烫伤后早期肠道喂养对骨骼肌蛋白质分解代谢影响的研究

周建嫦* 董燕麟 (第三军医大学基础医学部生物化学教研室) 重庆, 400038

提 要 目的: 探讨烫伤后早期肠道喂养(EEF)能否抑制骨骼肌蛋白质分解代谢。方法: 给予 37% TBSAⅢ度烫伤大鼠早期(伤后 2 h)或延迟(伤后 24 h)肠道喂养安素营养液,观察伤后第 5天比目鱼肌总 Tyr释放率及 20S蛋白酶复合体的活性,以及血中 TNF皮质醇水平。结果: 烫伤后 EEF大鼠比目鱼肌总 Tyr释放率及 20S蛋白酶复合体活性,血中 TNF皮质醇水平的升高程度均显著低于延迟肠道喂养组大鼠。结论: 烧伤后 EEF有降低骨骼肌蛋白质分解代谢增强的作用,其作用可能与其减少体内 TNF等高代谢介质的产生有关。

关键词 烫伤;早期肠道喂养;骨骼肌蛋白质分解;20S蛋白酶复合体;TNF;皮质醇
中图法分类号 R644

骨骼肌蛋白质分解增强是烧伤后"高代谢反应"的重要特征之一,也是机体负氮平衡的主要原因。肠道是创伤应激的重要靶器官,肠道粘膜屏障功能减退在烧伤后"高代谢反应"中起重要作用[1]。早期肠道喂养(Early enteral feeding, EEF)可增强肠道粘膜屏障功能,降低"高代谢反应",减轻负氮平衡,改善全身营养状况[2,3]。为探讨烫伤后 EEF对骨骼肌蛋白质分解代谢的影响及其可能机制,我们以包括一侧后肢在内 37% TBSAⅢ°烫伤大鼠为动物模型,观察了 EEF对伤后第 5天伤肢、未伤肢比目鱼肌总酪氨酸(Tyrosine, Tyr)释放率和 20S蛋白酶复合体活性的变化,以及血清 TNF皮质醇水平的改变。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

Wistar雄性大鼠,体重(200± 30) g,由本校动物所提供;随机分为 4个组:① 正常对照(NC)组: 不致伤,自由摄食摄水;② 烫伤对照(BC)组: 于 93℃水浴中 7 s致包括一侧后肢在内的 37% TBSAⅢ度烫伤,伤后自由摄食摄水;③ 早期肠道喂养(EEF)组: 致相同面积烫伤后 2 h开始肠道喂养安素营养液,24 h热卡 756 kJ/kg;④ 延迟肠道喂养(Delayed enteral feeding, DEF)组: 致相同面积烫伤后 24 h开始肠道喂养安素营养液,24 h热卡 882 kJ/kg。

1.2 检测指标与方法

1.2.1 比目鱼肌总 Tyr释放率的测定 于伤后第 5天处死动物,迅速分离双侧比目鱼肌,沿肌纤维方向撕成 80~ 100 mg的肌束,按黄涛生等[4]建立的方法进行。

1.2.2 大鼠比目鱼肌内 20S蛋白酶复合体蛋白水解活性测定 取 2× 稀释 15 000 r/min× 30 min肌肉匀浆上清液 20μl,加入兔抗大鼠骨骼肌 20S蛋白酶复合体的特异抗体(自制)或兔免疫前 IgG(自制) 50μl,于 23℃水浴孵育 15 min,加入 10% Cowan I 株金黄色葡萄球菌(自制) 50μl,于同样温度中孵育 15 min,以吸附免疫复合物,离心,弃免疫复合物沉淀,取 30μl上清加入[125]I标胰岛素(华西糖尿病研究所) 50μl, 37℃水浴反应 2 h后,离心,测量未被分解的[125]I标胰岛素沉淀的放射性活性。骨骼肌内 20S蛋白酶复合体的蛋白质水解活性可由下式算出。

20S蛋白酶复合体活性 = (特异抗体管沉淀放射性活性 - 非特异抗体管沉淀放射性活性) /(20μl肌肉匀浆上清液蛋白质含量× 2 h)

1.2.3 血清 TNF含量测定 按 ELISA试剂盒(军事医学科学院)建立的双抗体夹心法进行。

1.2.4 血清皮质醇水平测定 按放免药盒(北方同正试剂公司)说明进行。

1.3 统计学处理

采用本校医用统计程序包 SMPR进行单因素方差分析处理。$P < 0.05$表示有显著差异, $P < 0.01$表示差异非常显著。

2 实验结果

2.1 严重烫伤后大鼠比目鱼肌内蛋白质含量变化

大鼠严重烫伤后第 5天,其伤肢、未伤肢比目鱼肌蛋白质含量与正常对照组相比无显著差异($P > 0.05$), EEF组伤肢、未伤肢比目鱼肌蛋白质含量稍高于 DEF组,但差别不显著($P > 0.05$),见表 1。

表 1 骨骼肌蛋白质含量(mg/g, $\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Protein content of skeletal muscle (mg/g, $\bar{x}\pm s$)

Group	n	Unscalded limb	Scalded limb
NC	7	202.45± 10.50	
BC	7	200.1 ± 19.94	198.10± 16.16
EEF	7	201.07± 8.89	193.20± 8.63
DEF	7	194.42± 14.36	186.64± 13.75

2.2 大鼠比目鱼肌总 Tyr释放率的变化

大鼠严重烫伤后第 5天,其伤肢、未伤肢比目鱼肌总 Tyr释放率较正常对照组皆显著增加($P < 0.01$),伤肢较未伤肢增加更显著($P < 0.01$); EEF组显著低于 DEF组($P < 0.01$),与正常对照相比, DEF组未伤肢、伤肢比目鱼肌总 Tyr释放率的

* 周建嫦,女,27岁,助教,博士研究生

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

增加量分别是 EEF组的 1.62倍和 1.57倍,见表 2

表 2 大鼠比目鱼肌总 Tyr释放率
(nmol/g·2 h⁻¹,$\bar{x}\pm s$)

Tab 2 The rate of tyrosine released from soleus muscle
(nmol/g·2 h⁻¹,$\bar{x}\pm s$)

Groups	n	Unscalded limb	Scalded limb
NC	7	2.87± 0.39	
BC	7	9.30± 1.45**	9.38± 1.86**△
EEF	7	7.30± 1.18**	7.58± 0.89**△
DEF	7	9.47± 0.93**##	9.72± 1.61**##△

**: $P<0.01$ *vs* NC; ##: $P<0.01$ *vs* EEF; △: $P<0.01$ *vs* unscalded limb

2.3 大鼠比目鱼肌内 20S蛋白酶复合体蛋白质水解活性的变化

大鼠严重烫伤后第 5天,其伤肢、未伤肢比目鱼肌内 20S蛋白酶复合体的蛋白质水解活性均显著高于 NC组($P<0.01$),伤肢与未伤肢之间差别不显著($P>0.05$); EEF组 20S蛋白酶复合体活性升高程度显著低于 DEF组($P<0.05$),见表 3

表 3 大鼠比目鱼肌 20S蛋白酶复合体活性
(cpm/100μg·2 h⁻¹,$\bar{x}\pm s$)

Tab 3 The proteolytic activity of 20S protease complex in soleus muscle (cpm/100μg·2 h⁻¹,$\bar{x}\pm s$)

Groups	n	Unscalded limb	Scalded limb
NC	6	123.97± 16.87	
BC	6	401.97± 62.72**	405.41± 80.33**
EEF	6	315.61± 51.05**	327.50± 38.50**
DEF	6	409.15± 40.27**##	419.84± 69.69**##

**: $P<0.01$ *vs* NC; #: $P<0.05$ *vs* EEF

2.4 血清 TNF和皮质醇水平的改变

大鼠严重烫伤后第 5天,血清 TNF、皮质醇水平均升高,其中皮质醇水平显著高于正常对照组;而 EEF组大鼠血清 TNF、皮质醇水平均显著低于 DEF组($P<0.01$),见表 4

表 4 血清 TNF和皮质醇水平($\bar{x}\pm s$)

Tab 4 The serum level of TNF and cortisol($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	TNF (ng/L)	n	Cortisol (μg/L)
NC	5	44.39± 5.66	8	6.72± 5.45
BC	7	66.00± 15.36	8	18.71± 8.51**
EEF	6	57.26± 9.56	8	14.80± 5.98*
DEF	6	85.66± 31.46**##	8	31.87± 7.49**##

*: $P<0.05$,**: $P<0.01$ *vs* NC; ##: $P<0.01$ *vs* EEF

3 讨论

骨骼肌蛋白质分解增强是烧伤后"高代谢反应"的重要特征之一;其增强程度往往高于机体基础代谢率增加的程度,持续时间也超过创面愈合的时间,从而引起肌肉过度消耗,机体负氮平衡,不利于康复。研究表明,烧伤后骨骼肌蛋白质分解增强是依赖 ATP-泛素-26S蛋白酶复合体途径为主的多条蛋白质降解途径激活的结果,TNF、IL-6、糖皮质激素等代谢介质可直接或间接激活这一途径[5-7]。本研究结果显示,大鼠严重烫伤后第 5天,伤肢、未伤肢比目鱼肌总 Tyr释放率,以及骨骼肌内依赖 ATP-泛素-26S蛋白酶复合体途径的催化单位-20S蛋白酶复合体的蛋白质水解活性较正常对照组皆显著增加;烫伤大鼠血清 TNF、皮质醇水平也升高,与以往的研究结果一致[4-6]。提示烫伤后 TNF、皮质醇产生增多致骨骼肌内 20S蛋白酶复合体活性增加是其蛋白质分解增强中的重要机制。

烧伤后,肠道细菌和内毒素移位,可刺激单核巨噬细胞系统释放 TNF等细胞因子,介导高代谢反应;而 EEF可通过预防和减少肠源性细菌和内毒素移位,减轻对巨噬细胞的刺激,减少 TNFα等多种介质的产生[7,8]。由此推测,烧伤后肠道粘膜损伤在骨骼肌蛋白质分解增强中起着重要的作用。为此,我们观察了伤后不同时间开始肠道喂养(EEF和 DEF)对骨骼肌蛋白质分解代谢的影响。结果显示,虽然两组动物经肠道摄取的热卡相同,但 EEF组大鼠伤肢和未伤肢比目鱼肌总 Tyr释放率、20S蛋白酶复合体活性,血清 TNF、皮质醇水平,均显著低于 DEF组。提示 EEF可能通过保护肠道粘膜屏障,降低烧伤后血中细胞因子和皮质醇水平、抑制 20S蛋白酶复合体活性而在整体上减少骨骼肌蛋白质分解。

本结果显示,EEF组大鼠其比目鱼肌 Tyr释放率减少程度大于 20S蛋白酶复合体活性降低程度;与正常对照组相比,DEF组大鼠未伤肢、伤肢比目鱼肌总 Tyr释放率的增加量分别是 EEF组的 1.62和 1.57倍,20S蛋白酶复合体活性升高程度则分别是后者的 1.48倍和 1.45倍。提示 EEF还可能通过其它方式起作用,如调节骨骼肌蛋白质泛素化水平影响依赖 ATP-泛素-26S蛋白酶复合体途径的活性,调节骨骼肌内溶酶体途径的活性等[5-10]。

从本实验结果可看出,EEF组大鼠骨骼肌蛋白质分解并未完全降至正常水平,说明单纯 EEF尚不能完全抑制烧伤后骨骼肌蛋白质分解增加。谷氨酰胺为肠道粘膜所必需的代谢底物,烧伤后损伤的肠道粘膜在修复过程中对谷氨酰胺的需求增加。因此,在肠道营养液中加入谷氨酰胺将有助于维持肠道粘膜屏障,减少骨骼肌蛋白质分解[1]。此外,烧伤创面局部产生的内毒素和细胞因子也是血中细胞因子的来源之一,早期切痂也可能有助于减少骨骼肌蛋白质分解。

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

参考文献

1 Wilmore D W, Smith R J, O Dwyer S J, *et al*. The gut: A central organ after surgical stress. Surgery, 1988, 104(5): 917

2 McArdle A H, Palmason C, Brown R A, *et al*. Early enteral feeding of patients with major burns: prevention of catabolism. Ann Plast Surg, 1984, 13(5): 396

3 Mochizuki H, Trocki O, Dominioni L, *et al*. Mechanism of prevention of postburn hypermetabolism and catabolism by early enteral feeding. Ann Surg, 1984, 200(3): 297

4 Huang T S, Dong Y L. Changes in protein metabolism of soleus muscle in scalded rats and the therapeutic effects of leucine and insulin. J Med Coll PLA, 1987, 2(3): 254

5 谭银铃,董燕麟.严重烫伤大鼠骨骼肌降解途径及泛素作用的研究.中华创伤杂志, 1998, 14(6): 384

6 Fang C H, Tiao G, James H, *et al*. Burn injury stimulates multiple proteolytic pathways in skeletal muscle, including the ubiquitin-energy-dependent pathway. J Am Coll Surg, 1995, 180(1): 161

7 王少龙,汪仕良,黎 鳌,等.早期肠道营养对烧伤后肠道功能的维护.中华整形烧伤外科杂志, 1997, 13(4): 267

8 Gianotti L, Alexander J W, Nelson J L, *et al*. Role of early enteral feeding and acute starvation on postburn bacterial translocation and host defense: Prospective, randomized trials. Crit Care Med, 1994, 22(2): 265

9 Llovera M, Garcia Martines C, Agell N, *et al*. TNF can directly induces the expression of ubiquitin-dependent proteolytic system in rat soleus muscles. Biochem Biophys Res Commun, 1997, 230(2): 238

10 文耕云,董燕麟.大鼠严重体表烫伤伤后骨骼肌蛋白酶作用研究.第三军医大学学报, 1991, 13(3): 217

(收稿: 1999-03-25;修回: 1999-07-09)

(编辑 王 红)

Effects of early enteral feeding on degradation of skeletal muscle protein after severe scalding in rats

Zhou Jianchang, Dong Yanlin (Department of Biochemistry, Third Military Medical University, Chongqing, 400038)

Abstract **Objective**: To determine whether early enteral feeding (EEF) can reduce postburn skeletal muscle protein hypercatabolism. **Methods**: Wistar rats were fed with ENSURE fluid in the early or late stage after being inflicted with 37% TBSA full-thickness skin scalding injury. On the 5th day after injury, tyrosine-releasing rate and the proteolytic activity of 20S proteinase complex from soleus, the serum levels of TNF and cortisol were measured. **Results**: Tyrosine-releasing rate and the proteolytic activity of 20S proteinase complex from scalded rats' soleus, the serum levels of TNF and cortisol were significantly lower in rats fed in the early stage than in those fed in the late stage after scalding. **Conclusion**: EEF is effective to reduce postscalding skeletal muscle protein hypercatabolism by preventing excessive secretion of TNF and cortisol.

Key words scalding injury; early enteral feeding; skeletal muscle protein degradation; 20S proteinase complex; TNF; cortisol

(上接 559页)

病程与糖尿病视网膜病变呈现出明显的正相关关系,在 1 ~ 10年间,随着时间的延长,发生的比例呈上升趋势,并提示多于 15年不发生者,以后一般较少发生。

随着年龄的增长,糖尿病视网膜病变发生率随之增高。研究结果是 40岁以上者发生率较青年人发生率高,可能是年龄增大后血管机能有所降低所致。

高血压者并发糖尿病视网膜病变发生率高。可能是高血压对血管功能结构的损害加快了 DR的发展。

DN者有 69.2%的患者发生 DR,大大超过半数,表明两者平行相关。两者的病理基础同是微血管病变和微循环障碍,而且均为退行性变,随着病程的延长,最终可导致视力丧失和肾功能衰竭[6]。

II 型糖尿病患者常伴有脂代谢的异常(占 50%),甘油三脂增多较多见。本研究结果表明,早期糖尿病视网膜病变与甘油三脂呈显著正相关。揭示早期治疗高脂血症有利于DR的防治。

关键词 糖尿病视网膜病 诊断;高血糖;年龄;荧光血管造影术

中图法分类号 R587.1

参考文献

1 李震超,罗成仁,杨兰芬,等.糖尿病视网膜病变黄斑无血管区图像定量研究.中华眼底病杂志, 1995, 11(4): 229

2 崔凡明,侯俭.早期糖尿病视网膜病变与全身因素关系的探讨.中华眼底病杂志, 1995, 11(2): 83

3 张惠蓉,刘宁朴,夏英杰.糖尿病视网膜病变新生血管和视力预后.中华眼底病杂志, 1995, 11(2): 71

4 佘华宁,臧 企.糖尿病视网膜病变眼底荧光血管造影的早期征象.陕西医学杂志, 1996, 25(1): 34

5 杨维淮,苗龙生,张露薇.糖尿病视网膜病变眼底荧光血管造影初步探讨.中国糖尿病杂志, 1995, 3(1): 15

6 陈素贞,龙 力,迟家敏,等.糖尿病性视网膜病变与肾功能的关系.中国实用眼科杂志, 1995, 13(8): 470

(收稿: 1998-08-17;修回: 1999-01-24)

(编辑 汪勤俭)

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