

【文章编号】1005-4057(2005)04-0366-02

亚低温输液疗法对失血性休克模型兔单核细胞 HLA-DR 表达的影响

梁士轩, 梁玉梅, 布 林 (广东医学院附属医院, 广东湛江 5240001)

【摘要】目的: 观察亚低温输液疗法对失血性休克模型兔单核细胞 HLA-DR 抗原表达的影响。方法: 健康新西兰兔 25 只, 分为常温组、低温组和正常对照组, 常温组、低温组每组各 10 只, 正常对照组 5 只。常温组、低温组动物休克后分别输常温及低温液体, 低温组肛门温度降至 $32 \sim 34^{\circ}\text{C}$, 维持。在休克期、复苏后 12 h、1 d、2 d、3 d 取外周静脉血用免疫荧光法测定单核细胞表面 HLA-DR 抗原的表达。正常对照组在上述同时间取外周静脉血测定 HLA-DR 抗原作为参考值。结果: 常温组、低温组实验动物失血性休克后外周血单核细胞表面 HLA-DR 抗原表达明显下降, 与正常对照组的参考值比较差异有显著性 ($P < 0.05$)。低温组的单核细胞表面 HLA-DR 抗原表达于复苏后 2 d 恢复到正常值, 复苏后 3d 高于正常值; 而常温组于复苏后 3d 才恢复到正常值。结论: 亚低温输液疗法能增强失血性休克模型兔的免疫功能。

【关键词】低温, 人工; 休克, 出血性; 疾病模型, 动物; HLA-DR 抗原

【中图分类号】R 331.1 **【文献标识码】**B

亚低温输液疗法作为亚低温疗法的一个潜在有效手段, 但目前有关此疗法的文献报道尚少。由于缺乏实验数据的支持, 因而此疗法在临床上的应用也不多见。单核细胞 HLA-DR (human leukocyte antigen-DR, HAL-DR) 是体内表达水平最高的组织相容性抗原- (MHC) 类抗原, 与免疫应答有关, 其表达减少可影响机体产生有效的免疫应答。本文通过检测失血性休克模型兔 HLA-DR 的表达, 了解亚低温输液疗法对免疫功能的影响。

1 材料与方法

1.1 实验分组

由本院实验动物中心提供的健康新西兰雄性兔 25 只, 体重 (2.66 ± 0.34) kg, 随机分为 3 组: (1) 低温组, 10 只, 休克后 30 min 输入低温溶液, 使肛门温度降至 $32 \sim 34^{\circ}\text{C}$ 并维持; (2) 常温组, 10 只, 休克后 30 min 输入常温溶液, 使体温在正常范围内维持; (3) 正常对照组, 7 只, 不作休克和低温处理, 采血测定 HAL-DR 值作为参考。

1.2 方法

将右耳缘静脉处的留针连接于输液泵控制的静脉输液器, 此通路用于静脉输液。分离左侧颈外静脉, 插入 Swan-Ganz 漂浮导管 5cm, 以采集静脉血标本, 沿左侧股动脉置入动脉导管, 接 HEWLETT Rackard model 654 (M 1166A) 多功能监护仪。失血性休克模型的制作: 通过股动脉插管对低温组和常温组的实验动物放血约 20 min, 使平均动脉压 (MAP) 降至 5.33 kPa (40 mm Hg), 并维持动物 MAP 稳定约 30 min。按分组计划输入不同温度的自体血和平衡液, 自体血为制作模型时收集在无菌储血瓶中的血液, 平衡液为失血量的 3 倍。输注速度由输液泵

控制为 $1.5 \text{ mL}/(\text{min} \cdot \text{kg})$ 。观察时间为休克前: 手术完毕及动物肝素化后; 休克: 休克模型制作成功并稳定 30 min; 液体复苏。

1.3 溶液温度

(1) 低温自体血及平衡液温度为 $(10.7 \pm 1.8)^{\circ}\text{C}$; (2) 常温液为 $(20.6 \pm 1.3)^{\circ}\text{C}$ 。

1.4 监测指标

于休克时期及复苏后 12 h、1 d、2 d、3 d, 采静脉血 3 mL, 用免疫荧光法测定单核细胞表面 HAL-DR 抗原的表达。健康兔 5 只同样采血, 测定 HAL-DR 作为参考值。

1.5 统计方法

计量资料用均数 $\pm$ 标准差表示 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组内比较采用单因素方差分析及 q 检验, 组间比较采用 $t(t')$ 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

测得正常对照组的 HAL-DR 值为 $(27.33 \pm 4.82) \text{ mcf}$ 。低温组和常温组单核细胞表面 HLA-DR 抗原表达的动态变化, 见表 1。休克发生后, 两组实验动物外周血中单核细胞表面 HLA-DR 抗原表达即明显下降, 与正常对照组的参考值比较差异有显著性 ($P < 0.01$)。低温组动物, 复苏后 12 h、1 d, 单核细胞表面 HLA-DR 抗原的表达没有继续下降; 复苏后 2 d 开始逐渐回升, 抗原表达与正常对照组参考值比较, 差异无显著性 ($P > 0.05$); 复苏后 3 d, HAL-DR 超过正常对照组的参考值 ($P < 0.05$)。而常温组的 HLA-DR 表达水平在休克后各时点差异无显著性 ($P > 0.05$), 于复苏后第 3 日接近正常水平, 但与低温输液组比较差异有非常显著性 ($P < 0.01$)。

表 1 低温组和常温动物单核细胞表面 HLA-DR 抗原表达的比较
($\bar{x} \pm s$, mcf)

组别	只数	(A) 休克时	(B) 复苏后 12h	(C) 复苏后 1d	(D) 复苏后 2d	(E) 复苏后 3d
低温组	10	17.61±2.53	17.70±3.66	20.85±4.47	26.64±5.26	36.17±3.38
常温组	10	16.56±4.21	15.91±2.88	16.84±6.95	19.83±6.95	23.14±12.38

低温组: A vs B、A vs C、B vs C, $P > 0.05$; 余两两比较, P 均 < 0.01 ; 常温组: A ~E, 两两比较, P 均 > 0.05 ; 低温组与常温组比较: D $P < 0.05$, E $P < 0.01$

3 讨论

休克发生后, 正常免疫应答受到抑制。免疫系统对持续升高的细胞因子处于麻痹状态, 机体继续释放炎性介质, 引起组织渗出、变质、坏死。HLA-DR 是体内表达水平最高的组织相容性抗原- (MHC)类抗原, MHC 类抗原在机体免疫系统中发挥着抗原提呈的重要功能, 一方面发挥诱导和增强免疫应答的作用; 另一方面与具有免疫抑制作用的 CD8⁺ 细胞共同拮抗、调节免疫应答过程^[1]。如果 HLA-DR 的表达减少或抗原提呈作用受到阻碍, 机体就不能产生有效的免疫应答, 机体内的炎性介质增多使组织受到破坏。

本文结果显示, 失血性休克发生后低温组和常温组动物的单核细胞 HLA-DR 表达显著低于正常对照组的参考值 ($P < 0.01$), 而亚低温输液治疗后低温组动物的单核细胞 HLA-DR 表达明显提高, 与常温组比较差异有非常显著性 ($P < 0.01$), 表明亚低温输液治疗能提高动物失血性休克后的免疫力, 但其具体的作用机制如何尚有待进一步研究。

人工亚低温可分为 3 类: (1) 轻度低温, 中心体温 32 ~ 35 ; (2) 中度低温: 中心体温 28 ~ 32 ; (3) 重度低温, 中心体温 28 以下。但目前公认的低温是直肠温度为 31.5 ~ 34.5 。故低温输液是使动物直肠温度保持在 32 ~ 34^[2]。在低温输液降温过程中, 模型兔发生心脏室性早搏、二联律、三联律外, 未发生心跳呼吸停止等并发症, 表明只要掌握好低温输液技术, 亚低温治疗对机体产生的毒性作用不大。

近期研究发现, 亚低温对脑缺血再灌注损伤有保护作用, 能降低脑内兴奋性氨基酸水平, 减轻脑细胞死亡^[3]。亚低温疗法能延长严重失血性休克患者的存活时间, 并有维持动脉血压的作用^[4]。目前低温输液在临床上的应用并不多。如何科学低温输液, 尚需要通过一系列的动物实验及临床试验来进行完善。

参考文献:

[1] 赵武述. 现代临床免疫学[M]. 北京: 人民军医出版社, 1994: 212-256.

[2] Olsen TS, Weber UJ, Kammersgard LP. Therapeutic hypothermia for acut stroke [J]. Lancet Neurol, 2003, 2(9): 529.

[3] 王来栓, 于力君, 张旭东, 等. 亚低温对新生大鼠缺氧缺血脑损伤线粒体功能及凋亡影响[J]. 复旦大学学报(医学版), 2003, 30(2): 95-98.

[4] Wu X, Stezoski J, Safar P, et al. After spontaneous hypothermia during hemorrhagic shock, continuing mild hypothermia (34-degrees C) improves early but not late survival in rats [J]. Trauma, 2003, 55(2): 308-316.

(上接第 365 页)

95.8% 和 79.2%, 显著高于阴性表达者的 71.1% 和 52.6% ($P < 0.05$), 提示 p27 的缺失和表达下降与宫颈癌患者预后密切相关。因此, 宫颈癌 p27 的检测对宫颈癌的生物学行为及预后有一定参考价值。

参考文献:

[1] Koh TY, Park SW, Park KH, et al. Inhibitory effect of p27kip1 gene transfer on head and neck squamous cell carcinoma cell lines [J]. Head Neck, 2003, 25(1): 44-49.

[2] 卢瑞南, 盛瑞兰, 李建勇. p27(Kip1) 的研究进展[J]. 国外医学分子生物学分册, 2003, 25(3): 171-174.

[3] Kuo MY, Hsu HY, Kok SH, et al. Prognostic role of p27(Kip1)

expression in oral squamous cell carcinoma in Taiwan[J]. Oral Oncol, 2002, 38(2): 172-178.

[4] Koguchi K, Nakatsuji Y, Nakayama K, et al. Modulation of astrocyte proliferation by cyclin-dependent kinase inhibitor p27(Kip1) [J]. Glia, 2002, 37(2): 93-104.

[5] Nakatsuka S, Liu A, Yao M, et al. Methylation of promoter region in p27 gene plays a role in the development of lymphoid malignancies[J]. Int J Oncol, 2003, 22(3): 561-568.

[6] Nitti D, Belluco C, Mammano E, et al. Low level of p27(Kip1) protein expression in gastric adenocarcinoma is associated with disease progression and poor outcome[J]. J Surg Oncol, 2002, 81(4): 167-175.