

· 综述 ·

## 肠屏障功能检测方法的研究现状及展望

董妮珊, 郑曙云\*

(南京医科大学附属南京医院重症医学科, 南京 210012)

**【摘要】**肠屏障功能障碍是导致全身炎症反应综合征、多器官功能不全综合征,甚至多器官功能衰竭的一个重要因素。早期判断患者有无肠黏膜损伤并进行有效干预意义重大,因此加大对肠屏障功能检测方法的研究力度具有重要意义。本文就肠脂肪酸结合蛋白、瓜氨酸、D-乳酸等常用的肠屏障功能检测指标及方法予以综述。

**【关键词】**肠道屏障功能障碍;肠脂肪酸结合蛋白;瓜氨酸;D-乳酸

**【中图分类号】** R333.3

**【文献标识码】** A

**【DOI】** 10.3724/SP.J.1264.2014.00072

## Examination for intestinal mucosal barrier function: current status and prospects

DONG Ni-Shan, ZHENG Shu-Yun\*

(Department of Critical-care Medicine, Nanjing Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing 210012, China)

**【Abstract】** Intestinal mucosal barrier dysfunction is an important factor resulting in systemic inflammatory response syndrome, multiple organ dysfunction syndrome, and even multiple organ failure. So it is of great significance to assess intestinal mucosal lesion and make early effective intervention. Therefore, more efforts should be taken to study how to evaluate intestinal mucosal barrier function. In this paper, we reviewed some common indices indicating intestinal mucosal barrier function (fatty acid binding protein, citrulline and D-lactic acid), and the involved methods in clinical practice.

**【Key words】** intestinal mucosal barrier dysfunction; fatty acid binding protein; citrulline; D-lactic acid

*This work was supported by General Program of National Natural Science Foundation of China (81171786)*

*Corresponding author: ZHENG Shu-Yun, E-mail: syzheng915@163.com*

肠道不仅是消化和吸收营养物质的器官,也是机体防御功能的一道重要屏障。许多研究表明肠道在全身炎症反应综合征、脓毒症、多器官功能不全综合征的连续发生发展中起重要作用<sup>[1]</sup>。肠屏障功能障碍引起肠内细菌、毒素移位入血,从而促进肠源性感染的发生与发展,最终可能导致多系统器官功能衰竭<sup>[2]</sup>。因此,对肠道屏障功能的研究已成为当今医学领域研究的一个重要课题,但目前临床上仍无一种成熟的肠屏障功能检测方法。本文就肠黏膜屏障功能检测的主要常用指标及其应用进行综述。

### 1 肠脂肪酸结合蛋白

脂肪酸结合蛋白(FABP)是一族同源性的的小分子胞质蛋白质,是长链脂肪酸的载体,在脂肪酸代谢中

起重要作用。迄今为止,已经至少发现9种类型,以首次分离获得并鉴定的组织命名,包括肝型(liver FABP, L-FABP)、小肠型(intestinal FABP, I-FABP)、心脏型(heart FABP, H-FABP)、脂肪细胞型(adipocyte FABP, A-FABP)、脑型(brain FABP, B-FABP)、肾型(kidney FABP, K-FABP)、骨骼肌型(skeletal FABP, S-FABP)、牛皮癣相关型(psoriasis FABP, PA-FABP)和表皮型(epidermal FABP, E-FABP)<sup>[3]</sup>。

I-FABP主要存在于肠道绒毛顶端成熟细胞的细胞质中,含量丰富,占细胞蛋白质总量约2%,具有较好的器官特异性。正常情况下,周围血中检测不到I-FABP。但当肠缺血时,由于肠绒毛处血流为逆流交换机制,维持顶端的氧分压明显下降,从而导致肠绒毛顶端细胞坏死,其内的I-FABP即经门静脉和乳糜管释放入血<sup>[4]</sup>,可在外周血及尿液中检出。

收稿日期: 2013-09-29; 修回日期: 2013-11-19

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81171786)

通信作者: 郑曙云, E-mail: syzheng915@163.com

### 1.1 测定方法

常用的测定方法包括(1)放射免疫法:此法由Ockner在1974年最早报道,但测定过程较为繁琐,价格昂贵,且存在放射性污染;(2)酶联免疫测定法:简单快速,稳定性及重复性较好,但费用较高;(3)免疫比浊法:自动化程度高,测定更为简便快捷,且成本较前两种低廉,有可能成为临床检测I-FABP的常规方法。

### 1.2 应用进展

Niewold等<sup>[5]</sup>通过建立猪肠系膜动脉梗死实验动物模型,发现小肠发生缺血15min后,血清中I-FABP即可明显升高,此时肠损伤还处于可逆阶段,提示I-FABP可成为小肠缺血性损害的早期诊断的一个有效标志物,而且I-FABP浓度与肠组织黏膜损伤程度呈正相关。有临床研究表明在肠缺血早期,人血清和尿液中I-FABP值即见增高,尿液中的浓度更高。切除缺血的肠段后,I-FABP值即恢复正常,对肠坏死、肠缺血的敏感性达到100%,较以往采用的肌酸激酶、乳酸脱氢酶、碱性磷酸酶等肠缺血的指标敏感性高,可作为诊断早期肠黏膜损害和缺血的指标<sup>[6]</sup>。van Haren等<sup>[7]</sup>通过对入住重症加强护理病房的脓毒症休克患者进行尿液I-FABP水平的检测,证实I-FABP水平升高的同时肠上皮细胞数量急剧下降。国内胡凯强等<sup>[8]</sup>通过对56例急腹症患者研究表明,血清I-FABP水平与肠坏死、肠缺血的程度呈正相关,肠坏死、肠缺血纠正后,血清I-FABP水平恢复正常,且单纯肠道炎症及开腹手术对血清I-FABP水平无影响,故I-FABP亦可应用于术后肠黏膜损伤的评估。

## 2 瓜氨酸

瓜氨酸是一种非蛋白质氨基酸,由肠上皮细胞通过谷氨酸-鸟氨酸途径,从谷氨酰胺代谢而来。谷氨酰胺代谢瓜氨酸的主要线粒体酶为二氢吡咯-5-羧酸合成酶<sup>[9]</sup>,该酶主要存在于小肠黏膜上皮细胞,故小肠黏膜上皮细胞是血瓜氨酸的最主要来源。另外,血瓜氨酸水平不受肝脏影响<sup>[10]</sup>,没有首过效应,所以血清瓜氨酸水平测定能够较准确地反映小肠黏膜上皮细胞的功能。

### 2.1 测定方法

目前国内一般采用高效液相色谱法,具有较高的敏感性和稳定性。

### 2.2 应用进展

Santarpia等<sup>[11]</sup>研究发现,短肠综合征患者血清

瓜氨酸水平较健康志愿者显著低下,血清瓜氨酸水平可用于评价短肠综合征患者残存吸收小肠长度及肠功能衰竭的程度。Herbers等<sup>[12]</sup>研究证实,大剂量化疗后血清瓜氨酸浓度下降,下降程度与不同化疗药物的毒性相关,是反映化疗后小肠黏膜受损的指标。克罗恩病患者炎症活动期血清瓜氨酸水平也严重下降<sup>[13]</sup>。另外,肠移植患者术前血清瓜氨酸水平较低,术后瓜氨酸水平升高,发生排斥反应后,瓜氨酸水平迅速下降,肠移植患者术后血清瓜氨酸水平与排斥反应严重程度相关<sup>[14]</sup>。国内外诸多研究都表明,血清瓜氨酸可评价由于肠上皮细胞的损害和数量减少导致的肠黏膜屏障的破坏,是一个敏感且安全的指标。

## 3 D-乳酸

乳酸水平往往被认为是容量复苏和循环支持有效性的指标,存在L-乳酸和D-乳酸两种同分异构体(>90%为L-乳酸),临床测定的主要为L-乳酸,是组织缺氧的敏感指标。人体内的D-乳酸主要是由胃肠道细菌发酵产生,包括克雷伯菌、大肠杆菌、乳杆菌属等。其他潜在途径尚有从外界摄入,如腌菜等发酵食品或药物等<sup>[15]</sup>。

哺乳动物体内缺乏D-乳酸脱氢酶,不能将其快速代谢。D-乳酸代谢由D-2-羟酸脱氢酶替代,该酶是一种线粒体酶,仅在极狭小的pH范围内具备活性,故速度缓慢。当肠道发生急性缺血时,局部细菌大量繁殖,发酵产生大量代谢终产物,破坏肠黏膜生物屏障,肠黏膜绒毛顶端上皮脱落,导致肠黏膜通透性增加。此时,肠道中细菌产生的大量D-乳酸通过受损的肠黏膜经循环进入血液,使外周血D-乳酸水平升高,检测血D-乳酸水平可及时反映肠黏膜损害程度和通透性变化。

### 3.1 测定方法

目前均采用改良的酶学分光光度法检测,一般实验室均可完成。

### 3.2 应用进展

(1)短肠综合征。小肠短缩或建立旁路,导致碳水化合物消化吸收不良,被肠道细菌代谢生成D-乳酸,可产生严重的D-乳酸代谢性酸中毒<sup>[16]</sup>。

(2)炎性肠病。有研究表明<sup>[17]</sup>,肠道的高通透性参与了炎性肠病的发病。因此,作为反映肠道通透性的标志物,D-乳酸可为炎性肠病的诊断与预后提供依据<sup>[18]</sup>。(3)肠道急性缺血。曾永梅等<sup>[19]</sup>通过对缺氧缺血新生大鼠的研究,证实血D-乳酸水平与

肠道损伤程度呈正相关。陈少华等<sup>[20]</sup>研究表明,血清D-乳酸含量可作为新生儿胃肠功能障碍时早期诊断的一个敏感指标。韦秋文等<sup>[21]</sup>研究发现,新生儿危重症胃肠功能障碍时血清D-乳酸水平明显高于非危重组,血浆D-乳酸水平与危重症危重程度、胃肠功能损害程度密切相关。

## 4 其他

### 4.1 内毒素

血浆内毒素水平可在一定程度上反映肠通透性的改变。内毒素是G<sup>-</sup>细菌细胞壁的脂多糖成分,在细菌死后细胞壁崩解时释出,活菌亦可以发孢形式释出内毒素。正常情况下机体肠腔内含有大量细菌和内毒素,当肠屏障功能障碍时,内毒素穿过肠黏膜,进入血循环,形成内毒素血症。研究显示,在各种应激状态下,肠道缺血30~45min,伴有肠黏膜上皮的轻度损伤,即可引起内毒素释放入血。因此,检测外周血中的内毒素水平,成为评估肠屏障功能的重要手段。目前多采用改良鲎实验定量测定<sup>[22]</sup>。

### 4.2 细菌移位

细菌移位指原存于肠道内的细菌通过肠黏膜侵入肠道以外的部位,如肠系膜淋巴结、肝、脾、血液以至全身的感染过程,是肠黏膜功能障碍的突出表现<sup>[1]</sup>。外周血中发现细菌可间接推断肠黏膜屏障的破坏。检测主要依靠组织细菌培养及细菌16S rRNA基因的检测<sup>[23]</sup>。

### 4.3 乳果糖/甘露醇

乳果糖半径0.5nm,只能经细胞外绒毛末梢和紧密处的挤压带被动吸收。进入循环后不易代谢,而甘露醇半径为0.4nm,可直接穿过肠黏膜上皮绒毛细胞间的紧密连接而被主动吸收<sup>[24]</sup>。因此,如果乳果糖/甘露醇比值增加,则表示肠通透性增加,反映肠黏膜紧密连接部不完整,或绒毛末梢损坏,或有组织间隙水肿。

目前主要应用液相色谱-串联质谱法<sup>[25]</sup>测量,简单快速,灵敏可靠。

### 4.4 肠黏膜下pH

肠黏膜缺血缺氧在肠屏障功能障碍发生发展过程中起关键作用,因此,判断肠黏膜有无缺血是评估肠屏障功能状况的重要手段,肠黏膜内pH(intramucosal pH, pH<sub>i</sub>)可较客观地反映肠黏膜血液灌注和氧合情况。pH<sub>i</sub>值正常,表明肠黏膜氧合正常,若降低则说明肠黏膜缺血缺氧,肠屏障功能可能受到损害。目前测定的方法主要有盐水张力计测

定方法和连续气态张力计测定方法,测量期间进食或胃内有残余食物等因素可影响其准确性,且过程较复杂,误差较大。

## 5 展望

综上所述,肠道是防止致病菌侵入人体的重要屏障之一。在发生失血性休克、脓毒症等时,肠道是最易受损的器官之一。尤其对于老年患者<sup>[26]</sup>,由于高龄、免疫力低,多种基础疾病同时存在,以及肠道功能的自然退化,更加容易导致肠屏障的损伤。因为没有典型的临床表现,有些老年性肠病容易误诊、漏诊,直接影响预后,因此早期判断患者有无肠黏膜损伤,并进行有效干预意义重大。目前,随着对肠屏障功能障碍这一疾病的深入研究,我们能在临床上有选择性和针对性地进行专项或综合性检测。同时,新的检测方法不断涌现,从而也带动了临床治疗策略的进步,但大多仍处于基础研究阶段,需多项指标结合以综合判断。故选择更具敏感性和特异性、且安全经济的检测方法是目前临床研究的重点之一。如今,外周血I-FABP的检测具有较高特异性、敏感性和可靠性,更具有临床实用价值。

### 【参考文献】

- [1] Magnotti LJ, Dcitch EA. Burns, bacterial translocation, gut barrier function, and failure[J]. J Burn Care Rehabil, 2005, 26(5): 383-391.
- [2] Clark JA, Coopersmith CM. Intestinal crosstalk: a new paradigm for understanding the gut as the "motor" of critical illness[J]. Shock, 2007, 28(4): 384-393.
- [3] Cao SY, Zhou H. Progress of clinical researches on the biological characteristics in fatty acid-binding protein[J]. Chin J Emerg Resusc Disaster Med, 2009, 4(12): 989-991. [曹素艳, 周浩. 脂肪酸结合蛋白生物学特性及其临床研究进展[J]. 中国急救复苏与灾害医学杂志, 2009, 4(12): 989-991.]
- [4] Evennett NJ, Petrov MS, Mittal A, *et al.* Systematic review and pooled estimates for the diagnostic accuracy of serological markers for intestinal ischemia[J]. World J Surg, 2009, 33(7): 1374-1383.
- [5] Niewold TA, Meinen M, van der Meulen J. Plasma intestinal fatty acid binding protein (I-FABP) concentrations increase following intestinal ischemia in pigs[J]. Res Vet Sci, 2004, 77(1): 89-91.
- [6] Cronk DR, Houseworth TP, Cuadrado DG, *et al.* Intestinal fatty acid binding protein (I-FABP) for the detection of strangulated mechanical small bowel obstruction[J]. Curr Surg, 2006, 63(5): 322-325.
- [7] van Haren FM, Pickkers P, Foudraine N, *et al.* The effects

- of methylene blue infusion on gastric tonometry and intestinal fatty acid binding protein levels in septic shock patients[J]. *J Crit Care*, 2010, 25(2): 358. e1-7.
- [8] Hu KQ, Li J, Cui YB, *et al.* Clinical roles of intestinal fatty acid binding protein in children's intestinal ischemia diseases[J]. *Shanxi Med J*, 2010, 39(5): 418-419. [胡凯强, 李健, 崔彦北, 等. 肠脂肪酸结合蛋白在小儿肠缺血疾病中的临床意义[J]. *山西医药杂志*, 2010, 39(5): 418-419.]
- [9] Crenn P, Messing B, Cynober L. Citrulline as a biomarker of intestinal failure due to enterocyte mass reduction[J]. *Clin Nutr*, 2008, 27(3): 328-339.
- [10] Van de Poll MC, Ligthart-Melis GC, Boelens PG, *et al.* Intestinal and hepatic metabolism of glutamine and citrulline in humans[J]. *J Physiol*, 2007, 581(Pt 2): 819-827.
- [11] Santarpia L, Catanzano F, Ruoppolo M, *et al.* Citrulline blood levels as indicators of residual intestinal absorption in patients with short bowel syndrome[J]. *Ann Nutr Metab*, 2008, 53(2): 137-142.
- [12] Herbers AH, Feuth T, Donnelly JP, *et al.* Citrulline based assessment score: first choice for measuring and monitoring intestinal failure after high-dose chemotherapy[J]. *Ann Oncol*, 2010, 21(8): 1706-1711.
- [13] Diamanti A, Panetta F, Basso MS, *et al.* Plasma citrulline in Crohn's disease as a marker of inflammation or disease localization[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2012, 46(7): 622-623.
- [14] Ruiz P, Tryphonopoulos P, Island E, *et al.* Citrulline evaluation in bowel transplantation[J]. *Transplant Proc*, 2010, 42(1): 54-56.
- [15] Wang LL, Guo ZH. Progress of clinical researches on the biochemical characteristics in fatty acid-binding protein[J]. *Guangdong Med*, 2011, 32(23): 3144-3147. [王玲玲, 郭振辉. D-乳酸的生化特性及其临床研究进展[J]. *广东医学*, 2011, 32(23): 3144-3147.]
- [16] Tapia Guerrero MJ, Oliveira G, Bravo Utrera M, *et al.* D-lactic acidosis secondary to short bowel syndrome[J]. *Nutr Hosp*, 2010, 25(5): 864-866.
- [17] Vermeire S, Rutgeerts P. Current status of genetics research in inflammatory bowel disease[J]. *Genes Immun*, 2005, 6(8): 637-645.
- [18] Song WB, Lv YH, Zhang ZS, *et al.* Soluble intercellular adhesion molecule-1, D-lactate and diamine oxidase in patients with inflammatory bowel disease[J]. *World J Gastroenterol*, 2009, 15(31): 3916-3919.
- [19] Zeng YM, Wang LL, Chang X. The relationship between D-lactate and the intestinal barrier function in neonatal rats with hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. *Chin J Perinat Med*, 2007, 10(1): 45-46. [曾永梅, 王琳琳, 常晓. D-乳酸与缺氧缺血性脑病新生大鼠肠屏障功能的关系[J]. *中华围产医学杂志*, 2007, 10(1): 45-46.]
- [20] Chen SH, Qiu YY, Zhou XG, *et al.* Serum diamine oxidase and D-lactate level in neonates with gastrointestinal failure and its clinical significance[J]. *Chin Pediatr Emerg Med*, 2006, 13(5): 434-436. [陈少华, 邱芸芸, 周晓光, 等. 胃肠功能衰竭新生儿血清二胺氧化酶和D-乳酸的测定及意义[J]. *中国小儿急救医学*, 2006, 13(5): 434-436.]
- [21] Wei QW, Wang LL, Li XR. Significance of determining serum diamine oxidase and D-lactate in newborn infant with critically ill[J]. *J Appl Clin Pediatr*, 2008, 23(6): 428-429, 448. [韦秋文, 王琳琳, 李小容. 危重症新生儿血清二胺氧化酶和D-乳酸测定的意义[J]. *实用儿科临床杂志*, 2008, 23(6): 428-429, 448.]
- [22] Liu CT. Tachypleus ameocyte lysate and its application[J]. *Chin J Mod Drug Appl*, 2008, 2(9): 110-111. [刘昌庭. 鲎试剂及其应用[J]. *中国现代药物应用*, 2008, 2(9): 110-111.]
- [23] Huang JH, Zhang RC, Shen YJ. Application of 16S rRNA gene detection technique in the study of intestinal microflora[J]. *Shandong J Anim Sci Vet Med*, 2007, 29(2): 49-51. [黄菁华, 张荣昌, 申玉军. 16S rRNA基因检测技术在肠道微生态研究中的应用[J]. *山东畜牧兽医*, 2007, 29(2): 49-51.]
- [24] Farhadi A, Keshavarzian A, Fields JZ, *et al.* Resolution of common dietary sugars from probe sugars for test of intestinal permeability using capillary column gas chromatography[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2006, 836(1-2): 63-68.
- [25] Hu Q, Xu HB, Li SJ, *et al.* Simultaneous determination of lactulose, mannitol and lactose in urine with liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method[J]. *China J Mod Med*, 2008, 18(13): 1810-1813, 1817. [胡强, 徐红兵, 李水军, 等. 液相色谱-串联质谱法测定尿中乳果糖、甘露醇和乳糖含量[J]. *中国现代医学杂志*, 2008, 18(13): 1810-1813, 1817.]
- [26] Chinese Experts Suggestion(2011) Writing Group, Chinese Medical Association Gerontology Branch, Editorial Board of Chinese Journal of Geriatrics. Diagnosis and treatment of ischemic enteropathy in the elderly: Chinese Experts Suggestion(2011) [J]. *Chin J Geriatr*, 2011, 30(1): 1-6. [缺血性肠病诊治中国专家建议(2011)写作组, 中华医学会老年医学分会, 《中华老年医学杂志》编辑委员会. 老年人缺血性肠病诊治中国专家建议[J]. *中华老年医学杂志*, 2011, 30(1): 1-6.]

(编辑: 金美娜, 王雪萍)