谷氨酰胺对大鼠梗阻性黄疸内毒素血症影响的实验研究

张庆武[1]，苏德望[2] （1. 桦川县中医院普通外科，黑龙江 桦川 154300；2. 佳木斯大学附属第一医院普通外科，黑龙江 佳木斯 154002）

［摘 要］ **目的** 探讨谷氨酰胺对大鼠梗阻性黄疸内毒素血症的影响，为临床减少梗阻性黄疸患者内毒素血症的发生提供理论依据。**方法** 采用健康SD大鼠96只，随机分成三组，每组32只，分为假手术组、谷氨酰胺组（GLN组）、梗阻性黄疸组（OJ组）。采用偶氮显色法检测血浆内毒素的含量，观察不同时间段各组大鼠内毒素的变化情况，并采用HE染色法观察肠粘膜的组织学改变。**结果** 梗阻性黄疸组血浆内毒素水平较假手术组有显著升高，且随时间的增长内毒素水平也随之升高，与同一时间段假手术组相比有显著差异（$P<0.01$）；梗阻性黄疸后服用谷氨酰胺，血浆内毒素可以得到明显的控制，与同期的不经任何治疗的梗阻性黄疸组相比差异显著（$P<0.01$）；梗阻性黄疸组大鼠和谷氨酰胺组大鼠的胆总管直径明显大于假手术组，但梗阻性黄疸组与谷氨酰胺组大鼠胆总管直径无明显差异（$P>0.05$）。**结论** 谷氨酰胺具有保护和修复肠粘膜屏障，减轻梗阻性黄疸时伴发的内毒素血症的作用，且价格较低，易于在临床推广。

［关键词］ 谷氨酰胺；内毒素血症；梗阻性黄疸；大鼠

［中图分类号］ R256.49 ［文献标识码］ A ［文章编号］ 1672-5042(2009)05-0316-03

Effect of glutamine on secondary endotoxemia in obstructive jaundice rats

ZHANG Qing-wu, SU De-wang (Department of Gneral Srgery, Chinese Medicine of Huachuan, Huachuan eilongjiang 154300, China)

Abstract: Objective To explore the effect of glutamine on secondary with endotoxemia in obstructive jaundice rats, supplying theoretical basis for clinic. **Methods** Totally 96 healthy SD rats were randomly divided into sham operation group, glutamine group (GLN group) and obstructive jaundice group (OJ group), 32 in every group. The contents of endotoxic was detected by chemical group-N = N coloration. Observed the change of endotoxin and in different time, and observed the microanatomy change by HE staining. **Results** The level in OJ group significant higher than that of sham operation group, The level in OJ group heightend with time, witch was significant deviated with sham operation group in the same time ($P<0.01$). The level of endotoxin in obstructive jaundice could be controlled after glutamine used. Witch had significant difference with that got no therapeutic measure ($P<0.01$). The diameter of bile duct in OJ group and GLN group was obviously bigger than that of sham operation group, and with no difference between the former two groups ($P>0.05$). **Conclusion** Glutamine could protect and repair the intestinal mucosal barrier, and had the effect to lighten the endotoxemia with lower price. It has high extendable and applicable value.

Keywords: glutamine; endotoxemia; obstructive jaundice; rat

梗阻性黄疸是肝胆系疾患常见的症状，梗阻性黄疸病人在围手术期发生并发症较高。引起并发症的原因是内毒素血症所造成损伤。梗阻性黄疸时伴发内毒素血症的主要原因是由于肠粘膜屏障的损伤导致的内毒素易位[1-2]。因此，保护梗阻性黄疸患者肠粘膜屏障的研究有重要意义。谷氨酰胺（GLN）是机体内含量最丰富的氨基酸。通过增强肠粘膜细胞的抗氧化能力而延长肠粘膜细胞的寿命[3-4]。本实验制做梗阻性黄疸动物模型，检测血浆内毒素的含量变化，研究GLN对梗阻性黄疸大鼠内毒素血症的影响，为减少梗阻性黄疸患者内毒素血症的发生提供理论参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

实验采用试剂：谷氨酰胺（武汉博士德公司）；鲎试剂盒Ⅱ（上海伊华临床医学科技公司）；肝素钠（南京生物化学制药厂）30% H_2O_2（上海伊华临床医学科技公司）

1.2 方法

1.2.1 动物的选择与分组 取健康SD大鼠96只，体重200~250克，佳木斯大学动物中心提供，正常情况下饲养3 d，适应实验室环境后，随机分成3组，每组32只，分为假手术组、谷氨酰胺组（GLN组）、梗阻性黄疸组（OJ组）。

1.2.2 模型制备及给药方法 ①假手术组模型的制备及给药方法：实验前12 h开始禁食，自由饮水。用20%乌拉坦按0.15 mL/100g体重腹腔注射麻醉，消毒后开腹，分离出胆总管，再关腹。4 h后自由饮食，每天用生理盐水2.0 mL灌胃一次。②梗阻性黄疸组模型的制备及给药方法：实验前12 h开始

［作者简介］ 张庆武（1955-），男，吉林省松原市人，副主任医师，本科，主要从事普通外科临床方面的研究。电话：(0454)3821494

［收稿日期］ 2009-06-19 ［修回日期］ 2009-07-21

禁食，自由饮水。用20%乌拉坦按0.15 mL/ 100 g体重腹腔注射麻醉，消毒后开腹，分离出胆总管，用1号线结扎制成梗阻性黄疸模型，4 h后自由饮食，每天用生理盐水2.0 mL灌胃一次。③谷氨酰胺组模型的制备及给药方法：手术过程与梗阻性黄疸组相同。4 h后自由饮食，每天用浓度为100 g/ L的谷氨酰胺2.0 mL灌胃一次。④取样时间：分别于给药后的第1、3、5、7天处死大鼠，每次每组8只，取标本用于各种指标的检测。

1.2.3 实验大鼠内毒素的检测 ①标本采集：用乙醚将大鼠麻醉，眼球取血，离心取血浆置无热原试管密封 -20 ℃冻存备用。②实验所用器材处理：实验所用玻璃器皿清洗干净，用干烤箱250 ℃干热2 h后备用，塑料制品清洗干净后在30%双氧水中浸泡4 h，再用无热原水冲洗后在60 ℃中烘干备用。③标本预处理：取血浆0.1 mL，加入无热原生理盐水0.2 mL，Tris-HCL缓冲液0.2 mL混匀，置于电热水浴箱中100 ℃水浴加热10 min，3 000 r/min离心10 min，取上清液检测。④标准曲线：将内毒素标准品按说明稀释至不同浓度，然后按检测方法进行，测得各种浓度内毒素A值，订出标准曲线。⑤按公式A = As - (Ab - Abb)求各吸光度A值，再查对内毒素标准曲线，求得内毒素含量。

1.2.4 肠粘膜组织病理学检查 取各组大鼠同一肠段(十二指肠悬韧带远段空肠和回盲瓣远段结肠各1 cm分别取肠段)，去肠内容物，生理盐水漂洗后，用10%福尔马林固定，石蜡包埋切片，HE染色，光镜检查其形态学改变。

1.3 统计方法

实验数据采用SPSS11.0统计软件进行统计分析。计量数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示，组间比较采用两样本均数比较的t检验，$P<0.05$有统计学意义。

2 结果

各组实验大鼠血浆内毒素水平检测结果见表1。梗阻性黄疸组血浆内毒素水平较假手术组有显著升高，且随时间的增长内毒素水平也随之升高，与假手术组相比有显著性差异($P<0.01$)。从梗阻性黄疸组与谷氨酰胺组比较可以看出，梗阻性黄疸后服用谷氨酰胺，血浆内毒素可以得到明显的控制，与同期的不经任何治疗的梗阻性黄疸组相比，差异显著($P<0.01$)。

表1 各组大鼠血浆内毒素水平检测结果比较($\bar{x} \pm s$，Eu/mL)

组别	1 d	3 d	5 d	7 d
假手术组	0.013 ±0.012	0.012 ±0.011	0.014 ±0.012	0.012 ±0.011
梗阻性黄疸组	0.217 ±0.014 *	0.318 ±0.110 *	1.042 ±0.034 *	2.119 ±0.591 *
谷氨酰胺组	0.163 ±0.007 *#	0.261 ±0.290 *#	0.748 ±0.037 *#	1.640 ±0.278 *#

*：与假手术组比较，$P<0.01$；#：与梗阻性黄疸组比较，$P<0.01$

表2 假手术组与梗阻性黄疸组、谷氨酰胺组大鼠胆总管直径变化结果比较($\bar{x} \pm s$，mm)

组别	1 d	3 d	5 d	7 d
假手术组	1.05 ±0.13	1.02 ±0.12	1.02 ±0.11	1.02 ±0.11
梗阻性黄疸组	2.20 ±0.16 *	3.11 ±0.13 *	5.41 ±0.16 *	6.01 ±0.12 *
谷氨酰胺组	2.10 ±0.17 *#	2.81 ±0.15 *#	5.71 ±0.13 *#	5.91 ±0.20 *#

*：与假手术组比较，$P<0.01$；#：与梗阻性黄疸组比较，$P>0.05$

梗阻性黄疸组大鼠和谷氨酰胺组大鼠的胆总管直径明显大于假手术组($P<0.01$)；但梗阻性黄疸组与谷氨酰胺组大鼠胆总管直径无明显差异($P>0.05$)，见表2。

3 讨论

梗阻性黄疸在肝胆系疾病中较为常见，梗阻性黄疸病人在围手术期其他脏器并发症的发生率较高。目前认为引起并发症的原因是内毒素血症所造成的脏器损伤[4-6]。病人在梗阻性黄疸时伴发内毒素血症的主要原因是由于肠粘膜屏障的损伤导致的内毒素易位。谷氨酰胺(GLN)通过增强肠粘膜细胞的抗氧化能力而延长肠粘膜细胞的寿命。研究证实，肠管无论在正常或病理情况下都参与氨基酸的代谢和调节，尤其对GLN的利用。本实验制做梗阻性黄疸模型，采用偶氮显色法检测血浆内毒素的含量，观察不同时相各组大鼠内毒素的变化，并采用HE染色法观察肠粘膜的组织学改变，以研究GLN对梗阻性黄疸大鼠内毒素血症的影响。制做梗阻性黄疸模型多采用结扎胆总管的方法，也有少数将胆总管与腔静脉吻合来制作梗阻性黄疸模型的。但二者相比较而言，前者比后者更利于操作，且与临床上梗阻性黄疸的发病机制更接近。后者主要是为排除胆道压力上升和肝功能障碍等因素用来单纯研究胆红素血症对机体的影响。实验表明，胆总管结扎后，可造成肠粘膜的损害，导致肠道内毒素的易位[5-7]。肠粘膜是人体高代谢组织之一。粘膜上皮由于衰老和死亡脱落造成的生理性丢失可被再生的上皮细胞迅速填补，从而保持肠道粘膜结构和功能的完整性。在病理状态下，如果肠粘膜上皮细胞的死亡脱落速度超过其再生速度，将造成肠粘膜的损伤[8]。本实验大鼠结扎胆总管后，肠绒毛受损严重，肠粘膜出现明

显病理改变,肠粘膜屏障遭到破坏。由于肠粘膜的受损,肠粘膜通透性出现病理性增强,另外,肠道菌群失调导致定植抗力下降,生物屏障作用减弱,异常增生的细菌释放出大量的内毒素入侵肠粘膜上皮而发生易位。本实验在结扎大鼠胆总管,制成梗阻性黄疸模型后,在血液中可检测出内毒素的存在,证实梗阻性黄疸大鼠发生了内毒素血症。谷氨酰胺具有修复肠粘膜,减轻内毒素血症的作用,促进肠粘膜损伤的修复。从各实验组肠粘膜的形态改变可以看出,梗阻性黄疸组大量肠绒毛萎缩倒伏脱落缺失,间质明显水肿,肠绒毛细胞可见变性[7-9]。而谷氨酰胺组肠粘膜形态与假手术组相比相差不大,肠绒毛结构相对完整,排列整齐,仅少量绒毛脱落缺失。说明谷氨酰胺具有促进肠粘膜修复的作用。谷氨酰胺可以有效降低血浆内毒素的水平,与梗阻性黄疸组相比差异显著($P<0.01$)。

梗阻性黄疸患者肠粘膜屏障损害及由此引起的内毒素血症已被证实。在围手术期预防病人内毒素血症的发生对提高手术成功率及患者生存率十分重要。实验证明,谷氨酰胺具有保护和修复肠粘膜屏障,减轻梗阻性黄疸时伴发的内毒素血症的作用。如能在梗阻性黄疸的围手术期配合抗生素使用,可以使梗阻性黄疸患者减少内毒素血症的发生以提高其生存率。

[参考文献]

[1] 刘金刚,那延立,郭宏斌,等.生长激素减轻梗阻性黄疸时肠菌及内毒素移位的实验研究[J].中国普外基础与临床杂志,2002,9(3):172-173.

[2] 张爱民,徐德利,徐 峰,等.梗阻性黄疸大鼠胆道引流时机对肝细胞凋亡的影响[J].肝胆外科杂志,2008,16(5):383-384.

[3] Cakmak GK, Tascilar O, Tekin IO, et al. Experimental obstructive jaundice results in oxidized low-density-lipoprotein accumulation in surgical wound of rats[J]. Acta Chir Belg, 2008, 108(6): 725-731.

[4] 吴晓平,柴 进,何 宇,等.梗阻性黄疸大鼠肝细胞MRP2和FXR蛋白表达变化及意义分析[J].胃肠病学和肝病学杂志,2008,17(9):765-767.

[5] 张守华,廖彩仙,张春兴,等.小鼠梗阻性黄疸模型的建立及动态观察[J].南方医科大学学报,2008,28(9):1579-1581.

[6] Okaya T, Nakagawa K, Kimura F, et al. Obstructive jaundice impedes hepatic microcirculation in mice. Hepatogastroenterology[J]. Nov Dec, 2008, 55(88): 2146-2150.

[7] 高海斌,陈 斌,倪 勇,等.梗阻性黄疸大鼠中性粒细胞凋亡的实验研究[J].深圳中西医结合杂志,2008,18(4):217-219.

[8] 孙秀凤,单若冰.梗阻性黄疸与细菌/内毒素移位的关系及微生态制剂干预[J].中国微生态学杂志,2008,20(1):95-96.

[9] 彭 兵,王向东,贾乾斌,等.阻塞性黄疸患者手术前后内毒素,内皮素及细胞因子水平的研究[J].中国普外基础与临床杂志,2001,8(4):245-256.

(编辑:郭光金)

(上接第306页)

院前咳嗽咳黄色脓痰5 d,尿常规:蛋白(++),隐血(+++),查血肌酐145 umol/L。入院后予抗感染、改善肾脏循环、口服激素及阿法骨化醇片(立庆)0.5 ug(每片0.25微克)等治疗,发药时阿法骨化醇片(立庆)两片药连在一块,药物外包装约为铝塑包装,大小为1 cm×1.45 cm,包装四周有棱角。护士发药时当面交代患者要将药物外包装去除再服用,10 min后患者自诉将药物外包装连同药物一起口服,咽喉部异物感,并已自行刺激咽喉部,未吐出,仍诉咽喉部有异物感。

1.2 方法

考虑到药物外包装可能在咽喉部,嘱患者禁食水,勿做吞咽动作。立即行电子鼻咽喉镜检查,舌根、扁桃体、会厌谷、梨状窝未见异物,改用胃镜行食管异物取出术。

2 结果

距门齿18 cm见食管内异物(药片及外包装),以异物钳取出,食管粘膜稍渗血,喷洒石明止血液。嘱患者24 h内忌食热烫坚硬食物。

3 讨论

患者误服口服药外包装是极少见的,但也时有发生,这提醒我们应注意患者的用药安全。现在片剂大多是单剂包装,如果建议药房摆药时将药品外包装去除,摆药室工作量会大大增加,也失去了单剂包装的优点。因此对于用药知识的讲解非常必要,发放药物时应向患者交代清楚,给首次服药患者示范如何将外包装去除;对偏远地区患者、老人、视力下降者、听力下降者、儿童等特殊患者,应注意服药到口,保证用药安全[3]。正确处理误服口服药外包装的方法是:护士在得知患者误服药物外包装后,首先要保持镇静,嘱患者禁食水、勿刺激咽喉部、勿做吞咽动作等,避免误服的药物外包装往下移动进而划伤咽喉部、食道、胃等引起出血、穿透伤等药物外包装进入肠道,还有可能致机械性肠梗阻等危险,应尽早使用喉镜或电子胃镜取出带外包装的药片。如果是较小的包装,有可能吞服石蜡油会自行排出,但也存在损伤胃肠道的可能,所以应根据情况酌情选择救护措施。

[参考文献]

[1] 王玉华,张福康,何婉婷.小儿误服皮炎平中毒2例分析[J].中国误诊学杂志,2008,8(11):2730.

[2] 高晓磊.误服亚硝酸盐中毒的救治体会[J].中国医药导报,2008,5(31):125.

[3] 杜 军,赵文静.误服碘酒溶液1例救治[J].沈阳部队医药,21(4):252.

(编辑:周小林)