DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.01.003
第26卷第1期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 1
2004年1月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jan. 2004

文章编号:1000-5404(2004)01-0005-03

论著

大鼠缺氧习服后骨骼肌葡萄糖摄取的特点

黄 缄,高钰琪,张国斌,陈 健,孙秉庸 (第三军医大学高原军事医学系病理生理学与高原生理学教研室,全军高原医学重点实验室,重庆 400038)

提 要:目的 探讨机体习服于缺氧环境后组织葡萄糖摄取的变化特点。方法 将大鼠置模拟海拔5 000 m低压舱内30 d后,取动脉血,测定血气、血糖、血常规等,取双后肢骨骼肌测定组织葡萄糖水平、葡萄糖摄取率,并分离细胞内、外膜进行葡萄糖结合实验测定葡萄糖结合位点数及其亲和力,各指标以平原大鼠进行对照。结果 缺氧组大鼠血糖显著高于对照组($P<0.05$)。骨骼肌中葡萄糖水平、葡萄糖摄取率、内外膜葡萄糖结合位点数均非常显著地高于对照组($P<0.01$)。结论 细胞对葡萄糖的摄取能力增强是机体习服于缺氧环境后优先利用葡萄糖的重要机制之一。

关键词:缺氧;葡萄糖摄取;习服;葡萄糖
中图法分类号:R322.74;R337;R339.54 文献标识码:A

Characteristic of glucose uptake in rat skeletal muscle after hypoxia acclimatization

HUANG Jian, GAO Yu-qi, ZHANG Guo-bin, CHEN Jian, SUN Bing-yong (Department of Pathophysiology and High Altitude Physiology, College of High Altitude Military Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the characteristic of glucose transport in tissue after hypoxia acclimatization. Methods After Wistar rats were exposed to hypobaric hypoxia simulating an altitude of 5 000 m for 30 d, determination of the blood gas, blood sugar and routine blood examination were conducted; the glucose level, the glucose uptake rate, the binding sites, and the affinity of glucose transporters in skeletal muscle were also determined. Indices in the hypoxic group were compared with those in the control group (sea level group). Results The blood sugar level in the hypoxic group was significantly higher than that in the control group ($P<0.05$). The glucose level, the uptake rate, and the number of binding sites in skeletal muscle after hypoxia acclimatization were also significantly higher than those in sea level group. Conclusion The enhanced ability of glucose uptake after hypoxia acclimatization may be one of the mechanisms of utilizing glucose preferentially during hypoxic exposure.

Key words: hypoxia; glucose transport; acclimatization; glucose

如何科学有效地促进机体习服适应于高原低压缺氧环境,降低高山病的发生几率,是高原医学研究的主要方向,因为其对于拓展人类活动空间,保障我国高原经济建设和国防建设等有着十分重要的意义。但是高原习服-适应的机制仍然不清楚,极大地制约了促习服适应策略的构筑与寻找。组织、细胞利用糖等物质产生能量的能力可能是决定习服适应程度的一个关键因素。理论上在产生等量ATP的情况下氧化葡萄糖较氧化脂肪等所需要的氧气量少,也就是说优先利用葡萄糖可以提高用氧效率、节约用氧。葡萄糖转运体介导的葡萄糖摄取是葡萄糖利用的限速环节。本研究观察分析了在低压缺氧(hypobaric hypoxia,以下简称缺氧,hypoxia)下习服适应的大鼠骨骼肌葡萄糖转运体亲和力、结合位点等的变化特点,以探讨缺氧习服适应的机制,为寻找促习服适应措施提供依据。

1 材料与方法

1.1 试剂与动物

D-(U-^{14}C)葡萄糖(9.176 GBq/mmol,中国医学科学院分院),^{3}H-2-D-葡萄糖(^{3}H-2-DG,0.74 GBq/mg,中国科学院原子能研究所)。实验对象为成年Wistar大鼠24只,雌雄不拘,体质量200~250 g(第三军医大学实验动物中心提供)。

1.2 分组

大鼠随机分为对照组(control,$n=12$)、缺氧组(hypoxia,$n=12$)。缺氧组除每天有1 h返回平原状态进行清洁、喂食外,其余时间均在海拔5 000 m低压舱内饲养。对照组大鼠在平原

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39730190)
Supported by the National Natural Science Foundation of China (39730190)
作者简介:黄 缄(1968-),男,湖北省仙桃市人,博士,讲师,主要从事缺氧病理生理学方面的研究。电话:(023)68752339-8204
通信作者:高钰琪,电话:(023)68752333
收稿日期:2003-03-29;修回日期:2003-08-22

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

动物房内饲养。30 d 大鼠在同海拔高度的低压舱内从颈总脉取血测血糖及血气,取大鼠双后肢骨骼肌进行葡萄糖摄取率及葡萄糖结合实验。

1.3 葡萄糖测定及血气参数

血糖(blood glucose, BG)、骨骼肌中葡萄糖(skeletal glucose, SG)测定采用葡萄糖氧化酶法,血气用美国 IL1303 型血气分析仪测定。

1.4 离体葡萄糖摄取实验

参考 Turinsky[1] 的方法,将骨骼肌撕成肌丝置于 KRBB 液(pH 7.5)内,37 ℃ 30 min 后,转移到新鲜 KRBB 中温育 2 h,随后于各管中加入^{3}H-2-DG 孵育 30 min。各管加入冷 KRBB 以终止反应。匀浆取上清液行液闪计数。用 $nmol \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$ 表示葡萄糖摄取率(glucose uptake rate, GUR)。

1.5 葡萄糖结合试验

参照 Boncn 及许霖水等[2] 的方法制备骨骼肌细胞外膜(细胞质膜,plasma membrane, PM)和细胞内膜(微粒体膜,microsomal membrane, MM),结合实验参照等的方法进行。取不同量 D-(U-^{14}C)葡萄糖与粗膜或亚组分膜与^{14}C-葡萄糖温育后,立即加入等体积的 10%三氯醋酸终止反应。充分混匀,静置 5 min,离心取沉淀溶解后液闪测定。以加热变性膜放射性作非特异性结合(NSB)。进行 Scatchard 分析,计算肌肉细胞葡萄糖转运体结合位点数(Bmax)及解离常数(Kd)。结合位点数以蛋白膜(nmol/mg)表示。

1.6 统计学分析

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 10.0 软件对各指标对照组与缺氧组的比较采用两独立样本 t 检验。

2 结果

2.1 动物缺氧后一般情况

在缺氧过程中死亡 6 只。缺氧组大鼠活动灵活,呼吸、体温正常,饮食饮水活跃。无气喘、呆滞、发热等。

2.2 血红蛋白、血气等参数的变化

如表 1 所示,缺氧组红细胞数(red blood cell, RBC)、血红蛋白(hemoglobin, Hb)含量均显著高于对照组($P<0.01$)。血液 pH 值、血氧饱和度(SaO_2)以及动脉血 CO_2 分压($PaCO_2$)与对照组没有显著性差异($P>0.05$)。缺氧组动脉氧分压(PaO_2)显著低于对照组($P<0.01$)。

表 1 缺氧对血红蛋白、血气等参数的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effect of hypobaric hypoxia on hemoglobin, red blood cell, and blood gases ($\bar{x} \pm s$)

Index	Control ($n=12$)	Hypoxia ($n=6$)	t	P
RBC (kg/L)	7.00±1.01	9.29±1.70△	−3.608	0.002 357 98
Hb (g/L)	121.10±10.13	174.50±20.91△	−3.030	0.000 001 45
pH	7.32±0.05	7.33±0.04	−0.514	0.614 221 96
PaO_2(kPa)	11.58±0.77	9.06±0.72△	6.671	0.000 005 37
$PaCO_2$(kPa)	6.03±0.79	5.95±0.58	5.722	0.000 031 47
SaO_2(%)	98.93±6.49	89.66±13.64	−6.160	0.0200 013 79

△: $P<0.01$, *vs* control

2.3 血糖,骨骼肌葡萄糖及葡萄糖摄取率

血糖在缺氧组较对照组有非常显著增加,骨骼肌中葡萄糖水平以及葡萄糖摄取率均非常显著地高于对照组,如表 2。

表 2 血糖、骨骼肌葡萄糖及葡萄糖摄取率的缺氧习服适应性变化($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Acclimatizing changes of blood sugar and glucose uptake rate in skeletal muscle in hypoxic group ($\bar{x} \pm s$)

Index	n	Control	Hypoxia
BG(mmol/L)	10	5.38±0.61	6.08±0.42
SG($\mu mol \cdot g^{-1} \cdot dw^{-1}$)	6	2.84±0.19	3.58±0.14△
GUR($nmol \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$)	6	2.32±0.62	4.22±1.11△

△: $P<0.01$, *vs* control

2.4 骨骼肌葡萄糖转运体结合位点分析

细胞内外膜上葡萄糖结合位点均非常显著地高于对照组,缺氧组内膜葡萄糖转运体解离常数显著高于对照组,如表 3。

表 3 缺氧骨骼肌葡萄糖转运体结合位点分析($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Analysis of GLUTS binding sites and affinity after hypoxia acclimatization ($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

	PM		MM	
	Bmax (nmol/mg)	Kd ($nmol^{-1}$)	Bmax (nmol/mg)	Kd ($nmol^{-1}$)
Control	7.41±11.91	100.68±10.19	9.50±1.48	132.05±12.51
Hypoxia	42.96±5.21△	99.51±7.35	31.17±4.61△	153.10±11.51△

△: $P<0.01$, *vs* control

3 讨论

长期缺氧除可引起血球压积增加、肺通气适应性改善外,在组织和细胞水平可以引起许多适应性改变[3~5]。肌肉是葡萄糖消耗的主要器官。肌肉对葡萄糖的摄取主要依靠位于细胞膜上的葡萄糖转运体。在产生相同数量 ATP 的前提下,氧化葡萄糖较氧化脂类或蛋白质所需要的氧气量少,也就是说强化葡萄糖的利用可以节约用氧,这一点可能是机体对高原低氧习服适应的机制之一。实验结果表明,缺氧组骨骼肌中葡萄糖水平较对照组有显著增加,其原因可能与组织对葡萄糖摄取加强、细胞内葡萄糖分解降低等有关。在缺氧条件下,细胞为了维持 ATP 稳态,糖酵解过程增强[6]。因此,缺氧骨骼肌中葡萄糖含量增加的原因主要在于其从血液摄取葡萄糖增强。缺氧组血糖显著高于对照组。这与缺氧习服后,食欲增加等多种因素有关,是机体多系统调节的结果。通过测定骨骼肌葡萄糖摄取能力,更加直接地证明了组织葡萄糖摄取能力增强。缺氧组骨骼肌葡萄糖摄取率分别是对照组的 1.82 倍,其差异非常显著($P<0.01$)。组织与细胞对葡萄糖的摄取是由细胞膜上的葡萄糖转运体介导的。细胞膜上葡萄糖转运体质与量的变化必然会影响到葡萄糖的摄取[7]。结果显示,缺氧组在骨骼肌细胞内外

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

膜上葡萄糖结合位点数均显著高于对照组。细胞葡萄糖转运体表达增强的原因可能在于细胞感知氧与能量的变化后, 通过一条还不十分清楚的途径引发基因表达[8,9]。本实验结果表明, 细胞质膜上解离常数在缺氧组与对照组之间没有显著性差异, 缺氧组内膜上葡萄糖转运体亲和力显著低于对照组。表明缺氧习服后期表达的葡萄糖转运体, 还有待于激活。当机体处于更高程度的缺氧环境时, 一部分低亲和力葡萄糖转运体可能被激活并向细胞表面转移。此部分葡萄糖转运体数量增加是缺氧习服适应程度增强的重要体现。这部分低亲和力的葡萄糖转运体在缺氧应激时如何激活, 是一值得探讨的课题。

总之, 缺氧习服大鼠组织和细胞对葡萄糖的摄取利用加强, 其机制在于骨骼肌细胞外膜葡萄糖结合位点质与量的变化。因此促进细胞摄取葡萄糖作为能源物质对提高机体耐缺氧能力有重要意义。

参考文献:

[1] Ludvigsen C, Jarett L. A comparison of basal and insulin-stimulated glucose transport in rat adipocyte plasma membranes[J]. Diabetes, 1980, 29(5): 373-378.

[2] 许霖水, 吴喜贵. 严重烫伤肌肉葡萄糖摄取障碍机理的研究[J]. 第三军医大学学报, 1995, 17(6): 467-469.

[3] Moore L G, Armaza F, Villena M, *et al*. Comparative aspects of high-altitude adaptation in human populations[J]. Adv Exp Med Biol, 2000, 475: 45-62.

[4] Hammond K A, Szewczak J, Krol E. Effects of altitude and temperature on organ phenotypic plasticity along an altitudinal gradient[J]. J Exp Biol, 2001, 204(Pt 11): 1991-2000.

[5] Rupert J L, Hochachka P W. Genetic approaches to understanding human adaptation to altitude in the Andes[J]. J Exp Biol, 2001, 204(Pt 18): 3151-3160.

[6] Mimura Y, Furuya K. Mechanisms of adaptation to hypoxia in energy metabolism in rats[J]. J Am Coll Surg, 1995, 181(5): 437-443.

[7] Czech M P, Corvera S. Signaling mechanisms that regulate glucose transport[J]. J Biol Chem, 1999, 274(4): 1865-1868.

[8] Wenger R H. Mammalian oxygen sensing, signalling and gene regulation[J]. J Exp Biol, 2000, 203(Pt 8): 1253-1263.

[9] Prabhakar N R. Oxygen sensing during intermittent hypoxia: cellular and molecular mechanisms[J]. J Appl Physiol, 2001, 90(5): 1986-1994.

(编辑　郭建秀)

(上接 4 页)

圆形或椭圆形, 表面光滑, 质地较软有韧性, 周界清楚。少数肿块与皮肤或周围组织轻度粘连。另外 7 例有疼痛和肿块时大时小病史。肿块穿刺有暗红色粘稠状物质。本组 52 例腮腺腺淋巴瘤中有 43 例临床诊断与病理诊断相符合。7 例术前诊断为混合瘤, 2 例临床诊断为腺样囊性癌。

1.5　治疗方式与结果

52 例中, 初治者 49 例, 复治者 3 例。48 例获得 1~15 年以上随访, 4 例失访。初治者 49 例中, 30 例行腮腺浅叶或全腮腺切除, 无 1 例复发; 14 例采用肿瘤连同腮腺下极部分腺体切除, 术后无 1 例复发; 5 例予以肿瘤包膜外剥离术, 2 例分别于术后 5 个月、13 个月复发。复治者 3 例均接受腮腺浅叶切除, 术后随访期内无 1 例复发。

2　讨论

2.1　肿瘤起源

腮腺腺淋巴瘤来源于腮腺上皮及腮腺内和腮腺周围淋巴结[1]。1929 年由 Warthin 命名为乳头状淋巴囊腺瘤, 该肿瘤 95%以上发生于腮腺, 男女比例在 1.6∶1 到 10∶1[2], 有多灶性和双侧涎腺发病特点, 偶有家族性发病的报道[3]。

2.2　临床特点与术后诊断

①本病发病率与性别有显著差异, 男性明显多于女性。本组为 7.7∶1。②老年人好发。文献报道 40~70 岁为好发年龄, 本组 45 岁以上者占 94.2%。③本组病例未发现有家族性。④肿瘤多发生在腮腺浅叶, 位于腮腺后下极, 本组占 82.7%。⑤双侧腮腺同时发生腺淋巴瘤或同侧多灶性肿瘤甚为常见, 本组共 10 例, 占 19.2%。⑥腮腺腺淋巴瘤常有消长史, 这与其结构中的淋巴样组织继发感染有关, 本组有 13.5% 发生上述症状。⑦肿瘤呈畸形或椭圆形。表面光滑, 质地柔软, 富有弹性。外科标本具有显著特点: 包膜完整, 剖面呈灰色或暗红色, 有大小不等的囊腔, 腔内有乳头状突起, 含有胶冻状粘稠物质。掌握腺淋巴瘤的形态学特征, 术中常可与囊肿、结核、混合瘤相鉴别。

2.3　腮腺腺淋巴瘤手术方式

单纯手术切除、肿瘤连同周围部分腺体切除; 腮腺浅叶或腮腺大部分切除 3 种手术方式文献均有介绍[4]。根据本组治疗结果看, 无论初治者还是复治者采用腮腺浅叶切除及腮腺后下级大部分切除者术后无 1 例复发。我们认为, 鉴于腺淋巴瘤多位于腮腺后下级, 加之肿瘤体积不大, 切除腮腺后下部能保证有足够安全缘, 即存在主瘤周围的多灶性肿瘤亦包括在切除之中。这种腮腺区域性切除可保留腮腺主导管及剩余腮腺的功能。对于复发性腺淋巴瘤, 则主张行腮腺浅叶切除为妥, 以增大安全缘, 避免再次复发。

关键词: Warthin 瘤; 腮腺肿瘤; 多灶性肿瘤
中图法分类号: R739.87　　文献标识码: B

参考文献:

[1] Maiorano E, Lo-Muzio L, Favio G, *et al*. Warthin's tumour: a study of 78 cases with emphasis on bilaterality multifocality and association with other malignancies[J]. Oral Oncol, 2002, 38(1): 35-40.

[2] Yoo G H, Eisele D W, Askin F B, *et al*. Warthin's tumour: a 40-year experience at The Johns Hopkins Hospital[J]. Laryngoscope, 1994, 104(7): 799-803.

[3] Talmi Y P, Horowitz Z, Odenheimer N S, *et al*. Familial occurrence of Warthin's tumour[J]. J Otolaryngol, 1994, 23(3): 206-207.

[4] 邱蔚六, 张震康, 王大章. 口腔颌面外科理论与实践[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998. 732-734.

(编辑　刘洪娥)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net