

益生菌联合早期肠内营养对重症急性胰腺炎患者肠道免疫功能的影响

张俊烁¹, 周家德², 彭淮都¹, 蔡楚东¹, 方喜¹

1. 汕头市中心医院外二科, 广东 汕头 515031; 2. 汕头市潮南区人民医院普外科, 广东 汕头 515100

摘要: **目的** 探讨益生菌联合早期肠内营养在重症急性胰腺炎患者治疗中的应用及对肠道免疫功能的影响。**方法** 选取 2012 年 5 月至 2014 年 9 月收治的 50 例重症急性胰腺炎患者, 随机分为对照组和观察组各 25 例。对照组在常规治疗基础上进行全胃肠外营养治疗, 观察组联合使用益生菌和早期肠内营养治疗, 采用 ELISA 法检测治疗开始后第 1、3、7、14、21 天的白细胞介素 (IL)-6、IL-10、IL-17 以及免疫球蛋白 (Ig) A、IgG 水平, 比较两组的差异。**结果** 在治疗后第 14、21 天, 观察组 IL-6、IL-10 及 IL-17 水平显著低于对照组, 差异有统计学意义 (P 均 < 0.05); 观察组患者的血清 IgA、IgG 水平在治疗后第 7、14、21 天较对照组明显增高, 差异有统计学意义 (P 均 < 0.05)。**结论** 益生菌联合早期肠内营养治疗可通过维持 Th17/Treg 细胞平衡及提高体液免疫能力, 增强重症急性胰腺炎患者的肠道免疫功能。

关键词: 益生菌; 早期肠内营养; 肠黏膜免疫功能; Th17/Treg 细胞; 重症急性胰腺炎; 免疫球蛋白 A; 免疫球蛋白 G

中图分类号: R 657.5⁺1 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2016)01-0055-04

重症急性胰腺炎患者常常伴有肠道黏膜通透性增高, 肠道黏膜免疫功能紊乱, 继而出现肠道菌群、内毒素移位, 继发感染并诱发多脏器功能不全, 因此病死率极高。肠道黏膜透性增高以及免疫功能紊乱与重症急性胰腺炎的继发感染关联紧密^[1]。前期研究表明, 益生菌联合早期肠内营养能调节肠道菌群的紊乱, 维持肠道微生态平衡, 并释放细菌内毒素, 对重症急性胰腺炎有一定的治疗作用^[2-3]。同时多项研究显示, 益生菌可通过多种途径增强肠黏膜的免疫功能^[4-5]。本研究拟进一步探讨益生菌联合早期肠内营养 (EN) 对重症胰腺炎患者肠道免疫功能的影响, 以期探讨其治疗重症急性胰腺炎的可能机制。

1 资料与方法

1.1 临床资料 将 2012 年 5 月至 2014 年 9 月期间于我院住院治疗的重症急性胰腺炎患者 50 例纳入研究, 采用随机数字表法随机分为对照组和观察组各 25 例。本研究均征得患者知情同意, 且通过医院伦理委员会批准。纳入标准^[6]: (1) 入院距离起病时间少于 48 h; (2) 根据病史、症状、体格检查及实验室检查诊断为急性胰腺炎。影像学检查提示胰腺肿大, 质

地不均, 胰腺外有浸润迹象; (3) 按 APACHE II 评分标准 8 分或以上; (4) 年龄 < 70 岁。剔除标准为: (1) 鼻肠管注入营养后, 出现严重胃潴留现象 (潴留量 > 250 ml); (2) 行内镜逆行胰胆管造影术后者; (3) 合并严重肾功能不全 (血肌酐水平 > 177 $\mu\text{mol/L}$ 或需血液透析维持治疗); (4) 疑合并胰腺或胆道恶性肿瘤; (5) 合并严重心、肺功能不全。其中男 29 例, 女 21 例; 年龄 21 ~ 66 (44.8 ± 10.2) 岁。观察组男 14 例, 女 11 例; 年龄 21 ~ 65 (44.5 ± 9.8) 岁; APACHE II 评分 (13.25 ± 5.56) 分, Glasgow 评分 (6.35 ± 0.68) 分。对照组男 15 例, 女 10 例; 年龄 21 ~ 66 (45.2 ± 9.4) 岁; APACHE II 评分 (13.46 ± 5.38) 分; Glasgow 评分 (6.47 ± 0.59) 分。两组在性别、年龄、APACHE II 评分以及 Glasgow 评分等方面比较差异无统计学意义 (P 均 > 0.05), 具有可比性。

1.2 治疗方法 入院后所有患者给予禁食、心电监护、补充循环容量, 积极抗感染、抑制胰酶的活性、纠正水电解质平衡紊乱等基础治疗。对照组在此基础之上行全胃肠外营养治疗, 热量由糖、脂肪和蛋白质提供, 构成比例为 6:2:2, 每天所提供的氮量为 0.25 ~ 0.40 g/kg, 并予以一定的维生素和微量元素。观察组在基础治疗上应用益生菌制剂联合早期 EN 治疗, 选用含 8% 复方氨基酸及 20% 中长链脂肪乳的瑞素营养复方乳剂行 EN 治疗。将鼻肠管头端位置置于空肠上距屈氏韧带 20 ~ 30 cm 处, 并将尾端固定

于面颊后予以开始 EN。然后将 500 ml 的温氯化钠溶液经鼻-肠营养管缓缓滴注,促使肠道恢复蠕动,并逐步过渡到可注入营养制剂。在第 1 天和第 2 天先行低浓度慢速输注(约 25 ml/h),每天的用量 50 g 左右;从第 3 天起每日的用量增加至 200~250 g 并可适当提高浓度,同时滴速控制在 80~100 ml/h,并根据患者日常所需适当调整用量。在后期可适当加用米汤、蔬菜汁、牛奶等流质。待患者腹痛症状消失且经 CT 检查显示胰腺周围的炎症吸收后予以拔除营养管,逐渐过渡至开放饮食。在此期间口服或经胃管注入培菲康益生菌制剂(由嗜酸乳杆菌、双歧杆菌、肠球菌联合配制,每粒胶囊活菌数大于 1.0×10^7 菌落形成单位),每天 3 次,每次 2 粒。若患者临床症状明显好转或恢复正常即可停用药物。

1.3 观察指标和检测方法 于治疗开始后第 1、3、7、14、21 天的清晨采集患者空腹外周血并送检以下项目:免疫球蛋白(Ig)A、IgG、白细胞介素(IL)-6、IL-10 及 IL-17。检测方法:采用 ELISA 法检测(ELISA 试剂盒 R&D,美国),严格按说明书进行操作,检测时根据说明书以及所需的标本检测情况,将试剂做适当的稀释。(1)标准品液的配制:按说明书及试验要求予以稀释标准品,根据待测的样品数量及标准品数量确定所需的板条数。(2)加样:将显色剂 A&B 和终止液加于空白孔,于标准品孔中加入标准品和链霉素-HR 各 50 μ l;于待测样品孔中加入样品 40 μ l,然后依次加入抗体 10 μ l 和酶链亲和素-HRP 50 μ l,并将封板膜盖上后轻轻振荡摇匀,置于 37 $^{\circ}$ C 温育 60 min。(3)配液:用蒸馏水 30 倍稀释 30 倍浓缩洗涤液后备用。(4)洗涤:仔细揭开封板膜,弃除液体并甩干,于每孔加满洗涤液后静置 30 s 并弃去,如此反复操作 5 次后拍干。(5)显色:于每孔中依次加入显色剂 A 和显色剂 B 各 50 μ l,轻轻振荡摇匀,置于 37 $^{\circ}$ C 避光显色 10 min。(6)终止:于每孔中加终止液 50 μ l 后终止反应(此时可见蓝色立转黄色)。(7)测

定:以空白孔校零,在 450 nm 波长下依次测量各孔的吸光度(OD 值)(注意测定应于加入终止液后 10 min 以内操作)。(8)计算:根据标准品浓度及其对应 OD 值来计算出标准曲线直线回归方程,再依据样品 OD 值在回归方程上计算出对应的值。

1.4 统计学方法 应用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,检验计量资料的正常和方差齐性,符合者组间比较采用两独立样本 *t* 检验,组内比较采用重复测量方差分析和两两比较的 LSD-*t* 检验;非正态分布者采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者 IL-6、IL-10 及 IL-17 水平比较 两组血清 IL-6、IL-10 及 IL-17 在营养治疗后均有升高,在治疗后 3 d(d3)达到峰值。d3 与治疗前(d1)相比,IL-6、IL-17 水平差异有统计学意义(P 均 < 0.05)。其后,观察组 d14、d21 时 IL-6、IL-10 及 IL-17 均较 d1 下降(P 均 < 0.05);对照组 d14、d21 时 IL-6、IL-10 较 d1 不同程度下降,但 IL-17 与 d3 时比较变化不大,仍高于 d1 时($P < 0.05$)。观察组 d14、d21 时 IL-6、IL-10 及 IL-17 水平均显著低于对照组(P 均 < 0.05)。见表 1~3。

2.2 两组患者血清 IgA 及 IgG 水平比较 营养治疗后观察组患者血清 IgA、IgG 水平逐步升高,d3、d7、d14、d21 时均高于 d1(P 均 < 0.05),以 d14 时最高。对照组患者血清 IgA 水平营养治疗后有不同程度降低,d7、d14 较 d1 时差异有统计学意义(P 均 < 0.05),d21 时有所回升,但仍稍低于 d1 时,血清 IgG 水平有不同程度增高,d7、d14、d21 较 d1 时差异均有统计学意义(P 均 < 0.05)。观察组患者血清 IgA、IgG 水平在营养治疗 d7、d14、d21 时均显著高于对照组(P 均 < 0.05)。见表 4、5。

表 1 两组患者 IL-6 水平比较 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	d1	d3	d7	d14	d21
观察组	78.89 \pm 12.35	90.21 \pm 15.41*	80.21 \pm 14.63	59.34 \pm 10.26*	48.25 \pm 13.68*
对照组	86.51 \pm 10.51	91.53 \pm 14.25*	87.25 \pm 15.41	84.44 \pm 13.62	80.24 \pm 16.85*
<i>P</i> 值	> 0.05	> 0.05	> 0.05	< 0.05	< 0.05

注:与 d1 比较,* $P < 0.05$ 。

表 2 两组患者 IL-10 水平比较 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	d1	d3	d7	d14	d21
观察组	94.26 \pm 14.58	96.53 \pm 20.54	90.55 \pm 18.62*	65.53 \pm 15.69*	59.95 \pm 18.66*
对照组	95.54 \pm 18.42	97.68 \pm 18.52	96.53 \pm 18.44	94.68 \pm 17.64*	89.65 \pm 16.54*
<i>P</i> 值	> 0.05	> 0.05	> 0.05	< 0.05	< 0.05

注:与 d1 比较,* $P < 0.05$ 。

表 3 两组患者 IL-17 水平比较 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	d1	d3	d7	d14	d21
观察组	23.68 ± 5.63	27.76 ± 5.64 *	20.55 ± 8.49 *	18.65 ± 6.83 *	20.62 ± 3.66 *
对照组	28.86 ± 4.53	35.64 ± 6.55 *	34.66 ± 4.77 *	33.53 ± 5.62 *	32.63 ± 8.60 *
P 值	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05

注:与 d1 比较, *P < 0.05。

表 4 两组患者血清 IgA 水平比较 (mg/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	d1	d3	d7	d14	d21
观察组	118.98 ± 32.53	123.12 ± 25.14 *	130.12 ± 24.36 *	135.43 ± 30.62 *	133.62 ± 26.86 *
对照组	116.15 ± 30.15	111.35 ± 24.52	103.52 ± 25.61 *	101.34 ± 28.58 *	110.42 ± 26.58
P 值	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注:与 d1 比较, *P < 0.05。

表 5 两组患者血清 IgG 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	d1	d3	d7	d14	d21
观察组	3256.62 ± 741.85	3569.35 ± 702.45 *	4408.55 ± 881.26 *	4854.35 ± 751.96 *	4695.95 ± 781.66 *
对照组	3359.45 ± 781.24	3379.86 ± 781.25	3439.35 ± 628.25 *	3621.86 ± 728.46 *	3598.75 ± 861.45 *
P 值	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注:与 d1 比较, *P < 0.05。

3 讨论

重症急性胰腺炎患者的肠道免疫功能紊乱主要包括肠道黏膜通透性的增加、肠道分泌性抗体的异常和肠道黏膜相关的淋巴组织异常,上述异常与患者肠道的微循环紊乱、过度炎症反应、缺血-再灌注损伤、内毒素的作用、菌群失调以及肠内营养因子缺乏等因素密切相关^[1]。近年来越来越多的研究表明益生菌联合 EN 能改善重症急性胰腺炎患者的预后^[7-9]。其可能的机制主要通过以下几个方面实现:(1)益生菌可产酸降低肠道内 pH 值,并削弱致病菌的毒性和生存能力,而且产生抗菌物质和细菌素可以抑制病原菌生长,同时能与肠上皮细胞结合位点竞争,进一步抑制病原菌的生长和定植;(2)益生菌可减少肠上皮细胞凋亡的数量,降低肠道黏膜的通透性^[10],预防氧化应激反应;(3)同时益生菌对肠上皮细胞的非特异性免疫和特异性免疫功能有一定的调节作用^[5]。

肠道共栖菌诱导的 Th17/Treg 细胞平衡是淋巴细胞的关键亚群,在肠道局部免疫中起着重要的作用^[11]。IL-6 是 Th17 细胞分化发育以及表达过程中的关键因子,且活化的 Th17 细胞高表达特异细胞因子 IL-17^[12],因此可通过外周血中 IL-6、IL-17 水平间接反映肠道中 Th17 细胞的分化和发育情况。然而 Treg 细胞却与 Th17 细胞的分化相抑制,其主要作用为维持自身免疫的无应答状态以及抑制过度的炎症反应。Treg 细胞主要分泌 IL-10,因此 Treg 细胞分化发育情况可由血清中 IL-10 的水平间接推测。本研究结果表明在重症急性胰腺炎患者中应用益生菌联

合早期肠内营养一段时间后能够下调其 IL-6、IL-10、IL-17 的水平,使 Th17/Treg 细胞处于相对平衡状态,从而调节机体免疫功能。这一现象在益生菌治疗重症性颅脑损伤的患者中同样存在^[13]。分析其可能的原因为外源性益生菌能抑制肠道菌群紊乱,使有益菌群上调,进而使病原菌减少^[14],同时有益菌群的增加可抑制 Th17 细胞的分化,下调 IL-17 以抑制过度炎症反应,随着 IL-17 水平的下调,IL-10 水平也逐渐下降^[15],促使机体的促炎/抗炎处于相对平衡状态,促使重症急性胰腺炎患者的炎症及感染朝着积极的方向转归。与此同时本研究结果表明益生菌联合早期 EN 可以提高重症急性胰腺炎患者中的 IgG、IgA 水平,这与既往研究结果一致^[16],分析其原因可能为益生菌能调节树突状细胞表型以及功能,减少促炎因子并诱导抑炎因子表达,从而激活巨噬细胞刺激非特异性免疫,增加全身性的 Ig 反应^[17]。

本研究结果证明益生菌联合早期 EN 可维持重症急性胰腺炎患者的 Th17/Treg 细胞的相对平衡,促进机体自身对促炎/抗炎平衡的修复。同时可以提高患者 IgA、IgG 水平,提高机体体液免疫功能。但其确切的机制目前尚不十分明确,期待后续更有说服力的研究,以指导临床实践。

参考文献

- [1] 罗旭颖,王红.重症急性胰腺炎中肠道免疫功能紊乱的研究进展[J].世界华人消化杂志,2009,17(2):169-173.
- [2] 张俊焯,周家德,彭准都,等.益生菌联合早期肠内营养治疗重症急性胰腺炎的疗效探讨[J].中外医疗,2015(6):76-77,80.
- [3] 郝建宇,郭子皓.重症急性胰腺炎诊疗研究进展[J].创伤与急

- 危重病医学, 2013, 1(1): 42-44, 48.
- [4] 尚沁沁, 李雅丽, 史艳云, 等. 益生菌对动物肠上皮细胞免疫功能的进展[J]. 中国畜牧杂志, 2014, 50(13): 87-90.
- [5] 谢凤梅, 张海蓉. 益生菌治疗重症急性胰腺炎的研究现状[J]. 世界华人消化杂志, 2014, 22(22): 3232-3238.
- [6] 中华医学会外科学分会胰腺外科学组. 重症急性胰腺炎诊治指南[J]. 中华外科杂志, 2007, 45(11): 727-729.
- [7] 沈凌鸿, 郑贵军, 袁亚松, 等. 重症急性胰腺炎早期肠内营养的临床研究[J]. 中国临床研究, 2014, 27(12): 1494-1496.
- [8] 绽永华, 王学红, 马臻琦, 等. 益生菌治疗重症急性胰腺炎的荟萃分析[J]. 现代预防医学, 2014, 41(5): 954-958.
- [9] 林小凤. 益生菌联合早期肠内营养治疗重症急性胰腺炎疗效观察[J]. 中国处方药, 2014, 12(9): 49-50.
- [10] 王海燕. 益生菌在肠黏膜屏障的辅助治疗的临床价值分析[J]. 医学信息, 2013(14): 54.
- [11] Iwasaka H, Noguchi T. Th1/Th2 balance in systemic inflammatory response syndrome (SIRS)[J]. Nihon Rinsho, 2004, 62(12): 2237-2243.
- [12] Ivanov II, Frutos Rde L, Manel N, et al. Specific microbiota direct the differentiation of IL-17-producing T-helper cells in the mucosa of the small intestine[J]. Cell Host Microbe, 2008, 4(4): 337-349.
- [13] 熊小伟, 朱京慈. 益生菌联合早期肠内营养对重型颅脑损伤患者肠道免疫及感染的影响[D]. 重庆: 第三军医大学, 2013.
- [14] 谢彩霞, 朱京慈, 黄光富, 等. 早期肠内营养联合合生元制剂对重型颅脑损伤病人肠道菌群及 SIgA 的影响[J]. 护理研究, 2010, 24(28): 2557-2560.
- [15] Livingston M, Loach D, Wilson M, et al. Commensal Lactobacillus reuteri 100-23 stimulates an immunoregulatory response[J]. Immunol Cell Biol, 2010, 88(1): 99-102.
- [16] Kaburagi T, Yamano T, Fukushima Y, et al. Effect of Lactobacillus johnsonii La1 on immune function and serum albumin in aged and malnourished aged mice[J]. Nutrition, 2007, 23(4): 342-350.
- [17] Rayes N, Seehofer D, Neuhaus P. Prebiotics, probiotics, synbiotics in surgery-are they only trendy, truly effective or even dangerous? [J]. Langenbecks Arch Surg, 2009, 394(3): 547-555.

收稿日期: 2015-09-08 修回日期: 2015-10-18 编辑: 王宇

(上接第 54 页)

- [4] 秦小奎. 急性 ST 段抬高型心肌梗死患者行急诊 PCI 后早期应用不同剂量替罗非班对血小板聚集功能及活性的影响分析[J]. 临床医学, 2014, 34(11): 47-48.
- [5] 高玉龙, 王春梅, 朱小玲, 等. 冠状动脉内半剂量替罗非班对老年急诊介入术中慢血流的安全性及有效性研究[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2013, 15(4): 346-348.
- [6] 王环, 赵凤琴. 冠状动脉内注射不同剂量替罗非班对老年 ST 段患者急诊介入术后近期预后的影响[J]. 中国全科医学, 2012, 15(32): 3723-3726.
- [7] Funaro S, Galiuto L, Boecchini F, et al. Determinants of microvascular damage recovery after acute myocardial infarction: results from the acute myocardial infarction contrast imaging (AMICI) multi-centre study[J]. Eur J Echocardiogr, 2011, 12(4): 306-312.
- [8] Kopetz VA, Penno MA, Hoffmann P, et al. Potential mechanisms of the acute coronary syndrome presentation in patients with the coronary slow flow phenomenon-insight from a plasma proteomic approach[J]. Int J Cardiol, 2012, 156(1): 84-91.
- [9] Hagemeyer CE, Peter K. Targeting the platelet integrin GPIIb/IIIa [J]. Curr Pharm Des, 2010, 16(37): 4119-4133.
- [10] 段小春, 高海, 李南, 等. 老年急性非 ST 段抬高心肌梗死合并糖尿病患者应用替罗非班的有效性和安全性[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2013, 15(6): 582-585.
- [11] Savarese G, Trimarco B, Dellegrottaglie S, et al. Natriuretic peptide-guided therapy in chronic heart failure: a meta-analysis of 2,686 patients in 12 randomized trials[J]. PLoS One, 2013, 8(3): e58287.
- [12] Ohshima K, Ikeda S, Kadota H, et al. Impact of culprit plaque volume and composition on myocardial microcirculation following primary angioplasty in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: virtual histology intravascular ultrasound analysis[J]. Int J Cardiol, 2013, 167(3): 1000-1005.
- [13] 马国平, 籍振国, 郭军, 等. 替罗非班应用时间对急性心肌梗死患者介入治疗的影响[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(7): 1494-1496.
- [14] 任琳, 王文广, 王倩, 等. 半量替罗非班在老年急性心肌梗死急诊经皮冠状动脉介入治疗的疗效和安全性[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2014, 16(1): 32-35.
- [15] 杨帆, 赖沙毅. 冠状动脉介入术中应用替罗非班血小板聚集率的变化及不良反应观察[J]. 实用医学杂志, 2008, 24(10): 1808-1809.
- [16] 於王骥, 洪理泉, 邵景莺. 急性心肌梗死患者血小板相关参数与血清同型半胱氨酸测定的临床意义[J]. 中国卫生检验杂志, 2012, 22(2): 306-307.
- [17] 李慧娟, 徐会圃. 替罗非班对急诊 PCI 术后患者血清可溶性 CD40 配体、缺氧诱导因子 α 、诱导性一氧化氮合成酶的影响[J]. 实用医学杂志, 2014, 30(15): 2481-2483.
- [18] Majmundar AJ, Wong WJ, Simon MC. Hypoxia-inducible factors and the response to hypoxic stress [J]. Mol Cell, 2010, 40(2): 294-309.
- [19] Lemus-Varela ML, Flores-Soto ME, Cervantes-Munguía R, et al. Expression of HIF-1 α , VEGF and EPO in peripheral blood from patients with two cardiac abnormalities associated with hypoxia [J]. Clin Biochem, 2010, 43(3): 234-239.
- [20] 任琳, 王文广, 王倩, 等. 半量替罗非班在老年急性心肌梗死急诊经皮冠状动脉介入治疗的疗效和安全性[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2014, 16(1): 32-35.

收稿日期: 2015-08-29 修回日期: 2015-09-07 编辑: 周永彬