DOI:10.16016/j.1000-5404.1994.03.010

烫伤大鼠肝葡萄糖激酶、肌己糖激酶活性及红细胞三磷酸腺苷含量的变化

周建新 钟小林 李蓉芬 叶上宇 董燕麟 (第三军医大学基础部生物化学教研室) 630038

提 要 为进一步探讨损伤后糖代谢状况,我们测定了30%体表烫伤后大鼠不同时间的血糖和血乳酸,并比较休克期(伤后6 h)和高代谢期(伤后72 h)的肝葡萄糖激酶及比目鱼肌已糖激酶(Ⅰ型)活性。结果显示血乳酸水平在伤后6 h和48 h各有一个高峰,可能分别是应激和代谢紊乱的表现。血糖水平在伤后6 h明显升高,但6 h内波动很大。伤后72 h肝葡萄糖激酶活性显著降低($P<0.05$),可能与创伤后血糖升高,糖异生增强及胰岛素抵抗等现象有关。伤后比目鱼肌已糖激酶活性及红细胞三磷酸腺苷(ATP)含量未发现明显变化。

关键词 灼伤;葡萄糖激酶类;己糖激酶类;血糖;乳酸盐类

中图法分类号 R644

损伤后的代谢变化已引起广泛的注意,因为在治疗创伤的同时需要纠正代谢上的紊乱。已有人根据代谢上的变化把创伤后分成多个不同的时期[1]。为了解损伤后不同时期糖代谢的特点,我室以前的工作曾证实在"低落期"糖元分解加速,在"高涨期"糖异生加强,相关的酶关键酶活性升高[2]。本工作检查了30%体表烫伤后大鼠肝葡萄糖激酶和比目鱼肌已糖激酶活性,并同时测定了血糖、血乳酸和红细胞ATP浓度,希望为进一步了解烫伤后糖分解代谢的情况提供线索。

1 材料与方法

1.1 实验动物

雄性Wistar大白鼠,180~240 g。分烫伤后6 h,烫伤后72 h和对照共3组。致伤组动物经乙醚麻醉后,将剪去毛的背部置90~93℃水浴中浸7 s,腹腔注射生理盐水5 ml,供水、食自取[3]。对照组除37℃假致伤外,其他处理相同,动物在规定时间断头处死。

1.2 材料

NADP,NAD,ATP,Boeringer;无水葡萄糖,重庆三胜化工厂;L(+)-乳酸锂,Sigma;INT(2-(4-Iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenylterazolium Chloride),BDH;吩嗪甲酯硫酸盐(PMS),上海生物化学研究所东风试剂厂;牛血清白蛋白,兔肌乳酸脱氢酶,上海生化所;葡萄糖氧化酶法测定试剂盒,河北省科学院微生物所;己糖激酶,6-磷酸葡萄糖脱氢酶,Boeringer。7520型分光光度计。

1.3 方法

1.3.1 血糖测定按河北微生物所葡萄糖氧化酶法试剂盒的说明书进行。乳酸测定参照文献[4]进行。红细胞ATP测定按己糖激酶法[5]。此三项测定均采用氟化钠加肝素抗凝的大鼠尾血。

1.3.2 肝葡萄糖激酶的测定[6]:取大鼠肝约1 g剪碎,加9倍体积的匀浆液(Tris-HCl 0.1 mol/L,pH7.5;EDTA 5 mmol/L;$MgCl_2$ 5 mmol/L;KCl 0.15 mol/L),置Teflon玻璃匀浆器内匀浆数次,匀浆液经12 000 rpm离心10 min,弃去沉淀,取上清液测葡萄糖酶活性。反应体积3 ml,最终含:Tris-HCl 100 mmol/L,pH7.5;NADP 0.2 mmol/L;ATP 5 mmol/L;$MgCl_2$ 5mmol/L;6-磷酸葡萄糖脱氢酶0.2 U;每次测定设高糖测定管(葡萄糖终浓度为100 mmol/L)和低糖测定管(葡萄糖终浓度为0.5 mmol/L)。上述溶液混匀后置30℃预温5 min,再加肝匀浆上清20 μl反应。用蒸馏水调零,在波长340 nm处测出每分钟光密度的增加值,并从高糖管测得值中减去低糖管测得值。

1.3.3 比目鱼肌已糖激酶测定[7]:取大鼠一侧后腿比目鱼肌剪碎,按1∶9(g∶ml)加入前述匀浆缓冲液,用内切式匀浆器打碎,再经手动玻璃匀浆器匀浆,12 000 rpm离心10 min后取上清作酶活性测定。3 ml反应体积中最终含:Tris-HCl 25 mmol/L,pH7.5;$MgCl_2$ 10 mmol/L;NDP 0.2 mmol/L;ATP 5 mmol/L;6-磷酸葡萄糖脱氢酶0.63 U;每次测定设有糖管(葡萄糖终浓度35 mmol/L)和无糖管(不含葡萄糖)。各管置30℃预温5 min后加肌匀浆上清20 μl反应。以蒸馏水调零测$\Delta OD_{340\,nm}$/min。从有糖管所得值中减去无糖管所得值。

上述两种酶活性的比活性参照Pilkis[6]的公式计算(稀释倍数为150)。蛋白质的测定以牛血清白蛋白为标准,按Lowry法进行[8]。酶比活性表示为毫单位min/mg蛋白质。

数据统计用t检验。

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

2　实验结果

2.1　血乳酸

烫伤后血乳酸水平急剧升高(伤后 1 h，$P<0.05$)，在 6 h 左右恢复，到伤后 48 h 后又出现第 2 个高峰($P<0.05$，图 1)。

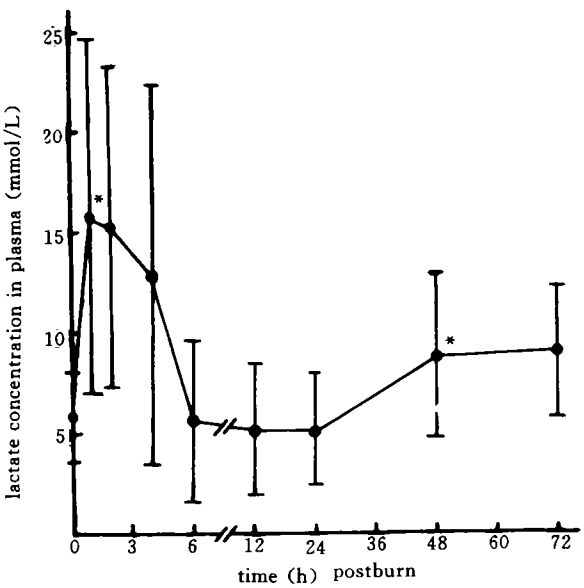


图 1　烫伤大鼠血浆乳酸水平(0 时为加处理前水平)

Fig 1　Lactate level in plasma of burn rats. Values in 0 h are blood sugar concentration of preburn rats. All values are means ± s.　* Significantly different from control ($P<0.05$).

2.3　红细胞 ATP 浓度

伤后大鼠红细胞 ATP 浓度未见明显变化(表 1)。

表 1　大鼠尾血红细胞 ATP 含量(μmol/100 ml 全血，$\bar{x}\pm s$，$n=7$)

Table 1　ATP concentration in blood red cell of rats tail

Preburn	Postburn (h)			
	2	6	12	72
52±15	57±13	63±5	69±21	56±21

Values are means ± s (μmol/100 ml whole blood, $n=7$)

2.4　烫伤后酶活性的变化

烫伤后 72 h，大鼠肝葡萄糖激酶活性显著下降($P<0.05$，表 2)。

对照组的波动很小(资料未显示)。

2.2　血糖

大鼠在伤后 6 h 内血糖水平有剧烈波动，标准差极大，但伤后 6 h 血糖值高于伤前($P<0.05$，图 2)。对照组的血糖水平较稳定(资料未显示)。

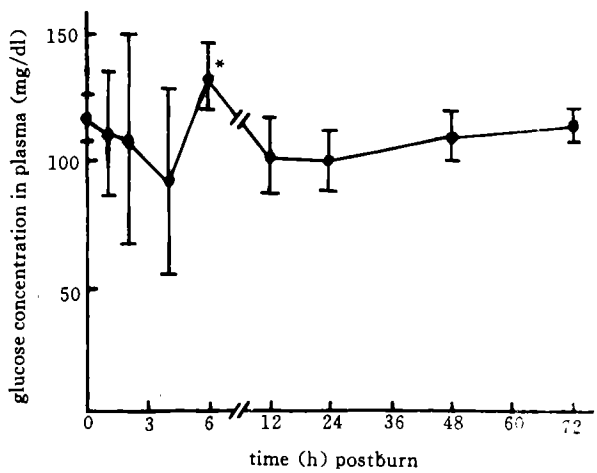


图 2　烫伤大鼠的血糖水平(0 时为加处理前水平)

Fig 2　Blood sugar concentration of burn rats. Values at 0 h are blood sugar level of preburn rats. All values are means ± s.　* Significantly different from control ($P<0.05$).

表 2　烫伤后肝葡萄糖激酶和肌己糖激酶活性变化(毫单位/min/mg protein，$\bar{x}\pm s$)

Table 2　The activities iof liver glucokinase and muscle hexokinas after burn

Group	Activites of liver Glucokinase	Activties of Sc[illegible] Hexokinase
control	4.87±2.22	6.49±2.72
6 h postburn	4.77±1.75	4.54±1.8[illegible]
72 h postburn	2.03±0.89*	6.61±3.[illegible]

Values are means ± s (mUnit/min/mg protein, $n=7$);

※: Differs significantly from control ($P<0.05$).

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

3 讨论

已有很多文献报告烧伤后引起血乳酸和血糖升高[1,9]。本实验表明血乳酸升高有两个高峰(图1)。在早期出现的血乳酸升高可能是一种应激反应,随后出现的第2次血乳酸升高是代谢紊乱的表现。烧伤后休克所造成的组织缺血缺氧会使无氧酵解增强,体内某些代谢产物的毒性作用也可能使乳酸的分解减少。两方面都可能使乳酸浓度升高。曾有报告主动脉手术病人血乳酸的升高也有两个高峰,而且第2个高峰持续的时间更长[10]。两者的情况有某些类似。

实验结果显示动物在烫伤后6h内血糖水平波动很大(图2),这可能与动物的休克程度有关。当动物烫伤后血糖低于350 mg/L时生存的可能性极小。休克可能在降低糖氧化速率的同时也增加了葡萄糖的清除率,因而出现低血糖[11]。但本实验资料显示伤后6 h血糖显著升高($P<0.05$),表明损伤后休克程度较轻或有所恢复后可出现高血糖。文献提示机体此时的葡萄糖氧化速率并没有明显增加而葡萄糖的再循环却增加[11]。

文献报告严重烧伤早期病人的红细胞ATP含量下降,ATP/ADP比值降低,这种情况在静脉内供给氨基酸等营养物后可得到改善[12]。但本实验未发现大鼠烫伤后红细胞ATP含量有明显变化(表1)。估计这类烧伤时休克所造成的缺氧没有对红细胞ATP的生成造成直接影响。因红细胞由糖酵解提供能量,不管有氧或无氧,红细胞都完全以糖酵解的方式提供ATP。

烫伤后6 h和72 h分别处于休克期和高代谢期。本实验表明伤后72 h肝葡萄糖激酶活性明显降低,提示此时葡萄糖在肝内经磷酸化转变成糖元的可能性较小。创伤报以丙氨酸等为原料的糖异生增强,所生成的6-磷酸葡萄糖可直接生成糖元或提供血糖,无需葡萄糖激酶的作用。因此,该酶活性降低也可能是促进损伤后糖异生的一个因素。伤后72h在清除血糖中有重要作用的肝葡萄糖激酶活性下降,有利于促进血糖升高。肝葡萄糖激酶是一个可被胰岛素诱导的酶,严重损伤后胰岛素分泌减少[1]或组织细胞对胰岛素反应性降低(胰岛素抵抗)可能是该酶活性下降的原因。

本实验未发现烫伤后肌肉己糖激酶(Ⅰ型)活性有明显变化。但近来有工作证明烫伤后开始5 d内大鼠肠粘膜己糖激酶,磷酸果糖激酶和丙酮酸酶活性均显著降低[13]。有关损伤后糖的分解代谢状态还有待进一步探讨。

参考文献

1 Frayn KN. Glucose homoeostasis after injury in man. Biochemical Society Transactions, 1987, 15: 1030

2 翟中金,董燕麟. 30%体表烧伤对大鼠肾脏糖异生的影响. 烧伤研究-首届中美国际烧伤会议重庆论文选集. 重庆:重庆出版社, 1985: 293~301

3 黄涛生,董燕麟. 烫伤大鼠肝脏蛋白质合成变化及胰岛素的影响. 第三军医大学学报, 1986, 8(增刊): 1

4 潘 瑾,耿建萌,董解菊. 血浆乳酸单一试剂微量比色测定法. 第三军医大学学报, 1984, 6(3): 289

5 GG吉尔鲍特,著. 缪辉南,陈石根,译. 酶学分析手册. 上海:上海科学技术出版社, 1982: 361

6 Pilks SJ. Glucokinase of rat liver. Methods in Enzymology, 1975, Vol. XLII: 31

7 Easterby JS, Qadri SS. Hexokinase type Ⅰ from rat skelstal muscle. Methodsin Enzymology, 1982, 90(partaE): 11

8 Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem, 1951, 193: 265

9 Wolfe RR, Miller IH, Spitzer JJ. Glucose and lactate kinetics in burn shock. American Journal of Physiology, 1977, 232(4): E415

10 Georger Allen SH. Metabolic alterations in trauma: lactate and pyruvate levels after aortic surgery. Circulatory Shock, 1983, 11: 13

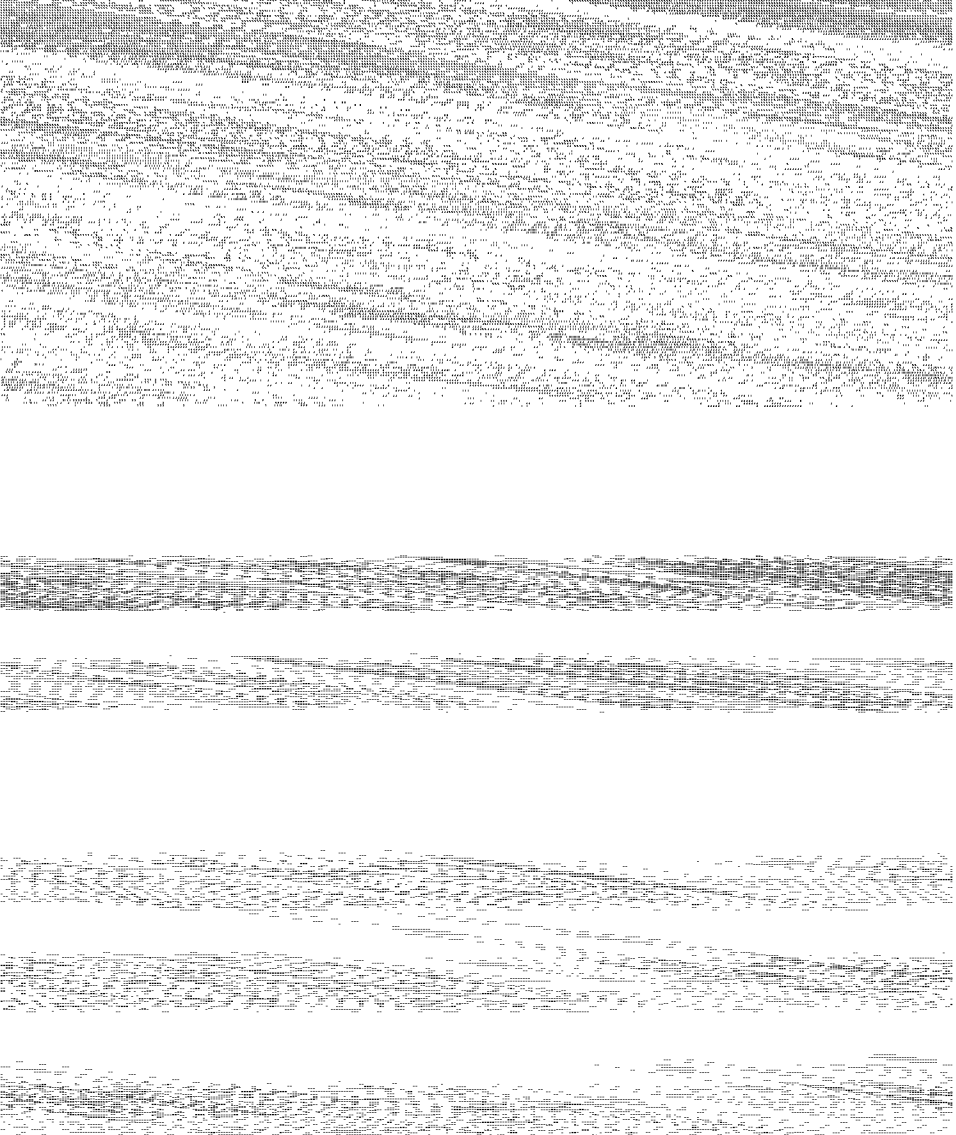
11 Wolfe RR, Burke FJ. Effect of burn trauma on glucose tunover, oxidation, and recycling in guinea pigs. American Journal Physiology, 1977, 233: E80

12 Szabo K, Tulok I, NovakJ. Studies on metabalic disturbances in burn shock. Acta Chivurgia Plasticare, 1981, 23(4): 245

13 Ardawi MSM. Maximal activties of glutaminase and some enzymes of glycolysis and ketone body utilization and rates of utilization of glutamine, glucose and ketone bodies by intestinal mucosa after burn injury. Burn Including Thermal Injury, 1987, 13(6): 438

(收稿:1993-04-01;修回:1994-03-19)

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



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