

# 早期肠内营养促进烧伤后肠道增殖修复的实验研究

王逸娟<sup>1</sup>, 刘曼曼<sup>1</sup>, 徐淑秀<sup>1</sup>, 吴丹<sup>2</sup>, 吴炜<sup>2</sup>, 彭曦<sup>2</sup>

**[摘要]** **目的:** 观察早期肠内营养对烧伤大鼠回肠黏膜增殖修复的影响并探讨其机制。**方法:** 采用 30% 体表面积Ⅲ度烧伤大鼠模型, 将 88 只 Wistar 大鼠随机分为假烧伤对照组(C 组)、早期肠内营养组(EEN 组, 烧伤后 6 h 开始实施肠内营养)和延迟肠内营养组(DEN 组, 烧伤后 24 h 开始实施肠内营养)。观察伤前(PBD 0)及烧伤后 0.5 d(PBD 0.5)、1 d(PBD 1)、3 d(PBD 3)、7 d(PBD 7)和 10 d(PBD 10)大鼠回肠黏膜<sup>3</sup>H-胸腺嘧啶核苷(<sup>3</sup>H-TdR)、<sup>3</sup>H-尿嘧啶核苷(<sup>3</sup>H-Uridine)和<sup>3</sup>H-亮氨酸(<sup>3</sup>H-Leucine)掺入率、增殖指数及回肠黏膜 DNA、RNA 和蛋白质含量的变化。**结果:** 烧伤后大鼠回肠黏膜<sup>3</sup>H-TdR、<sup>3</sup>H-Uridine 掺入率各时点均明显低于烧伤前, PBD1 ~ PBD10 EEN 组<sup>3</sup>H-TdR、<sup>3</sup>H-Uridine、<sup>3</sup>H-Leucine 掺入率均较 DEN 组增高( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ )。烧伤后大鼠回肠黏膜增殖指数均低于烧伤前 PBD0, EEN 组在 PBD1 ~ PBD10 均高于 DEN 组( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ )。大鼠回肠黏膜 DNA、RNA 和蛋白质含量 PBD1 ~ PBD10 均显著低于 PBD0, PBD3 ~ PBD10 EEN 组 DNA、RNA 和蛋白质含量均较 DEN 组增高( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ )。**结论:** 早期肠内营养有效地降低了烧伤后肠黏膜增殖受抑程度, 促进了肠黏膜修复。

**[关键词]** 肠内营养; 肠道; 增殖; 修复; 烧伤; 大鼠

**[中国图书资料分类法分类号]** R 459.9 **[文献标志码]** A

## Effect of early enteral nutrition on the repair of intestinal proliferation after burn

WANG Yi-juan<sup>1</sup>, LIU Man-man<sup>1</sup>, XU Shu-xiu<sup>1</sup>, WU Dan<sup>2</sup>, WU Wei<sup>2</sup>, PENG Xi<sup>2</sup>

(1. Department of Nursing, Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030; 2. Institute of Burn Research of Southwestern Hospital; State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, The Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the effects of early enteral nutrition on the repair of intestinal proliferation after burn in rat, and its mechanism. **Methods:** Eighty-eight Wistar rats with 30% of body surface area III degree burn were randomly divided into the normal control group (C group), early enteral nutrition (EEN group) and delayed enteral nutrition (DEN group). The EEN group and DEN group were treated with enteral nutrition at 6 and 24 hours after burn, respectively. The incorporation rates and proliferation indexes of <sup>3</sup>H-thymidine nucleoside <sup>3</sup>H-TdR, <sup>3</sup>H-Uridine and <sup>3</sup>H-Leucine, and the levels of DNA, RNA and protein in intestinal mucosal were detected before burn and at 0.5, 1, 3, 7 and 10 days after burn. **Results:** The incorporation rates of <sup>3</sup>H-TdR and <sup>3</sup>H-Uridine in ileum mucosal of rats at each points after burn were significantly lower than those before burn. The incorporation rates of <sup>3</sup>H-TdR, <sup>3</sup>H-Uridine and <sup>3</sup>H-Leucine at 1 to 10 days after burn in EEN group were higher than those in DEN group ( $P < 0.05$  to  $P < 0.01$ ). The proliferation indexes in intestinal mucosal of rats after burn were lower than those before burn, the incorporation rates at 1 to 10 days after burn in EEN group were higher than that in DEN group ( $P < 0.05$  to  $P < 0.01$ ). The levels of DNA, RNA and protein of rat ileum mucosal all group decreased remarkably after burn. The levels of DNA, RNA and protein in EEN group were obviously higher than those in DEN group ( $P < 0.05$  to  $P < 0.01$ ). **Conclusions:** The early enteral nutrition can effectively reduce the inhibition of intestinal mucosal proliferation, and promote the repair of intestinal mucosa after burn.

**[Key words]** enteral nutrition; intestine; proliferation; repair; burn; rat

20 世纪 80 年代以来, 肠黏膜屏障功能日益受到重视。严重创伤、烧伤及感染等病理状态下, 肠黏

膜屏障受损是导致肠源性感染、肠源性高代谢乃至多器官功能衰竭综合征的重要原因<sup>[1-2]</sup>。重度烧伤后肠黏膜不仅存在明显的组织结构受损, 由于缺血、缺氧持续存在以及过度的炎症反应, 导致肠上皮细胞增殖能力下降, 肠道修复能力降低<sup>[3]</sup>。多项研究<sup>[4-5]</sup>业已证实早期肠内营养 (early enteral nutrition, EEN) 能通过刺激肠道神经系统, 改善肠道血供, 减轻肠道损伤。但 EEN 是否能促进细胞增殖, 加速受损黏膜修复, 目前还不甚清楚, 本研究采用烧伤大鼠模型, 观察 EEN 对烧伤大鼠肠上皮细胞

**[收稿日期]** 2013-12-17

**[基金项目]** 重庆市自然科学基金重点资助项目 (cstc2013jjB0140)

**[作者单位]** 1. 蚌埠医学院 护理学系, 安徽 蚌埠 233030; 2. 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, 重庆 400038

**[作者简介]** 王逸娟 (1983 -), 女, 硕士, 护师。

**[通信作者]** 徐淑秀, 硕士研究生导师, 教授。E-mail: xxssxx53@sina.com; 彭曦, 硕士研究生导师, 教授。E-mail: pxlmm@163.com

增殖能力的影响,以期对临床烧伤合理使用 EEN 提供实验参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物模型

1.1.1 动物分组及烧伤模型制作 健康成年 Wistar 大鼠 88 只, 体重(230 ± 20)g, 雌雄不拘(第三军医大学附属大坪医院实验动物中心提供)。随机将大鼠分为 3 组: 早期肠内营养组(EEN 组)40 只, 延迟肠内营养组(DEN 组)40 只和假烧伤对照组(C 组)8 只。C 组于烧伤前(PBD 0)检测相应指标, EEN 组和 DEN 组分别于烧伤后 0.5 d(PBD 0.5)、1 d(PBD 1)、3 d(PBD 3)、7 d(PBD 7)和 10 d(PBD 10)检测相应指标(每个时点 8 只), 进行比较。大鼠烧伤前 12 h 背部电推剃毛, 禁食, 自由饮水。腹腔注射戊巴比妥钠 40 mg/kg 麻醉大鼠, C 组剃毛后不予烧伤, EEN 组和 DEN 组背部以凝固汽油燃烧 18 s, 造成 30% 总体表面积Ⅲ度烧伤(病理切片证实), 烧伤后即刻以复方氯化钠注射液 50 ml/kg 腹腔注射抗休克。创面涂 2% 碘酊抗感染, 每天 2 次。

1.1.2 营养素配方及灌喂方式 采用美制 ENSURE 营养液, 每 100g 营养素含 450 kcal, 热卡分布为: 蛋白质 14%, 脂肪 31.5%, 糖 54.5%。每次喂养前根据需要临时用开水配制。EEN 组: 烧伤后 12 h 开始灌喂肠内营养液 175 kcal · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>, 每天分别按其计划量分 2~3 次灌喂, 烧伤后第 1 天给予标准热量的 1/3, 第 2 天给予标准热量的 1/2, 从第 3 天起给予全量。DEN 组: 烧伤后 24 h 内, 以复方氯化钠注射液, 按 EEN 组等量、等时灌喂; 烧伤后第 2 天给予标准热量的 1/3, 第 3 天给予标准热量的 1/2, 从第 4 天起给予全量。C 组: 自由进食和饮水。

### 1.2 检测指标

1.2.1 肠黏膜<sup>3</sup>H-胸腺嘧啶核苷(<sup>3</sup>H-TdR)、<sup>3</sup>H-尿嘧啶核苷(<sup>3</sup>H-Uridine)和<sup>3</sup>H-亮氨酸(<sup>3</sup>H-Leucine)掺入率测定 处死大鼠前 1 h 尾静脉注入<sup>3</sup>H-TdR(22 ci/ml)和<sup>3</sup>H-Uridine(21 ci/ml); 处死前 30 min, 注入<sup>3</sup>H-Leucine(55 ci/ml)。各标志物用量均为 20 uci 100 g 体质量。大鼠处死后取全肠, 一端悬挂 10 g 法码, 准确刮取回肠(距回盲部 5 cm)10 cm × 1 cm 的黏膜。组织消化采用湿式氧化法, 加 1 ml 60% 的高氯酸, 再加 1 ml 30% 的过氧化氢, 100 °C 水浴约 30 min, 直至组织完全消化。取 0.4 ml 消化液, 加入 8 ml 液闪液中(溶剂为二甲苯, 含 0.5% PPO, 0.1% POPOP, 30% 乙二醇乙醚), 用 Beckman Ls6000TA 型液体闪烁记数仪自动液闪记数。

<sup>3</sup>H-TdR、<sup>3</sup>H-Uridine、<sup>3</sup>H-Leucine 均由中科院上海原子能研究所提供。

1.2.2 回肠黏膜细胞增殖指数的测定 采用流式细胞术检测。主要试剂与设备: 胰蛋白酶(华美生物工程公司), 碘化丙啶(PI, 上海试剂一厂)。FACSTAR Plus 流式细胞仪(BD 公司)。细胞悬液制备: 同前法刮取回肠黏膜 3 cm, 混存于液氮中, 合并检测。检测前日处理标本, 置 0.02% EDTA 液 5 ml, 室温 30 min 弃之, 加 0.5% EDTA 胰酶液 5 ml, 在 37 °C 恒温水浴中消化 30 min, 间断震荡 3~5 次。用 300 目铜网过滤, 1 000 r/min 离心 2 min, 沉淀物以 0.9% 氯化钠注射液洗 2~3 次(800 r/min, 2 min), 以 70% 乙醇固定单细胞悬液, 并调整细胞浓度约 10<sup>6</sup>/ml。置 4 °C 冰箱备检。检测: 弃固定剂, PBS 洗 2 次, 加 5 mg/ml 的 RNA 酶 0.5 ml, 混匀, 37 °C 水浴 30 min, 加 50 μg/ml 的 PI 染色液 0.5 ml, 摇匀, 避光冷藏 30 min, 上机检测, 每份标本分析 10 000 个细胞。据 G1、S、G2 及 M 各期细胞所占百分比, 计算增殖指数(S + G2 + M)。

1.2.3 回肠黏膜 DNA、RNA 及蛋白质含量测定 处死大鼠后刮取的回肠黏膜组织置于液氮中待测。采用改良 STS 法测定, 抽提回肠黏膜组织中的核酸, 并分离出 DNA、RNA, 用 Abraham 法<sup>[6]</sup>测定 DNA 含量, Schjeide 法<sup>[7]</sup>测定 RNA 含量, 凯氏定氮法测定蛋白质含量。

1.3 统计学方法 采用方差分析、*q* 检验及 *t* 检验。

## 2 结果

2.1 3 组大鼠一般情况 烧伤后 EEN 和 DEN 组大鼠液体复苏效果较好, 全部存活, C 组体质量无明显变化, EEN 和 DEN 组体质量均呈下降趋势, 其中 EEN 组体质量下降程度低于 DEN 组, 差异随烧伤后时间的延长而逐步加大。烧伤后创面苍白呈皮革样改变, 触之较硬、痛觉不明显, 可见栓塞血管网。随时间推移, 早期创面呈黑色焦痂, 经碘酊处理后, 痂皮完整、干燥、无渗出。后期创面局部有破溃, 少量的脓性分泌物及渗出。

### 2.2 回肠黏膜增殖活力变化

2.2.1 3 组大鼠回肠黏膜<sup>3</sup>H-TdR、<sup>3</sup>H-Uridine 和<sup>3</sup>H-Leucine 掺入率测定比较 DEN 组和 EEN 组大鼠烧伤后 PBD1~PBD10 回肠黏膜<sup>3</sup>H-TdR 和<sup>3</sup>H-Uridine 掺入率均较 PBD0(C 组)降低( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ ), DEN 组和 EEN 组<sup>3</sup>H-TdR 在烧伤后 10 d 掺入率最低, 分别是 PBD0(C 组)的 54.78% 和 69.44%。2 组除 PBD0.5<sup>3</sup>H-TdR 掺入率差异无统

计学意义 ( $P > 0.05$ ) 外, EEN 组其余各时点  $^3\text{H-TdR}$ 、 $^3\text{H-Uridine}$  掺入率均较 DEN 组增高 ( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ ), 以 PBD7 为例, EEN 组  $^3\text{H-TdR}$  比 DEN

组提高 16.76%。EEN 组回肠黏膜  $^3\text{H-Leucine}$  掺入率烧伤后 PBD1 ~ PBD10 均较 DEN 组显著增高 ( $P < 0.01$ ) (见表 1)。

表 1 2 组大鼠烧伤前后不同时点回肠黏膜  $^3\text{H-TdR}$ 、 $^3\text{H-Uridine}$ 、 $^3\text{H-Leucine}$  掺入率变化比较 ( $n_i = 8; \bar{x} \pm s; \text{CMP}/\text{cm} \times 10^3$ )

分组	PBD0(C 组)	PBD0.5	PBD1	PBD3	PBD7	PBD10	F	P	MS <sub>组内</sub>
$^3\text{H-TdR}$									
DEN	2.667 ± 0.265	2.095 ± 0.203**	1.536 ± 0.246**	1.685 ± 0.22**	2.041 ± 0.189**	1.461 ± 0.192**	33.51	<0.01	0.049
EEN	2.667 ± 0.265	2.173 ± 0.219**	1.941 ± 0.218**	2.120 ± 0.21**	2.383 ± 0.237*	1.852 ± 0.264**	12.71	<0.01	0.056
t	—	0.74	3.49	4.06	3.19	3.54	—	—	—
P	—	>0.05	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	—	—	—
$^3\text{H-Uridine}$									
DEN	2.13 ± 0.21	1.31 ± 0.12**	1.04 ± 0.17**	1.43 ± 0.22**	1.69 ± 0.14**	1.34 ± 0.17**	37.01	<0.01	0.031
EEN	2.13 ± 0.21	1.62 ± 0.17**	1.33 ± 0.15**	1.86 ± 0.21*	1.92 ± 0.22*	1.65 ± 0.14**	17.97	<0.01	0.035
t	—	4.21	3.62	4.00	2.49	3.98	—	—	—
P	—	<0.01	<0.01	<0.01	<0.05	<0.01	—	—	—
$^3\text{H-Leucine}$									
DEN	1.33 ± 0.13	0.62 ± 0.09**	0.56 ± 0.11**	1.03 ± 0.14**	1.13 ± 0.15**	0.85 ± 0.11**	47.19	<0.01	0.015
EEN	1.33 ± 0.13	0.68 ± 0.12**	0.75 ± 0.15**	1.38 ± 0.13	1.48 ± 0.13	1.09 ± 0.10**	56.33	<0.01	0.016
t	—	1.13	2.89	5.18	4.99	4.57	—	—	—
P	—	>0.05	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	—	—	—

q 检验: 与 PBD0(C 组) 比较 \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

2.2.2 3 组大鼠回肠黏膜增殖指数变化比较 DEN 组大鼠回肠黏膜增殖指数在烧伤后 PBD0.5 ~ PBD10, EEN 组在 PBD0.5 ~ PBD3 及 PBD10 均明显低于烧伤前 PBD0 ( $P < 0.01$ ); 2 组 PBD1 达到最低值, DEN 组为 C 组的 55.07%, EEN 组为 C 组的

66.53%。EEN 组 PBD7 恢复至最佳状态, 与 PBD0 (C 组) 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。PBD10 再度下降, EEN 组在 PBD1 ~ PBD10 均高于 DEN 组 ( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ ) (见表 2)。

表 2 2 组大鼠烧伤前后不同时点回肠黏膜增殖指数变化比较 ( $n_i = 8; \bar{x} \pm s$ )

分组	PBD0(C 组)	PBD0.5	PBD1	PBD3	PBD7	PBD10	F	P	MS <sub>组内</sub>
DEN 组	37.59 ± 2.81	31.03 ± 3.06**	20.70 ± 3.52**	23.30 ± 3.19**	30.44 ± 2.58**	24.88 ± 3.76**	30.44	<0.01	10.103
EEN 组	37.59 ± 2.81	29.73 ± 3.47**	25.01 ± 3.59**	31.58 ± 2.92**	36.61 ± 3.53	32.47 ± 2.81**	16.61	<0.01	10.285
t	—	0.79	2.42	5.42	3.99	4.57	—	—	—
P	—	>0.05	<0.05	<0.01	<0.01	<0.01	—	—	—

q 检验: 与 PBD0(C 组) 比较 \*  $P < 0.01$

2.3 3 组大鼠回肠黏膜修复效果比较 EEN 组和 DEN 组大鼠回肠黏膜 PBD0.5 ~ PBD10 DNA 含量均较 PBD0 降低 ( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ )。EEN 组和 DEN 组 DNA 含量 PBD1 降至最低, DEN 组为 C 组的 61.81%; EEN 组为 C 组的 68.6%。PBD3、PBD7 有所回升, 但仍未恢复正常, PBD10 再度下降。EEN 组 PBD1 ~ PBD10 DNA 含量均高于 DEN 组 ( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ )。除 EEN 组 PBD 0.5 RNA 含量较 PBD 0 无显著降低 ( $P > 0.05$ ) 外, EEN 组和 DEN 组其余各时点 RNA 含量均明显低于 PBD0 (C 组)

( $P < 0.01$ ), 以 PBD1 最低, DEN 组是 C 组的 58.25%; EEN 组是 C 组的 63.29%。EEN 组和 DEN 组 PBD0 和 PBD1 RNA 含量差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。EEN 组 PBD3 ~ PBD10 RNA 含量均明显高于 DEN 组 ( $P < 0.01$ )。回肠黏膜蛋白质含量 PBD0.5 ~ PBD10 均低于 PBD0 (C 组) ( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ )。DEN 组在 PBD10 最低, 为 C 组的 63.28%; EEN 组于 PBD1 最低, 为 C 组的 64.48%。EEN 组 PBD3 ~ PBD10 均较 DEN 组升高 ( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ ) (见表 3)。

表3 2组大鼠烧伤前后不同时点回肠黏膜DNA、RNA和蛋白质含量变化比较( $n_i=8; \bar{x} \pm s; \text{mg/cm}$ )

分组	PBD0(C组)	PBD0.5	PBD1	PBD3	PBD7	PBD10	F	P	MS <sub>组内</sub>
DNA									
DEN	105.73 ± 8.83	96.68 ± 9.84*	65.35 ± 7.01**	73.18 ± 7.12**	76.78 ± 8.45**	69.58 ± 8.17**	30.50	<0.01	68.797
EEN	105.73 ± 8.83	95.23 ± 6.83*	72.53 ± 6.22**	82.87 ± 8.08**	92.17 ± 8.45*	81.38 ± 8.17**	18.14	<0.01	61.124
t	—	0.34	2.17	2.54	3.64	2.89	—	—	—
P	—	>0.05	<0.05	<0.05	<0.01	<0.05	—	—	—
RNA									
DEN	208.80 ± 22.79	188.70 ± 16.87*	121.62 ± 13.72**	133.50 ± 15.02**	140.48 ± 13.74**	128.50 ± 12.11**	40.22	<0.01	258.877
EEN	208.80 ± 22.79	192.06 ± 15.09	132.16 ± 14.23**	165.50 ± 16.62**	168.33 ± 17.93**	149.17 ± 12.64**	21.81	<0.01	284.511
t	—	0.42	1.57	4.04	3.49	3.34	—	—	—
P	—	>0.05	>0.05	<0.01	<0.01	<0.01	—	—	—
蛋白质									
DEN	3.35 ± 0.31	3.04 ± 0.21*	2.16 ± 0.24**	2.39 ± 0.19**	2.42 ± 0.27**	2.12 ± 0.35**	28.05	<0.05	0.072
EEN	3.35 ± 0.31	3.08 ± 0.22*	2.27 ± 0.20**	2.71 ± 0.21**	2.86 ± 0.16**	2.48 ± 0.18**	25.98	<0.01	0.048
t	—	0.37	1.00	3.20	3.97	2.59	—	—	—
P	—	>0.05	>0.05	<0.01	<0.01	<0.05	—	—	—

q 检验:与PBD0(C组)比较 \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

### 3 讨论

烧伤后由于肠道长时间缺血缺氧和过度炎症反应导致细胞能量代谢障碍,细胞增殖速率下降<sup>[8-10]</sup>。本实验结果显示,肠上皮细胞<sup>3</sup>H-TdR、<sup>3</sup>H-Uridine、<sup>3</sup>H-Leucine 掺入量明显下降;DEN组及EEN组<sup>3</sup>H-TdR下降最为明显,在PBD10分别为烧伤前C组的54.78%和69.44%。同时发现,EEN组在PBD7时点比DEN组增高16.76%,与C组相比已差异无统计学意义,而DEN组则始终未达烧伤前水平。此外,<sup>3</sup>H-Uridine和<sup>3</sup>H-Leucine的变化与<sup>3</sup>H-TdR掺入量一致,且EEN组回升亦明显较DEN组高。以上结果表明:烧伤后无论是否实施EEN,三者掺入量的一致下降反映了回肠黏膜细胞的增殖和修复严重受挫。EEN较DEN在一定程度上改善了回肠黏膜的增殖活性。增殖指数检测也得到类似结果,DEN组与EEN组增殖指数均以PBD1最低,分别为C组的55.07%和66.53%。EEN组在PBD3、PBD7及PBD10均显著高于DEN组,尤以PBD3明显,为DEN组的135.4%。但在烧伤后12h,无论是EEN还是DEN组差异均无统计学意义,表明在烧伤早期强烈的应激反应和损伤作用下,EEN促进细胞增殖的效果还难以发挥。2组在PBD7增殖活性恢复至最高水平后,PBD10再次下降,可能与烧伤动物继发感染有关,此时大鼠多出现身体卷曲、闭眼、懒动、反应迟钝、呼吸急促等症状。创面感染的存在可加重烧伤后肠黏膜损害,从而使

肠黏膜细胞再生和修复在伤后相当长时期内受到影响<sup>[11]</sup>。

损伤与增殖受抑是肠黏膜屏障完整性破坏的基本原因,而肠黏膜增殖活力受抑程度的高低变化反映了烧伤后抑制增殖的复杂因素与机体修复潜力的对比。因而我们曾推测肠黏膜遭受烧伤早期严重损伤后,机体的适应性修复应当使肠黏膜细胞有一个较正常情况下“过度”增殖的过程。但是本研究中2组在PBD3~PBD10却均未观察到上述现象,其机制可能与烧伤后持续存在的细胞损害和肠上皮细胞能量代谢障碍等因素有关。

烧伤后肠道修复延迟不仅体现在肠上皮细胞增殖能力下降,其蛋白合成也发生障碍。本实验结果显示,烧伤大鼠回肠黏膜蛋白含量较伤前明显降低,提示EEN对促进细胞蛋白合成有一定作用,但在烧伤3d后才显示出明显差异,从另一个角度证实EEN的疗效必需有一个积累过程,很难立竿见影,这也是临床使用肠内营养常遇到的问题。总体而言,烧伤对肠黏膜造成严重的损伤,任何治疗手段都无法完全逆转烧伤造成的细胞损害,只能是降低其损伤程度,对肠内营养而言也是如此。同时有效的肠内营养必需考虑合适的营养时机,从理论上讲应该尽早给予,否则细胞损伤难以逆转,使促增殖效应明显下降。当然实施肠内营养还必需考虑肠道的耐受能力,本研究在烧伤后6h给予肠内营养,开始给

(下转第1614页)

方法更为便利。玻璃化冷冻后人卵巢组织正常形态始基卵泡率较新鲜组织下降,但仍能较好地保存人类卵巢组织,可用于人类卵巢组织的冷冻保存。

#### [ 参 考 文 献 ]

- [1] Meirow D, Nugent D. The effects of radiotherapy and chemotherapy on female reproduction [J]. *Hum Reprod Update*, 2001, 7 (6): 535 - 543.
- [2] Jeruss JS, Woodruff TK. Preservation of fertility in patients with cancer [J]. *N Engl J Med*, 2009, 360 (9): 902 - 911.
- [3] Aubard Y, Poirot C, Piver P, *et al.* Are there indications for ovarian tissue cryopreservation? [J]. *Fertil Steril*, 2001, 76 (2): 414 - 415.
- [4] Schover LR, Brey K, Lichtin A, *et al.* Knowledge and experience regarding cancer, infertility, and sperm banking in younger male survivors [J]. *J Clin Oncol*, 2002, 20 (7): 1880 - 1889.
- [5] Gougeon A. Dynamics of follicular growth in the human; a model from preliminary results [J]. *Human Reproduction*, 1986, 1 (2): 81 - 87.
- [6] Wang Y, Xiao Z, Li L, *et al.* Novel needle immersed vitrification; a practical and convenient method with potential advantages in mouse and human ovarian tissue cryopreservation [J]. *Hum Reprod*, 2008, 23 (10): 2256 - 2265.
- [7] Bleyer WA. The impact of childhood cancer on the United States and the world [J]. *CA Cancer J Clin*, 1990, 40 (6): 355 - 367.
- [8] Wallace WH, Thomson AB, Saran Fetal. Predicting age at ovarian failure following radiation to a field that includes the ovaries [J]. *Int J Radiat Biol Phys*, 2005, 62 (3): 738 - 744.
- [9] Oktay K, Karlikaya GG, Aydin BA. Ovarian cryopreservation and transplantation basic aspects [J]. *Mol Cell Toxicol*, 2000, 169 (1/2): 105 - 108.
- [10] Oktay K, Buyuk E, Vecek L, *et al.* Embryo development after heterotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue [J].

*Lancet*, 2004, 363 (9412): 837 - 840.

- [11] Meirow D, Levron J, Eldar-Geva T, *et al.* Pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a patient with ovarian failure after chemotherapy [J]. *N Engl J Med*, 2005, 353 (3): 318 - 321.
- [12] Sánchez-Serrano M, Crespo J, Mirabet V, *et al.* Twins born after transplantation of ovarian cortical tissue and oocyte vitrification [J]. *Fertil Steril*, 2010, 93 (1): 268.
- [13] Lass A, Silye IT, Abrants IX, *et al.* Follicular density in ovarian biopsy of infertile women: a novel method to assess ovarian reserve [J]. *Human Reprod*, 1997, 12 (5): 1028 - 1031.
- [14] Sadeu JC, Cortvrint R, Ron-El R, *et al.* Morphological and ultrastructural evaluation of cultured frozen-thawed human fetal ovarian tissue [J]. *Fertil Steril*, 2006, 85 (Suppl 1): 1130 - 1141.
- [15] Vajta G, Nagy ZP. Are programmable freezers still needed in the embryo laboratory review on vitrification [J]. *Reprod Biomed Online*, 2006, 12 (6): 779 - 796.
- [16] Kagawa N, Silber S, Kuwayama M. Successful vitrification of bovine and human ovarian tissue [J]. *Reprod Biomed Online*, 2009, 18 (4): 568 - 577.
- [17] Chen SU, Chien CL, Wu MY, *et al.* Novel direct cover vitrification for cryopreservation of ovarian tissues increases follicle viability and pregnancy capability in mice [J]. *Hum Reprod*, 2006, 21 (11): 2794 - 2800.
- [18] Isachenko E, Isachenko V, Nawroth F, *et al.* Human ovarian tissue preservation: is vitrification acceptable method for assisted reproduction [J]. *Cryo Letters*, 2008, 29 (4): 301 - 314.
- [19] Santos RR, Tharasanit T, Van Haeflen T, *et al.* Vitrification of goat preantral follicles enclosed in ovarian tissue by using conventional and solid surface vitrification methods [J]. *Cell Tissue Res*, 2007, 327 (1): 167 - 176.

( 本文编辑 刘璐 )

( 上接第 1610 页 )

予的剂量为标准剂量的 1/3, 第 2 天给予 1/2, 之后再给予全量是比较恰当的, 可使促细胞增殖效应明显高于延迟肠内营养。通过本研究证实, EEN 减轻肠道损伤, 促进修复的机制与其促进细胞增殖, 加快蛋白质合成密切相关。

#### [ 参 考 文 献 ]

- [1] 蔡晨, 郭光华, 徐庆连, 等. 肠内免疫营养对烫伤大鼠肠黏膜损伤的保护作用 [J]. *中国危重病急救医学*, 2006, 18 (10): 609 - 612.
- [2] Gianotti L, Nelson JL, Alexander JW, *et al.* Post injury hypermetabolic response and magnitude of translocation; Prevention by early enteral nutrition [J]. *Nutrition*, 1994, 10 (3): 225 - 231.
- [3] Guo GH, Bai XJ, Cai C, *et al.* The protective effect of different enteral nutrition combined with growth hormone on intestinal mucosal damage of scalded rats [J]. *Burns*, 2010, 36 (8): 1283 - 1288.
- [4] Chen ZY, Wang SL, Yu B, *et al.* A comparison study between early enteral nutrition and parenteral nutrition in severe burn

patients [J]. *Burns*, 2007, 33 (6): 708 - 712.

- [5] Khorasani EN, Mansouri F. Effect of early enteral nutrition on morbidity and mortality in children with burns [J]. *Burns*, 2010, 36 (7): 1067 - 1071.
- [6] Abraham GN. Modified diphenylamine reaction for increased sensitivity [J]. *Anal Biochem*, 1972, 49 (2): 547 - 549.
- [7] Schjeide OA. Micro-estimation of RNA by the cupric ion catalyzed orcinol reaction [J]. *Biochem*, 1969, 27 (3): 473 - 483.
- [8] Marion R, Coeffier MM, Gargala G, *et al.* Glutamine and CXC chemokines IL-8, Mig, IP-10 and I-TAC in human intestinal epithelial cells [J]. *Clin Nutr*, 2004, 23 (4): 579 - 585.
- [9] Wasa M, Soh H, Shimizu Y, *et al.* Glutamine stimulates amino acid transport during ischemia/reperfusion in human intestinal epithelial cells [J]. *J Surg Res*, 2005, 123 (1): 75 - 81.
- [10] Shao L, Huang Q, He M, *et al.* Changes of occludin expression in intestinal mucosa after burn in rats [J]. *Burns*, 2005, 31 (7): 838 - 844.
- [11] 吴修文, 王焕, 吴炜, 等. 重组人肠三叶因子减轻烧伤后肠源性高代谢的实验研究 [J]. *重庆医学*, 2012, 41 (15): 1465 - 1470.

( 本文编辑 刘畅 )