



## 早期营养对湿热环境创伤大鼠脂质过氧化和一氧化氮的影响

应激可引起机体多种生理、生化指标的变化,甚至造成机体代谢紊乱。近年来对各种应激下机体的研究已经很深入,认识到在严重烧伤等应激状态下,体循环的稳定不一定表示脏器得到有效复苏,胃肠道、肝、肾等脏器可仍处于缺血缺氧状态。胃肠道损害可引起细菌/内毒素易位,导致肠源性感染,加重应激反应,进一步损害内脏器官[1]。营养是提高动物或机体抗应激能力的有效干预措施之一[2],关于热应激或创伤应激的营养研究已经很多,但对湿热复合创伤应激的研究还少有报道。本实验以大鼠为模型,观察了补充和不补充复合营养素对湿热复合创伤大鼠一些脂质过氧化和一氧化氮(NO)的影响,为研究提高机体的急性应激能力提供新的资料和实验依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验动物与分组

Wistar大鼠 56只(由第一军医大学南方医院动物所提供),雄性,体质量180~240 g,

随机分为湿热创伤给药组、湿热创伤对照组。每组各分为热应激1 h、热应激2 h、热应激后4 h(热应激2 h后常温下放置4 h)、热应激后10 h 4个时相点,每个时相点7只大鼠。

#### 1.2 主要试剂与仪器

新鲜配制3%戊巴比妥钠溶液,0.1%肝素钠,10%甲醛,南京建成生物工程研究所提供的超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(黄嘌呤氧化酶法)和丙二醛(MDA)试剂盒(硫代巴比妥酸法),NO试剂盒(硝酸还原酶法),仿真模拟气候舱(本校自制,可调节温度、湿度、风速等),维生素C(安徽联谊药业股份有限公司产品,VC)、维生素E( $\alpha$ -生育酚, Sigma公司产品, VE)、L-精氨酸(L-Arg,上海斐雅科技发展有限公司产品),960全自动酶标仪(美国Metertech INC产品)。

#### 1.3 模型制备

营养模型:对照组动物,给予去离子水灌胃1周(0.5 ml/100 g)[3],给药组大鼠每日以维生素C 4.2 mg/kg·b.w.、L-Arg 500 mg/kg·b.w.(去离子水溶液)、维生素E 8.4 mg/kg·b.w.灌胃,连续灌胃1周。

创伤模型制作:动物剃去背毛后,3%戊巴比妥钠溶液30 mg/kg·b.w.进行腹腔注射麻醉,99℃沸水背部浅II度烫伤,烫伤面积约为体表面积的10%[4]。

高温暴露条件:干球温度(37±0.5)℃,相对湿度(65±5)%,暴露时间为1~2 h。

#### 1.4 样本及指标采集与测定

实验分8次进行,每次1个时相点,实验均于同一时间开始。实验过程中按照不同时间点要求麻醉动物,腹主动脉采血。血样经静止30 min后,3 000 r/min离心10 min,取上清置于低温冰箱(-20℃)保存待测,样本于同一时间由专人按试剂盒说明测定。同时采集胃粘膜,置于10%甲醛中固定,进行常规组织病理检验。

#### 1.5 统计分析

用SPSS 10.0统计软件进行析因设计方差分析及LSD两两比较。

## 2 结果

### 2.1 血浆SOD、MDA、NO含量变化

如表所示, 对照组和给药组血浆SOD、MDA含量变化的差异均有显著性意义( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ); 对照组1 h与2 h、6 h血浆NO含量变化比较, 差异有显著性( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), 组间无显著性差异。

表1 两组大鼠受试后不同时间血浆 SOD、MDA 和 NO 含量变化( $n=28, \bar{x} \pm s$ )

**Tab.1 Changes of plasma SOD, MDA and NO in rats after burn and exposure to a hot and humid condition ( $n=28, Mean \pm SD$ )**

Content	Group	1 h	2 h	6 h	12 h
SOD (U/ml)	Control	315.99±68.18	247.96±67.16	299.62±70.85	279.73±54.60
	Treated**	322.03±55.42	368.43±45.16	346.20±57.08	306.44±39.11
MDA (μmol/L)	Control	3.99±3.18	4.72±3.23	4.88±3.13	3.50±1.31
	Treated*	3.40±2.19	3.45±2.40	1.20±0.91	1.95±0.60
NO (μmol/L)	Control	121.08±48.52	32.65±13.47 $\Delta\Delta$	47.47±25.31 $\Delta$	83.01±58.97
	Treated	48.80±12.94	61.16±14.86	61.42±14.02	49.18±16.94

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs control group;  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.05$  vs control group at 1 h

### 2.2 胃粘膜情况

湿热创伤对照组织学病理检查可见: 胃窦部粘膜局部充血、水肿。常规病理检查可见局部血管扩张严重呈弥漫性充血。给药组组织学病理检查可见: 胃窦部粘膜局部轻微充血、水肿。常规病理检查可见粘膜层和粘膜下层轻微充血。

### 2.3 动物整体情况

湿热创伤对照组6 h和12 h两个时间点动物于出舱后120 min内各死亡1只; 湿热创伤给药组12 h时相点有1只于出舱后4 h内死亡。

## 3 讨论

应激是指有害或过强刺激引起的机体非特异性反应, 可导致机体多种生理、生化和组织学的改变, 甚至造成机体代谢紊乱, 组织器官功能衰竭[5]。有研究表明, 在高温高湿环境下, 机体通过汗液蒸发散热而丢失大量体液, 使水、电解质代谢紊乱, 加之高温环境下体内氧运输障碍, 出现广泛的脂质过氧化反应, 造成机体SOD活性降低[6][7]。我们实验中发现, 湿热创伤后的大鼠血浆SOD水平明显降低、MDA显著升高。与对照组相比, 早期营养干预可明显增高SOD活性、降低MDA水平。这表明早期肠道营养可明显减轻应激反应, 调理应激, 这种作用有利于减轻内脏损害和降低创伤后降低高代谢反应[1][8]。可能的机制是应激前补充了一定的维生素C和维生素E, 这些抗氧化维生素清除了动物体内多余的自由基[9]。

NO作为近几年来研究较热的一种细胞内及细胞间信使因子, 具有其独特的理化性质和生物学特性, 在全身多系统的生理、病理过程中起着重要的作用。不少学者的研究表明, 在应激和一些疾病条件下, NO的合成

明显升高[10][11][12]。由于NO是内皮细胞衍生的重要舒张血管物质,当过量合成时具有细胞毒性。创伤也可诱导机体发生炎症反应,巨噬细胞释放NO增多[13]。我们实验中发现,湿热创伤后的大鼠血浆NO浓度明显增高。与对照组相比,早期营养干预可降低血浆NO水平。可能的原因是在应激前补充了L-Arg,创伤后在细胞因子及儿茶酚胺刺激下激活了精氨酸酶,它可竞争性抑制一氧化氮合酶合成NO[14]。这表明早期营养干预对机体有一定的保护作用。

总之,脂质过氧化反应和NO浓度的变化与机体的生理病理改变具有密切关系,而早期肠道营养可以减轻急性应激反应中MDA和NO对机体的影响水平,并提高SOD的活性从而增强它对机体的保护作用。这对于准确评估应激对机体影响的程度,把握干预的时机从而提高机体对应激的适应能力,预防并发症的发生有重要意义。

#### 参考文献:

- [1] 徐世伟,汪仕良,冯怀志,等.早期肠道营养对烧伤后肝脏的保护作用[J].第三军医大学学报,2000,22(2):170-2.
- Xu SW, Wang SL, Feng HZ, et al. Protective effects of early enteral nutrition on liver after burns in rats[J]. J Third Mil Med Univ, 2000, 22(2): 170-2.
- [2] 王影,李亚洁,翟惠敏.营养素对湿热和创伤应激干预的研究进展[J].护士进修杂志,2003,18(3):220-3.
- Wang Y, Li YJ, Zhai HM. Research of nutrition intervention on the rats with moist heat and trauma stress[J]. J Nurs Train, 2003, 18(3): 220-3.
- [3] 罗炳德,邹飞,万为人,等.复方人参制剂对热应激大鼠的保护作用研究[J].中国工业医学杂志,2001,14(3):136-8.
- Luo BD, Zhou F, Wan WR, et al. Studies on the protective effects of compound ginseng preparation on the rats with heat stress[J]. Chin J Ind Med, 2001, 14(3): 136-8.
- [4] 张立颖,李亚洁,杨磊,等.Wistar大鼠II度烫伤模型的建立[J].护理研究,2003,17(6):624-5.
- Zhang LY, Li YJ, Yang L, et al. Establishment of the second degree scald model in Wistar rats[J]. Chin Nurs Res, 2003, 17(6): 624-5.
- [5] 顿广富.应激反应浅析[J].安庆师范学院院报(自然科学版),1998,4(1):98-100.
- [6] 李权超,何英强,谭终意,等.湿热应激对小鼠脂质过氧化反应的影响[J].解放军预防医学杂志,1997,15(5):353-5.
- Li CQ, He YQ, Tan ZY, et al. The effect of moist heat stress on lipid peroxide of mice[J]. J Prev Med Chin PLA, 1997, 15(5): 353-5.
- [7] 张旭辉,裴国献,魏宽海,等.高温高湿环境犬肢体火器伤后超氧化物歧化酶和丙二醛含量的变化[J].第一军医大学学报,2002,22(4):331-4.
- Zhang XH, Pei GX, Wei KH, et al. Dynamic changes of SOD and MDA in canine limbs with gunshot wound in hot and humid environment: an experiment study[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2002, 22(4): 331-4.
- [8] 徐世伟,汪仕良,冯怀志,等.早期肠道营养与静脉营养对大鼠烧伤后代谢的影响[J].中华创伤杂志,1999,15(5):328-31.
- Xu SW, Wang SL, Feng HZ, et al. A comparative study on the effect of early enteral nutrition and early parental nutrition on Metabolism in burned rats[J]. Chin J Traumatol, 1999, 15(5): 328-31.
- [9] 林劲秋.营养干预对骨髓移植病人抗氧化能力及脂质过氧化的影响[J].第一军医大学学报,2002,22(6):530-2.
- Lin JQ. Effect of nutrition intervention on antioxidant capacity and lipid peroxide in patients with bone marrow transplantation[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2002, 22(6): 530-2.

- [10] Faletti AG, Mastronardi CA, Lomiczi A, et al. beta-endorphin blocks luteinizing hormone-releasing hormone release by inhibiting the nitricoxidergic pathway controlling its release[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(4): 1722-6.
- [11] Aymerich MS, Bengoechea Alonso MT. Inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression in human monocytes triggered by beta-endorphin through an increase in cAMP[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1998, 245(3): 717-21.
- [12] 孙高斌, 黄宗海, 孙英刚, 等. 一氧化氮合酶抑制剂对大鼠创伤性休克的干预作用[J]. 第一军医大学学报, 2003, 23(4): 306-8.
- Sun GB, Huang ZH, SUN YG, et al. Intervention with nitric oxide synthase inhibitors of traumatic shock in rats[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2003, 23(4): 306-8.
- [13] Goris RG. Pathophysiology of shock in trauma [J]. Eur J Surg, 2000, 166(2): 100-11.
- [14] Ochoa JB, Bernard AC, Mistry SK, et al. Trauma increases extrahepatic arginase activity[J]. Surgery, 2000, 127(4): 419-26.

#### 参考文献:

- [1] 徐世伟, 汪仕良, 冯怀志, 等. 早期肠道营养对烧伤后肝脏的保护作用[J]. 第三军医大学学报, 2000, 22(2): 170-2.
- Xu SW, Wang SL, Feng HZ, et al. Protective effects of early enteral nutrition on liver after burns in rats[J]. J Third Mil Med Univ, 2000, 22(2): 170-2.
- [2] 王影, 李亚洁, 翟惠敏. 营养素对湿热和创伤应激干预的研究进展[J]. 护士进修杂志, 2003, 18(3): 220-3.
- Wang Y, Li YJ, Zhai HM. Research of nutrition intervention on the rats with moist heat and trauma stress[J]. J Nurs Train, 2003, 18(3): 220-3.
- [3] 罗炳德, 邹飞, 万为人, 等. 复方人参制剂对热应激大鼠的保护作用研究[J]. 中国工业医学杂志, 2001, 14(3): 136-8.
- Luo BD, Zhou F, Wan WR, et al. Studies on the protective effects of compound ginseng preparation on the rats with heat stress[J]. Chin J Ind Med, 2001, 14(3): 136-8.
- [4] 张立颖, 李亚洁, 杨磊, 等. Wistar大鼠II度烫伤模型的建立[J]. 护理研究, 2003, 17(6): 624-5.
- Zhang LY, Li YJ, Yang L, et al. Establishment of the second degree scald model in Wistar rats[J]. Chin Nurs Res, 2003, 17(6): 624-5.
- [5] 顿广富. 应激反应浅析[J]. 安庆师范学院院报(自然科学版), 1998, 4(1): 98-100.
- [6] 李权超, 何英强, 谭终意, 等. 湿热应激对小鼠脂质过氧化反应的影响[J]. 解放军预防医学杂志, 1997, 15(5): 353-5.
- Li CQ, He YQ, Tan ZY, et al. The effect of moist heat stress on lipid peroxide of mice [J]. J Prev Med Chin PLA, 1997, 15(5): 353-5.
- [7] 张旭辉, 裴国献, 魏宽海, 等. 高温高湿环境犬肢体火器伤后超氧化物歧化酶和丙二醛含量的变化[J]. 第一军医大学学报, 2002, 22(4): 331-4.
- Zhang XH, Pei GX, Wei KH, et al. Dynamic changes of SOD and MDA in canine limbs with gunshot wound in hot and humid environment: an experiment study[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2002, 22(4): 331-4.
- [8] 徐世伟, 汪仕良, 冯怀志, 等. 早期肠道营养与静脉营养对大鼠烧伤后代谢的影响[J]. 中华创伤

杂志, 1999, 15(5): 328-31.

Xu SW, Wang SL, Feng HZ, et al. A comparative study on the effect of early enteral nutrition and early parental nutrition on Metabolism in burned rats[J]. Chin J Traumatol, 1999, 15(5): 328-31.

[9] 林劲秋. 营养干预对骨髓移植病人抗氧化能力及脂质过氧化的影响[J]. 第一军医大学学报, 2002, 22(6): 530-2.

Lin JQ. Effect of nutrition intervention on antioxidant capacity and lipid peroxide in patients with bone marrow transplantation[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2002, 22(6): 530-2.

[10] Faletti AG, Mastronardi CA, Lomniczi A, et al. beta-endorphin blocks luteinizing hormone-releasing hormone release by inhibiting the nitricoxidergic pathway controlling its release[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(4): 1722 -6.

[11] Aymerich MS, Bengoechea Alonso MT. Inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression in human monocytes triggered by beta-endorphin through an increase in cAMP[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1998, 245(3): 717- 21.

[12] 孙高斌, 黄宗海, 孙英刚, 等. 一氧化氮合酶抑制剂对大鼠创伤性休克的干预作用[J]. 第一军医大学学报, 2003, 23(4): 306-8.

Sun GB, Huang ZH, SUN YG, et al. Intervention with nitric oxide synthase inhibitors of traumatic shock in rats[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2003, 23(4): 306-8.

[13] Goris RG. Pathophysiology of shock in trauma [J]. Eur J Surg, 2000, 166(2): 100-11.

[14] Ochoa JB, Bernard AC, Mistry SK, et al. Trauma increases extrahepatic arginase activity[J]. Surgery, 2000, 127(4): 419-26.