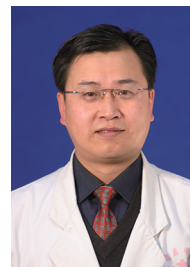


## · 感染与免疫 ·

# 硫化氢对严重烧伤大鼠肠道生物屏障的影响

李毅 王洪瑾 吴晓伟 王来红



**【摘要】** 目的 应用外源性硫化氢和硫化氢合成酶抑制剂干预严重烧伤大鼠,探讨硫化氢对其肠道生物屏障的作用。方法 将 104 只 SD 大鼠按照随机数字表法分为假伤组(8 只)以及烧伤对照组、硫化氢组、炔丙基甘氨酸(PPG)组,后 3 组每组 32 只。假伤组大鼠模拟致伤,不予补液复苏;后 3 组大鼠背部造成 30% TBSA Ⅲ度烫伤(以下称烧伤),伤后即刻腹腔注射平衡盐溶液 40 mL/kg 补液复苏。伤后 1 h 内,硫化氢组和 PPG 组大鼠分别腹腔注射硫化氢 56  $\mu\text{mol/kg}$ 、PPG 45 mg/kg;伤后第 2 天起,硫化氢组和 PPG 组大鼠每日定时分别腹腔注射硫化氢 56  $\mu\text{mol/kg}$ 、PPG 45 mg/kg。各烧伤组分别于伤后 2、7、14、21 d,每组取 8 只大鼠采集盲肠标本,匀浆、稀释后加入相应培养基分别培养双歧杆菌、乳酸菌、肠球菌、肠杆菌、白色念珠菌,行菌落计数后计算细菌含量。假伤组大鼠同前行相应检测。对数据行 log 函数处理及单因素方差分析、析因设计方差分析、SNK-*q* 检验。结果 伤后各时相点,各烧伤组大鼠盲肠中双歧杆菌、乳酸菌含量均少于假伤组(*q* 值为 4.12 ~ 20.74, *P* 值均小于 0.05),肠球菌、肠杆菌、白色念珠菌含量均多于假伤组(*q* 值为 2.84 ~ 68.29, *P* 值均小于 0.05)。与烧伤对照组比较,硫化氢组大鼠盲肠中双歧杆菌和乳酸菌含量在伤后各时相点均增多(*q* 值为 2.88 ~ 17.57, *P* 值均小于 0.05)。硫化氢组大鼠双歧杆菌含量在伤后 7 d 最多,为(6.54  $\pm$  0.35)lg(CFU/g);乳酸菌含量在伤后 21 d 最多,为(7.25  $\pm$  0.71)lg(CFU/g)。与烧伤对照组比较,硫化氢组大鼠盲肠中肠球菌、肠杆菌、白色念珠菌含量在伤后各时相点均减少(*q* 值为 2.79 ~ 29.59, *P* 值均小于 0.05)。与烧伤对照组比较,PPG 组大鼠盲肠中双歧杆菌和乳酸菌含量在伤后各时相点均减少(*q* 值为 2.82 ~ 46.56, *P* 值均小于 0.05),肠球菌、肠杆菌、白色念珠菌含量在伤后各时相点均明显增多(*q* 值为 2.93 ~ 41.42, *P* 值均小于 0.05)。PPG 组大鼠肠球菌含量在伤后 21 d 最多,为(9.41  $\pm$  0.22)lg(CFU/g);肠杆菌含量在伤后 14 d 最多,为(9.96  $\pm$  0.24)lg(CFU/g);白色念珠菌含量在伤后 14 d 最多,为(3.94  $\pm$  0.84)lg(CFU/g)。结论 严重烧伤大鼠补充外源性硫化氢可减少肠道致病菌,增加肠道益生菌,对肠道生物屏障有保护作用。

**【关键词】** 烧伤; 肠; 感染; 硫化氢; 生物屏障

**Influence of hydrogen sulfide on the intestinal biological barrier of rats with severe burn injury** Li Yi, Wang Hongjin, Wu Xiaowei, Wang Laihong. Department of Burns and Plastic Surgery, Qinghai University Affiliated Hospital, Xining 810001, China

Corresponding author: Li Yi, Email: liyiqhxn2006@aliyun.com

**【Abstract】 Objective** To explore the influence of hydrogen sulfide on the intestinal biological barrier, by applying exogenous hydrogen sulfide and hydrogen sulfide synthase inhibitor for the treatment of rats with severe burn injury. **Methods** One hundred and four SD rats were divided into sham injury (SI, *n* = 8), burn control (BC, *n* = 32), sodium hydrosulfide (SH, *n* = 32), and propargylglycine groups (PPG, *n* = 32) according to the random number table. Rats in group SI were sham injured without fluid resuscitation. Rats in the latter 3 groups were inflicted with 30% TBSA full-thickness scald (referred to as burn below) on the back and intraperitoneally injected with 40 mL/kg balanced salt solution immediately after injury. Rats in groups SH and PPG were respectively intraperitoneally injected with SH (56  $\mu\text{mol/kg}$ ) and PPG (45 mg/kg) within 1 hour post injury. From post injury day (PID) 2, SH (56  $\mu\text{mol/kg}$ ) and PPG (45 mg/kg) were respectively intraperitoneally injected once a day to rats in groups SH and PPG. Eight rats from groups BC, SH, and PPG were sacrificed on PID 2, 7, 14 and 21, and ceca samples were collected.

DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2015.01.009

基金项目:青海省科技计划(2011-Z-732)

作者单位:810001 西宁,青海大学附属医院烧伤整形科

通信作者:李毅,Email:liyiqhxn2006@aliyun.com

Ceca samples were added to the appropriate culture medium after being homogenized and diluted, for the culture of *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Enterobacter*, and *Candida albicans*. The content of bacteria was calculated after the bacteria number was counted. The same procedure was performed for rats in group SI. Data were processed with logarithmic function, one-way analysis of variance, analysis of variance of factorial design, and SNK-*q* test. **Results** On each PID, the content of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* in the ceca of each group with burned rats was less than that of group SI (with *q* values from 4.12 to 20.74, *P* values below 0.05); while the content of *Enterococcus*, *Enterobacter*, and *Candida albicans* was more than that of group SI (with *q* values from 2.84 to 68.29, *P* values below 0.05). Compared with that of group BC, the content of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* in the ceca of rats in group SH were increased on each PID (with *q* values from 2.88 to 17.57, *P* values below 0.05). In group SH, the content of *Bifidobacterium* peaked as  $(6.54 \pm 0.35)$  lg (CFU/g) on PID 7, the content of *Lactobacillus* peaked as  $(7.25 \pm 0.71)$  lg (CFU/g) on PID 21. Compared with that of group BC, the content of *Enterococcus*, *Enterobacter*, and *Candida albicans* in the ceca of rats in group SH was reduced on each PID (with *q* values from 2.79 to 29.59, *P* values below 0.05). Compared with that of group BC, the content of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* in the ceca of rats in group PPG was decreased on each PID (with *q* values from 2.82 to 46.56, *P* values below 0.05); while the content of *Enterococcus*, *Enterobacter*, and *Candida albicans* was significantly increased on each PID (with *q* values from 2.93 to 41.42, *P* values below 0.05). In group PPG, the content of *Enterococcus* peaked as  $(9.41 \pm 0.22)$  lg (CFU/g) on PID 21, the content of *Enterobacter* peaked as  $(9.96 \pm 0.24)$  lg (CFU/g) on PID 14, and that of *Candida albicans* peaked as  $(3.94 \pm 0.84)$  lg (CFU/g) on PID 14. **Conclusions** Exogenous hydrogen sulfide can subdue the growth of pathogenic bacteria while promote that of probiotics, thus helping maintain the integrity of intestinal biological barrier of rats with burn injury.

**【Key words】** Burns; Intestines; Infection; Hydrogen sulfide; Biological barrier

肠源性感染与严重烧伤后早期暴发性脓毒症的发生和发展密切相关,并在 MOF 发病机制中起重要作用<sup>[1]</sup>。保护肠道屏障是烧伤治疗的重要环节。硫化氢是近年人们较关注的新型气体信号分子,已被证明参与多系统器官的生理和病理过程<sup>[2-4]</sup>。硫化氢可以保护严重烧伤大鼠重要脏器,减轻休克期炎症反应<sup>[5-7]</sup>,但对大鼠烧伤后肠道屏障的作用仍鲜见报道。本实验拟观察硫化氢对烧伤大鼠肠道生物屏障功能的影响,为临床治疗提供新思路。

## 1 材料与方 法

### 1.1 动物及主要试剂与仪器来源

104 只 2~3 个月龄雄性健康清洁级 SD 大鼠,体质量  $(220 \pm 20)$  g,购自甘肃省中医学院实验动物中心,许可证号:SCXK(甘)2004-0006。体外硫化氢供体硫化钠购自西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司,硫化氢合成酶抑制剂炔丙基甘氨酸(PPG)购自南京奥多福尼生物科技有限公司,BBL 琼脂培养基、MRS 肉汤培养基、麦康凯培养基购自北京森莱特生物科技有限公司,沙氏培养基、LB 培养基、氨基甲酸酯购自陕西林海生物工程有限公司。YQX-II 型厌氧箱购自上海沪粤明科学仪器有限公司,电热恒温水浴箱购自上海博迅实业有限公司,Vortex 3000 型涡旋振荡器购自北京市伊孚森生物技术(中国)有限公司,CX21BIM-SET6 型光学显微镜

购自上海奥林巴斯(中国)有限公司。

### 1.2 动物分组及处理

将所有大鼠适应性饲养 1 周,称取体质量后按照随机数字表法分为假伤组(8 只)以及烧伤对照组、PPG 组、硫化钠组,后 3 组每组 32 只。将后 3 组大鼠用 200 g/L 氨基甲酸乙酯以 5 mL/kg 腹腔注射麻醉,背部脱毛后浸入  $(92.0 \pm 0.5)$  °C 恒温水浴箱中 20 s,造成 30% TBSA III 度烫伤(经病理切片证实,以下称烧伤)。伤后即刻均腹腔注射平衡盐溶液 40 mL/kg 补液复苏。伤后 1 h 内,硫化钠组和 PPG 组分别另腹腔注射硫化钠 56  $\mu$ mol/kg、PPG 45 mg/kg;从伤后第 2 天起,硫化钠组和 PPG 组大鼠每日定时分别腹腔注射硫化钠 56  $\mu$ mol/kg、PPG 45 mg/kg。假伤组大鼠同前进行麻醉、背部脱毛后,浸入 37 °C 水浴箱中 20 s,模拟致伤,不予补液复苏。

### 1.3 标本采集及处理

伤后 2、7、14、21 d,各烧伤组每组取 8 只大鼠采集盲肠标本,采集前均禁食禁水 12 h。用氨基甲酸乙酯同前麻醉后,无菌条件下打开腹腔,取 1.0 cm 长盲肠纵行剪开,清除内容物,用 0.01 mol/L PBS 漂洗 3 次,无菌滤纸吸干,称取质量后制备匀浆液待测。假伤组同前采集标本待测。

### 1.4 标本稀释

各组分别取 1 mL 匀浆液,放入容积为 10 mL 的

灭菌玻璃瓶内,加入 9 mL 生理盐水,于涡旋振荡器上振荡至均质化,制成  $1 \times 10^{-1}$  稀释度的稀释液。用 1 mL 灭菌吸管吸取此稀释度稀释液 1 mL,重复前述操作制成  $1 \times 10^{-2}$  稀释度的稀释液,如此倍比稀释至  $1 \times 10^{-8}$  稀释度,得到  $1 \times 10^{-1} \sim 1 \times 10^{-8}$  稀释度(按数量级递减)的稀释液。

### 1.5 细菌培养及鉴定

将 1.1 中 5 种培养基放于 37 °C 培养箱内烘干过夜,使培养基表面无水滴。各组每次取 20  $\mu$ L 均匀的稀释液,按与培养基相匹配的稀释度从高稀释度开始滴种,用灭菌“L”形玻璃棒均匀涂布。每种稀释度重复 3 次。待培养基吸取滴液后,倒转平板。采用 BBL 琼脂培养基、MRS 肉汤培养基分别定向培养双歧杆菌、乳酸菌,接种后于厌氧箱中 37 °C 恒温培养 72 h;采用 LB 培养基、麦康凯培养基、沙氏培养基分别定向培养肠球菌、肠杆菌、白色念珠菌,接种后同前恒温培养 48 h。培养完成后,采用光学显微镜观察,根据微生物形态学特性鉴定细菌。

### 1.6 菌落计数

计数每个平板上的菌落数。可用肉眼观察,必要时用光学显微镜检查,以防遗漏。在记下各平板的菌落总数后,求出同稀释度的 3 个平板平均菌落数,依据稀释倍数,计算每克原始标本中的细菌含量(菌落数  $\times$  稀释倍数  $\div$  肠内容物质量)。

### 1.7 统计学处理

对原始数据进行 log 函数处理,底数为 10,  $y = \lg(x)$ ,  $x$  为各种菌原始细菌含量,后文数据以  $\bar{y} \pm s$  表示,采用 SPSS 17.0 统计软件处理。4 组间总体比较行单因素方差分析,各烧伤组间总体比较行析因设计方差分析,两两比较行 SNK- $q$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 细菌鉴定

经鉴定,本实验中的盲肠组织标本通过培养基成功定向培养出相应菌株。

### 2.2 盲肠双歧杆菌含量

伤后各时相点,各烧伤组大鼠盲肠中双歧杆菌含量均少于假伤组( $P$  值均小于 0.05)。伤后各时相点,烧伤对照组大鼠盲肠中双歧杆菌含量均少于硫化氢组( $P$  值均小于 0.05),多于 PPG 组( $P$  值均小于 0.05)。见表 1。

### 2.3 盲肠乳酸菌含量

伤后各时相点,各烧伤组大鼠盲肠中乳酸菌含量

表 1 各组大鼠伤后各时相点盲肠中双歧杆菌含量对数值比较 [ $\lg(\text{CFU/g})$ ,  $\bar{y} \pm s$ ]

| 组别      | 伤后 2 d          | 伤后 7 d          | 伤后 14 d         | 伤后 21 d         |
|---------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 烧伤对照组   | 5.21 $\pm$ 0.94 | 5.15 $\pm$ 0.46 | 4.05 $\pm$ 0.61 | 5.41 $\pm$ 0.92 |
| 硫化氢组    | 5.73 $\pm$ 0.21 | 6.54 $\pm$ 0.35 | 6.42 $\pm$ 0.96 | 5.85 $\pm$ 0.91 |
| PPG 组   | 4.75 $\pm$ 0.86 | 4.49 $\pm$ 0.40 | 3.82 $\pm$ 0.05 | 4.96 $\pm$ 0.41 |
| $F$ 值   | 326.55          | 382.64          | 647.03          | 280.78          |
| $P$ 值   | <0.001          | <0.001          | <0.001          | <0.001          |
| $q_1$ 值 | 12.45           | 8.74            | 4.56            | 9.46            |
| $P_1$ 值 | <0.05           | <0.05           | <0.05           | <0.05           |
| $q_2$ 值 | 20.74           | 4.12            | 7.12            | 6.43            |
| $P_2$ 值 | <0.05           | <0.05           | <0.05           | <0.05           |
| $q_3$ 值 | 5.13            | 6.15            | 10.64           | 5.82            |
| $P_3$ 值 | <0.05           | <0.05           | <0.05           | <0.05           |
| $q_4$ 值 | 3.09            | 3.66            | 4.65            | 6.65            |
| $P_4$ 值 | <0.05           | <0.05           | <0.05           | <0.05           |
| $q_5$ 值 | 2.82            | 8.01            | 46.56           | 12.46           |
| $P_5$ 值 | <0.05           | <0.05           | <0.05           | <0.05           |

注:表中 3 组鼠数均为 32 只;假伤组鼠数为 8 只,其双歧杆菌含量对数值为  $(7.82 \pm 0.85) \lg(\text{CFU/g})$ ;  $F$  值、 $P$  值为 4 组间各时相点总体比较所得(表中各组各时相点均与假伤组比较);表中 3 组间处理因素主效应,  $F = 70\ 860.68$ ,  $P < 0.001$ ;时间因素主效应,  $F = 10\ 121.30$ ,  $P < 0.001$ ;两者交互作用,  $F = 3\ 997.57$ ,  $P < 0.001$ ;  $q_1$  值、 $P_1$  值,  $q_2$  值、 $P_2$  值,  $q_3$  值、 $P_3$  值分别为假伤组与烧伤对照组、硫化氢组、炔丙基甘氨酸(PPG)组比较所得;  $q_4$  值、 $P_4$  值,  $q_5$  值、 $P_5$  值分别为烧伤对照组与硫化氢组、PPG 组比较所得

均少于假伤组( $P$  值均小于 0.05)。伤后各时相点,烧伤对照组大鼠盲肠中乳酸菌含量均少于硫化氢组( $P$  值均小于 0.05),多于 PPG 组( $P$  值均小于 0.05)。见表 2。

### 2.4 盲肠肠球菌含量

伤后各时相点,各烧伤组大鼠盲肠中肠球菌含量均多于假伤组( $P$  值均小于 0.05)。伤后各时相点,烧伤对照组大鼠盲肠中肠球菌含量均多于硫化氢组( $P$  值均小于 0.05),少于 PPG 组( $P$  值均小于 0.05)。见表 3。

### 2.5 盲肠肠杆菌含量

伤后各时相点,各烧伤组大鼠盲肠中肠杆菌含量均多于假伤组( $P$  值均小于 0.05)。伤后各时相点,烧伤对照组大鼠盲肠中肠杆菌含量均多于硫化氢组( $P$  值均小于 0.05),少于 PPG 组( $P$  值均小于 0.05)。见表 4。

### 2.6 盲肠白色念珠菌含量

伤后各时相点,各烧伤组大鼠盲肠中白色念珠菌含量均多于假伤组( $P$  值均小于 0.05)。伤后各时相点,烧伤对照组大鼠盲肠中白色念珠菌含量均多于硫化氢组( $P$  值均小于 0.05),少于 PPG 组( $P$  值均小于 0.05)。见表 5。

**表 2** 各组大鼠伤后各时相点盲肠中乳酸菌含量对数值比较 [lg(CFU/g),  $\bar{y} \pm s$ ]

| 组别               | 伤后 2 d      | 伤后 7 d      | 伤后 14 d     | 伤后 21 d     |
|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 烧伤对照组            | 6.10 ± 0.11 | 5.02 ± 0.09 | 5.04 ± 0.71 | 5.01 ± 0.04 |
| 硫氢化钠组            | 6.85 ± 0.25 | 6.76 ± 0.65 | 6.51 ± 0.35 | 7.25 ± 0.71 |
| PPG 组            | 5.66 ± 0.45 | 4.15 ± 0.21 | 4.05 ± 0.66 | 4.21 ± 0.54 |
| F 值              | 486.33      | 19 497.59   | 2 054.58    | 2 155.55    |
| P 值              | <0.001      | <0.001      | <0.001      | <0.001      |
| q <sub>1</sub> 值 | 4.86        | 7.42        | 9.71        | 6.48        |
| P <sub>1</sub> 值 | <0.05       | <0.05       | <0.05       | <0.05       |
| q <sub>2</sub> 值 | 10.78       | 15.13       | 17.46       | 18.23       |
| P <sub>2</sub> 值 | <0.05       | <0.05       | <0.05       | <0.05       |
| q <sub>3</sub> 值 | 8.44        | 7.41        | 12.32       | 11.04       |
| P <sub>3</sub> 值 | <0.05       | <0.05       | <0.05       | <0.05       |
| q <sub>4</sub> 值 | 2.88        | 3.05        | 17.57       | 5.85        |
| P <sub>4</sub> 值 | <0.05       | <0.05       | <0.05       | <0.05       |
| q <sub>5</sub> 值 | 8.70        | 8.54        | 28.77       | 16.00       |
| P <sub>5</sub> 值 | <0.05       | <0.05       | <0.05       | <0.05       |

注:表中 3 组鼠数均为 32 只;假伤组鼠数为 8 只,其乳酸菌含量对数值为(7.93 ± 0.51)lg(CFU/g); F 值、P 值为 4 组间各时相点总体比较所得(表中各组各时相点均与假伤组比较);表中 3 组间处理因素主效应, F = 8 583.04, P < 0.001;时间因素主效应, F = 2 542.39, P < 0.001;两者交互作用, F = 29.34, P < 0.001; q<sub>1</sub> 值、P<sub>1</sub> 值、q<sub>2</sub> 值、P<sub>2</sub> 值、q<sub>3</sub> 值、P<sub>3</sub> 值分别为假伤组与烧伤对照组、硫氢化钠组、炔丙基甘氨酸(PPG)组比较所得; q<sub>4</sub> 值、P<sub>4</sub> 值、q<sub>5</sub> 值、P<sub>5</sub> 值分别为烧伤对照组与硫氢化钠组、PPG 组比较所得

**表 3** 各组大鼠伤后各时相点盲肠中肠球菌含量对数值比较 [lg(CFU/g),  $\bar{y} \pm s$ ]

| 组别               | 伤后 2 d      | 伤后 7 d      | 伤后 14 d     | 伤后 21 d     |
|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 烧伤对照组            | 5.39 ± 0.21 | 6.01 ± 0.35 | 6.45 ± 0.25 | 5.91 ± 0.51 |
| 硫氢化钠组            | 4.36 ± 0.42 | 5.49 ± 0.61 | 5.71 ± 0.34 | 4.16 ± 0.44 |
| PPG 组            | 6.15 ± 0.45 | 8.45 ± 0.36 | 8.61 ± 0.75 | 9.41 ± 0.22 |
| F 值              | 10 053.29   | 19 029.62   | 3 273.67    | 42 891.17   |
| P 值              | <0.001      | <0.001      | <0.001      | <0.001      |
| q <sub>1</sub> 值 | 6.48        | 10.54       | 20.46       | 14.32       |
| P <sub>1</sub> 值 | <0.05       | <0.05       | <0.05       | <0.05       |
| q <sub>2</sub> 值 | 4.56        | 9.16        | 10.72       | 14.24       |
| P <sub>2</sub> 值 | <0.05       | <0.05       | <0.05       | <0.05       |
| q <sub>3</sub> 值 | 7.89        | 4.57        | 8.31        | 7.46        |
| P <sub>3</sub> 值 | <0.05       | <0.05       | <0.05       | <0.05       |
| q <sub>4</sub> 值 | 5.57        | 15.13       | 2.79        | 22.91       |
| P <sub>4</sub> 值 | <0.05       | <0.05       | <0.05       | <0.05       |
| q <sub>5</sub> 值 | 7.73        | 3.18        | 6.64        | 34.48       |
| P <sub>5</sub> 值 | <0.05       | <0.05       | <0.05       | <0.05       |

注:表中 3 组鼠数均为 32 只;假伤组鼠数为 8 只,其肠球菌含量对数值为(3.96 ± 0.54)lg(CFU/g); F 值、P 值为 4 组间各时相点总体比较所得(表中各组各时相点均与假伤组比较);表中 3 组间处理因素主效应, F = 16 074.54, P < 0.001;时间因素主效应, F = 5 946.14, P < 0.001;两者交互作用, F = 290.06, P < 0.001; q<sub>1</sub> 值、P<sub>1</sub> 值、q<sub>2</sub> 值、P<sub>2</sub> 值、q<sub>3</sub> 值、P<sub>3</sub> 值分别为假伤组与烧伤对照组、硫氢化钠组、炔丙基甘氨酸(PPG)组比较所得; q<sub>4</sub> 值、P<sub>4</sub> 值、q<sub>5</sub> 值、P<sub>5</sub> 值分别为烧伤对照组与硫氢化钠组、PPG 组比较所得

**表 4** 各组大鼠伤后各时相点盲肠中肠杆菌含量对数值比较 [lg(CFU/g),  $\bar{y} \pm s$ ]

| 组别               | 伤后 2 d      | 伤后 7 d      | 伤后 14 d     | 伤后 21 d     |
|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 烧伤对照组            | 6.41 ± 0.58 | 7.51 ± 0.21 | 7.81 ± 0.35 | 8.27 ± 0.81 |
| 硫氢化钠组            | 4.95 ± 0.16 | 5.75 ± 0.35 | 6.58 ± 0.55 | 7.26 ± 0.65 |
| PPG 组            | 7.35 ± 0.55 | 8.55 ± 0.26 | 9.96 ± 0.24 | 9.35 ± 0.75 |
| F 值              | 2 328.34    | 40 491.35   | 5 441.58    | 60 629.77   |
| P 值              | <0.001      | <0.001      | <0.001      | <0.001      |
| q <sub>1</sub> 值 | 18.24       | 14.49       | 16.15       | 25.73       |
| P <sub>1</sub> 值 | <0.05       | <0.05       | <0.05       | <0.05       |
| q <sub>2</sub> 值 | 10.62       | 20.79       | 25.07       | 19.19       |
| P <sub>2</sub> 值 | <0.05       | <0.05       | <0.05       | <0.05       |
| q <sub>3</sub> 值 | 19.47       | 68.29       | 23.75       | 39.12       |
| P <sub>3</sub> 值 | <0.05       | <0.05       | <0.05       | <0.05       |
| q <sub>4</sub> 值 | 22.31       | 28.51       | 5.64        | 29.59       |
| P <sub>4</sub> 值 | <0.05       | <0.05       | <0.05       | <0.05       |
| q <sub>5</sub> 值 | 34.48       | 41.42       | 10.76       | 27.60       |
| P <sub>5</sub> 值 | <0.05       | <0.05       | <0.05       | <0.05       |

注:表中 3 组鼠数均为 32 只;假伤组鼠数为 8 只,其肠杆菌含量对数值为(4.06 ± 0.44)lg(CFU/g); F 值、P 值为 4 组间各时相点总体比较所得(表中各组各时相点均与假伤组比较);表中 3 组间处理因素主效应, F = 4 777.02, P < 0.001;时间因素主效应, F = 501.27, P < 0.001;两者交互作用, F = 150.30, P < 0.001; q<sub>1</sub> 值、P<sub>1</sub> 值、q<sub>2</sub> 值、P<sub>2</sub> 值、q<sub>3</sub> 值、P<sub>3</sub> 值分别为假伤组与烧伤对照组、硫氢化钠组、炔丙基甘氨酸(PPG)组比较所得; q<sub>4</sub> 值、P<sub>4</sub> 值、q<sub>5</sub> 值、P<sub>5</sub> 值分别为烧伤对照组与硫氢化钠组、PPG 组比较所得

**表 5** 各组大鼠伤后各时相点盲肠中白色念珠菌含量对数值比较 [lg(CFU/g),  $\bar{y} \pm s$ ]

| 组别               | 伤后 2 d      | 伤后 7 d      | 伤后 14 d     | 伤后 21 d     |
|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 烧伤对照组            | 2.58 ± 0.37 | 2.52 ± 0.12 | 3.29 ± 0.08 | 2.25 ± 0.10 |
| 硫氢化钠组            | 2.11 ± 0.27 | 1.93 ± 0.35 | 2.60 ± 0.55 | 1.89 ± 0.26 |
| PPG 组            | 3.42 ± 0.96 | 3.25 ± 0.44 | 3.94 ± 0.84 | 2.98 ± 0.32 |
| F 值              | 2 618.07    | 3 886.31    | 9 269.98    | 1 675.79    |
| P 值              | <0.001      | <0.001      | <0.001      | <0.001      |
| q <sub>1</sub> 值 | 5.46        | 5.79        | 6.23        | 3.49        |
| P <sub>1</sub> 值 | <0.05       | <0.05       | <0.05       | <0.05       |
| q <sub>2</sub> 值 | 4.16        | 3.08        | 4.78        | 9.43        |
| P <sub>2</sub> 值 | <0.05       | <0.05       | <0.05       | <0.05       |
| q <sub>3</sub> 值 | 4.28        | 2.84        | 9.46        | 4.56        |
| P <sub>3</sub> 值 | <0.05       | <0.05       | <0.05       | <0.05       |
| q <sub>4</sub> 值 | 4.83        | 3.47        | 4.74        | 4.97        |
| P <sub>4</sub> 值 | <0.05       | <0.05       | <0.05       | <0.05       |
| q <sub>5</sub> 值 | 2.93        | 8.26        | 4.87        | 9.46        |
| P <sub>5</sub> 值 | <0.05       | <0.05       | <0.05       | <0.05       |

注:表中 3 组鼠数均为 32 只;假伤组鼠数为 8 只,其白色念珠菌含量对数值为(1.65 ± 0.50)lg(CFU/g); F 值、P 值为 4 组间各时相点总体比较所得(表中各组各时相点均与假伤组比较);表中 3 组间处理因素主效应, F = 10 063.70, P < 0.001;时间因素主效应, F = 990.21, P < 0.001;两者交互作用, F = 887.37, P < 0.001; q<sub>1</sub> 值、P<sub>1</sub> 值、q<sub>2</sub> 值、P<sub>2</sub> 值、q<sub>3</sub> 值、P<sub>3</sub> 值分别为假伤组与烧伤对照组、硫氢化钠组、炔丙基甘氨酸(PPG)组比较所得; q<sub>4</sub> 值、P<sub>4</sub> 值、q<sub>5</sub> 值、P<sub>5</sub> 值分别为烧伤对照组与硫氢化钠组、PPG 组比较所得

### 3 讨论

肠道在执行消化功能的同时,也具有强大的防感染作用,这归功于完整的肠道屏障,主要由肠黏膜机械屏障、免疫屏障及生物屏障组成。当机体受到烧/创伤、感染等打击时,3个屏障共同构成一个多层次的防护系统,保护宿主免受肠腔中细菌等的侵袭。动物肠道内存在着多种且大量的微生物,这些共生的菌群通过与肠黏膜黏附或结合,形成生物屏障,在正常情况下可以阻止致病菌通过肠上皮进入机体,预防感染的发生<sup>[8]</sup>。但在烧/创伤时,应激反应导致肠道内环境改变(如缺血、肠蠕动减慢、积气、pH值升高等),使得肠道菌群紊乱。由于肠黏膜充血、水肿甚至坏死,占据优势的原籍厌氧菌如乳酸菌、双歧杆菌失去占位空间结构而大量死亡,厌氧菌数量迅速下降,生物屏障功能减弱;大肠杆菌等其他机会菌过度生长,并穿过生物屏障侵入血液、淋巴系统,甚至导致全身播散性感染。大鼠严重烧伤后,其肠内容物中大量的益生菌等肠道原籍菌明显减少,一些条件致病菌异常增高<sup>[9]</sup>。益生菌的缺失加剧了肠黏膜通透性改变,条件致病菌及其释放的LPS容易穿过肠壁进入机体组织,造成肠源性感染。

吴晓伟等<sup>[10]</sup>曾报道,外源性硫化氢对严重烧伤大鼠肠道黏膜免疫功能有保护作用;孙超等<sup>[11]</sup>亦指出,硫化氢对严重烧伤大鼠肠道黏膜机械屏障有保护作用。本实验结果显示,与假伤组比较,各烧伤组大鼠肠道双歧杆菌、乳酸菌等肠道原籍菌明显减少,肠球菌、肠杆菌、白色念珠菌等条件致病菌明显增加,提示烧伤可破坏肠道生物屏障,导致肠源性感染风险增高,与Costantini等<sup>[12]</sup>的研究结果一致。伤后各时相点,PPG组大鼠肠道双歧杆菌和乳酸菌含量较烧伤对照组更低,而肠球菌、肠杆菌、白色念珠菌含量明显增加。提示给予PPG后,烧伤大鼠肠道致病菌进一步增多,益生菌进一步减少,肠道生物屏障受到进一步破坏。伤后各时相点,硫化氢组大鼠肠道的双歧杆菌和乳酸菌含量则明显多于烧伤对照组,肠球菌、肠杆菌、白色念珠菌含量明显少于烧伤

对照组,提示硫化氢能够减少烧伤大鼠肠道致病菌、增加益生菌,在一定程度上保护肠道生物屏障。

此实验结果提示补充外源性硫化氢,可以保护肠道正常菌群、维持肠道微生态平衡、促进肠道生物屏障功能的恢复。但硫化氢能否在烧伤患者的肠道治疗中发挥作用,仍需进一步深入研究。

### 参考文献

- [1] Costantini TW, Bansal V, Krzyzaniak M, et al. Vagal nerve stimulation protects against burn-induced intestinal injury through activation of enteric glia cells [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2010,299(6):G1308-1318.
- [2] Zheng X, Mao Y, Cai J, et al. Hydrogen-rich saline protects against intestinal ischemia/reperfusion injury in rats [J]. *Free Radic Res*, 2009,43(5):478-484.
- [3] Fan J, Xie Y, Li X, et al. The influence of Peyer's patch apoptosis on intestinal mucosal immunity in burned mice [J]. *Burns*, 2009,35(5):687-694.
- [4] Costantini TW, Loomis WH, Putnam JG, et al. Pentoxifylline modulates intestinal tight junction signaling after burn injury: effects on myosin light chain kinase [J]. *J Trauma*, 2009,66(1):17-24.
- [5] 吴贞天,李毅. 硫化氢对严重烧伤早期大鼠血清TNF- $\alpha$ 及MDA含量变化的干预作用研究[J/CD]. *中华损伤与修复杂志:电子版*,2010,5(4):10-13.
- [6] 李毅,王洪瑾,宋学芳,等. 硫化氢对严重烧伤大鼠重要脏器的影响[J]. *中华烧伤杂志*,2011,27(1):54-58.
- [7] 未培轩,李毅,王洪瑾,等. 硫化氢对大鼠烧伤后炎症反应的影响[J/CD]. *中华损伤与修复杂志:电子版*,2012,7(1):30-33.
- [8] Costantini TW, Peterson CY, Kroll L, et al. Burns, inflammation, and intestinal injury: protective effects of an anti-inflammatory resuscitation strategy [J]. *J Trauma*, 2009,67(6):1162-1168.
- [9] 范骏,孟庆延,郭光华,等. 早期肠内免疫营养对烫伤小鼠肠道免疫功能的影响[J]. *中华烧伤杂志*,2009,25(2):140-143.
- [10] 吴晓伟,李毅,王洪瑾. 硫化氢对烧伤大鼠肠道SIgA和T淋巴细胞亚群的影响[J/CD]. *中华损伤与修复杂志:电子版*,2013,8(4):22-25.
- [11] 孙超,李毅,王洪瑾. 硫化氢对烧伤大鼠肠道组织干扰素- $\gamma$ 、肿瘤坏死因子- $\alpha$ 含量的影响[J/CD]. *中华损伤与修复杂志:电子版*,2013,8(2):22-25.
- [12] Costantini TW, Bansal V, Peterson CY, et al. Efferent vagal nerve stimulation attenuates gut barrier injury after burn: modulation of intestinal occludin expression [J]. *J Trauma*, 2010,68(6):1349-1354.

(收稿日期:2014-01-14)

(本文编辑:贾津津)

欢迎浏览《中华烧伤杂志》网站

“<http://www.zhsszz.org>”