

肝硬化失代偿期患者肠黏膜通透性的变化^{*}

范才波, 罗云[△], 谢志翔, 彭雷, 陈海琼, 杨琼英, 黄光明(四川省达州市第二人民医院消化内科 635000)

【摘要】 目的 探讨肝硬化失代偿期患者肠黏膜通透性的变化。**方法** 将 64 例肝硬化失代偿期患者分为 Child-pugh B 组(28 例)和 Child-pugh C 组(36 例)。测定治疗前、治疗后 7 d 的尿乳果糖/甘露醇(L/M)比值、血浆内毒素(ET)水平和血浆二胺氧化酶(DAO)活性。**结果** 治疗前 Child-pugh C 组尿 L/M 比值、血浆 ET 水平明显高于 Child-pugh B 组($P<0.01$),但血浆 DAO 水平低于 Child-pugh B 组($P<0.01$)。治疗后 7 d,两组尿 L/M 比值、血浆 ET 水平相比较差异无统计学意义($P>0.05$);Child-pugh C 组 DAO 水平出现上升趋势而 Child-pugh B 组则出现下降趋势,两组相比较差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 尿 L/M 比值、血浆 ET 水平和 DAO 活性作为肠黏膜通透性的检测指标,能够准确反映肠黏膜通透性的变化。肠黏膜通透性升高可能是肝硬化患者病情恶化的关键因素之一。

【关键词】 肝硬化; 失代偿期; 肠黏膜; 乳果糖; 甘露醇; 内毒素; 二胺氧化酶

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.20.002 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)20-2531-02

Alteration of intestinal permeability in patients with decompensated cirrhosis^{*} FAN Cai-bo, LUO Yun[△], XIE Zhi-xiang, PENG Lei, CHEN Hai-qiong, YANG Qiong-ying, HUANG Guang-ming (Department of Gastroenterology, Second People's Hospital of Dazhou City, Dazhou, Sichuan 635000, China)

【Abstract】 Objective To explore the alteration of intestinal permeability in the patients with decompensated cirrhosis. **Methods** 64 cases of decompensated cirrhosis were divided into the Child-Pugh B group($n=28$) and the Child-Pugh C group($n=36$). The ratio of urine lactulose to mannitol(L/M), level of endotoxin(ET) and plasma activity of diamine oxidase(DAO) were detected before treatment and on 7 d after treatment. **Results** Before the treatment, the ratio of L/M and the ET level in the Child-Pugh C group was higher than those in the Child-Pugh B group, but the activity of DAO in the Child-Pugh C group was lower than that in the Child-Pugh B group($P<0.01$). On 7 d after treatment, the ratio of L/M and the ET level were not statistically different between the two groups($P>0.05$). The activity of DAO showed the increasing trend in the Child-Pugh C group and the decreasing trend in the Child-Pugh B group, with statistical difference between the two groups($P<0.05$). **Conclusion** The ratio of urine L/M, plasma ET level and the DAO activity are the detection markers for the intestinal permeability, which can exactly reflect the changes of intestinal permeability. The increase of intestinal permeability may be one of key factors for liver cirrhosis deterioration.

【Key words】 cirrhosis; decompensation; intestinal mucous membrane; lactulose; mannitol; endotoxin; diamine oxidase

肠道具有分泌激素、调节免疫和黏膜屏障等功能,在维护肠功能方面扮演着十分重要的作用。肝硬化时门静脉高压使肠黏膜过度淤血,发生缺血、缺氧、水肿、糜烂,肠黏膜通透性增加及小肠细菌过度生长,从而导致病情反复加重;而肠黏膜通透性的增高和肠道菌群易位所引起的肠源性内毒素血症是肝硬化失代偿期诸多临床表现共同的病理生理基础^[1]。本试验将研究肝硬化失代偿期不同亚型患者肠黏膜通透性的变化并进行初步探讨。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2010 年 10 月至 2011 年 11 月本院消化内科住院的 64 例肝硬化失代偿期患者,其中男 40 例,女 24 例,年龄 28~73 岁,所有患者均符合 2000 年《病毒性肝炎防治方案》肝硬化诊断标准。排除近期内应用抗生素、肠道微生态制剂、乳果糖治疗的患者。本研究已通过伦理委员会批准,患者入选后与其签订知情同意书。所有患者按 Child-pugh 分级标准分为两组,Child-pugh B 组 28 例,Child-pugh C 组 36 例,两组年龄、性别相比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 治疗方法 两组均给予常规临床治疗,即限盐限水,利尿,放腹水加输清蛋白,保肝降酶,预防出血及自发性腹膜炎(头孢噻肟、氧氟沙星、甲硝唑)、防治肝性脑病,维持水、电解质平衡及营养支持等治疗。两组均连续治疗 6 d 及以上。

1.3 观察指标及方法 检测患者治疗前及治疗后 7 d 下列指标:(1)尿乳果糖/甘露醇(L/M)比值。患者于试验前晚禁食 8 h,次日清晨排空尿液后空腹口服乳果糖、甘露醇混合液 40 mL(内含乳果糖 10 g、甘露醇 5 g,标准品购于美国 Sigma 公司),收集服药后 6 h 尿液,混匀计总量,并取 20 mL 加入少量防腐剂(硫柳汞 0.2 mg/mL),置于离心管中封口,置-20℃冰箱冷冻保存待测。采用高效液相色谱示差法测定尿 L/M 比值^[2](在重庆医科大学生命科学院完成)。(2)血浆内毒素(ET)水平和二胺氧化酶(DAO)活性。鲎试剂基质偶氮显色法测定血浆 ET 水平(试剂盒购于上海伊华公司),参照试剂盒说明进行检测;分光光度法测定血浆 DAO 活性(试剂盒购于美国 Sigma 公司),参照参考文献^[3]进行检测。正常参考值:L/M 0.178^[4-5],ET 0.055 EU/mL^[4-5]、DAO 1.93 U/mL^[6]。

^{*} 基金项目:四川省中医药管理局资助项目(NO.2010-47)。 [△] 通讯作者,E-mail:luoyun_616_2002@163.com。

1.4 统计学处理 应用 SPSS13.0 统计软件对数据进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用独立样本 t 检验及配对样本 t 检验对数据进行统计学处理。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 两组患者治疗前尿 L/M、血浆 ET 水平和 DAO 活性检测结果 两组患者各指标检测值明显高于正常参考值,表明已出现肠黏膜通透性明显升高。Child-pugh C 组患者尿 L/M 和血浆 ET 水平明显高于 Child-pugh B 组($P<0.01$),而 DAO 活性却明显低于 Child-pugh B 组($P<0.01$)。见表 1。

2.2 两组患者治疗后尿 L/M、血浆 ET 水平和 DAO 活性的比较 两组患者治疗后 7 d 尿 L/M、血浆 ET 水平相比较,

Child-pugh C 组下降程度略高于 Child-pugh B 组,但差异无统计学意义($P>0.05$);DAO 水平治疗后 Child-pugh C 组出现上升趋势而 Child-pugh B 组则出现下降趋势,两组相比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 1 两组患者治疗前尿 L/M、血浆 ET 水平和 DAO 活性的比较($\bar{x} \pm s$)				
组别	<i>n</i>	L/M	ET(EU/mL)	DAO(U/mL)
Child-pugh B 组	28	0.190±0.011	0.394±0.025	5.158±0.487
Child-pugh C 组	36	0.208±0.012	0.424±0.023	4.489±0.324
<i>t</i>		6.48*	5.09*	-6.27*

注: * $P<0.01$,表示差异有统计学意义。

表 2 两组患者后 7 d 尿 L/M、血浆 ET 水平和 DAO 活性的比较($\bar{x} \pm s$)							
组别	<i>n</i>	L/M		ET(EU/mL)		DAO(U/mL)	
		7 d	差值	7 d	差值	7 d	差值
Child-pugh B 组	28	0.124±0.022	0.066±0.025	0.185±0.055	0.209±0.068	4.629±0.584	0.529±0.546
Child-pugh C 组	36	0.136±0.027	0.071±0.030	0.184±0.040	0.240±0.044	5.171±0.443	-0.682±0.482
<i>t</i>			0.81		0.45		-2.22*

注:差值=治疗前-治疗后(即第 7 天)(治疗前各指标见表 1),采用配对样本 t 检验; * $P<0.05$,表示差异有统计学意义。

3 讨 论

肠黏膜通透性是指物质分子以非载体或通道介导通过肠黏膜上皮的特性,属被动转运方式。肝硬化失代偿期患者由于长期门静脉高压使肠黏膜微循环发生改变,黏膜过度淤血、水肿、糜烂,小肠细菌过度生长,从而构成了肝硬化患者肠黏膜屏障破坏、肠通透性增加的病理基础^[2,7]。随着肠黏膜通透性增高,大量细菌及内毒素通过肠道进入血循环,形成肠源性内毒素血症,不仅促进肝硬化病情的恶化,而且可以直接损伤肠黏膜,进一步升高肠黏膜通透性,形成恶性循环。用于肠黏膜通透性检查测定的指标包括糖分子探针如尿 L/M 比值、血浆 ET 水平和 DAO 活性^[4]。

乳果糖是双糖,相对分子质量大,与肠道细菌和内毒素一样,主要经肠黏膜细胞间的紧密连接通过肠黏膜;甘露醇是单糖,相对分子质量小,主要经肠黏膜细胞膜上的水溶性微孔通过肠黏膜^[8]。目前认为尿液中乳果糖的排泄率主要反映肠黏膜屏障的变化,而甘露醇的排泄率主要反映肠道总吸收面积的变化,采用 L/M 比值能较为真实地反映肠黏膜通透性的变化^[8],国内常用高效液相色谱示差法进行测定,是肠黏膜通透性测定的最常用指标^[9]。本试验显示,两组患者 L/M 比值均明显高于正常参考值,且 C 组 L/M 比值高于 Child-pugh B 组,这可能是由于随着肝硬化病情的加重,肠道通透性显著增加,导致 L/M 比值的上升。治疗后随着病情的缓解,L/M 比值下降,但两组间变化无统计学意义,表明对肝硬化失代偿期时 Child-pugh 分级的改善程度无影响。

内毒素由肠道革兰阴性菌产生,肝硬化时肠黏膜通透性增高,内毒素通过受损的肠黏膜进入血液,到达肝脏并激活库普弗细胞,库普弗细胞激活后产生大量炎性介质进一步加重肝脏损伤。在肠黏膜缺氧和酸中毒的协同作用下,内毒素的升高导致肠黏膜通透性进一步增高,并出现细菌移位,形成恶性循环^[6,10]。本试验也观察到血浆 ET 水平和 L/M 比值的变化趋势完全一致,表明血浆 ET 水平能够真实反映肠黏膜通透性的变化,可作为肠黏膜通透性的独立测定指标。在本次试验中,尿 L/M 比值和血浆 ET 水平随病情加重而上升及随治疗而下降的这种变化趋势表明:肠黏膜通透性随肝硬化病情变化而改

变,通透性升高是肝硬化患者病情恶化的重要因素^[6,10-11]。

血浆 DAO 活性也是反映肠黏膜通透性的常用指标,DAO 是人类和所有哺乳动物肠黏膜上绒毛细胞中具有高度活性的细胞内酶,以空、回肠活性最高,肠屏障破坏后 DAO 释放入血出现升高^[4]。本次试验数据显示,两组患者 DAO 活性均明显高于正常参考值,但 Child-pugh C 组低于 Child-pugh B 组,这可能是由于肠上皮细胞的损伤导致 DAO 释放入血,出现 DAO 活血水平升高,而当病情进展至 Child-pugh C 期时,由于肠黏膜细胞的坏死、剥脱和严重的内毒素血症,DAO 的产生和释放减少,导致 Child-pugh C 期检查水平反而下降。治疗后随着肠黏膜细胞的增殖和修复,因而出现 Child-pugh C 期短暂上升;而 Child-pugh B 期随着肠黏膜通透性的改善和血浆内毒素水平的下降出现一致的下降趋势,这与 Ruan 等^[6]的报道一致。

本研究显示肠黏膜通透性升高是肝硬化失代偿期患者病情恶化的重要因素,尿 L/M 比值、血浆 ET 水平和 DAO 活性作为肠黏膜通透性的检测指标,能够准确反映肠黏膜通透性的变化。因此,临床上应重视对肝硬化患者肠黏膜通透性的认识,及时发现并进行治疗,对促进肝硬化患者病情的恢复、提高生活质量具有十分重要的临床意义。

参考文献

[1] 殷云勤. 肠黏膜屏障在肝硬化代偿期向肝硬化失代偿期转化中作用的实验研究[D]. 济南:山西医科大学,2006:6-8.

[2] 储建坤,茹秀丽,杨涛,等. 乳果糖联合培菲康对肝硬化自发性细菌性腹膜炎患者肠黏膜屏障功能及炎性细胞因子的影响[J]. 疑难病杂志,2011,10(4):270-272.

[3] Mercado MA,Orozco H,Chan C,et al. Surgical treatment of non-cirrhotic presinusoidal portal hypertension [J]. Hepatogastroenterology,2004,51(60):1757-1760.

[4] 中华医学会消化病学分会. 肠屏障功能障碍临床诊治建议[J]. 中华消化杂志,2006,26(9):620-621.

[5] 黄晓曦,王兴鹏,吴恺,等. 肠屏障功能障碍临床评估指标建立的初步研究[J]. 中华消化杂志,2006, 28(8):519-522.

(下转第 2535 页)

准。HC2 使用全长的 RNA 探针可以防止由于 L1 基因段缺失导致的假阴性,因此具有高的敏感性,适合用于宫颈癌的筛查。(PCR 只针对 L1 段,如 L1 缺失就会出现假阴性。从表 2 中分析发现 214 例病检结果呈阳性,其中 CIN I、CIN II、CIN III、宫颈鳞癌、腺癌的患者共 85 例。HPV 阳性患者的 CIN I、CIN II、CIN III、宫颈鳞癌、腺癌的患者为 79 例,敏感性为 92.94%(79/85)。与国内关于 HC2 检测宫颈高度病变灵敏度高达 88%~100%的报道是基本吻合的^[7]。宫颈鳞癌、腺癌的患者有 7 例,HC2-HPV-DNA 检测均为阳性,敏感性为 100%(7/7)。由于患宫颈癌病例数较少不便评价。

本研究认为,高危型 HPV 检测与细胞学诊断联合检测是宫颈病变的最佳筛查方法。HC2-HPV-DNA 检测方法 with 病理诊断比较,阳性率为 76.63%;TCT 检测方法 with 病理诊断比较阳性率为 71.03%;二者的检测结果比较差异无统计学意义($P>0.05$),联合使用两种方法,可使检出率提高。HC2-HPV-DNA 检测在实验室检查方面也是宫颈细胞学的一种验证,能提高宫颈病变诊断的准确性,保证筛查的灵敏度及特异性,可最大限度地降低宫颈癌的漏诊率。从表 2 中分析得出,HC2-HPV-DNA 检测宫颈癌、CIN I、CIN II、CIN III 比细胞学检查具有更高的敏感度。HPV 检查不仅能发现现在的宫颈疾病患者,还可发现存在高风险的人群。

本研究采用目前最先进的 HC2-HPV-DNA 检测宫颈病变患者的宫颈细胞 HPV-DNA 的载量,HC2 同时检测 HPV 13 种高危亚型(即 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59 及 68)。本研究结果显示,CIN I 级、CIN II 级、CIN III 级、宫颈癌 hrHPV 的病毒载量及阳性表达率明显高于炎症组,差异有统计学意义($P<0.01$)。并且 CIN II 级、CIN III 级 hrHPV 的载量及阳性表达率明显高于 CIN I 级,差异有统计学意义($P<0.05$)。说明 hrHPV 与 CIN 及宫颈癌的发展密切相关,其 hrHPV 的病毒载量及阳性表达率随宫颈病变的严重程度呈上升趋势。HPV 病毒含量越高,患宫颈癌的风险越大。而宫颈癌的 hrHPV 的病毒载量及阳性表达与 CIN I 级、CIN II 级、CIN III 级差异无统计学意义($P>0.05$)。这表明 hrHPV 的载量及阳性表达与宫颈病变的严重程度无关。本文认为在对 hrHPV 的病毒高载量人群应该提高警惕,同时对低载量人群也要严密随访。

通过对 762 例妇女生殖道高危型 HPV 感染与宫颈病变

的相关性研究后认为:HC2-HPV-DNA 检测是目前宫颈癌及癌前病变筛查的最好方法;不同年龄段 hrHPV 感染情况不同;HC2-HPV-DNA 检测 hrHPV 病毒载量及阳性表达率与 CIN 以及宫颈癌发生有关,但与宫颈病变的严重程度无关。总之,利用 HPV 检测的结果针对性地进行宫颈组织病理检查,有效地指导临床诊断,预防和改善宫颈癌及癌前病变的结局,为防治宫颈癌、降低其病死率提供有效帮助。

参考文献

- [1] Rao PH, Arias-Pulido H, Lu XY. Chromosomal amplifications, 3q gain and deletions of 2q33-q37 are the frequent genetic changes in cervical carcinoma [J]. BMC Cancer, 2004, 4(1): 5-8.
- [2] Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive carcinoma [J]. Pathol, 1999, 189(1): 12-19.
- [3] Clavel C, Masure M, Bory JP, et al. Human papillomavirus testing in primary screening for the detection of high-grade cervical lesions: a study of 7 932 women. [J]. Br J Cancer, 2001, 84(12): 1616-1623.
- [4] 陈昕华, 周蓓蓓, 虞斌, 等. 高危型 HPV 在宫颈病变筛查中的应用[J]. 中国妇幼保健杂志, 2010, 25(7): 898-899.
- [5] Agorastos T, Diinas K, Lloveras B, et al. Human papillomavirus testing for primary screening in women at low risk of developing cervical cancer. The Greek experience [J]. Gynecol Oncol, 2005, 96(3): 714-720.
- [6] Bergeron C, Cas F, Fagnani, et al. Assessment of human papilloma virus testing on liquid-based cyto-screen system for women with atypical squamous cells of undermined significance effect of age. Gynecol [J]. Obstet Fertil, 2008, 3(4): 312-316.
- [7] 张玉梅, 曹维克. 高危 HPV 病毒第二代杂交捕获法检测应用于宫颈癌及癌前病变检查[J]. 武汉大学学报: 医学版, 2011, 32(4): 489-491.

(收稿日期: 2012-08-31)

(上接第 2532 页)

- [6] Ruan P, Gong ZJ, Zhang QR. Changes of plasma D(-)-lactate, diamine oxidase and endotoxin in patients with liver cirrhosis [J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2004, 3(1): 58-61.
- [7] 黄宏春, 王秀敏, 王永亮, 等. 乳果糖对肝硬化自发性腹膜炎患者肠黏膜屏障功能的影响[J]. 中国临床医学, 2009, 16(3): 372-373.
- [8] 宋怀宇, 姜春华, 杨建荣, 等. 重度慢性乙型病毒性肝炎患者肠黏膜通透性的变化及其机制[J]. 世界华人消化杂志, 2008, 16(31): 3561-3565.
- [9] Dasty M, Dasty M Jr, Novotná H, et al. Lactulose/ mannitol test and specificity, sensitivity, and area under

curve of intestinal permeability parameters in patients with liver cirrhosis and Crohn's disease [J]. Dig Dis Sci, 2008, 53(10): 2789-2792.

- [10] Choi Y, Jeon WK, Hwang SJ, et al. The role of the gut barrier function in the pathophysiology of viral liver cirrhosis [J]. Hepatogastroenterology, 2011, 58(109): 1244-1247.
- [11] Palma P, Mihaljevic N, Hasenberg T, et al. Intestinal barrier dysfunction in developing liver cirrhosis: An in vivo analysis of bacterial translocation [J]. Hepatol Res, 2007, 37(1): 6-12.

(收稿日期: 2012-03-21)