DOI:10.16016/j.1000-5404.1989.01.002

严重烫伤早期外源性β－羟丁酸钠、胰岛素对大鼠骨骼肌蛋白质代谢的影响

杨 青 董燕麟 （生化教研室）

提 要 本文就外源性β－羟丁酸钠(β－HOBNa)、胰岛素(I)对37%体表严重烫伤大鼠骨骼肌蛋白质代谢的影响进行了研究。结果为伤后第4天血清乙酰乙酸(AcAc)无明显变化，游离脂肪酸(FFA)下降，尿3－甲基组氨酸(3－MH)和伤肢比目鱼肌蛋白质分解率明显增加。伤后连续三天注入β－HOBNa可降低尿3－MH和比目鱼肌蛋白质的分解率，但对其合成无明显影响。联合注入β－HOBNa和I未见二者有明显的协同抗蛋白质分解的效应。

关键词 羟丁酸钠；酮体；烧伤；蛋白质代谢；3－甲基组氨酸

严重烧伤后出现的正常或低酮血症多伴有高酮血症时更为显著的尿氮和尿3－MH增多[1]。因此，试用外源性酮体来改善烧伤后的负氮平衡已引起注意。但目前对其是否有确切的节氮作用仍有争议[2,3]。对创伤后合后用酮体、胰岛素所产生的抗蛋白质分解作用是否更为有效的问题也尚未定论[10]。故本文对用外源性酮体、胰岛素改善伤后负氮平衡的可能性做了进一步的研究，从整体和离体两方面观察外源性β－HOBNa、I对大鼠骨骼肌蛋白质代谢的影响。

材料与方法

主要试剂

DL－β－羟丁酸钠和L－3－甲基组氨酸系Sigma化学公司产品；20种L－氨基酸系味之素公司产品；^3H－酪氨酸系中科院上海核技术开发公司产品。

实验分组及动物模型

雄性Wistar大鼠(170±20g)被随机分为单纯烫伤组(B组，n=12)，烫伤加β－HOBNa组(BH组，n=12)，烫伤加I组(BI组，n=10)；烫伤加β－HOBNa和I组(BHI组，n=9)，各组按相应体重配有对照组(N，NH，NI和NHI组)。烫伤组经乙醚麻醉后，剪去背部(占体表面积30%)和一侧后肢(7%)的毛，将背部置90～93℃水浴烫7s，一侧后肢烫3s，造成37%体表皮肤全层烫伤[6]。伤后分笼饲养，自由饮水、摄食，记录每日进食量。伤后连续三天向BH、BI和BHI组大鼠腹腔内分别注入DL－β－HOBNa (34.9 mmol/100g·wt/天)、I(0.1μ/100g·wt/天)及DL－β－HOBNa和I。各对照组除每日进食量严格按烫伤组的食物消耗量供给外，其余处理同各烫伤组。

观测指标

收集第三天鼠尿，记录总体积，经酸水解[4]后用氨基酸分析仪分析尿3－MH含量。第4天始处死大鼠，立即分离血清和烫伤组双侧后肢及对照组单侧后肢比目鱼肌。血清AcAc、FFA和白蛋白分别用重氮盐法[5]、一次提取法和溴甲酚绿染料结合法测定。比目鱼肌酪氨酸的体外释放与掺入率用测定离体骨骼肌蛋白质代谢速率的方法测定[6]，其中酪氨酸测定采用酪氨酸荧光分光光度法[7]。

结 果

从表1可见烫伤后血清FFA和白蛋白均明显地低于对照组，但AcAc变化不明显，而且伤后血清AcAc浓度与尿3－MH排出量间存在明显的负相关关系(见附图)

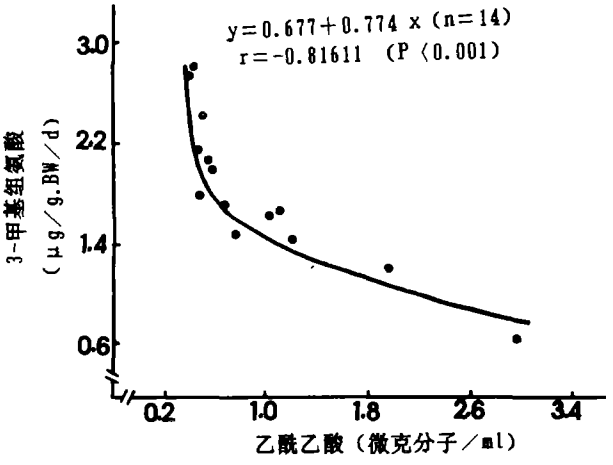
烫伤后尿3－MH含量明显增加，与B组相比，BH、BI和BHI组的排出量显著下降；NH、NI和NHI组大鼠尿3－MH也明显低于N组，但三个施加因素的烫伤组之间以及三个施加因素的对照组之间均无显著差异。

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

表 1 烫伤组与对照组大鼠血清 AcAc、FFA 和白蛋白含量的比较($\bar{x}\pm SE$)

	对照组	烫伤组
AcAc (μmol/ml)	0.87±0.04 (n=12)	0.73±0.006 (n=12)
FFA (μEq/ml)	0.29±0.03 (n=12)	0.1400±0.0003 ** (n=12)
白蛋白 (g/dl)	4.62±0.05 (n=12)	3.60±0.0 * (n=12)

* $p<0.01$ ** $p<0.001$



附图 血酮体与尿中 3- 甲基组氨酸

各烫伤组伤肢比目鱼肌蛋白质分解速率较其健肢和各自的正常对照组明显增高，除 BI 组外，其余各烫伤健肢与对照组比较无明显改变。BI 组伤、健肢的分解率较 B 组的无明显降低，其健肢分解率还高于对照组(NI)。NI 组与 NH 组间虽相差显著，但与 NHI 组间无明显差异。BH、BHI 组伤、健肢的分解率还明显小于 B 组；但这两组间相差不明显著；NH、NI 和 NHI 组也较 N 组明显降低。

B 组伤肢比目鱼肌 $^3H-$ 酪氨酸体外掺入率较其健肢和 N 组明显增加，但后二者间无显著差异。BH、BHI 组伤、健肢和 BI 组健肢及其各自的对照组的掺入率有增加的趋势，但无统计学意义，且各组间相差不显著。BI 组伤肢掺入率与 B 组伤肢相似。

讨 论

严重烧伤、感染后的血酮体不增加甚至降低是其有别于一般生理性应激的一特征。本实验结果也表明烫伤组大鼠血清 AcAc 浓度与对照组间无明显差异，但 FFA 和白蛋白分别比对照组下降了 51.7% 和 21.8%。出现血酮体不增加的主要原因可能有：第一，烧伤导致脂肪组织灌流不足、高胰岛素血症和白蛋白大量丧失使合成酮体的原料——FFA 的产生和运输受阻；第二，严重烧伤后，胃肠道消化吸收功能下降和机

表 2 外源性 $\beta-$ 羟丁酸钠、胰岛素对尿 3- MH 排出量的影响 ($\mu g/g\cdot wt/$ 天，$\bar{x}\pm SE$)

		对照组 (N)		烫伤组 (B)	
	未施加因素组	1.12±0.06 (n=10)		1.81±0.05 * (n=12)	
施加因素组	$^+\beta-$羟丁酸钠组 (H)	0.640±0.009 (n=12)	△	1.20±0.03 * (n=12)	△
	$^+$胰岛素组 (I)	0.72±0.03 (n=11)	△	1.40±0.02 * (n=10)	△
	$^+\beta-$羟丁酸钠和胰岛素组 (HI)	0.72±0.02 (n=5)	△	1.200±0.004 * (n=5)	△△

* 与照组比较 $P<0.01$　　△与未施加因素组比较 { △ $P<0.05$；△△ $P<0.01$

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

表 3　外源性β- 羟丁酸钠、胰岛素对比目鱼肌蛋白质分解率的影响（*nmol*/g 湿组织 /2h, $\bar{x}\pm SE$）

		对照组 (N)	烫伤组 (B)	
			健　肢	伤　肢
施加因素组	未施加因素组	281.4 ± 11.4 (n=10)	271.8 ± 12.9 (n=12)	351.1 ± .7 +** (n=12)
	+β－羟丁酸钠组 (H)	258.8 ± 9.1 △☆ (n=12)	43.4 ± 11.4 △ (n=12)	328.1 ±12 3 +**△☆ (n=12)
	+ 胰岛素组 (I)	205.9 ± 8.8 △△ (n=12)	248.6 ±10.5 * (n=10)	358.1 ± 11.8 +** (n=10)
	+β－羟丁酸钠和胰岛素组 (HI)	235.7 ± 5.9 △ (n=5)	227.2 ± 14.0 △ (n=9)	300.6 ± 12.7 +△*☆☆ (n=9)

* 与对照组比较 { *P<0.05 ; **P<0.01 }　　+ 与健肢比较 P<0.01

△ 与未施加因素组比较 { △ P<0.05 ; △△ P<0.01 }　　☆ 与 + 胰岛素组比较 { ☆ P<0.05 ; ☆☆ P<0.01 }

表 4　外源性β－羟丁酸钠、胰岛素对比目鱼肌酪氨酸体外掺入率的影响（*nmol* /g 湿组织 /2h, $\bar{x}\pm SE$）

		对照组 (N)	烫伤组 (B)	
			健　肢	伤　肢
施加因素组	未施加因素组	36.5 ± 1.8 (n=10)	37.8 ± 2.8 (n=12)	48.2 ± 5.4 +* (n=12)
	+β－羟丁酸钠组 (H)	53.7 ± 5.6 (n=12)	41.2 ± 3.9 (n=12)	57.3 ± 4.6 (n=12)
	+ 胰岛素组 (I)	51.8 ± 6.5 (n=12)	50.5 ± 7.1 (n=10)	49.2 ± 3.4 (n=10)
	+β－羟丁酸钠和胰岛素组 (HI	58.2 ± 6.2 (n=5)	52.1 ±9.1 (n=9)	54.7 ± 5.5 (n=9)

* 与对照组比较 P<0.05　　+ 与健肢比较 P<0.05

体需要量增加使外源性肉毒碱供给不足。内源性肉毒碱短缺是由于伤后体内氨基酸主要趋于氧化功能，使得有赖于蛋氨酸提供甲基、赖氨酸提供碳架合成的肉毒碱减少所致；加之从尿中排出和创面渗出肉毒碱增加导致机内肉毒碱缺乏使 FFA 进入肝线粒体氧化障碍；第三，休克和感染期的缺血缺氧、细菌毒素等诸多因素使肝线粒体功能失调，生酮能力减弱[8]；第四，近来发现伤后血中某些应激激素（如肾上腺素、加压素等）的大量增加可直接抑制生酮[9]；第五，外周组织利用酮体的能力大大增加。总之，严重烧伤后体内生酮率降低，而用酮率增高，结果出现血酮体不增加甚至减少的现象。

烧伤 24 ～ 48h 后即进入代谢的“高潮期”，机体主要表现为分解代谢旺盛和明显的负氮平衡。本实验发现致伤组蛋白质的分解和合成率均增加，但分解明显大于合成，表现在伤肢比目鱼肌蛋白质分解率和尿

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

3－MH 含量大大高于对照组(表 2、3、4)。从图还可见烫伤大鼠尿 3－MH 含量与血清 AcAc 浓度间呈明显的负相关关系，这与 Abbott 等的结果相吻合[1]，说明血酮体升高在烧伤的高代谢期中可减少肌肉蛋白质的降解，因此为给予创伤对象外源性酮体以改善其负氮平衡的研究提供了实验依据。然而，目前对此观点还仍有争议。其焦点在于持异议者认为注入酮体钠盐(AcAc Na 或 β－HOBNa)提高了血液 pH，改善或纠正了由创伤、感染、饥饿等引起的酸中毒，从而减少了肾脏产氨，故尿氮排出减少[3]。所以为了尽可能地排除 β－HOBNa 对血 pH 的影响，但又力求和有关实验结果[11]有所比较，本实验先将 β－HOBNa 液用 0.01N HCl 中和，再改变从静脉中连续灌注的方式，将 Maiz 等[11]所用 β－HOBNa 的量(34.3 mmol/kg·wt/天)提高 10 倍，以 34.9mmol/100g·wt/天的剂量连续 3 天从腹腔内一次性注入，然后测定尿 3－MH 和离体比目鱼肌 ^3H－酪氨酸体外释放与掺入率，从整体和离体两方面观察外源性 β－HOBNa 是否有节约蛋白质的作用。近来 Johnson 等[10]发现同时给予施行了外科手术的狗酮体和胰岛素，所产生的抗分解代谢作用比单纯给酮体或胰岛素时更为明显，故推测酮体－胰岛素间可相互协同作用，为验证该假说，本实验还设立了 BI 和 BHI 组。

结果表明 BH 组尿 3－MH 较 B 组减少了 33.7%(表 2)，其伤、健肢比目鱼肌蛋白质分解率也较 B 组的明显降低(表 3)，说明外源性 β－HOBNa 有节约骨骼肌蛋白质的作用。酮体是肝脏输出脂肪酸类能源的一种重要形式。它分子量小，溶于水，运输时不必和血浆蛋白质结合，并易通过血脑屏障及静止肌肉的毛细血管壁，故其是大脑和肌肉的重要能源之一。在外周组织中存在着丰富的氧化利用棠体的酶，某些重要的组织器官，如大脑，在应激后期其能源 60～70% 来自酮体，而平时则主要依靠葡萄糖供能。因此应激后给予外源性酮体可节约葡萄糖以保证只依靠葡萄糖供能的组织器官足够的血糖。在肌肉中酮体一方面可作为能源物质代替支链氨基酸氧化供能而直接起储氮作用；另一方面它可抑制肌肉释放生糖氨基酸。烧伤后从肌肉释放出大量的生糖氨肌酸，如丙氨酸通过葡萄糖－丙氨酸循环进入肝脏进行糖异生。而丙氨酸－酮体循环假说[13]指出在这两者之间存在相互抑制的关系，故提高血酮体浓度则可抑制肌肉释放丙氨酸，而后者的氨基主要来自支链氨基酸。因此推断在给予外源性酮体抑制肌肉蛋白质分解的同时可间接促进其合成[12]。但表 4 的结果却表明虽然 BH 组比目鱼肌 ^3H－酪氨酸体外掺入率有增加的趋势，但无统计学意义。这可能是由于在烧伤超高代谢期间分解显著大于合成，而合成代谢紊乱在短期内很难得以纠正的缘故。

给予外源性 β－HOBNa 和 I 后，从整体可见 BH、BI 和 BHI 组尿 3－MH 分别较 B 组下降了 33.7%、22.7% 和 33.7%，NH、NI 和 NHI 的尿 3－MH 也显著低于 N 组。但施加因素的 3 个烫伤组间及 3 个对照组间均无明显差异(表 2)。离体实验表明 BI 组伤、健肢比目鱼肌蛋白质分解率较 B 组无明显减少。虽然 BH、BHI 组伤、健肢分解率明显低于 B 组，但两组间相差不显著(表 3)。以上结果与 Johnson 等[11]的结论不同。这可能有两方面的原因：〈1〉严重烫伤后伤、健肢均出现不同程度的胰岛素抵抗，使酮体－胰岛素抑制肌肉蛋白质分解作用的加和性表现得不明显；〈2〉各自所用动物模型及实验方法上的差异。然而 NHI 组的比目鱼肌蛋白质分解率与 NH 或 NI 组间也无显著差异，且仅从结果上看，NHI 组的分解率还高于 NI 组；是否在正常时当血酮体达到一定水平后对胰岛素在蛋白质代谢上的生理效应有所阻抗？目前国内外还未见有关报道，就本文而言，也未找到满意的解释。在

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

蛋白质合成方面，由于伤后胰岛素抵抗及外源性酮体通过减少蛋白质分解而间接促使其合成导致 BH、Bl、BHl 组间及它们与 B 组间 ^3H－酪氨酸掺入率无显著差异（表 4）。但在对照组中也有类似现象，这可能是在正常时当血酮体和/或胰岛素达到某一水平后机体通过各种途径对蛋白质的合成代谢进行负反馈调节的结果。

结　　论

严重烫伤早期出现血清 AcAc 无明显变化的原因之一是 FFA 显著减少。尿 3－MH 与血清 AcAc 浓度间呈明显的负相关性，因此用外源性 β－HOBNa 后减少了烫伤大鼠尿 3－MH 排出和降低了骨骼肌蛋白质分解，改善了其伤后的负氮平衡，但未发现外源性 β－HOBNa 对肌肉蛋白质合成代谢有明显影响。酮体－胰岛素间的相互作用在严重烫伤大鼠体内表现不明显，对二者的协同抗肌肉蛋白质分解代谢的假说还需更多的实验依据。

参　考　文　献

1. Abbott WC, et al. The effect of major thermal injury on plasma ketone body levels. JPEN 1985; 9(2): 153 ~ 158
2. Sherwin RS, et al. Effect of ketone infudions on amino acid and nitrogen metabolism in man. J Clin Invest 1975; 55: 1382 ~ 90
3. Miles JM, et al. Failure of infused hydroxybutyrate to decrease proteolysis in man. Diabetes 1983; 32: 197 ~ 205
4. Wassner SJ, et al. Protein degradation in muscle: Response to feeding and fasting in growing rats. Am J Physiol 1977; 233(2): E119 ~ 123
5. Harano Y, et al. Sensitive and simplified method for the differential determination of serum levels of ketone bodies. Clin Chim Acta 1983; 134: 327 ~ 336
6. 黄涛生和董燕麟。离体骨骼肌蛋白质代谢速率的测定方法。生物化学与生物物理进展 1988; 15(1): 64 ~ 66
7. 蔡祝辉，等。人血清游离色氨酸、苯丙氨酸和酪氨酸的微量测定。生物化学与生物物理进展 1979; 11(1): 49
8. Williamson DH. Regulation of ketone body metabolism and the effects of injury. Acta Chir Scand Suppl 1982; 507: 22 ~ 29
9. Watter JM, et al. Role of catabolic hormones in the hypoketonaemia of injury. Br J Surg 1986; 73: 108 ~ 110
10. Johnson DJ, et al. Insulin－ketone interaction: A possible mechanism for postinjury branched－chain amion acid anticatabolic properties. Surg Forum 1985; 36: 54 ~ 56
11. Maiz A, et al. Effect of DL－3－hydroxybutyrate infusions on leucine and glucose kinetic in burned rats receiving TPN. J Nutr 1986; 116: 149 ~ 156
12. Newshohne EA & Leech AR. Amino acid metabolism. In: Newshohne EA & Leech AR. Biochemistry for the medical science. By John Wiley & Sons Ltd, Norwich. 1983: 418 ~ 421
13. Fery F. et al. The alanine－ketone body cycle hypothesis. Metabolism 1982; 31(11): 1179

（收稿：1988. 1. 11；修回：1888. 8. 31）

Effects of Exogenous Na—DL—3—Hydroxybutyrate and Insulin on Skeletal Muscle Protein Metabolism in Rats after Early Severe Burn Injury

Yang Qing and Dong Yanlin

(*Department of Biochemistry, Third Military Medical College*)

The effects of exogenous Na－DL－3－hydroxybutyate (3－HOBNa) and insulin (I) on skeletal muscle protein metabolism in rats inflicted with 37% TBSA full thickness scalding were studied. It was found that the serum acetoacetate (AcAc) of the burned animals showed no significant difference from the control on the 4th day postburn, but the free fatty acid (FFA)

（下转 13 页）

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

4. Sawynok J, et al. Involvment of GABA in the antinociceptive effect of γ-acetylenic GABA (GAG), antinhibitor of GABA-transaminase. Gen Pharmac 1983; 14: 603 ~ 607
5. Sawynok J, et al. On the involvment of GABA in the analgesia produced by baclofen, muscimol and morphine. Neuropharmac. 1982; 21: 397 ~ 403
6. Grognet T, et al. Comparison of the analgesic actions of THIP and morphine. Gen Pharmac 1983; 14: 585 ~ 589
7. 沈锷。痛觉和痛觉的调制。生理科学进展 1979; 10: 193 ~ 201
8. Liebman JM, et al. Antinociceptive effect of baclofen and muscimol upon intraventricularly administration. Eur J Pharmac 1980; 61: 225 ~ 230

(收稿: 1988. 3. 28, 修回: 1988. 11. 3)

Effects of Intracerebroventricularly Injected GABA, PTX on the noxious Discharges of Dorsal Hippocampal Neurons in the Cats

Bi Xiaoning, et al

(*Department of Physiology, Third Military Medical College*)

The effects of intraventricular administration of γ-amino-butyric acid (GABA) and its antagonist picrotoxin(PTX) on the discharges of dorsal hippocampal nociceptive neurons are investigated. The noxious discharge of 28 (67%) nociceptive exciting neurons (NENS) are depressed ($p<0.01$) while 17 of 23 (74%) nociceptive inhibiting neurons (NINS) exhibit disinhibition ($p<0.01$) after injection of GABA.. PTX administered intraventricularly can reverse the inhibitory effect of GABA on most of the NENS, but the effects of PTX itself are variable. These suggest that a large dose of GABA exerts an analgesic effect, while the role of the endogenous GABA may play in the endogenous antinociceptive system is not clear.

Key words Hippocampus/DE; Gamma amino-butyric acid; Picrotoxin; Neurons, afferent

(上接9页)

decreased markedly and the urinary 3-methylhistidine(3-MH) excretion and the protein degradation rate of the soleus muscle of the injured hind limb increased markedly. Infusion of 3-HOBNa for 3 consecutive days following burns could lower the urinary 3-MH excretion and the protein degradation rate of the soleus muscle with no significant influence on the skeletal muscle protein anabolism. Moreover, investigations revealed that there was no synergistic effect of insulin-ketone body combinatioan on the anti-catabolic capacity in burned rats.

Key words: Sodium hydroxybutyrate; Ketone bodies; Burn injury; Protein metabolism; 3-methylhistidine

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