

# 喂饲左旋精氨酸对烫伤大鼠肠道保护作用机制的研究

陈斌 付晋凤 袁卫红 许琰 罗志航 汪虹 陈宗华 李翠萍

**【摘要】** 目的 探讨喂饲左旋精氨酸(L-Arg)对烫伤大鼠肠道缺血再灌注损伤的作用机制。

**方法** 将 66 只 SD 大鼠随机分为正常对照组(6 只,不作烫伤和其他处理)、精氨酸组(30 只,烫伤后 2 h 喂饲 70 g/L L-Arg, 1 ml/次, 2 次/d)和普通喂养组(30 只,烫伤后喂饲等量凉开水)。检测正常对照组及两组烫伤大鼠伤后 6、12、24、48、72 h 肠组织内皮素(ET)水平、一氧化氮(NO)含量、ET/NO 比值以及血浆内毒素水平的变化,并取回肠组织标本作病理学观察。**结果** 伤后 6、12、24 h,精氨酸组大鼠肠组织 ET 水平分别为(0.80 ± 0.26)、(0.75 ± 0.30)、(0.63 ± 0.22) ng/g, 低于普通喂养组(1.26 ± 0.38)、(1.34 ± 0.37)、(0.97 ± 0.19) ng/g ( $P < 0.05$ );其 NO 含量显著高于普通喂养组( $P < 0.01$ );ET/NO 比值和血浆内毒素水平均低于普通喂养组( $P < 0.05$  或 0.01)。病理学观察显示,精氨酸组大鼠肠黏膜损伤情况明显轻于普通喂养组。**结论** 喂饲 L-Arg 可减轻烫伤大鼠肠组织缺血再灌注损伤,有利于保护肠黏膜屏障功能。其机制为喂饲 L-Arg 后增加了肠黏膜局部 NO 的含量,有助于维持 ET/NO 比值的稳定。

**【关键词】** 烧伤; 肠道营养; 精氨酸; 再灌注损伤

**Study on the mechanism of protective effect of oral L-arginine on intestine after scald injury in rats** CHEN Bin\*, FU Jin-feng, YUAN Wei-hong, Xu Yan, LUO Zhi-hang, WANG Hong, CHEN Zong-hua, LI Cui-ping. \*Department of Burns, The Second Affiliated Hospital of Kunming Medical College. Kunming 650101, P. R. China

**【Abstract】** **Objective** To explore the mechanism of protective effect of oral L-arginine (L-Arg) on the intestine after scald injury in rats. **Methods** Sixty-six Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into three groups: i. e. normal control (N, n = 6, without treatment), oral L-arginine group (A, n = 30, with 1ml 70g/L of L-Arg per os 2 times a day from 2 post scald hour (PSH)) on with normal enteral feeding and group B (n = 30, with oral feeding of cold boiled water after scald). The changes in the content of superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO), endothelin (ET), ET/NO ratio in the intestine and the level of plasma endotoxin (LPS) in portal vein were assessed at 6, 12, 24, 48, 72 PSH. Ileum tissue samples were harvested for pathological examination. **Results** The ET content in the intestinal tissue in A group at 6, 12 and 24 PSH (0.80 ± 0.26 ng/g, 0.75 ± 0.30 ng/g, 0.63 ± 0.22 ng/g) was obviously lower than that in B group (1.26 ± 0.38 ng/g, 1.34 ± 0.37 ng/g, 0.97 ± 0.19 ng/g,  $P < 0.05$ ), but the NO contents in the intestine in A group at the same time points were significantly higher than that in B group ( $P < 0.01$ ). The ET/NO ratio and the level of plasma endotoxin in A group were significantly lower than those in B group at each time point ( $P < 0.05$  or 0.01). Pathological examination showed that the intestinal mucosal injury in the A group was obviously milder than that in the B group. **Conclusion** Oral L-arginine was shown to have the effects to ameliorate ischemia reperfusion injury of the intestine and to protect the barrier function of the intestinal mucosa. This might be related to an increase in the NO level in intestinal mucosa resulting in maintenance of a stable ET/NO ratio.

**【Key words】** Burns; Enteral nutrition; Arginine; Reperfusion injury

有研究证实,大鼠烧伤后早期行肠道喂养可增加肠黏膜血流量、减轻肠道缺血再灌注损伤<sup>[1]</sup>。笔者曾观察到,喂饲左旋精氨酸(L-arginine, L-Arg)可减轻烫伤大鼠肠道缺血再灌注所引起的脂质过氧化损害,推测其机制可能与喂饲 L-Arg 导致肠黏膜局

部一氧化氮(NO)含量增加有关<sup>[2]</sup>。在此基础上,笔者又进一步探讨喂饲 L-Arg 对烫伤大鼠肠道缺血再灌注损伤的具体作用机制。

## 材料与方 法

1. 动物模型及分组:66 只健康 SD 大鼠(云南省天然药物药理重点实验室),雌雄不限,体重(220 ± 20)g,随机分为正常对照组(6 只)、精氨酸组(30 只)和普通喂养组(30 只)。正常对照组大鼠不作烫伤和其他处理。精氨酸组大鼠用 20 g/L 氯胺酮

基金项目:云南省卫生厅科研基金资助项目(99Q035)

作者单位:650101 昆明医学院附属第二医院烧伤科(陈斌、付晋凤、汪虹、陈宗华、李翠萍),核医学科(袁卫红、罗志航);昆明医学院微生物与免疫学教研室(许琰)

和 6 mg/L 阿托品混合溶液 (3 ~ 5 ml/kg) 腹腔注射麻醉, 背部脱毛后, 置 (92 ± 2) °C 热水中浸烫 18 s, 制成 30% TBSA III 度烫伤模型 (经病理切片证实), 伤后立即用等渗盐水 (40 ml/kg) 复苏; 伤后 2 h 开始喂饲 70 g/L L-Arg (深圳晶美生物工程有限公司) 1 ml/次, 2 次/d, 不限饮食。普通喂养组大鼠烫伤后喂饲凉开水, 剂量及方法同精氨酸组。

2. 标本采集: 两致伤组大鼠分别于伤后 6、12、24、48、72 h 麻醉并取材, 每组每时相点 6 只。(1) 肠组织: 在距大鼠回盲部 5 cm 处切取约 1 cm 回肠, 置体积分数 10% 甲醛中固定。再切取约 500 mg 回肠, 等渗盐水冲洗、吸干水分后称重, 随后加入 9 倍体积的等渗盐水, 用玻璃匀浆器制成组织匀浆, 置于 -60 °C 保存。(2) 门静脉血: 剖腹抽取大鼠门静脉血, 置于预先去热原的抗凝试管中, 分离血浆。同法采集正常对照组大鼠的上述标本待检。

3. 检测指标: (1) 放射免疫法测定大鼠肠组织内皮素 (ET) 水平: 操作按试剂盒 (解放军总医院科技开发中心放射免疫研究所) 说明书进行。(2) 硝酸还原酶法测定大鼠肠组织 NO 含量: 操作按深圳晶美生物工程有限公司试剂盒说明书进行, 并计算 ET/NO 比值。(3) 鲎试剂法测定血浆内毒素水平: 按试剂盒 (上海医学化验所) 说明书操作。(4) 病理学观察: 取经甲醛固定的回肠组织标本, 常规石蜡包埋、切片, HE 染色, 观察肠黏膜变化。

4. 统计学处理: 数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 SPSS 10.0 统计软件包进行方差分析和 *t* 检验。

### 结 果

1. 肠组织 ET 水平: 精氨酸组大鼠在伤后 6 h 达到高峰; 普通喂养组在伤后 12 h 达高峰。两致伤组大鼠伤后 6 ~ 72 h 均明显高于正常对照组 ( $P < 0.05$  或  $0.01$ )。见表 1。

表 1 3 组大鼠肠组织 ET 水平的变化 (ng/g,  $\bar{x} \pm s$ )

Tab 1 Changes in the intestinal ET content in the three groups of rats (ng/g,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | 鼠数 (只) | 伤后时间 (h)                    |                             |                             |                            |                            |
|-------|--------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|       |        | 6                           | 12                          | 24                          | 48                         | 72                         |
| 普通喂养组 | 30     | 1.26<br>±0.38 <sup>#</sup>  | 1.34<br>±0.37 <sup>#</sup>  | 0.97<br>±0.19 <sup>#</sup>  | 0.82<br>±0.10 <sup>#</sup> | 0.79<br>±0.23 <sup>#</sup> |
| 精氨酸组  | 30     | 0.80<br>±0.26 <sup>#Δ</sup> | 0.75<br>±0.30 <sup>#Δ</sup> | 0.63<br>±0.22 <sup>#Δ</sup> | 0.50<br>±0.17 <sup>#</sup> | 0.53<br>±0.11 <sup>#</sup> |

注: 正常对照组 6 只大鼠, ET 水平为 (0.29 ± 0.14) ng/g; 与正常对照组比较, \*  $P < 0.05$ , #  $P < 0.01$ ; 与普通喂养组比较, Δ  $P < 0.05$

2. 肠组织 NO 含量: 伤后 6 h 精氨酸组大鼠肠组织 NO 含量迅速升高, 与其他两组比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。普通喂养组伤后 6 ~ 24 h 与正

常对照组比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 48 h 开始高于正常对照组 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 3 组大鼠肠组织 NO 含量的变化 (nmol/g,  $\bar{x} \pm s$ )

Tab 2 Changes in the intestinal NO content in the three groups of rats (nmol/g,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | 鼠数 (只) | 伤后时间 (h)                      |                               |                               |                              |                              |
|-------|--------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|       |        | 6                             | 12                            | 24                            | 48                           | 72                           |
| 普通喂养组 | 30     | 0.743<br>±0.119               | 0.721<br>±0.086               | 0.735<br>±0.028               | 0.801<br>±0.038 <sup>*</sup> | 0.768<br>±0.071 <sup>*</sup> |
| 精氨酸组  | 30     | 1.114<br>±0.244 <sup>#Δ</sup> | 0.976<br>±0.091 <sup>#Δ</sup> | 0.863<br>±0.047 <sup>#Δ</sup> | 0.850<br>±0.086 <sup>#</sup> | 0.803<br>±0.052 <sup>#</sup> |

注: 正常对照组 6 只大鼠, NO 水平为 (0.672 ± 0.061) nmol/g; 与正常对照组比较, \*  $P < 0.05$ , #  $P < 0.01$ ; 与普通喂养组比较, Δ  $P < 0.01$

3. ET/NO 比值: 伤后 6、12、24 h 精氨酸组大鼠 ET/NO 比值明显低于普通喂养组 ( $P < 0.05$  或  $0.01$ )。普通喂养组在伤后各时相点均高于正常对照组 ( $P < 0.05$  或  $0.01$ )。见表 3。

表 3 3 组大鼠 ET/NO 比值的变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 3 Changes in the intestinal ET/NO ratio in the three groups of rats ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | 鼠数 (只) | 伤后时间 (h)                    |                             |                            |                            |                            |
|-------|--------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|       |        | 6                           | 12                          | 24                         | 48                         | 72                         |
| 普通喂养组 | 30     | 1.71<br>±0.68 <sup>#</sup>  | 1.42<br>±0.41 <sup>#</sup>  | 1.31<br>±0.25 <sup>#</sup> | 1.03<br>±0.18 <sup>*</sup> | 0.98<br>±0.26 <sup>*</sup> |
| 精氨酸组  | 30     | 0.80<br>±0.22 <sup>#Δ</sup> | 0.78<br>±0.17 <sup>#Δ</sup> | 0.69<br>±0.28 <sup>*</sup> | 0.60<br>±0.27              | 0.66<br>±0.10              |

注: 正常对照组 6 只大鼠, ET/NO 比值为 0.44 ± 0.21; 与正常对照组比较, \*  $P < 0.05$ , #  $P < 0.01$ ; 与普通喂养组比较, Δ  $P < 0.05$ , ☆  $P < 0.01$

4. 血浆内毒素水平: 伤后 6 h 开始两致伤组大鼠血浆内毒素水平明显上升, 12 h 达高峰, 之后逐渐下降; 但精氨酸组各时相点均明显低于普通喂养组 ( $P < 0.05$ )。见表 4。

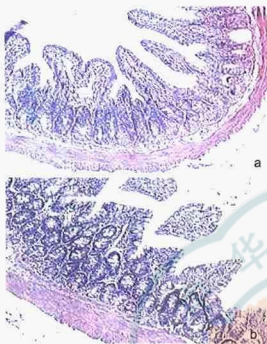
表 4 3 组大鼠血浆内毒素水平的变化 (EU/ml,  $\bar{x} \pm s$ )

Tab 4 Changes in the plasma endotoxin level in the three groups of rats (EU/ml,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | 鼠数 (只) | 伤后时间 (h)                      |                               |                               |                               |                               |
|-------|--------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|       |        | 6                             | 12                            | 24                            | 48                            | 72                            |
| 普通喂养组 | 30     | 0.811<br>±0.129 <sup>*</sup>  | 0.980<br>±0.094 <sup>*</sup>  | 0.554<br>±0.061 <sup>*</sup>  | 0.440<br>±0.021 <sup>*</sup>  | 0.324<br>±0.040               |
| 精氨酸组  | 30     | 0.513<br>±0.105 <sup>#*</sup> | 0.533<br>±0.043 <sup>#*</sup> | 0.402<br>±0.084 <sup>#*</sup> | 0.266<br>±0.039 <sup>#*</sup> | 0.225<br>±0.056 <sup>#*</sup> |

注: 正常对照组 6 只大鼠, 内毒素水平为 (0.102 ± 0.016) EU/ml; 与正常对照组比较, \*  $P < 0.05$ ; 与普通喂养组比较, #  $P < 0.05$

5. 肠黏膜病理学观察: 正常对照组大鼠肠黏膜结构完整, 绒毛上皮无缺损。两致伤组大鼠伤后 12 h 内的组织切片均可见肠黏膜充血、水肿。24 h 后普通喂养组大鼠肠黏膜有绒毛坏死、脱落的现象, 并有较多急性炎性细胞浸润, 72 h 时仍存在上述病理改变。精氨酸组伤后 24 h 肠黏膜杯状细胞减少, 未见绒毛脱落, 72 h 时损伤明显减轻。见图 1。



注:a:精氨酸组大鼠肠黏膜杯状细胞减少,未见绒毛脱落 HE $\times$ 40;b:普通喂养组大鼠肠黏膜杯状细胞减少,绒毛脱落,炎性细胞浸润 HE $\times$ 100

图1 两组烧伤大鼠伤后24 h肠黏膜病理学观察结果  
Fig 1 The pathological examination of rat intestinal mucosa in two scalded groups at 24 PSH

## 讨论

肠道是机体最大的细菌库,除吸收营养物质外,还具有分泌、免疫和屏障功能<sup>[1]</sup>。严重烧(创)伤可导致肠黏膜屏障功能受损,细菌、内毒素大量入血后,引起肠源性感染或内毒素血症,导致或加重全身炎症反应综合征(SIRS),甚至引起多器官功能障碍综合征(MODS)及死亡。因此,加强对肠黏膜屏障功能的保护是烧(创)伤外科研究的热点之一。

精氨酸是一种条件必需氨基酸,既是蛋白质、肌酐、多胺合成的前体,又可以通过脱氨醇通路生成NO而参与多种细胞内代谢过程,影响机体的免疫功能<sup>[4]</sup>。它可促进胰岛素和生长激素的分泌,维持氮平衡,促进伤口愈合,增强免疫反应。给予生理剂量的精氨酸即可改善机体的免疫功能,因此它与谷氨酰胺、 $\omega$ -3脂肪酸等一同被称为免疫营养素<sup>[5]</sup>。在体内,精氨酸除营养作用外,还可以通过一氧化氮合酶(NOS)的作用下代谢生成NO,进而激活细胞内鸟苷酸环化酶(cGMP),参与多种代谢过程,影响机体

免疫功能和细胞增殖活性,并具有扩张血管、抑制血小板黏附,参与杀菌等作用<sup>[6]</sup>。

ET是目前所知最强和最持久的缩血管物质,而NO则是强效的内源性血管扩张剂。生理情况下,ET和NO的合成、释放处于平衡状态,ET/NO比值维持在相对稳定的水平,这对组织血流灌注有重要作用。NO半衰期极短,通常只对邻近组织产生作用。早期肠道喂养可通过改善肠道缺血状况,提高烧伤后肠道NOS的活性<sup>[7]</sup>。因此,观察肠组织局部的NO水平较血液NO水平更有意义。

本研究结果提示,大鼠烧伤后ET水平大幅提高,与中性粒细胞及巨噬细胞被激活,释放大量炎症介质有关;NO水平虽有增加,但其幅度小于ET,因此ET/NO比值增大,对局部血液循环的影响表现为缩血管,在一定程度上可能是引起或加重缺血再灌注损伤的原因。精氨酸组大鼠伤后24 h内NO含量迅速增加,明显高于其他两组;ET/NO比值较正常对照组有所增高,但其增高的幅度低于普通喂养组,且在伤后24 h后即降至正常水平;其门静脉血浆内毒素水平也明显低于普通喂养组。因此,喂饲L-Arg除可促进肠黏膜上皮增殖<sup>[8]</sup>,从而有助于维护肠黏膜屏障功能外,还能在肠壁NOS的作用下产生NO,增加肠黏膜局部NO含量,有助于维持ET/NO比值的相对稳定,减轻肠黏膜缺血再灌注损伤,起到保护肠黏膜机械屏障完整性的作用。

## 参 考 文 献

- 彭曦,汪仕良,冯晋斌,等.早期肠道喂养改善烧伤后肠道血液灌流的实验研究.中华外科杂志,1999,37:507-509.
- 陈斌,付晋凤,陈宗华,等.口服L-精氨酸对烧伤大鼠肠通损害的保护作用.中华烧伤杂志,2003,19(增刊):49-51.
- Hulsewe K W, Ayker BA, Maatje MF, et al. Nutritional depletion and dietary manipulation; effects on the immune response. World J Surg, 1999, 23:536-544.
- Kennedy JA, Kirk SJ, McCrory DC, et al. Modulation of immune function and weight loss by L-arginine in obstructive jaundice in the rat. Br J Surg, 1994, 81:1199-1201.
- Evoy D, Lieberman MD, Fabey TJ, et al. Immunonutrition; the role of arginine. Nutrition, 1998, 14:611-617.
- Eleftheriadis E, Kotzampassi K, Heliadis N, et al. The implication of nitric oxide in the process of bacterial translocation. Int Surg, 2000, 85:23-26.
- 彭曦,冯晋斌,汪仕良,等.早期肠道喂养对烧伤大鼠肠道一氧化氮合酶的影响.中华整形烧伤外科杂志,1998,14:37-40.
- 任建安,汪仕良,黎黎.富含精氨酸早期肠内营养对烧伤后肠黏膜增殖的实验研究.中华烧伤杂志,2001,17:219-221.

(收稿日期:2004-09-02)

(本文编辑:荀学萍)