

支气管肺炎患儿的肠粘膜屏障测定及临床意义

戴梅, 蒙焯, 黄永坤, 鲁萍, 刘梅, 姚勤, 熊晶晶
(昆明医科大学第一附属医院儿科, 云南昆明 650032)

[摘要] **目的** 研究和分析肺炎患儿血浆内毒素和二胺氧化酶水平及其肠粘膜屏障的变化. **方法** 选取昆明医科大学第一附属医院 2011 年 1 月至 2011 年 12 月收治的肺炎患儿 45 例 (研究组), 和同期体检的健康儿童 30 例 (对照组). 研究组根据病情轻重分为非重症组 ($n = 35$) 和重症组 ($n = 10$). 分别收集研究组和对照组儿童血标本, 并分离出血浆, 用分光光度法行内毒素和二胺氧化酶 (DAO) 的检测. **结果** 研究组、重症组、非重症组和对照组内毒素水平分别为 (0.018 ± 0.020) 、 (0.047 ± 0.027) 、 (0.010 ± 0.005) 和 (0.003 ± 0.002) EU/mL, DAO 水平分别为 (1.843 ± 1.455) 、 (4.157 ± 1.580) 、 (1.351 ± 0.823) 和 (1.352 ± 0.368) U/mL. 研究组内毒素水平明显高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 研究组 DAO 水平和对照组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$). 重症组、非重症组和对照组 3 组内毒素和 DAO 水平比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 组间两两比较, 重症组内毒素和 DAO 水平均显著高于非重症组和对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 非重症组和对照组内毒素和 DAO 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$). **结论** 重症肺炎患儿肠粘膜屏障有损伤, 肠通透性有明显的增加.

[关键词] 肺炎; 患儿; 内毒素; 二胺氧化酶; 肠粘膜; 屏障

[中图分类号] R725.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095 - 610X(2013) 06 - 0071 - 04

Determination of Intestinal Mucosal Barrier and Its Clinical Significance for Children with Bronchopneumonia

DAI Mei, MENG Ye, HUANG Yong - kun, LU Ping, LIU Mei, YAO Qin, XIONG Jing - jing
(Dept. of Pediatrics, The 1st Affiliated Hospital of Kunming Medical University,
Kunming Yunnan 650032, China)

[Abstract] **Objective** To investigate and analyze the levels of plasma endotoxin and diamine oxidase (DAO) and the change of the intestinal mucosal barrier in children with pneumonia. **Methods** 45 children with pneumonia were selected as the experimental group in department of pediatrics from January to December 2011, and 30 healthy children were selected as the control group. The children with pneumonia were divided into severe group ($n = 10$) and non-severe group ($n = 35$). 2 ~ 3 mL blood from every individual was collected, and the levels of endotoxin and DAO in isolated plasma were measured by spectrophotometry. **Results** The level of plasma endotoxin of the experimental group, severe group, non-severe group and control group was (0.18 ± 0.20) , (0.47 ± 0.27) , (0.10 ± 0.05) and (0.03 ± 0.002) EU/mL, respectively. And the level of DAO was (1.843 ± 1.455) , (4.157 ± 1.580) , (1.351 ± 0.823) and (1.352 ± 0.368) U/mL, respectively. The level of endotoxin in the experimental group was higher than that in control group, with statistical significance ($P < 0.01$). But there was no significant difference between the two groups on the level of DAO ($P > 0.05$). There was significant difference among the severe group, non-severe group and control group on the levels of endotoxin and DAO ($P < 0.01$), and the level in the severe group was higher than that in the non-severe group or control group, with statistical significance ($P < 0.01$). There was no significant difference between the non-severe group and control group ($P >$

[基金项目] 云南省卫生科技计划项目 (2011WS0043)

[作者简介] 戴梅 (1970~), 女, 云南临沧市人, 在读硕士研究生, 主治医师, 主要从事儿童危重症医学临床工作.

[通讯作者] 黄永坤. E-mail:hykkmynenwd@163.com

0.05) . **Conclusion** There was damage of intestinal mucosal barrier in children with severe pneumonia, and the intestinal barrier permeability was increased.

[**Key words**] Pneumonia; Children; Endotoxin; DAO; Intestinal mucosa; Barrier

小儿支气管肺炎（以下简称肺炎）尤其重症肺炎是发展中国家 5 岁以下儿童死亡的主要原因^[1]，导致肺炎患儿病情变化或加重的病理生理基础是患儿病原体感染后呼吸道的通气和换气功能障碍而致的机体缺氧、二氧化碳储留和脓毒血症^[2]。测定血浆内毒素和二胺氧化酶（diamine oxidase, DAO）水平可反映肠粘膜的损伤和通透性的改变^[3-7]。胃肠粘膜的缺血缺氧和肠道菌群的紊乱是造成肠粘膜屏障的损伤重要因素，而肠粘膜屏障的损伤是病原体感染后机体发生脓毒血症的重要环节，因此，本院研究通过用分光光度法检测肺炎患儿的血内毒素和 DAO 水平，以便来评价肺炎患儿肠粘膜屏障的损伤和肠通透性。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取 2011 年 1 月至 2011 年 12 月收住院治疗的肺炎患儿 45 例（研究组），和同期体检的健康儿童 30 例（对照组）。根据病情轻重^[8]将研究组分为非重症组（n = 35）和重症组（n = 10）。

1.2 试验方法

经患儿家属同意，分别收集研究组和对照组儿童血标本，并分离出血浆，用分光光度法行内毒素和二胺氧化酶（diamine oxidase, DAO）的检测^[9]。

内毒素测定原理：鲎血变形细胞中含有 C 因子、B 因子、凝固酶原、凝固蛋白原及 G 因子等活性酶。在一定的条件下（适宜温度、PH 值及无干扰物质），细菌内毒素激活鲎试剂中的 C 因子，引发一系列酶反应，激活凝固酶原形成凝固酶，凝固酶分解人工合成的显色基质，使其分解为多肽和对硝基苯胺（p-nitroaniline, PNA）。在一定时间

内生成的 PNA 量与内毒素浓度成正比关系。PNA 能被偶氮化试剂染成玫瑰红色，可用分光光度计在 λ 545nm 进行比色测量，计算出内毒素含量^[9]。

DAO 的测定原理：DAO 是催化二胺类氧化而生成醛的反应酶，亦称含吡哆醛的胺氧化酶或组胺酶。利用 DAO 催化 1, 5 戊二胺二氢氯化物产生 H_2O_2 ，在辣根过氧化物酶作用下，使 H_2O_2 释 O₂，导致产色染料邻联二茴香胺氧化，在 λ 436 nm 有最大吸收峰，根据邻联二茴香胺的摩尔消光系数计算出 DAO 的活性^[10]。

1.3 统计学处理

所获数据采用 SPSS 软件包处理。正态分布计量资料用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。两样本均数比较采用成组 *t* 检验。多组样本均数比较采用单因素方差分析 (*F* 检验)。两两均数比较采用 SNK-*q* 检验。检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

轻型和重型支气管肺炎患儿血浆内毒素和 DAO 水平的测定结果见表 1、图 1。

经比较和分析结果为研究组血浆内毒素水平高于对照组，差异有统计学意义 ($t = 3.836$, $P < 0.01$)；在重症组、非重症组和对照组 3 组的血浆内毒素水平比较差异有统计学意义 ($F = 68.627$, $P < 0.01$)；进一步两两比较：重症组血浆内毒素水平高于对照组，差异有统计学意义 ($t = 8.795$, $P < 0.01$)，重症组血浆内毒素水平高于非重症组，差异有统计学意义 ($t = 7.990$, $P < 0.01$)，非重症组和对照组血浆内毒素水平差异无统计学意义 ($t = 6.276$, $P > 0.05$)。

表 1 轻和重型支气管肺炎患儿血浆内毒素和 DAO 水平的测定和比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 The levels of plasma endotoxin and DAO in the severe group, non-severe group and control group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	内毒素 (EU/mL)	DAO (U/mL)
研究组	45	0.18 \pm 0.02**	1.84 \pm 1.46
重症组	10	0.47 \pm 0.27**	4.16 \pm 1.58**
非重症组	35	0.10 \pm 0.05 $\Delta\Delta$	1.35 \pm 0.82 $\Delta\Delta$
对照组	30	0.03 \pm 0.02	1.35 \pm 0.37

与对照组比较, ** $P < 0.01$; 与重症组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$.

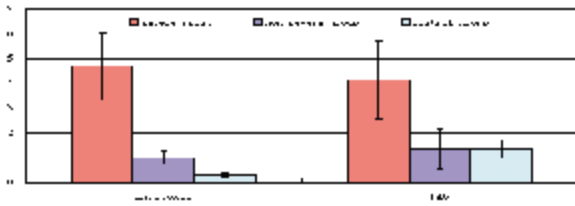


图 1 轻和重型支气管肺炎患儿血浆内毒素和 DAO 水平的测定和比较

Fig. 1 The levels of the plasma endotoxin and DAO in the severe group, non-severe group and control group

研究组和对照组的血浆 DAO 水平差异无统计学意义 ($t=1.799, P>0.05$)。但在重症组、非重症组和对照组 3 组的血浆 DAO 水平比较差异有统计学意义 ($F=68.627, P<0.01$)；进一步两两比较：重症组血浆 DAO 水平高于对照组，差异有统计学意义 ($t=8.824, P<0.01$)，重症组血浆 DAO 水平高于非重症组，差异有统计学意义 ($t=8.159, P<0.01$)，非重症组和对照组血浆 DAO 水平差异无统计学意义 ($t=0.003, P>0.05$)。

3 讨论

内毒素是革兰氏阴性细菌细胞壁的脂多糖成分，肠道内细菌或内毒素在肠粘膜屏障功能下降时会向肠腔外迁移，血液内毒素可出现一段时间内的增高，因此，血浆内毒素水平可在一定程度上反映肠通透性的改变。在严重损伤早期监测血浆内毒素水平变化对预测胃肠功能障碍有其临床意义^[4,11]。DOA 是人类和所有哺乳动物粘膜绒毛上皮细胞中具有高度活性的细胞内酶，以空、回肠活性最高，存在于小肠粘膜绒毛上层内的 DAO 能反映小肠的结构和功能状况，当肠粘膜细胞受损、坏死后该酶释放入血，或随坏死脱落的肠粘膜细胞进入肠腔内，导致血浆和肠腔 DAO 活性增高，由于 DAO 在外周血中活性稳定，因而可通过测定其在外周血中变化，反映肠粘膜状态，但它主要反应的是肠粘膜上皮损伤与修复情况，因此，血浆 DOA 增高提示存在肠粘膜屏障的破坏和肠通透性的改变^[4-6,12]。

胃肠道不仅能消化吸收营养物质，它是脏器中唯一腔道内有大量细菌滋生的器官，是机体最大的细菌和毒素库。胃肠粘膜屏障功能障碍对危重疾病的发生、发展和转归有重要影响。而危重患者的机体病理状态对胃肠粘膜屏障功能的影响也非常大。肠粘膜屏障的损伤和通透性增加会促使肠道细菌内

毒素移位^[13,14]。过量移位的细菌内毒素会使机体出现发热反应、血细胞反应如白细胞和血小板的变化；会直接或间接损害肝脏，引起糖代谢紊乱及酶学、蛋白代谢的改变；会激活凝血、纤溶系统，产生出血倾向或弥漫性血管内凝血；会经 C_3 旁路或经典途径激活补体等，从而致机体发生内毒素休克^[15-17]。

小儿支气管肺炎是儿科门诊和住院患儿中最常见的疾病，影响其预后的因素主要是患儿病原体的感染、呼吸道的通气和换气功能障碍后机体的缺氧、二氧化碳储留和脓毒血症。临床常把小儿支气管肺炎分为轻症和重症型^[8]，患儿表现有发热、咳嗽、气促和肺部有固定的中细湿啰音就可以诊断为轻症支气管肺炎，当患儿在轻症表现的基础上，有由于机体的缺氧、二氧化碳储留和脓毒血症所致相关组织和器官损伤的表现就可以诊断重症支气管肺炎。以往的资料对支气管肺炎时机体的缺氧、二氧化碳储留与相关组织和器官的功能和变化描述的比较清楚和全面，而对支气管肺炎时脓毒血症的发生与相关组织和器官的功能和变化描述比较少。本研究通过用分光光度法检测肺炎患儿的血内毒素和 DAO 水平，结果表明研究组血浆内毒素水平高于对照组，研究组中重症组血浆内毒素水平明显高于非重症组和对照组，研究组中非重症组血浆内毒素水平虽高于对照组，但差异无统计学意义。虽然血浆 DAO 水平在研究组和对照组中差异无统计学意义，但研究组中重症组的血浆 DAO 水平高于非重症组和对照组，差异有统计学意义。而非重症组和对照组血浆 DAO 水平差异无统计学意义。这些结果提示重症肺炎患儿的肠粘膜屏障有明显的损伤，其通透性也有明显的增加。

支气管肺炎尤其是重症患儿常在病原菌感染后致呼吸道的通气、换气功能障碍和内毒血症，从而造成机体组织器官的病理生理改变，包括呼吸功能不全直致呼吸衰竭，中毒性心肌炎及诱发心衰，酸碱平衡失调及电解质紊乱，损伤神经系统导致脑水肿，消化道功能紊乱等。以上变化可加重胃肠粘膜糜烂、出血、上皮细胞坏死脱落、胃肠毛细血管通透性增高、肠道细菌群的紊乱^[18]，从而进一步致肠粘膜屏障功能破坏，患儿可表现出腹泻，呕吐，甚至中毒性肠麻痹化道出血。随着有效的治疗和病情的好转和恢复，患儿的低氧血症得到纠正，支气管肺炎的病原菌被消除，胃肠粘膜屏障功能和肠道菌群将逐渐恢复^[19]。如果以上因素不能及时改善和纠正，肠粘膜屏障的损伤与机体的缺氧、二氧化碳储留和病原菌的感染之间会再形成恶性循环，

并对机体造成严重的后果。如果机体产生并释放多种肠源性炎症介质, 会放大全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)。SIRS 启动后会激发大量炎症介质的全身性释放, 作用于肠道造成肠道血流的低灌注, 肠粘膜缺血缺氧会加重, 进一步使肠粘膜屏障的功能损害^[20-22]。另一方面, 当胃肠道在炎症、缺氧等刺激下, 当机体应激反应过度或失调时, 肠粘膜屏障会受到损伤或破坏, 导致肠道内的微生物和/或内毒素多的移位, 结果可能引发肠源性感染, 并且触发 SIRS 导致脓毒症、休克、多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS) 和多器官功能衰竭(multiple organ failure, MOF) 的发生^[23-25]。本研究提示肺炎患儿存在着以上描述的风险, 因此, 通过测定肺炎患儿血浆内毒素和二胺氧化酶水平, 为认识重症组肺炎患儿的毒血症提供了依据; 通过对肠粘膜屏障功能的评估为临床医师深入认识重症肺炎的发病机制、改进治疗的思路以及预防有实际指导意义。

[参考文献]

- [1] LIU L, JOHNSON H L, COUSENS S, et al. Global, regional, and national causes of child mortality: an updated systematic analysis for 2010 with time trends since 2000 [J]. *Lancet*, 2012, 379(9 832): 2 151 - 2 161.
- [2] ANDONEGUI G, GORING K, LIU D, et al. Characterization of *S. pneumoniae* pneumonia-induced multiple organ dysfunction syndrome: an experimental mouse model of gram-positive sepsis [J]. *Shock*, 2009, 31(4): 423 - 428.
- [3] CHANG J X, CHEN S, MA L P, et al. Functional and morphological changes of the gut barrier during the restitution process after hemorrhagic shock [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(35): 5 485 - 5 491.
- [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.
- [5] ZHANG J B, DU X G, ZHANG H, et al. Breakdown of the gut barrier in patients with multiple organ dysfunction syndrome is attenuated by continuous blood purification: effects on tight junction structural proteins [J]. *Int J Artif Organs*, 2010, 33(1): 5 - 14.
- [6] ZHAO Y, QIN G, SUN Z, et al. Effects of soybean agglutinin on intestinal barrier permeability and tight junction protein expression in weaned piglets [J]. *Int J Mol Sci*, 2011, 12(12): 8 502 - 8 512.
- [7] ASSIMAKOPOULOS S F, TSAMANDAS A C, TSIAOUSIS G I, et al. Altered intestinal tight junctions' expression in patients with liver cirrhosis: a pathogenetic mechanism of intestinal hyperpermeability [J]. *Eur J Clin Invest*, 2012, 42(4): 439 - 446.
- [8] 沈晓明, 王卫平主编. 儿科学 [M]. 第 7 版. 北京: 北京人民卫生出版社, 2008: 273 - 278.
- [9] 单路娟, 邱阳, 郭莉, 等. 内毒素的测定与临床意义 [J]. *大连医科大学学报*, 2006, 26(3): 231 - 233.
- [10] BRAGG L E, THOMPSON J S, WESTW W. Intestinal diamine oxidase levels reflect is chemic injury [J]. *J Surg Res*, 1991, 50(3): 228 - 233.
- [11] 彭明生, 黄显凯. 严重多发伤患者早期血浆内毒素水平变化及与胃肠功能障碍的关系 [J]. *创伤外科杂志*, 2006, 8(6): 521 - 524.
- [12] SWANK G M, DUICH E A. Role of the gut in multiple organ failure: bacterial translocation and permeability changes [J]. *World Surg*, 1996, 20(4): 411 - 417.
- [13] MESEJO A, JUAN M, GARCIA-SIMON M. Enteral access and intestinal function assessment in the critically ill patient [J]. *Nutr Hosp*, 2007, 2(1): 37 - 49.
- [14] FOUTS D E, TORRALBA M, NELSON K E, et al. Bacterial translocation and changes in the intestinal microbiome in mouse models of liver disease [J]. *J Hepatol*, 2012, 56(6): 1 283 - 1 292.
- [15] PATHAN N, BURMESTER M, ADAMOVIC T, et al. Intestinal injury and endotoxemia in children undergoing surgery for congenital heart disease [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2011, 184(11): 1 261 - 1 269.
- [16] 蒋力生, 陈鹏. 脓毒症与内毒素血症的治疗现状与展望 [J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2004, 11(6): 551 - 553.
- [17] KARIMA R. The molecular pathogenesis of endotoxic shock and organ failure [J]. *Mol Med Today*, 1999, 5(3): 123 - 132.
- [18] 王艳丽, 刘华, 姚萍, 等. 16S rRNA/DNA 荧光定量 PCR 检测婴幼儿肺炎患儿肠道菌群的变化 [J]. *实用儿科临床杂志*, 2008, 23(10): 742 - 745.
- [19] 董永绥. 肠道菌失调、内毒素与小儿胃肠功能障碍 [J]. *中国实用儿科杂志*, 2001, 16(1): 5 - 6.
- [20] SWIDSINSKI A, LOENING-BAUCKE V, THEISSIG F, et al. Comparative study of The intestinal mucus barrier in normal and inflamed colon [J]. *Gut*, 2007, 56(3): 343 - 350.
- [21] SHIMIZU K, OGURA H, GOTO M, et al. Altered gut flora and environment in patients with severe SIRS [J]. *Trauma*, 2006, 60(1): 126 - 133.
- [22] AHNEIDA J, GALHENAGE S, YU J, et al. Gut flora and bacteria/translocation in chronic liver disease [J]. *World J Gastroenterol*, 2006, 12(10): 1 493 - 1 502.
- [23] DEITCH E A, XU D, KAISE V L. Role of the gut in the development of injury and shock induced SIRS and MODS: the gut-lymph hypothesis, a review [J]. *Front Biosci*, 2006, 1(11): 520 - 528.
- [24] GATT M, REDDY B S, MACFIE J. Review article: bacterial translocation in the critically ill—evidence and methods of prevention [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2007, 25(7): 741 - 757.
- [25] 乔治, 黎洁良, 李基业, 等. 严重多发伤后肠道细菌移位的临床研究 [J]. *中国危重病急救医学*, 2006, 18(1): 13 - 15.

(2013-02-07 收稿)