

· 烧伤后早期脏器损害 ·

# 胰岛素强化治疗对烫伤大鼠心肌保护作用的研究

吕根法 陈璧 张万福 王耘川 蔡维霞 汤朝武 朱雄翔 董茂龙 胡大海



【摘要】 目的 了解胰岛素强化治疗对重度烫伤大鼠心肌的保护作用,并探讨其作用机制。

方法 将 18 只 SD 大鼠分为 3 组,每组 6 只。强化组及烫伤组大鼠背部脱毛造成 30% TBSA 的Ⅲ度烫伤。强化组伤后即输注胰岛素等渗盐水(含胰岛素 0.12 U/ml)及 100 g/L 葡萄糖,使大鼠血糖水平控制在 4.0~6.6 mmol/L 之间,补液总量为 2 ml·kg<sup>-1</sup>·%TBSA<sup>-1</sup>·8 h<sup>-1</sup>;烫伤组伤后仅给予等渗盐水,总量同前。假伤组模拟烫伤,伤后补充生理量的液体。于伤前及伤后 1、2、3、4、5、6 h 抽取大鼠静脉血测定其血糖值。各组大鼠伤后均经右颈动脉插管入左心室并连接生理记录仪,观察左心室收缩压(LVSP)及左心室舒张末期压(LVEDP)。伤后 6 h,处死各组大鼠,留取左心室组织标本用于心肌细胞肌钙蛋白 T 的检测。结果 烫伤组大鼠伤后 1~6 h 的血糖值为(7.6±1.7)~(8.4±4.7) mmol/L,均高于强化组[(4.5±0.9)~(5.2±1.3) mmol/L, P<0.01]。伤后 1 h,烫伤组 LVSP [(60±11) mm Hg(1 mm Hg=0.133 kPa)]降低、LVEDP [(21.3±11.3) mm Hg]升高,与强化组 [(72±8)、(11.7±5.2) mm Hg]比较,差异有统计学意义(P<0.05)。烫伤后各组大鼠肌钙蛋白 T 在心肌细胞内大量缺失,而强化组缺失程度明显低于烫伤组(P<0.05)。结论 胰岛素强化治疗对重度烫伤大鼠左心室功能具有明显的保护作用,此作用可能与抑制心肌细胞蛋白的缺失有关。

【关键词】 胰岛素; 肌细胞,心脏; 肌钙蛋白 T

The protective effect of intensive insulin treatment on the myocardium in severely scalded rats LV Gen-fa, CHEN Bi, ZHANG Wan-fu, WANG Yun-chuan, CAI Wei-xia, TANG Chao-wu, ZHU Xiong-xiang, DONG Mao-long, HU Da-hai. Center of Burn Surgery, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, P. R. China

Corresponding author: HU Da-hai, Email: burns@fmmu.edu.cn, Tel: 029-84775293

【Abstract】 Objective To study the protective effect of intensive insulin treatment on the myocardium of severely scalded rats, and to primarily explore its mechanism. Methods Eighteen SD rats were divided into three groups, with 6 rats in each group. The rats in burn and intensive insulin group were inflicted with 30% TBSA full-thickness injury on the back. Isotonic saline containing 0.12 U/ml insulin solution, and 100 g/L glucose solution were infused into the rats in the intensive insulin group to keep plasma glucose at the level of 4.0~6.6 mmol/L (the total fluid amount was 2 ml·kg<sup>-1</sup>·8 h<sup>-1</sup>). In sham burn group, fluid was given according to physiological demand. The same amount of isotonic saline was infused into the rats in burn group. The venous blood was obtained for the detection of plasma glucose contents, and the left ventricular systolic pressure (LVSP) and left ventricular end-diastolic pressure (LVEDP) were recorded via aortic ventricle cannula before scald and at 1, 2, 3, 4, 5, 6 post-scald hours (PSH). The tissue of the left ventricle was harvested at 6 PSH for the detection of troponin T expression in myocardiocytes. Results Plasma glucose level was increased to (7.6±1.7) mmol/L ~ (8.4±4.7) mmol/L in burn group during 1-6 PSH, which was significantly higher than that in intensive insulin group (4.5±0.9) mmol/L ~ (5.2±1.3) mmol/L, P<0.01. Compared with the intensive insulin group, LVSP was markedly decreased in the burn group (60±11 mm Hg vs 72±8 mm Hg, P<0.05) at 1 PSH, whereas LVEDP was increased significantly (21.3±11.3 mmHg vs 11.7±5.2 mmHg, P<0.05). Intensive insulin treatment could significantly inhibit the loss of troponin T protein in myofilaments of myocardium. Conclusion Intensive insulin treatment possesses a protective effect on myocardial function after severe burns, and it may be related to its preventive effect on the loss of contractile protein in cardiocytes.

【Key words】 Insulin; Myocytes, cardiac; Troponin T

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-

84775293

重度烧伤后早期由于心肌缺血、缺氧,造成心肌细胞的损害和心功能不全,形成“休克心”<sup>[1]</sup>,由此给抗休克治疗带来较大的困难,并进一步加重机体组织器官的缺血、缺氧,最终导致多器官功能障碍综

合征的发生。如何保护心肌细胞及增强心功能成功救治重度烧伤的关键。近年来的研究显示,心脏在缺血、缺氧时,胰岛素具有显著的心肌细胞保护作用<sup>[2]</sup>,胰岛素强化治疗能够明显降低重度烧伤患者的病死率<sup>[3]</sup>,但其机制尚不清楚。为此,笔者就胰岛素强化治疗对重度烫伤大鼠心肌力学的保护作用进行了研究,拟探讨其作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂与仪器

肌钙蛋白 T(福州迈新生物技术有限公司),蛋白质印迹化学发光试剂盒(北京碧云天生物技术有限公司),辣根过氧化物酶标记的二抗(武汉博士德生物工程有限公司),组织细胞裂解液(北京塞弛生物技术有限公司),八道生理记录仪(成都仪器公司),血糖仪(美国强生公司),Alphalmager TM2200 型凝胶图像分析系统(美国安莱公司)。

### 1.2 动物模型及分组

健康雄性 SD 大鼠(第四军医大学实验动物中心)18 只,体质量 200 ~ 250 g。将大鼠分为 3 组,每组 6 只。强化组及烫伤组背部脱毛后置 95 °C 热水中 18 s,造成 30% TBSA 的 III 度烫伤(经病理切片证实)。强化组伤后即输注胰岛素等渗盐水(含胰岛素 0.12 U/ml)及 100 g/L 葡萄糖,使大鼠血糖水平控制在 4.0 ~ 6.6 mmol/L,补液总量为 2 ml · kg<sup>-1</sup> · %TBSA<sup>-1</sup> · 8 h<sup>-1</sup>;烫伤组伤后仅给予等渗盐水,总量同前。假伤组置于 37 °C 温水 18 s,模拟烫伤,伤后给予生理量(10 ml · kg<sup>-1</sup> · 8 h<sup>-1</sup>)的常规液体,其余处理同烫伤组。各组大鼠伤后均经右颈动脉插管入左心室,行心脏功能的监测,同时行右颈外静脉插管,并接三腔管,用于输入液体和药物。于伤前及伤后 1、2、3、4、5、6 h 抽取大鼠静脉血待测。伤后 6 h 处死大鼠,留取左心室组织标本待测。

### 1.3 检测指标

**1.3.1 血糖** 用手持式血糖仪测定各组大鼠各时相点血糖水平。

**1.3.2 心脏功能的监测** 采用八道生理记录仪连

接右颈动脉插管以记录各时相点反映左心室收缩功能的左心室收缩压(LVSP)及反映左心室舒张功能的左心室舒张末期压(LVEDP)。

**1.3.3 免疫组织化学观察** 将组织切片常规脱蜡后,采用生物素-链霉亲和素-辣根过氧化物酶法行心肌组织肌钙蛋白 T 检测。图像分析仪扫描,计算平均吸光度(A)值。

**1.3.4 蛋白质印迹法检测肌钙蛋白含量** 在心肌组织中加入组织细胞裂解液,匀浆提取蛋白,用 4,4'-二羧酸-2,2'-二喹啉法定量,以每泳道 40 μg 蛋白上样,经聚丙烯酰胺凝胶电泳后,半干转膜、封闭,加入肌钙蛋白 T 抗体,4 °C 过夜,加入辣根过氧化物酶标记的二抗,化学发光、显影、压片,灰度扫描,以各灰度值与正常灰度值的比值表示。每组重复测 3 次。

### 1.4 统计学处理

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 10.0 统计软件行方差分析及 t 检验。

## 2 结果

### 2.1 血糖

伤后 1 h 烫伤组大鼠血糖升高,并持续至实验结束均高于假伤组( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。强化组伤后各时相点血糖均低于烫伤组( $P < 0.01$ )。见表 1。

### 2.2 心脏功能

伤后 1 h 烫伤组大鼠 LVSP、LVEDP 即降低或升高。强化组伤后 1 h LVSP、LVED 亦有改变,但明显高于或低于烫伤组( $P < 0.05$ )。见表 2。

### 2.3 免疫组织化学观察

假伤组大鼠心肌细胞内肌钙蛋白 T 均有表达,A 值为 2.4 ± 0.7;强化组 A 值为 1.6 ± 0.4,明显高于烫伤组( $P < 0.05$ );烫伤组心肌细胞存在片状的肌钙蛋白 T 表达缺失,其 A 值为 0.9 ± 0.4。见图 1。

### 2.4 肌钙蛋白定量

强化组、烫伤组心肌组织肌钙蛋白 T 的表达均明显低于假伤组。但强化组肌钙蛋白 T 表达的灰度比 0.78 ± 0.19 明显高于烫伤组(0.58 ± 0.23,  $P < 0.05$ )。见图 2。

表 1 各组大鼠血糖变化情况(mmol/L,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数 (只)	伤前	伤后时间(h)					
			1	2	3	4	5	6
假伤组	6	6.4 ± 0.5	6.3 ± 1.4	6.9 ± 0.7	6.7 ± 0.9	6.0 ± 0.5	5.9 ± 0.8	6.1 ± 0.8
强化组	6	6.2 ± 2.0	5.1 ± 0.8 <sup>bc</sup>	4.5 ± 0.9 <sup>bc</sup>	4.8 ± 1.9 <sup>bc</sup>	5.1 ± 1.3 <sup>bc</sup>	5.1 ± 1.3 <sup>bc</sup>	5.2 ± 1.3 <sup>bc</sup>
烫伤组	6	6.2 ± 1.8	7.6 ± 1.7 <sup>a</sup>	8.3 ± 2.6 <sup>a</sup>	8.5 ± 3.0 <sup>b</sup>	7.7 ± 0.9 <sup>b</sup>	7.9 ± 1.2 <sup>b</sup>	8.4 ± 4.7 <sup>b</sup>

注:与假伤组比较,a:  $P < 0.05$ ,b:  $P < 0.01$ ;与烫伤组比较,c:  $P < 0.01$

表 2 各组大鼠心室功能的变化(mm Hg,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数 (只)	左心室功能 指标	伤前	伤后时间(h)					
				1	2	3	4	5	6
假伤组	6	LVSP	119 ± 25	105 ± 18	129 ± 13	114 ± 30	97 ± 18	109 ± 16	102 ± 17
		LVEDP	6.3 ± 0.7	2.7 ± 3.2	3.8 ± 2.7	6.2 ± 4.3	5.6 ± 4.9	9.6 ± 6.4	7.8 ± 3.9
强化组	6	LVSP	109 ± 23	72 ± 8 <sup>a</sup>	90 ± 19 <sup>b</sup>	80 ± 19 <sup>b</sup>	77 ± 8 <sup>a</sup>	87 ± 5 <sup>b</sup>	83 ± 7 <sup>b</sup>
		LVEDP	5.3 ± 2.9	11.7 ± 5.2 <sup>a</sup>	8.8 ± 6.0 <sup>b</sup>	15.2 ± 6.1 <sup>a</sup>	14.6 ± 4.6 <sup>a</sup>	14.2 ± 8.4 <sup>b</sup>	8.1 ± 1.9 <sup>b</sup>
烫伤组	6	LVSP	107 ± 15	60 ± 11	61 ± 13	61 ± 7	63 ± 3	67 ± 6	60 ± 8
		LVEDP	6.6 ± 2.7	21.3 ± 11.3	24.5 ± 5.8	24.0 ± 9.0	31.0 ± 15.4	27.9 ± 12.3	24.5 ± 8.1

注:LVSP 为左心室收缩压,LVEDP 为左心室舒张末期压;1 mm Hg = 0.133 kPa;与烫伤组比较,a: P < 0.05,b: P < 0.01



图 1 各组大鼠心肌细胞肌钙蛋白 T 表达情况 生物素-链霉亲和素-辣根过氧化物酶 × 200。a. 假伤组心肌细胞内肌钙蛋白 T 均有表达;b. 强化组心肌细胞肌钙蛋白 T 表达有所缺失;c. 烫伤组心肌细胞存在片状的肌钙蛋白 T 表达缺失

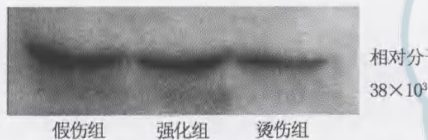


图 2 各组大鼠心肌组织肌钙蛋白 T 表达情况

### 3 讨论

心肌细胞的早期损害是引起烧伤后心功能不全的主要原因<sup>[1]</sup>。心肌细胞的损伤程度、心功能可否及时恢复,直接影响休克期的平稳度过,并最终决定预后。研究表明,胰岛素具有抗炎、抗损伤及维持心肌正常结构与功能的作用,胰岛素通过调节细胞的“生存信号”,促进细胞修复和生存,但是常规胰岛素并不能有效抑制重度烧伤的代谢紊乱,而胰岛素强化治疗能够降低严重烧(创)伤后多器官功能不全的发病率和病死率<sup>[3]</sup>。胰岛素强化治疗在烧伤后如何发挥心肌细胞保护作用尚不十分清楚。重度烧伤后存在高血糖及胰岛素抵抗等代谢紊乱综合征,高血糖不但可直接对心肌细胞产生损伤作用,而且是一种重要的致炎因子,对心肌细胞产生过氧化和炎性损害。在重度烧伤后,由于胰岛素抵抗,常规胰岛素并不能有效抑制高血糖反应。本实验通过胰岛素强化治疗将血糖控制在正常水平。

左心室的功能是决定外周组织灌注量的重要因素,心肌细胞结构的完整性及功能蛋白的正常存在是提供心脏泵功能的基础。在重度烧伤后,LVSP 及

LVEDP 均有改变,说明心肌细胞在烧伤后其功能受到严重损害。VanEyK 等<sup>[4]</sup>的研究表明,心脏在缺血再灌注损伤后,心肌细胞的骨架蛋白及收缩蛋白均受到破坏。肌钙蛋白 T 是调节心脏肌肉收缩的肌钙蛋白复合体组成成分之一,负责使复合体与肌凝蛋白结合,协调肌丝 Ca<sup>2+</sup> 浓度依赖性腺苷三磷酸(ATP) 酶活性<sup>[5]</sup>。肌钙蛋白 T 的表达与肌原纤维的 ATP 酶活性及肌丝对钙的敏感性、对肌小节长度的调节和与钙的结合有关。肌钙蛋白 T 的缺失,表明心肌细胞产生力学基础的心肌收缩蛋白,在烧伤后存在明显的缺失。本实验中观察到,肌钙蛋白 T 在烧伤后心肌细胞中表达明显降低。因此心肌细胞结构及组成单位的破坏,可能是重度烧伤后心肌力学功能下降的重要原因。胰岛素强化治疗能够明显降低心肌细胞收缩蛋白的缺失,可能是其发挥左心室功能保护作用的基础。故胰岛素强化治疗应在重度烧伤后早期应用,可明显减轻心肌细胞的损害程度及心肌收缩蛋白的缺失,部分恢复并维持心肌细胞的收缩、舒张功能,在伤后的抗休克治疗中具有重要的意义。

### 参考文献

[1] 黄跃生. 烧伤后早期心肌损害的分子机制及防治研究进展. 中华烧伤杂志, 2004, 20 (5): 257 - 259.  
 [2] Devos P, Chioloero R, Van den Berghe G, et al. Glucose, insulin and myocardial ischaemia. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2006, 9(2): 131 - 139.

- [3] Andreelli F, Jacquier D, Troy S. Molecular aspects of insulin therapy in critically ill patients. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2006, 9(2): 124 - 130.
- [4] VanEyck JE, Powers F, Law W, et al. Breakdown and release of myofibrillar proteins during ischemia and ischemia/reperfusion in rat hearts: identification of degradation products and effects in the pCa-force relation. *Circ Res*, 1998, 82(2): 261 - 271.
- [5] Galan A, Curoso A, Corominas A. Value of troponins in acute coronary syndrome in patients with renal failure. *Med Clin (Barc)*, 2004, 123(14): 551 - 556.

(收稿日期: 2006-09-18)

(本文编辑: 张红)

## · 病例报告 ·

## 氢氟酸烧伤合并重度吸入性损伤一例

李孝建 张志 汪锦伦 黄粤 梁蓉 霍丽贞 钟棉

患者男, 28 岁。因装盛氢氟酸(体积分数为 55%)的容器爆裂致头面部、前胸及四肢烧伤。伤后即用水冲洗创面 2~3 min, 1 h 后收入笔者单位。入院时患者烦躁不安, 体温 37.2℃, 脉搏 89 次/min, 呼吸 32 次/min。双眼角膜混浊, 口腔黏膜苍白, 双肺呼吸音粗糙。头面部、左小腿、右大腿创面呈灰白色或皮革样, 表面有散在斑点状黑色坏死灶, 双前臂及前胸部创面基底苍白。诊断: 氢氟酸烧伤 12%, 其中 III 度 8%、深 II 度 4% TBSA; 吸入性损伤。

患者入院后立即给予补液、抗感染等治疗。查血钙 1.4 mmol/L。静脉推注 100 g/L 葡萄糖酸钙 20 ml, 创面用氯化钙、硫酸镁、碳酸氢钠溶液湿敷, 同时痂下注射 100 g/L 葡萄糖酸钙 150 ml。入院后患者胸闷、呼吸困难逐渐加重, 经皮血氧饱和度下降, 双肺布满湿性啰音, 胸部 X 线片提示: 吸入性肺炎。血气分析结果提示低氧血症。随即行气管切开、机械通气、雾化吸入、静脉推注地塞米松等治疗。患者低氧血症缓解。伤后 6~7 h 患者脉搏减慢为 50~60 次/min, 心电图示 Q-T 间期延长, 手足抽搐。查血钙为 0.4~0.6 mmol/L。遂给予 100 g/L 葡萄糖酸钙 50 ml/h 持续静脉滴注, 再次创面注射 100 g/L 葡萄糖酸钙 150 ml。伤后 12 h, 患者血钙基本稳定, 停止补钙。至此共静脉补充 100 g/L 葡萄糖酸钙 360 ml、局部注射 300 ml。

伤后 2 d 行纤维支气管镜检查, 见双侧肺叶及主支气管黏膜苍白、水肿。给予强心利尿, 继续呼吸机辅助通气。伤后 24 h 患者躯干、右上肢和左腹股沟等采血部位出现皮下淤血。查血示: 血小板减少, 凝血时间延长, 血清尿素氮、肌酐升高。经补充血浆, 注射止血药及其他对症治疗等, 患者病情逐渐稳定, 双肺呼吸音清晰。伤后 3 d 停用呼吸机, 伤后 4 d 行创面切痂异体皮覆盖术, 伤后 8 d 移植自体皮, 同时额部创面颅骨外露处予以邻近旋转皮瓣修复。住院 37 d 患者痊愈出院。

**讨论** 氢氟酸是一种腐蚀性较强的无机酸, 与皮肤接触时, 氟离子即穿透皮肤使皮肤组织坏死, 氟离子与组织中的钙离子结合形成氟化钙引起低血钙<sup>[1]</sup>。低血钙可导致神经、肌肉的兴奋性增高, 出现抽搐、心肌收缩力减弱、心律失常

等, 如果补钙不及时, 常导致死亡。氟离子与血红蛋白结合成氟血红蛋白, 影响细胞呼吸功能。氟离子还干扰体内酶的活性, 使细胞能量代谢发生障碍<sup>[1]</sup>。氢氟酸烧伤后, 很快发生低钙血症<sup>[2]</sup>。本例患者刚入院时出现低血钙, 伤后 4~6 h 血钙进行性下降。早期快速大剂量补钙是抢救氟中毒成功的关键。有文献报道, 7 ml 氢氟酸能结合机体内所有的游离钙, 每吸收 1 ml 氢氟酸需补钙 15 g<sup>[3]</sup>。本例患者伤后 12 h 静脉补钙 36 g, 局部注射 30 g。局部注射钙时应注意, 针头须从正常皮肤缘刺入, 以免由创面直接刺入将氢氟酸带入深层组织加重损伤。

氢氟酸在浓度大于 48% 时易产生气体(氟化氢), 吸入该气体后支气管黏膜和肺组织进行性破坏, 可导致肺水肿<sup>[3]</sup>。本例为重度吸入性损伤, 入院后患者很快出现肺水肿, 行气管切开后, 从气道内吸出渗液 50 ml。故及时行气管切开, 保持呼吸道通畅也是救治的关键。同时给予雾化吸入、强心、利尿等措施治疗肺水肿。有同行建议氢氟酸吸入性损伤时, 用钙剂雾化吸入可达到一定的治疗效果, 但可能对气管黏膜有刺激性<sup>[3]</sup>。糖皮质激素可抑制蛋白水解酶及其辅酶的活性, 从而减轻氢氟酸的进行性破坏。因此治疗时可应用糖皮质激素。氟离子吸收后, 分布在组织器官和体液内, 从而抑制多种酶的活性。吸收中毒严重影响各脏器的生理功能<sup>[3]</sup>。本例患者凝血系统和肾功能受到影响, 但这种影响是可逆性的, 在氟中毒纠正后, 通过综合治疗, 脏器功能逐渐恢复。

## 参考文献

- [1] Hatzifotis M, Williams A, Muller M, et al. Hydrofluoric acid burns. *Burns*, 2004, 30(2): 156 - 159.
- [2] 姜明, 徐德生, 吴彤, 等. 严重氢氟酸烧伤一例. *中华烧伤杂志*, 2005, 21(6): 409.
- [3] Dunser MW, Ohlbauer M, Rieder J, et al. Critical care management of major hydrofluoric acid burns: a case report, review of the literature, and recommendations for therapy. *Burns*, 2004, 30(4): 391 - 398.

(收稿日期: 2006-08-04)

(本文编辑: 张红)

作者单位: 510220 广州市红十字会医院烧伤整形科