编. 口腔预防医学及儿童口腔医学[M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1995.20—21.

[2] 肖明振, 主编. 口腔内科学[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1996.6: 232—233.

(编辑　王　红)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net