

益生菌对肝硬化患者肠黏膜通透性的影响

范妮, 田字彬, 孔心涓, 赵清喜, 魏良洲

范妮, 田字彬, 孔心涓, 赵清喜, 魏良洲, 青岛大学医学院附属医院消化科 山东省青岛市 266003

作者贡献分布: 此课题由田字彬与范妮设计; 临床病例选择由孔心涓、赵清喜及魏良洲协助完成; 研究过程及数据分析论文写作由田字彬指导, 范妮操作完成。

通讯作者: 田字彬, 教授, 266003, 山东省青岛市江苏路16号, 青岛大学医学院附属医院消化科. tianzb@qdmh.qd.sd.cn
电话: 0532-82911302

收稿日期: 2009-10-29 修回日期: 2009-11-20

接受日期: 2009-11-30 在线出版日期: 2009-12-28

Bifico improves intestinal macromolecular permeability in patients with liver cirrhosis

Ni Fan, Zi-Bin Tian, Xin-Juan Kong, Qing-Xi Zhao, Liang-Zhou Wei

Ni Fan, Zi-Bin Tian, Xin-Juan Kong, Qing-Xi Zhao, Liang-Zhou Wei, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China

Correspondence to: Professor Zi-Bin Tian, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, 16 Jiangsu Road, Qingdao 266003, Shandong Province, China. tianzb@qdmh.qd.sd.cn

Received: 2009-10-29 Revised: 2009-11-20

Accepted: 2009-11-30 Published online: 2009-12-28

Abstract

AIM: To evaluate the effects of Bifico (live *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and *Enterococcus*, oral capsules) on the intestinal mucosal barrier in patients with liver cirrhosis.

METHODS: Thirty-four patients with portal hypertension and liver cirrhosis (Child-Pugh grade B) were randomly divided into two groups: patients receiving only routine symptomatic treatment (routine treatment group) and those receiving both routine symptomatic treatment and oral Bifico capsules 420 mg, three times daily for 2 weeks (Bifico treatment group). A normal control group was composed of 12 healthy individuals. Plasma diamine oxidase (DAO) and endotoxin (ETX) were detected before and after the therapy.

RESULTS: Plasma DAO and ETX levels were significantly higher (0.2502 ± 0.0969 kU/L and 0.2263 ± 0.1145 kU/L vs 0.1145 ± 0.0680 kU/L;

and 0.3801 ± 0.1929 EU/mL and 0.3283 ± 0.1251 EU/mL vs 0.2338 ± 0.0843 EU/mL, respectively; all $P < 0.05$ or 0.01) in patients with liver cirrhosis (the two treatment groups) than in healthy individuals (the normal control group). A linear correlation was noted in plasma ETX level and plasma DAO level ($r = 0.800$, $P < 0.01$). Compared with pre-treated patients, both plasma DAO and ETX levels significantly decreased in Bifico-treated patients (0.1635 ± 0.0592 kU/L vs 0.2502 ± 0.0969 kU/L, 0.2445 ± 0.1219 EU/mL vs 0.3801 ± 0.1929 EU/mL, $P < 0.05$). No significant differences were noted in plasma DAO and ETX levels in the routine treatment group between before and after therapy.

CONCLUSION: Plasma DAO and ETX are sensitive markers for measuring intestinal barrier function in patients with liver cirrhosis. Bifico can improve intestinal barrier function in patients with portal hypertension and liver cirrhosis.

Key Words: Liver cirrhosis; Intestinal mucosal barrier; Bifico; Diamine oxidase; Endotoxin

Fan N, Tian ZB, Kong XJ, Zhao QX, Wei LZ. Bifico improves intestinal macromolecular permeability in patients with liver cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(36): 3745-3748

摘要

目的: 探讨肝硬化门脉高压患者肠黏膜屏障功能及双歧杆菌等三联活菌胶囊(培菲康)对肝硬化患者肠黏膜通透性的影响。

方法: 选择我院肝硬化门脉高压、肝功能Child-pugh分级为B级的患者34例, 随机分为对照组和双歧杆菌等三联活菌胶囊(培菲康)治疗组, 两组均给予常规对症治疗, 治疗组加用培菲康, 每次420 mg, 每日3次, 口服2 wk. 所有患者均于治疗前后测定血清二胺氧化酶(DAO)及内毒素(ETX)含量. 另选12例健康体检者作为正常对照组。

结果: 肝硬化患者治疗组及对照组血清DAO及ETX含量均高于正常对照组, 差异有统计

■背景资料

近年来人们对于肠黏膜屏障功能的认识有了很大提高, 对其屏障监测与维护等方面的研究不断深入. 人们不断研究更为有效的措施来修护和预防肠黏膜屏障功能受损, 以减少细菌移位等发生几率, 对疾病的发生发展及预后等方面均有重要意义。

■同行评议者

范小玲, 主任医师, 北京地坛医院综合科

■ 研发前沿

目前有多种方法用于肠黏膜屏障功能的监测如分子探针(如乳糖甘露醇排泄率比值)、二胺氧化酶、内毒素、D-乳酸、黏膜组织学观察等。如何更有效监测肠黏膜屏障功能从而协助临床诊治等一直是研究的热点。

学意义(0.2502 ± 0.0969 kU/L, 0.2263 ± 0.1145 kU/L vs 0.1145 ± 0.0680 kU/L, $P < 0.01$; 0.3801 ± 0.1929 EU/mL, 0.3283 ± 0.1251 EU/mL vs 0.2338 ± 0.0843 EU/mL, 均 $P < 0.05$); 血清DAO及ETX两指标呈线性相关($r = 0.800$, $P < 0.01$); 培菲康组治疗后血清DAO及ETX水平较治疗前下降, 差异均有统计学意义(0.1635 ± 0.0592 kU/L vs 0.2502 ± 0.0969 kU/L, 0.2445 ± 0.1219 EU/mL vs 0.3801 ± 0.1929 EU/mL, $P < 0.05$); 对照组治疗后血清DAO及ETX水平较治疗前下降, 但差异无统计学意义。

结论: 血清DAO及ETX水平可作为肝硬化Child-pugh分级B级患者肠黏膜屏障功能的监测指标; 补充肠道益生菌可帮助改善肠黏膜屏障功能。

关键词: 肝硬化; 肠黏膜屏障; 培菲康; 二胺氧化酶; 内毒素

范妮, 田宇彬, 孔心涓, 赵清喜, 魏良洲. 益生菌对肝硬化患者肠黏膜通透性的影响. 世界华人消化杂志 2009; 17(36): 3745-3748

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/3745.asp>

0 引言

近年来人们逐渐认识到, 肠道不仅是消化和吸收营养物质的功能器官, 也是阻止肠腔内细菌、毒素等有害物质侵入体内的重要屏障。目前对于肠屏障功能的认识及维护等研究不断深入, 以掌握更为有效的措施来监测和维护肠黏膜屏障功能。肝硬化患者免疫功能下降, 机体抵抗力不足, 一旦肠黏膜屏障受损、肠道细菌移位, 易并发严重感染, 而感染又会加大肝脏负荷加重病情, 甚至引起其他一系列严重后果, 故临床上应加强对肝硬化患者肠屏障功能障碍的早期关注。因此本研究旨在探讨肝硬化门脉高压患者肠黏膜屏障功能及双歧杆菌等三联活菌胶囊(培菲康)对肝硬化患者肠黏膜通透性的研究。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2009-03/07青岛大学医学院附属医院消化科住院的肝功能Child-pugh分级为B级的肝硬化患者34例, 年龄34-77(平均53.65)岁, 男23例, 女11例。入选标准: 均经临床表现、各种生化指标及腹部B超或CT等检查确诊, 符合内科学(第7版)诊断标准^[1]; 无合并肝外疾病所致的慢性腹泻、吸收不良性疾病; 既往无胃肠道或腹腔外科手术史; 近2 wk未使用抗生素、微生

态制剂等; 无其他部位的感染(除自发性腹膜炎外)。排除标准: 合并严重并发症, 如上消化道大出血、肝性脑病、原发性肝癌、严重感染等的患者除外; 近2 wk服用抗生素或微生态制剂等影响肠黏膜通透性的药物者除外。

1.2 方法

1.2.1 分组及治疗: 入选者随机分为2组, 对照组给予常规保肝利尿等对症治疗, 治疗组给予培菲康(双歧杆菌、嗜酸乳杆菌、肠球菌三联活菌胶囊, 上海信谊制药总厂生产, 每粒210 mg), 每次420 g, 每日3次, 服用2 wk, 其他保肝对症治疗同对照组。所有患者均于入院第2天空腹抽血测血清二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)及内毒素(endotoxin, ETX)含量, 2 wk后复测血清DAO及ETX含量, 期间避免使用抗生素、乳果糖等影响肠黏膜通透性的药物。选择12例健康体检者作为正常对照组, 其性别和年龄与实验组比较差别无统计学意义。

1.2.2 血清DAO及ETX含量检测: 活性比色法定量检测血清DAO含量, 试剂盒由上海杰美基因医药科技有限公司提供, 使用深圳市雷杜电子有限公司RT-2100C酶标仪450 nm测定; 显色基质萤光实验法测定血清ETX含量, 萤光试剂盒由厦门市萤试剂实验厂有限公司提供, 用上海精密科学仪器有限公司723分光光度计545 nm进行比色。

统计学处理 实验数据均以mean \pm SD表示。统计学方法为 t 检验、方差分析及直线相关分析。应用SPSS11.5进行统计分析。

2 结果

2.1 肝硬化患者与正常对照组之间血清DAO、血清ETX含量比较 肝硬化患者治疗组血清DAO水平(0.2502 ± 0.0969 kU/L)、肝硬化患者对照组血清DAO水平(0.2263 ± 0.1145 kU/L)均高于正常对照组(0.1145 ± 0.0680 kU/L), 差异有统计学意义($P < 0.01$)。肝硬化患者治疗组血清ETX水平(0.3801 ± 0.1929 EU/mL)、肝硬化患者对照组血清ETX水平(0.3283 ± 0.1251 EU/mL)亦高于正常对照组(0.2338 ± 0.0843 EU/mL), 差异有统计学意义($P < 0.05$, 表1)。

2.2 肝硬化患者血清DAO及ETX水平的相关性分析 Pearson相关分析提示血清DAO水平与ETX水平之间呈线性相关($r = 0.800$, $P < 0.01$)。

2.3 治疗前后血清DAO及ETX水平的比较 培菲康组治疗后血清DAO水平(0.1635 ± 0.0592 kU/L)较治疗前(0.2502 ± 0.0969 kU/L)下降, 差

异有统计学意义($P<0.01$). 培菲康组治疗后血清ETX水平(0.2445 ± 0.1219 EU/mL)较治疗前(0.3801 ± 0.1929 EU/mL)下降, 差异有统计学意义($P<0.01$); 对照组治疗后血清DAO及ETX水平较治疗前也有所下降, 但差异经统计学检验结果无统计学意义(表1).

3 讨论

肠黏膜屏障主要包括机械屏障、化学屏障、免疫屏障和生物屏障. 由完整的肠黏膜上皮及其细胞间的紧密连接组成机械屏障, 可有效阻止细菌等深入机体内部. 胃肠道所分泌的大量消化液及胆汁等构成一道化学屏障. 肠道的免疫屏障是与机体全身性免疫不同的局部免疫系统, 其中由黏膜固有层的浆细胞合成分泌的分泌性IgA(sIgA)扮演重要角色^[2]. 至于肠道的生物屏障则由其内相互拮抗又互相依存的各菌群所维持的动态平衡来保障. 目前临床上多采用间接方法监测肠黏膜的屏障功能, 常用方法有分子探针、DAO、D-乳酸、ETX测定、组织培养或通过PCR扩增鉴定细菌移位、活检、sIgA的检测及肠上皮内淋巴细胞计数等^[3-8].

我们的研究中选择血清DAO和ETX两指标来监测肠黏膜屏障功能, DAO大部分存在于小肠黏膜绒毛, 其活性与绒毛高度和黏膜细胞内的核酸和蛋白质合成密切相关, 是反映小肠黏膜结构与功能的理想指标. ETX是G-菌细胞壁外层结构, 其主要成分是脂多糖. 在创伤、感染等情况下, 肠道缺血缺氧, 细菌大量增殖, 释放ETX通过受损的肠黏膜屏障入血. 目前常应用改良鲎实验法测定. 我们的结果显示两指标呈线性相关, 可反映患者的肠黏膜屏障功能状态.

研究中肝硬化门脉高压患者血清DAO及ETX水平均显著高于正常对照组, 从而推断患者的肠黏膜通透性增加, 肠黏膜屏障功能受损. 可能与以下几个方面有关: (1)肝硬化患者进入失代偿期后, 机体出现一系列病理生理变化, 肝功能下降, 长期门脉压力过高, 黏膜下血管扩张淤血, 肠黏膜相对缺血缺氧, 引起肠上皮细胞内线粒体功能受损, 导致细胞内酸中毒, 肠道绒毛的微循环结构损害, 易发生充血水肿糜烂等, 肠黏膜上皮通透性增高, 细菌移位等可能性增加; (2)缺血后再灌注, 过量氧自由基损伤肠黏膜细胞, 影响黏膜修复; (3)肠腔内细菌过度繁殖, 产生大量代谢产物和毒素, 细菌ETX的直接作用及炎症介质和细胞因子的介导, 致肠黏膜水肿, 上皮

表1 各组血清DAO和ETX水平 (mean \pm SD)

分组	n	DAO(kU/L)	ETX(EU/mL)
治疗组			
治疗前	20	0.2502 \pm 0.0969 ^b	0.3801 \pm 0.1929 ^a
治疗后	20	0.1635 \pm 0.0592 ^{ad}	0.2445 \pm 0.1219 ^d
对照组			
治疗前	14	0.2263 \pm 0.1145 ^b	0.3283 \pm 0.1251 ^a
治疗后	14	0.2220 \pm 0.0893 ^b	0.3209 \pm 0.1015 ^a
正常对照组	12	0.1145 \pm 0.0680	0.2338 \pm 0.0843

^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs 正常对照组; ^d $P<0.01$ vs 本组治疗前.

细胞增殖受抑制, 细胞凋亡加速, 细胞坏死增多, 肠屏障功能进一步下降^[9-10].

有临床研究显示肝硬化患者存在不同程度的菌群失调^[11]. 作为肠黏膜屏障重要成员的肠道菌群一旦失调, 由外籍菌占据优势地位, 势必危害机体健康. 补充含有足够数量的非致病性的特定活菌制剂-益生菌使原籍菌重新成为优势菌群, 可保护和稳定黏膜屏障, 提高黏膜对致病菌的免疫应答, 刺激肠道免疫细胞而诱导机体特异性免疫和非特异性免疫, 增强机体免疫功能^[12], 阻止致病菌或条件致病菌与肠黏膜上皮细胞的再黏附, 这样肠道微生态环境恢复正常, 菌群失调纠正、肠黏膜屏障作用得以重建^[13]. 临床常用的有乳酸菌、双歧杆菌、肠球菌和芽孢杆菌等. 益生菌直接参与机体的生物屏障结构, 发挥生物拮抗作用, 其部分代谢产物如乙酸、乳酸、过氧化氢、细菌素^[14]等参与构成肠道内的化学屏障, 其本身所特有的某些酶类可补充宿主在消化酶上的不足, 促进某些人体必需的维生素、氨基酸、微量元素及无机盐类的吸收和利用^[15]. 双歧杆菌的代谢过程中产生酸性物质, 降低肠道pH值, 直接影响G-菌定植存活和繁殖, 使ETX生成和吸收减少, 血中ETX下降, 从而减轻对肝脏的损害.

在我们的研究中肝硬化患者保肝利尿等对症治疗基础上加以口服益生菌治疗, 患者DAO及ETX水平较对照组下降更为显著, 提示补充肠道益生菌, 可改善菌群失调, 进而促进生物屏障功能恢复、维护肠黏膜屏障及减少ETX生成和吸收, 使肝脏负担得以减轻, 可用于肝硬化患者的辅助治疗.

肝硬化存在许多促进肠道细菌移位发生的因素, 同时细菌移位又与肝硬化多种并发症密切相关, 目前多数临床医师对早期关注肠屏障

■应用要点

本研究证实, 血清DAO及ETX水平可作为肝硬化Child-pugh分级B级患者肠黏膜屏障功能的监测指标; 补充肠道益生菌可帮助改善肠黏膜屏障功能.

■同行评价

本文研究了益生菌对肝硬化患者肠黏膜通透性的影响,紧扣肝硬化临床研究热点,对临床应用有一定的指导意义。

功能仍未引起足够重视,往往是在出现肠屏障功能障碍后再实施保护措施,存在一定的滞后性,临床上对患者如能进行肠黏膜通透性监测,将对减少肠源性感染的发生并及早采取防治对策、降低病死率有十分重要的作用。

4 参考文献

- 1 陆再英,钟南山. 内科学. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 452-453
- 2 尉秀清,姚集鲁,文卓夫. 肠道粘膜屏障功能及其临床检测. 国外医学·内科学分册 2004; 31: 415-418
- 3 覃慧敏,吴春明,李洪涛,李国军,宋建新. 高效液相色谱用于肝硬化大鼠肠道通透性的测定. 中华医学杂志 2008; 32: 113-115
- 4 Lee S, Son SC, Han MJ, Kim WJ, Kim SH, Kim HR, Jeon WK, Park KH, Shin MG. Increased intestinal macromolecular permeability and urine nitrite excretion associated with liver cirrhosis with ascites. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3884-3890
- 5 Lostia AM, Lionetto L, Principessa L, Evangelisti M, Gamba A, Villa MP, Simmaco M. A liquid chromatography/mass spectrometry method for the evaluation of intestinal permeability. *Clin Biochem* 2008; 41: 887-892
- 6 郝波,胡森. 创伤和感染后肠功能检测方法的研究进展. 感染、炎症、修复 2005; 6: 242-244
- 7 黎君友,于燕,郝军,晋桦,许惠君. 分光光度法测定血和小肠组织二胺氧化酶活性. 氨基酸和生物资源

1996; 18: 28-30

- 8 Campillo B, Pernet P, Bories PN, Richardet JP, Devanlay M, Aussel C. Intestinal permeability in liver cirrhosis: relationship with severe septic complications. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11: 755-759
- 9 郑盛, 刘海. 肠道屏障功能障碍与自发性细菌性腹膜炎. 实用肝脏病杂志 2007; 10: 422-423
- 10 袁春,叶进. 肝硬化和肠道细菌移位. 临床消化病杂志 2008; 20: 121-123
- 11 张东绅,黄志华,陈如. 肝硬化患者口服培菲康和妈咪爱对肠道菌群影响的研究. 中国微生态学杂志 2004; 16: 109
- 12 Donnet-Hughes A, Rochat F, Serrant P, Aeschlimann JM, Schiffrin EJ. Modulation of nonspecific mechanisms of defense by lactic acid bacteria: effective dose. *J Dairy Sci* 1999; 82: 863-869
- 13 王曦钟,吕益中,梁水权,李耀峰. 微生态制剂与胃肠粘膜屏障. 中国基层医药 2005; 12: 217-218
- 14 Annuk H, Shchepetova J, Kullisaar T, Songisepp E, Zilmer M, Mikelsaar M. Characterization of intestinal lactobacilli as putative probiotic candidates. *J Appl Microbiol* 2003; 94: 403-412
- 15 Kamao M, Tsugawa N, Nakagawa K, Kawamoto Y, Fukui K, Takamatsu K, Kuwata G, Imai M, Okano T. Absorption of calcium, magnesium, phosphorus, iron and zinc in growing male rats fed diets containing either phytate-free soybean protein or soybean protein isolate or casein. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 2000; 46: 34-41

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》入选《中国学术期刊评价研究报告—RCCSE 权威、核心期刊排行榜与指南》

本刊讯 《中国学术期刊评价研究报告-RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》由中国科学评价研究中心、武汉大学图书馆和信息管理学院联合研发,采用定量评价和定性分析相结合的方法,对我国万种期刊大致浏览、反复比较和分析研究,得出了65个学术期刊排行榜,其中《世界华人消化杂志》位居396种临床医学类期刊第45位。(科学编辑:李军亮 2009-12-28)