

· 综述 ·

危重病强化胰岛素治疗与内皮细胞保护研究进展

张万福 胡大海

传统观念认为,胰岛素作为一种调节性激素,几乎作用于全身所有的组织细胞,主要调节细胞的糖、蛋白质、脂肪三大营养物质的代谢和贮存。随着对胰岛素信号转导机制的深入研究,不同类型转导途径中的系列级联反应逐步明确,人们观察到胰岛素除具有调节物质代谢、治疗糖尿病的功能外,还可发挥更为重要的作用:促进细胞生长增殖,抑制细胞凋亡^[1],此方面研究使人们开始重新认识胰岛素。笔者就危重病外源性胰岛素干预的保护效应及内皮细胞在其中的地位和作用作一综述。

1 胰岛素与多脏器功能保护

在缺血性心脏病的治疗中,葡萄糖-胰岛素-钾极化液(GIK)作为细胞代谢调节剂用于辅助治疗已有约 40 年的历史,其疗效逐渐得到肯定。1998 年拉丁美洲心脏学研究中心协助组做了“溶栓治疗时代最大的 GIK 临床试验”,结果显示:与对照组比较,GIK 治疗组患者死亡、严重心力衰竭和非致死性心室颤动的发生率降低了 40%;再灌注时 GIK 治疗组急性心肌梗死(AMI)患者的病死率为 5.2%,低于对照组(15.2%),相对危险度为 0.34,即危险度降低 66%;在 1 年的随访中还观察到,经再灌注治疗的 AMI 患者中,应用大剂量 GIK 治疗的患者病死率较对照组明显降低;同时观察到,AMI 患者接受 GIK 治疗越早,疗效越明显,且治疗后无血容量过多或血糖、血钾水平异常^[2]。关于 GIK 治疗缺血性心脏病的机制,高峰等^[3]的实验显示,心肌缺血再灌注(MI/R)4 h,心肌组织可检测到明显的 DNA 梯度条带,表明此时缺血心肌中存在大量的凋亡细胞;而 GIK 组和胰岛素组 DNA 梯度条带减少,同时心肌收缩(舒张)功能得以改善;葡萄糖-钾极化液组与等渗盐水对照组无明显差异。这些结果提示,胰岛素抗凋亡、保护缺血心肌细胞的作用可能是 GIK 降低心肌梗死发生率、保护缺血心脏的重要机制之一。随后在培养的心肌细胞、离体灌流心脏^[4]和整体 MI/R

动物^[5]等多项实验中均证实,胰岛素发挥着抗凋亡、促修复、促细胞生存等显著的心肌保护作用。

有关脓毒症动物模型的研究表明,胰岛素干预后肝脏合成的白蛋白增多,急性期反应蛋白明显减少,血清中天氨酸转氨酶和丙氨酸转氨酶水平降低,同时肝组织中的细胞凋亡蛋白酶水平降低,肝组织的形态和功能均受到明显保护^[6]。严重烧伤后,同样观察到胰岛素干预具有保护肝脏的作用:肝脏中合成促炎性细胞因子 mRNA 水平较对照组明显降低^[7]。胰岛素尚能改善严重烧伤后机体的负氮平衡,减少由此引发的肌肉萎缩^[8],并促进创面胶原沉积,加速上皮化过程,从而促进和加速创面愈合^[9]。此外,适时的胰岛素干预对危重疾病中的肠、肾及脑组织也具有抗凋亡等细胞保护作用。外科手术对重症监护病房(ICU)患者进行强化胰岛素治疗的前瞻性研究显示,用该方法将血糖控制在一定水平后,能明显降低菌血症的发生率、急性肾功能衰竭需持续透析治疗的风险、机械辅助通气时间、ICU 患者住院时间及病死率,其中由多器官功能衰竭(MOF)并发全身炎症反应综合征或脓毒症而引起患者死亡的病例明显减少^[10,11]。Krisley^[12]在危重患者强化胰岛素治疗的前瞻性临床试验中得到相似的结果。总之,胰岛素的多器官保护作用已逐渐被认识并受到重视,因此重新探讨其作用及机制显得尤为必要,成为相关领域关注的一个热点。

2 胰岛素与内皮细胞保护

血管内皮细胞衬覆于机体整个循环系统的血管内壁,构成血管通透的主要屏障,且能够表达黏附分子,合成调节凝血、纤维蛋白溶解的物质以及一氧化氮(NO)、白细胞介素 6(IL-6)等多种细胞因子,其结构与功能损伤或失常是休克、器官损伤等众多疾病发生、发展的病理基础。有研究表明,内皮细胞不仅仅是严重创伤炎症反应中被动的靶细胞,也是一种效应细胞:血管通透性增高是内皮细胞活化及损伤过程中的重要表现;内皮细胞相关分子如内皮素、NO 在血管伸缩性调节中也发挥着关键作用,尤其在微循环的调节中具有重要功能;内皮细胞损伤后,

作者单位:710032 西安,第四军医大学西京医院全军烧伤中心
通讯作者:胡大海, Email: burns@ fmmu. edu. cn, 电话: 029 - 84775298

激活的血小板—中性粒细胞—内皮细胞之间的相互作用进一步加重组织受损程度^[11]。在 MI/R 研究中观察到,内皮细胞凋亡的发生要早于心肌细胞^[13],内皮细胞的有效保护可明显减轻心血管及组织损伤^[14]。这些均提示 MI/R 后内皮细胞的先期损伤可能是后续心肌及其他组织凋亡的触发器。有关急性肺损伤及严重创伤的研究表明,内皮细胞的有效保护同样对减轻相应器官、组织的损伤程度以及降低死亡率具有重要意义^[15,16]。因此,危重病患者内皮细胞的有效保护可减轻或最终决定多器官受损及预后情况。

MI/R 时轻微的冠状动脉血流改善也会明显减轻心肌损伤。由内皮细胞诱导产生的 NO 可引起血管平滑肌舒张,MI/R 动物体内由血管内皮细胞生成的 NO 明显减少,GIK 或胰岛素干预后内皮细胞凋亡明显减轻,同时 NO 含量增加,使冠状动脉舒张血流增加,心血管功能明显改善。根据胰岛素能促进冠状动脉功能恢复的机制,可认为 AMI 患者采取 GIK 治疗时,胰岛素发挥了关键作用^[17]。内皮细胞损伤后的高表达分子——胞间黏附分子 1(ICAM-1) 和 E 选择素在危重病患者中均持续性增加,此与 MOF 的发生和病死率呈正相关。在多种危重病患者强化胰岛素治疗的过程中可观察到,循环系统中 ICAM-1 和 E 选择素水平明显降低,能有效抑制内皮细胞过度活化,从而发挥多器官保护作用,显著改善患者预后情况和生存率^[11]。这些研究进一步提示内皮细胞在胰岛素治疗作用新机制中可能发挥重要的桥梁作用,胰岛素通过有效维护血管内皮细胞的完整性,减轻炎症反应、渗出等有害因素的干扰,从而发挥后续多器官功能保护作用。

3 胰岛素的作用机制

3.1 NO 调节内皮细胞保护机制

NO 作为一种内源性血管舒张因子,由血管内皮细胞释放,具有调节血管张力的作用。NO 在许多生理和病理过程中均发挥着重要的作用,且具有保护和损伤细胞的双重特性(很大程度上决定于 NO 的量和作用的细胞类型)。一氧化氮合酶包括内皮型一氧化氮合酶(eNOS)、神经元型一氧化氮合酶(nNOS)及诱导型一氧化氮合酶(iNOS)。前两者为钙依赖型,其中 eNOS 主要分布在血管内皮细胞,而 nNOS 主要分布在神经细胞。iNOS 主要分布于病理情况下的巨噬细胞、血管平滑肌细胞等。有学者提出,具有组织活性的 eNOS 和 nNOS 通常催化合

成短暂、少量的 NO,在损伤早期的许多生理性自稳态过程中发挥积极作用,对组织细胞产生一种生理性保护效应;iNOS 通常持续催化合成大量的 NO,高水平的 NO 产生细胞毒性作用。iNOS 活性主要见于损伤中、后期,更趋于介入促进细胞死亡的有害反应过程,从而参与机体的病理损伤^[18]。

胰岛素新机制的研究中,内皮细胞的重要性已显现出来。胰岛素如何产生内皮细胞保护作用,其中 NO 作用逐渐被重视,但尚存在不同说法。

3.1.1 胰岛素—磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI-3K)—Akt (也称蛋白激酶 B)—eNOS 途径 PI-3K 通路被认为是胰岛素信号转导的主要路径,Akt 为该通路的关键分子。近年来离体细胞与活体研究均表明,胰岛素作用于心肌细胞膜相应受体,经细胞内特异信号转导途径 PI-3K 通路激活 Akt,而该作用可被 PI-3K 特异性抑制剂阻断^[4,5]。这一“生存”信号可直接“活化”心肌细胞,发挥抗凋亡、促修复、促细胞生存作用,即体现胰岛素—PI-3K—Akt 这一新的“细胞生存信号机制”^[19]。进一步研究表明,胰岛素通过 PI-3K—Akt 途径激活心肌中的 eNOS,该作用使心肌 NO 生成增加,参与了胰岛素诱导的抗 MI/R 心肌细胞凋亡、保护缺血心肌的作用^[20]。体外培养的内皮细胞经胰岛素干预后同样可激活 eNOS 而使 NO 含量增加^[21]。这些研究证实,胰岛素诱导的内源性 eNOS-NO 系统的激活与抗凋亡等细胞保护作用间关系密切,此途径产生有效的内皮细胞保护作用,是胰岛素发挥心肌保护效应的重要环节^[17]。

3.1.2 胰岛素对 iNOS 的抑制效应 有研究表明,危重病患者强化胰岛素治疗后效果明显,主要机制是机体过量的 NO 产生毒性损伤作用,胰岛素治疗通过抑制 iNOS 的激活而使 NO 生成减少,发挥内皮细胞保护作用,从而提高患者生存率^[11]。

不同试验得出几乎相反的结论。分析表明 NO 是作用的共同环节,但何种途径为主要机制,是否为机体损伤后不同时相点下胰岛素通过不同的作用路径共同发挥内皮细胞保护作用,尚需进一步研究。

3.2 炎症应答调控机制

炎症应答中单核巨噬细胞产生的核因子 κ B (NF- κ B) 是重要的促炎始动介质之一,进入细胞核可促进核中促炎蛋白基因的转录,这其中包括肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、IL-6、IL-8 及基质金属蛋白酶类 (MMPs) 等炎症介质,从而产生炎症反应和机体损伤作用。研究表明,胰岛素可降低多种主要促炎转录因子(包括 NF- κ B 在内)的表达水平,从而使它

们调节的相关分子,如单核细胞化学引诱物蛋白 1、ICAM-1、明胶酶 A(即 MMP-2)、明胶酶 B(即 MMP-9)和凝血致活酶的基因表达水平亦随之降低^[22]。多个实验证实,胰岛素干预后多种促炎因子(TNF- α 、IL-6、IL-1 等)水平明显降低,从而减轻机体炎性反应,发挥包括内皮细胞在内的多器官组织细胞保护作用^[23,24]。此外,胰岛素舒张血管和抑制血小板聚集是其抗炎作用的原因之一,而内皮细胞中 eNOS 诱导产生的 NO 及内皮细胞本身完整性得到有效保护,是胰岛素具有该作用的关键^[22]。

3.3 其他

传统治疗中,胰岛素的血糖调节作用是被关注的重点;在危重病患者强化胰岛素治疗中,血糖的变化水平同样为人们所重视。有学者认为,高血糖具有促炎作用,与胰岛素的保护机制相反,所以胰岛素的机体保护作用一定程度上要归功于其降血糖作用^[22]。但也有报道称,危重病患者采用胰岛素治疗之后,在血糖水平无明显降低的情况下,同样发挥机体保护作用,提示血糖变化在胰岛素机体保护作用中并非关键因素^[23]。综合分析,前一种观点更被广泛接受,并有多篇文献报道^[10,12,24],但胰岛素物质代谢与细胞保护作用的相互联系与区别以及具体的调控机制如何,目前尚无明确解释。

4 结语

综上所述,胰岛素对机体的作用远不止作为一种调节性激素那么简单。大量观察结果提示,胰岛素细胞保护作用的共性及其受体在体内多种组织细胞中存在的广泛性,说明它在危重患者的治疗中可能有广阔的应用前景。同时内皮细胞的结构与功能变化,无论在胰岛素作用效果评价还是在机制研究中,均成为重要的环节之一,其是否为胰岛素新机制中的枢纽,值得进一步探讨。

参考文献

- [1] 陈家伦. 胰岛素信号转导及临床意义(上). 国外医学内分泌学分册, 2002, 22(1): 1-4.
- [2] Diaz R, Paolasso EA, Piegas LS, et al. Metabolic modulation of acute myocardial infarction. The ECLA (Estudios Cardiologicos Latinoamerica) Collaborative Group. *Circulation*, 1998, 98(21): 2227-2234.
- [3] 高峰, 施东伟, 王小明, 等. 极化液对缺血/再灌大鼠心肌细胞死亡及心脏功能的影响: 胰岛素的关键作用. *中华内科杂志*, 2003, 42(3): 148-152.
- [4] Jonassen AK, Sack MN, Mjos OD, et al. Myocardial protection by insulin at reperfusion requires early administration and is mediated via Akt and p70s6 kinase cell-survival signaling. *Circ Res*, 2001, 89(12): 1191-1198.
- [5] 高峰, 闫文莉, 张海锋, 等. 胰岛素抑制缺血-再灌大鼠心肌细胞凋亡及其信号转导机制. *中华内科杂志*, 2003, 42(3): 153-156.
- [6] Jeschke MG, Rensing H, Klein D, et al. Insulin prevents liver damage and preserves liver function in lipopolysaccharide-induced endotoxemic rats. *J Hepatol*, 2005, 42(6): 870-879.
- [7] Klein D, Schubert T, Horch RE, et al. Insulin treatment improves hepatic morphology and function through modulation of hepatic signals after severe trauma. *Ann Surg*, 2004, 240(2): 340-349.
- [8] Solomon V, Madihally S, Mitchell RN, et al. Antiproteolytic action of insulin in burn-injured rats. *J Surg Res*, 2002, 105(2): 234-242.
- [9] Madihally SV, Solomon V, Mitchell RN, et al. Influence of insulin therapy on burn wound healing in rats. *J Surg Res*, 2003, 109(2): 92-100.
- [10] van den Berghe G, Wouters P, Weekers F, et al. Intensive insulin therapy in the critically ill patients. *N Engl J Med*, 2001, 345(19): 1359-1367.
- [11] Langouche L, Vanhorebeek I, Vlasselaers D, et al. Intensive insulin therapy protects the endothelium of critically ill patients. *J Clin Invest*, 2005, 115(8): 2277-2286.
- [12] Krinsley JS. Effect of an intensive glucose management protocol on the mortality of critically ill adult patients. *Mayo Clin Proc*, 2004, 79(8): 992-1000.
- [13] Scarabelli T, Stephanou A, Rayment N, et al. Apoptosis of endothelial cells precedes myocyte cell apoptosis in ischemia/reperfusion injury. *Circulation*, 2001, 104(3): 253-256.
- [14] Laude K, Thuillez C, Richard V. Coronary endothelial dysfunction after ischemia and reperfusion: a new therapeutic target? *Braz J Med Biol Res*, 2001, 34(1): 1-7.
- [15] 杨颖乔, 刘晓晴. 血管内皮细胞与急性肺损伤. *中国急救医学*, 2004, 24(6): 434-437.
- [16] 杨宗城. 烧伤后血管内皮细胞损伤及其在早期脏器损害中的作用. *中华烧伤杂志*, 2001, 17(3): 133-135.
- [17] Ma H, Zhang HF, Yu L, et al. Vasculoprotective effect of insulin in the ischemic/reperfused canine heart: role of Akt-stimulated NO production. *Cardiovasc Res*, 2006, 69(1): 57-65.
- [18] Nicotera P, Brune B, Bagetta G. Nitric oxide: inducer or suppressor of apoptosis? *Trends Pharmacol Sci*, 1997, 18(6): 189-190.
- [19] 钱学贤. 极化液、胰岛素保护缺血/再灌注的新机制——又一个老药新观点的典范. *中华内科杂志*, 2003, 42(3): 145-147.
- [20] Gao F, Gao E, Yue TL, et al. Nitric oxide mediates the antiapoptotic effect of insulin in myocardial ischemia-reperfusion: the roles of PI3-Kinase, Akt, and endothelial nitric oxide synthase phosphorylation. *Circulation*, 2002, 105(12): 1497-1502.
- [21] Federici M, Menghini R, Mauriello A, et al. Insulin-dependent activation of endothelial nitric oxide synthase is impaired by O-linked glycosylation modification of signaling proteins in human coronary endothelial cells. *Circulation*, 2002, 106(4): 466-472.
- [22] Dandona P, Mohanty P, Chaudhuri A, et al. Insulin infusion in acute illness. *J Clin Invest*, 2005, 115(8): 2069-2072.
- [23] Jeschke MG, Klein D, Herndon DN. Insulin treatment improves the systemic inflammatory reaction to severe trauma. *Ann Surg*, 2004, 239(4): 553-560.
- [24] Krogh-Madsen R, Moller K, Dela F, et al. Effect of hyperglycemia and hyperinsulinemia on the response of IL-6, TNF- α , and FFAs to low-dose endotoxemia in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2004, 286(5): 766-772.

(收稿日期: 2006-03-28)

(本文编辑: 莫愚)