维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2004)04－0462－03

大鼠创伤性脑损伤后胰岛素抵抗的研究

何朝晖，支兴刚，唐文渊，石全红

(重庆医科大学临床学院神经外科,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨大鼠创伤性脑损伤后是否存在胰岛素抵抗现象。方法:采用大鼠自由落体脑损伤模型(Feeney's model),分别在伤前 1/2h 及伤后 6、12、24、48、72、120h 测定轻、中、重型脑损伤动物的血糖和血清胰岛素值。运用正常血糖－高血胰岛素钳夹技术,检测大鼠重型创伤性脑损伤后 24h 后 BG_{60-120}、GIR_{60-120}、ISI 等 3 个反映胰岛素敏感性的指标。结果:中、重型创伤性脑损伤后大鼠血糖含量升高的同时血清胰岛素水平升高,大鼠重型创伤性脑损伤后 24hBG_{60-120}显著地升高,GIR_{60-120}、ISI 显著地降低。结论:在重型创伤性脑损伤急性期,大鼠血糖和血清胰岛素水平均显著地升高,高水平的胰岛素未能起到相应的降低血糖的作用,与机体产生胰岛素抵抗有关。

【关键词】创伤性脑损伤;胰岛素抵抗;正常血糖－高血胰岛素钳夹技术

【中国图书分类法分类号】R651.15 【文献标识码】A 【收稿日期】2003－12－15

The insulin resistance after traumatic brain injury in rats

HE Zhaohui, et al

(*Department of Neurosurgery, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the insulin resistance after traumatic brain injury in rats. *Methods*: Based upon the Feeney's model, the blood glucose and insulin concentration of each animal group were measured 1/2 hour before injury and 6, 12, 24, 48, 72, 120 hours after injury; the three indices BG_{60-120}, GIR_{60-120}, ISI reflecting the insulin sensitivity were measured 24 hours after severe traumatic brain injury by euglycemic－hyperinsulinemic clamp technique. *Results*: Both the blood glucose and insulin concentration increased markedly in medium and severely injured group after injury. BG_{60-120} increased markedly and GIR_{60-120}, ISI decreased significantly 24 hours after severe trauma in injured animal compared with sham group. *Conclusion*: Both the blood glucose and insulin concentration increase markedly in severe injured group after injury. The fact that higher－level insulin cannot reduce the increased blood glucose is due to acute insulin resistance developing after traumatic brain injury.

【Key words】Traumatic brain injury; Insulin resistance; Euglycemic－hyperinsulinemic clamp technique

高血糖是影响创伤性颅脑损伤患者预后的重要因素之一,并与患者的死残率密切相关。目前,创伤性脑损伤后血糖升高的原因已在动物实验及临床观察中受到一致肯定,而脑损伤后血胰岛素的变化规律仍有较大争议,大鼠创伤性脑损伤后胰岛素抵抗的研究至今国内外尚未见报道。本研究采用改进型 Feeney 自由落体脑损伤模型,研究大鼠创伤性脑损伤后血糖与血清胰岛素的变化规律,并运用正常血糖－高血胰岛素钳夹技术验证大鼠创伤性脑损伤后是否存在胰岛素抵抗现象,为临床治疗提供理论依据。

作者介绍:何朝晖(1969－),男,主治医师,硕士,主要研究方向:颅脑损伤。

1 材料与方法

1.1 主要实验器材

血糖测定采用 One Touch Ⅱ 型微型血糖仪,购自美国 Johnson 公司。血清胰岛素测定采用 ARIM－ZYME Ⅱ 型内分泌定量测定仪,购自瑞士 BIO－EKON 公司。实验模型采用自制改进型 Feeney 自由落体脑损伤装置。

1.2 实验动物及分组

健康成年雄性 Wistar 大鼠 32 只,随机分为假手术组和颅脑损伤组,脑损伤组又分为轻、中、重型损伤共 3 组,每组 8 只。

1.3 实验模型准备

采用自制改进型 Feeney 自由落体脑损伤装置[1]。用 20g 砝码从 10mm 和 30mm 高处坠落致轻、中型脑损伤,另用 40g 砝码从 25cm 高处坠落致重型脑损伤。假手术组仅作

维普资讯 http://www.cqvip.com

颅骨钻孔而不致伤。

1.4 血糖和血清胰岛素测定

分别在伤前 1/2h、伤后 6、12、24、48、72、120h 测定各组动物血糖和血清胰岛素。每次取鼠尾血 1 滴用 One Touch Ⅱ型微型血糖仪测定血糖,另取血约 1.5ml 用于血清胰岛素测定(磁性分离酶联免疫测定法)。

1.5 实验动物及分组

健康成年雄性 Wistar 大鼠 16 只,随机分为假手术组和重型脑损伤组,每组 8 只。

1.6 实验模型准备

用 40g 砝码从 25cm 高处坠落致重型脑损伤。假手术组仅作颅骨钻孔而不致伤。

1.7 正常血糖-高血胰岛素钳夹技术(Euglycemic-hyperinsulinemic Clamp Technique)[2]

行双侧股静脉和右股动脉插管。先取血 1 滴,用 One Touch Ⅱ微型血糖仪测定基础血糖值(BBG)。取血约 1.5ml 用于测定基础血胰岛素值(BINS)。右侧股静脉导管改接一装有胰岛素溶液的 30ml 注射器。左侧股静脉导管改接一装有 10% 葡萄糖溶液的 30ml 注射器。将这两个注射器分别安置在两个微电脑数字式电子微量注射器(digtal electronic syringe pump)上,先进行持续胰岛素输注,速度为 1.67mU/kg.min。输注 5min 后,从股动脉取血 1 滴测定血糖值,如果测出的血糖值超过基础值 - 0.5mmol/l 的范围内,即可开始葡萄糖输注。葡萄糖输注速度(葡萄糖输注率,Glucose infusion rate GIR)一般从 4~6mg/(kg·min)开始。如果血糖值仍在上述范围内,则 5min 后再测血糖,直到超出上述范围可进行葡萄糖输注为止。开始葡萄糖输注后仍然每 5min 测 1 次血糖,并根据血糖值在最短的时间内调节葡萄糖输注率,使血糖恢复到基础值 ± 0.5mmol/l 范围。如此反复进行,直到 120min 时(从开始胰岛素输注计)为止,共采血测定血糖 24 次。

1.8 指标测定和计算

(1)60min 到 120min 的平均葡萄糖输注率 GIR_{60-120} 计算:将实验的第 60min 到第 120min 的 13 个 GIR 值求平均值,即为 GIR_{60-120},单位为 mg/kg.min。

(2)60min 到 120min 的平均血糖值 BG_{60-120} 计算:将实验的第 60min 到第 120min 的 13 个血糖值求平均值,即为 BG_{60-120},单位为 mmol/l。

(3)胰岛素敏感性指数(ISI)计算:ISI 为 BBG 与 BINS 乘积的倒数。因该指标呈偏态分布,故取自然对数,即 - Ln(BBG×BINS)。

(GIR_{60-120},BG_{60-120},ISI 等 3 个指标反映大鼠的胰岛素敏感性)

1.9 统计学处理

结果以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。表 1 和表 2 采用随机区组设计方差分析,组间均数比较用 q 检验,表 3 采用 t 检验,显著性界值为 0.01 或 0.05。

2 结 果

2.1 血糖含量

见表 1。轻、中、重型脑损伤大鼠的血糖含量在伤后均显著地升高。重型脑损伤大鼠的血糖含量在伤后 24h 达到峰值。

2.2 血清胰岛素含量

见表 2。轻型脑损伤组大鼠的血清胰岛素含量在伤后变化不明显;中、重型脑损伤组大鼠的血清胰岛素含量伤后显著地升高;重型脑损伤组大鼠的血清胰岛素含量伤后 12h 达到峰值。

表 1 大鼠创伤性脑损伤后血糖含量(mmol/l)($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	时间						
	伤前 1/2h	伤后 6h	伤后 12h	伤后 24h	伤后 48h	伤后 72h	伤后 120h
假手术组	2.41±0.33	2.42±0.24	2.44±0.21	2.46±0.36	2.46±0.29	2.42±0.31	2.44±0.30
轻型脑伤组	2.40±0.32	2.74±0.24	2.88±0.36	3.16±0.27**	3.83±0.24**	3.37±0.30**	2.96±0.21*
中型脑伤组	2.43±0.20	2.88±0.21	3.29±0.34**	4.28±0.37**	4.33±0.32**	4.05±0.33**	3.74±0.24**
重型脑伤组	2.44±0.28	3.94±0.30**	4.64±0.43**	4.98±0.48**	4.11±0.33**	3.98±0.24**	3.63±0.77**

*$P<0.05$, **$P<0.01$ compared to sham animals

表 2 大鼠创伤性脑损伤后血清胰岛素含量(mU/l)($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	时间						
	伤前 1/2h	伤后 6h	伤后 12h	伤后 24h	伤后 48h	伤后 72h	伤后 120h
假手术组	14.61±2.78	14.66±2.67	14.65±2.77	14.70±2.68	14.72±2.51	14.64±2.62	14.58±2.39
轻型脑伤组	14.72±2.96	14.83±3.09	15.12±2.55	15.55±2.63	15.64±2.71*	14.94±2.29	14.54±2.66
中型脑伤组	14.45±2.48	19.14±3.51*	20.70±4.11**	23.42±4.25**	19.97±3.13**	13.85±2.06	13.09±2.02
重型脑伤组	14.59±2.27	21.87±3.32**	27.48±4.64**	24.52±3.77**	19.53±2.85*	13.45±1.96	11.87±1.99

*$P<0.05$, **$P<0.01$ compared to sham animals

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 3 大鼠重型创伤性脑损伤急性期胰岛素敏感性指标($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

	BG_{60-120}	GIR_{60-120}	ISI
假手术组	2.45±0.25	10.54±1.58	−3.55±0.14
重型脑伤组	5.01±0.74**	5.94±1.13**	−4.81±0.18**

*$P<0.05$, **$P<0.01$ compared to sham animals

2.3 胰岛素敏感性指标

见表 3。与假手术组比较,重型脑损伤组大鼠伤后 24h 3 个反映胰岛素敏感性的指标 60 到 120min 的平均血糖值(BG_{60-120})显著地升高,60 到 120min 的平均葡萄糖输注率(GIR_{60-120})、胰岛素敏感性指数(ISI)显著地降低。

3 讨 论

传统观念认为,创伤性脑损伤后血胰岛素含量降低导致机体血糖水平升高。第一部分的研究结果表明,中、重型创伤性脑损伤急性期血糖水平升高的同时血胰岛素水平升高,提示脑损伤后血糖升高的原因并非是血胰岛素含量降低,而可能与机体产生胰岛素抵抗有关。

胰岛素抵抗是指全身胰岛素的敏感性和反应性下降,导致超常量胰岛素才能引起正常量胰岛素反应的一种状态,常常伴有高胰岛素血症,对外源性胰岛素也有一定的抵抗性。胰岛素抵抗最主要的特征是胰岛素刺激的葡萄糖摄取和利用障碍。研究表明,胰岛素抵抗是一种广泛存在的极为重要的病理生理变化,与创伤、应激、感染、肿瘤、妊娠等多种病理生理状况[3]。

判断机体有无胰岛素抵抗(IR),必须准确地测定胰岛素敏感性。目前已有多种评价胰岛素敏感性的指标,但得到公认的仅有 Defronzo 于 1979 年建立的正常血糖 − 高血胰岛素钳夹技术[4]。多项研究表明,该技术可准确、可靠地在体内评价人体的胰岛素敏感性。1983 年 Kragen 等[2]又在此基础上建立了大鼠的钳夹技术,该技术已成为判断胰岛素抵抗(IR)动物模型是否复制成功的"黄金标准"。

第一部分的研究结果表明,重型脑损伤组伤后 24h 血糖达到峰值,血胰岛素水平接近峰值。故我们选择重型脑损伤组大鼠伤后 24h 时间段作为第二部分实验的研究对象来证实脑损伤后是否存在胰岛素抵抗现象。

运用正常血糖 − 高血胰岛素钳夹技术研究表明,与假手术组比较,重型脑损伤组大鼠伤后 24h 3 个反映胰岛素敏感性的指标 60 到 120min 的平均血糖值(BG_{60-120})显著地升高,60 到 120min 的平均葡萄糖输注率(GIR_{60-120})、胰岛素敏感性指数(ISI)显著地降低,提示重型创伤性脑损伤急性期大鼠胰岛素敏感性显著地降低,机体存在胰岛素抵抗现象。

皮质醇、生长激素、儿茶酚氨和胰高血糖素分泌增多除了可升高血糖水平以外,还可使血胰岛素水平反应性地升高[5],同时可使胰岛素受体、葡萄糖转运蛋白和葡萄糖代谢关键酶和底物发生改变,导致高于正常水平的胰岛素不能起到相应的降低血糖的作用,从而引起胰岛素抵抗[6]。创伤性脑损伤机体皮质醇、生长激素、儿茶酚氨和胰高血糖素分泌增多已经得到广泛认可,故脑损伤后机体出现胰岛素抵抗可能与皮质醇、生长激素、儿茶酚氨和胰高血糖素的分泌增多有关。

Daniel E 等[7]研究发现,静息心率与胰岛素敏感性呈负相关,提示静息心率增快与胰岛素抵抗有关,因为静息心率增快是交感神经系统活性增强的反映,所以胰岛素抵抗可能与交感神经系统的活性有关。通过对心率变应性(HRV)的分析,发现当交感神经系统活性对迷走神经系统占优势时,胰岛素敏感性降低,机体产生胰岛素抵抗。创伤性脑损伤时机体交感神经系统活性明显增强,故脑损伤后胰岛素抵抗可能与创伤后交感神经系统应激性活性增强有关。

另外,胰岛素抵抗的发生与基因突变导致的胰岛素的结构和功能的改变、胰岛素酶活性增加导致胰岛素的降解增快以及葡萄糖转运蛋白(GLUT)和葡萄糖激酶的功能障碍[8]有关。但目前国内外尚无创伤性脑损伤后胰岛素基因突变、胰岛素酶活性增加以及葡萄糖转运蛋白和葡萄糖激酶的功能障碍的报道,有待于进一步研究。

参 考 文 献

[1] 王清华,徐如祥,李良平,等. 大鼠不同程度脑损伤模型的建立[J]. 创伤外科杂志,2000;2(1):42 − 44.

[2] Edward W, Kraegen, David E, et al. In vivo insulin sensitivity in the rat determined by euglycemicclamp[J]. Am J Physiol, 1983;245:E1 − E7.

(下转第 470 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

本组122例COPD行机械通气治疗的患者并发VAP的发生率为55.8%,死亡率为23.5%,与文献报道相比明显偏低[1,5],其原因可能与本组资料中23例患者放弃机械通气治疗有关。本资料分析14个因素表明VAP的发生与多因素有关,其中血清白蛋白水平、机械通气时间、抗生素应用时间、合并症、应用糖皮质激素是VAP发生的主要危险因素,而血清白蛋白水平与VAP的发生呈负相关,其原因为:营养不良、合并多器官功能障碍、糖尿病、应用糖皮质激素等使机体免疫力降低;长期使用大剂量广谱抗生素使正常菌群受到抑制导致菌群失调;人工气道的建立,反复吸痰,雾化吸入治疗使污染的机会增加[2]。

细菌培养的结果显示:COPD并发VAP患者G^-菌感染占大多数,前3位感染细菌为铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、嗜麦芽黄单胞菌,G^+菌中以表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌感染为主,多种细菌混合感染、合并真菌感染亦占据较高比例,与文献报道VAP以铜绿假单胞菌、大肠埃希氏菌等为主有一定差异,尤其嗜麦芽黄单胞菌感染明显增加,提示COPD并发VAP的病原菌分布特点。细菌对常用抗生素的药敏结果表明,细菌对多种抗生素耐药率普遍较高。病原菌的复杂性和高耐药性与人工气道建立破坏气道黏膜天然屏障、生物被膜形成、经气管吸入多种污染物及长期使用广谱抗生素有密切关系[2]。

COPD并发VAP发生率高,治疗困难,死亡率高,应针对其危险因素积极采取相应措施,预防和减少VAP发生,加强对呼吸道分泌物的病原学检测,对VAP作出早期诊断和合理治疗。我们的经验是:在缺乏病原菌资料时,应根据本单位、本科室细菌和药敏的流行病学特征,根据既往抗生素使用情况及原发病等选择抗生素,即时做好病原菌检测,根据细菌培养及药敏结果,结合临床治疗效果进一步调整抗生素,尽量避免联合使用多种广谱抗生素和糖皮质激素,积极加强营养支持,加强呼吸机管道和湿化罐的消毒,加强口腔及气囊上方分泌物的引流,积极治疗合并症,通过多方面综合防治措施尽可能地降低VAP的危害。

参 考 文 献

[1] Chastre J Fagon JY. Ventilator - associated pneumonia [J]. Am J Respir Crit Care Med,2002;165(7):867 - 903.

[2] 蔡柏蔷.呼吸内科学[M].北京:中国协和医科大学出版社,2000;6.

[3] Kirtland S H, Corley D E, Winterbauer R H, et al. The diagnosis of ventilator - associated pneumonia: a comparison of histologic, microbiologic, and clinical criteria[J]. Chest, 1997; 112:445 - 457.

[4] Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, et al. APACHE Ⅱ: a severity of disease classification system[J]. Crit Care Med, 1985;13(10):818 - 829.

[5] 陈利云,李 敏,黄绍光.COPD并发呼吸机相关肺炎的病原学分析[J].上海第二医科大学学报,2001;21(2):155 - 157.

(上接第 464 页)

[3] Garvey WT. Multiple defects in the adipose transport system cause cellular insulin resistance in gestational diabetes heterogeneity in the number and a novel abnormality in subcellular, localization of GLUT4 glucose transporters[J]. Diabetes, 1993; 42:1773 - 1785.

[4] DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R, et al. Glucose clamp technique method of quantifying insulin secretion and resistance [J]. Am J Physiol, 1979;237:E214 - E223.

[5] 赵文国,孔令胜,张正福,等.颅脑外伤后血糖与胰岛素的变化及临床意义[J].山东医药,1999;39(2):9 - 10.

[6] Flier JS. Insulin receptors and insulin resistance[J]. Annu Rev Med, 1983;34:145 - 160.

[7] Daniel E, Flanagan, Julian C, et al. The autonomatic control of heart rate and insulin resistance in young adults[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1999;84:1263 - 1267.

[8] E Clauser, I Leconte, C Auzan. Molecular basis of insulin resistance[J]. Horm Res, 1992;38:5 - 12.