

# 谷氨酰胺联合泛醇对烧伤家犬肠道损伤的影响及机制研究

王裴 赵云 戚华兵 彭曦 尤忠义 汪仕良

**【摘要】 目的** 观察应用谷氨酰胺、泛醇及其复方制剂对减轻烧伤家犬肠道损伤的疗效并探讨其机制。**方法** 采用30%体表面积Ⅲ度烧伤家犬模型,动物随机分为正常对照、烧伤对照、泛醇、谷氨酰胺、泛醇+谷氨酰胺5个组,每组6只家犬,观察伤后7d各组动物肠道损伤和修复指标。**结果** 烧伤家犬乙酰胆碱、肠黏膜蛋白含量明显降低,血浆二胺氧化酶(DAO)含量和损伤指数则明显增高( $P < 0.05$ ),给予谷氨酰胺、泛醇以及复方药物均可明减轻烧伤后肠道损伤,降低血浆DAO活性和黏膜损伤指数( $P < 0.05$ );给予泛醇则能明显增加乙酰胆碱合成。与单方组相比,复方制剂组上述各项指标均明显优于单方组。**结论** 烧伤后肠道损伤明显,给予谷氨酰胺能明显减轻肠道损伤,给予泛醇能明显促进乙酰胆碱合成,促进胃肠运动,复方制剂疗效明显优于单方。

**【关键词】** 谷氨酰胺; 肠; 乙酰胆碱; 烧伤; 泛醇

**Effects of glutamine combined with panthenol on intestinal injury in burned canis familiaris** WANG Pei, ZHAO Yun, QI Hua-bing, PENG Xi, YOU Zhong-yi, WANG Shi-liang. Institute of Burn Research, Southwestern Hospital, State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, The Third Military Medical University, Chongqing 400038, China

Corresponding author: PENG Xi, Email: pxlrm@163.com

**【Abstract】 Objective** To observe the effects of glutamine, panthenol and its compound preparation on lessening intestinal injury in burned canis familiaris. **Methods** Thirty canis familiaris were randomly divided into five groups, i. e. normal control (C) group, burn control (B) group, glutamine group, panthenol group and its compound preparation group. Burned canis familiaris were inflicted with 30% TBSA full thickness burn injury. Observe the intestinal injury and repair post burn 7 d. **Results** After burn injury, the activity of plasma diamine oxidase (DAO), intestine mucosal damage index were significantly higher, and the contents of intestine mucosal protein and plasma acetylcholine were remarkable decrease than those of C group ( $P < 0.05$ ). Compare with B group, the activity of plasma DAO, intestine mucosal damage index were markedly decreased in glutamine group, and the plasma acetylcholine contents was significantly increased in panthenol group. Compare with simple recipe group, there were more conspicuous therapeutic effect on compound preparation group. **Conclusions** The results demonstrate that intestinal histological structure is significantly damage after burn injury, glutamine supplement is beneficial to decreasing intestinal injury, and panthenol administration could remarkable promote acetylcholine synthesis. There are more conspicuous therapeutic effect with glutamine and panthenol compound preparation.

**【Key words】** Glutamine; Intestine; Acetylcholine; Burns; Panthenol

烧伤应激反应、组织缺血缺氧和过度的炎症反应不仅可导致肠黏膜屏障受损,通透性增加,还可导致肠道神经内分泌紊乱,引起胃肠平滑肌收缩减弱,动力下降<sup>[1]</sup>。这将导致肠道致病菌的过度繁殖和毒素释放,

加重肠黏膜损伤,促进毒素和细菌移位,形成恶性循环。因此,为了有效减轻烧伤后肠道损伤,维护肠黏膜屏障,除了要重视对肠黏膜本身的维护外,还需有效调控胃肠动力,加快肠道蠕动。谷氨酰胺(glutamine, GLN)是肠上皮细胞的主要能源物质,为受损肠黏膜的修复提供氮源和能量,其维护肠黏膜屏障的作用已被广泛证实,被认为是维护肠黏膜屏障最重要的营养药物<sup>[2-3]</sup>。但谷氨酰胺不具备调控胃肠动力的作用,因此,有必要联合使用促进胃肠运动的药物,以增强肠黏

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2012.24.110

基金项目:第三军医大学临床创新基金(No2009XLC10)

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

通讯作者:彭曦,Email:pxlrm@163.com

膜保护作用。泛醇亦称维生素 B5,能促进乙酰胆碱合成,增加胃肠蠕动<sup>[4]</sup>。泛醇制剂已用于对胃肠手术后肠麻痹及肠梗阻患者的治疗,疗效明显<sup>[5]</sup>,但泛醇和谷氨酰胺联合使用是否能有效减轻烧伤后肠道损伤,其疗效是否优于单独给予上述两种药物目前还不甚清楚。为此,本研究拟观察给予烧伤家犬谷氨酰胺、泛醇以及泛醇谷氨酰胺复方制剂后对其肠道损伤的疗效,并探讨其可能的机制。

## 材料与方法

1. 动物与药品:成年雄性重庆地区杂种犬 30 只,18~24 月龄,体重 17~23 kg,由第三军医大学野战外科研究所实验动物中心提供。许可证号:SYXK-2002-032。泛醇由浙江杭州鑫富药业股份有限公司提供(批号:20041101);谷氨酰胺由江苏神华药业有限公司提供(批号:200404016)。

2. 模型制作:适应性饲养 2 周,烧伤前禁食 12 h,不限饮水。背部脱毛后用 3% 凝固汽油燃烧 40 s,造成家犬 30% III 度烧伤,致伤后立即给予 40 ml/kg 乳酸林格液腹腔注射抗休克,创面每天涂抹碘伏 2 次予保痂治疗。

3. 实验分组和给药方式:动物随机分为 5 组(每组 6 条犬,共 30 条):正常对照组、烧伤对照组、泛醇组、谷氨酰胺组、泛醇-谷氨酰胺复方组。正常对照组给予脱毛不予烧伤,其余 4 组给予烧伤。伤后家犬给予实验专用犬饲料喂养;泛醇组给予泛醇  $0.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ;谷氨酰胺组给予谷氨酰胺  $1.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ;泛醇谷氨酰胺复方组分别给予泛醇  $0.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  和谷氨酰胺  $1.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。伤后 4 h 开始灌喂药物,每天剂量分 2 次喂完,连续 7 d。

4. 指标测定:烧伤 7 d 后活杀家犬,收集血标本和肠道组织用于以下检测。

血浆二胺氧化酶(DAO)活性检测:在各测定管中分别加入 3 ml PBS,100  $\mu\text{l}$  尸胺,0.5 ml 血浆,100  $\mu\text{l}$  辣根过氧化物酶,100  $\mu\text{l}$  邻联二茴香胺。充分混匀后 37  $^{\circ}\text{C}$  水浴 30 min,在分光光度计上测定吸光度值,测定波长为 436 nm。标准曲线制备:将 DAO 标准品配成 0.25、0.5、1、2、4 U/ml,测定标准品的吸光度值,经回归分析,回归方程为:  $Y = 4.6534X - 0.0998$ ,相关系数 0.995。

血浆乙酰胆碱测定:将每只动物的血浆 0.20 ml 加入测定管;另设标准管与空白管:标准管加乙酰胆碱标准液 0.02 ml、DDVP 0.02 ml、蒸馏水 0.11 ml、三氯乙酸 0.05 ml;空白管加 DDVP 0.02 ml、蒸馏水 0.13 ml、三氯乙酸 0.05 ml。以下测定管、标准管加碱性羟胺 0.20 ml,混匀后置室温 15 min,加盐酸 0.1 ml、三氯化铁 0.1 ml。对照管与空白管混匀置室温 15 min 后加三氯化铁 0.1 ml、盐酸 0.1 ml、碱性羟胺 0.2 ml。混匀后,以双蒸水调零于分光光度计上测吸光度值,测定波长为 540 nm。标准曲线制备:将乙酰胆碱标准品配成 25、50、100、200、400、800、1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$  测定标准品的吸光度值,经回归分析,回归方程为:  $Y = 6342.4X - 49.788$ ,相关系数 0.999。

肠黏膜蛋白含量测定:采用 BCA 法测定,按 Peirce 公司 BCA 蛋白测定试剂盒说明书进行操作。

肠道病理学观察:各组动物于伤后 7 d 处死,取小肠组织固定于 10% 甲醛中,石蜡包埋切片,HE 染色。显微镜下观察肠道受损情况和小肠绒毛高度等指标,并计算肠黏膜损伤指数<sup>[6]</sup>,具体计分方法如下:0 分,肠黏膜绒毛正常;1 分,绒毛顶端上皮下出现囊状间隙,并伴有毛细血管充血;2 分,上皮间隙扩大,中度固有层水肿,中央乳糜管扩张;3 分,固有层明显水肿,肠黏膜上皮层细胞变性、坏死,少数绒毛顶端脱落;4 分,上皮细胞层变性、坏死、脱落,部分绒毛脱落,固有层裸露,毛细血管扩张、充血;5 分,绒毛脱落,固有层崩解,出血或溃疡形成。光镜下每个时相随机计数 10 个视野。

5. 统计学分析:采用 SPSS 13.0 统计软件分析数据,计量资料数据以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,采用多因素方差分析,计数资料采用 Fisher 确切概率法检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结果

1. 三种药物对烧伤家犬肠道损伤和乙酰胆碱合成的影响:实验结果表明,烧伤家犬乙酰胆碱、肠黏膜蛋白含量明显降低,血浆 DAO 含量和损伤指数则明显增高( $P < 0.05$ ),给予谷氨酰胺、泛醇以及复方药物均可明减轻烧伤后肠道损伤,降低血浆 DAO 活性和黏膜损伤指数( $P < 0.05$ );给予泛醇则能明显增加乙酰胆碱合成。与单方组相比,复方组疗效更明显(表 1)。

表 1 三种药物对肠道损伤和乙酰胆碱含量的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	只数	乙酰胆碱( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	DAO(U/ml)	蛋白含量( $\mu\text{g}/\text{g}$ )	损伤指数
正常对照组	6	175.65 $\pm$ 11.21	0.27 $\pm$ 0.04	92.58 $\pm$ 4.93	0
烧伤对照组	6	117.95 $\pm$ 4.93	0.82 $\pm$ 0.05	45.97 $\pm$ 5.42	2.53 $\pm$ 0.23
泛醇组	6	125.68 $\pm$ 4.04 <sup>a</sup>	0.53 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	52.90 $\pm$ 5.70 <sup>a</sup>	2.15 $\pm$ 0.28 <sup>a</sup>
谷氨酰胺组	6	118.33 $\pm$ 8.28 <sup>b</sup>	0.59 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	65.91 $\pm$ 8.26 <sup>ab</sup>	1.78 $\pm$ 0.27 <sup>ab</sup>
复方组	6	141.44 $\pm$ 8.47 <sup>ac</sup>	0.46 $\pm$ 0.04 <sup>ac</sup>	67.24 $\pm$ 4.26 <sup>ac</sup>	1.66 $\pm$ 0.33 <sup>ac</sup>

注:与烧伤对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与泛醇组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与谷氨酰胺组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$

表2 三种药物对肠道组织结构的影响[条, (%) ]

组别	动物数	绒毛高度下降	肠绒毛减少	排列紊乱	细胞变性坏死	中性粒细胞浸润
正常对照组	6	0	0	0	0	0
烧伤对照组	6	5(83.3)	5(83.3)	4(66.7)	5(83.3)	6(100)
泛醇组	6	4(66.7)	3(50.0) <sup>a</sup>	3(50.0)	4(66.7)	4(66.7) <sup>a</sup>
谷氨酰胺组	6	3(50.0) <sup>a</sup>	3(50.0) <sup>a</sup>	2(33.3) <sup>a</sup>	3(50.0) <sup>a</sup>	3(50.0) <sup>a</sup>
复方组	6	3(50.0) <sup>a</sup>	3(50.0) <sup>a</sup>	3(50.0)	2(33.3) <sup>abc</sup>	2(33.3) <sup>abc</sup>

注:与烧伤对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与泛醇组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与谷氨酰胺组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$

2. 三种药物对烧伤家犬肠道组织结构的影响:烧伤7 d后,家犬肠黏膜绒毛排列紊乱,绒毛间质水肿明显,绒毛上皮呈变性伴坏死脱落,中性粒细胞浸润,给予泛醇或谷氨酰胺后,家犬肠黏膜损伤减轻,组织形态得到改善,复方组在细胞变性坏死和中性粒细胞浸润两项指标上明显优于泛醇和谷氨酰胺单方组( $P < 0.05$ ,表2)。

### 讨 论

严重烧伤后由于强烈的应激反应使交感神经过度兴奋,副交感神经兴奋受到抑制,神经末梢释放乙酰胆碱减少,平滑肌兴奋性降低,肠蠕动减慢<sup>[1]</sup>。这一方面会造成营养物质吸收障碍,另一方面会造成大量肠内容物蓄积,使肠道成为细菌和毒素的储存库,类似一个“未被引流的脓腔<sup>[6]</sup>。”乙酰胆碱在促进肠蠕动方面发挥了主导作用,它与胃肠平滑肌上的胆碱能受体结合后能增加平滑肌的兴奋性,目前认为乙酰胆碱是促进肠蠕动最重要的神经递质<sup>[7-8]</sup>。实验结果显示烧伤后家犬血浆乙酰胆碱含量明显降低,下降幅度达1/3,单独给予谷氨酰胺对提高机体乙酰胆碱水平疗效不明显,给予泛醇后血浆乙酰胆碱含量明显增加,复方组效果更明显,可能与泛醇能促进乙酰胆碱合成,谷氨酰胺能减轻肠道损伤,降低肠道应激反应有关。与之对应,泛醇谷氨酰胺复方组动物肠道受损程度明显降低,血浆DAO活性、肠黏膜损伤指数以及肠道炎症反应和细胞坏死等指标均明显低于单方组,说明将这两种药物配伍使用是恰当的。联合使用谷氨酰胺和泛醇有效地发挥了二者各自的优势,谷氨酰胺侧重于为肠道提供营养底物,维持肠黏膜细胞正常的能量代谢,并能促进肠黏膜快速修复,而泛醇则能通过促进乙酰胆碱合成,提高平滑肌兴奋性,促进肠道蠕动,维护肠腔内环境稳定,从而减轻烧伤后肠道损伤程度。

乙酰胆碱是由胆碱和乙酰辅酶A在胆碱乙酰化酶的催化作用下合成的神经递质。由于胆碱结构稳定,半衰期长,体内含量恒定。因此,乙酰胆碱含量主要受乙酰辅酶A影响。泛醇是泛酸的衍生物,在体内吸收后能迅速转变为泛酸<sup>[4,9]</sup>,而泛酸是辅酶A的组成成分,辅酶A为体内乙酰反应的辅酶,可与乙酸盐结合成

为乙酰辅酶A,故泛酸能促进体内乙酰辅酶A的合成,最终影响乙酰胆碱的合成<sup>[10]</sup>。目前针对烧伤后肠道运动能力下降尚缺乏疗效明确、安全性高的药物,胃肠动力药物西沙必利疗效不错,但存在引起瞬时性腹部痉挛腹痛、腹泻以及包括室性心动过速和室颤等副作用。因此,泛醇作为机体固有物质泛酸的前体物质,具有药物性质稳定,易吸收和毒副作用轻微等优点,不仅适用于烧伤患者,对各种手术麻醉引起的胃肠动力减弱均有一定疗效,值得推广使用。泛醇-谷氨酰胺复方制剂中两种药物的最佳比例为1:4,这是前期经过拆方试验最终得出的结论。根据实验结果,家犬最佳剂量为谷氨酰胺 $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  + 泛醇 $0.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。按临床用药剂量一般为小动物的1/10,大动物1/3的原则<sup>[11]</sup>,推荐烧伤患者用药剂量为谷氨酰胺 $0.35 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  + 泛醇 $0.08 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。

### 参 考 文 献

- [1] 孟艳斌,雷晋,郝振明,等. 大黄对严重烧伤患者胃肠动力及肠黏膜屏障的影响. 中华烧伤杂志,2011,27:337-339.
- [2] 张长习,陈强谱,张兴元. 免疫肠内营养的临床应用及评价[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版,2011,5:3417-3420.
- [3] 彭曦,汪仕良. 谷氨酰胺维护肠黏膜屏障机制的再认识. 中华烧伤杂志,2010,26:340-342.
- [4] 汪仕良,邓诗琳. 烧伤代谢营养学. 石家庄:河北科学技术出版社,2009:485-495.
- [5] Matarese LE, Seidner DL, Steiger E, et al. Find report on the safety assessment of panthenol and pantothenic acid. J American College of Toxicology, 2007, 26:139-162.
- [6] Chiarla C, Giovannini I, Siegel JH. Plasma arginine correlations in trauma and sepsis. Amino Acids, 2006, 30:81-86.
- [7] Chen Z, Wang S, Yu B, et al. A comparison study between early enteral nutrition and parenteral nutrition in severe burn patients. Burns, 2007, 33:708-712.
- [8] 张学娜,金世禄. 肠道菌群失调与肠易激综合征[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版,2011,5:6703-6705.
- [9] Keely SJ. Epithelial acetylcholine--a new paradigm for cholinergic regulation of intestinal fluid and electrolyte transport. J Physiol, 2011, 4:771-772.
- [10] Sachs M, Asskali F, Lanaras C, et al. The metabolism of panthenol in patients with postoperative intestinal atony. Anal Chem, 2008, 80:205-211.
- [11] 袁伯俊. 新药评价基础. 上海:第二军医大学出版社,2002:60-80.

(收稿日期:2012-07-02)

(本文编辑:吴莹)