

肝硬化患者并发感染及死亡 与肠道通透性实验检测的相关性研究*

薛顺和,袁东红,王芳,戴光荣 (延安大学附属医院消化内科,陕西延安 716000)

摘要:目的 探讨肝硬化患者并发感染及死亡与肠道通透性实验检测的相关性。方法 采用前瞻性研究选取2013年~2014年延安大学附属医院收治的48例肝硬化患者和16例健康志愿者。高效液相色谱(HPLC)示差法检测并计算LMR比值(IP指数);酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清LPS结合蛋白(LBP),IL-6,肠型脂肪酸结合蛋白(I-FABP)水平。患者随访1年,观察患者并发感染和死亡情况。Spearman's rho分析IP指数相关因素,ROC曲线、Kaplan-Meier曲线、Cox回归分析与肝硬化感染及死亡相关因素。结果 肝硬化[40例(83.3%)]患者IP指数增加,显著高于对照组[4例(25%)]($\chi^2=19.006, P=0.001$)。Spearman's rho分析IP指数与清蛋白,IL-6,INR,胆红素、Child-Pugh(CTP)评分密切相关($r_s=-0.339\sim 0.485, P$ 均 <0.05)。20例(41.7%)肝硬化患者并发感染。肝硬化无感染患者腹腔积液(14),CTP评分[9(5~14)],MELD评分[12(7~27)],IL-6[40(10~1200)pg/ml],I-FABP[1160(800~8600)pg/ml]与并发感染患者[18,10(7~14),17(9~25),60(10~1800)pg/ml,4130(1520~8060)pg/ml]比较差异有统计学意义($\chi^2=8.400, Z=-3.310\sim -2.160, P$ 均 <0.05)。COX回归分析MELD >9 、腹腔积液和I-FABP >1728 pg/ml是影响肝硬化患者并发感染及死亡的独立因素(P 均 <0.05)。结论 虽然肝硬化患者IP指数显著增加,但IP指数与肝硬化患者并发感染及死亡无关。

关键词:肠道通透性;肝硬化;感染;死亡

中图分类号:R575.2;R446 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2017)01-095-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2017.01.026

Correlation between Liver Cirrhosis Patients Combined with Infection or Death and Intestinal Permeability Test

XUE Shun-he, YUAN Dong-hong, WANG Fang, DAI Guang-rong (Department of
Digestive Medicine, Affiliated Hospital of Yan'an University, Shaanxi Yanan 716000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between liver cirrhosis patients combined with infection or death and intestinal permeability (IP) test. **Methods** 48 patients with liver cirrhosis and 16 healthy volunteers were enrolled in the Affiliated Hospital of Yan'an University during 2 years from 2013 to 2014 in this prospective study. Clinical data of patients were analyzed. LMR (IP index) were calculated and detected by HPLC differential method. Serum LBP, IL-6 and I-FABP were determined by ELISA. Patients were followed for 1 year and assessed for survival and the occurrence of infections. Related factors with IP index were analyzed by Spearman's rho. ROC curve, Kaplan-Meier curve, cox regression were used to analyze related factors with the infection-free survival. **Results** IP index were increased in 40 (83.3%) patients with liver cirrhosis, compared with 4 increased IP index in healthy controls ($\chi^2=19.006, P=0.001$). IP index were correlated with albumin, IL-6, INR, bilirubin and Child-Pugh (CTP) scores by Spearman's rho analysis ($r_s=-0.339\sim 0.485, all P<0.05$). 20 (41.7%) liver cirrhosis patients developed infection in the one year follow-up. There were significant differences in ascites (14 vs 18), CTP scores [9(5~14) vs 10(7~14)], MELD scores [12(7~27) vs 17(9~25)], IL-6 [40(10~1200) vs 60(10~1800) pg/ml] and I-FABP [1160(800~8600) pg/ml vs 4130(1520~8060) pg/ml] between non-infected cirrhosis and infected cirrhosis patients ($\chi^2=8.400, Z=-3.310\sim -2.160, all P<0.05$). It was found that MELD >9 , ascites, I-FABP >1728 pg/ml were independent factors of infection-free survival in liver cirrhosis patients by COX regression (all $P<0.05$). **Conclusion** Although increased IP was higher in liver cirrhosis, and it failed to predict infection-free survival in liver cirrhosis patients.

Keywords: intestinal permeability; liver cirrhosis; infection; death

细菌感染是肝硬化患者疾病进展及死亡的常见原因之一^[1]。肝硬化患者并发感染病死率是肝硬化患者的4倍,且患者预后不良^[2]。研究表明,肠道通透性改变在肝硬化并发感染过程中起枢纽

作用^[3,4],但肠道通透性改变是否是肝硬化患者并发感染及死亡的风险因素尚不清楚。目前肠道通透性检测最常用的方法是尿乳果糖/甘露醇排泄率比值法(LMR)^[5]。由此,本研究通过LMR检测肝

* 基金项目:延安大学附属医院科研项目,编号2015HM-13。

作者简介:薛顺和(1970-),男,本科,主治医师,研究方向:胃肠消化, Tel:18209113016, E-mail: xueshunhe197003@163.com。

通讯作者:王芳,女,本科,主治医师, Tel:18009116822, E-mail: 470739584@qq.com。

硬化患者肠道通透性,研究肝硬化患者并发感染及死亡与肠道通透性实验检测的相关性,有助于肝硬化并发感染患者病情评估及改善预后。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取2013年1月~2014年12月我院收治的48例肝硬化患者。其中男性28例,女性20例,年龄在43~82岁之间。入选标准:所有患者均经既往史、症状体征、多种生化检查及影像学检查确诊,诊断符合2000年西安全国病毒性肝炎会议修订的诊断标准^[6]及2010年中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病组制定的酒精性肝病诊断标准^[7],排除有胃肠道出血患者、使用抗生素、类固醇、免疫抑制剂患者、研究前2周内饮酒患者。另外选择16例健康志愿者,男性8例,女性8例,年龄41~62岁。本研究获得本院伦理委员会批准,所有受试者均签署知情同意书。

1.2 试剂和仪器 高效液相色谱系统购自美国thermo Fisher公司(thermo Scientific™ UltiMate™3000)。血清LBP,IL-6,I-FABP ELISA试剂盒均购自美国R&D公司。

1.3 研究方法

1.3.1 常规检测指标及评分指标:本研究为前瞻性研究,入选患者检测生化全套指标,包括:血清胆红素、血清清蛋白、血清肌酐、凝血酶原时间国际标准化比值(INR)等;肝功能指标[丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)];Child-Tureotte-Pugh(或Child-Pugh评分,CTP)评分标准^[8]:5~6分为A级,7~9分为B级,10~15分为C级;常规临床实验室数据进行MELD评分^[9]。

1.3.2 肠道通透性(IP)检测:采用尿乳果糖/甘露醇比值(LMR)法检测肠道通透性^[5]。研究对象于测定前1天晚20时起禁食,第2天晨起排空膀胱后,口服含乳果糖5g和甘露醇2g混合溶液,30min内禁水、2h内禁食。收集随后6h的全部尿液,记录下总量,取20ml加入2g/L硫柳汞防腐,保存于-80℃冰箱。检测前溶化、混匀,700g离心10min,取上清,采用HPLC示差法测定尿液中乳果糖和甘露醇浓度,计算LMR(IP指数),IP指数= $C_{乳} \times V / 5g / C_{甘} \times V / 2g$ 。

1.3.3 血清LBP,IL-6,I-FABP检测:抽取静脉血3ml,700g离心10min后取血清-80℃冰箱保存待测。按ELISA试剂盒说明书操作分别检测血LPS结合蛋白(LBP),IL-6,肠型脂肪酸结合蛋白(I-FABP)水平。

1.4 统计学分析 采用SPSS17.0软件统计分析和graphpad prim 5.0作图。计量资料数据用Median(range)表示。采用Kruskal-Wallis非参数检

验分析不同CTP分级肝硬化患者IP指数;两组比较运用Mann-Whitney U检验;采用Spearman rho等级相关检验分析各因素与IP指数相关性。计数资料用 χ^2 检验。采用受试者特征曲线(ROC曲线)建立预后分组;Kaplan-Meier绘制生存曲线;采用Cox向前逐步回归分析多因素与感染或死亡结局的相关性, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝硬化患者一般资料 见表1。

表1 肝硬化患者一般临床资料($n=48$)

临床参数	中位数(极值)/频率(%)
年龄(岁)	60(43~82)
性别(男/女)	28/20
肝硬化类型	
酒精性肝硬化	34(70.8)
病毒性肝硬化	7(14.6)
其他类型肝硬化	7(14.6)
并发疾病	
肝癌	9(18.8)
糖尿病	10(20.8)
CTP分级	
A	6(12.5)
B	20(41.7)
C	22(45.8)
腹腔积液	32(66.7)
CTP评分	9(5~14)
MELD评分	15(6~27)
胆红素($\mu\text{mol/L}$)	62.5(5~430)
INR	1.5(0.8~2.7)
肌酐($\mu\text{mol/L}$)	115(42~534)
C反应蛋白(mg/L)	23.1(2~113.4)
清蛋白(g/L)	29(16~52)
白细胞计数($10^9/\text{L}$)	6.4(1.3~22.1)
血小板计数($10^9/\text{L}$)	135(30~441)
ALT(IU/L)	141(33~208)
AST(IU/L)	160(43~287)

2.2 肝硬化患者IP与患者临床特征、炎症和黏膜损伤相关性分析 40例(83.3%)肝硬化患者IP指数增加,显著高于4例(25%)对照组,差异有统计学意义($\chi^2 = 19.006$, $P = 0.001$)。Spearman's rho关联性分析见表2,IP指数与CTP评分、胆红素、INR,清蛋白、I-FABP,IL-6密切相关,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 肝硬化患者并发感染分析 随访期间,20例(41.7%)肝硬化患者并发感染。肝硬化并发感染和无感染患者临床资料比较分析见表3。肝硬化并发感染和无感染患者腹腔积液、CTP评分、MELD评分、IL-6,I-FABP,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

表2 Spearman's rho分析肝硬化患者一般临床资料与IP指数的关联性

临床参数	r_s	P
年龄(岁)	-0.157	0.350
CTP评分	0.485	0.001
MELD评分	0.214	0.154
胆红素	0.445	0.002
INR	0.381	0.009
肌酐	-0.283	0.060
C反应蛋白	0.049	0.748
清蛋白	-0.339	0.021
白细胞计数	0.174	0.247
血小板计数	0.102	0.499
ALT	-0.036	0.685
AST	0.374	0.052
LBP	0.258	0.077
I-FABP	0.165	0.042
IL-6	0.342	0.015

2.4 并发感染与未感染酒精性肝硬化患者危险因素相关性分析 随访期间,14例(29.2%)肝硬化患者死亡,4例(8.3%)肝硬化患者进行肝移植,3例分别于58,267,292天失访。20例肝硬化并发感染患者中死亡10例,与肝硬化无感染患者中死亡4例比较,差异具有统计学意义($\chi^2=7.203$, $P=0.007$)。

ROC曲线建立IP指数、MELD评分、CTP评分、I-FABP,IL-6预后分组见表4。以IP指数截断值分组后,两组患者累积感染及死亡发生率差异无统计学意义($\chi^2=2.064$, $P=0.151$),见图1。以截断值分组,采用COX向前逐步回归分析这些因素对肝硬化患者感染及死亡发生率的影响,结果MELD>9、腹腔积液和I-FABP>1 728 pg/ml是影响肝硬化患者并发感染及死亡的独立因素($P<0.05$),见表5。

表3 肝硬化并发感染和无感染患者临床资料比较分析

临床参数	肝硬化非感染患者($n=28$)	肝硬化并发感染患者($n=20$)	统计量(Z 或 χ^2)	P
年龄(岁)	58(44~76)	60(43~82)	-1.277	0.201
性别(男/女)	15/13	13/7	0.627	0.428
酒精性肝硬化	23	12	2.897	0.089
糖尿病	7	3	0.707	0.400
CTP分级			5.721	0.057
A	6	0		
B	11	9		
C	10	12		
腹腔积液	14	18	8.400	0.004
CTP评分	9(5~14)	10(7~14)	-2.160	0.031
MELD评分	12(7~27)	17(9~25)	-3.310	0.001
IP指数	0.14(0.03~0.52)	0.22(0.02~0.45)	-1.128	0.260
IP指数增加例数	23	17	0.069	0.793
LBP(g/L)	18(7~75)	24(7~75)	-0.613	0.540
IL-6(pg/ml)	40(10~1 200)	60(10~1800)	-2.801	0.042
I-FABP(pg/ml)	1 160(800~8 600)	4 130(1 520~8 060)	-3.125	0.005

表4 利用ROC建立肝硬化并发感染及死亡预后分组

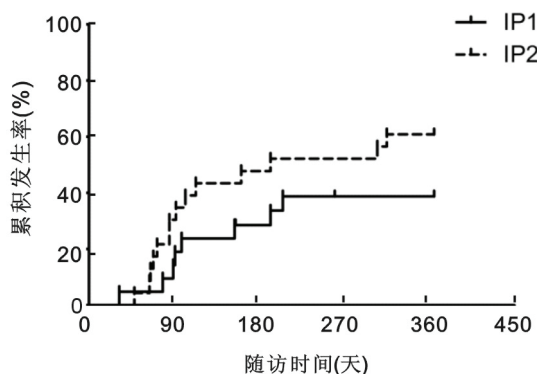
参数	AUC	P	95CI	截断值	敏感度(%)	特异度(%)
IP指数	0.527	0.760	0.352~0.702	0.215	57.8	48.9
MELD评分	0.733	0.008	0.580~0.887	9	100	25.1
CTP评分	0.731	0.009	0.580~0.883	7	90.7	41.3
IL-6	0.700	0.023	0.545~0.856	70 pg/ml	68.2	68.2
I-FABP	0.779	0.002	0.638~0.920	1 728 pg/ml	84.7	42.6

表5 感染或死亡危险因素COX向前逐步回归分析

协变量	β	SE	P	风险率	95%CI
MELD	2.364	0.767	0.002	10.633	2.364~47.818
腹腔积液	2.502	0.836	0.003	12.207	2.370~62.873
I-FABP	3.029	1.193	0.011	20.670	1.993~214.014

3 讨论 细菌感染是肝硬化患者四大常见并发症之一^[10]。肠道通透性增加是肝硬化并发细菌感和慢性肝衰竭及急性肝衰竭主要的影响因素^[11]。研究表明肠道通透性随着肝硬化病情的发展而变化,肠道通透性增加与各级肝功能指标,CTP

分级密切相关。检测肠道通透性能从侧面反映出肝损害程度,可作为肝硬化病变程度的参考指标^[12,13]。但肠道通透性增加是否是肝硬化并发细菌感染或死亡的风险因素仍不清楚。



IP1 组 IP 指数 ≤ 0.215, IP2 组 IP 指数 > 0.215。

图1 Kaplan-Meier 曲线分析患者
累积并发感染及死亡发生率

肠道通透性检查测定的指标包括: LMR, 血浆内毒素水平、二胺氧化酶活性。其中 LMR 运用最为广泛。目前普遍认为 LMR 法尿中乳果糖的排泄率主要反映肠黏膜屏障变化,甘露醇的排泄率主要反映肠道总吸收面积的变化,采用 LMR 法能较好地反映肠道通透性改变。因此,本研究通过 LMR(IP 指数)检测肝硬化患者肠道通透性,评价肠道通透性与肝硬化患者多项指标及患者并发感染和死亡的相关性,结果发现肝硬化患者 IP 指数增加,显著高于健康对照组,且 IP 指数与 CTP 评分、胆红素、INR、清蛋白、IL-6 密切相关。与马维娟等^[14]报道的结果一致。此外,肠道通透性增加是肠道屏障功能受损的早期表现和重要指标。研究表明,血清 I-FABP 是对肠黏膜损伤敏感且特异的生化指标,检测 I-FABP 变化能早期诊断肠黏膜通透性改变。LBP 是肝硬化内毒素血症或腹腔积液感染的标志物。本研究未发现 IP 指数与肝硬化患者血清 I-FABP 及 LBP 的相关性,但发现 IP 指数与肝硬化患者 IL-6 密切相关,说明 IP 指数增加可能促进了肝硬化炎症,而细菌易位、内毒素血症、腹腔积液可能是 IP 指数变化的原因。

本研究表明 IP 指数与肝硬化并发感染关系不相关。Benjamin 等^[15]研究表明 IP 指数与肝硬化并发症(包括细菌感染、肝性脑病、肝肾综合征、静脉曲张破裂出血)的关联性较低,与本文结果较为一致。据报道 MELD 和腹腔积液与肝硬化并发感染死亡密切相关^[11],本文研究发现除了 MELD、腹腔积液外,I-FABP 也是影响肝硬化患者无并发感染生存的独立因素。I-FABP 正常情况下在血液中的含量很低,当肠上皮细胞通透性增加,I-FABP

就通过毛细血管及毛细淋巴管进入血循环,便可在血液中检出 I-FABP。研究发现血液中高水平的 I-FABP 与门静脉高压程度、肝脏损伤标志物(ALT, AST, INR, 清蛋白)有关^[16]。这些均说明 I-FABP 与肝功能损伤严重程度有关。I-FABP 与肝硬化的关系,还需实验进一步证实。

本研究存在的不足:①SBP 与肝硬化并发感染密切相关,但在本研究中未发现 SBP 与 IP 指数的关系。②本研究未区分细菌感染类型与 IP 指数的关系。这主要是因为收集病例数有限,不适合做统计学分析,影响结果准确性。③目前临床上对肠黏膜屏障功能障碍缺乏明确的监测参数、较为客观的临床诊断标准与统一的治疗方案。本研究用 LMR 代表肠通透性,具有一定的局限性。

总之,本研究发现虽然肝硬化患者 IP 指数显著增加,但 IP 指数不影响肝硬化患者并发感染及死亡。MELD、腹腔积液、I-FABP 才是影响肝硬化患者感染及死亡的独立因素。I-FABP 影响肝硬化并发感染结局的机制需要进一步研究证实。

参考文献:

- [1] Bunchorntavakul C, Chamroonkul N, Chavalitdhamrong D. Bacterial infections in cirrhosis: A critical review and practical guidance[J]. World J Hepatol, 2016, 8(6): 307-321.
- [2] Yan K, Garcia-Tsao G. Novel prevention strategies for bacterial infections in cirrhosis[J]. Expert Opin Pharmacother, 2016, 17(5): 689-701.
- [3] Albillos A, Lario M, Alvarez-Mon M. Cirrhosis-associated immune dysfunction: distinctive features and clinical relevance[J]. J Hepatol, 2014, 61(6): 1385-1396.
- [4] 段发兰, 李亚新, 杨飞翔, 等. CT 与 FIB-4 无创诊断慢性乙型肝炎肝硬化肝纤维化的效果分析[J]. 现代检验医学杂志, 2015, 30(6): 119-120, 124.
Duan FL, Li YX, Yang FX, et al. Analysis of CT and FIB-4 noninvasive diagnosis in liver fibrosis with chronic hepatitis B[J]. J Mod Lab Med, 2015, 30(6): 119-120, 124.
- [5] 何桂珍, 舒红, 刘卫, 等. 高压液相色谱法检测肠道通透性及临床应用[J]. 现代检验医学杂志, 2010, 25(3): 12-14, 18.
He GZ, Shu H, Liu W, et al. Detection of intestinal permeability by high performance/pressure liquid chromatography[J]. J Mod Lab Med, 2010, 25(3): 12-14, 18.
- [6] 中华医学会传染病与寄生虫病学会, 肝病学会. 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华传染病杂志, 2001, 19(1): 56-62.

- Chinese Society of Hepatology CMA, Society of Infectious Diseases CMA. Guidelines for the prevention and treatment of viral hepatitis[J]. Chin J Infect Dis, 2001,19(1):56-62.
- [7] 中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 酒精性肝病诊疗指南(2010 修订版)[J]. 中华肝脏病杂志, 2010,18(3):167-170.
- Chinese national workshop on fatty liver and alcoholic liver disease for the Chinese liver disease association. Guidelines for management of alcoholic liver disease: an updated and revised edition[J]. Chin J Hepatol, 2010,18(3):167-170.
- [8] Pasqualetti P, Di Lauro G, Festuccia V, et al. Prognostic value of Pugh's modification of Child-Tureotte classification in patients with cirrhosis of the liver [J]. Panminerva Med, 1992,34:65-68.
- [9] Salerno F, Merli M, Cazzaniga M, et al. MELD score is better than Child-Pugh score in predicting 3-month survival of patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunt [J]. J Hepatol, 2002, 36 (4):494-500.
- [10] Pericleous M, Sarnowski A, Moore A, et al. The clinical management of abdominal ascites, spontaneous bacterial peritonitis and hepatorenal syndrome; a review of current guidelines and recommendations[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2016,28(3):e10-e18.
- [11] Ensaroglu F, Korkmaz M, Geckil AU, et al. Factors affecting mortality and morbidity of patients with cirrhosis hospitalized for spontaneous bacterial peritonitis[J]. Exp Clin Transplant, 2015,13(Suppl 3): 131-136.
- [12] 何桂珍. 肠道屏障功能和检测方法的研究进展[J]. 现代检验医学杂志, 2009,24(6):136-141.
- He GZ. Current methodologies used for evaluation of intestinal permeability[J]. J Mod Lab Med, 2009,24 (6):136-141.
- [13] 顾林, 燕善军, 王启之, 等. 肝硬化患者肠黏膜屏障功能的变化[J]. 中华全科医学, 2014,12(11):1733-1736.
- Gu L, Yan SJ, Wang QZ, et al. Intestinal mucosal barrier function in patients with cirrhosis[J]. Chin J Gen Pract, 2014,12(11):1733-1736.
- [14] 马维娟, 许建明, 胡静, 等. 肝硬化患者肠道粘膜通透性及其与 Child-Pugh 分级相关性研究[J]. 中华疾病控制杂志, 2015,19(4):411-415.
- Ma WJ, Xu JM, Hu J, et al. Study on the alteration of intestinal permeability in patients with liver cirrhosis and its relationship with the Child-Pugh classification[J]. Chin J Dis Control Prev, 2015,19(4): 411-415.
- [15] Benjamin J, Singla V, Arora I, et al. Intestinal permeability and complications in liver cirrhosis: A prospective cohort study[J]. Hepatol Res, 2013,43(2): 200-207.
- [16] Sandler NG, Koh C, Roque A, et al. Host response to translocated microbial products predicts outcomes of patients with HBV or HCV infection[J]. Gastroenterology, 2011,141(4):1220-1230, 1230. e1-e3.