

L-精氨酸、谷氨酰胺对重度烧伤大鼠早期肝脏功能的影响

张森煌, 王三明, 李建文(广东医学院附属医院急诊外科, 广东 湛江 524001)

摘要:目的 探讨 L-精氨酸(L-Arg)、谷氨酰胺(Gln)及两者合用(L-Arg+Gln)对重度烧伤大鼠早期肝脏功能保护和缓解内毒素血症的作用。方法 建立重度烧伤大鼠模型, 分别检测正常对照组、生理盐水(NS)组、L-Arg 组、Gln 组和 L-Arg+Gln 组烧伤后 8、16、24 和 48 h 4 个时间点的肝组织 NO₂/NO₃⁻ 含量和门静脉血内毒素的水平。结果 (1) 肝组织中 NO₂/NO₃⁻ 含量: L-Arg 组、L-Arg+Gln 组显著高于同时时间点的正常对照组、NS 组、Gln 组 ($P<0.001$), NS 组和 Gln 组又高于同时时间点的正常对照组 ($P<0.05$); (2) 门静脉血浆内毒素水平: 对照组和 NS 组显著高于同时时间点的 L-Arg 组、Gln 组、L-Arg+Gln 组 ($P<0.001$), Gln 组低于 L-Arg 组 ($P<0.001$), L-Arg+Gln 组又明显低于同时段的其他组 ($P<0.001$)。结论 在重度烧伤大鼠早期, 采用 L-精氨酸和谷氨酰胺对保护其肝脏功能及缓解内毒素血症有良好的效果。

关键词: 烧伤 / 药物作用; L-精氨酸; 谷氨酰胺; 肝脏功能; 内毒素血症

中图分类号: R644 文献标识码: A 文章编号: 1000-2588(2005)07-0882-02

肝功能损害是重度烧伤患者的常见并发症, 其主要原因为烧伤后肝脏缺血性损害和内毒素血症的形成。本研究旨在观察 L-精氨酸和谷氨酰胺对重度烧伤大鼠早期肝脏功能的保护和缓解内毒素血症的作用, 并分析其可能的作用机制, 为临床药物使用提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象与分组

健康 SD 鼠 180 只, 雌雄不拘, 体质量 250~280 g, 由本校实验动物中心提供。将 180 只鼠随机分为正常对照、生理盐水(NS)、L-精氨酸(L-Arg)、谷氨酰胺(Gln)及两者合用(L-Arg+Gln)组, 每组术后分设 8、16、24、48 h 4 个时相点, 每个时相点 9 只鼠。

1.2 模型制作

实验鼠于实验前 12 h 禁食, 用苯巴比妥钠(50 mg/kg·b.w.)腹腔注射麻醉。对照组: 麻醉后背部剃毛, 并进行模拟的烫伤(室温水浴, 12 s); 烧伤组: 背、侧腹部剃毛, 背部置于 100 °C 恒温水浴箱内 12 s, 造成体表 30% III 度烧伤, 烫伤后即按 Parkland 公式腹腔注射乳酸林格氏液复苏, 24、48 h 后重复使用一次。烫伤后 6 h 后自由进食, 分笼饲养。各组于烧伤后开始按 8 h 一次使用药物治疗, 对照组和 NS 组使用 NS 5 ml 腹腔注射、L-Arg 组以 L-Arg 300 mg/kg·b.w. 腹腔注射、Gln 组以 Gln 300 mg/kg·b.w. 灌胃、L-Arg+Gln 组同时使用 L-Arg 300 mg/kg·b.w. 腹腔注射和 Gln 300 mg/kg·b.w. 灌胃。

1.3 样本采集

各组大鼠分别于烧伤后 8、16、24、48 h 取材备检。一部分肝组织置于 10% 甲醛中固定, 供光镜观察,

另一部分肝组织在 -20 °C 下保护, 以备测 NO₂/NO₃⁻ 含量; 抽取门静脉血 1 ml, 待测内毒素水平。

1.4 检测方法

肝组织 NO₂/NO₃⁻ 含量测定: 取 0.5g 肝组织制成 10% 匀浆, 3 500 r/min 离心 15 min, 取上清液, 然后严格按试剂盒说明书进行操作测定; 门静脉血浆内毒素水平测定: 采用鲎试剂动态浊度法, EDS-99 细菌内毒素检测仪检测。

1.5 统计处理

数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 SPSS 11.0 统计软件包进行方差分析及 q 检验。

2 结果

2.1 光镜所见

烫伤后大鼠肝细胞均有不同程度损伤, 病变主要集中在肝小叶周边带, 其中以 NS 组最重。伤后 8 h 肝内即有明显充血; 伤后 16 h 肝小叶结构不清晰, 肝窦受挤压而消失, 中央静脉扩张, 肝小叶周边带细胞肿胀, 胞质呈空泡样变性; 伤后 24~48 h 因核浓缩而深染, 部分核破裂、溶解, 胞质呈嗜酸性变。L-Arg 组、Gln 组上述损伤得到不同程度改善; L-Arg+Gln 组伤后 8 h 细胞结构接近正常, 伤后 48 h 细胞结构较 NS 组、L-Arg 组、Gln 组有显著改善。

2.2 肝组织 NO₂/NO₃⁻ 测定结果

各组不同时段的肝组织 NO₂/NO₃⁻ 含量测定结果见表 1。

表 1 各组肝组织 NO₂/NO₃⁻ 含量 - 测定结果 ($n=9$, $\mu\text{mol/g}\cdot\text{b.w.}, \bar{x} \pm s$)

组别	8 h	16 h	24 h	48 h
对照	0.39±0.21	0.36±0.15	0.31±0.24	0.29±0.18
生理盐水	1.72±0.74**	1.77±0.68**	1.80±0.79**	1.91±1.09**
L-Arg	4.01±1.53*	4.43±1.60*	4.70±1.49*	5.15±1.82*
Gln	1.38±0.93**	1.49±1.20**	1.61±0.83**	1.85±0.61**
L-Arg+Gln	3.63±0.72*	3.94±0.83*	4.12±1.01*	4.94±1.43*

* $P<0.001$ vs 对照、NS、Gln 组; ** $P<0.05$ vs 对照组

收稿日期: 2005-03-01

作者简介: 张森煌(1955-), 男, 1977 年毕业于广东医学院, 副主任医师, E-mail: ljm418@21cn.com

结果显示,L-Arg 组、L-Arg+Gln 组肝组织的 $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ 显著升高,与同时段的正常对照组、NS 组、Gln 组比较,差异显著($P<0.001$);NS 组和 Gln 组肝组织中的 $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ 也升高,与同时段的正常对照组比较,差异显著性($P<0.05$)。

2.3 门静脉血浆内毒素水平测定结果

各组不同时间段的门静脉血浆内毒素水平测定结果见表 2。

表 2 各组门静脉血浆内毒素水平测定结果($n=9, \bar{x} \pm s$)

组别	8 h	16 h	24 h	48 h
对照	2.285±0.051*	3.274±0.071*	4.271±0.091*	4.778±0.382*
NS	2.127±0.321*	3.217±0.570*	4.321±0.451*	4.633±0.303*
L-Arg	1.441±0.210	2.417±0.349	2.726±0.410	2.821±0.210
Gln	0.867±0.181**	1.597±0.218**	1.812±0.182**	1.931±0.212**
L-Arg+Gln	0.460±0.125#	0.882±0.325#	1.031±0.312#	1.235±0.237#

* $P<0.001$ vs L-Arg、Gln、L-Arg+Gln; ** $P<0.001$ vs L-Arg;

$P<0.001$ vs 对照、NS、L-Arg、Gln

结果显示,对照组和 NS 组门静脉血浆内毒素水平显著高于同时段的 L-Arg 组、Gln 组、L-Arg+Gln 组 ($P<0.001$);Gln 组的内毒素水平显著低于同时段的 L-Arg 组 ($P<0.001$);L-Arg+Gln 组的内毒素水平显著低于同时段的其他组 ($P<0.001$)。

3 讨论

L-Arg 是机体合成 NO 的前体,NO 可调节大鼠肝内血管阻力和门脉灌注压^[1-3],肝组织中 NO 含量增加,可使肝脏血管扩张,改善肝脏血运,保护肝脏功能^[4]。本研究发现,烧伤后各组肝组织中 NO 的代谢产物 $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ 含量均高于正常对照组 ($P<0.05$),提示创伤后肝组织中 NO 含量增加。而在使用 L-Arg 后,肝组织中 $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ 增加更加明显,与正常对照组、NS 组、Gln 组比较差异具有显著性 ($P<0.001$),提示 L-Arg 能增加肝脏组织中 NO 的含量。笔者分析,L-Arg 通过增加肝脏组织中 NO 的含量而扩张肝脏血管以改善肝脏功能,表明 L-Arg 对重度烧伤大鼠早期肝脏功能有保护作用。

有研究表明^[5],大鼠内毒素血症水平与肝脏功能损害呈正相关,其造成肝损害的机制是由内毒素刺激单核吞噬细胞系统产生的多种炎症介质所导致的。此外,大鼠烧伤后肠黏膜血流量下降,肠道氧摄取率降低,肠上皮细胞线粒体呼吸功能受损,氧化磷酸化失耦联。使用 GLN 后能改善肠黏膜血供,增加肠道氧摄取率,减轻肠上皮细胞线粒体呼吸功能受抑程度^[6]。另有报道^[7],使用 GLN 后能使烧伤后的大鼠回肠黏膜的厚度、绒毛高度和隐窝深度较对照组明显增加,

GLN 组门静脉血内毒素含量及 GLN 组肠系膜淋巴结细菌移位率明显低于对照组,提示肠道补充 GLN 能有效地维护烧伤后肠道黏膜的结构,减少细菌移位和减少内毒素进入门静脉。本组结果显示,烧伤后 8 h 大鼠体内即形成内毒素血症,16 h 达到高峰,并在 48h 内一直维持较高水平。L-Arg 组其门静脉中内毒素含量低于正常对照组和 NS 组 ($P<0.001$),而 Gln 组的门静脉中内毒素含量又低于 L-Arg 组 ($P<0.001$)。笔者分析,L-Arg 能在一定程度上降低内毒素血症,其机制可能是通过保护肝功能,提高肝脏吞噬细胞的能力,间接降低内毒素血症^[8]。而 Gln 却是通过保护肠黏膜,以抑制细菌移位及内毒素的产生。另外,使用 Gln 后合成 GSH 增加,进一步减轻内毒素对肝脏的损害^[9]。因此,有理由相信,烧伤术后补充 Gln 能够通过保持和增加体内 GSH 的水平,提高肝脏抗氧化损伤能力,保护肝脏功能。

参考文献:

- [1] 高建川,吴雄广,杨宗城,等. 内皮素和一氧化氮在烧伤后肝脏血流调节中的作用[J]. 中国危重病急救医学, 1999, 11(6): 342-4.
- [2] Ebe Y, Hasegawa G, Takatsuka H, et al. The role of Kupffer cells and regulation of neutrophil migration into the liver by macrophage inflammatory protein-2 in primary listeriosis in mice[J]. Pathol Int, 1999, 49(6): 519-2.
- [3] 冯志杰,姚希贤,杨林,等. L-精氨酸对离体灌流大鼠肝内血管阻力的调节作用[J]. 中华消化杂志, 2001, 21(9): 558-9.
- [4] Adawi D, Molin G, Jeppsson B. Inhibition of nitric oxide production and the effect of arginine and lactoba-cillas adiminstration in an acute liver injury model[J]. Ann Surg, 1998, 228(6): 748.
- [5] 滕宝霞. 细菌内毒素对实验性肝损伤和胃粘膜破损及免疫功能低下小鼠的实验研究[J]. 中国药事, 2004, 18(4): 223-4. Teng BX. The effects of endotoxin on the models of hepatic injury, damage of gastric mucosa and hypimmunity in mice [J]. Zhong Guo Yao Shi, 2004, 18(4): 223-4.
- [6] 彭曦,陈蓉春,王裴,等. 谷氨酰胺对烧伤大鼠肠上皮细胞线粒体呼吸功能的影响[J]. 中国危重病急救医学, 2004, 16(2): 93-6. Peng X, Chen RC, Wang P, et al. Effects of enteral supplementation with glutamine on mitochondria respiratory function of intestinal epithelium in burned rats[J]. Chin Crit Cure Med, 2004, 16(2): 93-6.
- [7] 果磊,贺光照,黄崇本. 谷氨酰胺(GLN)对烧伤大鼠肠道黏膜损伤的保护作用[J]. 重庆医科大学学报, 2002, 27(4): 403-5. Guo L, He GZ, Huang CB. Protecting action of L-glutamine on intestinal mucosal damage in severe burned rats [J]. J Chongqing Med Univ, 2002, 27(4): 403-5.
- [8] Nanji AA, Jokelainen K, Rahemtulla A, et al. Activation of nuclear factor kappa B and cytokine imbalance in experimental alcoholic liver disease in the rat[J]. Hepatology, 1999, 30(4): 934-43.
- [9] Markley MA, Pierro A, Eaton S. Hepatocyte mitochondrial metabolism is inhibited in neonatal rat endotoxaemia: effects of glutamine [J]. Clin Sci, 2002, 102(3): 337-44.