

不同小剂量甘精胰岛素对烫伤延迟复苏大鼠器官的抗氧化保护作用

文雪¹ 冯珺琳¹ 李伟人² 赵晨¹

¹ 贵州医科大学临床医学院, 贵阳 550004; ² 贵州医科大学附属医院烧伤整形外科, 贵阳 550004
通信作者: 李伟人, Email: gz_lwr@163.com

【摘要】 目的 探讨不同小剂量甘精胰岛素对烫伤延迟复苏大鼠器官的抗氧化保护作用。**方法** 按随机数字表法将 40 只雄性 SD 大鼠分为假伤组、延迟复苏对照组及甘精胰岛素 0.5、1.0、2.0 U 组, 每组 8 只。将大鼠浸入 (95.0±0.5) °C 热水中 15 s 制备 30% 总体表面积Ⅲ度烫伤模型; 假伤组大鼠浸入 37 °C 水浴锅中 15 s 模拟烫伤。甘精胰岛素 0.5、1.0、2.0 U 组分别于大鼠烫伤后 2 h 皮下注射甘精胰岛素 0.5、1.0、2.0 U·kg⁻¹·d⁻¹, 延迟复苏对照组同法注射等量生理盐水; 各组于伤后 6 h 腹腔注射生理盐水 40 mL/kg 复苏大鼠。假伤组模拟烫伤后即刻采集大鼠腹主动脉血及心脏、肾脏组织, 其他 4 组于烫伤后 24 h 采集标本。采用分光光度法测定血糖、心肌酶〔乳酸脱氢酶 (LDH)、肌酸激酶 (CK)、α-羟丁酸脱氢酶 (α-HBDH)、天冬氨酸转氨酶 (AST)〕及肾功能指标〔尿素氮 (BUN)、血肌酐 (SCr)〕, 采用免疫抑制法测定肌酸激酶同工酶 (CK-MB) 活性, 评估不同小剂量甘精胰岛素对烫伤延迟复苏大鼠血糖及心肾功能的影响; 采用分光光度法检测大鼠心脏、肾脏组织氧化及抗氧化指标〔黄嘌呤氧化酶 (XOD)、髓过氧化物酶 (MPO)、铜锌超氧化物歧化酶 (CuZn-SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 及总抗氧化能力 (T-AOC)〕, 分析不同小剂量甘精胰岛素干预后的抗氧化效应。**结果** 与假伤组比较, 延迟复苏对照组大鼠血糖显著升高, 心肾功能明显降低, 氧化能力增强, 抗氧化能力下降。给予甘精胰岛素干预后, 随着甘精胰岛素剂量增加, 大鼠血糖、心肌酶及肾功能指标均呈逐渐下降趋势, 氧化指标持续降低, 抗氧化指标持续升高, 当剂量为 2.0 U·kg⁻¹·d⁻¹ 时, 血糖、LDH、CK、CK-MB、α-HBDH、AST、BUN、SCr、XOD 及 MPO 均显著低于延迟复苏对照组〔血糖 (mmol/L): 5.91±0.25 比 11.76±0.36, LDH (U/L): 3 332.12±51.61 比 5 008.94±490.12, CK (kU/L): 0.49±0.03 比 0.85±0.04, CK-MB (U/L): 125.40±12.19 比 267.52±11.63, α-HBDH (U/L): 122.99±5.37 比 240.85±13.99, AST (U/L): 11.95±1.81 比 17.87±1.57, BUN (mmol/L): 4.72±0.15 比 7.16±0.34, SCr (μmol/L): 87.11±6.51 比 137.50±11.36, XOD (U/g): 心脏组织为 166.29±3.27 比 204.90±4.82、肾脏组织为 63.51±1.46 比 79.69±1.75, MPO (U/g): 心脏组织为 1.05±0.02 比 1.55±0.06、肾脏组织为 1.04±0.04 比 1.87±0.01, 均 $P<0.05$ 〕, CuZn-SOD、CAT、GSH-Px 及 T-AOC 均显著高延迟复苏对照组〔CuZn-SOD (kU/g): 心脏组织为 82.95±2.69 比 56.52±2.26、肾脏组织为 94.50±2.73 比 62.02±1.66, CAT (U/g): 心脏组织为 36.07±2.01 比 15.15±2.22、肾脏组织为 184.49±4.53 比 156.02±3.96, GSH-Px (kU/g): 心脏组织为 231.93±8.03 比 179.48±3.15、肾脏组织为 239.63±7.30 比 172.20±2.09, T-AOC (kU/g): 心脏组织为 4.85±0.23 比 2.71±0.11、肾脏组织为 5.51±0.08 比 3.50±0.07, 均 $P<0.05$ 〕。**结论** 不同小剂量甘精胰岛素 (≤2.0 U·kg⁻¹·d⁻¹) 均可对烫伤延迟复苏大鼠心脏、肾脏发挥抗氧化保护效应, 且呈现剂量依赖关系。

【关键词】 甘精胰岛素; 烫伤; 延迟复苏; 大鼠; 血糖; 氧化应激

基金项目: 贵州省科技合作计划项目 (LH-2015-7408)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20220627-00604

Effects of different low-dose of insulin glargine on antioxidation of organs in burned rats with delayed resuscitation

Wen Xue¹, Feng Junlin¹, Li Weiren², Zhao Chen¹

¹Clinical Medical College of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China; ²Department of Burn and Plastic Surgery, Guizhou Medical University Affiliated Hospital, Guiyang 550004, Guizhou, China

Corresponding author: Li Weiren, Email: gz_lwr@163.com

【Abstract】 Objective To study the antioxidant protective effects of different low-dose of insulin glargine on organs of burned rats with delayed resuscitation. **Methods** Forty male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into sham group, delayed resuscitation control group, and insulin glargine 0.5, 1.0, and 2.0 U groups, with 8 rats in each group. The rats were immersed in hot water (95.0±0.5) °C for 15 s to establish the third-degree scald model with 30% total body surface area. The rats in the sham group were immersed in a 37 °C water bath for 15 s. Insulin glargine (0.5, 1.0, 2.0 U·kg⁻¹·d⁻¹) was injected subcutaneously in corresponding insulin glargine group 2 hours after injury, and the same amount of normal saline was injected intraperitoneally in the delayed resuscitation control group. Intraperitoneal injection of normal saline 40 mL/kg simulated delayed resuscitation 6 hours after injury in all groups. Abdominal aortic blood samples, heart and kidney tissue were collected immediately after simulating burn in the sham

group, and 24 hours after burn in other four groups. The blood glucose, myocardial enzymes [lactate dehydrogenase (LDH), creatine kinase (CK), α -hydroxybutyrate dehydrogenase (α -HBDH), and aspartate aminotransferase (AST)] and renal function indexes [blood urea nitrogen (BUN) and serum creatinine (SCr)] were measured by spectrophotometry, and the isoenzyme MB of creatine kinase (CK-MB) level was determined by immunosuppression method to evaluate the effects of different low-dose insulin glargine intervention on blood glucose, cardiac and renal functions in scalded rats with delayed resuscitation. The oxidative and antioxidant indices [xanthine oxidase (XOD), myeloperoxidase (MPO), copper-zinc superoxide dismutase (CuZn-SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px), and total antioxidant capacity (T-AOC)] from the heart and kidney tissues of rats were detected by spectrophotometry to analyze the antioxidant effects of different low-dose insulin glargine interventions. **Results** Compared with the sham group, the blood glucose of the rats in the delayed resuscitation control group was significantly increased, the heart and kidney functions were significantly reduced, the oxidation capacity was enhanced, and the antioxidant indicators were significantly reduced. After the intervention of insulin glargine, with the increase of insulin glargine dose, the blood glucose, myocardial enzyme and renal function indicators of rats showed a gradual downward trend, the oxidation indicators continued to decrease, and the antioxidant indicators showed a gradual upward trend. When the dose was $2.0 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, the blood glucose, LDH, CK, CK-MB, α -HBDH, AST, BUN, SCr, XOD and MPO were significantly lower than those in the delayed resuscitation control group [blood glucose (mmol/L): 5.91 ± 0.25 vs. 11.76 ± 0.36 , LDH (U/L): 332.12 ± 51.61 vs. 5008.94 ± 490.12 , CK (kU/L): 0.49 ± 0.03 vs. 0.85 ± 0.04 , CK-MB (U/L): 125.40 ± 12.19 vs. 267.52 ± 11.63 , α -HBDH (U/L): 122.99 ± 5.37 vs. 240.85 ± 13.99 , AST (U/L): 11.95 ± 1.81 vs. 17.87 ± 1.57 , BUN (mmol/L): 4.72 ± 0.15 vs. 7.16 ± 0.34 , SCr ($\mu\text{mol/L}$): 87.11 ± 6.51 vs. 137.50 ± 11.36 , XOD (U/g): 166.29 ± 3.27 vs. 204.90 ± 4.82 in heart tissue, 63.51 ± 1.46 vs. 79.69 ± 1.75 in kidney tissue, MPO (U/g): 1.05 ± 0.02 vs. 1.55 ± 0.06 in heart tissue, 1.04 ± 0.04 vs. 1.87 ± 0.01 in kidney tissue, all $P < 0.05$], and CuZn-SOD, CAT, GSH-Px and T-AOC were significantly higher than those in the delayed resuscitation control group [CuZn-SOD (kU/g): 82.95 ± 2.69 vs. 56.52 ± 2.26 in heart tissue, 94.50 ± 2.73 vs. 62.02 ± 1.66 in kidney tissue, CAT (U/g): 36.07 ± 2.01 vs. 15.15 ± 2.22 in heart tissue, 184.49 ± 4.53 vs. 156.02 ± 3.96 in kidney tissue, GSH-Px (kU/g): 231.93 ± 8.03 vs. 179.48 ± 3.15 in heart tissue, 239.63 ± 7.30 vs. 172.20 ± 2.09 in kidney tissue, T-AOC (kU/g): 4.85 ± 0.23 vs. 2.71 ± 0.11 in heart tissue, 5.51 ± 0.08 vs. 3.50 ± 0.07 in kidney tissue, all $P < 0.05$]. **Conclusion** Different low-dose of insulin glargine ($\leq 2.0 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) could exert antioxidant protection on the heart and kidney of rats with delayed resuscitation after burns, with a dose-dependent manner.

【Key words】 Glargine insulin; Burn; Delayed fluid resuscitation; Rat; Blood glucose; Oxidative stress

Fund program: Guizhou Provincial Science and Technology Cooperation Planning Project (LH-2015-7408)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20220627-00604

胰岛素作为目前已知的体内唯一的降血糖激素,具有多器官保护效应^[1]。研究表明,不同剂量胰岛素($<0.4 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 或 $\geq 0.4 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)对 2 型糖尿病患者异前列腺素尿排泄率影响不同,其中小剂量甘精胰岛素($<0.4 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)发挥抗氧化效应,而大剂量甘精胰岛素($\geq 0.4 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)则发挥促氧化效应^[2]。本课题组在前期研究中已证实,复苏前(烫伤后 2 h)皮下注射小剂量中、长效胰岛素($1.0 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,对应人体剂量为 $0.16 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)可以抑制烧伤延迟复苏大鼠心肌组织中活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)产生,增加其清除能力^[3]。为进一步研究不同小剂量甘精胰岛素对烧伤后主要器官氧化还原的影响,本研究参照甘精胰岛素发挥抗氧化效应的剂量($<0.4 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)^[2],通过换算人与大鼠用药剂量,观察了复苏前(烫伤后 2 h)皮下注射不同小剂量甘精胰岛素(给予大鼠剂量分别为 0.5 、 1.0 、 $2.0 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,对应人体剂量为 0.08 、 0.16 、 $0.32 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)对烫伤延迟复苏大鼠伤后 24 h 心肾组织氧化损伤的防治作用,以期来院前救治和烧伤临床应用胰岛素提供实验依据及参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物与试剂: 40 只 SPF 级成年健康雄性 SD 大鼠,体质量 $180 \sim 220 \text{ g}$,购自贵州医科大学动物实验中心,动物合格证号:SYXK(黔)2018-0001。甘精胰岛素注射液购自北京赛诺菲万特制药有限公司,葡萄糖、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、肌酸激酶(creatine kinase, CK)、肌酸激酶同工酶(MB isoenzyme of creatine kinase, CK-MB)、 α -羟丁酸脱氢酶(α -hydroxybutyrate dehydrogenase, α -HBDH)、天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、肌酐(serum creatinine, SCr)、黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XOD)、髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)、铜锌超氧化物歧化酶(copper-zinc superoxide dismutase, CuZn-SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)、总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)试剂盒等均购自南京建成生物工程研究所。

1.2 实验分组及处理: 将 40 只大鼠按随机数字表法分为假伤组、延迟复苏对照组及甘精胰岛素 0.5 、

1.0、2.0 U 组,每组 8 只。根据梅氏公式^[4]计算大鼠 30% 总体表面积,并在其背部做出标记。腹腔注射 2.5% 戊巴比妥钠 35 mg/kg 麻醉大鼠,参照文献报道的方法^[5]浸入 (95.0±0.5) °C 热水中 15 s 制备 30% 总体表面积Ⅲ度烫伤模型;假伤组大鼠浸入 37 °C 水浴锅中 15 s 模拟烫伤。甘精胰岛素 0.5、1.0、2.0 U 组分别于烫伤后 2 h 经大鼠右后肢腹侧面皮下注射甘精胰岛素 0.5、1.0、2.0 U·kg⁻¹·d⁻¹,延迟复苏对照组同法注射等量生理盐水;各复苏组于伤后 6 h 腹腔注射生理盐水 40 mL/kg 复苏大鼠。假伤组不给予药物干预及复苏。实验期间观察大鼠精神状态、进食、饮水、活动等情况。

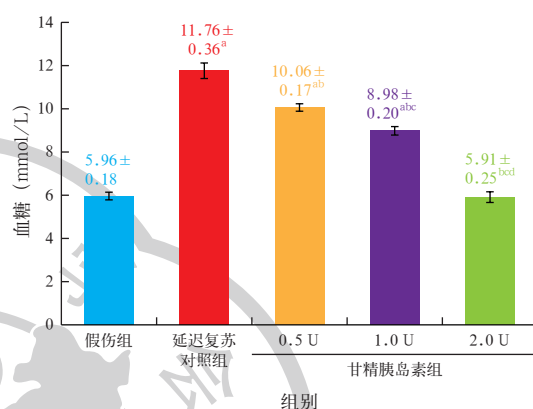
实验过程中所有操作均符合动物伦理学要求,并经过贵州医科大学实验动物伦理委员会批准(审批号:1901103)。

1.3 标本采集及指标测定:假伤组于模拟烫伤后即刻采集大鼠腹主动脉血及心脏、肾脏组织,其他 4 组于烫伤后 24 h 采集标本。室温放置腹主动脉血 40 min 后,用台式低速离心机离心 20 min,取上层血清,根据各试剂盒说明书,采用分光光度法测定血清葡萄糖、心肌酶(LDH、CK、α-HBDH、AST)和肾功能指标(BUN、SCr),采用免疫抑制法测定血清 CK-MB 活性。取大鼠心脏及肾脏组织 0.3~0.4 g,并制备组织匀浆,根据试剂盒说明书要求,采用分光光度法测定心脏、肾脏组织中氧化指标(XOD、MPO)及抗氧化指标(CuZn-SOD、CAT、GSH-Px、T-AOC)。

1.4 统计学处理:采用 SPSS 25.0 软件进行统计分析。采用 Shapiro-Wilk 法检测数据正态性分布,计量资料符合正态分布,以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。采用 Levene 法检测方差齐性,方差齐时采用单因素方差分析,采用 LSD 法进行两两比较;方差不齐时采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同小剂量甘精胰岛素对烫伤延迟复苏大鼠血糖水平的影响(图 1):与假伤组比较,延迟复苏对照组大鼠血糖水平显著升高($P < 0.05$);给予不同小剂量甘精胰岛素干预后,大鼠血糖水平较延迟复苏对照组明显下降,并随剂量增加呈逐渐下降趋势(均 $P < 0.05$)。



注:假伤组模拟烫伤且不予药物干预及复苏;延迟复苏对照组于烫伤后 6 h 腹腔注射生理盐水 40 mL/kg 复苏大鼠;甘精胰岛素 0.5、1.0、2.0 U 组分别于烫伤后 2 h 经大鼠右后肢腹侧面皮下注射甘精胰岛素 0.5、1.0、2.0 U·kg⁻¹·d⁻¹,伤后 6 h 进行生理盐水复苏。与假伤组比较,^a $P < 0.05$;与延迟复苏对照组比较,^b $P < 0.05$;与甘精胰岛素 0.5 U 组比较,^c $P < 0.05$;与甘精胰岛素 1.0 U 组比较,^d $P < 0.05$

图 1 各组大鼠血糖水平比较

2.2 不同小剂量甘精胰岛素对烫伤延迟复苏大鼠心功能的影响(表 1):与假伤组比较,延迟复苏对照组大鼠血清心肌酶活性均明显升高(均 $P < 0.05$);给予不同小剂量甘精胰岛素干预后,大鼠血清心肌酶活性均较延迟复苏对照组显著下降,且随剂量增加呈逐渐下降趋势(均 $P < 0.05$)。

2.3 不同小剂量甘精胰岛素对烫伤延迟复苏大鼠肾功能的影响(表 2):与假伤组比较,延迟复苏对照组大鼠 BUN、SCr 均显著升高(均 $P < 0.05$);给予不

表 1 各组大鼠血清心肌酶活性比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	LDH (U/L)	CK (kU/L)	CK-MB (U/L)	α-HBDH (U/L)	AST (U/L)
假伤组	8	3 369.72 ± 142.00	0.47 ± 0.04	129.93 ± 10.74	93.78 ± 11.27	6.81 ± 1.05
延迟复苏对照组	8	5 008.94 ± 490.12 ^a	0.85 ± 0.04 ^a	267.52 ± 11.63 ^a	240.85 ± 13.99 ^a	17.87 ± 1.57 ^a
甘精胰岛素 0.5 U 组	8	4 392.00 ± 106.48 ^{ab}	0.76 ± 0.02 ^{ab}	231.99 ± 4.65 ^{ab}	212.15 ± 2.90 ^{ab}	20.59 ± 2.03 ^{ab}
甘精胰岛素 1.0 U 组	8	3 889.83 ± 87.84 ^{abc}	0.66 ± 0.02 ^{abc}	167.90 ± 7.70 ^{abc}	169.62 ± 12.38 ^{abc}	19.55 ± 1.81 ^{abc}
甘精胰岛素 2.0 U 组	8	3 332.12 ± 51.61 ^{bcd}	0.49 ± 0.03 ^{bcd}	125.40 ± 12.19 ^{bcd}	122.99 ± 5.37 ^{abcd}	11.95 ± 1.81 ^{abcd}
F 值		71.857	238.637	330.982	216.155	106.240
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:假伤组模拟烫伤且不予药物干预及复苏;延迟复苏对照组于烫伤后 6 h 腹腔注射生理盐水 40 mL/kg 复苏大鼠;甘精胰岛素 0.5、1.0、2.0 U 组分别于烫伤后 2 h 经大鼠右后肢腹侧面皮下注射甘精胰岛素 0.5、1.0、2.0 U·kg⁻¹·d⁻¹,伤后 6 h 进行生理盐水复苏。LDH 为乳酸脱氢酶,CK 为肌酸激酶,CK-MB 为肌酸激酶同工酶,α-HBDH 为 α-羟丁酸脱氢酶,AST 为天冬氨酸转氨酶;与假伤组比较,^a $P < 0.05$;与延迟复苏对照组比较,^b $P < 0.05$;与甘精胰岛素 0.5 U 组比较,^c $P < 0.05$;与甘精胰岛素 1.0 U 组比较,^d $P < 0.05$

同小剂量甘精胰岛素干预后,大鼠 BUN、SCr 均较延迟复苏对照组显著下降,且随剂量增加呈逐渐下降趋势(均 $P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠血清肾功能指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	BUN (mmol/L)	SCr ($\mu\text{mol/L}$)
假伤组	8	4.87 ± 0.14	75.04 ± 6.19
延迟复苏对照组	8	7.16 ± 0.34 ^a	137.50 ± 11.36 ^a
甘精胰岛素 0.5 U 组	8	6.48 ± 0.08 ^{ab}	123.13 ± 6.20 ^{ab}
甘精胰岛素 1.0 U 组	8	5.57 ± 0.26 ^{abc}	118.48 ± 6.45 ^{ab}
甘精胰岛素 2.0 U 组	8	4.72 ± 0.15 ^{abcd}	87.11 ± 6.51 ^{abcd}
F 值		101.240	94.253
P 值		0.000	0.000

注:假伤组模拟烫伤且不予药物干预及复苏;延迟复苏对照组于烫伤后 6 h 腹腔注射生理盐水 40 mL/kg 复苏大鼠;甘精胰岛素 0.5、1.0、2.0 U 组分别于烫伤后 2 h 经大鼠右后肢腹侧面皮下注射甘精胰岛素 0.5、1.0、2.0 U·kg⁻¹·d⁻¹,伤后 6 h 进行生理盐水复苏。BUN 为血尿素氮,SCr 为血肌酐;与假伤组比较,^a $P < 0.05$;与延迟复苏对照组比较,^b $P < 0.05$;与甘精胰岛素 0.5 U 组比较,^c $P < 0.05$;与甘精胰岛素 1.0 U 组比较,^d $P < 0.05$

2.4 不同小剂量甘精胰岛素对烫伤延迟复苏大鼠心脏和肾脏组织氧化指标的影响(表 3):与假伤组比较,延迟复苏模型组大鼠心脏和肾脏组织中 XOD 及 MPO 活性显著升高(均 $P < 0.05$);给予不同小剂量甘精胰岛素干预后,大鼠心脏和肾脏组织中 XOD 及 MPO 活性均较延迟复苏对照组显著下降,且随剂量增加呈逐渐下降趋势(均 $P < 0.05$)。

表 3 各组大鼠心脏及肾脏组织氧化指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	XOD (U/g)	
		心脏组织	肾脏组织
假伤组	8	151.58 ± 4.44	58.80 ± 2.25
延迟复苏对照组	8	204.90 ± 4.82 ^a	79.69 ± 1.75 ^a
甘精胰岛素 0.5 U 组	8	184.58 ± 4.10 ^{ab}	72.88 ± 1.54 ^{ab}
甘精胰岛素 1.0 U 组	8	178.51 ± 5.27 ^{abc}	67.01 ± 2.12 ^{abc}
甘精胰岛素 2.0 U 组	8	166.29 ± 3.27 ^{abcd}	63.51 ± 1.46 ^{abcd}
F 值		162.833	155.308
P 值		0.000	0.000

组别	动物数 (只)	MPO (U/g)	
		心脏组织	肾脏组织
假伤组	8	0.88 ± 0.03	0.79 ± 0.04
延迟复苏对照组	8	1.55 ± 0.06 ^a	1.87 ± 0.01 ^a
甘精胰岛素 0.5 U 组	8	1.41 ± 0.03 ^{ab}	1.59 ± 0.03 ^{ab}
甘精胰岛素 1.0 U 组	8	1.21 ± 0.02 ^{abc}	1.19 ± 0.01 ^{abc}
甘精胰岛素 2.0 U 组	8	1.05 ± 0.02 ^{abcd}	1.04 ± 0.04 ^{abcd}
F 值		443.931	230.334
P 值		0.000	0.000

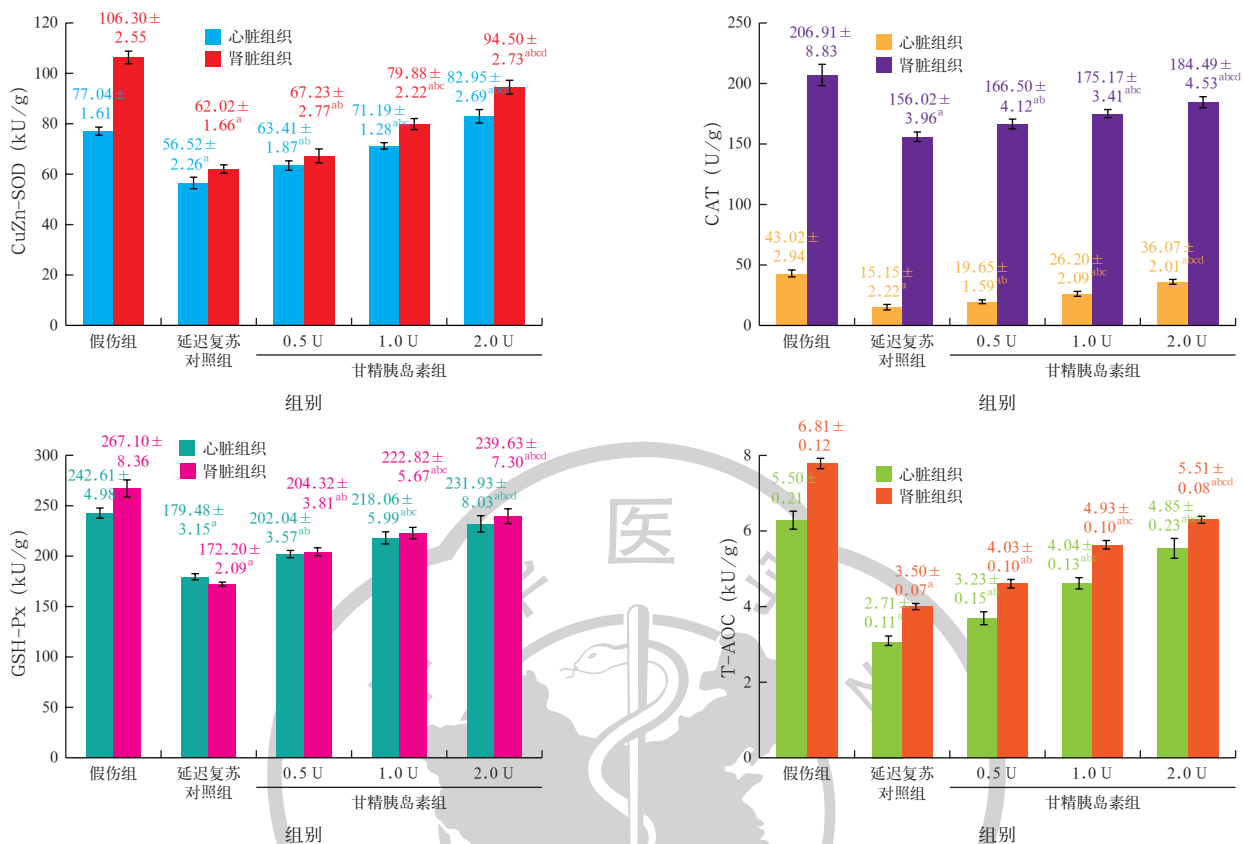
注:假伤组模拟烫伤且不予药物干预及复苏;延迟复苏对照组于烫伤后 6 h 腹腔注射生理盐水 40 mL/kg 复苏大鼠;甘精胰岛素 0.5、1.0、2.0 U 组分别于烫伤后 2 h 经大鼠右后肢腹侧面皮下注射甘精胰岛素 0.5、1.0、2.0 U·kg⁻¹·d⁻¹,伤后 6 h 进行生理盐水复苏。XOD 为黄嘌呤氧化酶,MPO 为髓过氧化物酶;与假伤组比较,^a $P < 0.05$;与延迟复苏对照组比较,^b $P < 0.05$;与甘精胰岛素 0.5 U 组比较,^c $P < 0.05$;与甘精胰岛素 1.0 U 组比较,^d $P < 0.05$

2.5 不同小剂量甘精胰岛素对烫伤延迟复苏大鼠心脏和肾脏组织抗氧化指标的影响(图 2):与假伤组比较,延迟复苏对照组心脏和肾脏组织 CuZn-SOD、CAT、GSH-Px、T-AOC 活性显著下降(均 $P < 0.05$);给予不同小剂量甘精胰岛素干预后,大鼠心脏和肾脏组织 CuZn-SOD、CAT、GSH-Px 活性及 T-AOC 均较延迟复苏对照组显著升高,且随剂量增加呈逐渐升高趋势(均 $P < 0.05$)。

3 讨论

严重烧伤后机体呈现高代谢状态,容易发生糖代谢异常、应激性高血糖及胰岛素抵抗等^[6]。研究表明,烧伤后应激性高血糖可直接影响患者预后,并成为独立因素^[7]。应激性高血糖可引起血浆高渗、血液黏稠度增加及肌肉组织分解、脱水,加重组织缺氧,同时中性粒细胞趋化受阻,细胞吞噬作用及线粒体功能障碍,进而导致心、肾等器官功能进一步损伤。及时有效地控制高血糖对于改善患者治疗效果及远期预后具有积极意义。本实验结果显示,延迟复苏对照组大鼠血糖显著高于假伤组;给予不同小剂量甘精胰岛素(0.5、1.0、2.0 U·kg⁻¹·d⁻¹)干预后,大鼠血糖均较延迟复苏对照组显著下降。说明延迟复苏可引起烫伤大鼠血糖显著升高,而给予小剂量甘精胰岛素(≤ 2.0 U·kg⁻¹·d⁻¹)干预后,在提供降糖效应的同时可减少或避免低血糖发生,当剂量达到 2.0 U·kg⁻¹·d⁻¹ 时,血糖可恢复至假伤组水平。

严重烧伤后,低血容量性休克的发生能够加重机体缺血缺氧,进而引起心肌损害、心功能下降等严重并发症;同时,由于机体乳酸积累,引发炎症反应,造成心肌酶外溢,主要表现为 CK、CK-MB、LDH、 α -HBDH、AST 等心肌酶指标不同程度升高。肖荣等^[8]研究表明,心功能损害能启动严重烧伤后早期肾脏、肝脏、肠道等其他器官损害,诱导或加重烧伤休克。肾血流量极大,约占安静状态下心排血量的 20%~50%,是对缺血最为敏感的器官之一,烧伤后延迟复苏患者的急性肾损伤发生率高达 30%^[9],且损害出现较早。SCr 和 BUN 是临床上评价肾功能的两个重要指标^[10]。本实验结果显示,延迟复苏对照组大鼠心肌酶 LDH、CK、CK-MB、 α -HBDH、AST 及肾功能指标 BUN、SCr 均较假伤组显著升高;而给予小剂量甘精胰岛素(≤ 2.0 U·kg⁻¹·d⁻¹)干预后,大鼠上述心肌酶及肾功能指标均较延迟复苏对照组明显下降,且随着甘精胰岛素剂量增加呈逐渐下降趋势。说明不同小剂量甘精胰岛素(≤ 2.0 U·kg⁻¹·d⁻¹)可



注：假伤组模拟烫伤且不给予药物干预及复苏；延迟复苏对照组于烫伤后 6 h 腹腔注射生理盐水 40 mL/kg 复苏大鼠；甘精胰岛素 0.5、1.0、2.0 U 组分别于烫伤后 2 h 经大鼠右后肢腹侧面皮下注射甘精胰岛素 0.5、1.0、2.0 U · kg⁻¹ · d⁻¹，伤后 6 h 进行生理盐水复苏。CuZn-SOD 为铜锌超氧化物歧化酶，CAT 为过氧化氢酶，GSH-Px 为谷胱甘肽过氧化物酶，T-AOC 为总抗氧化能力；与假伤组比较，^a*P* < 0.05；与延迟复苏对照组比较，^b*P* < 0.05；与甘精胰岛素 0.5 U 组比较，^c*P* < 0.05；与甘精胰岛素 1.0 U 组比较，^d*P* < 0.05。

图 2 各组大鼠心脏及肾脏组织抗氧化指标比较

减轻烫伤后延迟复苏大鼠心脏和肾脏损伤，且甘精胰岛素对心肾功能的保护效应呈现出一定的剂量依赖关系。

严重烧伤后机体氧化应激水平增高，氧化应激是引起烧伤器官损害的重要机制之一。儿童及老年烧伤患者的研究表明，氧化应激和炎症诱导的高代谢反应在烧伤后立即开始，并持续数月至数年，对机体各个方面造成不利影响^[11-12]。抗氧化干预可通过中和 ROS 减缓烧伤进展，改善烧伤患者临床结局。然而，抗氧化剂的具体效应可能与抗氧化干预时间、抗氧化剂类型和剂量等相关。目前公认的抗氧化剂如谷胱甘肽或维生素 A、C、E 及微量元素等^[13-14]，均能够通过清除自由基、抑制新自由基生成而减轻氧化应激损伤，降低烧伤后炎症反应及高代谢^[15]。Singer 等^[16]研究了姜黄素对大鼠烧伤创面进展的影响，该研究者在大鼠烧伤后 1 h 及 24 h 按不同剂量静脉注射粗制姜黄素 (4 ~ 40 mg/kg) 或纯化姜黄素 (1 ~ 100 μg/kg)，结果显示，粗制姜黄素和纯化姜黄

素均能以剂量依赖性方式显著减缓烧伤创面进展。Deniz 等^[17]在大鼠烧伤后 1 h 每天灌服 N-乙酰半胱氨酸 (N-acetyl cysteine, NAC)、持续 10 d，证实 NAC 可明显减缓烧伤大鼠创面进展。Agil 等^[18]研究表明，褪黑素的抗氧化特性可通过改善糖尿病大鼠的线粒体功能进而改善胰岛素抵抗。

胰岛素是体内一种蛋白质激素及生长因子，短期胰岛素可改善烧伤患者创面弹性胶原重排和再上皮化^[19]。当发生严重烧伤时，高血糖症是烧伤应激反应的重要组成部分，使用胰岛素将血糖维持在 5.0 ~ 7.0 mmol/L，可显著减轻烧伤应激引起的肺水肿、出血和炎症细胞浸润^[20]。Matsuzaki 等^[21]对从正常对照组与 1 型糖尿病模型组小鼠中分离出的成年心肌细胞进行研究发现，两组心肌细胞中基础超氧阴离子 (O₂⁻) 生成相似；然而在缺乏胰岛素的情况下，模型小鼠心肌细胞产生 O₂⁻ 的能力显著增强。该研究结果支持胰岛素信号缺乏是心肌细胞氧化应激的决定因素。作为一种潜在的抗氧化剂，胰岛素

可通过调节内源性抗氧化活性,在减轻糖尿病患者心脏氧化应激中发挥作用;也可通过调节核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor E2-related factor 2, Nrf2) 信号通路保护神经元,是治疗氧化应激诱导的糖尿病脑病的潜在保护剂^[22]。本课题组前期研究表明,中、长效胰岛素预处理烧伤延迟复苏大鼠,可通过抑制 ROS 的产生、提高 ROS 的清除能力来改善大鼠心肌组织抗氧化能力^[3]。研究表明,通过检测 SOD、GSH-Px 及 T-AOC 能够反映机体清除氧自由基的抗氧化能力^[23]。XOD 系统在氧自由基的产生中发挥重要作用,是细胞内 ROS 的主要来源之一^[24]。MPO 是提示机体缺血缺氧、ROS 损伤严重程度的敏感指标^[25]。本实验结果显示,给予不同小剂量甘精胰岛素($\leq 2.0 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)干预后,大鼠心脏及肾脏组织中 XOD、MPO 活性均较延迟复苏对照组显著降低,而 CuZn-SOD、GSH-Px、CAT 活性及 T-AOC 则均较延迟复苏对照组显著提高,且随着甘精胰岛素剂量的增加,XOD 和 MPO 的活性逐渐下降,CuZn-SOD、GSH-Px、CAT 活性及 T-AOC 逐渐升高。提示小剂量甘精胰岛素($\leq 2.0 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)可通过抑制 ROS 产生、提高 ROS 清除能力发挥抗氧化效应,且呈现剂量依赖关系。

综上所述,本研究结果表明,应用不同小剂量甘精胰岛素($\leq 2.0 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)可以控制严重烧伤后的高血糖、抑制氧化应激,减轻心肾组织受损程度,且呈现出一定的剂量依赖关系。对于不能及时有效复苏的严重烧伤患者,本研究结果为院前救治时给予甘精胰岛素预处理提供了实验依据,并为今后烧伤临床应用胰岛素提供了参考。本研究不足之处是未进行 24 h 内动态血糖监测,这将在今后的研究中加以完善。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王勃.非注射给药第三代人胰岛素有效性和安全性评价[D].长春:吉林大学,2020.
- [2] Monnier L, Colette C, Michel F, et al. Insulin therapy has a complex relationship with measure of oxidative stress in type 2 diabetes: a case for further study [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2011, 27 (4): 348–353. DOI: 10.1002/dmrr.1174.
- [3] 吴均臻,张筑阳,李伟人,等.中长效胰岛素预处理对烧伤延迟复苏大鼠心肌主要氧化酶和抗氧化酶活性的影响[J].*中华危重病急救医学*, 2021, 33 (11): 1337–1341. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210718-01062.
- [4] 褚万立.严重烧伤大鼠骨骼肌消耗的内质网应激机制及胰岛素治疗的作用[D].北京:中国人民解放军军医进修学院,2012.
- [5] 王黎丽,郭松雪,吴攀,等.富氢盐水对重度烧伤大鼠急性肾损伤的影响及机制[J].*中华烧伤杂志*, 2018, 34 (9): 629–636. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2018.09.013.
- [6] Stanojevic M, Abdullahi A, Rehoul S, et al. Pathophysiological response to burn injury in adults [J]. *Ann Surg*, 2018, 267 (3): 576–584. DOI: 10.1097/SLA.0000000000002097.
- [7] Belba MK, Petrela E, Belba A, et al. Statistical and clinical analysis of alterations in glucose values after burns [J]. *Ann Burns Fire Disasters*, 2016, 29 (3): 163–171.
- [8] 肖荣,黄跃生,雷泽源,等.“休克心”对严重烫伤大鼠早期肝肾肠损害的启动作用[J].*中华烧伤杂志*, 2008, 24 (3): 175–178. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2008.03.005.
- [9] 李晓亮,叶向阳,李琰光,等.肾损伤标志蛋白在烧伤延迟复苏患者急性肾损伤早期诊断中的价值[J].*中华烧伤杂志*, 2021, 37 (2): 143–149. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20200915-00411.
- [10] 袁志强,彭毅志.重视烧伤后脓毒症导致的急性肾损伤[J].*中华烧伤杂志*, 2018, 34 (2): 69–72. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2018.02.002.
- [11] Jeschke MG, Pinto R, Herndon DN, et al. Hypoglycemia is associated with increased postburn morbidity and mortality in pediatric patients [J]. *Crit Care Med*, 2014, 42 (5): 1221–1231. DOI: 10.1097/CCM.0000000000000138.
- [12] Jeschke MG, Patsouris D, Stanojevic M, et al. Pathophysiologic response to burns in the elderly [J]. *EBioMedicine*, 2015, 2 (10): 1536–1548. DOI: 10.1016/j.ebiom.2015.07.040.
- [13] Kurmis R, Greenwood J, Aromataris E. Trace element supplementation following severe burn injury: a systematic review and Meta-analysis [J]. *J Burn Care Res*, 2016, 37 (3): 143–159. DOI: 10.1097/BCR.0000000000000259.
- [14] 常晨阳,罗开源,朱惠芳,等.氢化可的松联合维生素 C 和维生素 B1 治疗脓毒症患者疗效的 Meta 分析[J].*中华危重病急救医学*, 2021, 33 (9): 1040–1046. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210728-01101.
- [15] Forman HJ, Zhang HQ. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 20 (9): 689–709. DOI: 10.1038/s41573-021-00233-1.
- [16] Singer AJ, Taira BR, Lin FB, et al. Curcumin reduces injury progression in a rat comb burn model [J]. *J Burn Care Res*, 2011, 32 (1): 135–142. DOI: 10.1097/BCR.0b013e318203337b.
- [17] Deniz M, Borman H, Seyhan T, et al. An effective antioxidant drug on prevention of the necrosis of zone of stasis: N-acetylcysteine [J]. *Burns*, 2013, 39 (2): 320–325. DOI: 10.1016/j.burns.2012.06.015.
- [18] Agil A, El-Hammadi M, Jiménez-Aranda A, et al. Melatonin reduces hepatic mitochondrial dysfunction in diabetic obese rats [J]. *J Pineal Res*, 2015, 59 (1): 70–79. DOI: 10.1111/jpi.12241.
- [19] Baptista VIA, Quintana HT, Lazzarin MC, et al. Short time insulin treatment post burn improves elastic-collagen rearrangement and reepithelization [J]. *Connect Tissue Res*, 2019, 60 (3): 230–239. DOI: 10.1080/03008207.2018.1484916.
- [20] Han JT, Zhang WF, Wang YC, et al. Insulin protects against damage to pulmonary endothelial tight junctions after thermal injury: relationship with zonula occludens-1, F-actin, and AKT activity [J]. *Wound Repair Regen*, 2014, 22 (1): 77–84. DOI: 10.1111/wrr.12128.
- [21] Matsuzaki S, Eyster C, Newhardt MF, et al. Insulin signaling alters antioxidant capacity in the diabetic heart [J]. *Redox Biol*, 2021, 47: 102140. DOI: 10.1016/j.redox.2021.102140.
- [22] Song Y, Ding W, Bei Y, et al. Insulin is a potential antioxidant for diabetes-associated cognitive decline via regulating Nrf2 dependent antioxidant enzymes [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 104: 474–484. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.04.097.
- [23] Qin FJ, Hu XH, Chen Z, et al. Protective effects of tiopronin against oxidative stress in severely burned patients [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13: 2827–2832. DOI: 10.2147/DDDT.S215927.
- [24] Carey R, Coughnon M, Poet M, et al. Targeting oxidative stress, a crucial challenge in renal transplantation outcome [J]. *Free Radic Biol Med*, 2021, 169: 258–270. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.04.023.
- [25] 王子恩,王顺宾,陈昭宏.不同剂量多巴胺对严重烫伤大鼠早期脏器功能的影响[J].*中华烧伤杂志*, 2019, 35 (3): 179–185. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2019.03.004.

(收稿日期:2022-06-27)