

# 烧伤大鼠肠黏膜损伤肠内营养实施时机的选择

刘曼曼<sup>1</sup>, 王逸娟<sup>1</sup>, 吴 炜<sup>2</sup>, 徐淑秀<sup>1</sup>, 彭 曦<sup>2</sup>

**[摘要]** **目的:**探索大鼠烧伤后最佳的肠内营养(EN)实施时机,观察早期肠内营养(EEN)对烧伤后肠黏膜损伤的影响。**方法:**采用30%总体表面积Ⅲ度烧伤大鼠模型,将88只Wistar大鼠随机分为假伤对照组(C组)8只,早期肠内营养组(EEN组,于伤后6h开始实施EN)和延迟肠内营养组(DEN组,于伤后24h开始实施EN)各40只(每时相点8只)。检测伤前和烧伤后0.5、1、3、7和10d大鼠肠黏膜跨膜电位差(PD)、肠黏膜血流量(IMBF)、肠黏膜内pH(pHi)值、血浆内毒素(LPS)含量和二胺氧化酶(DAO)活性,并计算肠黏膜损伤指数。**结果:**EEN组和DEN组大鼠烧伤后天数(PBD)0.5~10肠黏膜PD、IMBF和空肠pHi值均低于C组(PBD 0)( $P < 0.01$ ),而血浆LPS含量、DAO活性及肠黏膜损伤指数均高于C组( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ )。EEN组大鼠PBD 1~10肠黏膜PD、IMBF和PBD 1、PBD 3、PBD 10空肠pHi值均高于DEN组( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ ),而PBD 3~10 LPS及PBD 3血浆DAO活性均低于DEN组( $P < 0.01$ )。EEN组与DEN组比较,未出现明显的不适症状,未见呕吐、腹胀与腹泻。**结论:**较早给予EN能改善烧伤后肠黏膜血供,减轻肠道受损程度,维护肠黏膜结构与功能,未见明显不良反应。

**[关键词]** 烧伤;肠内营养;肠黏膜血流量;肠道损伤;大鼠

**[中图分类号]** R 647 **[文献标志码]** A **DOI:** 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2015.03.010

## The implementation timing of enteral nutrition and its impact on intestinal mucosa damage in burned rats

LIU Man-man<sup>1</sup>, WANG Yi-juan<sup>1</sup>, WU Wei<sup>2</sup>, XU Shu-xiu<sup>1</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 investigate the best time of enteral nutrition(EN), and observe the effects of early enteral nutrition(EEN) on intestinal mucosa damage after burn injury. **Methods:** Rats were inflicted with 30% total body surface area full-thickness burn. Eighty-eight Wistar rats were randomly divided into the sham burn control group(C group), early enteral nutrition group(EEN group, in which enteral nutrition was given at the sixth hour after burn) and delayed enteral nutrition group(DEN group, in which enteral nutrition began at the 24th hour after burn). The intestinal mucosal potential difference(PD), intestinal mucosal blood flow(IMBF), jejunum pH(pHi), level of plasma lipopolysaccharide(LPS), diamine oxidase(DAO) activity and intestinal mucosa damage index in all rats were detected before burn and at postburn 0.5, 1, 3, 7 and 10 days(PBD). **Results:** After burn injury, compared with C group, the levels of PD, IMBF and pHi in burned rats were markedly decreased( $P < 0.01$ ), while the LPS content, DAO activity and mucosa damage index were significantly increased( $P < 0.05$  to  $P < 0.01$ ). Compared with DEN group, the PD and IMBF at PBD 1 to 10 and pHi at PBD 1, PBD 3, PBD 10 in EEN group were significantly high( $P < 0.05$  to  $P < 0.01$ ), but the LPS content at PBD 3 to 10 and DAO activity at PBD 3 were obviously low in EEN group( $P < 0.01$ ). No apparent discomfort, such as vomit, abdominal distension and diarrhea in two groups were found. **Conclusions:** Early enteral nutrition can improve the intestinal mucosal blood flow, reduce the intestinal damage, and maintain the structure and function of intestinal mucosa after burn injury.

**[Key words]** burn; enteral nutrition; intestinal mucosal blood flow; intestinal injury; rats

烧伤应激、缺血缺氧和过度炎症反应可导致肠道组织结构受损,肠黏膜屏障破坏,是引发烧伤后肠

源性感染和肠源性高代谢的病理生理基础<sup>[1-2]</sup>。如何减轻烧伤后肠道受损程度,促进肠道修复是烧伤基础与临床研究的重要课题。肠内营养(enteral nutrition, EN)是符合消化生理的营养模式,与肠外营养相比,EN在减轻肠道损伤及维护肠黏膜屏障等方面具有独特优势,其疗效已得到公认<sup>[3-5]</sup>。但在如何实施EN上仍存争议,争论的焦点主要集中在实施EN的时机。为了探索烧伤后实施EN的最佳时机,本研究采用烧伤大鼠模型,观察早期EN(early EN, EEN)和延迟EN(delay EN, DEN)对烧伤后肠

[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] 刘曼曼(1986-),女,硕士研究生,护师。

[通信作者] 徐淑秀,教授, E-mail: xxssxx53@sina.com; 彭曦,教授, E-mail: pxlrmm@163.com

道损伤的影响,以期为烧伤临床合理使用 EN 提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物模型

1.1.1 烧伤模型制作及分组 实验用健康成年 Wistar 大鼠 88 只,体质量(230 ± 20)g(第三军医大学大坪医院动物中心提供),标准动物饲料喂养 1 周后用于实验。随机将大鼠分为 3 组:假伤对照(C)组 8 只、EEN 组和 DEN 组各 40 只(每个时相点 8 只)。C 组麻醉后背部电推剃毛,不予烧伤,自由进食和饮水,EEN 组和 DEN 组烧伤前麻醉剃毛,禁食 12 h,自由饮水。腹腔注射 1% 戊巴比妥钠 40 mg/kg 麻醉大鼠,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),伤后即刻以复方乳酸林格液 50 ml/kg 腹腔注射抗休克。

1.1.2 营养实施方案 采用美制肠内营养粉(ENSURE)剂灌胃,该营养剂每 100 g 含 1 881 kJ,热量分布为:蛋白质 14%、脂肪 31.5%、糖 54.5%。每次喂养前临时用温水调制,使营养液热量密度为 6.27 kJ/ml,大鼠能量需求按  $731.5 \text{ kJ} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  计算。EEN 组:伤后 6 h 开始灌喂 ENSURE,每天分别按其计划量分 2 次灌胃。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:伤后第 2 天开始灌喂 ENSURE,给予标准热量的 1/3,伤后第 3 天给予标准热量的 1/2,从第 4 天起给予全量。

1.1.3 时相设置 EEN 和 DEN 组大鼠按烧伤后天数(postburn days,PBD)分 0.5、1、3、7、10 d 5 个时相点,下称 PBD 0.5、PBD 1、PBD 3、PBD 7 和 PBD 10。

### 1.2 检测指标和方法

1.2.1 肠黏膜跨膜电位差(PD)测定 银-氯化银电极由第三军医大学化学教研室制作。1% 戊巴比妥钠腹腔注射,浅麻醉大鼠,测定时将两支 Ag-AgCl 电极接在 PHS-10A 型数字式酸度离子计上,在回肠末端系膜对侧剪开 0.5 cm 小口,测定电极轻轻接触肠黏膜,参比电极接触腹部切口皮下,稳定后记下读数,重复两次取其均值。

1.2.2 肠黏膜血流量(IMBF) 采用微循环多普勒血流仪,检测 IMBF。浅麻醉下开腹,检测时在回肠末端系膜对侧剪开 0.5 cm 肠壁,将探头轻轻接触系

膜侧肠壁,稳定后记下读数,重复 2 次取均值。

1.2.3 空肠黏膜内 pH(pHi)测定 用间接法测定,浅麻醉大鼠,在 AVL990-S 型血气分析仪上行常规血气分析,测出肠腔液二氧化碳分压(PCO<sub>2</sub>)和动脉血碳酸氢根(HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>)浓度。按 Henderson-Hasselbalch 公式:  $\text{pHi} = 6.1 + \log(\text{HCO}_3^- / 0.037 \text{ PCO}_2)$  计算 pHi(0.037 为 CO<sub>2</sub> 的血浆溶解度)。

1.2.4 血浆内毒素(LPS)测定 采用基质偶氮显色鲎试剂测定,试剂盒由上海市医学化研所提供,按说明书操作。

1.2.5 血浆二胺氧化酶(DAO)活性测定 参见 Hosoda<sup>[6]</sup>报道的方法。测定波长为 436 nm,试剂及 DAO 标准品均购自 Sigma 公司。

1.2.6 病理形态学检查 回肠组织切片 HE 染色,用 Olympus 显微镜观察切片并摄影。黏膜损伤指数计分,计分方法:0 分,肠黏膜绒毛正常;1 分,绒毛顶端上皮下出现囊状间隙,并伴有毛细血管充血;2 分,上皮间下间隙扩大,中度固有层水肿,中央乳糜管扩张;3 分,固有层明显水肿,肠黏膜上皮层细胞变性、坏死,少数绒毛顶端脱落;4 分,上皮细胞层变性、坏死、脱落,部分绒毛脱落,固有层裸露,毛细血管扩张、充血;5 分,绒毛脱落,固有层崩解,出血或溃疡形成。

1.2.7 不良反应 观察灌喂 ENSURE 后大鼠的反应,包括呕吐、腹胀与腹泻。

1.3 统计学方法 采用方差分析和 *q* 检验及 *t* 检验。

## 2 结果

实验中大鼠精神较好,无死亡情况,EEN 和 DEN 组大鼠对 ENSURE 灌胃的耐受程度均较好,未出现呕吐、腹胀与腹泻。烧伤后 2 组大鼠 PBD 0.5 ~ 10 肠黏膜 PD、IMBF 和空肠 pHi 均明显低于 C 组( $P < 0.01$ ),而 2 组大鼠血浆 LPS、DAO 活性和肠黏膜损伤指数均高于 C 组( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ )。EEN 组大鼠 PBD 1 ~ 10 肠黏膜 PD、IMBF 和 PBD 1、PBD 3、PBD 10 pHi 及 PBD 1 LPS 均高于 DEN 组( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ ),而 EEN 组大鼠 PBD 3 ~ 10 LPS 及大鼠 PBD 3 血浆 DAO 活性均低于 DEN 组( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ );烧伤后 2 组大鼠肠黏膜损伤指数差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )(见表 1 ~ 6)。

表1 烧伤前后 EEN 和 DEN 组大鼠回肠黏膜 PD 的变化 ( $n_i = 8; \bar{x} \pm s; \text{mV}$ )

分组	C 组	PBD 0.5	PBD 1	PBD 3	PBD 7	PBD 10	F	P	MS <sub>组内</sub>
DEN	13.07 ± 1.44	5.85 ± 1.13 **	5.60 ± 1.17 **	7.28 ± 0.90 **	10.41 ± 1.01 **	6.65 ± 1.53 **	47.63	<0.01	1.482
EEN	13.07 ± 1.44	6.08 ± 1.14 **	6.83 ± 0.88 **	8.98 ± 1.39 **	11.76 ± 1.23 *	8.24 ± 0.89 **	43.33	<0.01	1.398
t	—	0.41	2.38	2.91	2.40	2.54	—	—	—
P	—	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	—	—	—

q 检验:与 C 组比较 \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

表2 烧伤前后 EEN 和 DEN 组大鼠回肠 IMBF 的变化 ( $n_i = 8; \bar{x} \pm s; \text{mV}$ )

分组	C 组	PBD 0.5	PBD 1	PBD 3	PBD 7	PBD 10	F	P	MS <sub>组内</sub>
DEN	412 ± 47.30	265 ± 22.67 **	232 ± 20.26 **	249 ± 25.29 **	309 ± 27.12 **	315 ± 28.58 **	38.10	<0.01	892.264
EEN	412 ± 47.30	286 ± 21.14 **	294 ± 24.71 **	338 ± 27.49 **	368 ± 23.47 *	400 ± 32.94	23.71	<0.01	947.726
t	—	1.92	5.49	6.74	4.65	5.51	—	—	—
P	—	>0.05	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	—	—	—

q 检验:与 C 组比较 \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

表3 烧伤前后 EEN 和 DEN 组大鼠空肠黏膜 pH<sub>i</sub> 值的变化 ( $n_i = 8; \bar{x} \pm s$ )

分组	C 组	PBD 0.5	PBD 1	PBD 3	PBD 7	PBD 10	F	P	MS <sub>组内</sub>
DEN	7.42 ± 0.08	7.19 ± 0.03 **	7.21 ± 0.09 **	7.22 ± 0.04 **	7.31 ± 0.08 **	7.24 ± 0.08 **	12.03	<0.01	0.005
EEN	7.42 ± 0.08	7.19 ± 0.06 **	7.30 ± 0.04 **	7.32 ± 0.05 **	7.34 ± 0.06 **	7.32 ± 0.05 **	13.09	<0.01	0.003
t	—	0.00	2.58	4.42	0.85	2.40	—	—	—
P	—	>0.05	<0.05	<0.01	>0.05	<0.05	—	—	—

q 检验:与 C 组比较 \*  $P < 0.01$

表4 烧伤前后 EEN 和 DEN 组大鼠血浆 LPS 含量的变化 ( $n_i = 8; \bar{x} \pm s; \text{U/ml}$ )

分组	C 组	PBD 0.5	PBD 1	PBD 3	PBD 7	PBD 10	F	P	MS <sub>组内</sub>
DEN	0.17 ± 0.05	0.45 ± 0.08 **	0.43 ± 0.04 **	0.93 ± 0.10 **	1.05 ± 0.11 **	1.45 ± 0.11 **	245.08	<0.01	0.007
EEN	0.17 ± 0.05	0.49 ± 0.06 **	0.52 ± 0.08 **	0.64 ± 0.08 **	0.73 ± 0.06 **	1.02 ± 0.09 **	124.91	<0.01	0.005
t	—	1.13	2.85	6.41	7.22	8.56	—	—	—
P	—	>0.05	<0.05	<0.01	<0.01	<0.01	—	—	—

q 检验:与 C 组比较 \*  $P < 0.01$

表5 烧伤前后 EEN 和 DEN 组大鼠血浆 DAO 活性的变化 ( $n_i = 8; \bar{x} \pm s; \text{U/ml}$ )

分组	C 组	PBD 0.5	PBD 1	PBD 3	PBD 7	PBD 10	F	P	MS <sub>组内</sub>
DEN	0.37 ± 0.07	1.15 ± 0.31 **	1.33 ± 0.53 **	0.95 ± 0.21 **	0.72 ± 0.14 *	0.77 ± 0.16 *	11.78	<0.01	0.079
EEN	0.37 ± 0.07	1.12 ± 0.27 **	1.24 ± 0.36 **	0.63 ± 0.14 *	0.61 ± 0.11 *	0.64 ± 0.13	21.21	<0.01	0.043
t	—	0.23	0.40	3.59	1.75	1.78	—	—	—
P	—	>0.05	>0.05	<0.01	>0.05	>0.05	—	—	—

q 检验:与 C 组比较 \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

表6 烧伤前后 EEN 和 DEN 组大鼠肠黏膜损伤指数的变化 ( $n_i = 8; \bar{x} \pm s$ )

分组	C 组	PBD 0.5	PBD 1	PBD 3	PBD 7	PBD 10	F	P	MS <sub>组内</sub>
DEN	—	2.5 ± 0.53	2.6 ± 0.84	3.0 ± 0.67	2.8 ± 0.42	3.0 ± 0.82	0.91	>0.05	0.457
EEN	—	2.3 ± 0.67	2.5 ± 0.85	2.2 ± 0.92	2.3 ± 0.48	2.5 ± 0.53	0.28	>0.05	0.506
t	—	0.99	0.24	1.99	1.97	1.45	—	—	—
P	—	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	—	—	—

### 3 讨论

烧伤后血管内皮细胞受损,血管通透性增加,导致有效血容量下降,机体以牺牲外周组织血供为代价,维持心脏和大脑等重要脏器的血供,在各个脏器中胃肠道的血供下降最为明显<sup>[7]</sup>。本研究发现,大鼠烧伤后 IMBF 大幅下降,伤后第 1 天达低谷,随后有所回升,但至伤后第 10 天仍低于伤前,说明烧伤后肠道缺血发生早,持续时间长<sup>[7-8]</sup>。EEN 能明显减轻肠道缺血程度,在各个时相点 EEN 组 IMBF 均明显高于 DEN 组,说明 EEN 能有效刺激肠黏膜,改善肠道血液灌流<sup>[9]</sup>。EN 改善肠道血供的机制与其对肠黏膜的有效刺激有关,而且这种刺激越早越有利于改善烧伤后肠道神经内分泌紊乱,维护肠道正常血供。尽管烧伤导致肠黏膜损害的机制较为复杂,影响因素较多,但严重缺血缺氧是引起肠黏膜受损的始发环节,又可能是多种不良因素诱发和加重肠黏膜损害的最终途径<sup>[10]</sup>,因而在烧伤引发的肠黏膜屏障受损中占据主导地位。缺血缺氧除了直接导致细胞损伤外,还能造成肠黏膜细胞能量代谢障碍。

烧伤后肠道缺血缺氧导致细胞有氧氧化受阻,组织过度兴奋而氧需求增加,无氧酵解增强<sup>[11]</sup>,乳酸堆积导致细胞内 pH<sub>i</sub> 值下降。本实验结果显示,2 组烧伤大鼠肠黏膜 pH<sub>i</sub> 均明显低于 C 组 ( $P < 0.01$ ),EEN 组 PBD 1、PBD 3 和 PBD 10 细胞内 pH<sub>i</sub> 值均明显高于 DEN 组 ( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ )。提示 EEN 在改善肠黏膜血液灌流的基础上改善了细胞代谢,适度降低无氧酵解,减轻乳酸堆积造成的细胞酸化,有利于改善细胞能量代谢,维护细胞功能。EEN 通过有效刺激肠黏膜,增加黏膜血供,改善肠上皮细胞能量代谢,从而减轻烧伤后肠道损伤<sup>[12]</sup>。本实验结果显示,反映肠黏膜完整性的电生理指标 PD,EEN 组 PBD 1~10 均高于 DEN 组 ( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ ),而血浆 DAO 活性 PBD 3 时明显低于 DEN 组 ( $P < 0.01$ ),2 组肠黏膜损伤指数差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),从而维护了肠黏膜屏障,减轻了细菌和内毒素移位。

也有不赞成 EEN 的观点,主要是担心烧伤早期肠道充血、水肿以及运动和吸收功能障碍,EEN 会增加胃肠负担,造成胃肠潴留,加重胃肠损害。本研究结果证实,烧伤后 6 h 开始给予少量 EN 是安全有效的,EEN 组大鼠并未出现呕吐、腹胀和腹泻,且肠道血供改善,组织损伤减轻。当然 EEN 必需循序渐进,要充分考虑烧伤后肠道的耐受能力,本实验开始给予标准剂量的 1/3,第 2 天给予 1/2,后再考虑

给予全量是恰当的。EEN 的目的不是在于给予多少能量,而在于尽早对胃肠道进行有效刺激<sup>[13]</sup>,以改善肠道神经内分泌紊乱,促进肠道血供的恢复,改善细胞能量代谢,最终达到减轻烧伤后肠黏膜损伤并促进修复、最大限度地维护肠黏膜屏障的目的<sup>[14]</sup>。DEN 不能及时纠正肠道组织缺血缺氧,细胞损伤和炎症反应一旦启动就难以逆转,因此,实施 EN 的时机非常重要,总的原则是应尽量早地给予 EN,在早期可不考虑能量平衡,根据肠道耐受能力给予少量营养物质,适度刺激肠道<sup>[15]</sup>,而让肠道“休息”的禁食策略可加重烧伤后肠黏膜损伤。

### [参 考 文 献]

- [1] 汪仕良,邓诗琳. 烧伤代谢营养学[M]. 石家庄:河北科技出版社,2009:32-41.
- [2] 吴修文,王煥,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.
- [3] Qi ZD, Chi Q. Intestinal dysfunction and enteral nutrition[J]. Chin J Gastrointest Surg,2012,15(5):530-532.
- [4] Guo G, Bai X, 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.
- [5] Tuna M, Latifi R, El-Menyar A, et al. Gastrointestinal tract access for enteral nutrition in critically ill and trauma patients: indications, techniques, and complications[J]. Eur J Trauma Emerg Surg,2013,39(3):235-242.
- [6] Hosoda N, Nishi M, Nakagawa M, et al. Structural and functional alterations in the gut of parenterally or enterally fed rats[J]. J Surg Res,1989,47(2):129-133.
- [7] 车晋伟,胡森,吴静,等. 烧伤休克犬肠黏膜血流量动态监测方法的研究[J]. 感染、炎症、修复,2008,9(1):15-17.
- [8] 贺立新,郭振荣. 烧伤休克期复苏:回顾与进展[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版,2012,6(18):5389-5392.
- [9] Liu DT, Brown DC, Silverstein DC. Early nutritional support is associated with decreased length of hospitalization in dogs with septic peritonitis:a retrospective study of 45 cases(2000-2009)[J]. J Vet Emerg Crit Care,2012,22(4):453-459.
- [10] 曹瑞芬,张育才,张宇鸣. 严重感染及脓毒性休克时胃肠损害的研究进展[J]. 中华儿科杂志,2008,46(2):154-157.
- [11] 周锐华,鄢文海. 危重烧伤应激反应与研究现状[J]. 感染、炎症、修复,2006,7(1):50-52.
- [12] Fan J, Meng QY, Guo GH, et al. Effects of early enteral nutrition supplemented with arginine on intestinal mucosal immunity in severely burned mice[J]. Clin Nutr,2010,29(1):124-130.
- [13] Kreymann KG, Berger MM, Deutz NE, et al. ESPEN Guidelines on Enteral Nutrition: Intensive care[J]. Clin Nutr,2006,25(2):210-223.
- [14] 蔡浩,李文婷,朱家源,等. 重度烧伤患者肠内早期营养支持的临床研究[J]. 中外医学研究,2011,9(35):12-13.
- [15] Lu G, Huang J, Yu J, et al. Influence of early post-burn enteral nutrition on clinical outcomes of patients with extensive burns[J]. J Clin Biochem Nutr,2011,48(3):222-225.