维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号：0253-3626(2002)04-0403-03

谷氨酰胺（GLN）对烧伤大鼠肠道粘膜损伤的保护作用

果 磊，贺光照，黄崇本
（重庆医科大学临床学院烧伤整形科，重庆 400016）

【摘 要】目的：观察肠饲谷氨酰胺（GLN）对烧伤大鼠肠粘膜的保护作用。方法：采用30%Ⅲ°烧伤大鼠早期肠道喂养模型，将20只大鼠随机分为GLN组（n=10）和NON-GLN（n=10）组，一周后处死动物，无菌取肠系膜淋巴结行细菌培养，统计细菌移位率；取门静脉血检测内毒素；对回肠粘膜行光镜检查，并用显微图像分析仪对大鼠回肠粘膜的厚度、绒毛高度和隐窝深度进行计算机图像分析。结果：GLN组大鼠回肠粘膜的厚度、绒毛高度和隐窝深度较NON-GLN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NON-GLN组。结论：提示肠道补充GLN能有效地维护严重烧伤后肠道粘膜的结构，减少细菌移位和减少内毒素进入门静脉。

【关键词】L-谷氨酰胺；肠粘膜结构；肠源性细菌内毒素移位；烧伤
【中国图书分类法分类号】R644 【文献标识码】A 【收稿日期】2001-07-02

Protecting action of L-glutamine on intestinal mucosal damage in severely burned rats

GUO Lei, et al
(Department of Burns and Plastic Surgery, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University)

【Abstract】*Objective*: To investigate the protecting effect of L-glutamine (GLN) on intestinal mucosal damage in severe burn of rats. *Methods*: 20 Wistar rats subjected to 30% TBSA full thickness burns were randomly divided into GLN group (n=10) and NON-GLN group (n=10). Forage enriched with 1.5%GLN was fed to GLN group and equal amount of glutamine free forage was given to NON-GLN group. Seven days later, all rats were killed. Under aseptic condition, the mesenteric lymph nodes were harvested, weighed, homogenized and cultured. Bacterial translocation rate was evaluated. Portal vein plasma endotoxin levels were determined with chromogenic limulus amebocyte lysate (LAL) technique. Terminal ileum specimens were sampled for histological examination and microscopical image scanning analysis. *Results*: Thickness of mucosa, height of villus and depth of crypt decreased more obviously in NON-GLN group than those in GLN group. The levels of plasma endotoxin and the bacterial translocation incidence were decreased obviously in GLN group in comparison with those in NON-GLN group. *Conclusion*: It is suggested that oral feeding of GLN can maintain the mucosa integrity effectively in severely burned rats and effectively decrease gut-originated bacterial/endotoxin translocation.

【Key words】L-Glutamine; Intestinal mucosal integrity; Gut-originated bacterial/endotoxin translocation; Burn

诸多疾病因素如烧伤、创伤、化疗、放疗、严重感染、肿瘤等可导致肠道屏障受到损害。如何保护、改善肠道结构和功能也成为研究的重点和热点。大面积烧伤早期，胃肠道功能呈抑制状态，在此期采用禁食，可造成胃肠道粘膜的萎缩，肠道细菌/毒素移位等。自80年代以来，诸多研究表明，严重烧伤后早期口服营养可减轻肠粘膜屏障损害，但在后期，仍存在肠道粘膜结构的严重损害。为进一步提高口服营养的治疗效果，应注意营养成份尤其是氨基酸的结构。本研究选用大鼠30% TBSA III°烧伤模型，经饲养GLN来观察其对大鼠肠道结构的改变及肠道细菌和内毒素移位的影响，证实GLN在不同种属动物烧伤后均有相似的结果。为临床进一步推广使用GLN提供有力依据。

作者介绍：果 磊（1968- ），女，硕士，
主要研究方向：烧伤肠道营养。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 动物选择 健康成年Wistar大鼠（由重庆医科大学动物实验中心提供），雌雄各10只，体重180～220g随机分为GLN组和NON-GLN组，单笼喂养适应1周后用于实验。

维普资讯 http://www.cqvip.com

1.1.2 烧伤模型制作 伤前禁食12h，1%戊巴比妥钠（40mg/kg）腹腔麻醉，剃毛称重后俯卧于手术台上。用自制电铬铁烧伤背部无毛区20s，造成30% TBSA Ⅲ° 烧伤。伤后按40ml/kg腹腔注入平衡液抗休克，放回笼内。

1.2 实验方法

1.2.1 早期肠道营养的实施 伤后4h左右，大鼠能自由饮水进食，GLN组给予含1.5%GLN的鼠食，即1.88g/kg/d的GLN，NON-GLN喂普通鼠食，每日25～30g，普通鼠食由重医大动物实验中心配制；1.5%GLN的鼠食由重庆药友制药有限公司提供GLN颗粒剂与普通鼠食配制而成。

1.2.2 血标本采集：伤后7天，大鼠麻醉后固定于手术台上，在无菌操作条件下剖开腹腔；用去热原空针抽取门静脉血2ml装入^{60}Co去热原的内毒素试管，标本在4℃冰箱保存，5000 r/min离心5min，分离血浆后立即将血浆置-20℃冰箱保存，待测。

1.2.3 腹腔淋巴结采集 取肠系膜淋巴结称重后放入无菌培养皿中，待培养。

1.2.4 回肠粘膜标本 距回盲部5cm以上取2cm回肠，10%多聚甲醛固定，石蜡包埋、切片，HE染色后作病理图像分析。

1.3 检测指标及方法

1.3.1 内毒素测定 按内毒素鲎试剂测定法要求步骤操作。

1.3.2 腹腔淋巴结细菌培养 淋巴结放入无菌碾钵中，加入无菌NS 1ml，匀浆。取0.1ml匀浆 于伊红美兰（）EB 琼脂平板，接种后置35℃培养24h，以有菌落生长为阳性，无菌落生长为阴性，统计两组细菌生长阳性率为移位率。

1.3.3 回肠病理标本 HE染色切片在单盲情况下用医学图像分析仪进行分析，每个标本测定肠粘膜厚度、绒毛高度和隐窝深度各10次，取其均数，进行两组间比较。

1.4 统计学处理

细菌移位率采用百分率表示，计量资料数据以均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，采用SPSS统计软件包行t检验。以P<0.05表示有显著意义。

2 结 果

表1 血浆内毒素水平及细菌移位率

组别	n	内毒素（Eu/ml）	细菌移位率
NON-GLN组	10	0.118 ± 0.05	5/10
GLN组	10	0.06 ± 0.01#	1/10

GLN组vs NON-GLN组#P<0.05，##P<0.01（下同）

2.1 门静脉内毒素及肠系膜淋巴结细菌移位

如表1所示，两组大鼠烧伤后第7天，门静脉内毒素GLN组明显低于NON-GLN组（P<0.05），GLN组肠系膜淋巴结细菌移位率明显低于NON-GLN。

2.2 回肠粘膜形态学

光镜下，NON-GLN组回肠粘膜萎缩，绒毛水肿，部分上皮细胞脱落，绒毛排列紊乱、稀疏，见图1；GLN组回肠粘膜增厚，绒毛轻度水肿，未见明显上皮细胞脱落，绒毛排列整齐、致密，见图2。图像分析结果见表2。两组比较，GLN组肠粘膜厚度、绒毛高度及隐窝深度均明显高于NON-GLN组（P<0.05）。



图1 NON-GLN组大鼠回肠粘膜 HE×100

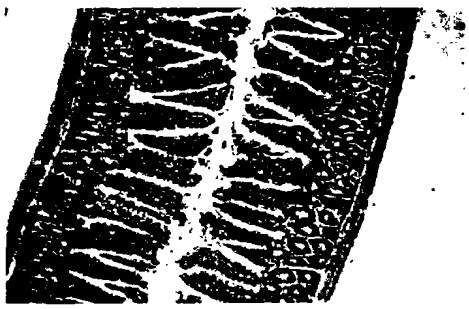


图2 GLN组大鼠回肠粘膜 HE×100

3 讨 论

3.1 GLN对肠道粘膜结构的保护

肠道作为在创伤后病情发生发展和转归中的重要作用已受到高度重视[1,2]，而肠道结构的维护是保护肠道功能的基础。严重烧伤早期由于低血容量，机体缺血及再灌流损害可生成大量氧自由基。氧自由基可与生物膜中的多价不饱脂肪酸作用，引发脂

表2 大鼠肠粘膜形态学测量结果（μm）

组别	n	粘膜平均厚度	绒毛平均高度	隐窝平均深度
NON-GLN组	10	404.05 ± 78.19	379.68 ± 71.93	200.44 ± 41.57
GLN组	10	484.21 ± 62.26#	452.89 ± 62.32#	240.08 ± 47.78#

维普资讯 http://www.cqvip.com

质过氧化反应，并产生大量脂质过氧化物及醛类产物，进一步损害生物膜，肠道粘膜因而受到严重损害[3]。许多实验证实，早期肠道营养在烧伤早期虽可明显增加肠道血流量和减少缺血缺氧性损害，有明显保护肠粘膜结构完整性的作用，但在烧伤后期，肠道的吸收功能和肠道粘膜结构仍存在严重的损害。本实验也表明NON-GLN组在伤后7天，回肠粘膜厚度、绒毛高度、隐窝深度均明显变低，且绒毛水肿，变稀疏，排列紊乱，粘膜明显萎缩，说明烧伤后肠粘膜结构受到严重损害。此结果表明，在烧伤复苏期后，若只给予单纯的早期肠道营养而不补充GLN，则肠道粘膜结构仍可有严重的损害。

GLN是一种非必需氨基酸，它是由谷氨酰胺合成酶（GS）将谷氨酸和谷氨酸盐合成而成。GS在胃内活性最高，占整个胃肠道的90%，其mRNA在胃肠道高表达。谷氨酰胺酶活性在小肠内最高，说明小肠是GLN最重要的代谢器官，但其本身既不合成也不能储存GLN，必须依赖其他脏器合成或外源性GLN。小肠可以从血液也可从食糜中摄取和利用GLN，而血液循环每经过消化道一次，就有20%～30%的GLN被摄取利用。口服GLN在首次通过小肠时几乎被完全代谢（吸收利用），说明谷氨酸和GLN在体内必须重新合成而获得。

GLN不仅是肠道粘膜细胞代谢活动的主要能源，更是维持肠道粘膜结构完整性不可缺少的特殊氨基酸，主要是由于GLN是核酸合成的重要成分。肠粘膜更新速度很快，肠粘膜细胞增生需要大量的GLN，在烧伤后，机体对GLN的消耗大大增加，体内合成远远不能满足需要，因而发生GLN严重缺乏，这将严重损害肠粘膜的完整性。Pastore认为GLN能上调肠道谷氨酰胺酶的活性，增加肠道刷状缘对GLN的转运，从而保证肠粘膜细胞增生的能量需要。余斌等利用贵州小型香猪30%Ⅲ度烧伤后早期肠道营养模型，分为GLN组和NON-GLN组，结果显示GLN组空回肠粘膜的DNA、RNA和蛋白质含量增高，且粘膜厚度、绒毛高度均明显增加。Hirasawa[4]报道在NaoH碱烧伤胃壁的大鼠模型口服L-GLN后胃粘膜出现增厚，上皮细胞增生。本实验采用烧伤大鼠模型，结果表明，补充GLN的大鼠在伤后7天，回肠粘膜厚度、绒毛高度和隐窝深度明显增高，且绒毛排列整齐、致密和对照组相比，更接近正常肠道结构，从而说明GLN能保护肠粘膜的结构，维护肠道功能。

3.2 GLN可减少肠道细菌/内毒素移位

近年研究显示，严重创伤或烧伤后中性粒细胞、炎症介质、细胞因子及缺血再灌注损伤等可介导肠粘膜结构受损，肠道屏障功能下降，肠道内微生态环境和正常菌群失调，引起肠道内细菌和内毒素向邻近组织和肠外组织移位、导致肠源性菌血症和内毒素血症甚至脓血症[5]。GLN不仅是快速生长和分化的肠粘膜上皮细胞的重要氧化燃料和能量合成底物[6]，也是维持肠粘膜结构、粘膜屏障功能、肠道免疫功能和微生态环境的重要调节因子。已有资料表明[7~9]，GLN营养支持（无论是肠道还是肠外），在肠粘膜屏障功能、改善肠道内微环境和预防肠源性细菌和内毒素易位起着非常重要的作用。

实验结果显示，严重烧伤后7天，NON-GLN组肠系膜淋巴结细菌易位率为50%，同时腹腔门静脉血中内毒素含量在NON-GLN组明显高于GLN组，提示严重烧伤后即有肠源性细菌移位的发生和内毒素进入门静脉。与NON-GLN组相比，给予GLN后可使血浆内毒素水平明显下降，移位至腹腔淋巴结细菌数显著降低，证实烧伤后GLN可保护肠粘膜屏障，从而减少烧伤后细菌/内毒素移位。提示GLN在减轻烧伤后肠粘膜损伤，维持肠道正常菌群、减少肠源性菌血症、内毒素血症、甚至脓血症发生中起积极的作用。

参 考 文 献

[1] Swank GM, Deitch EA. Role of the gut in multiple organ failure: bacterial translocation and permeability changes [J]. World J Surg, 1996;20:411-417.

[2] Stallmach A, Zeitz M. The intestine as an immunological organ [J]. Wien Klin Wochenschr, 1998;110(3):72-78.

[3] Cui XL, Sheng ZY, Guo IR, et al. Mechanisms of early gastrointestinal ischemia after burn; hemodynamic and hemorrheo logic features [J]. Chin J Plast Sury Burns, 1998;14: 262-265.

[4] Hirasawa R, Tatsuta M, Lishi H, et al. Effect of marzulene on the restitution of rat gastric mucosa after NaOH-induced injury [J]. Hepatogastrogenterology , 1998;45(19):293-296.

[5] Wusteman M, Tate H, Weaver L, et al. The effect of enteral glutamine deprivation and supplementation of the structure of rat small-intestine mucosa during a systemic injury response [J]. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition (JPEN), 1995;19:22-27.

（下转第412页）

维普资讯 http://www.cqvip.com

表3 受试制剂与参比制剂组间AUC_{0-8}、Cmax方差分析表

分析指标	变异来源	SS	DF	MS	*F*	*P*
$AUC_{(0-8)}$	个体间	147.2235	18	8.1791	15.6543	<0.05
	周期间	3.0084	1	3.0084	5.7580	>0.05
	处理间	0.0892	1	0.0892	0.1708	>0.05
	误 差	9.4047	18	0.5225		
	总变异	163.4651	39			
Cmax	个体间	17.1775	18	0.9543	3.0659	<0.05
	周期间	2.1160	1	2.1160	6.7981	>0.05
	处理间	0.0281	1	0.0281	0.0902	>0.05
	误 差	5.6027	18	0.3113		
	总变异	26.3912	39			

表4 别嘌醇片剂双单侧t检验及（1-2 a）置信区间法计算结果

分析指标	双单侧t检验		结果判断	（1-2a）置信区间(%)	结果判断
	t_1	t_2			
$AUC_{(0-8)}$	7.52	6.69	等效	94.00-103.70	等效
Cmax	3.39	2.79	等效	90.70-113.20	等效
Tmax	4.09	2.23	等效	83.20-105.10	等效

2.2 统计分析

20名自愿受试者单剂量po片剂A与片剂B 0.30g后，各主要药动学参数经方差分析、配对 *t* 检验，均无显著性差异（$P>0.05$）。对AUC_{0-8}，Cmax 进行双单侧 *t* 检验，均大于临界判断值，结果见表3、4，说明两种别嘌醇片具有生物等效性。

3 讨 论

3.1 研究表明，在本实验采用的RP-HPLC条件下，别嘌醇峰形较好，且不受内源性杂质的干扰；方法简便快捷，回收率较高，结果重现性好，完全可满足别嘌醇血药浓度测定的要求。

3.2 实验证明如文献[2,3]所述，别嘌醇在体内的吸收、消除迅速，由表可知，主要药动学参数与文献报道基本一致。

3.3 本文研究结果表明，两种别嘌醇片具有生物等效性，

参 考 文 献

[1] 中国药典委员会编. 药物制剂人体生物利用度和生物等效性试验指导原则[M]. 北京：化学工业出版社. 中国药典(2000版二部)，附录XI XB.

[2] M. Marcus. The bioavaillability of two commercial preparations of allopurinol tablets[J]. International Journal of Clinical Pharmacology, Therapy and Toxicology, 1982;20(7): 302-305.

[3] K. Turnheim. Pharmacokinetics and pharmacody-namics of allopurinol in elderly and young subjects[J]. Br J Clin Pharmacol, 1999;48:501-509.

(上接第405页)

[6] Buchman AL. Glutamine: is it a conditionally required nutrient for the human gastrointestinal system[J]. J Am Coll Nutr, 1996;15(3):199-205.

[7] Gianotti L, Alexander JW, Gennari R, et al. Oral glutamine decrease bacterial translocation and improves survival in experimental gut-origin sepsis [J]. Journal of Parenteral and Enteral Natrition (JPEN), 1995;19:69-74.

[8] ChenK, OKuma T, Okamura K, et al. Glutamine-supplemented parental nutrition improves gut mucosa integrity and function in endotoxemic rats [J]. Journal of parenteral and Enteral Nutrition (JPEN), 1994;18(2): 167-171.

[9] Furukawa S, Saito H, Inoue T, et al. Supplemental glutamine augments phagocytosis and reactive oxygen intermediate production by neutrophils and monocytes from postoperative patients in vitro [J]. Nutrition, 2000;16(5): 323-329.