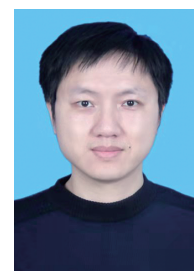


· 论著 ·

# 重度烧伤患者早期血清护骨因子/核因子 $\kappa$ B 受体激活蛋白配体和钙磷相关指标的变化



龚翔 叶子青 张伟 余刚 阮琼芳 谢卫国

武汉大学同仁医院暨武汉市第三医院烧伤科 430060

通信作者:谢卫国, Email: wgxie@hotmail.com

**【摘要】** 目的 了解重度烧伤患者早期血清护骨因子/核因子  $\kappa$ B 受体激活蛋白配体(RANKL)和钙磷相关指标的变化。方法 将2017年6月—2018年12月武汉大学同仁医院暨武汉市第三医院收治的符合入选标准的30例伤后8 h内入院的重度烧伤患者纳入重度烧伤组[男24例、女6例,年龄(38±13)岁],同期招募该单位体检中心体检结果正常的10名健康志愿者纳入健康对照组[男7名、女3名,年龄(37±8)岁],进行前瞻性对照研究。重度烧伤组患者于伤后1、7、14、21、28 d各抽取5 mL空腹静脉血,健康对照组志愿者取5 mL空腹静脉血,采用酶联免疫吸附测定法检测血清中护骨因子、RANKL、25羟维生素D及甲状旁腺激素(PTH)水平并计算RANKL/护骨因子比值,分别采用溴甲酚绿法、甲基百里酚蓝比色法和磷钼酸法测定血清白蛋白、血钙和血磷水平。对数据进行Fisher确切概率法检验、重复测量方差分析、独立样本 $t$ 检验、Mann-Whitney  $U$ 检验以及Bonferroni校正。结果 (1)重度烧伤组患者伤后1、7、14、21、28 d血清护骨因子水平分别为155.11(102.91,187.02)、170.07(84.60,196.86)、174.95(59.09,208.35)、190.01(47.08,214.52)、188.85(58.73,223.13) pg/mL,均明显高于健康对照组志愿者的33.34(28.59,45.68) pg/mL,  $Z = -3.436, -4.311, -3.248, -2.811, -4.217, P < 0.01$ ;血清RANKL水平分别为(1 869±791)、(1 746±857)、(1 781±713)、(2 015±825)、(2 272±583) pg/mL,均明显高于健康对照组志愿者的(49±16) pg/mL,  $t = 12.600, 10.844, 13.294, 13.041, 20.880, P < 0.01$ ;RANKL/护骨因子比值分别为12.23(8.10,24.73)、11.40(8.25,16.96)、11.15(6.91,38.32)、12.98(9.22,49.68)、13.91(10.29,40.68),均明显高于健康对照组志愿者的1.17(0.91,1.74),  $Z = -4.560, -4.529, -4.529, -4.560, -4.623, P < 0.01$ 。(2)重度烧伤组患者伤后1 d血清25羟维生素D水平明显低于健康对照组志愿者( $Z = -2.749, P < 0.01$ )。与健康对照组志愿者比较,重度烧伤组患者伤后1、7、14、21、28 d血清白蛋白水平明显降低( $t = -4.374, -7.689, -8.257, -7.651, -6.259, P < 0.01$ ),血清PTH水平明显升高( $Z = -4.685, -4.685, -4.685, -4.654, -4.685, P < 0.01$ ),血磷水平无明显变化。重度烧伤组患者伤后1、7、14、21 d血钙水平明显低于健康对照组志愿者( $Z = -2.375, -3.455, -2.442, -2.016, P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。结论 重度烧伤患者早期血清护骨因子、RANKL、RANKL/护骨因子比值、PTH升高,25羟维生素D、白蛋白及血钙下降,这可能是导致患者骨质流失的机制。

**【关键词】** 烧伤; 维生素D; 钙; 磷; 护骨因子/核因子  $\kappa$ B 受体激活蛋白配体; 甲状旁腺激素; 骨质流失

基金项目:武汉市卫生和计划生育委员会科研项目(WX17Q11)

DOI:10.3760/cma.j.cn501120-20190616-00272

## Changes in serum osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand and related indexes of calcium and phosphorus in the early stage of severe burn patients

Gong Xiang, Ye Ziqing, Zhang Wei, Yu Gang, Ruan Qiongfang, Xie Weiguo

Department of Burns, Tongren Hospital of Wuhan University & Wuhan Third Hospital, Wuhan 430060, China

Corresponding author: Xie Weiguo, Email: wgxie@hotmail.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the early changes in serum osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand (RANKL) and related indexes of calcium and phosphorus in severe burn patients. **Methods** Thirty severe burn patients who met the inclusion criteria and were admitted to Tongren

Hospital of Wuhan University & Wuhan Third Hospital within 8 hours post injury from June 2017 to December 2018 were recruited into severe burn group (24 males and 6 females, aged ( $38 \pm 13$ ) years). Ten healthy volunteers with normal physical examination results in the Physical Examination Center of the same hospital in the same period of time were recruited into healthy control group (7 males and 3 females, aged ( $37 \pm 8$ ) years). A prospective controlled study was conducted. The fasting venous blood of 5 mL was taken from each patient in severe burn group on post injury day (PID) 1, 7, 14, 21, and 28, respectively, and the fasting venous blood of 5 mL was taken from each volunteer in healthy control group. The serum osteoprotegerin, RANKL, 25 hydroxyvitamin D, and parathyroid hormone (PTH) levels were determined by enzyme-linked immunosorbent assay, and the RANKL/osteoprotegerin ratio was calculated. Serum albumin, serum calcium, and serum phosphorus levels were determined by bromocresol green method, methylthymol blue method, and phosphomolybdic acid method, respectively. Data were statistically analyzed with Fisher's exact probability test, analysis of variance for repeated measurement, Mann-Whitney  $U$  test, independent sample  $t$  test, and Bonferroni correction. **Results** (1) The serum osteoprotegerin levels of patients in severe burn group on PID 1, 7, 14, 21, and 28 were 155.11 (102.91, 187.02), 170.07 (84.60, 196.86), 174.95 (59.09, 208.35), 190.01 (47.08, 214.52), and 188.85 (58.73, 223.13) pg/mL, respectively, which were significantly higher than 33.34 (28.59, 45.68) pg/mL of volunteers in healthy control group,  $Z = -3.436, -4.311, -3.248, -2.811, -4.217, P < 0.01$ . The serum levels of RANKL of patients in severe burn group on PID 1, 7, 14, 21, and 28 were ( $1\ 869 \pm 791$ ), ( $1\ 746 \pm 857$ ), ( $1\ 781 \pm 713$ ), ( $2\ 015 \pm 825$ ), and ( $2\ 272 \pm 583$ ) pg/mL, respectively, significantly higher than ( $49 \pm 16$ ) pg/mL of volunteers in healthy control group,  $t = 12.600, 10.844, 13.294, 13.041, 20.880, P < 0.01$ . The ratios of RANKL/osteoprotegerin of patients in severe burn group on PID 1, 7, 14, 21, and 28 were 12.23 (8.10, 24.73), 11.40 (8.25, 16.96), 11.15 (6.91, 38.32), 12.98 (9.22, 49.68), and 13.91 (10.29, 40.68), respectively, which were significantly higher than 1.17 (0.91, 1.74) of volunteers in healthy control group,  $Z = -4.560, -4.529, -4.529, -4.560, -4.623, P < 0.01$ . (2) The serum level of 25 hydroxyvitamin D of patients in severe burn group on PID 1 was significantly lower than that of volunteers in healthy control group ( $Z = -2.749, P < 0.01$ ). Compared with those of volunteers in healthy control group, the serum levels of albumin of patients in severe burn group on PID 1, 7, 14, 21, and 28 were significantly lower ( $t = -4.374, -7.689, -8.257, -7.651, -6.259, P < 0.01$ ), the serum levels of PTH were significantly elevated ( $Z = -4.685, -4.685, -4.685, -4.654, -4.685, P < 0.01$ ), and the serum levels of phosphorus were not changed significantly. The serum levels of calcium of patients in severe burn group on PID 1, 7, 14, and 21 were significantly lower than the level of volunteers in healthy control group ( $Z = -2.375, -3.455, -2.442, -2.016, P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). **Conclusions** The serum osteoprotegerin, RANKL, RANKL/osteoprotegerin ratio, and PTH are increased, and the serum 25 hydroxyvitamin D, albumin, and calcium are decreased in the early stage of severe burn patients, which may be the mechanism leading to bone loss in patients.

**【Key words】** Burns; Vitamin D; Calcium; Phosphorus; Osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand; Parathyroid hormone; Bone loss

**Fund program:** Scientific Research Project of Health and Family Planning Commission of Wuhan City (WX17Q11)

DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20190616-00272

重度烧伤患者可出现长期性的骨质流失、骨密度下降,从而增加骨折发生率,严重影响患者的生存质量<sup>[1-2]</sup>。临床研究表明,患者在烧伤早期即可出现明显的骨密度下降<sup>[3]</sup>。因此,研究烧伤后早期骨代谢指标变化特点对疾病的防治具有重要意义。重度烧伤引起的骨质流失主要是由于烧伤后全身性炎症反应、神经内分泌反应等,共同导致骨稳态失衡及钙磷离子及相关指标代谢紊乱<sup>[4-5]</sup>。骨代谢是由成骨细胞的骨形成作用和破骨细胞的骨吸收作用共同维持的动态平衡,当骨吸收强于骨形成时,则出现骨质流失<sup>[6]</sup>。护骨因子/核因子  $\kappa$ B 受体激活蛋白配体 (RANKL) 是调节成骨细胞与破骨细胞之间通讯的

关键信号通路,共同维持骨稳态<sup>[7-8]</sup>。钙磷离子是骨骼的重要组成部分,主要受维生素 D、甲状旁腺激素 (PTH) 调节,对维持骨健康起着重要作用<sup>[9]</sup>。目前,临床上关于烧伤后骨代谢异常的研究较少,国内尚鲜见报道。本研究以成年重度热力烧伤患者为研究对象,观察其伤后血清护骨因子/RANKL 和钙磷离子及相关指标早期变化特点,为探讨重度烧伤后早期骨质流失的机制提供理论依据。

## 1 对象与方法

本研究经武汉大学同仁医院暨武汉市第三医院(下称笔者单位)伦理委员会批准,批号:KY2016-

009。

### 1.1 主要材料来源

人护骨因子、RANKL、25 羟维生素 D、PTH 的 ELISA 检测试剂盒购自武汉华美生物工程有限公司,白蛋白、血钙、血磷检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所。TGL-16 型冷冻离心机购自湖南湘仪实验室仪器开发有限公司,1680 型酶标仪购自美国 Bio-Rad 公司。

### 1.2 烧伤患者入选标准

纳入标准:(1)年龄 18~60 岁的热力烧伤患者。(2)烧伤总面积 >30% TBSA,深度为深 II~III 度,烧伤指数  $\geq 20\%$  TBSA,符合重度烧伤诊断标准<sup>[10-11]</sup>。(3)伤后 8 h 内入院。排除标准:(1)妊娠、绝经前后的女性患者。(2)电击伤(电弧烧伤除外)、化学烧伤。(3)热力烧伤合并直接骨损伤者。(4)既往有严重的心、肝、肾、骨骼疾病及肿瘤等影响本研究结果的疾病史及药物使用史等。

### 1.3 临床资料与分组

本前瞻性对照研究将 2017 年 6 月—2018 年 12 月笔者单位收治的 30 例符合入选标准的重度烧伤患者纳入重度烧伤组,其中男 24 例、女 6 例,年龄(38±13)岁,体质量指数(22.3±1.9) kg/m<sup>2</sup>,烧伤总面积 67.5% (45.0%, 76.5%) TBSA;同期招募笔者单位体检中心 18~60 岁体检结果正常的 10 名健康志愿者纳入健康对照组,其中男 7 名、女 3 名,年龄(37±8)岁,体质量指数(23.5±4.6) kg/m<sup>2</sup>。重度烧伤组患者与健康对照组志愿者性别、年龄、体质量指数比较,差异均无统计学意义( $P=0.665$ ;  $t=-2.262, 1.212, P=0.795, 0.233$ )。烧伤患者和健康志愿者均签署研究知情同意书。

### 1.4 检测指标与方法

**1.4.1 血清制备** 重度烧伤组患者分别于伤后 1、7、14、21、28 d 清晨,通过中心静脉或外周静脉采集的方式抽取 5 mL 空腹血样;健康对照组志愿者通过外周静脉采集 5 mL 空腹血样。标本采集后于 4℃,以 400×g 离心 15 min,上清液 -80℃ 保存,待所有样品收集完成后同时进行以下检测。

**1.4.2 血清护骨因子、RANKL、25 羟维生素 D、PTH 测定** 严格按照 ELISA 检测试剂盒说明书操作,检测血清中护骨因子、RANKL、25 羟维生素 D 和 PTH 的水平。在 0.5 h 内,使用酶标仪测定 450 nm 最大吸收波长和 570 nm 或 630 nm 参考波长下的吸光度值。以标准对数浓度为横坐标,测量的吸光度值为纵坐标,绘制标准曲线,从而计算各个指标水

平,另计算 RANKL/护骨因子比值。本实验重复 3 次,结果取均值。

**1.4.3 血清白蛋白、血钙、血磷测定** 血清白蛋白水平采用溴甲酚绿法测定,按照白蛋白检测试剂盒说明书,使用酶标仪测定 430 nm 波长处吸光度值。血钙水平采用甲基百里酚蓝比色法测定,按照血钙检测试剂盒说明书,用酶标仪测定 610 nm 波长处吸光度值。考虑到严重烧伤患者普遍存在低蛋白血症,血钙水平按以下公式进行校正:血钙修正值(mmol/L) = 血钙测量值(mmol/L) + 0.02 × [40 - 血清白蛋白水平(g/L)]<sup>[12]</sup>。血磷水平采用磷钼酸法测定,按照血磷检测试剂盒说明书操作,用酶标仪测定 660 nm 波长处吸光度值。计算各个指标水平,每个指标重复测定 3 次,结果取均值。

### 1.5 统计学处理

采用 SPSS 22.0 统计软件进行分析,计数资料数据采用频数表示,行 Fisher 确切概率法检验(软件自动略去该统计量值)。符合正态分布的计量资料数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,2 组单一时间点指标组间比较行独立样本  $t$  检验;2 组多个时间点指标组间总体比较采用重复测量方差分析,组间两两比较行独立样本  $t$  检验,并进行 Bonferroni 校正。不符合正态分布的计量资料数据以  $M(P_{25}, P_{75})$  表示,行 Mann-Whitney  $U$  检验并进行 Bonferroni 校正。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 血清护骨因子与 RANKL 及其比值

重度烧伤组患者伤后 1、7、14、21、28 d 血清护骨因子、RANKL、RANKL/护骨因子水平均明显高于健康对照组志愿者( $P < 0.01$ ),见表 1。

### 2.2 血钙与血磷及相关指标

重度烧伤组患者伤后 1 d 血清 25 羟维生素 D 水平明显低于健康对照组志愿者( $P < 0.01$ ),重度烧伤组患者伤后 7、14、21、28 d 血清 25 羟维生素 D 水平与健康对照组志愿者相近( $P > 0.05$ )。重度烧伤组患者伤后 1、7、14、21、28 d 血清白蛋白水平明显低于健康对照组志愿者( $P < 0.01$ ),血清 PTH 水平明显高于健康对照组志愿者( $P < 0.01$ ),血磷水平与健康对照组志愿者相近( $P > 0.05$ )。重度烧伤组患者伤后 1、7、14、21 d 血钙水平明显低于健康对照组志愿者( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),重度烧伤组患者伤后 28 d 血钙水平与健康对照组志愿者相近( $P > 0.05$ )。见表 2。

表 1 重度烧伤组患者各时间点及健康对照组志愿者血清护骨因子与 RANKL 及两者比值比较

组别与时间点	例/人数	护骨因子 [pg/mL, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	RANKL (pg/mL, $\bar{x} \pm s$ )	RANKL/护骨因子比值 [ $M(P_{25}, P_{75})$ ]
健康对照组	10	33.34(28.59,45.68)	49 ± 16	1.17(0.91,1.74)
重度烧伤组	30			
伤后 1 d		155.11(102.91,187.02)	1 869 ± 791	12.23(8.10,24.73)
伤后 7 d		170.07(84.60,196.86)	1 746 ± 857	11.40(8.25,16.96)
伤后 14 d		174.95(59.09,208.35)	1 781 ± 713	11.15(6.91,38.32)
伤后 21 d		190.01(47.08,214.52)	2 015 ± 825	12.98(9.22,49.68)
伤后 28 d		188.85(58.73,223.13)	2 272 ± 583	13.91(10.29,40.68)
$Z_1/t_1$ 值		-3.436	12.600	-4.560
$P_1$ 值		0.001	<0.001	<0.001
$Z_2/t_2$ 值		-4.311	10.844	-4.529
$P_2$ 值		<0.001	<0.001	<0.001
$Z_3/t_3$ 值		-3.248	13.294	-4.529
$P_3$ 值		0.001	<0.001	<0.001
$Z_4/t_4$ 值		-2.811	13.041	-4.560
$P_4$ 值		0.005	<0.001	<0.001
$Z_5/t_5$ 值		-4.217	20.880	-4.623
$P_5$ 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:核因子  $\kappa$ B 受体激活蛋白配体(RANKL)处理因素主效应,  $F = 117.481, P < 0.001$ ;时间因素主效应,  $F = 3.947, P = 0.016$ ;两者交互作用,  $F = 1.293, P = 0.281$ ;护骨因子、RANKL/护骨因子比值两两比较统计量为  $Z$  值,RANKL 两两比较统计量为  $t$  值; $Z_1/t_1$  值、 $P_1$  值、 $Z_2/t_2$  值、 $P_2$  值、 $Z_3/t_3$  值、 $P_3$  值、 $Z_4/t_4$  值、 $P_4$  值、 $Z_5/t_5$  值、 $P_5$  值分别为重度烧伤组伤后 1、7、14、21、28 d 与健康对照组各指标比较所得

表 2 重度烧伤组患者各时间点及健康对照组志愿者血钙与血磷及血清中相关指标比较

组别与时间点	例/人数	25 羟维生素 D [ng/mL, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	白蛋白(g/L, $\bar{x} \pm s$ )	PTH[pg/mL, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	血钙[mmol/L, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	血磷[mmol/L, $M(P_{25}, P_{75})$ ]
健康对照组	10	15.49(13.24,17.98)	43 ± 4	11.44(9.24,14.58)	2.23(2.12,2.37)	1.09(0.77,1.56)
重度烧伤组	30					
伤后 1 d		11.85(10.37,14.43)	34 ± 9	212.53(143.34,236.03)	2.14(1.95,2.21)	0.88(0.65,1.18)
伤后 7 d		13.59(12.02,17.09)	31 ± 5	214.73(187.44,413.70)	2.08(1.97,2.16)	0.90(0.79,1.13)
伤后 14 d		14.06(11.01,18.41)	29 ± 5	191.50(177.28,221.35)	2.13(2.04,2.21)	1.18(0.98,1.42)
伤后 21 d		13.71(11.21,16.41)	31 ± 4	184.24(139.07,309.53)	2.14(2.06,2.23)	1.41(1.19,1.56)
伤后 28 d		15.76(12.88,20.38)	33 ± 4	208.29(165.01,335.06)	2.14(2.07,2.26)	1.38(1.24,1.55)
$Z_1/t_1$ 值		-2.749	-4.374	-4.685	-2.375	-1.328
$P_1$ 值		0.006	0.004	<0.001	0.018	0.184
$Z_2/t_2$ 值		-0.890	-7.689	-4.685	-3.455	-0.453
$P_2$ 值		0.373	<0.001	<0.001	0.001	0.651
$Z_3/t_3$ 值		-0.875	-8.257	-4.685	-2.442	-0.828
$P_3$ 值		0.382	<0.001	<0.001	0.015	0.408
$Z_4/t_4$ 值		-1.812	-7.651	-4.654	-2.016	-1.812
$P_4$ 值		0.070	<0.001	<0.001	0.044	0.070
$Z_5/t_5$ 值		-0.484	-6.259	-4.685	-1.846	-1.813
$P_5$ 值		0.628	<0.001	<0.001	0.065	0.070

注:25 羟维生素 D 正常值为  $> 30$  ng/mL,白蛋白正常值为 35 ~ 54 g/L,甲状旁腺激素(PTH)正常值为 18.18 ~ 78.18 pg/mL,血钙、血磷正常值分别为 2.2 ~ 2.7、0.97 ~ 1.45 mmol/L;白蛋白处理因素主效应,  $F = 58.716, P < 0.001$ ;时间因素主效应,  $F = 5.380, P = 0.008$ ;两者交互作用,  $F = 1.762, P = 0.180$ ;25 羟维生素 D、PTH、血钙、血磷两两比较统计量为  $Z$  值,白蛋白两两比较统计量为  $t$  值; $Z_1/t_1$  值、 $P_1$  值、 $Z_2/t_2$  值、 $P_2$  值、 $Z_3/t_3$  值、 $P_3$  值、 $Z_4/t_4$  值、 $P_4$  值、 $Z_5/t_5$  值、 $P_5$  值分别为重度烧伤组伤后 1、7、14、21、28 d 与健康对照组各指标比较所得

### 3 讨论

RANKL 由成骨细胞表达并释放,通过与破骨前体细胞上表达的受体核因子  $\kappa$ B 受体激活蛋白(RANK)特异性结合后,将信号转入细胞内,促进破

骨细胞增殖、分化及增强骨细胞吸收活性<sup>[13-14]</sup>。而成骨细胞分泌的护骨因子是 RANKL 的诱骗受体,竞争性结合 RANKL,阻断 RANK 下游信号通路,抑制破骨细胞形成,从而防止骨质流失<sup>[15-16]</sup>。因此,

RANKL/护骨因子比值决定了破骨细胞生成、分化,影响骨密度。Klein 等<sup>[17]</sup>通过以羊为研究对象的实验观察到,在烧伤早期,骨骼上出现明显的骨吸收陷窝及骨密度下降,证实了烧伤导致的早期骨吸收作用。本研究中重度烧伤组患者血清护骨因子、RANKL 水平均在伤后 24 h 内即出现明显升高,且在伤后 7、14、21、28 d, RANKL/护骨因子比值均明显高于健康对照组志愿者,说明重度烧伤可促进机体破骨细胞的生成,增强骨吸收作用。烧伤后患者体内释放大量糖皮质激素及炎症介质如 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  等,可诱导 RANKL 的表达<sup>[18-19]</sup>,促使成骨细胞减少、破骨细胞增多,破坏骨组织稳态<sup>[20]</sup>。此外,持续升高的 PTH 会诱导骨骼的分解代谢作用,增加 RANKL mRNA 和降低护骨因子 mRNA,促进骨吸收<sup>[21-22]</sup>,笔者推测这可能是烧伤后 RANKL/护骨因子比值升高的另一重要原因。

维生素 D 可促进小肠及肾小管钙、磷离子吸收,对维持骨骼健康至关重要<sup>[23]</sup>。人体皮肤是合成维生素 D 的重要场所<sup>[24]</sup>,广泛的皮肤烧伤及瘢痕形成使皮肤合成维生素 D 的能力下降,而且防日光照射及压力衣覆盖等防治措施使皮肤内维生素 D 合成不足,最终使得患者出现长期性的维生素 D 缺乏<sup>[25-26]</sup>。有研究表明,烧伤后患者补充外源性维生素 D 可在一定程度上降低烧伤后骨折发生率<sup>[27]</sup>。因此,维生素 D 缺乏仍是烧伤患者早期骨质流失、骨密度下降的主要原因之一。血清 25 羟维生素 D 水平是评估维生素 D 的主要标准,其在体内主要与维生素 D 结合蛋白和白蛋白结合。烧伤早期液体复苏和炎症反应可能导致血清维生素 D 结合蛋白及白蛋白水平被稀释、向间质内渗出、肾丢失和创面丢失等,致使循环维生素 D 水平下降<sup>[28]</sup>。本研究中,虽然重度烧伤组患者伤后各时间点血清白蛋白水平均明显低于健康对照组志愿者;但是 25 羟维生素 D 仅在伤后 1 d 明显低于健康对照组志愿者,伤后 7、14、21、28 d 无明显改变,说明重度烧伤患者维生素 D 在伤后 24 h 后有所回升。值得注意的是,本研究中,重度烧伤组患者伤后各时间点和健康对照组志愿者血清 25 羟维生素 D 水平均低于正常值。这可能与我国健康人群普遍存在维生素 D 缺乏有关<sup>[29]</sup>。笔者无法确认重度烧伤会对循环中维生素 D 水平造成持续性影响,推测烧伤患者早期维生素 D 缺乏可能与伤情存在一定关系。

PTH 可增加尿钙重吸收、抑制尿磷重吸收并调节维生素 D 在肾脏的活化和代谢<sup>[30]</sup>。有动物研究

显示,烧伤后机体释放大量炎症介质诱导甲状旁腺钙离子敏感受体表达上调,体内钙-PTH 轴紊乱,造成甲状旁腺功能减退,血钙降低,尿钙升高<sup>[31-32]</sup>。但本研究中重度烧伤组患者循环 PTH 持续处于较高水平,与文献报道中烧伤动物出现甲状旁腺功能减退的研究结果<sup>[32-33]</sup>不一致。虽然临床治疗中会进行个体化钙磷等电解质支持治疗及利尿治疗,但本研究中重度烧伤组患者血钙水平仍在伤后 1、7、14、21 d 持续低于健康对照组志愿者,然而血磷水平基本处于正常范围,说明烧伤早期骨质流失在一定程度上与低血钙有关。

综上所述,重度烧伤患者伤后早期血清中护骨因子/RANKL 和钙磷离子调控相关指标水平出现明显异常, RANKL/护骨因子比值升高提示烧伤早期骨代谢平衡向骨吸收转移。血清白蛋白、25 羟维生素 D 降低及 PTH 升高可能干扰机体钙离子代谢,最终导致低血钙并刺激骨钙向循环内释放<sup>[33-34]</sup>。此外,持续升高的 PTH 可增加 RANKL 和降低护骨因子,最终促进破骨效应。鉴于重度烧伤后第 1 天的血清指标在一定程度上受大量液体复苏的干扰<sup>[35]</sup>,本研究分析对比了伤后 1、7、14、21、28 d 的血清指标变化,以上多个时间点的检测结果均表明患者在烧伤后 1 个月内存在骨稳态失衡和钙磷调控相关指标异常,一定程度上揭示了早期骨质流失的发病机制。可见,临床治疗对检测指标的干扰是有限的。在临床研究中,重度烧伤患者常出现不同程度的感染、肝肾功能异常等无法纳入分析,因此,有关重度烧伤患者血清骨代谢指标的研究尚需进一步扩大样本。此外,护骨因子、RANKL 可在多种组织内表达<sup>[36]</sup>,血清指标并不能完全反映骨组织护骨因子/RANKL mRNA 及蛋白表达变化,且又无法对烧伤患者骨组织进行直接检测,因此未来需要通过动物实验进一步深入研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Kaewboonchoo O, Sung FC, Lin CL, et al. Hip fracture risk in patients with burn injury: a retrospective cohort study in Taiwan [J]. *Osteoporos Int*, 2017, 28(12):3415-3420. DOI:10.1007/s00198-017-4209-7.
- [2] Mayes T, Gottschlich M, Scanlon J, et al. Four-year review of burns as an etiologic factor in the development of long bone fractures in pediatric patients [J]. *J Burn Care Rehabil*, 2003, 24(5):279-284. DOI:10.1097/01.BCR.0000085844.84144.E0.
- [3] Leblebici B, Sezgin N, Ulsan SN, et al. Bone loss during the acute stage following burn injury [J]. *J Burn Care Res*, 2008, 29(5):763-767. DOI: 10.1097/BCR.0b013e31818480f4.
- [4] 龚翔,谢卫国.烧伤后骨代谢异常[J].中华烧伤杂志, 2016,

- 32(8):502-504. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2016.08.015.
- [5] Auger C, Samadi O, Jeschke MG. The biochemical alterations underlying post-burn hypermetabolism[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2017, 1863(10 Pt B):2633-2644. DOI: 10.1016/j.bbdis.2017.02.019.
- [6] Sardone LD, Renlund R, Willett TL, et al. Effect of rosiglitazone on bone quality in a rat model of insulin resistance and osteoporosis[J]. *Diabetes*, 2011, 60(12):3271-3278. DOI:10.2337/db10-1672.
- [7] Nagy V, Penninger JM. The RANKL-RANK story[J]. *Gerontology*, 2015, 61(6):534-542. DOI:10.1159/000371845.
- [8] 施彦龙,李应福,谢兴文,等. BMP/Smads、OPG/RANK/RANKL 信号通路及骨质疏松关系的研究进展[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2020, 26(4):600-604. DOI:10.3969/j.issn.1006-7108.2020.04.026.
- [9] Blau JE, Collins MT. The PTH-Vitamin D-FGF23 axis[J]. *Rev Endocr Metab Disord*, 2015, 16(2):165-174. DOI:10.1007/s11154-015-9318-z.
- [10] 蒋南红,王德运,席毛毛,等. 纤维支气管镜气道灌洗治疗特重度烧伤合并重度吸入性损伤患者的回顾性研究[J]. *中华烧伤杂志*, 2020, 36(4):252-259. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20191203-00451.
- [11] 戚欣欣,杨云稀,孙炳伟. 严重烧伤患者早期外周血中性粒细胞趋化功能变化及影响因素[J]. *中华烧伤杂志*, 2020, 36(3):204-209. DOI:10.3760/cma.j.cn501120-20190801-00329.
- [12] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 骨代谢生化标志物临床应用指南[J]. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*, 2015, 8(4):283-293. DOI:10.3969/j.issn.1674-2591.2015.04.001.
- [13] 张云云,梁新月,闫建设. OPG/RANKL/RANK:联系骨骼系统与免疫系统的纽带[J]. *自然杂志*, 2020, 42(2):102-107. DOI:10.3969/j.issn.0253-9608.2020.02.005.
- [14] Safarova SS. Alterations of bone metabolism in patients with diabetes mellitus[J]. *Int J Endocrinol*, 2019, 2019:5984681. DOI:10.1155/2019/5984681.
- [15] Znorko B, Pawlak D, Oksztulska-Kolanek E, et al. RANKL/OPG system regulation by endogenous PTH and PTH1R/ATF4 axis in bone: implications for bone accrual and strength in growing rats with mild uremia[J]. *Cytokine*, 2018, 106:19-28. DOI: 10.1016/j.cyto.2018.03.002.
- [16] Jørgensen HS, Winther S, Böttcher M, et al. Bone turnover markers are associated with bone density, but not with fracture in end stage kidney disease: a cross-sectional study[J]. *BMC Nephrol*, 2017, 18(1):284. DOI:10.1186/s12882-017-0692-5.
- [17] Klein GL, Xie YX, Qin YX, et al. Preliminary evidence of early bone resorption in a sheep model of acute burn injury: an observational study[J]. *J Bone Miner Metab*, 2014, 32(2):136-141. DOI:10.1007/s00774-013-0483-4.
- [18] Walsh MC, Choi Y. Biology of the RANKL-RANK-OPG system in immunity, bone, and beyond[J]. *Front Immunol*, 2014, 5:511. DOI:10.3389/fimmu.2014.00511.
- [19] 陈懿,袁太珍,陈晟. 血清 OPG、RANKL、PDGFs、BMP-2、BMP-7、TGF- $\beta$ 1、bFGF 水平与骨折愈合的关系[J]. *中国伤残医学*, 2020, 28(8):8-10. DOI:10.13214/j.cnki.cjotadm.2020.08.005.
- [20] Klein GL. Burn-induced bone loss: importance, mechanisms, and management[J]. *J Burns Wounds*, 2006, 5(5):e5.
- [21] Silva BC, Bilezikian JP. Parathyroid hormone: anabolic and catabolic actions on the skeleton[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2015, 22:41-50. DOI:10.1016/j.coph.2015.03.005.
- [22] Znorko B, Oksztulska-Kolanek E, Michałowska M, et al. Does the OPG/RANKL system contribute to the bone-vascular axis in chronic kidney disease? A systematic review[J]. *Adv Med Sci*, 2017, 62(1):52-64. DOI:10.1016/j.advms.2016.08.001.
- [23] Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, et al. Estimates of optimal vitamin D status[J]. *Osteoporos Int*, 2005, 16(7):713-716. DOI:10.1007/s00198-005-1867-7.
- [24] Baggerly CA, Cuomo RE, French CB, et al. Sunlight and vitamin D: necessary for public health[J]. *J Am Coll Nutr*, 2015, 34(4):359-365. DOI:10.1080/07315724.2015.1039866.
- [25] Klein GL, Chen TC, Holick MF, et al. Synthesis of vitamin D in skin after burns[J]. *Lancet*, 2004, 363(9405):291-292. DOI: 10.1016/S0140-6736(03)15388-3.
- [26] Rousseau AF, Damas P, Ledoux D, et al. Effect of cholecalciferol recommended daily allowances on vitamin D status and fibroblast growth factor-23: an observational study in acute burn patients[J]. *Burns*, 2014, 40(5):865-870. DOI: 10.1016/j.burns.2013.11.015.
- [27] Mayes T, Gottschlich MM, Khoury J, et al. Investigation of bone health subsequent to vitamin D supplementation in children following burn injury[J]. *Nutr Clin Pract*, 2015, 30(6):830-837. DOI:10.1177/0884533615587720.
- [28] Rech MA, Hidalgo DC, Larson J, et al. Vitamin D in burn-injured patients[J]. *Burns*, 2019, 45(1):32-41. DOI:10.1016/j.burns.2018.04.015.
- [29] Wahl DA, Cooper C, Ebeling PR, et al. A global representation of vitamin D status in healthy populations[J]. *Arch Osteoporos*, 2012, 7:155-172. DOI:10.1007/s11657-012-0093-0.
- [30] Yu XH, Yu HL, Jiang NN, et al. PTH (1-34) affects bone turnover governed by osteocytes exposed to fluoride[J]. *Toxicol Lett*, 2018, 288:25-34. DOI:10.1016/j.toxlet.2018.02.014.
- [31] Murphey ED, Chattopadhyay N, Bai M, et al. Up-regulation of the parathyroid calcium-sensing receptor after burn injury in sheep: a potential contributory factor to postburn hypocalcemia[J]. *Crit Care Med*, 2000, 28(12):3885-3890. DOI:10.1097/00003246-200012000-00024.
- [32] Kaewboonchoo O, Sung FC, Lin CL, et al. Risk of osteoporosis and fracture in victims with burn injury[J]. *Osteoporos Int*, 2019, 30(4):837-843. DOI:10.1007/s00198-018-04818-2.
- [33] 高欣,仇红霞,王菊娟,等. 血清钙离子浓度及白蛋白水平在继发性噬血细胞性淋巴瘤组织细胞增多症中的临床意义[J]. *中华血液学杂志*, 2017, 38(12):1031-1035. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.12.005.
- [34] 申意伟,徐西林,张晓峰,等. 酒精对骨组织代谢影响机制的研究进展[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2020, 26(2):298-301. DOI:10.3969/j.issn.1006-7108.2020.02.030.
- [35] Shou BM, Li JQ, Tang CQ, et al. The significance of changes in platelet concentration during the early phase after severe burn injury in a Chinese mass casualty[J]. *Burns Trauma*, 2017, 5:36 [2019-06-16]. <https://academic.oup.com/burnstrauma/article/doi/10.1186/s41038-017-0101-0/5680316?searchresult=1>. DOI:10.1186/s41038-017-0101-0.
- [36] Anastasilakis AD, Tsoli M, Kaltsas G, et al. Bone metabolism in Langerhans cell histiocytosis[J]. *Endocr Connect*, 2018, 7(7):R246-R253. DOI:10.1530/EC-18-0186.

(收稿日期:2019-06-16)

**本文引用格式**

龚翔,叶子青,张伟,等. 重度烧伤患者早期血清护骨因子/核因子  $\kappa$  B 受体激活蛋白配体和钙磷相关指标的变化[J]. *中华烧伤杂志*, 2020, 36(8):704-709. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20190616-00272.

Gong X, Ye ZQ, Zhang W, et al. Changes in serum osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand and related indexes of calcium and phosphorus in the early stage of severe burn patients[J]. *Chin J Burns*, 2020, 36(8):704-709. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20190616-00272.