

不同剂量 L-精氨酸对严重烧伤患者 辅助性 T 淋巴细胞型 细胞因子的影响

颜洪 彭曦 王裴 黄跃生 汪仕良



【摘要】 目的 了解不同剂量 L-精氨酸对严重烧伤患者血清辅助性 T 淋巴细胞 1(Th1)/Th2 型细胞因子水平的影响。**方法** 选择笔者单位收治的伤后 20 h 内入院、烧伤总面积为 50% ~ 80% TBSA 的患者 29 例,按随机数字表法分为对照组[10 例,经鼻肠管给予葡萄糖盐水 500 mL(含 50 g/L 葡萄糖及 9 g/L 氯化钠,下同)]、L-精氨酸 200 mg 组(10 例,经鼻肠管给予 L-精氨酸 200 mg/kg + 葡萄糖盐水 500 mL)、L-精氨酸 400 mg 组(9 例,经鼻肠管给予 L-精氨酸 400 mg/kg + 葡萄糖盐水 500 mL)。于伤后 1 d(行肠内营养前)及 3、5、7 d,取各组患者空腹静脉血,用放射免疫法及酶联免疫吸附测定法检测血清 Th1 型细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 和 Th2 型细胞因子 TGF- β_1 、IL-4 含量。**结果** 各组患者血清 TNF- α 及 IL-1 β 含量伤后均呈快速上升趋势, L-精氨酸 200 mg 组血清 TNF- α 及 IL-1 β 含量伤后 5 d 达高峰[(318 \pm 57) ng/mL、(218 \pm 47) pg/mL],但仍显著低于同时相对照组[(389 \pm 34) ng/mL、(272 \pm 40) pg/mL, $P < 0.05$],伤后 7 d 此 2 种细胞因子含量下降;L-精氨酸 400 mg 组各时相点血清 TNF- α 及 IL-1 β 含量与对照组相近($P > 0.05$)。各组患者血清 TGF- β_1 及 IL-4 含量伤后呈较缓慢上升趋势;伤后 5 d, L-精氨酸 200 mg 组血清 TGF- β_1 含量为(110 \pm 16) pg/mL,显著高于对照组[(83 \pm 20) pg/mL, $P < 0.05$], L-精氨酸 400 mg 组各时相点血清 TGF- β_1 含量与对照组相近($P > 0.05$)。**结论** 在严重烧伤患者感染期,相对于 400 mg/kg 的用量,200 mg/kg 的 L-精氨酸通过调节血清 Th1/Th2 型细胞因子释放,能更有效地保持两者之间的比例,从而产生更好的免疫调理作用。

【关键词】 烧伤; 肠道营养; 细胞因子类; L-精氨酸; 炎症反应

Effects of different doses of L-arginine on the serum levels of helper T lymphocyte1 (Th1)/Th2 cytokines in severely burned patients YAN Hong, PENG Xi, WANG Pei, HUANG Yue-sheng, WANG Shi-liang. Institute of Burn Research, Southwest Hospital, State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, the Third Military Medical University, Chongqing 400038, China

Corresponding author: HUANG Yue-sheng, Email: yshuang@public.cta.cq.cn, Tel: 023-68754173

【Abstract】 Objective To investigate the effects of L-arginine in different doses on the serum levels of helper T lymphocyte1 (Th1)/Th2 cytokines in severely burned patients. **Methods** Twenty-nine severely burned patients, with total burn surface area from 50% to 80% TBSA, hospitalized within 20 hours after burn, were randomly divided into control group (10 cases, fed with 5% glucose saline 500 mL), L-arginine 200 mg group (10 cases, fed with 5% glucose saline 500 mL + 200 mg/kg L-arginine), L-arginine 400 mg group (9 cases, fed with 5% glucose saline 500 mL + 400 mg/kg L-arginine). All patients received enteral feeding through nasointestinal tube, started within 22 hours after burn. Fasting venous blood of all patients was harvested on post burn day (PBD) 1 (before enteral feeding), 3, 5, and 7 to determine serum contents of TNF- α , IL-1 β , TGF- β_1 and IL-4 by radio-immunity method and enzyme-linked immunosorbent assay. **Results** Serum contents of TNF- α and IL-1 β of patients in all groups increased rapidly after burn, and although contents of TNF- α (318 \pm 57) ng/mL and IL-1 β (218 \pm 47) pg/mL of patients in L-arginine 200 mg group peaked on PBD 5, they were still significantly lower than those of patients in control group [(389 \pm 34) ng/mL, (272 \pm 40) pg/mL, $P < 0.05$], but they decreased on PBD 7. Serum contents of TNF- α and IL-1 β in L-arginine 400 mg group were close to those of control group ($P > 0.05$). Serum contents of TGF- β_1 and IL-4 of patients in each group increased slowly after burn, and content of TGF- β_1 (110 \pm 16) pg/mL of patients in L-arginine 200 mg group was significantly higher than that of patients in control

DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2009.05.003

作者单位:400038 重庆,第三军医大学西南医院全军烧伤研究所,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室

通信作者:黄跃生,Email:yshuang@public.cta.cq.cn,电话:023-68754173

表 2 3 组烧伤患者血清 TNF- α 含量变化 (ng/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	伤后时间			
		1 d	3 d	5 d	7 d
对照组	10	206 \pm 35	290 \pm 45 ^b	389 \pm 34 ^b	351 \pm 13 ^b
L-精氨酸 200 mg 组	10	208 \pm 23	258 \pm 38 ^b	318 \pm 57 ^{ab}	297 \pm 61 ^{ab}
L-精氨酸 400 mg 组	9	212 \pm 32	276 \pm 64 ^b	333 \pm 13 ^b	340 \pm 75 ^b

注:与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与组内伤后 1 d (行肠内营养前) 比较, ^b $P < 0.01$

2.2 血清 IL-1 β 含量

3 组患者血清 IL-1 β 含量在伤后 1 d 无明显差异, 之后均呈上升趋势, 且各组内其余时相点血清 IL-1 β 含量均显著高于伤后 1 d ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。L-精氨酸 200 mg 组患者血清 IL-1 β 含量在伤后 3、5、7 d 均低于对照组, 且 5、7 d 时差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。L-精氨酸 400 mg 组患者血清 IL-1 β 含量虽在各时相点均低于对照组, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 3 组烧伤患者血清 IL-1 β 含量变化 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	伤后时间			
		1 d	3 d	5 d	7 d
对照组	10	109 \pm 23	172 \pm 36 ^c	272 \pm 40 ^c	281 \pm 53 ^c
L-精氨酸 200 mg 组	10	112 \pm 26	165 \pm 40 ^b	218 \pm 47 ^{ac}	197 \pm 45 ^{ac}
L-精氨酸 400 mg 组	9	108 \pm 22	158 \pm 44 ^c	246 \pm 52 ^c	269 \pm 48 ^c

注:与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与组内伤后 1 d (行肠内营养前) 比较, ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$

2.3 血清 TGF- β_1 含量

3 组患者血清 TGF- β_1 含量在伤后 1 d 无明显差异, 之后均呈上升趋势, 且各组内其余时相点血清 TGF- β_1 含量均显著高于伤后 1 d ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。L-精氨酸 200 mg 组血清 TGF- β_1 含量在伤后 3、5 d 高于对照组, 第 5 天时差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。L-精氨酸 400 mg 组患者各时相点血清 TGF- β_1 含量与对照组比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 4。

表 4 3 组烧伤患者血清 TGF- β_1 含量变化 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	伤后时间			
		1 d	3 d	5 d	7 d
对照组	10	45 \pm 11	66 \pm 19 ^b	83 \pm 20 ^c	128 \pm 32 ^c
L-精氨酸 200 mg 组	10	41 \pm 10	76 \pm 17 ^c	110 \pm 16 ^{ac}	123 \pm 27 ^c
L-精氨酸 400 mg 组	9	44 \pm 8	68 \pm 17 ^b	92 \pm 18 ^c	114 \pm 19 ^c

注:与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与组内伤后 1 d (行肠内营养前) 比较, ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$

2.4 血清 IL-4 含量

3 组患者血清 IL-4 含量在伤后 1 d 无明显差异, 之后均呈上升趋势, 且各组内其余时相点血清 IL-4 含量均显著高于伤后 1 d ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。L-精氨酸 200 mg 组、L-精氨酸 400 mg 组患者各时相点血清 IL-4 含量与对照组比较, 差异均无统计学意

义 ($P > 0.05$)。见表 5。

表 5 3 组烧伤患者血清 IL-4 含量变化 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	伤后时间			
		1 d	3 d	5 d	7 d
对照组	10	38 \pm 6	54 \pm 11 ^a	74 \pm 19 ^b	125 \pm 28 ^b
L-精氨酸 200 mg 组	10	41 \pm 4	68 \pm 18 ^a	91 \pm 21 ^b	123 \pm 30 ^b
L-精氨酸 400 mg 组	9	37 \pm 8	59 \pm 18 ^a	84 \pm 15 ^b	118 \pm 45 ^b

注:与组内伤后 1 d (行肠内营养前) 比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$

3 讨论

严重烧伤后, 由于皮肤屏障受损, 休克及延迟复苏、组织脏器缺血缺氧、肠源性感染、创面感染及烧伤毒素吸收等众多因素, 常导致机体过度释放多种细胞因子。其中 TNF- α 和 IL-1 β 等 Th1 型细胞因子在脓毒症以及烧伤后 MOF 的发生和发展中扮演关键角色^[9-10]。

既往研究结果显示, 在严重烧伤后复苏早期经胃肠道给予 200 ~ 400 mg/kg 的 L-精氨酸, 可有效抑制患者体内 NO 过度产生, 改善组织血供, 促进氧运输和代谢, 有利于缓解隐性休克的发生及其损害^[11]。本研究显示, 伤后 3 d, 2 个 L-精氨酸组患者各细胞因子含量与对照组相近, 说明在烧伤后早期患者感染症状尚不严重时, 200 ~ 400 mg/kg 剂量的 L-精氨酸不会显著干扰患者体内细胞因子的产生及释放。

而进入感染期后, 由于水肿回吸收和烧伤创面脓毒症等因素, 患者体内发生过度炎症反应, 出现明显创周炎症反应及全身感染症状。适当的炎症反应对机体存活是必需的, 但过度炎症反应不仅不能提高机体的抵抗与修复能力, 还可造成多脏器继发损害。处于严重感染状态的患者常呈现双相免疫反应, 即伤后早期促炎因子 (Th1 型细胞因子) 的过度产生与释放, 并导致后期其分泌细胞出现功能衰竭 (即所谓活化导致细胞死亡, activation-induced cell death)^[12]、促炎因子产生减少及抗炎因子 (Th2 型细胞因子) 产生亢进, 造成 Th1/Th2 型细胞因子动态平衡失控^[13], 从而产生免疫抑制^[14-15]。本研究结果则显示, 严重烧伤后 Th1 与 Th2 型细胞因子含量均呈明显上升态势, 其中 Th1 型细胞因子含量在伤后上升幅度较大, 但在伤后 7 d 呈现下降态势。Th2 型细胞因子含量伤后虽然上升幅度不及 Th1, 但呈持续上升趋势。给予不同剂量的 L-精氨酸并不能逆转严重烧伤患者 Th1 型细胞因子含量的变化趋势, 但接受 2 种剂量 L-精氨酸的患者循环血中的 Th1 型细胞因子含量在伤后 5、7 d 均较对照组为低, 且 L-精氨

酸 200 mg 组患者循环血中 Th1 型细胞因子含量与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。以上结果表明,相对于 400 mg/kg 的用量,给予严重烧伤患者 200 mg/kg L-精氨酸能更有效地减缓 Th1 型细胞因子释放,保持 Th1/Th2 型细胞因子之间的比例,从而产生更好的免疫调理作用。

L-精氨酸在人体内的代谢具有一定平衡免疫反应的作用。然而由于 L-精氨酸可加重全身感染和诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 诱导的 NO 过度产生,其治疗被认为对严重全身感染患者^[4,8]以及热休克患者^[2,16]有害。L-精氨酸在人体内有 2 种不同的代谢途径:(1) NO 途径,在严重感染状态下,尿素循环酶活性被抑制,而 iNOS 活性上调^[17],iNOS 的表达在巨噬细胞中占主导,通过诱导途径产生 NO。(2) 精氨酸酶途径,该途径可以从 3 个方面调控炎症反应:①生成鸟氨酸,有利于细胞再生及伤口愈合和修复;②生成多胺,调控巨噬细胞功能^[18];③调节精氨酸的利用率,从而降低 NO 的生成和其他精氨酸介导的过程,如 T 淋巴细胞的增殖。研究显示,Th1 型细胞因子(如 TNF- α 、IL-1 β 和 IFN- γ)分泌占主导则机体内 iNOS 活性诱导占优势;而 Th2 型细胞因子(如 IL-4、IL-10 和 TGF- β_1)则具有显著诱导精氨酸酶活性的作用^[34,19]。所以通过检测给予不同剂量 L-精氨酸后 2 种类型细胞因子含量,可以了解 L-精氨酸在患者体内的代谢途径。

本研究观察到,与对照组相比,L-精氨酸 200 mg 组患者循环血中 Th2 型细胞因子含量在伤后 3、5 d 均较高,TGF- β_1 含量在伤后 5 d 显著高于对照组 ($P < 0.05$)。而 L-精氨酸 400 mg 组无此现象。对于严重烧伤患者,L-精氨酸究竟是发挥免疫调理作用,还是促炎作用,在很大程度上取决于其在体内的代谢途径,而代谢途径的选择又主要取决于给药的时机和剂量。本研究结果显示,相对于 400 mg/kg 的 L-精氨酸用量,在感染期给予严重烧伤患者 200 mg/kg 的 L-精氨酸更为适宜,能在严重烧伤后过度炎症反应的机体环境中通过抑制 iNOS 途径,上调精氨酸酶途径,以更有效地避免 L-精氨酸的促炎作用。

参考文献

- [1] 肖虎,王德昌,冷向峰,等. 严重烧伤休克大鼠淋巴微循环、细胞因子及淋巴管内皮细胞超微结构的变化. 中国微循环, 2005, 4(9): 261-263.
- [2] Chatterjee S, Premachandran S, Sharma D, et al. Therapeutic

treatment with L-arginine rescues mice from heat stroke-induced death: physiological and molecular mechanisms. Shock, 2005, 24(4):341-347.

- [3] Chatterjee S, Premachandran S, Bagewadikar RS, et al. Arginine metabolic pathways determine its therapeutic benefit in experimental heatstroke: role of Th1/Th2 cytokine balance. Nitric Oxide, 2006, 15(4):408-416.
- [4] Tong BC, Barbul A. Cellular and physiological effects of arginine. Mini Rev Med Chem, 2004, 4(8):823-832.
- [5] Luiking YC, Poeze M, Dejong CH, et al. Sepsis: an arginine deficiency state? Crit Care Med, 2004, 32(10):2135-2145.
- [6] 彭曦,尤忠义,颜洪,等. 盐酸精氨酸和醋酸精氨酸对烧伤家兔免疫功能及酸碱平衡影响的对比研究. 中华烧伤杂志, 2005, 21(4):262-265.
- [7] 邓诗琳. 精氨酸在烧伤免疫营养治疗中的作用. 中华烧伤杂志, 2005, 21(4):241-243.
- [8] Suchner U, Heyland DK, Peter K. Immune-modulatory actions of arginine in the critically ill. Br J Nutr, 2002, 87 Suppl 1:S121-132.
- [9] Fletcher JR, Collins JN, Graves ED 3rd, et al. Tumor necrosis factor-induced mortality is reversed with cyclooxygenase inhibition. Ann Surg, 1993, 217(6):668-674; discussion 674-675.
- [10] Laneuville O, Breuer DK, Dewitt DL, et al. Differential inhibition of human prostaglandin endoperoxide H synthases-1 and -2 by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. J Pharmacol Exp Ther, 1994, 271(2):927-934.
- [11] Yan H, Peng X, Huang Y, et al. Effects of early enteral arginine supplementation on resuscitation of severe burn patients. Burns, 2007, 33(2):179-184.
- [12] Teodorczyk-Injeyan JA, Cembrzynska-Nowak M, Lalani S, et al. Immune deficiency following thermal trauma is associated with apoptotic cell death. J Clin Immunol, 1995, 15(6):318-328.
- [13] Mosmann TR, Schumacher JH, Street NF, et al. Diversity of cytokine synthesis and function of mouse CD4 + T cells. Immunol Rev, 1991, 123:209-229.
- [14] Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. N Engl J Med, 2003, 348(2):138-150.
- [15] Molina PE. Neurobiology of the stress response: contribution of the sympathetic nervous system to the neuroimmune axis in traumatic injury. Shock, 2005, 24(1):3-10.
- [16] Poduval TB, Chatterjee S, Sainis KB. Effect of nitric oxide on mortality of mice after whole body hyperthermia. Int J Hyperthermia, 2003, 19(1):35-44.
- [17] Tabuchi S, Gotoh T, Miyataka K, et al. Regulation of genes for inducible nitric oxide synthase and urea cycle enzymes in rat liver in endotoxin shock. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 268(1):221-224.
- [18] Kepka-Lenhart D, Mistry SK, Wu G, et al. Arginase I: a limiting factor for nitric oxide and polyamine synthesis by activated macrophages? Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2000, 279(6):R2237-2242.
- [19] Bronte V, Zanovello P. Regulation of immune responses by L-arginine metabolism. Nat Rev Immunol, 2005, 5(8):641-654.

(收稿日期:2009-07-15)

(本文编辑:谢秋红)