

· 论著摘要 ·

肿瘤坏死因子 α 对严重烫伤小鼠骨骼肌葡萄糖摄取量的影响

王占科 许霖水 胡新勇 柴长春

创伤包括烧(烫)伤后,机体内产生胰岛素抵抗效应,使其促进糖有效利用和在其他能量代谢方面的能力下降。葡萄糖胞内转运是其被有效利用的首要环节,有文献报道,创伤后的胰岛素抵抗效应与胰岛素刺激下的葡萄糖胞内转运障碍有关^[1],但始动机制尚不完全清楚。关于肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 对创伤后葡萄糖胞内转运的影响,国内外报道不多。笔者以严重烫伤小鼠为模型,探讨 TNF- α 在创伤后胰岛素抵抗效应中的作用,为临床防治胰岛素抵抗提供实验依据。

一、材料与方 法

1. 动物模型与分组:封闭群昆明小鼠(第三军医大学实验动物中心)60只,体重(20 \pm 2)g,雌雄不拘,随机分为正常对照组、烫伤对照组和烫伤治疗组,每组20只。烫伤治疗组和烫伤对照组小鼠背部剃毛,沸水浸泡5s,造成30% TBSA III度烫伤。烫伤治疗组伤后按3mg/kg剂量尾静脉注射TNF- α 单克隆抗体(TNF- α -McAb,北京军事医学科学院),3次/d,连续3d;烫伤对照组和正常对照组以相同方法注射等量等渗盐水。

2. 离体骨骼肌2-脱氧葡萄糖(2-DG)摄取量的测定:参考Challiss等^[2]的方法进行。处死各组动物,分离比目鱼肌,称取100mg肌束于Krebs-Ringer碳酸盐缓冲液(KRBB)中。部分肌束不加入胰岛素,用以测量基础(-ins)葡萄糖摄取量;部分肌束加入终浓度为1.0 μ mol/L的胰岛素(美国Sigma公司),用以测量胰岛素刺激下的(+ins)葡萄糖摄取量。随后用体积分数95% O₂ + 5% CO₂供气,37 $^{\circ}$ C振荡预温1h,加入1.85 \times 10⁴Bq³H-2-DG(上海核技术开发研究所)和1.5nmol/L 2-DG(德国Serva公司),继续保温30min。洗涤肌束,转移至液闪瓶中,消化,加助溶剂乙二醇乙醚和闪烁液[含2,5-二苯基恶唑(PPO)0.5g,对次苯基恶唑(POPOP)0.2g,甲苯1000ml并混匀],置暗室过夜。应用KLB-1217型自动液体闪烁计数仪(瑞典LKB公司)测定放射性。另用煮沸变性肌肉的测定结果代表细胞外间隙的葡萄糖摄取量和非特异性吸收值。结果以每毫克组织每分钟摄取2-DG的pmol数表示。

3. 统计学分析:各组数据均表示为 $\bar{x} \pm s$,先经单因素方差分析,差异有显著性意义($P < 0.05$)者,进行组间差异性比较。

二、结果

烫伤对照组 - ins 葡萄糖摄取量明显高于正常对照组 ($P < 0.05$),葡萄糖摄取增加量[(+ins 葡萄糖摄取量) - (-ins 葡萄糖摄取量)]却明显低于正常对照组 ($P < 0.01$)。烫伤治疗组 - ins 葡萄糖摄取量明显低于烫伤对照组 ($P < 0.05$),但葡萄糖摄取增加量明显高于烫伤对照组

($P < 0.01$)。见表1。

表1 3组小鼠的 - ins 葡萄糖摄取量、+ ins 葡萄糖摄取量 (pmol \cdot min⁻¹ \cdot mg组织⁻¹, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	- ins 葡萄糖 摄取量	+ ins 葡萄糖 摄取量	葡萄糖摄取 增加量
正常对照组	20	18.51 \pm 3.28	70.85 \pm 10.80	52.34 \pm 9.79
烫伤对照组	20	28.11 \pm 9.20*	44.96 \pm 7.22	16.85 \pm 7.02**
烫伤治疗组	20	21.00 \pm 6.90 Δ	53.19 \pm 11.37	32.19 \pm 11.30 $\Delta\Delta$

注:葡萄糖摄取增加量=(+ins 葡萄糖摄取量)-(-ins 葡萄糖摄取量);与正常对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与烫伤对照组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

三、讨论

胰岛素刺激下的葡萄糖细胞内摄取是糖有效利用的限速步骤。本研究中,小鼠烫伤后肌肉 - ins 葡萄糖摄取量明显增加,这与酵母多糖诱导的胰岛素抵抗表现相一致^[3],但此时 + ins 葡萄糖摄取量却明显受到抑制,说明骨骼肌葡萄糖摄取对胰岛素反应性降低。此为创伤后胰岛素抵抗效应的重要机制。

创伤后,机体血液中多种细胞因子水平升高,TNF- α 是重要的细胞因子之一^[4]。创伤早期肠源性感染或创面感染可引起内毒素血症,此为创伤后血浆 TNF- α 水平升高的重要原因。有文献证实,创伤应激状态下机体 TNF- α 基因表达水平对内毒素刺激的敏感性升高,微量内毒素能迅速启动 TNF- α 的超表达^[5]。为探讨 TNF- α 升高是否为诱导创伤后骨骼肌胰岛素抵抗的重要因素,笔者采用 TNF- α -McAb 以中和烫伤小鼠外周血中的 TNF- α ,结果显示与烫伤对照组相比,其 - ins 葡萄糖摄取量明显下降,+ ins 葡萄糖摄取量升高,由此说明应用 TNF- α -McAb 可明显提高烫伤小鼠骨骼肌葡萄糖摄取对胰岛素的反应性。据文献报道,TNF- α 能够使正常条件下骨骼肌的 - ins 葡萄糖摄取加快,+ ins 葡萄糖摄取受到抑制^[6],本研究结果与之一致。

TNF- α 可导致创伤机体产生胰岛素抵抗,同时使 - ins 葡萄糖摄取量增加,造成细胞内葡萄糖堆积和乳酸升高,此为引起休克和多器官功能衰竭的重要原因。TNF- α 使 - ins 葡萄糖摄取量增加并不能说明它可促进葡萄糖的有效利用。TNF- α 一方面可促进葡萄糖的胞内转移,同时还可抑制葡萄糖的有氧氧化,使胞内葡萄糖生成乳酸,后者通过糖异生途径又转化为葡萄糖,即“葡萄糖循环”。葡萄糖循环是体内的一种无效代谢,造成乳酸升高,给机体带来不良影响。

TNF- α 引起的胰岛素抵抗与受胰岛素调控的葡萄糖转移体4(GluT4)下调及其功能改变有关。TNF- α 可能直接影响 GluT4 的基因转录和 mRNA 的稳定性,亦可能是通过影响胰岛素受体信号传导所致^[7]。TNF- α 能促进 - ins 葡萄糖的摄取,可能与其能改变骨骼肌细胞膜的通透性有关^[8]。

参 考 文 献

- 1 毛旭虎,许霖水,吴喜贵.严重烫伤大鼠骨骼肌葡萄糖摄取障碍机制的研究.第三军医大学学报,1996,18:1.
- 2 Challiss RAJ, Stephens JM, Lang CH, et al. Effect of the β -adreno-

作者单位:330002 南昌,解放军第九十四医院检验科(王占科,胡新勇,柴长春);第三军医大学基础部生物化学教研室(许霖水)

- ceptor agonist isoprenaline on insulin-sensitivity in soleus muscle of the rat. *Biochem J*, 1986, 233:377.
- 3 Petit F, Svedbeng J, Bassara H, et al. TNF mediates zymosan-induced increase in glucose flux and insulin resistance. *Am J Physiol*, 1995, 268:219.
- 4 匡新建, 马克嫫, 段体武. 严重烧伤患者早期几种细胞因子的变化意义. *中华烧伤杂志*, 2002, 18:302-304.
- 5 Minei JP, Williams JC, Hill SJ, et al. Augmented tumor necrosis factor response to lipopolysaccharide after thermal injury is regulated posttranscriptionally. *Arch Surg*, 1994, 129:1198-1203.

- 6 Khanna S, Packer L, Sen CK, et al. Cytokine-induced glucose uptake in skeletal muscle; redox regulation and the role of alpha-lipoic acid. *Am J Physiol*, 1999, 276:1327-1333.
- 7 王占科. TNF α 与胰岛素抵抗. *国外医学临床生化与检验学分册*, 1996, 17:173.
- 8 Battelino T, Goto M, Yoshioka T, et al. TNF alpha decreases gluconeogenesis in hepatocytes isolated from 10-day-old rats. *Pediatric Research*, 2001, 49:552-557.

(收稿日期:2002-02-19)
(本文编辑:莫 愚 罗 勤)

· 经验交流 ·

治疗热钢筋贯穿烧伤 32 例

李士民 常贵华 姜文荃

1989 年 3 月~2001 年 12 月,笔者单位共收治 32 例热钢筋贯穿烧伤男性患者,年龄 20~39 岁。烧伤部位:左前臂 6 例,左小腿 9 例,右小腿 7 例,右大腿 4 例,左足 3 例,右足 3 例。入院时间为伤后 1 h~3 d,深 II、III 度,创面大小(6 cm × 7 cm)~(12 cm × 18 cm)。合并休克 1 例。

行硬膜外或臂丛麻醉,在出入口之间沿贯穿通道平行方向纵行切开,变闭合创面为开放创面,彻底清除烧焦的坏死组织,保留间生态组织。全层切除出入口处 III 度烧伤组织至健康的皮下组织,结扎活动出血点。用 2% 双氧水、0.1% 新洁尔灭、等渗盐水依次反复冲洗创面,青霉素纱布湿敷创面 10~15 min(青霉素过敏者用庆大霉素),依次缝合能够修复的断裂肌肉、肌腱,根据创面基底情况选择皮瓣或自体皮移植,必要时低位放置引流管。本组患者有 11 例行邻近皮瓣转移术,6 例行交腿超薄皮瓣转移术后植皮,15 例行大张自体皮移植。经治疗均 I 期愈合,功能恢复良好。

典型病例:患者男,35 岁,左足被热钢筋贯穿烧伤后 1 h 入院。查体:体温 36.8℃,烧伤总面积 1% TBSA。创面分布于左足底,深及跖骨,烧伤组织呈焦炭状,足趾麻木,末梢循环差,皮肤温度低于健侧,足背仅残余 7 cm² 健康皮肤。血常规检查:白细胞 10.10 × 10⁹/L,红细胞 4.84 × 10¹²/L,血红蛋白 170 g/L。诊断:左足烧伤 1% TBSA, III 度。伤后第 2 天在持续硬膜外麻醉下行左足清创、交腿皮瓣移植术,手术在气囊止血带下进行;术中见部分趾短屈肌、拇展肌炭化;足底方肌部分坏死,足趾间蚓状肌呈间生态状,足底内、外侧动脉断裂,内、外侧神经损伤,第 1~5 趾长屈肌腱断裂,第 1~5 跖骨外露,部分骨质炭化(图 1)。彻底清除烧焦坏死组织,用骨凿凿除炭化的跖骨骨密质至渗血,保留间生态组织。全层切除周边烧伤组织至健康的皮下组织,松止血带后结扎活动性出血点。用 3% 双氧水、0.1% 新洁尔灭、等渗盐水依次冲洗创面,青霉素纱布湿敷创面 10 min,可见 10 cm × 12 cm 创面。印取创面纸样,依纸样设计右小腿前内侧为蒂,内后侧带部分腓肠肌的 12 cm × 12 cm 横行筋膜皮瓣,腓肠肌用

来填塞左足创底缺损。皮瓣周边缝合固定于创面,供瓣区用鼓式取皮机切取右大腿中厚皮回植。抗生素纱布及无菌敷料包扎,石膏架固定双膝关节及双小腿,观察皮瓣血运。术后 3 周断蒂,皮瓣成活良好(图 2)。半年后随访,外形及功能恢复满意。



图 1 左足 III 度热钢筋贯穿伤



图 2 皮瓣转移后存活良好

讨论 热钢筋温度高达 1000℃,贯穿速度为 15 m/s,是机械暴力所致皮肤及软组织损伤的基础上以热钢筋为中心的环形烧伤,多见烧伤四肢。本组患者均为青壮年男性,烧伤部位均在四肢,同时累及周围的肌肉、肌腱,但未伤及肢体重要的血管和神经。若遇该种烧伤患者,临床上应首先检查是否有大血管损伤,在病情允许的情况下力争及早手术,不但能缩短病程,而且能及早地促进创面愈合和功能恢复。

(收稿日期:2002-07-02)

(本文编辑:苟学萍)

作者单位:450042 郑州,解放军第一五三医院烧伤整形科