

· 论著 ·

肠内免疫营养联合重组人生长激素对烫伤大鼠的治疗作用

郭光华 蔡晨 李国辉

【摘要】 目的 研究肠内免疫营养联合重组人生长激素(rhGH)对烫伤大鼠营养代谢、免疫功能及炎症反应的影响及其机制。方法 64只SD大鼠制备30%总体表面积(TBSA)Ⅲ度烫伤模型,然后随机分为肠内免疫营养(EIN)组及EIN联合rhGH(EIN+rhGH)组,两组给予等热量肠内营养液。分别于伤后1、4、7、10d($n=8$)抽取静脉血,检测营养代谢、T淋巴细胞亚群、血清免疫球蛋白和有关炎症介质指标。另取8只大鼠检测上述各指标作为伤前对照值。结果 与EIN组比较,EIN+rhGH组在伤后各时间点的血清总蛋白、白蛋白、转铁蛋白、 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 、IgG、IgM和IgA均有所升高,但差异均无显著性(P 均 >0.05), $CD8^+$ 有所降低,差异也无显著性(P 均 >0.05);与EIN组比较,EIN+rhGH组在伤后4、7、10d血清内毒素(LPS)、白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)明显降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论 EIN联合rhGH可以改善烧伤后营养代谢和免疫功能,减少炎症反应,其作用要优于单纯肠内免疫营养。

【关键词】 肠内免疫营养; 重组人生长激素; 烫伤; 营养代谢; 免疫; 大鼠

Experiment study of enteral immunonutrition combined with recombinant human growth hormone in treatment of severe scald in rats GUO Guang-hua*, CAI Chen, LI Guo-hui. * Department of Burns, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi, China

【Abstract】 Objective To investigate the effects of enteral immunonutrition (EIN) combined with recombinant human growth hormone (rhGH) on nutrition metabolism, immunological function and inflammatory response in rats with severe scald. **Methods** Sixty-four SD rats subjected to 30% total body surface area (TBSA) III degree scalds were randomly divided into EIN and EIN combined with recombinant human growth hormone (EIN+rhGH) groups. Animals of both groups were fed isocaloric enteral nutrition. Nutrition metabolism, T lymphocyte subsets, serum levels of immunoglobulins and inflammatory mediators were determined on the 1, 4, 7 and 10 postinjury day ($n=8$). Another 8 rats served as controls, and the above-mentioned parameters were also determined. **Results** Total protein (TP), albumin (Alb), transferrin protein (TFP), $CD3^+$, $CD4^+$, $CD4^+/CD8^+$, IgG, IgM and IgA in group EIN+rhGH were slightly higher than those of group EIN (all $P>0.05$) at all time points after the injury, while $CD8^+$ slightly lowered ($P>0.05$). Serum levels of lipopolysaccharide (LPS), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) plummeted significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$) on 4th, 7th and 10th postinjury day compared with group EIN. **Conclusion** Our findings indicate that EIN combined with rhGH is superior to EIN alone in the early stage of severe scald in rats, not only ameliorate the disturbance in metabolism and immunological function, but also reduce inflammatory response.

【Key words】 immunonutrition; recombinant human growth hormone; scald; nutrition metabolism; immunity; rat

严重烧伤后过度活化的各种免疫细胞和免疫分子相互作用导致免疫功能紊乱,使感染和多器官功能障碍综合征(MODS)的发生率明显增加。由于营养与免疫密切相关,严重烧伤后营养支持是否能改善其免疫功能,一直是人们关注的问题。近年来,免

疫营养治疗创(烧)伤及危重病患者已受到重视^[1-4]。本研究拟观察大鼠烫伤后给予肠内免疫营养液或肠内免疫营养液加重重组人生长激素(rhGH),探讨其对伤后外周血免疫球蛋白和T淋巴细胞亚群的影响及其相关机制。

1 材料与方法

1.1 动物模型与分组:SD大鼠72只,体重(200±25)g,雌雄不限,由安徽医科大学实验动物中心提供(皖医实动准第01号)。按随机数字表法分为肠内免疫营养(EIN)组和EIN+rhGH组,每组又随机分为伤后1、4、7和10d4个亚组,每个亚组8只大鼠。另取8只大鼠作为伤前对照组。伤前24h将大鼠背部剃毛,并禁食12h。大鼠于清醒状态下固定,背、侧腹

基金项目:江西省自然科学基金资助项目(0340078)

作者单位:330006 南昌大学第一附属医院烧伤中心(郭光华,李国辉);230022 合肥,安徽医科大学第一附属医院烧伤科(蔡晨)

作者简介:郭光华(1960-),男(汉族),湖南益阳人,医学硕士,教授,博士/硕士研究生导师,主任医师,南昌大学医学院烧伤研究所副所长,2000~2001年在美国麻省大学医学院医学中心进修学习,先后入选江西省第3批主要学科跨世纪学术和技术带头人,江西省新世纪百千万人才工程第1、2层次人选,国家级首批新世纪百千万人才工程人选。

浸入 100 °C 水中 12 s 造成 30% 总体表面积(TBSA) III 度烫伤, 伤后立即经腹腔注射林格液 40 ml/kg 抗休克。伤后单笼饲养。伤前对照组只进行同样操作, 但不烫伤。

1.2 肠内免疫营养液的供给: 两组使用相等热量的肠内免疫营养液“士强”(荷兰 Nutricia 公司产品, 52.3 kJ/L)。营养液放在 4 °C 的冰箱中保存, 使用前复温至 37 °C。烫伤大鼠于伤后 2 h 开始灌喂营养液, 按 732.2 kJ · kg⁻¹ · d⁻¹ 即 139 ml/kg 的标准供给, 伤后 1 d 摄入标准量的 1/3, 2 d 摄入标准量的 1/2, 3 d 起摄入全量。按每日计划量分 4~6 次喂完, 不限饮水。EIN+rhGH 组大鼠在伤后 12 h 于腹部皮下注射 rhGH(长春金赛药业有限责任公司生产) 1.0 U/kg(浓度为 1.0 kU/L), 以后 24 h 追加 1 次。EIN 组于相同时间注射等量生理盐水。

1.3 检测指标与方法: 伤前和伤后 1、4、7 和 10 d 在无菌条件下抽取静脉血, 检测下列指标。

1.3.1 血清总蛋白(TP)、白蛋白(Alb)和转铁蛋白(TFP): 取制备好的血清复融, 4 °C、3 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 用 C700 型全自动生化分析仪测定其浓度。

1.3.2 血清免疫球蛋白 IgG、IgA 和 IgM: 采用免疫比浊法, 在 C700 型全自动生化分析仪上测定。

1.3.3 外周血清内毒素(LPS): 采用基质偶氮显色鲎试剂测定血清 LPS 含量, 单位以 kEU/L 表示, 试剂盒由上海市医学化验所提供。

1.3.4 血清白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子-α(TNF-α)水平: 将冻存的血清复融后, 4 °C、3 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 采用放射免疫法测定, 试剂由北京东亚免疫技术研究所提供。

1.4 统计学处理: 全部计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 进行 *t* 检验及 ANOVA 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对烫伤大鼠营养代谢的影响(表 1): EIN 组在

伤后各时间点的血清 TP、Alb 和 TFP 较伤前对照组均明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。EIN+rhGH 组仅在伤后 1 d 和 4 d 较伤前对照组均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 在伤后 7 d 和 10 d 有所回升, 与伤前对照组比较差异无显著性(P 均 > 0.05)。与 EIN 组比较, EIN+rhGH 组血清 TP、Alb 和 TFP 在伤后各时间点均有所升高, 但差异无显著性(P 均 > 0.05)。

2.2 对烫伤大鼠外周血 T 淋巴细胞总数及其亚群的影响(表 2): 除伤后 1 d CD3⁺ 两组比较差异有显著性($P < 0.05$)外, 其他时间点两组伤后 CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺ 与伤前对照组比较差异均无显著性(P 均 > 0.05), EIN 组 CD4⁺/CD8⁺ 伤后 1、4 和 7 d 比伤前明显降低(P 均 < 0.01); 而 EIN+rhGH 组的 CD4⁺/CD8⁺ 在伤后 1 d 和 4 d 比伤前均明显降低($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$), 在伤后 7 d 和 10 d 均有所回升。与 EIN 组比较, EIN+rhGH 组的 CD3⁺、CD4⁺ 和 CD4⁺/CD8⁺ 有所升高, 但差异无显著性(P 均 > 0.05), EIN+rhGH 组的 CD8⁺ 有所降低, 差异也无显著性(P 均 > 0.05)。

2.3 对烫伤大鼠血清免疫球蛋白的影响(表 3): EIN 组伤后各时间点的 IgG、IgM 比伤前对照组均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 而 EIN+rhGH 组仅在伤后 1 d 和 4 d 比伤前对照组均明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。伤后 1 d 和 4 d EIN 组 IgA 比伤前明显降低(P 均 < 0.01); 而 EIN+rhGH 组仅在伤后 1 d 较伤前明显降低($P < 0.05$)。与 EIN 组比较, EIN+rhGH 组的 IgG、IgM 和 IgA 有所升高, 但差异均无显著性(P 均 > 0.05)。

2.4 对烫伤大鼠血清 LPS、IL-6 和 TNF-α 的影响(表 4): 两组血清 LPS、IL-6 和 TNF-α 在伤后各时间点均较伤前对照组显著升高(P 均 < 0.01)。与 EIN 组比较, EIN+rhGH 组在伤后 4、7 和 10 d 的血清 LPS、IL-6 和 TNF-α 均呈明显降低趋势($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

表 1 烫伤大鼠营养代谢的变化($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 1 Changes of nutritional metabolism in scalded rats($\bar{x} \pm s, n=8$)

指标	组别	伤后 1 d	伤后 4 d	伤后 7 d	伤后 10 d
TP(g/L)	EIN 组	50.30±4.50**	54.04±6.75*	55.68±4.52*	54.99±4.00*
	EIN+rhGH 组	51.86±4.82**	55.84±5.82*	59.34±4.48*	57.59±3.20
Alb(g/L)	EIN 组	24.58±3.35**	25.22±3.73**	26.96±3.81*	24.70±3.13**
	EIN+rhGH 组	25.73±3.66**	27.08±3.74*	28.22±3.47	27.53±3.06*
TFP(g/L)	EIN 组	2.19±0.50**	2.40±0.41*	2.56±0.48	2.46±0.50*
	EIN+rhGH 组	2.36±0.34*	2.75±0.44	2.88±0.40	2.71±0.48

注: 伤前对照组 TP 为(62.54±6.30)g/L, Alb 为(31.01±3.23)g/L, TFP 为(3.14±0.62)g/L; 与伤前对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表 2 烫伤大鼠外周血淋巴细胞数的变化($\bar{x} \pm s, n=8$)Table 2 Changes of lymphocyte in peripheral blood in scalded rats($\bar{x} \pm s, n=8$)

指标	组别	伤后 1 d	伤后 4 d	伤后 7 d	伤后 10 d
CD3 ⁺ (%)	EIN 组	61.26±6.21	62.31±4.23	63.08±4.31	63.98±4.67
	EIN+rhGH 组	61.69±5.07*	63.76±4.29	64.48±3.83	65.89±4.50
CD4 ⁺ (%)	EIN 组	42.11±4.60	42.69±3.68	43.48±2.75	44.18±3.54
	EIN+rhGH 组	42.62±3.19	44.42±3.75	44.67±2.82	45.04±3.80
CD8 ⁺ (%)	EIN 组	25.30±2.87	25.39±2.29	24.74±2.28	24.00±2.15
	EIN+rhGH 组	24.32±2.32	24.20±3.01	23.90±1.91	23.57±1.88
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	EIN 组	1.69±0.27**	1.70±0.22**	1.77±0.14**	1.86±0.25
	EIN+rhGH 组	1.76±0.19**	1.85±0.14*	1.88±0.12	1.92±0.05

注:伤前对照组 CD3⁺ 为(66.98±4.43)%, CD4⁺ 为(46.13±4.27)%, CD8⁺ 为(22.89±2.21)%; CD4⁺/CD8⁺ 为 2.02±0.17; 与伤前对照组比较: *P<0.05, **P<0.01

表 3 烫伤大鼠血清免疫球蛋白的变化($\bar{x} \pm s, n=8$)Table 3 Changes in the serum contents immunoglobulins in scalded rats($\bar{x} \pm s, n=8$)

指标	组别	伤后 1 d	伤后 4 d	伤后 7 d	伤后 10 d
IgG(g/L)	EIN 组	2.320±0.320**	2.650±0.490**	2.770±0.500**	2.760±0.520**
	EIN+rhGH 组	2.510±0.460**	2.910±0.600*	3.200±0.620	3.140±0.660
IgM(g/L)	EIN 组	0.222±0.039**	0.268±0.036**	0.287±0.044*	0.290±0.046*
	EIN+rhGH 组	0.231±0.029**	0.280±0.047*	0.301±0.054	0.332±0.045
IgA(g/L)	EIN 组	0.372±0.083**	0.407±0.058**	0.438±0.057	0.460±0.061
	EIN+rhGH 组	0.395±0.089*	0.435±0.081	0.483±0.077	0.496±0.078

注:伤前对照组 IgG 为(3.610±0.550)g/L, IgM 为(0.357±0.061)g/L, IgA 为(0.520±0.093)g/L; 与伤前对照组比较: *P<0.05, **P<0.01

表 4 烫伤大鼠血清 LPS、IL-6 和 TNF-α 的变化($\bar{x} \pm s, n=8$)Table 4 Changes of serum LPS, IL-6 and TNF-α levels in scalded rats($\bar{x} \pm s, n=8$)

指标	组别	伤后 1 d	伤后 4 d	伤后 7 d	伤后 10 d
LPS(kEU/L)	EIN 组	0.299±0.064**	0.463±0.091**	0.482±0.092**	0.479±0.082**
	EIN+rhGH 组	0.282±0.073**	0.339±0.094**	0.341±0.084**	0.366±0.067**
IL-6(μg/L)	EIN 组	216.640±32.770**	284.640±35.970**	332.390±40.360**	364.310±53.030**
	EIN+rhGH 组	194.700±39.940**	241.180±39.290**	263.430±30.260**	289.920±49.160**
TNF-α(μg/L)	EIN 组	1.500±0.400**	2.050±0.330**	2.620±0.320**	2.500±0.480**
	EIN+rhGH 组	1.330±0.430**	1.390±0.340**	2.070±0.440**	1.870±0.320**

注:伤前对照组 LPS 为(0.125±0.050)kEU/L, IL-6 为(82.720±13.540)μg/L, TNF-α 为(0.850±0.270)μg/L; 与伤前对照组比较: *P<0.01; 与 EIN 组同时时间点比较: #P<0.05, ##P<0.01

3 讨论

免疫营养是将具有特殊药理作用的营养素如精氨酸(Arg)、谷氨酰胺(Gln)、ω-3 脂肪酸等添加到标准肠内营养或静脉营养中,目的是为了增强免疫功能和调节炎症反应,保护肠黏膜屏障功能等^[5]。免疫营养将营养支持与全身炎症反应综合征(SIRS)以及由此所致的多器官功能不全的防治有机地结合起来,成为严重创伤、烧伤和危重患者的重要治疗方法之一,也是合理营养支持方面基础与临床研究的热点^[6,7]。

rhGH 是一种促合成激素,主要通过胰岛素样生长因子-1(IGF-1)产生作用。它可以促进机体氮潴留,增加蛋白质的合成和脂肪分解,降低烧伤后血清 C-反应蛋白(CRP)的水平,增强机体的防御

功能^[8-10]。柴家科等^[11]采用小型香猪 35%TBSA Ⅲ度烧伤模型,动态观察了 rhGH 对静息能量消耗、血清生长激素(GH)、IGF-1、Alb 及体重等代谢相关指标的影响,证实 rhGH 能明显降低烧伤后静息能量消耗水平,并使血清 GH、Alb 及体重较对照组显著升高,表明严重烧伤后应用 rhGH 治疗有明显降低高代谢的作用。Akcaay 等^[12]报道 rhGH 可减轻骨骼肌蛋白质分解,有效降低烧伤患者尿中肌酐的排泄。本研究结果表明, EIN 组血清 TP、Alb 水平在伤后各时间点较伤前对照组显著降低;而 EIN+rhGH 组血清 Alb 在伤后 1、4、7、10 d 较伤前对照组明显降低,其血清 TP 在伤后 10 d,血清 TFP 在伤后 4、7、10 d 较伤前对照组比较无明显降低; EIN+rhGH 组血清 TP、Alb 和 TFP 水平分别较 EIN 组有一定

升高。说明 rhGH 可以促进烫伤后机体蛋白质的合成,改善机体的营养状况。我们推测可能与 rhGH 在多个环节的作用有关:rhGH 能促进烧伤大鼠肠黏膜对 Gln 的利用,维护肠黏膜正常结构和功能,减少 LPS 的吸收,因而减轻 LPS 对 Alb 合成的抑制;通过与 GH 受体的结合,引起细胞内第二信使的变化,促进肝细胞 Alb mRNA 的表达。

rhGH 除了对代谢的调节作用外,还能调节机体的免疫功能^[13]。Kaznya 等^[14]给烧伤大鼠应用 rhGH 后 I 型 T 辅助细胞比对照组明显升高,抗感染能力明显增强。陈华德等^[15]将 42 例大面积烧伤患者,随机分为 rhGH 治疗组和对照组,发现 rhGH 组在伤后 14 d 的 IgG 水平、CD4⁺ 和 CD4⁺/CD8⁺ 比值明显高于对照组,说明 rhGH 能促进免疫球蛋白和 CD4⁺ 细胞恢复。本研究结果显示,EIN 组 CD3⁺、CD4⁺ 较伤前对照组无明显降低,CD8⁺ 淋巴细胞仅在伤后 4 d 较伤前对照组显著升高,免疫球蛋白 IgG 和 IgM 在伤后各时间点,IgA 在伤后 1、4 d 比伤前显著降低;而 EIN+rhGH 组 CD3⁺ 淋巴细胞数仅在伤后 1 d 比伤前明显降低,随后逐渐回升,伤后 10 d 已接近正常水平,CD4⁺ 和 CD8⁺ 与伤前对照组比较差异无显著性,免疫球蛋白 IgG、IgM 在伤后 1、4 d,IgA 在伤后 1 d 较伤前对照组显著降低,随后逐渐回升。与 EIN 组比较,EIN+rhGH 组在伤后各时间点的 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、IgG、IgM 和 IgA 均有所升高,CD8⁺ 有所降低。说明 rhGH 可有效改善烫伤大鼠的细胞免疫和体液免疫功能。由于 IGF 受体在免疫组织细胞上广泛表达,rhGH 可通过刺激 IGF 以自分泌、旁分泌方式来调节免疫细胞生长、分化,刺激吞噬细胞移动,增强调理素的活化,从而提高机体免疫力^[16]。

临床研究和动物实验证实,rhGH 可加速烧伤创面的愈合,减少感染的发生,促进肠损伤后肠黏膜结构和功能的恢复^[17,18]。Chrysopoulo 等^[19]将 20 例烧伤面积大于 40% 的儿童随机分为安慰剂对照组(10 例)和 rhGH 组(rhGH 为 0.2 mg·kg⁻¹·d⁻¹,10 例),在伤后 21 和 42 d,rhGH 组血清 TNF- α 水平较对照组明显降低。本实验结果表明,EIN 组和 EIN+rhGH 组血清 TNF- α 、IL-6 水平均显著高于伤前水平,这与血清 LPS 升高的趋势基本一致。在伤后 4、7 和 10 d,EIN+rhGH 组血清中 LPS、TNF- α 和 IL-6 水平比 EIN 组亦显著降低。说明

rhGH 可强化肠内营养对肠黏膜的保护,进一步改善烫伤后机体免疫功能。这与 rhGH 保护肠黏膜,减少细菌、LPS 移位及炎性介质的释放有关。

参考文献:

- 1 De Souza D A, Greene L J. Pharmacological nutrition after burn injury[J]. J Nutr, 1998, 128: 797 - 803.
- 2 陆树良, 金曙雯, 张剑, 等. 烫伤后胃肠道营养支持中强化特殊营养素的实验研究[J]. 中华烧伤杂志, 2003, 19: 197 - 201.
- 3 Montejó J C, Zarazaga A, López-Martínez J, et al. Immunonutrition in the intensive care unit: a systematic review and consensus statement[J]. Clin Nutr, 2003, 22: 221 - 233.
- 4 张明谏, 王其芳, 张玲, 等. 严重烧伤患者核黄素营养状况的分析[J]. 中国危重病急救医学, 2000, 12: 79.
- 5 盛志勇, 杨红明, 柴家科, 等. 大面积烧伤后多器官功能障碍综合症的临床防治[J]. 中华外科杂志, 2000, 8: 41 - 42.
- 6 黎介寿. 高分解代谢患者的营养支持[J]. 中华烧伤杂志, 2002, 18: 197 - 198.
- 7 Daly J M, Reynolds J, Thom A, et al. Immune and metabolic effects of arginine in the surgical patients[J]. Ann Surg, 1988, 208: 512 - 523.
- 8 Strobl J S, Thoams M J. Human growth hormone[J]. Pharm Rev, 1994, 46: 11 - 32.
- 9 郝岱峰, 郭振荣, 柴家科. 生长激素对烧伤猪蛋白质氧化率及非蛋白呼吸高的影响[J]. 中国危重病急救医学, 2005, 17: 397 - 398.
- 10 仇旭光, 陈挺孙, 蒋金莉, 等. 重组人生长激素对严重烧伤后 C 反应蛋白的影响[J]. 中国危重病急救医学, 2003, 15: 225.
- 11 柴家科, 郝岱峰, 郭振荣, 等. 重组人生长激素对烧伤后高代谢的影响[J]. 解放军医学杂志, 1999, 24: 417 - 419.
- 12 Akcay M N, Akcay G, Solak S, et al. The effect of growth hormone on 24 - h urinary creatinine levels in burned patients[J]. Burns, 2001, 27: 42 - 45.
- 13 Ziegler T R, Rombeau J L, Young L S, et al. Recombinant human growth hormone enhances the metabolic efficacy of parenteral nutrition: a double - blind, randomized controlled study[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1992, 74: 865 - 873.
- 14 Kaznya T, Fujiyo S, Robert B, et al. Recombinant growth hormone modulates Th1 and Th2 cytokine response in burned mice[J]. Ann Surg, 1998, 228: 106 - 111.
- 15 陈华德, 赖文, 谢巨临, 等. 重组人生长激素在严重烧伤患者中的应用研究[J]. 中华整形烧伤外科杂志, 1999, 15: 214 - 217.
- 16 Saito H, Inoue T, Fukatsu K, et al. Growth hormone and the immune response to bacterial infection[J]. Horm Res, 1996, 45: 50 - 54.
- 17 宋国栋, 王德昌. 重组人生长激素对烧伤大鼠肠粘膜结构及细胞凋亡的影响[J]. 中华烧伤杂志, 2002, 18: 207 - 209.
- 18 邓诗琳, 曹丽萍. 重组人生长激素在烧伤营养支持中的作用及前景[J]. 中华烧伤杂志, 2001, 17: 197 - 199.
- 19 Chrysopoulo M T, Jeschke M G, Ramirez R J, et al. Growth hormone attenuates tumor necrosis factor α in burned children[J]. Arch Surg, 1999, 134: 283 - 286.

(收稿日期: 2005 - 08 - 31 修回日期: 2005 - 12 - 20)

(本文编辑: 李银平)