

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.04.012

血浆 GLP-2 评估严重脓毒症及脓毒性休克患者肠道功能的临床研究*

方媛媛,鲁厚清[△]

(安徽省铜陵市人民医院重症医学科 244000)

[摘要] **目的** 研究血浆胰高血糖素样肽-2(GLP-2)水平对严重脓毒症及脓毒性休克患者肠道功能及预后的评估价值。**方法** 选取2015年12月至2017年10月在该院ICU住院的严重脓毒症及脓毒性休克患者60例作为脓毒症组,检测入院12h的GLP-2水平。同时选取在该院体检的健康人29例作为对照组,检测其GLP-2水平,比较脓毒症组与对照组的GLP-2水平是否存在差异。将脓症患者分为急性胃肠损伤(AGI)Ⅰ、AGIⅡ、AGIⅢ组及AGIⅣ组,依据预后分为存活组与死亡组,分别比较分析不同AGI分级及不同预后患者的血浆GLP-2水平。**结果** 脓毒症组的GLP-2水平明显低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。不同AGI分级的脓症患者GLP-2水平的差异有统计学意义($P<0.05$),Bonferroni比较显示,AGIⅠ、AGIⅡ组比较,GLP-2水平差异无统计学意义($P>0.05$),AGIⅢ、AGIⅣ组比较,GLP-2水平差异无统计学意义($P>0.05$),其他组之间的差异均有统计学意义($P<0.05$)。相关分析显示AGI分级与GLP-2水平呈负相关关系($r=0.87, P=0.007$)。生存组GLP-2水平与死亡组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 脓症患者GLP-2水平下降,GLP-2水平能够用于评价严重脓毒症及脓毒性休克患者的肠道功能;但目前尚未发现GLP-2水平与脓毒症预后有关。

[关键词] 脓毒症;胰高血糖素样肽-2;肠道功能**[中图法分类号]** R459.7**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2019)04-0597-04

Clinical study on plasma GLP-2 level for assessing intestinal function in patients with severe sepsis and sepsis shock*

FANG Yuanyuan, LU Houqing[△]

(Department of Critical Care Medicine, Tongling Municipal People's Hospital, Tongling, Anhui 244000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the appraisal value of plasma GLP-2 level in the intestinal function of the patients with severe sepsis and sepsis shock. **Methods** Sixty patients with severe sepsis and sepsis shock in ICU of the hospital from December 2015 to October 2017. 29 were selected as the sepsis group. The GLP-2 level was detected at 12 h after admission. Meanwhile 29 healthy people undergoing the physical examination in this hospital served as the control group and their GLP-2 levels were detected. The difference in GLP-2 level was compared between the sepsis group and control group. The sepsis group was divided into the AGI group I, II, III and IV, and survival group and death group according to the clinical outcomes. Then the plasma GLP-2 levels were compared and analyzed among different AGI grades and between different prognosis. **Results** The GLP-2 level in the sepsis group was significantly lower than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The GLP-2 level had statistically significant difference among different AGI groups ($P<0.05$). The Bonferroni comparison showed that the GLP-2 level had no statistically significant difference among the AGI I and AGI II, AGI III and AGI IV groups ($P>0.05$). The difference among other groups was statistically significant ($P<0.05$). The correlation analysis showed that there was a negative correlation between the AGI classification and GLP-2 level ($r=0.87, P=0.007$). The GLP-2 level had no statistical difference between the survival group and death group ($P>0.05$). **Conclusion** The GLP-2 level in the patients with sepsis is decreased. The GLP-2 level can be used to evaluate the intestinal function in the patients with severe sepsis and sepsis shock. It is not yet found that the GLP-2 level has an association with the sepsis prognosis.

[Key words] sepsis; GLP-2; intestinal function

* 基金项目:安徽省铜陵市卫生科研项目([2014]09号)。 作者简介:方媛媛(1987-),主治医师,学士,主要从事急救医学方面的研究。

[△] 通信作者, E-mail: hou.qingl@163.com.

脓毒症(sepsis)是指明确或可疑的感染引起的全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS), 诱发多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS), 是感染、休克、创伤等疾病的严重并发症之一, 是危重症患者死亡的主要原因。随着人口的老齡化、抗菌药物耐药性增加、肿瘤发病率上升及侵入性医疗手段的增加, 脓毒症的发病率在不断上升, 每年全球新增数百万脓毒症患者, 其中超过 1/4 的患者死亡^[1]。脓毒症常并发肠功能衰竭, 肠道黏膜屏障遭受破坏, 通透性增加, 肠道微生物及毒素移位, 诱发加重 SIRS, 肠功能衰竭与脓毒症互为因果, 陷入恶性循环^[2]。胰高血糖素样肽-2 (glucagon-like peptide-2, GLP-2) 是一种肠道特异性生长因子, 可通过多方面因素促进损伤肠上皮的恢复, 在肠道修复中发挥重要的生理作用。那么, 并发肠道损伤的脓毒症患者, 是否存在 GLP-2 的表达下降, GLP-2 水平与脓毒症胃肠道功能损伤程度是否有关, 与脓毒症的预后又是否有关? 笔者做了下列研究, 探讨血浆 GLP-2 水平评估严重脓毒症和脓毒性休克患者肠道功能及预后的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 12 月至 2017 年 10 月入住铜陵市人民医院 ICU 的 60 例患者作为脓毒症组, 根据中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南(2014)的诊断标准, 确诊为严重脓毒症及脓毒性休克。同时选取铜陵市人民医院体检中心健康体检人员 29 例作为对照组。排除标准: (1) 入住 ICU 时间小于 3 d; (2) 急性或慢性肾功能不全病史; (3) 慢性肠道疾病及肠道肿瘤史。

1.2 分组方法 (1) 评估脓毒症患者的急性胃肠损伤(AGI)分级, 根据 AGI 分级将脓毒症患者分为 AGI I、AGI II、AGI III 组及 AGI IV 组; (2) 根据患者入院 14 d 最终预后将脓毒症患者分为生存组与死亡组。

1.3 观察指标 记录 ICU 患者的一般临床资料, 包括性别、年龄、诊断及基础疾病, 评估 AGI 分级, 并随访入住后 14 d 的生存情况, 患者入院后均按照脓毒症治疗规范进行积极治疗, 在入院 12 h 取 2 mL 静脉血用酶联免疫吸附法测定 GLP-2。记录体检人员的临床资料, 包括性别、年龄及基础疾病, 抽取 2 mL 空腹静脉血用于测定 GLP-2, 并登记患者的肌酐情况以排除有肾脏疾病者。

1.4 检测方法 在酶标包被板每孔中先加入样品稀释液 40 μL , 再加入待测样品 10 μL , 将包被板充分混匀后置 37 $^{\circ}\text{C}$ 温箱孵育 30 min。用洗涤液将反应板充分洗涤 5 次, 每次 30 s, 每孔加满洗涤液, 甩干并置于吸水纸上轻拍, 将孔内液体拍干。每孔加入酶标试剂 50 μL , 充分混匀后置 37 $^{\circ}\text{C}$ 温箱孵育 30 min。再次洗

板后每孔先加显色剂 A 50 μL , 再加显色剂 B 50 μL , 充分混匀后置 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光反应 15 min。每孔加入 50 μL 终止液混匀, 15 min 内用酶标仪在 450 nm 处测吸光度(A)值。根据标准样品绘制的标准曲线计算样品的实际浓度。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行统计分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 或中位数或四分位间距 $[M(Q_U - Q_L)]$ 表示, 两组定量资料比较采用 t 检验或 Mann-Whitney U 检验; 多组定量资料间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验, 组间比较采用 Bonferroni 法; 定性资料间比较采用 χ^2 检验; 相关性采用 Spearman 等级相关分析; 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组年龄、性别、GLP-2 水平比较 脓毒症组与对照组相比, 性别及年龄之间的差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 脓毒症组的 GLP-2 水平与对照组相比明显下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 脓毒症组与对照组的比较

组别	<i>n</i>	年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	性别(男/女)	GLP-2 [$M(Q_U - Q_L)$, ng/mL]
脓毒症组	60	68.73 \pm 13.39	32/28	731.40(305.25)
对照组	29	64.97 \pm 6.39	14/15	875.40(1938.80)
$t/\chi^2/U$		1.80	0.20	1740.00
P		0.08	0.66	0.00

2.2 不同 AGI 分级脓毒症患者年龄、性别、GLP-2 水平比较 不同 AGI 分级之间性别、年龄的差异无统计学意义 ($P > 0.05$), GLP-2 水平的差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 2; AGI I、AGI II 组比较, GLP-2 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$), AGI III、AGI IV 组比较, GLP-2 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$), GLP-2 水平在其他组之间的差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 3。

2.3 AGI 分级与 GLP-2 水平的相关性 Spearman 等级相关分析显示, AGI 分级与 GLP-2 水平 ($r = -0.87, P = 0.00$) 存在负相关关系。

表 2 依据 AGI 分级的分组比较

组别	<i>n</i>	年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	性别 (男/女)	GLP-2 [$M(Q_U - Q_L)$, pg/mL]
AGI I 级	11	64.18 \pm 12.90	5/6	897.65(214.90)
AGI II 级	23	72.30 \pm 9.80	11/12	769.05(103.00)
AGI III 级	16	70.88 \pm 14.20	10/6	561.95(169.37)
AGI IV 级	10	62.10 \pm 17.44	6/4	465.70(40.80)
$F/\chi^2/H$		2.03	1.27	45.03
P		0.12	0.74	0.00

表 3 AGI 分级的两两比较

(D)AGI 分级	(J)AGI 分级	年龄 (P)	性别 (P)	GLP-2 (P)
AGI I 级	AGI II 级	0.10	>0.05	0.17
	AGI III 级	0.20	>0.05	0.00
	AGI IV 级	0.71	>0.05	0.00
AGI II 级	AGI III 级	0.74	>0.05	0.01
	AGI IV 级	0.04	>0.05	0.00
AGI III 级	AGI IV 级	0.10	>0.05	0.29

2.4 生存组与死亡组患者年龄、性别、GLP-2 水平比较 生存组与死亡组相比,性别及年龄之间的差异无统计学意义,两组之间的 GLP-2 水平差异无统计学意义($P>0.05$),见表 4。

表 4 生存组与死亡组的比较

组别	n	年龄 ($\bar{x}\pm s$,岁)	性别(男/女)	GLP-2 [M(Q _U -Q _L),pg/mL]
生存组	38	70.68±12.79	23/15	745.65(305.37)
死亡组	22	65.36±14.02	9/13	710.10(348.63)
F/ χ^2 /U		-1.50	2.15	489.00
P		0.14	0.14	0.28

3 讨 论

脓毒症是由于病原体入侵机体导致全身炎症反应、内皮功能障碍、凝血级联反应失调及免疫功能障碍,是重症监护病房患者死亡的主要原因^[3]。在 2016 年以前,脓毒症定义为明确或可疑的感染引起的 SIRS,脓毒症可发展为严重脓毒症和脓毒性休克。严重脓毒症是指脓毒症伴由其导致的器官功能障碍和(或)组织灌注不足,脓毒性休克是指脓毒症伴其所致的低血压,虽经液体治疗后仍无法逆转^[1]。2016 年 2 月《脓毒症与感染性休克定义国际共识》(即脓毒症 3.0)^[4]正式发表,其变化是将脓毒症定义为“因宿主对感染的反应失调而导致的危及生命的器官功能障碍”,以感染后序贯器官衰竭评分(SOFA)增加大于或等于 2 分作为脓毒症的临床判断标准;弃用了“严重脓毒症”的概念。而感染性休克的临床诊断标准被规定为脓症患者经充分容量复苏后仍存在持续性低血压,需缩血管药物维持平均动脉压(MAP)≥65 mm Hg(1 mm Hg=0.133 kPa)且血清乳酸水平大于 2 mmol/L^[5]。但是,脓毒症 3.0 尚存在很多争议,有学者^[6]认为目前摒除 SIRS 的时机过早,qSOFA 敏感性不佳,而 SOFA 评分需要校正。我国仍未颁布新的指南,因此本研究沿用了脓毒症 2.0 的诊断标准。

由于炎症反应、血流重新分布、缺血/再灌注损

伤、禁食及肠外营养等因素,导致脓毒症患者的肠道极易损伤,而肠道是庞大的菌群库,为机体的潜在致病源,正常肠黏膜屏障的职责是阻止肠道内有害物质进入体循环,脓毒症时损伤的肠道无法阻止细菌以及毒素的移位^[7-8],肠道损伤诱发加重 SIRS,进一步发展为 MODS,因此肠道常被称为脓毒症、MODS 的扳机。

肠道既是脓毒症的扳机,又是脓毒症最易受损的靶器官,本研究的严重脓毒症及脓毒性休克患者均发生 AGI,发病率达到了 100%,AGI 是指危重患者由于急性疾病引起的胃肠道功能障碍。根据严重程度,可分为 4 级:I 级,存在发展至胃肠道功能障碍和衰竭的风险;II 级,胃肠道功能障碍;III 级,胃肠道功能衰竭;IV 级,胃肠道功能衰竭伴有远隔器官功能障碍。AGI 的症状包括呕吐与反流、胃潴留、腹泻、消化道出血、麻痹性肠梗阻、肠扩张和肠鸣音异常^[9]。

GLP-2 是一种具有肠道保护作用的肠源性多肽,GLP-2 作用于受体细胞产生 5-羟色胺、血管活性肠肽和一氧化氮等具有血管活性的神经递质,增加肠黏膜的血流,促进损伤肠上皮修复^[10]。GLP-2 通过 IGF-1、PI3K/AKT 通路刺激肠黏膜隐窝细胞的增殖,抑制肠上皮凋亡,增加细胞间的紧密连接,改善免疫系统功能,提高肠道的屏障功能,减少细菌移位^[11-12],促进肠道功能酶和载体恢复以增加营养物质的吸收^[13],通过多方面促进损伤肠上皮的恢复。

GLP-2 由远端回肠和结肠的 L 细胞分泌,受摄食、神经及内分泌多种因素影响^[10],因此,在研究中,为了避免摄食对于 GLP-2 的影响,同时不影响早期肠内营养的实施,选取入院后 12 h 作为 GLP-2 的采血时间点。

GLP-2 长效类似物(teduglutide)用于治疗短肠综合征已进入临床 4 期实验阶段^[14],炎症性肠病以及化疗相关性腹泻的治疗正在临床试验阶段,对于放射性肠炎、肠外营养导致的肠萎缩以及化疗、压力相关性的肠功能障碍等多种疾病^[15-18],GLP-2 的研究同样在如火如荼地开展。

但 GLP-2 与脓毒症的相关研究却鲜有报道,本研究发现,脓毒症患者的血浆 GLP-2 水平较对照组显著下降,提示 GLP-2 的减少可能参与脓毒症肠道损伤的发生发展。张宗兵等^[19-20]通过应用内毒素腹腔注射制作脓毒症大鼠模型,外源性给予 GLP-2 后,与未处理组相比较,肠道黏膜组织电镜检查显示肠黏膜紧密连接蛋白表达明显增加、线粒体和细胞间紧密连接的损伤减轻,肠道细胞损伤程度明显减轻,提示 GLP-2 对脓毒症大鼠肠黏膜机械屏障具有一定的保护作用。那么是否能通过外源性给予 GLP-2 改善脓毒症患者的肠道功能,这为脓毒症肠道保护研究提供了新的方向。

本研究发 现脓毒症 患者血浆 GLP-2 水平与对照 组相比有 明显下降, 进一步 将脓毒症 患者依据 AGI 分 级进行亚 组分析, 结果表明 4 组 之间 GLP-2 水平 的差异 有统计 学意义。 尽管 GLP-2 水平 在 AGI I 组 与 AGI II 组, AGI III 组 与 AGI IV 组 的差异 无统计 学意义, 但从 4 组 的中位 数可以看 出, 脓毒症 患者的 AGI 分 级越高, GLP-2 水平 越低, 而且 相关分 析提示 二者呈 负相关 关系。 也许进 一步增 加样本 量, 能够 发现它 们之间 的统计 学差异。 本研究 初步表 明 GLP-2 水平 能够在 一定程 度上评 估脓毒 症患者 肠道损 伤程度。 接下 来, 笔者 将脓毒 症患者 分为生 存组与 死亡组 来进行 分析, 二者之 间的 GLP-2 水平 差异无 统计学 意义, 这样 的结论 可能与 本研究的 样本量 过小有 关, GLP-2 与 脓毒症 患者预 后的关 系有待 进一步 大样本 的研究。

总之, 血浆 GLP-2 水平 有望成 为评估 脓毒症 患者肠 道功能 的指标, 但目前 尚未发 现对患 者预后 的评估 价值, 能否 通过外 源性给 予 GLP-2 来保 护脓毒 症肠道 尚需进 一步研 究。

参考文献

[1] 中华医学会重症医学分会. 中国严重脓毒症脓毒性休克治疗指南(2014)[J]. 中国实用乡村医生杂志, 2015, 27(18): 5-10.

[2] 方媛媛, 鲁厚清. 胰高血糖素样肽-2 与脓毒症肠道的保护[J]. 海南医学, 2017, 28(3): 456-458.

[3] 郝昱芳, 耿立霞. 脓毒症中介质的最新研究进展[J]. 中华危重病急救医学, 2016, 28(2): 188-192.

[4] SINGER M, DEUTSCHMAN C S, SEYMOUR C W, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [J]. JAMA, 2016, 315(8): 801-810.

[5] 代晓明, 黄伟. 2016 重症医学回顾与展望[J]. 中华危重病急救医学, 2017, 29(1): 1-5.

[6] 黄伟. 2017 重症医学临床研究回顾与展望[J]. 中华危重病急救医学, 2018, 30(1): 1-7.

[7] VAISHNAVI C. Translocation of gut flora and its role in sepsis[J]. Ind J Med Microbiol, 2013, 31(4): 334-342.

[8] 杨秀芬, 李栋梁, 周庆明. 脓毒症致肠功能衰竭研究进展[J]. 河北医科大学学报, 2014, 35(11): 1357-1360.

[9] 任建安. 危重患者急性胃肠损伤与肠康复治疗[J]. 中华消化外科杂志, 2013, 12(1): 21-24.

[10] 李锂, 胡予. 胰高血糖素样肽-2 的生理功能和临床应用[J]. 中华消化杂志, 2014, 34(7): 500-502.

[11] WALKER M P, EVOCK-CLOVER C M, ELSASSER T H, et al. Short communication: glucagon-like peptide-2 and coccidiosis alter tight junction gene expression in the gastrointestinal tract of dairy calves 1 [J]. J Dairy Sci, 2015, 98(5): 3432-3437.

[12] DONG C X, ZHAO W, SOLOMON C, et al. The intestinal epithelial insulin-like growth factor-1 receptor links glucagon-like peptide-2 action to gut barrier function [J]. Endocrinology, 2014, 155(2): 370-379.

[13] HSIEH J, TRAJCEVSKI K E, FARR S L, et al. Glucagon-like peptide 2 (GLP-2) stimulates postprandial chylomicron production and postabsorptive release of intestinal triglyceride storage pools via induction of nitric oxide signaling in male hamsters and mice [J]. Endocrinology, 2015, 156(10): 3538-3547.

[14] ITURRINO J, CAMILLERI M, ACOSTA A, et al. Acute effects of a glucagon-like peptide 2 analogue, teduglutide, on gastrointestinal motor function and permeability in adult patients with short bowel syndrome on home parenteral nutrition [J]. J Parent Ent Nut, 2016, 40(8): 1089-1095.

[15] NAKAME K, KAJI T, MUKAI M, et al. The protective and anti-inflammatory effects of glucagon-like peptide-2 in an experimental rat model of necrotizing enterocolitis [J]. Peptides, 2016, 75(1): 1-7.

[16] MAYO B J, STRINGER A M, BOWEN J M, et al. Irinotecan-induced mucositis: the interactions and potential role of GLP-2 analogues [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2017, 79(2): 233-249.

[17] LIU X W, MURALI S G, HOLST J J, et al. Enteral nutrients potentiate the intestinotrophic action of glucagon-like peptide-2 in association with increased insulin-like growth factor-1 responses in rats [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2008, 295(6): 1794-1802.

[18] AUSTIN K, MARKOVIC M A, BRUBAKER P L. Current and potential therapeutic targets of glucagon-like peptide-2 [J]. Curr Opin Pharmacol, 2016, 31(1): 13-18.

[19] 张宗兵, 刘瑞林, 刘牧林. GLP-2 对脓毒症大鼠肠道细菌移位的影响 [J]. 中华全科医学, 2012, 10(7): 999-1000.

[20] 张宗兵, 王栓虎, 姜从桥, 等. 胰高血糖素样肽-2 对脓毒症大鼠肠黏膜通透性的影响 [J]. 中华解剖与临床杂志, 2014, 19(5): 423-426.

(收稿日期: 2018-09-06 修回日期: 2018-11-25)