

肝性脑病患者肠道菌群变化的临床研究

梁淑文 屈昌民 王晓英 曹艳菊 李连勇 钟长青 曾伯伦 谢明水

摘要 **目的** 分析肝性脑病患者肠道菌群的变化情况,为临床肝性脑病的诊治提供参考和借鉴。**方法** 从笔者医院 2012 年 3 月~2014 年 3 月收治的 80 例乙型肝炎肝硬化患者中筛选出 38 例肝性脑病患者及 42 例肝硬化非肝性脑病患者,另选取 40 例同期在笔者医院体检的健康者作为健康对照组,对 3 组受试者肠道菌群进行比较和分析。**结果** 肝性脑病组患者乳杆菌属及肠球菌属菌落数均显著低于非肝性脑病组及健康对照组,酵母样真菌属菌落数显著多于非肝性脑病组及健康对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。非肝性脑病组患者菌群菌落数酵母样真菌属与健康对照组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$),乳杆菌属及肠球菌属均显著少于健康对照组($P < 0.05$)。肝性脑病组患者双歧杆菌属显著少于非肝性脑病组患者及健康对照组,大肠杆菌属显著多于非肝性脑病组患者及健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。非肝性脑病组与健康对照组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 肝性脑病的患者存在肠道菌群失调,其可能是引起肝性脑病的重要因素,调节肠道菌群,保持肠道微生态平衡是治疗肝性脑病的重要策略。

关键词 肝性脑病 肠道菌群 乳杆菌 肠球菌

中图分类号 R575.5

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.11.019

Clinical Research on Intestinal Flora Changes in Patients with Hepatic Encephalopathy. Liang Shuwen, Qu Changmin, Wang Xiaoying, et al. Department of Gastroenterology of the 306th Hospital of PLA, Beijing 100101, China

Abstract **Objective** To research the intestinal flora changes in patients with hepatic encephalopathy to provide reference for clinical diagnosis and treatment of hepatic encephalopathy. **Methods** We selected 80 patients of Hepatitis B cirrhosis from March 2012 who to March 2014 were divided into hepatic encephalopathy group ($n = 38$) and non-hepatic encephalopathy group ($n = 42$), then selected 40 healthy persons in the same period into our hospital as the healthy control group differences of Intestinal flora between the two groups were compared. **Results** The colonies number of *Lactobacillus* and *Enterococcus* bacteria in hepatic encephalopathy group were both lower than the other two groups (the healthy control group and the non-hepatic encephalopathy group), the colonies number of yeast like fungi were higher ($P < 0.05$). The colonies number of yeast like fungi in the other two groups had no statistical difference ($P > 0.05$), the colonies number of *Lactobacillus* and *Enterococcus* bacteria in non-hepatic encephalopathy group were both lower than healthy control group ($P < 0.05$). The colonies number of *Bifidobacterium* in hepatic encephalopathy group was lower and *Escherichia coli* was higher ($P < 0.05$). **Conclusion** Intestinal flora existed in patients with hepatic encephalopathy, which may be an important factor in causing hepatic encephalopathy. Regulating of intestinal flora, maintaining intestinal microflora balance are the important strategy for the treatment of hepatic encephalopathy.

Key words Hepatic encephalopathy; Intestinal flora; *Lactobacillus* bacteria; *Enterococcus* bacteria

肝性脑病是因严重的肝脏疾病诱发,主要特征为代谢紊乱及中枢神经系统功能失衡,临床表现为意识障碍、行为失常或者昏迷。因其治疗效果差,病死率高,日益引起众多研究者的关注。肝性脑病受多个因素的综合作用,大量研究表明,肝性脑病、肝硬化、非

酒精性脂肪肝病等患者肠道内均有不同程度的菌群失调,且菌群多样性大大降低^[1]。患者肠道菌群失调造成的肠源性血氨及吸收增多在该病的发生、发展过程中具有重要作用^[2]。肝性脑病患者肠道菌群失调主要表现为需氧菌及兼性厌氧菌增多,厌氧菌减少,造成肠功能紊乱,肝功能损害及内毒素血症等。其中乳杆菌属、双歧杆菌为肠道有益菌群,大肠杆菌数量最多,肠球菌属及酵母样真菌属也为肠道常住菌群,上述菌群的数量异常均会造成肠道菌群比例失调,可能成为肝性脑病的诱发因素。为进一步探究肠道菌群变化在肝性脑病发生、发展中的作用,笔者医

基金项目:湖北省自然科学基金资助项目(2013CFB480)

作者单位:100101 北京,中国人民解放军第 306 医院消化内科(梁淑文、屈昌民、王晓英、曹艳菊、李连勇、钟长青、曾伯伦);441300 随州市中心医院(谢明水)

通讯作者:屈昌民,博士,主任医师,电子信箱:qucm7683@163.com

院对 2012 年 3 月 ~ 2014 年 3 月间收治的 80 例肝硬化患者及 40 例健康体检者的临床资料进行对比分析,现将结果报道如下。

资料与方法

1. 一般资料:连续收集笔者医院 2012 年 3 月 ~ 2014 年 3 月间收治的 80 例乙型肝炎肝硬化患者,及同期在笔者医院体检的 40 例健康人群作为研究对象。乙型肝炎肝硬化患者入选标准:①无长期大量饮酒史;②入院治疗前 6 周末服用益生菌、益生元、抗生素等对肠道微生态产生影响的药物。排除标准:①酒精性肝硬化及酗酒者;②合并有神经或精神疾病患者;③伴严重糖尿病者,或严重心、脑、肺疾病者;④摄入过多含氮药物或食物,在近两周内出现上消化道出血的患者。健康对照组入选标准:身体健康,无肝炎、冠心病、高血压病史,血常规、肝功能及肝炎血清标志物检测等血液实验室检查无异常,受试前 6 周末服用影响肠道微生态的药物。

采用数字连接试验 - A 及数字符号试验将 80 例患者分为肝性脑病组($n=38$ 例)和非肝性脑病组($n=42$ 例)。肝性脑病组患者男性 20 例,女性 18 例,患者年龄 34 ~ 73 岁,平均年龄 48.6 ± 3.2 岁。非肝性脑病组患者男性 22 例,女性 20 例,患者年龄 32 ~ 71 岁,平均年龄 48.4 ± 3.3 岁。健康对照组患者男性 22 例,女性 18 例,患者年龄 23 ~ 72 岁,平均年龄 48.5 ± 3.4 岁。3 组受试者一般资料的比较无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

2. 方法:收集 3 组受试者粪便进行细菌培养,取 0.5 克新鲜粪便加入浓度为 0.9% 的无菌生理盐水中,采用标本 10 倍稀释法稀释至 10^{-9} ,采用滴注法接种在培养基上,对乳杆菌属、肠球菌属及酵母菌样真菌等菌群进行培养,行进行定性及定量分析。

3. 统计学方法:采用统计学软件包 SPSS 17.0 对本研究所有数据进行比较和分析,计量资料采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用方差分析,计数资料采用例数或百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 3 组受试者肠道菌群的比较:肝性脑病组患者乳杆菌属及肠球菌属菌落数均显著低于非肝性脑病组及健康对照组,酵母样真菌属菌落数显著多于非肝性脑病组及健康对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。非肝性脑病组患者菌群菌落数酵母样真菌属与健康对照组相比,差异无统计学意义($P>0.05$),乳杆菌属及肠球菌属均显著少于健康对照组($P<0.05$),具体见表 1。

表 1 3 组受试者肠道菌群菌落数的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	乳杆菌属	肠球菌属	酵母样真菌属
肝性脑病组	38	7.95 ± 0.62	9.74 ± 0.83	5.63 ± 0.61
非肝性脑病组	42	10.15 ± 1.48	13.58 ± 1.49	3.21 ± 0.25
健康对照组	40	12.31 ± 1.69	15.69 ± 1.75	3.01 ± 0.12

2. 双歧杆菌及大肠杆菌培养结果:肝性脑病组患者双歧杆菌显著少于非肝性脑病组患者及健康对照组,大肠杆菌显著多于非肝性脑病组患者及健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。非肝性脑病组与健康对照组相比,差异无统计学意义($P>0.05$),具体见表 2。

表 2 3 组受试者双歧杆菌及大肠杆菌培养结果分析 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	双歧杆菌	大肠杆菌
肝性脑病组	38	7.63 ± 0.45	8.46 ± 0.78
非肝性脑病组	42	10.26 ± 1.58	5.12 ± 0.13
健康对照组	40	11.32 ± 1.49	5.01 ± 0.09

讨 论

在正常情况下人体肠道微生态均保持平衡状态,菌群的种类及数量均相对稳定。肝性脑病的发病机制目前尚不十分明确,临床多认为该病与多因素综合作用相关,以往多用氨基酸失衡学说、氨中毒学说、受体激活理论等对该病的发病机制进行解释^[3]。随着医学技术的不断进步,人们对肝性脑病的认识越来越深入。作为肝硬化严重并发症,肝性脑病与肝功能障碍及肠道菌群产生的内毒素、苯二氮嘧及氨等肠源性毒性密切相关。肝性脑病患者肠道菌群失调主要表现为需氧菌及兼性厌氧菌增多,厌氧菌减少,造成肠功能紊乱,肝功能损害及内毒素血症等。相关研究表明,肠道菌群失调可引起肠源性毒物的产生增多,受损肝脏无法对其进行及时代谢,造成毒物潴积,进一步加重了肝损害,促进了肝性脑病的发生及发展^[4,5]。

乳杆菌属是存在于人体的益生菌,肠球菌广泛分布于人及动物消化道内,严重感染后病死率较高,酵母样真菌属是真菌属的一种,外观类似酵母。肠道菌群失调包括菌群比例失调及细菌易位过度生长。本组研究中,肝性脑病组及非肝性脑病组患者乳杆菌属及肠球菌属均显著减少,这提示肝硬化患者及肝性脑病患者体内致病菌异常增多。相关研究表明,致病菌过度繁殖且将毒素释放至肠腔中,对肠上皮细胞的蛋白质合成产生抑制,从而引起肠道屏障受损,出现肠道菌群失调,菌群失调又在一定程度上加重致病菌的繁殖,形成恶性循环^[6,7]。肠道菌群紊乱造成肠源性氨增多,排出减少,患者存在高血氨的现象,这是肝性脑病发病机制中的重要因素。

双歧杆菌可为肠道提供独特的保护作用,是肠内

最有益的菌群,其数量变化是人体健康的晴雨表,随着年龄及身体状况的变化而变化。本组研究中作为肠道微生物定植抗力指标的双歧杆菌显著降低,提示肝性脑病及非肝性脑病患者肠道有益菌减少,肠道定植抗力下降,其机制可能与患者肠-肝轴破坏相关,患者胃肠道黏膜受损,减慢了蠕动速度,导致肠道出现明显的淤血水肿、缺氧及缺血,肠黏膜 pH 值出现异常,且体内毒素增多,胆汁分泌不足^[8]。大肠杆菌抗原成分较复杂,其表面抗原及鞭毛抗原可具有抗补体及抗机体吞噬的能力,一般不致病,在一定条件下可能引起肠道外感染,但对某些血清型菌株的致病性较强,属机会致病菌。本组研究中肝性脑病患者体内大肠杆菌数量显著增多,提示致病的可能性较大。在临床治疗肝性脑病的过程中,可根据患者病情合理使用微生态制剂,抑制肠道潜在致病菌的繁殖,扶持有益菌的生长,以改善肠道菌群失调的状况,减少对患者产生更严重的肝损害^[9]。

因此,调整肠道菌群平衡可有减少血氨的产生和吸收,减少肝性脑病的发生。清洁肠道可快速、彻底减少如大肠杆菌、肠球菌属和酵母样真菌属等不利菌群。降低肠道 pH 值,抑制肠道细菌生长,益生菌制剂的应用,如含双歧杆菌、乳酸杆菌的微生态制剂可调整肠道菌群结构,抑制产氨、产尿素酶细菌的生长。

综上所述,肝功能异常可造成肠道菌群失调,使肠源性毒物增多,且菌群失调可破坏肠黏膜的屏障作

用,肠道渗透性增加,促进了毒物的吸收,肝功能受损无法及时代谢毒物,进一步加重了肝损害,形成肝性脑病。调节肠道菌群,使肠道微生态平衡是治疗肝性脑病的重要策略。

参考文献

- 1 陈萌萌,周翔天,刘艳艳,等. 肠道微生物与肝肠疾病研究进展[J]. 中华肝病杂志,2014,22(10):795-797
- 2 沈哲,马良,章文华. 微生态制剂对肝性脑病患者肠道菌群及血氨的影响[J]. 中华医院感染学杂志,2014,24(10):2505-2507
- 3 翟慧勤,范红,耿嘉蔚,等. 轻微型肝性脑病患者的肠道微生物群和血浆内毒素水平[J]. 中华肝病杂志,2014,22(2):104-107
- 4 李永涛,杨益大. 肠道菌群失衡对重型肝炎的影响[J]. 中华肝病杂志,2013,21(1):7-8
- 5 李兰娟. 肠道微生态改变对肝脏疾病的影响[J]. 中华肝病杂志,2013,21(1):2-4
- 6 Dagvadorj J, Tumurkhuu G, Naiki Y, *et al.* Endotoxin-induced lung injury in α -galactosylceramide-sensitized mice is caused by failure of interleukin-4 production in lung natural killer T cells[J]. Clinical and Experimental Immunology, 2010, 162(1):169-177
- 7 黄培宁,邓有辉. 微生态制剂对慢性肝衰竭患者肠道菌群、血浆内毒素及细胞因子的影响[J]. 中华医院感染学杂志,2011,21(18):3798-3800
- 8 蒋伟伟,刘玉兰. 肠道菌群与常见肝病[J]. 中华肝病杂志,2013,21(1):5-6
- 9 Qin J, Li R, Raes J, *et al.* A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing[J]. Nature, 2010, 464(7285):59-65

(收稿日期:2015-03-27)

(修回日期:2015-04-02)

(上接第 67 页)

- 13 Bertolani C, Sancho-Bru P, Failli P, *et al.* Resistin as an intrahepatic cytokine: overexpression during chronic injury and induction of proinflammatory actions in hepatic stellate cells[J]. Am J Pathol, 2006, 169:2042-2053
- 14 Guha IN, Parkes J, Roderick P, *et al.* Noninvasive markers of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: validating the European liver fibrosis panel and exploring simple markers[J]. Hepatology, 2008, 47(2):455-460
- 15 Kaser S, Kaser A, Sandhofer A, *et al.* Resistin messenger-RNA expression is increased by proinflammatory cytokines in vitro[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 309(2):286-290
- 16 Szalowska E, Elferink MG, Hoek A, *et al.* Resistin is more abundant in liver than adipose tissue and is not up-regulated by lipopolysaccha-

ride[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2009, 94(8):3051-3057

- 17 Lin HZ, Yang SQ, Chuckaree C, *et al.* Metformin reverses fatty liver disease in obese, leptin deficient mice[J]. Nat Med, 2000, 6(9):998-1003
- 18 Fruehwald-Schultes B, Oltmanns KM, Toschek B, *et al.* Short-term treatment with metformin decreases serum leptin concentration without affecting body weight and body fat content in normal-weight healthy men[J]. Metabolism, 2002, 51(4):531-536
- 19 Liu Y, Wan Q, Guan QB, *et al.* High-fat diet feeding impairs both the expression and activity of AMPK in rats' skeletal muscle[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 339(2):701-707

(收稿日期:2014-07-24)

(修回日期:2014-08-04)