文章编号:1000-5404(2007)19-1863-03

论著

犬体外循环心肌胰岛素抵抗过程中肿瘤坏死因子-α的变化

梁贵友[1],蔡庆勇[1],牛义民[1],王 攀[2],高振宇[1],宋宣统[1] (遵义医学院附属医院:[1]胸心外科,[2]同位素科,遵义 563003)

提 要:目的 探讨犬体外循环(cardiopulmonary bypass, CPB)心肌胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)过程中的血清肿瘤坏死因子-α(TNF-α)水平变化及其作用。**方法** 12条健康杂种犬,随机分成Ⅰ组(主动脉阻断30 min,$n=6$),Ⅱ组(主动脉阻断120 min,$n=6$)。分别于转流前、开放主动脉后15、45、75 min时采集动脉血标本,比较相应时点血浆葡萄糖、胰岛素、TNF-α及计算胰岛素抵抗指数(IRI)的变化。**结果** 缺血再灌注后血浆葡萄糖、胰岛素及胰岛素抵抗指数不同程度明显增高,于再灌注15~45 min达峰值,心肌对葡萄糖的摄取、利用严重障碍,与Ⅰ组比较,Ⅱ组上述指标增高程度更重、持续更久。同时血清TNF-α明显增加,在主动脉开放15 min达到峰值,并且在75 min仍持续较高水平,较CPB前明显增加,差异有显著性($P<0.05$)。与Ⅰ组比较,Ⅱ组TNF-α上升更明显、持续更久。**结论** 在体外循环中存在明显的心肌IR现象,TNF-α可能是产生心肌IR的重要因素之一。

关键词:体外循环;肿瘤坏死因子-α;缺血再灌注;心肌;胰岛素抵抗
中图法分类号:R36;R458.5;R654.1 **文献标识码**:A

Changes of serum tumor necrosis factor-alpha during myocardial insulin resistance in dogs undergoing cardiopulmonary bypass

LIANG Gui-you[1], CAI Qing-yong[1], NIU Yi-min[1], WANG Pan[2], GAO Zhen-yu[1], SONG Xuan-tong[1] ([1]Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, [2]Department of Isotope, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, China)

Abstract: **Objective** To investigate the changes of tumor necrosis factor-α(TNF-α) and its role in myocardial insulin resistance (IR) during cardiopulmonary bypass(CPB) in dogs. **Methods** Twelve mongrel dogs undergoing CPB were equally divided into 2 groups at random: group Ⅰ, recelving aortic cross-clamping for 30 min and group Ⅱ, aortic cross-clamping for 120 min. The plasma concentrations of glucose, insulin, TNF-α and the change of insulin resistance index(IRI) were detected before CPB, reperfusion for 15 min, 45 min and 75 min, respectively. **Results** After myocardial ischemia-reperfusion, the plasma concentrations of glucose, insulin and IRI were all significantly increased and reached their peak levels during reperfusion for 15 min and 45 min in comparison with pre-bypass levels ($P<0.05$). Meanwhile there was severe dysfunction in myocardial glucose uptaking and utilization. In comparison with group Ⅰ, the increased degree of those indexes was more obvious and lasted longer time in group Ⅱ. After ischemia reperfusion, TNF-α increased obviously, reached their peak points 15 min after being declamped, and remained a high level within 75 min as compared with pre-bypass ($P<0.05$). Compared with group Ⅰ, the rise of TNF-α in group Ⅱ was more evident and lasted longer. **Conclusion** The phenomenon of myocardial insulin resistance exists after myocardial ischemia-reperfusion during extracorporeal circulation. TNF-α plays an important role in myocardial insulin resistance undergoing cardiopulmonary bypass.

Key words: cardiopulmonary bypass; tumor necrosis factor-alpha; ischemia-reperfusion; myocardium; insulin resistance

体外循环(cardiopulmonary bypass,CPB)缺血再灌注机体胰岛素抵抗的同时,也存在心肌胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)现象[1,2],但发生机制未明。机体的肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)水平异常增高导致相应机体的IR[3,4]。但心肌胰岛素抵抗过程中TNF-α水平的变化少见有关报道。本研究通过犬心肺转流缺血再灌注的模型,初步探讨TNF-

基金项目:贵州省优秀科技教育人才省长基金[(2003)04号-2]
Supported by the Governor's Funds for Excellent Sci & Tech Teachers of Guizhou (2003-04-2)
作者简介:梁贵友(1966-),男,贵州省兴仁县人,博士,教授,主要从事胸心血管外科疾病的基础和临床方面的研究。电话:(0852)8609160,E-mail: guiyou515@163.com
收稿日期:2006-12-01;修回日期:2007-01-09

α 在体外循环心肌胰岛素抵抗中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

12 条健康杂种犬，体质量(12.8±2.26) kg，由遵义医学院外科动物实验室提供。依据体外循环主动脉阻断时间分为两组：Ⅰ组($n=6$)，主动脉阻断 30 min；Ⅱ组($n=6$)，主动脉阻断 120 min。

1.2 实验方法

犬腹腔注射戊巴比妥钠 25 mg/kg，意识消失后，气管插管机械通气，VT 12～15 ml/kg，F15 次/min，术中连续监测 ECG，左股动脉切开监测平均动脉压(MAP)，左股静脉切开建立输液通道。胸部正中切口进胸，“人”型切开心包，右心房内注射肝素 3 mg/kg，依次行左锁骨下动脉，右心房分别插管，建立体外循环。灌注 4 ℃ St. Thomas 停搏液，每 30 分钟灌注 1 次，灌注量均为 10 ml/kg。CPB 机内以 706 代血浆及复方氯化钠预充，灌注量 80 ml·kg^{-1}·min^{-1}，维持 MAP 60～80 mmHg (1 mmHg=0.133 kPa)。“∪”型褥式缝合法[5]采集冠状静脉窦血。实验中分别于 CPB 转流前，开放主动脉后 15、45、75 min 测定冠状静脉窦血流量，并同时采集动脉、冠状静脉窦血标本 6 ml。其中 2 ml 立即行血浆葡萄糖代谢测定(Olympus AU-2700 全自动生化分析仪，氧化酶法)，1 ml 立即行红细胞压积(HCT)测定。其余 -20 ℃保存；放射免疫法测定血浆胰岛素浓度；酶联免疫法测定血清 TNF-α 浓度。测量数据由中科大中佳公司的自动放免仪器 GC-2010 型 γ 计数器计量完成。试剂盒分别购自北京北方生物技术研究所及天津协和医药公司。计算胰岛素抵抗指数 IRI=(FPG×FINS)/22.5[6]；为排除 CPB 中血液稀释因素对测定值的影响，所有测定值按如下公式校正：校正值=实测值×[转流前 HCT/取样时 HCT][7]。

1.3 统计学分析

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示，采用 SPSS 12.0 统计软件进行。组内各时点均数多重比较单因素方差分析的 LSD 检验，方差不齐时用 Games-Howell 检验，同一时点冠状动脉与冠状静脉窦浓度差异的比较配对 t 检验，组间比较两个独立样本的 t 检验。

2 结果

2.1 缺血再灌注后血浆胰岛素、动脉血糖的变化

CPB 后血浆胰岛素浓度均有不同程度明显增高，其中于再灌注 15～45 min 达峰值($P<0.05$)。Ⅱ组与Ⅰ组比较，胰岛素增高更明显，持续时间更长、恢复更慢。再灌注 15 min，血浆葡萄糖浓度均显著增高达峰值，Ⅱ组比Ⅰ组更明显，统计学差异非常显著，至再灌注 75 min 血糖才有所下降，但均未恢复转流前水平。结果见表 1。

2.2 IRI 的变化

再灌注 15 min，两组 IRI 上升均达峰值，与转流前比较差异有显著性($P<0.01$)；再灌注 75 min，Ⅰ组 IRI 明显降低，Ⅱ组仍处于较高水平；同一时点Ⅱ组比Ⅰ组更高，持续时间更长，差异有显著性。结果见表 1。

2.3 TNF-α 的变化

CPB 心肌缺血再灌注 15 min 外周血浆 TNF-α 浓度均不同程度明显增高达峰值，到再灌注 45 min 两组均有下降趋势，但在再灌注 75 min 均未恢复 CPB 前，与转流前比较，差异有统计学意义($P<0.01$)。Ⅱ组与Ⅰ组比较，再灌注后Ⅱ组 TNF-α 浓度较Ⅰ组增高更明显，持续时间更长，下降更慢($P<0.05$)。结果见表 1。

表 1 围手术期动脉血糖、血浆胰岛素、胰岛素抵抗指数、TNF-α 测定结果($\bar{x}\pm s$)

指标	转流前	主动脉开放后		
		15 min	45 min	75 min
动脉血糖浓度(mmol/L)				
Ⅰ组	7.27±1.90	11.93±1.00^{b}	10.96±1.02^{b}	9.23±0.78^{a}
Ⅱ组	6.97±2.06	26.35±7.10^{bd}	25.08±8.07^{bd}	20.94±4.00^{bd}
胰岛素(mIU/L)				
Ⅰ组	4.26±1.70	15.98±7.64^{a}	12.37±6.92^{a}	7.93±2.49
Ⅱ组	4.28±2.65	26.13±7.12^{bc}	25.36±9.91^{bc}	24.62±13.69^{bc}
胰岛素抵抗指数				
Ⅰ组	1.29±0.46	8.49±4.39^{b}	6.19±3.76^{b}	3.28±1.11
Ⅱ组	1.35±1.23	31.74±15.33^{bd}	30.02±19.55^{bd}	23.11±12.13^{bd}
TNF-α(ng/ml)				
Ⅰ组	0.35±0.20	1.23±0.23^{b}	1.19±0.13^{b}	1.06±0.20^{b}
Ⅱ组	0.31±0.19	1.65±0.11^{bd}	1.47±0.32^{bc}	1.36±0.21^{bc}

a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，与转流前比较；c：$P<0.05$，d：$P<0.01$，与Ⅰ组比较

3 讨论

心肌缺血再灌注损伤(Ischemia-reperfusion injury，I-RI)是体外循环心脏直视手术后并发心功能障碍的主要病理基础，比较公认的发生机制主要是氧自由基大量产生、钙超载和内皮细胞激活的参与有密切相关。针对缺血再灌注损伤发生的上述因素，在缺血期/或再灌注早期采用自由剂清除剂、钙离子拮抗剂、能量底物与前体等干预措施可不同程度减轻实验 I-RI 程度，但均不能完全阻止 I-RI 的发生，临床疗效也不理想，说明导致 I-RI 发生可能还存在其他关键的因素。近年研究表明，缺血再灌注心肌葡萄糖氧化减少是导致心肌功能障碍的主要成因之一，CPB 缺血再灌注后也存在 IR 现象[1,2]，IR 很可能是引起心肌葡萄糖氧化减少造成心肌功能障碍的潜在始动机制[8]，但其发生心肌 IR 的细胞、分子机制目前尚不清楚。

TNF-α 是一种主要由激活的巨噬细胞产生的具有多种生物学功能的细胞因子。近年来研究表明脂肪组织、肌肉组织也分泌 TNF-α，且在一定状态下表达过度，机体 IR 的发生与 TNF-α 含量升高密切相关[3,4]。我们的实验结果提示，体外循环心肌缺血再灌注 15 min两组血浆 TNF-α 浓度均达到峰值，其后又缓慢下降。与转流前比较，均有显著性差异($P<0.01$)。Ⅱ组与Ⅰ组比较，同一时间点，再灌注后Ⅱ组的 TNF-α 较Ⅰ组增高更明显，持续时间更长(组间比 $P<0.05$)；并且血糖、胰岛素、胰岛素抵抗指数上升与 TNF-α增高趋势一致。由此结果提示，体外循环心肌

缺血再灌注引起的血清TNF-α水平增高可能在胰岛素抵抗的发生中起到一定的作用。缺血时间越长,再灌注后TNF-α水平增高越明显,心肌胰岛素抵抗程度越重。有学者研究发现TNF-α既可引起葡萄糖转运蛋白4信使RNA(GLUT4 mRNA)膜两侧GLUT4分布下降,又可抑制GLUT4的跨膜转运[9,10],从而造成胰岛素介导的糖摄入下降,引起IR,但具体的传导信号通道还不清楚,在CPB期间,心肌组织的TNF-α mRNA的表达是否增多,是否影响GLUT4的表达及转运,可否用药物来干预?这有待于进一步的研究。

参考文献:

[1] 隋东虎,石应康,王儒蓉,等. 体外循环缺血再灌注后心肌胰岛素抵抗现象的初步研究[J]. 中国胸心血管外科临床杂志,2001,8(1):28-31.
[2] 蔡庆勇,梁贵友,牛义民,等. 体外循环心肌胰岛素抵抗的实验研究[J]. 遵义医学院学报,2006,29(4):347-350.
[3] Valverde A M, Benito M, Lorenzo M. The brown adipose cell: a model for understanding the molecular mechanisms of insulin resistance [J]. Acta Physiol Scand, 2005, 183(1): 59-73.
[4] Plomgaard P, Bouzakri K, Krogh-Madsen R, *et al*. Tumor necrosis factor-alpha induces skeletal muscle insulin resistance in healthy human subjects *via* inhibition of Akt substrate 160 phosphorylation[J]. Diabetes, 2005, 54(10): 2939-2945.
[5] 蔡庆勇,梁贵友,牛义民,等. 直视插管测定犬心脏冠状静脉窦血流量的方法[J]. 遵义医学院学报,2005,28(6):526-528.
[6] Haffner S M, Kennedy E, Gonzalez C, *et al*. A prospective analysis of the HOMA model. The Mexico City Diabetes Study[J]. Diabetes Care, 1996, 19(10): 1138-1141.
[7] Katz A, Nambi S S, Mather K, *et al*. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans[J]. J Clin Endocrinal Metab, 2000, 85(7): 2402-2410.
[8] 隋东虎,石应康,王儒蓉,等. 体外循环缺血再灌注心肌胰岛素抵抗与心功能障碍的关系[J]. 中华实验外科杂志,2002,19(3):208-210.
[9] Fernandez-Veledo S, Hernandez R, Teruel T, *et al*. Ceramide mediates TNF-alpha-induced insulin resistance on GLUT4 gene expression in brown adipocytes[J]. Arch Physiol Biochem, 2006, 112(1): 13-22.
[10] Jove M, Planavila A, Sanchez R M, *et al*. Palmitate induces tumor necrosis factor-alpha expression in C_2C_{12} skeletal muscle cells by a mechanism involving protein kinase C and nuclear factor-kappaß activation[J]. Endocrinology, 2006, 147(1): 552-561.

(编辑 张大春)

文章编号:1000-5404(2007)19-1865-01

个案与短篇

断根术治疗牙周病的疗效观察

江 蕾,江志德,袁松戒 (第三军医大学新桥医院口腔科,重庆 400037)

牙根切除术(radiectomy)又名断根术(root amputation),是近年来采用的消除多根牙牙周袋的新方法,为保留患牙提供了新治疗手段。1998年以来,我科为50例患者实行磨牙牙根切除术,获得满意效果,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

50例患者中男性39例,女性11例;年龄28-52岁,其中35-45岁者34例;牙位:上颌磨牙18例,下颌磨牙32例;截除根位:上颌磨牙近中根13例,上颌磨牙远中根5例,下颌磨牙近中根14例,下颌磨牙远中根18例;病变情况:50例X线片均显示根分叉骨质吸收;患根周骨质垂直吸收1/2-2/3者32例,骨吸收3-4以上者14例,骨完全吸收4例;牙Ⅱ度-Ⅲ度松动43例,Ⅲ度松动7例;病期和治疗情况:50例患者牙周病病程为2-6年,多数为3-4年;所有患者均接受过龈上洁治术和龈下刮治术,其中41例经过多次调验,6例做过翻瓣手术。

1.2 手术方法

1.2.1 术前准备 (1)患牙行龈上洁治,龈下刮治,消除局部菌斑,患牙及对颌牙调验;消除创伤。(2)患牙完成根管治疗,保留的牙根根管预备规范,充填完善;截断牙根管口用充填剂严密封闭。(3)患牙牙冠外形磨改,缩窄颊舌径,减轻咬合负担。

1.2.2 截根过程 (1)强力碘术区消毒,局部阻滞麻醉。(2)切口及病变区暴露:经邻牙的近、远中牙龈乳头作垂直切口达前庭沟,翻开软组织龈骨膜瓣,充分显示患牙根分叉及病变区。(3)用涡轮裂钻于根分叉处斜行切断患根取出,彻底刮除牙槽窝及断根周围的炎性组织。(4)截根断面整形术:用裂钻修整根截面,使截面倾斜,高点位于根分叉,斜倾向断根外侧,使根分叉到牙冠形成流线型,避免术后食物滞留。暴露的根管口用银汞合金充填。(5)局部骨成形:患根截除后,其周缘的骨嵴和四周不平区域磨除,形成与周围骨自然过渡的骨斜面。(6)冲洗创面,骨腔内放入4万单位的庆大霉素1 ml,牙龈骨膜瓣复位缝合,保证组织瓣完整地覆盖在断根区牙槽窝周围创面上,使贴附良好,原切口暴露的骨面可用牙周塞治剂覆盖,以待肉芽生长形成新的附着龈。

(下转1872页)

作者简介:江 蕾(1979-),女,湖北省宜城县人,医师,电话:(023)66558883

收稿日期:2006-12-20;修回日期:2007-06-15