DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.18.013
第25卷第18期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 18
2003年9月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Sep. 2003

文章编号:1000-5404(2003)19-1623-03

论著

精氨酸营养干预对严重烧伤家兔免疫功能的影响

彭 曦,尤忠义,王 裴,周 新,刘 静,汪仕良 (第三军医大学附属西南医院全军烧伤研究所,创伤烧伤复合伤国家重点实验室,重庆 400038)

提 要:目的 研究精氨酸营养干预对严重烧伤家兔免疫功能的影响及其机制。方法 采用30%体表面积Ⅲ度烧伤家兔模型,26只日本长耳白兔随机分成3组:正常对照组(n=8)、烧伤对照组(n=9)及精氨酸喂养组(n=9)。精氨酸组予L-醋酸精氨酸1.2 g·kg^{-1}·d^{-1}(精氨酸净重0.89 g),烧伤对照组予等量的L-酪氨酸,观察给药7 d后精氨酸对烧伤家兔淋巴细胞转化率、白细胞吞噬率、白细胞趋化指数、CD4/CD8比值、血浆免疫球蛋白及动物死亡率的影响。结果 烧伤7 d后两组动物免疫功能均明显下降,两组相比,精氨酸组家兔免疫功能明显优于烧伤对照组,各项免疫指标的变化均有显著意义(P<0.05, P<0.01)。结论 严重烧伤家兔机体免疫功能下降,经肠道补充精氨酸能有效提高伤后免疫功能,降低动物死亡率。

关键词:精氨酸;免疫功能;烧伤;家兔
中图法分类号:R459.3;R644;R977.4 文献标识码:A

Effects of arginine-supplemented enteral nutrition on immunological function in severely burned rabbits

PENG Xi, YOU Zhong-yi, WANG Pei, ZHOU Xin, LIU Jing, WANG Shi-liang (Institute of Burn Research, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of arginine-supplemented enteral nutrition on the immunological function in severely burned rabbits. Methods The model of rabbits inflicted with 30% total body surface of Ⅲ degree burns was established. A total of 26 rabbits were randomly divided into three groups, namely normal control group (group C, n=8), burned control group (group B, n=9) and arginine-supplemented group (group A, n=9). Rabbits in groups B and A were fed with tyrosine at the dose of 1.2 g·kg^{-1}·d and arginine acetate at the dose of 1.2 g·kg^{-1}·d for 7 d, respectively. Several indices such asymphocyte transformation rate, PMN phagocytosis rate, PMN chemotaxis rate, ratio of CD4/CD8, content of immunoglubulin and mortality rate of animals were determined as index of immunological function. Results Decreased immunological function was found in both groups on the 7th d after severe burn injury. The immunological function of the rabbits in group A was better than that in group B. There was significant difference in each immunological index (P<0.05, P<0.01). Conclusion The immunological function of rabbits is decreased after severe burn injury. Arginine acetate supplemented enterally can enhance the immunological function and decrease the mortality rate of animals.

Key words: arginine; immunological function; burns; rabbit

精氨酸广泛参与机体组织代谢,与机体免疫功能、蛋白代谢、创面愈合等密切相关。生理状况下,体内合成的精氨酸能满足人体需要,但在严重创伤、感染及大手术等应激状态下,机体对精氨酸的需求大大增加,仅靠自身合成不能满足需求,必须及时补充外源性精氨酸。因此,精氨酸被界定为条件必需氨基酸。近年研究显示,烧伤后机体免疫功能紊乱可能与体内精氨酸不足有关[1],为此我们建立了烧伤家兔灌喂精氨酸模型,观察经肠道补充精氨酸能否改善烧伤后机体免疫功能。

1 材料和方法

1.1 材料

醋酸精氨酸由重庆北碚现代应用药物研究所提供,批号010201,含量:99.28%;酪氨酸由日本味之素株氏会社川崎工

基金项目:全军"九五"指令性课题(96L043)
作者简介:彭 曦(1968-),男,四川省成都市人,博士,副研究员,主要从事创伤后代谢营养方面的研究,发表论文30余篇。电话:(023)68754149-8056
收稿日期:2003-07-18;修回日期:2003-08-24

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

厂生产，批号 995899；含量> 98.5%。

1.2 方法

1.2.1 动物模型及分组 普通级日本大耳白兔，体质量(2.33±0.21) kg，雌雄不限，由第三军医大学实验动物中心提供。随机分为正常对照(Control C，n=8)、烧伤对照(Burns B，n=9)及烧伤加精氨酸(Arginine A，n=9)组。伤前禁食 16 h，背部脱毛后用 3%凝固汽油燃烧 18 s，造成家兔 30% Ⅲ度烧伤。伤后按 40 ml/kg 腹腔注射林格液抗休克。伤后 4 h 开始灌喂药物，烧伤组灌喂酪氨酸 1.2 $g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$，精氨酸组灌喂 L-醋酸精氨酸 1.2 $g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$(精氨酸净重 0.89 g)，2 次/d，连续 7 d。

1.2.2 检测指标

1.2.2.1 淋巴细胞转化率 取肝素抗凝血 5 ml，加等量的淋巴细胞分离液，2 500 r/min 离心 30 min 后，分离淋巴细胞，调节细胞浓度为 1×10^6/ml，取细胞悬液 0.1 ml，加入 10 μg/ml 植物血凝素(PHA)0.1 ml，5%CO_2 37 ℃孵育 72 h。涂片、晾干、瑞氏染色，镜下观察，记数 200 个淋巴细胞。淋巴细胞转化率= 淋巴母细胞数/淋巴细胞总数×100%。

1.2.2.2 白细胞吞噬功能 取肝素抗凝血素 5 ml，分离白细胞，调整细胞数为 1×10^6/ml，取一干净玻片，滴两滴细胞悬液，加入等量的酵母菌，混匀，37 ℃孵育 30 min。取出玻片轻轻冲去多余的酵母菌，自然晾干后，瑞氏染色，镜检计数吞噬酵母菌的白细胞。吞噬率= 吞噬酵母菌的白细胞/白细胞总数×100%。

1.2.2.3 白细胞趋化指数 取淋巴细胞分离液处理后的白细胞层，调节细胞数为 2.5×10^7/ml。在琼脂糖上打 3 个孔，孔径 2.4 mm，孔距 2.4 mm，中间的孔滴加 10 μl 多形核白细胞悬液，两孔分别加入 10 μl 大肠杆菌培养液和 10 μl 1640 培养液。37 ℃孵育 2~3 h，趋化指数以白细胞向大肠杆菌培养液一侧扩散的距离与向 1640 液一侧扩散距离之比表示。

1.2.2.4 淋巴细胞亚群检测 采用标记红细胞花环法，记数 200 个淋巴细胞中含 CD3、CD4、CD8 表面标志物的淋巴细胞数。

1.2.2.5 免疫球蛋白含量检测 采用免疫扩散法，试剂由重庆市医学检验所提供，分别检测血浆中 IgA、IgM、IgG 含量。

1.3 统计学处理

所有计量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示，采用华西医科大学 PEMS 医用统计程序包进行方差分析，对计数资料行 χ^2 检验。

2 结果

2.1 精氨酸对烧伤家兔死亡率的影响

30% Ⅲ度烧伤对家兔而言是严重创伤，烧伤后动物少动、嗜睡、厌食、精神萎靡，创面肿胀明显，伤后 4~5 d 创面开始感染，6~7 d 开始溃烂，一些家兔出现极度烦躁等败血症的症状。烧伤对照组死亡率很高为 35.71%，精氨酸组家兔一般情况较好，创面较为干燥，死亡率明显降低，仅为 10%(P<0.01)，见表 1。

表 1 精氨酸对烧伤家兔死亡率的影响

Tab 1 Effect of arginine on mortality rate in burned rabbits

	n	Number of survival	Mortality rate(%)
Normal control	8	8	0
Burned control	14	9	35.71 *
Arginine-supplemented group	10	9	10.00 *△

*：P<0.01 vs normal control；△：P<0.01 vs burned control

2.2 精氨酸对烧伤家兔淋巴细胞转化率、白细胞吞噬率及趋化指数的影响

烧伤 7 d 后，两组动物的淋转率、吞噬率和趋化指数明显低于伤前(P<0.01)。精氨酸组上述 3 项指标均明显高于烧伤对照组(P<0.01)，见表 2。

表 2 精氨酸对烧伤家兔淋巴细胞转化率、白细胞吞噬率及趋化指数的影响($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Effect of arginine on lymphocyte transformation rate(LTR), PMN phagocytosis rate(PMN PR) and PMN chemotaxis rate (PMN CR) in burned rabbits($\bar{x}\pm s$)

	LTR (%)	PMN PR(%)	PMN CR
Normal control(n=8)	68.38±5.07	36.75±2.82	1.95±0.25
Burned control (n=9)	48.00±3.09 *	22.33±3.50 *	1.61±0.15 *
Arginine group(n=9)	58.44±4.90 *△	30.56±2.95 *△	1.92±0.33 △

*：P<0.01 vs normal control；△：P<0.01 vs burned control

2.3 精氨酸对烧伤家兔淋巴细胞亚型的影响

烧伤 7 d 后，淋巴细胞亚型数量发生明显变化，其中 CD3、CD4 含量及 CD4/CD8 比值均显著下降，CD8 含量变化不明显。精氨酸组的 CD3、CD4、CD4/CD8 显著高于烧伤对照组(P<0.05~0.01)，见表 3。

表 3 精氨酸对淋巴细胞亚型的影响($\bar{x}\pm s$)

Tab 3 Effect of arginine on lymphocyte isoforms in burned rabbits($\bar{x}\pm s$)

	CD3(%)	CD4(%)	CD8(%)	CD4/CD8
Normal control (n=8)	65.13±5.51	36.75±3.03	24.25±1.64	1.52±0.08
Burned control(n=9)	41.78±2.82 *	22.22±2.70 *	21.89±1.91	1.02±0.11 *
Arginine group (n=9)	52.33±3.94 *	33.78±2.86△	23.78±1.54	1.42±0.10△

*：P<0.01 vs normal control；△：P<0.01 vs burned control

2.4 精氨酸对烧伤家兔血浆免疫球蛋白含量的影响

伤后 7 d 各组动物血浆免疫球蛋白 IgA、IgM、IgG 均有不同程度下降，其中 IgG 和 IgM 的变化较为明显，而 IgA 的变化不明显。精氨酸组的 IgG 和 IgM 明显高于烧伤对照组(P<0.01)，见表 4。

表 4 精氨酸对烧伤家兔血浆免疫球蛋白含量的影响($\bar{x}\pm s$)

Tab 4 Effect of arginine on content of plasma immunoglubulin in burned rabbits($\bar{x}\pm s$)

	IgA(g/L)	IgM(g/L)	IgG(g/L)
Normal control (n=8)	2.36±0.50	1.35±0.14	11.75±3.12
Burned control (n=9)	1.72±0.37	0.61±0.14 *	5.51±1.53 *
Arginine group(n=9)	1.75±0.33	1.26±0.21△	8.61±1.25△

*：P<0.01 vs normal control；△：P<0.01 vs burned control

3 讨论

精氨酸是一种条件必须氨基酸，以前仅作为一种营养成分应用于临床。随着研究的深入，人们认识到精氨酸不是一种普通的氨基酸，它能提高机体免疫功能、促进蛋白合成、降低分解代谢、保护胃肠粘膜，是目前“营养药理学”重点研究的对象。精氨酸促进免疫功

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

能的机制与以下因素有关，首先它是多胺、腐胺、精胺的前体，能促进细胞增殖和分化，维护有效的免疫应答。其次精氨酸可促进胸腺发育，提高 T-淋巴细胞对有丝分裂原刺激的反应活性和细胞毒作用。再者它还能提高淋巴因子激活的杀伤细胞(LAK)和自然杀伤细胞(NK)活性[2]。

实验结果显示：严重烧伤后家兔免疫功能明显下降，淋巴细胞转化率、白细胞吞噬功能、白细胞趋化指数、血浆免疫球蛋白含量、CD4/CD8 比值均明显下降，经肠道补充醋酸精氨酸能有效改善机体免疫功能，上述免疫指标显著高于烧伤对照组。动物基本状况较好，创面较为干燥，死亡率大为降低，而使用酪氨酸的烧伤对照组的免疫功能则较低，创面情况较差，死亡率高达 35%，提示酪氨酸没有增强免疫功能的作用。而给予足量的外源性精氨酸能有效改善烧伤家兔免疫功能，提高动物存活率。相对而言，精氨酸对细胞免疫功能的影响更明显，可能与其主要作用于 T、NK、LAK 细胞及巨噬细胞有关[3]。研究显示，严重烧伤后机体免疫功能严重受损，补充的精氨酸要达到一定剂量和时间才有效，预实验中我们观察了用药 3、5 d 的效果，结果不理想，直到 7 d 左右才有明显疗效。用药剂量也是一个重要因素，国外的研究表明精氨酸的药理剂量为总热卡的 2% ~ 3%，即小动物要达到 0.8 ~ 1.2 $g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ 左右才有效[4]。我们曾采用 4 个剂量，0.3 ~ 2.4 $g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$，发现剂量过低无效，过高反而加重损伤，动物死亡率上升。因此，采用经肠道补充醋酸精氨酸(1.2 $g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ 实际精氨酸含量为 0.89 g)对烧伤家兔是安全有效的。

参考文献：

[1] 吴琰秋，柴家科，黎君友，等. 大鼠严重烫伤早期血浆游离氨基酸浓度的变化[J]. 中华烧伤杂志，2001，17(4)：215－218.
[2] Efron D, Barbul A. Role of arginine in immunonutrition[J]. J Gastroenterol, 2000, 35(12): 20－23.
[3] Park K G, Hayes P D, Garlick P J, *et al*. Stimulation of lymphocyte natural cytotoxicity by L-arginine[J]. Lancet, 1991, 337(8742): 645－646.
[4] 筱泽洋太郎. 不可缺少的氨基酸-精氨酸[J]. 日本医学介绍，1996，17(1)：9－11.

(编辑 刘洪娥)

文章编号：1000-5404(2003)18-1625-01

个案与短篇

皮肤及骨关节结核误诊 1 例

A case report of misdiagnosed skin and joint tuberculosis

蔡 颖，梁书奇，袁 原 (解放军第 324 医院结核科，重庆 400000)

患者，男，21 岁，因发热，肘、腕、膝关节疼痛伴关节下包块，在某医院诊断为多发性脓肿，予以青霉素治疗无效，后诊为韦勃－克莱斯坦病。经用地塞米松 15 mg 静脉滴注，10 d 后体温降至正常，包块消退，改强的松 15 mg/d 口服 15 d 后，上诉症状再次出现，到另一医院仍诊断为韦勃－克莱斯坦病，予以甲基强的松龙 1 g/d 静脉滴注 3 d 体温至正常，但关节包块仍在，继续服用强的松 40 mg/d，10 d 后出现咳嗽咳痰，于 2000 年 4 月 12 日转入我院。查体：体温 39.5 ℃，脉搏 115 次/min，血压 115/75 mmHg，慢性重病面容，满月脸，全身皮肤轻度黄染，双肘关节及右腕关节，右膝关节，左踝关节大小不等包块。胸部 X 线片示：双肺血性播散型肺结核表现，肘、腕、膝 X 线片示：右肘、左腕、右膝关节有骨质破坏，符合骨关节核改变，脾肿大，实验室检查：ALT 120 U/L，TBIL 96.3 μmol/L，SR 120 mm/h。诊断：全身类固醇结核病。经采用异烟肼、利福平、链霉素、氧氟沙星四联抗结核治疗，并用保肝及支持疗法，1 个月后体温逐渐降至正常，肝功能恢复正常，肺部病灶有所吸收。继续抗结核治疗 6 个月，患者肺部病灶完全吸收，肘、腕、膝关节疼痛消失，痊愈出院。

讨论

韦勃－克来斯坦病(Weber-Christian disease)又称结节性非化脓性脂膜炎，是一种以真皮下脂肪层反复感染为特征的皮肤病，病因不清，非常少见。其突出的临床特点：女性多见，四肢出现结节，发热，关节炎或关节痛以及肌肉疼痛。实验室检查：血沉增高，贫血，白细胞减少，补体减少，活动期病例可在外周血中检查到 IgM 及免疫复合物增高。结节组织形态学特征：呈小叶性脂膜炎表现，可见坏死、大量细胞浸润、富含脂肪的巨噬细胞以及偶见脉管炎。炎固醇性结核是指应用肾上腺皮质激素(炎固醇激素，简称激素)或促肾上腺皮质激素(ACTH)，使机体的免疫功能极度降低，造成体内的结核病灶活动或全身播散[1]。皮肤及骨关节结核属肺外结核中较常见的一种，占结核病的 13%[2]。

(下转 1628 页)

作者简介：蔡 颖(1972－)，女，四川省兴文县人，主治医师，主要从事结核病防治的临床治疗方面的研究。电话：(023)68762082

收稿日期：2003-05-21；修回日期：2003-08-29

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net