

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2021.01.020

❖ 临床研究 ❖

益生菌对慢性乙肝肝硬化患者免疫功能及肠道菌群的影响

吴超, 郭芙蓉, 苏桂华

(喀什地区第一人民医院传染科, 新疆 喀什 844000)

【摘要】目的: 研究益生菌对慢性乙肝肝硬化患者免疫功能及肠道菌群的影响。**方法:** 100例慢性乙肝肝硬化患者,按照随机数表法均分为两组,每组各50例。对照组采用常规治疗,观察组在对照组基础上给予益生菌治疗。测定并比较两组患者治疗前后的肠道菌群、肝功能、炎症因子水平及血清内毒素水平。**结果:** 治疗后,观察组双歧杆菌、嗜酸杆菌及梭菌含量均高于对照组,肠杆菌和肠球菌含量低于对照组($P < 0.05$),ALT、AST及TBIL水平均低于对照组($P < 0.05$),IL-10、TNF- α 及内毒素水平均低于对照组($P < 0.05$)。观察组NK、CD3及CD4水平均高于对照组($P < 0.05$)。**结论:** 益生菌治疗慢性乙肝肝硬化疗效显著,能够促进患者肠道有益菌增加,改善患者的免疫功能和肝功能,值得临床推广。

【关键词】 慢性乙肝肝硬化;益生菌;肠道菌群;免疫功能

【中图分类号】 R512.6 **【文献标志码】** A

Influence of probiotics on the immune function and intestinal flora of patients with chronic hepatitis B cirrhosis

WU Chao, GUO Fu-rong, SU Gui-hua

(Department of Infection, the First People's Hospital of Kashgar, Kashgar 844000, Xinjiang, China)

【Abstract】Objective: To study the influence of probiotics on the immune function and intestinal flora of patients with chronic hepatitis B cirrhosis. **Methods:** 100 patients with chronic hepatitis B cirrhosis were selected as the subjects and divided into two groups according to the random number table method, 50 cases in each group. The patients in the control group were treated routinely. The patients in the observation group were given probiotic treatment on the basis of the control group. The intestinal flora, liver function, inflammatory factor levels and serum endotoxin levels of the two groups of patients were measured and compared before and after treatment. **Results:** After treatment, the content of Bifidobacterium, Acidophilus and Clostridium in the observation group were significantly higher than that in the control group, and the content of Enterobacteriaceae and Enterococcus were significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$). The ALT, AST and TBIL levels of the observation group were significantly lower than those of the control group ($P < 0.05$), and the levels of IL-10, TNF- α and endotoxin were also significantly lower than those of the control group ($P < 0.05$), the levels of NK, CD3 and CD4 of the observation group were significantly higher than those of the control group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Probiotics are effective in the treatment of chronic hepatitis B liver cirrhosis, which can promote the increase of beneficial bacteria in patients' intestines and improve the patients' immune function and liver function, it is worthy of clinical promotion.

【Key words】 Chronic hepatitis B; Probiotics; Intestinal flora; immunity function

乙肝是目前我国临床上较为常见的慢性疾病,在青壮年人群中具有较高的感染率,但由于慢性乙肝病程长、症状轻,许多患者在感染乙肝后未及时采取治疗,也未合理调整生活习惯,进而导致肝功能进一步出现损伤,随时间推移渐渐发展成弥散性病变和肝硬化^[1]。肝硬化患者其免疫功能在患病后会

出现显著下降,长时间的炎性状态也会进一步引发肝纤维化和其他病症,严重影响患者的生活质量^[2-3]。因此,及时对慢性乙肝肝硬化患者开展治疗对于患者的康复和预后具有重要意义。研究^[4]发现,益生菌疗法对于酒精性肝硬化患者具有较好的疗效,但对于肝硬化并发感染的相关研究较少。本研究探讨分析益生菌对慢性乙肝肝硬化患者免疫功能及肠道菌群的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2018 年 1 月至 2020 年 3 月在喀什地区第一人民医院进行诊治的 100 例慢性乙肝肝硬化患者作为本次研究对象,按照随机数表法分为两组,每组各 50 例。纳入标准^[5]:(1)经诊断符合 2015 版中华医学会肝病学会制定的慢性乙肝肝硬化的诊断标准;(2)有肝功能异常病史;(3)具有慢性乙肝肝硬化的典型症状;(4)临床资料完整;(5)自愿参与并签署知情同意书。排除标准^[5]:(1)近期消化道出血者;(2)合并恶性肿瘤者;(3)同时患有可能引起肠道功能损失的其他疾病者,如糖尿病;(4)近期有明显感染病史者;(5)病例资料不完整;(6)依从性差。观察组患者 28 ~ 65 岁,平均年龄(44.32 ± 6.50)岁;病程 9 个月 ~ 5 年,平均(2.27 ± 0.85)年;男性 31 例,女性 19 例。对照组患者 26 ~ 69 岁,平均年龄(43.63 ± 6.82)岁;病程 10 个月 ~ 6 年,平均(2.66 ± 0.87)年;男性 32 例,女性 18 例。两组患者的年龄、病程等一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。本次研究经本院伦理委员会审核批准同意,患者及家属知情同意。

1.2 方法

1.2.1 治疗方式 两组患者均连续治疗 14 d。对照组患者进行常规治疗,即常规保肝、营养支持、护理等综合治疗。观察组在对照组基础上给予益生菌治疗,选择的药物为双歧杆菌乳杆菌三联活菌片(内蒙古双奇药业股份有限公司),3 次/d,3 片/次。

1.2.2 测定肠道菌群 将两组患者治疗前后的新鲜粪便留存在粪便盒中,在 -70 °C 的低温中保存待测。检测时,在 0.5 g 的新鲜粪便中加入 1.5 mL 的无菌 NaCl 溶液,按照 10 倍稀释法分别稀释为 10^{-1} 、 10^{-3} 、 10^{-5} 、 10^{-7} 和 10^{-9} 溶液,在上述溶液中各取 50 μ L 在选择培养基中进行接种。厌氧菌(双歧杆菌、嗜酸杆菌、梭菌)采用抽气换气培养法进行培养,时长 48 h;需氧菌(肠杆菌、肠球菌)则在 35 °C 的孵育器中进行培养,时长 24 h。选择 VITEK-AMS 全自动微生物鉴定系统(法国生物梅里埃公司)对肠道菌群进行鉴定,鉴定结果单位表示为每克粪便湿重中菌形成单位的对数值。

1.2.3 测定肝功能、炎症因子、NK 细胞、外周血 T 细胞以及血清内毒素 治疗前后,在两组患者空腹时采集其肘部的外周静脉血 5 mL,设置 3 000 rpm 的转速离心 10 min,分离出上清液,并放置于 -40 °C 的冰箱中保存。所有的测定操作均由专业人员严格按照操作过程进行,丙氨酸氨基转移酶

(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)以及总胆红素(TBIL)水平使用全自动生化分析仪进行测定;炎症因子水平(IL-10、TNF- α)使用酶联免疫吸附法进行测定;使用上海伊华临床医学科技公司的试剂盒,用改良鲎试验法对血清内毒素水平进行检测;采用 FACScan 流式细胞技术检测 CD3、CD4 和 NK 细胞水平。

1.3 观察指标

比较两组患者治疗后的肠道菌群(包括双歧杆菌、嗜酸杆菌、梭菌、肠杆菌和肠球菌);比较两组患者治疗前后的肝功能(ALT、AST 和 TBIL);比较两组患者治疗前后的炎症因子水平(IL-10 和 TNF- α)及血清内毒素水平;比较两组患者治疗前后的 NK 细胞和外周血 T 细胞水平(CD3 和 CD4 细胞)。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 18.0 进行数据分析。计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,行 t 检验;计数资料表示为[$n(\%)$],分析采用 χ^2 检验或 Fisher's 精确检验。 $P < 0.05$ 示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者治疗后的肠道菌群比较

治疗后,观察组患者的双歧杆菌、嗜酸杆菌及梭菌含量显著高于对照组,肠杆菌和肠球菌含量显著低于对照组(均 $P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组患者治疗后的肠道菌群比较($\bar{x} \pm s, \lg\text{CFU/g}$)

| 组别 | 双歧杆菌 | 嗜酸杆菌 | 梭菌 | 肠杆菌 | 肠球菌 |
|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 观察组($n=50$) | 8.27 ± 1.13 | 7.50 ± 1.21 | 9.68 ± 2.13 | 6.79 ± 0.76 | 4.11 ± 0.35 |
| 对照组($n=50$) | 6.21 ± 1.01 | 6.21 ± 1.04 | 7.15 ± 1.02 | 8.03 ± 1.03 | 4.92 ± 0.38 |
| t 值 | 9.611 | 5.717 | 7.575 | 6.850 | 11.087 |
| P 值 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

2.2 两组患者治疗前后的肝功能比较

治疗前,两组患者的 ALT、AST 及 TBIL 比较差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后,两组患者的 ALT、AST 及 TBIL 均显著下降,但观察组患者低于对照组($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 两组患者治疗前后的炎症因子及血清内毒素水平比较

治疗前,两组患者的 IL-10、TNF- α 及内毒素水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后,两组患者的 IL-10、TNF- α 及内毒素水平均显著下降,但观察组患者低于对照组($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 两组患者治疗前后的 NK 细胞和外周血 T 细胞水平比较

治疗前,两组患者的 NK、CD3 及 CD4 水平比较

差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后,两组患者的 NK、CD3 及 CD4 水平均显著上升,但观察组患者高于对照组($P < 0.05$)。见表 4。

表 2 两组患者治疗前后的肝功能比较($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | ALT(U/L) | | AST(U/L) | | TBIL($\mu\text{mol/L}$) | |
|---------------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|---------------------------|--------------------|
| | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 |
| 观察组($n=50$) | 72.23 \pm 8.12 | 50.77 \pm 6.23 * | 78.55 \pm 8.73 | 59.32 \pm 7.22 * | 62.21 \pm 4.56 | 51.12 \pm 6.08 * |
| 对照组($n=50$) | 71.78 \pm 7.95 | 59.36 \pm 7.20 * | 78.62 \pm 8.66 | 64.51 \pm 6.54 * | 62.18 \pm 4.48 | 55.29 \pm 5.42 * |
| t 值 | 0.280 | 6.380 | 0.040 | 3.767 | 0.033 | 3.620 |
| P 值 | 0.780 | <0.001 | 0.968 | <0.001 | 0.974 | <0.001 |

* $P < 0.05$,与治疗前相比。

表 3 两组患者治疗前后的炎症因子及血清内毒素水平比较($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | IL-10(ng/L) | | TNF- α (ng/L) | | 内毒素(EU/L) | |
|---------------|------------------|--------------------|----------------------|--------------------|-----------------|-------------------|
| | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 |
| 观察组($n=50$) | 32.45 \pm 4.23 | 20.24 \pm 2.76 * | 45.13 \pm 4.63 | 32.57 \pm 4.13 * | 6.24 \pm 1.30 | 3.56 \pm 0.88 * |
| 对照组($n=50$) | 32.86 \pm 4.31 | 26.17 \pm 3.10 * | 45.28 \pm 4.67 | 38.72 \pm 4.11 * | 6.26 \pm 1.31 | 4.55 \pm 1.03 * |
| t 值 | 0.480 | 10.103 | 0.161 | 7.464 | 0.077 | 5.167 |
| P 值 | 0.632 | <0.001 | 0.872 | <0.001 | 0.939 | <0.001 |

* $P < 0.05$,与治疗前相比。

表 4 两组患者治疗前后的 NK 细胞和外周血 T 细胞水平比较($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | NK(%) | | CD3(%) | | CD4(%) | |
|---------------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|
| | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 |
| 观察组($n=50$) | 12.25 \pm 2.13 | 18.89 \pm 3.26 * | 45.45 \pm 5.13 | 62.12 \pm 6.02 * | 31.04 \pm 2.17 | 39.27 \pm 4.12 * |
| 对照组($n=50$) | 12.28 \pm 2.17 | 14.26 \pm 2.98 * | 45.33 \pm 4.88 | 55.28 \pm 4.54 * | 31.06 \pm 2.18 | 35.28 \pm 4.06 * |
| t 值 | 0.070 | 7.412 | 0.120 | 6.415 | 0.046 | 4.878 |
| P 值 | 0.945 | <0.001 | 0.905 | <0.001 | 0.963 | <0.001 |

* $P < 0.05$,与治疗前相比。

3 讨论

健康人的肝脏能够清除来自肠道的内毒素、酚类、假性神经递质前体以及真菌等各种毒素和病原菌,但慢性乙肝肝硬化患者由于肝脏功能受损,肠道屏障功能破坏,肠道微生态发生变化,通过细菌易位,肠道细菌及代谢物会进入肠外器官^[6-7]。有研究^[8-9]显示,慢性乙肝肝硬化患者的肠道菌群存在显著紊乱,且与肝硬化严重程度呈正相关,肠道屏障受损会促进炎症因子释放,破坏机体免疫功能,给患者带来痛苦,降低生活质量。

慢性乙肝肝硬化患者的肠道菌群特点表现为需氧菌增多,厌氧菌减少,即有益菌含量降低使得有害菌比例上升,促进患者体内生成内毒素,毒素代谢能力降低,导致患者肝功能受损^[10-11]。益生菌中含有多样菌群,本次研究使用的双歧杆菌乳杆菌三联活菌片的主要成分是双歧杆菌、乳杆菌、蜡样芽孢杆菌及粪肠球菌,可与肠道黏膜上皮细胞紧密结合,不仅

可以促进机体消化吸收营养物质,还可调整肠道菌群,帮助肠道稳定,实现肠道菌群的平衡^[12-13],达到改善肝功能的目,与本次研究结果相符。

健康人体的天然免疫和适应性免疫系统通过免疫耐受机制,既可防止病菌感染,还能够控制自身免疫性疾病,机体抗感染能力较强,但是慢性乙肝肝硬化患者的抗感染能力发生显著下降,主要原因是慢性乙肝肝硬化患者的外周血 T 细胞中的 CD3 和 CD4 细胞比例显著失衡,CD4 细胞比例下降^[14-16]。而益生菌可使 B 细胞抗体能力增强,改善患者免疫功能,这一功能与益生菌能够调节肠道菌群,使肠道菌群恢复平衡有关。有研究^[17-18]显示,慢性乙肝肝硬化患者的 IL-10 及 TNF- α 显著高于正常者,内毒素表达较多,并可通过信号途径促进因子合成,而益生菌可通过肠道菌群的有效调节,缓解机体的炎症状态,抑制炎症因子过度表达。本研究结果显示经治疗后,观察组双歧杆菌、嗜酸杆菌及梭菌含量高于对照组,肠杆菌和肠球菌含量则显著较低;在肝功能

方面,观察组患者的 ALT、AST 及 TBIL 水平低于对照组;此外,观察组 NK、CD3 及 CD4 水平高于对照组,炎症因子及血清内毒素水平则显著较低。

综上所述,益生菌在慢性乙肝肝硬化的治疗中不仅可以改善患者的肝功能,还能够调节患者的免疫功能,促进肠道有益菌的增加,还可促进炎症因子水平的表达,具有临床推广价值。

参考文献

[1] 江巧丽,谢齐贵. 益生菌辅助治疗乙肝后肝硬化失代偿期的临床效果[J]. 中国医药导报,2016,13(20):111-114.

[2] 边君,王莉娟,万秀萍,等. 益生菌对乙肝相关肝硬化并发肝衰竭继发感染患者肠道菌群及免疫功能的影响[J]. 中国地方病防治杂志,2019,34(3):335-337.

[3] 王周哲,琚枫,吴微. 恩替卡韦单用或联合益生菌治疗乙肝肝硬化远期疗效及对肝功能的影响研究[J]. 湖南师范大学学报(医学版),2019,16(2):167-170.

[4] 吕金兰. 常乐康对乙肝肝硬化患者肠道菌群和肠道黏膜屏障功能的影响[J]. 中国微生态学杂志,2017,29(8):913-915.

[5] 石勇明,周祖模,陈林. 肝硬化患者益生菌干预效果及肠道菌群变化分析[J]. 中国微生态学杂志,2016,28(3):297-301.

[6] 曹建彪,王伟芳. 益生菌在肝硬化患者中的应用[J]. 中国实用内科杂志,2016,36(9):754-757.

[7] 高璐,于锋,王坚. 益生菌制剂在慢性肝脏疾病中的应用进展[J]. 中国药房,2016,27(3):426-429.

[8] 杨璐颖,阮晓宇,王灵芝. 益生菌联合早期微量喂养对早产儿肠道菌群及免疫功能影响的相关性研究[J]. 中国微生态学杂志,2019,31(6):694-698.

[9] 方芳,潘胜莲,瞿一新,等. 针灸辅助治疗对乙肝后肝硬化患者细胞免疫功能及肠道功能的影响[J]. 中国地方病防治杂志,

2019,34(5):571,573.

[10] 曾传莉,胡爱荣,胡耀仁,等. 恩替卡韦联合微生态制剂治疗乙型肝炎肝硬化患者的临床疗效研究[J]. 中国临床药理学与治疗学,2018,(7):796-801.

[11] 杨仁国,徐开菊,周巧灵,等. 乙肝病毒相关慢加急性肝衰竭继发感染患者益生菌干预前后肠道菌群及免疫状态分析[J]. 第三军医大学学报,2019,41(8):794-798.

[12] 余姝丽. 肝硬化患者肠道菌群分析[J]. 解放军预防医学杂志,2017,35(7):816-817.

[13] Viramontes Hörner D, Avery A, Stow R. The Effects of Probiotics and Symbiotics on Risk Factors for Hepatic Encephalopathy A Systematic Review[J]. Journal of clinical gastroenterology,2017,51(4):312-323.

[14] Román E, Nieto JC, Gely C, et al. Effect of a Multistrain Probiotic on Cognitive Function and Risk of Falls in Patients With Cirrhosis: A Randomized Trial[J]. Hepatology Communications,2019,3(5):632-645.

[15] 王磊. 益生菌治疗慢性乙型肝炎肝硬化亚临床肝性脑病患者的临床疗效及对血氨和肠道菌群的影响[J]. 检验医学与临床,2019,16(9):1211-1214.

[16] 王丹,胡久叶. 肠道菌群失调在肝硬化发生发展中的作用机制研究进展[J]. 海南医学,2018,29(20):2933-2936.

[17] Moratalla A, Gómez-Hurtado I, Moya-Pérez á, et al. Bifidobacterium pseudocatenulatum CECT7765 promotes a TLR2-dependent anti-inflammatory response in intestinal lymphocytes from mice with cirrhosis[J]. European journal of nutrition,2016,55(1):197-206.

[18] 林刚,胡美金,杨纯英,等. 益生菌辅助常规抗生素方案治疗肝硬化继发细菌性腹膜炎的临床研究[J]. 中国基层医药,2017,24(24):3754-3757.

(收稿日期:2020-04-16

修回日期:2020-05-22)