

由基清除酶(SOD, 过氧化氢酶, 谷胱甘肽过氧化物酶等)的活性降低, 导致氧自由基堆积, 氧自由基可转变为羟基自由基, 后者活性更强, 使膜脂质过氧化, 引起细胞膜的结构和功能损害, 从而加剧缺血组织损伤^[10, 11]。本实验结果表明, 回心草能明显提高心肌缺血大鼠血清 SOD 活性, 显著降低血清 MDA 的水平, 提示滇产回心草具有一定程度的抗心肌缺血时脂质过氧化作用, 这可能是回心草抗心肌缺血、保护心肌细胞的机制之一。

参考文献:

[1] 罗天浩. 森林药物资源学[M]. 北京: 国际文化出版公司, 1994.
 [2] 云南省药材公司. 云南中药资源名录[M]. 北京: 科学出版社, 1993.
 [3] 乔远贵, 合 静, 张红英, 等. 回心草治疗冠心病 33 例疗效观

察[J]. 中国民族民间医药杂志, 1996, (20): 9-10.
 [4] 徐淑云. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1991.
 [5] 张奇涵, 张明哲. 回心草化学成分的研究[J]. 北京大学学报(自然科学版), 1992, 28(2): 175-177.
 [6] 张荣平, 雷秀玲, 严启新, 等. 民族药回心草的氨基酸和元素分析[J]. 中国民族民间医药杂志, 1998, (3): 40-41.
 [7] 李锐松, 姚秀娟, 俞玉峰, 等. 回心草醇透液对急性心肌梗塞犬血流动力学的影响[J]. 中草药, 1983, 14(7): 19-20.
 [8] 谭月华, 陶静仪, 李锐松, 等. 回心草有效成分的初步研究[J]. 科技资料(第四军医大学), 1979, 3: 14-19.
 [9] 谭月华, 李锐松, 陈水英, 等. 回心草醇透液对麻醉犬血流动力学和心肌代谢的影响[J]. 中草药, 1981, 12(5): 23-26.
 [10] Rao P S, Cohen M V, Mueller H S. Production of Free Radicals and lipid Peroxides in Early Experimental Myocardial Ischemia [J]. J Mol Cell Cardiol, 1983, 15: 713-716.
 [11] Hess M L, Manson N H. Molecular Oxygen: friend and foe the role of the oxygen free radical system in the calcium paradox, the oxygen paradox and ischemia/reperfusion injury [J]. J Mol Cell Cardiol, 1984, 16: 969-985.

中华眼镜蛇蛇毒及复方丹参抑制异种移植免疫排斥的实验研究

戚 峰, 王鹏志, 朱理玮, 邱宇杰*

(天津医科大学总医院 普通外科, 天津 300052)

摘要: 目的 研究中华眼镜蛇蛇毒因子(CCV)及复方丹参在异种移植中的作用。方法 采用颈部套袖法建立豚鼠对大鼠心脏异种移植模型。于术前 24 h 按 0.5 mg/kg ip CCV, 术中以复方丹参注射液灌注供心并 iv 复方丹参。研究对照组、CCV 组和 CCV+ 丹参组供心存活时间、复跳时间及血清补体水平的变化。结果 CCV 可明显降低血清补体水平, 延长供心存活时间, 复方丹参注射液可缩短供心复跳时间。二者合用可进一步延长供心存活时间。结论 在异种移植中补体起着关键的作用, CCV 通过降低血清补体水平抑制超急性排斥反应(HAR)的发生, 复方丹参可减少供心缺血损伤, 并改善微循环, CCV 和复方丹参合用对 HAR 有良好的抑制效果。

关键词: 异种移植; 中华眼镜蛇蛇毒(CCV); 丹参; 超急性排斥反应(HAR); 补体

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)12-1106-03

Studies on effects of Chinese Cobra Venom and COMPOSITE SALVIA MILTIORRHIZA INJECTION on hyperacute rejection of xenotransplantation

QI Feng, WANG Peng-zhi, ZHU Li-wei, QIU Yu-jie

(Department of Surgery, Head Hospital Affiliated of Tianjin University of Medical Sciences, Tianjin 300052, China)

Key words: xenotransplantation; Chinese Cobra Venom (CCV); *Salvia miltiorrhiza* Bge.; hyperacute rejection (HAR); complement

随着同种异体移植技术的成熟及在临床上的广泛开展, 供体器官短缺的问题越来越突出^[1]。异种移植从理论上可以提供无限的供体器官来源, 如果能够在临床上成功开展, 则可以使众多终末期器官衰竭的患者得到救治。但是, 异种移植面临着比同种异

体移植更为复杂的免疫排斥反应, 尤其异种抗体和补体介导的超急性排斥反应(HAR)有可能使移植物在几小时内即被排斥^[2], 目前对其机制的研究尚不十分深入, 也无临床异种移植成功的报道。本研究建立豚鼠对大鼠异种移植模型, 联合应用补体抑制

* 收稿日期: 2001-05-21

作者简介: 戚 峰(1970-), 男, 河北省人, 主治医师, 博士学位, 1995年毕业于天津医科大学临床医学系, 并获硕士学位, 同年, 分配于天津医科大学总医院普通外科。1998年考入天津医科大学中西医结合临床(外科)专业, 2001年毕业, 获博士学位, 毕业后继续在天津医科大学总医院普通外科工作。主要从事普通外科临床及有关肿瘤致病机理、器官移植、中西医结合临床应用等方面研究。参加了有关肿瘤致病基因、小肠移植、肝移植、异种心脏移植的基础研究, 小肠移植、肝移植的临床应用与尝试, 以及中西医结合治疗临床外科疾病方面的研究探索工作。

剂中华眼镜蛇蛇毒(Chinese Cobra Venom, CCV)和中药复方丹参,研究其在异种移植中的作用,为异种移植的临床应用提供理论基础。

1 材料

1.1 药品:中华眼睛蛇蛇毒由广州蛇毒研究所提供,冻干粉剂,用双蒸水稀释,配成蛇毒溶液。复方丹参注射液:贵州神奇制药有限公司产品,批号:200008021。

1.2 动物:雄性 Wistar 大鼠,体重为 200 ~ 250 g;豚鼠,体重为 200 ~ 250 g。实验动物均由天津药物研究院提供。

1.3 器材:德国蔡司双人双目显微镜,显微手术器械。

2 方法

2.1 异种移植模型的建立:根据 Heron 颈部套袖法的手术模式加以改进建立豚鼠对大鼠异种异位心脏移植模型^[3]。供、受体均以 4% 水合氯醛按 7.5 mg/kg ip 麻醉,分离受体大鼠右侧颈外静脉和颈总动脉,离断后近心端分别置血管套管,以微血管夹夹闭血管。供体豚鼠开胸,经下腔静脉注入肝素盐水(50 U/mL) 0.5 mL,使全身血液肝素化。自下腔静脉插管注入 4 含有 25 U/mL 肝素的乳酸钠林格氏液或含有 800 mg/L 丹参素的复方丹参注射液,灌注心脏。仔细分离、剪断供心无名动脉及左肺动脉,其余血管结扎后剪断。将供心左肺动脉与受体大鼠右颈外静脉套管连接,无名动脉与右颈总动脉套管连接。松开微血管夹,可见供心恢复血运,并出现自主节律性搏动。

2.2 术后观察:术后 0.5 h 内可直视下观察供心跳动情况,以后也可在大鼠颈部很容易的看到供心的搏动。从供心复跳至完全停止跳动的的时间作为供心存活时间。

2.3 实验分组和给药方法:将受体大鼠分为对照组、CCV 组和 CCV+ 丹参组,每组 6 只大鼠。对照组仅行异种移植手术,术中以含有肝素的乳酸钠林格氏液灌注心脏,不给其它药物;CCV 组受体大鼠术前 24 h 按 0.5 mg/kg ip CCV,其它同对照组;CCV+ 丹参组在给予 CCV 的同时,于术中采用含有肝素的复方丹参注射液灌注供心,并在恢复供心血运后经受体大鼠阴茎背静脉给予复方丹参注射液(按 20 mg/kg 丹参素 iv)。

2.4 补体总活性测定:每组大鼠于手术前经左颈外静脉取血 0.5 mL,血样室温下静置 50 min 后 2 000 r/min 离心 15 min,收集血清测定补体总溶血活性

(CH50)^[4]。

3 结果

3.1 异种移植后供心存活时间比较:见表 1。CCV 组供心存活时间与对照组相比有极显著差异 ($P < 0.01$),而加用丹参后,供心存活时间较 CCV 组也有显著性差 ($P < 0.05$)。

表 1 各组供心存活时间及恢复血供后供心复跳时间比较

组别	供心存活时间(h)	供心复跳时间(s)
对照组	0.24 ± 0.06	48.17 ± 6.68
CCV	5.17 ± 1.63**	50.33 ± 4.55
CCV+ 丹参	7.25 ± 1.04**	22.50 ± 4.37**

与对照组比较:** $P < 0.01$;

与 CCV 组比较: $P < 0.05$ $P < 0.01$

3.2 供心恢复血运后复跳时间比较:供心恢复血运后,颜色变红,出现心肌纤颤,然后转为节律性搏动。各组供心自恢复血运至出现节律性搏动的时间称为供心复跳时间,研究发现 CCV+ 丹参组的供心复跳时间比对照组及 CCV 组均有极显著的差异 ($P < 0.01$),见表 1。

3.3 CCV 对受体大鼠血清补体总溶血活性(CH50)的影响:给予 CCV 后,使 CH50 明显降低,CCV 组及 CCV+ 丹参组与对照组比较均有极显著性差异 ($P < 0.01$),见表 2。

表 2 各组 CH50 比较

组别	CH50 (U/mL)
对照组	29.79 ± 4.49
CCV	2.28 ± 1.33**
CCV+ 丹参	3.95 ± 1.92**

与对照组比较:** $P < 0.01$

4 讨论

异种移植虽然具有广阔的应用前景,但是其复杂的免疫排斥反应又制约了它的发展。通常根据种属的差异和移植后免疫排斥反应的不同将异种移植分为协调性异种移植和非协调性异种移植,豚鼠对大鼠的移植即属于后者^[5]。非协调性异种移植在移植后数分钟至数小时内会发生非常严重的超急性排斥反应(HAR)导致移植物失去功能。本实验中的对照组在不给药的情况下,豚鼠供心停跳的时间平均为 0.24 h,说明在很短的时间内即发生了严重的 HAR。

目前的研究表明,异种移植的 HAR 主要是由体液免疫介导的免疫反应。由于在受体动物血清中预先存在着抗移植物的“天然抗体”,在移植后,此天然抗体可与移植物血管内皮细胞表面的异种抗原结合,激活受者的补体系统,攻击移植物血管内皮细胞,从而引发 HAR。另外,补体系统也可以不依赖

于天然抗体而激活。由于移植物与受体种属之间的差异,导致移植物的补体调节蛋白无法抑制受体补体系统的激活,从而无法防止 HAR 的发展^[6]。因此,补体系统在 HAR 的发生过程中起着关键的作用。

眼镜蛇蛇毒因子(CVF)又称为抗补体因子,是一种来源于眼镜蛇蛇毒的性质稳定的抗补体糖蛋白,它具有 C₃、C₅转化酶的作用,可在血清其它蛋白因子(如 B、D 因子)参与下,激活补体旁途径而不断激活补体 C₃、C₅直至其最终耗竭,造成血清补体水平下降,经典及旁途径均失活^[7]。CCV 是从中华眼镜蛇蛇毒中分离纯化出的 CVF,其在体内较其它来源的 CVF 具有更强的抗补体活性,且一次给药后可在较长时间内维持低补体水平^[8]。本研究在术前 24 h 按 0.5 mg/kg 给予受体大鼠 CCV,术前检测用药组大鼠血清补体水平较对照组有非常明显的下降,几乎接近于 0,说明 CCV 有较强的降补体作用。由于使用 CCV 耗竭补体,阻断了 HAR 的发展,CCV 组及 CCV+丹参组供心存活时间较对照组均有明显延长,表明补体在 HAR 中起着非常重要的作用。

复方丹参注射液是活血化瘀药物,含有丹参和降香,其主要有效成分为丹参素,可扩张血管、改善微循环、抗血液凝固、促进纤溶系统激活,抑制血小板功能和血栓形成。而 HAR 主要的病理改变就是广泛微血管内血栓形成、血小板凝集。此外,研究表明复方丹参对 IgM、IgG 抗体有明显的抑制作用,可调节蛋白代谢和免疫功能^[9]。本研究在使用 CCV 抑制补体的同时,加用复方丹参注射液可使异种移植后供心存活时间进一步延长,证明复方丹参在调节机体免疫功能及血凝系统方面有一定作用,可延缓 HAR 的发生。而且,丹参在缺血状态下可抑制心肌收缩,减少能量消耗保护心肌。苏晓华等研究也发现丹参素对心肌线粒体呼吸链的功能有保护作用,

且可调节能量代谢、防止氧自由基的毒性作用^[10,11]。因此使用复方丹参注射液作为供心的灌注液对心肌有良好的保护作用,减少供心的冷缺血及热缺血损伤,CCV+丹参组供心恢复血运后复跳时间明显短于对照组及单独使用 CCV 组。

本研究表明,在异种移植中补体系统起着关键的作用,联合使用 CCV 和复方丹参注射液可降低补体水平,改善供心微循环、防止血小板凝集,减少心肌损伤,延缓 HAR 的发生。因此,可作为抑制异种移植免疫排斥反应的一种有效的治疗方法。

参考文献:

- [1] Barker C F, Markmann J F. Xenografts: is there a future? [J]. *Surgery*, 1992, 112: 3-5.
- [2] Platt J L, Verceletti G M, Dalmasso A P, et al. Transplantation of discordant xenografts: a review of progress [J]. *Immunol Today*, 1990, 11(12): 450-456.
- [3] Heron I. A technique for accessory cervical heart transplantation in rabbits and rats [J]. *Acta Pathol Microbiol Scand*, 1971, 79: 366-369.
- [4] 沈关心,周汝麟. 现代免疫学实验技术[M]. 武汉:湖北科学技术出版社,1998.
- [5] Calne R. Organ transplantation between widely disparate species [J]. *Transplant Proc*, 1970, 2(1): 550-559.
- [6] 矫文捷,陈玉平. 异种移植超急性排斥反应的机制[J]. *中华器官移植杂志*, 1999, 20(4): 244-245.
- [7] Meyer A, Nagel E, Link C, et al. Prolonged survival of guinea-pig-to-rat heart xenografts following complement depletion and B-cell-directed immunosuppression by malononitrilamide [J]. *Transplant Proc*, 2000, 32: 864-865.
- [8] 舒雨雁,陈川,庄茂辛,等. 中华眼镜蛇蛇毒因子的分离、纯化及性质的研究[J]. *生物化学与生物物理学报*, 1991, 23: 32.
- [9] 阴健,郭力弓. 中药现代研究与临床应用[M]. 北京:学苑出版社,1994.
- [10] 苏晓华,王孝铭,焦选茂,等. 大鼠心肌缺血再灌注线粒体内膜电子质子偶联和氧化磷酸化变化及丹参素的作用[J]. *中国病理生理杂志*, 1996, 12(2): 186-188.
- [11] 李向青,马丽英,朱世军,等. 离体大鼠心肌缺血再灌注损伤中高能磷酸化化合物的时相变化及丹参素的保护作用[J]. *中国病理生理杂志*, 1996, 12(3): 270-272.

注射用消障素对家兔实验性萘性白内障的防治作用

李宝瑗¹, 闵红波², 张富康¹, 王士贤¹, 冯文茹¹, 章萍^{1*}

(1. 天津市医药科学研究所, 天津 300070; 2. 中国人民解放军 455 医院 眼科, 上海 200052)

摘要: 目的 研究注射用消障素对家兔实验性萘性白内障的防治作用。方法 以 30% 萘混悬液 2.65 mL/(kg·d) 给家兔 ig, 连续 8 d, 制作成萘性白内障模型。注射用消障素预防治疗起始于造模前 4 d, 高、低剂量组为 0.1 及 0.05 mL 原液/眼, 隔日球结膜下注射 1 次, 共 6 次。每日以裂隙灯显微镜追踪检查家兔晶状体混浊度的变化。于实