

功能性消化不良患者血浆 Ghrelin 和 Obestatin 水平的变化

张维 张琍 刘卓然 方小芬 朱理晖

【摘要】 目的 探讨功能性消化不良(FD)患者的血浆胃促生长素(Ghrelin)、肥胖抑制素(obestatin)水平变化及其临床意义。方法 选取符合 RomeIII 诊断标准的 60 例 FD 患者作为实验组,其分成两组:上腹痛综合征(EPS) 25 例,餐后不适综合征(PDS) 35 例;25 例健康者作为对照组。本研究中 FD 患者和健康志愿者均知情同意,并经南华大学附属第二医院伦理委员会讨论同意。采用酶联免疫法检测血浆 Ghrelin(总量,酰基化,非酰基化)及 obestatin 水平。所得计量资料数据均以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示;两组比较采用成组 *t* 检验。结果 (1) FD 组血浆 Ghrelin 水平较对照组减低($P < 0.05$);其中 PDS 组血浆 Ghrelin 水平较对照组减低($P < 0.05$);且较 EPS 组也减低($P < 0.05$);EPS 组血浆 Ghrelin 水平与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$);(2) FD 组血浆酰基化 Ghrelin 水平较对照组减低($P < 0.05$),而非酰基化 Ghrelin 差异无统计学意义($P > 0.05$),其中 PDS 组血浆酰基化 Ghrelin 水平较对照组减低($P < 0.05$),非酰基化 Ghrelin 差异无统计学意义($P > 0.05$),EPS 组血浆酰基化 Ghrelin、非酰基化 Ghrelin 水平与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$);(3) FD 组血浆 obestatin 水平较对照组减低($P < 0.05$)。PDS 组血浆 obestatin 水平较对照组减低($P < 0.05$),EPS 组血浆 obestatin 水平与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 FD 患者特别是 PDS 患者的病理机制可能主要与胃肠运动异常相关;血浆 Ghrelin(总量、酰基化、非酰基化)及 obestatin 水平在 FD 的发病过程中可能存在作用,对其的检测可能有助于 FD 分型和指导临床治疗。

【关键词】 消化不良; 功能性消化不良; 胃促生长素; 肥胖抑制素

Variation of serum Ghrelin and obestatin in patients with functional dyspepsia ZHANG Wei, ZHANG Li, LIU Zhuo-ran, FANG Xiao-fen, ZHU Li-hui. Department of Gastroenterology, The Second Affiliated Hospital of Nanhua University, Hengyang 421001, China

Corresponding author: ZHANG Li, Email: hyzhangli@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the variation of serum Ghrelin and obestatin in patients with functional dyspepsia and the clinical significance. **Methods** Sixty patients are diagnosed as FD and divided into two groups: one group is epigastric pain syndrome(EPS), which consists of twenty-five patients, the other group is postprandial distress syndrome(PDS) consists of thirty-five patients. Meanwhile twenty-five healthy person were regarded as controls, FD patients and healthy volunteers of the study were informed consent, and it was discussed and agreed by the ethics committee of the second Affiliated Hospital of NanHua university, enzyme linked immunosorbent assay was used to examine the level of serum Ghrelin (total, acylated ghrelin, desacyl ghrelin) and obestatin, The results were be analyzed by independent sample T Test. **Results** (1)The level of serum Ghrelin (total) in group FD was lower than that in control($P < 0.05$). The level of serum Ghrelin (total)in group PDS was lower than in control($P < 0.05$) and group EPS($P < 0.05$). But no significant difference was found between the level of serum ghrelin(total) in group EPS and group control ($P > 0.05$). (2)The level of serum (acylated ghrelin) in group FD was lower than that in control($P < 0.05$). No significant difference was found between the level of serum desacyl ghrelin in group FD and group control ($P > 0.05$). The level of serum acylated ghrelin in group PDS was lower than that in control($P < 0.05$),but no significant difference was found between the level of serum desacyl

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2013.23.055

基金项目: 湖南省卫生厅项目资助(B2010-053); 湖南省研究生科研创新项目资助(2011B383)

作者单位: 421001 湖南衡阳, 南华大学附属第二医院消化科(张维、张琍、刘卓然、方小芬、朱理晖); 中山市小榄人民医院消化科(张维)

通讯作者: 张琍, Email: hyzhangli@163.com

ghrelin in group PDS and control ($P > 0.05$), and no significant difference was found between the level of serum acylated ghrelin and desacyl ghrelin in group EPS and control ($P > 0.05$). (3) The level of serum obestatin in group FD was lower than that in control ($P < 0.05$). The level of serum obestatin in group PDS was lower than that in control ($P < 0.05$). In group EPS and group control, The level of serum obestatin had no significant difference ($P > 0.05$).

Conclusions The FD especially the PDS may be associated with abnormalities in gastrointestinal motility; there may be an interaction between serum ghrelin (total, acylated, desacyl) and obestatin in the development of FD. The detection of serum ghrelin (total, acylated, desacyl) and obestatin may be helpful in the classification and the treatment of FD.

【Key words】 Dyspepsia; Functional dyspepsia; Ghrelin; Obestatin

功能性消化不良 (functional dyspepsia, FD) 是临床上最常见的一种功能性胃肠病 (functional gastrointestinal disorders, FGIDs), 约占消化系统疾病的 20%~40%。按照的 RomeIII^[1]关于 FD 的诊断标准将 FD 分为餐后不适综合征 (postprandial distress syndrome, PDS) 和上腹痛综合征 (epigastric pain syndrome, EPS) 两种亚型。其中 PDS 以早饱、餐后饱胀不适为主要临床表现, EPS 则以上腹部疼痛和烧灼感为主要表现。FD、PDS、EPS 的发病机制非常复杂, 现有研究认为其发病与上消化道运动障碍、内脏高敏感性、高胃酸分泌、幽门螺杆菌感染、精神心理因素、社会因素等综合作用有关。尚未明确的发病机制给临床诊治造成困难, FD 现有的治疗方法, 主要是针对去除诱因以及凭医生经验的对症治疗, 但疗效尚不确定。近年来, 关于脑-肠轴及脑肠肽 (Ghrelin、obestatin 等) 在 FD 发病中的作用备受关注, Ghrelin 可以调节胃动力及促进食欲、增加胃酸分泌, obestatin 能发挥相反的作用, 有生物活性的 Ghrelin 及其受体激动剂能有助于 FD 疗效^[2-3], 酰基化的 Ghrelin 可能通过影响胃排空, 在 FD 发病中起作用^[4]。本文拟通过检测 FD 患者血浆 Ghrelin (总量、酰基化、非酰基化)、obestatin 水平, 进一步阐明 FD 的发病机制, 为指导临床治疗提供理论依据。

资料与方法

一、研究对象

从 2011 年 3~12 月期间在南华大学附属第二医院体检中心、神经内科和消化内科门诊及住院患者中, 选取符合 RomeIII^[1]诊断标准的 FD 患者: (1) 具有以下 1 项或多项症状: 上腹 (胃十二指肠区域) 疼痛或上腹烧灼感、早饱、餐后饱胀不适感, 诊断前症状至

少出现 6 个月, 最近 3 个月症状持续存在; (2) 经胃镜检查示正常或轻度炎症改变, 除外糜烂、溃疡、肿瘤等器质性病变; (3) 经实验室 (三大常规、血生化) 检查、腹部彩超等检查排除肝、胆、脾、胰的器质性病变; (4) 排除糖尿病及结缔组织疾病、精神病, 无腹部手术史, 并排除肠易激综合征。FD 组共 60 例, 男 15 例, 女 45 例, 年龄 20~70 岁, 平均年龄 (36.5 ± 11.2) 岁。依据 RomeIII^[1]标准将 FD 组分为 PDS 组和 EPS 组两个亚组: 其中 PDS 组 35 例, 男 10 例, 女 25 例, 平均年龄 (38.5 ± 10.1) 岁; EPS 组 25 例, 男 5 例, 女 20 例, 平均年龄 (35.4 ± 9.9) 岁。对照组为同期在南华大学附属第二医院健康体检中心体检健康者, 无 FD 症状及相关疾病, 共 25 例, 男 10 例, 女 15 例, 平均年龄 (39.2 ± 8.7) 岁。体重指数 (body mass index, BMI) 均为 22~25 kg/m²。本研究中的 60 例 FD 患者和 25 名健康志愿者均知情并同意参加此次研究, 并经南华大学附属第二医院伦理委员会讨论同意。在年龄、性别、文化程度、职业、体重指数方面差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1。

二、方法

所有 FD 病例组及健康对照组均空腹 10 h 以上在早上 7:30~9:30 段, 抽取静脉血 3 ml, 立即注入含 10%依地酸二钠 (10% EDTA-2NA) 40 μg 和抑肽酶 40 μl 的试管中混匀抗凝, 室温下静置 30 min, 4 °C 下, 4000 r/min, 离心 10 min, 分离血浆至 1.5 ml EP 管, 将 EP 管用封口膜封口, 置于 -80 °C 冰箱保存待测。Ghrelin (总量、酰基化、非酰基化) 及 obestatin 测定采用 ELISA 法, 各样品检测均严格按照操作要求进行, 并同批完成。

表 1 实验组和健康对照组职业、文化程度、性别、年龄、BMI 情况

组别	职业 (例)			文化程度 (例)		性别 (例)		年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	BMI (kg/m ² , $\bar{x} \pm s$)
	工人	农民	无业	中小学	大学及以上	男	女		
PDS 组	10	14	11	29	6	10	25	38.5 ± 10.1	22.36 ± 1.83
EPS 组	8	13	4	22	3	5	20	35.4 ± 9.9	23.06 ± 2.02
FD 组	18	27	15	51	9	15	45	36.5 ± 11.2	22.39 ± 1.97
对照组	7	10	8	20	5	10	15	39.2 ± 8.7	22.54 ± 1.65

表2 FD组、PDS组、EPS组与对照组血浆 Ghrelin 总量、酰基化 Ghrelin、非酰基化 Ghrelin、obestatin 水平比较 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	Ghrelin 总量	酰基化 Ghrelin	非酰基化 Ghrelin	obestatin
对照组	25	230.69±24.91	143.95±11.82	79.74±10.61	154.10±12.40
FD组	60	181.64±23.40 ^a	108.45±10.51 ^a	72.04±9.80	118.82±10.40 ^a
PDS组	35	160.58±25.24 ^{ab}	93.32±11.35 ^a	67.20±11.20	105.91±11.92 ^a
EPS组	25	203.26±24.42	124.42±9.53	77.84±10.42	132.24±9.61

注: 与对照组比较, ^a $P<0.05$; 与 EPS 组比较, ^b $P<0.05$

三、统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计软件包进行统计学分析, 计量资料数据均以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示; 两组比较采用成组 t 检验。 $P<0.05$ 认为有统计学意义。

结 果

1. 血浆总量 Ghrelin 水平的检测: FD 组与对照组比较, 血浆总量 Ghrelin 水平降低, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 其中 PDS 组分别与对照组及 EPS 组比较, 血浆总量 Ghrelin 水平均降低, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$); 而 EPS 组与对照组比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 2。

2. 血浆酰基化 Ghrelin 水平的检测: FD 组、PDS 组分别与对照组比较血浆酰基化 Ghrelin 水平降低, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 而 EPS 组与对照组比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 2。

3. 血浆非酰基化 Ghrelin 水平的检测: FD 组、PDS 组、EPS 组分别与对照组比较血浆非酰基化的 Ghrelin 水平, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 2。

4. 血浆 obestatin 水平的检测: FD 组及 PDS 组分别与对照组比较, 血浆 obestatin 水平降低, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 而 EPS 组与对照组比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 2。

讨 论

FD 是指来源于胃、十二指肠区域的临床症候群, 包括上腹痛、上腹烧灼感、早饱及餐后饱胀感, 这些症状均无法用生化异常及器质性疾病解释。近年来国内外研究表明, 胃肠动力功能障碍是功能性消化不良的主要发病机制, 并且胃肠动力异常伴有胃肠激素变化与异常^[5]。胃肠道中的肠神经系统是一种独立于中枢神经系统之外的神经结构, 它能合成和释放多种兼有神经递质和激素的双重作用的脑肠肽。Ghrelin 与 obestatin 作为新近发现的两种脑肠肽, 在 FD 发病机制中是否有作用, 作用如何都是医学界有待解决的问题。

Ghrelin 是 1999 年 Kojima 等^[6]新发现的由 28 个氨基酸残基组成的脑肠肽, 主要是由位于胃体黏膜组织

中的 X/A 样细胞产生, 循环中存在有活性的酰基化及无活性的非酰基化两种形式, 具有广泛的生物学功能。Bedendi 等^[7]发现酰基化的 Ghrelin 是 Ghrelin 发挥生理作用的活性形式, 能促进生长激素的释放和增加摄食, 促进胃肠运动, 而非酰基化的 Ghrelin 主要参与细胞增殖及脂肪沉积。Ghrelin 可以通过自分泌、旁分泌和内分泌的方式联系胃肠道和中枢神经系统, 调节消化系统的功能。Ghrelin 能够促进食欲、促进胃酸分泌^[8-9]、还能促进胃排空, 对糖尿病胃轻瘫和特发性胃轻瘫患者也有促进胃排空的作用^[10]。Ghrelin 还能促使 MMCIII 相提前出现, 通过缩短十二指肠和空肠 MMC 周期, 加速小肠推进运动^[11], 促进结肠推进运动等。

我们研究发现: FD 组和 PDS 组血浆总量、酰基化 Ghrelin 水平均较对照组减低, 与文献报道一致^[4,12]。而 EPS 组血浆总量、酰基化 Ghrelin 水平与对照组比较差异无统计学意义。我们认为由于 PDS 的病理生理机制可能主要与胃肠运动异常相关, 而 Ghrelin 及具有生物活性的酰基化 Ghrelin 都能促进胃肠排空, 由于 FD 组和 PDS 组血浆总量 Ghrelin、酰基化 Ghrelin 水平的异常降低, 从而抑制了胃排空、胃酸分泌及食欲, 导致了 PDS 患者的早饱、餐后饱胀不适等消化不良症状。提示酰基化的 Ghrelin 在 FD 发病机制中扮演一定角色, 提高酰基化的 Ghrelin 水平可能能够改善患者早饱、餐后不适等症状。本研究发现: EPS 组血浆 Ghrelin 总量和酰基化 Ghrelin 水平较对照组比较差异无显著性。推断: 血浆 Ghrelin 总量和酰基化 Ghrelin 水平在 EPS 的发病中作用不大, EPS 可能主要是由于胃黏膜承受的化学刺激增加或(和)内脏高敏感性增加所致, 用内脏高敏感性更好解释, 而与胃肠动力障碍关系不大。这与国外学者研究一致^[13-14]。FD 组、EPS 组、PDS 组和对照组血浆非酰基化 Ghrelin 差异均无统计学意义, 结合研究^[6]表明非酰基化的 Ghrelin 主要生理作用为参与细胞增殖及脂肪沉积。说明非酰基化 Ghrelin 可能在 FD 的发病中不起作用, 与文献报道一致^[4]。

obestatin 是 Zhang 等^[15]于 2005 年新发现的一种脑肠肽, 来源于 Ghrelin 前体肽, 却有着某些与 Ghrelin 相反的生理学作用: 减慢胃肠排空速度和抑制肠道收

缩、抑制饥饿感、抑制摄食和降低体重。Zhao 等^[16]用免疫电子显微镜观察到 obestatin、Ghrelin 共定位于胃黏膜的 X/A 样细胞中。而有学者并未发现 obestatin 的抑制胃排空作用^[17]。Lagaud 等^[18]发现外源性 obestatin 能抑制大小鼠摄食, 剂量依赖曲线却呈“U”形, 高剂量和低剂量都没能抑制摄食。而 De Smet 等^[19]研究却不能重复上述结果。因此 obestatin 对胃肠道的作用尚未明确, 仍备受争议。

目前, 国内外关于 obestatin 与 FD 关系的研究报道较少。我们研究发现 FD 组及 PDS 组血浆 obestatin 水平均较对照组减低, 而 EPS 组血浆 obestatin 水平与对照组比较差异无统计学意义。推测 FD 患者及 PDS 患者血浆 obestatin 水平的降低可能是患者长期摄食减少而导致的机体的一种适应性反应。机体在正常情况下, 血浆 Ghrelin 与 obestatin 水平可能是在一定范围内变动的, 两者来自同一前体基因, FD 特别是 PDS 的致病机制可能影响两者的前体基因, 导致两者共同的前体肽编码减少, 因此参与剪切修饰成 Ghrelin 及 obestatin 的多肽也就减少了^[15]。因此 PDS 患者的 Ghrelin 水平降低时, 来自同一基因和前体原 obestatin 水平也随之下降。此外两者均主要来源于胃内分泌细胞, FD 患者可能存在着胃肠道内分泌细胞分泌 Ghrelin 与 obestatin 的异常。因此 Ghrelin 与 obestatin 变化趋势一致, 以保证机体能量代谢的平衡状态。

本课题为小样本研究, 不可避免 I 类错误, 需要加大样本量, 多中心随机对照双盲以及采用多种检测方法研究, 本课题尚未加以性别的限制, 未排除性激素可能对这两种脑肠肽分泌产生的影响, 今后需要进一步研究。探讨通过测定血浆 Ghrelin (总量、酰基化、非酰基化) 水平是否可以判定 FD 患者的不同亚型提供客观依据。刺激 Ghrelin 的分泌或补充外源性 Ghrelin 及 Ghrelin 受体激动剂是否有助于改善 FD 患者的消化不良主观症状, 是否可用于某些胃肠功能障碍性疾病, 外科手术后的胃肠功能紊乱, 恶病质患者的恢复以及由糖尿病等引起的胃轻瘫等疾病的治疗; 目前 obestatin 对胃肠道功能的具体作用机制尚存在争议, 究竟 obestatin 有无拮抗 Ghrelin 的生理作用; 两者间的具体相互作用如何; obestatin 与各种代谢性疾病间有无关系, 这些问题尚需进一步深入探讨, 这些都为我们今后提出了新的研究方向。

参 考 文 献

[1] Tack J, Talley NJ. Functional dyspepsia--symptoms, definitions and validity of the Rome III criteria. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2013, 10: 134-141.

[2] Yaqi T, Asakawa A, Ueda H, et al. The role of ghrelin in patients with functional dyspepsia and its potential clinical relevance *Int J Mol Med*, 2013, 32: 523-531.

[3] Oqiso K, Asakawa A, Amitani H, et al. Ghrelin: a gut hormonal basis of motility regulation and functional dyspepsia. *J Gastroenterol Hepatol*, 2011, 26 Suppl 3: 67-72.

[4] Shindo T, Futagami S, Horie A, et al. Comparison of gastric emptying and plasma ghrelin levels in patients with functional dyspepsia and non-erosive reflux disease. *Digestion*, 2009, 79: 65-72.

[5] 何美蓉, 宋于刚, 何春容. 胃肠激素与功能性消化不良患者胃肠动力障碍的关系. *解放军医学杂志*, 2003, 28: 924-925.

[6] Kojima M, Hosoda H, Date I, et al. Ghrelin is a growth-hormone releasing acylated peptide from the stomach. *Nature*, 1999, 402: 656-660.

[7] Bedendi I, Alloatt G, Marcantoni A, et al. Cardiac effects of ghrelin and its endogenous derivatives des-octanoyl ghrelin and des-Gln14-ghrelin. *Eur J Pharmacol*, 2003, 476: 87-95.

[8] Alfonso, Abizaid, Tamas L, et al. Ghrelin and the central regulation of feeding and energy balance. *Indian journal of endocrinology and metabolism*, 2012, 16: 617-626.

[9] Toshinai K, Mondal MS, Nakazato M, et al. Upregulation of ghrelin expression in the stomach upon fasting, insulin-induced hypoglycemia, and leptin administration. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 281: 1220-1225.

[10] Murray CD, Martin NM, Patterson M, et al. Ghrelin enhances gastric emptying in diabetic gastroparesis: a double blind, placebo controlled, crossover study. *Gut*, 2005, 54: 1693-1698.

[11] Edholm T, Levin F, Hellstrom PM, et al. Ghrelin stimulates motility in the small intestine of rats through intrinsic cholinergic neurons. *Regul Pept*, 2004, 121: 25-30.

[12] 陈莹, 刘文天, 韩玉山, 等. 功能性消化不良患者血清 Ghrelin 和瘦素水平以及心理因素的研究. *中华消化杂志*, 2009: 29521-29524.

[13] Timmons S, Liston R, Moriarty KJ, et al. Functional dyspepsia: motor abnormalities, sensory dysfunction, and therapeutic options. *Am J Gastroenterol*, 2004, 99: 739-749.

[14] Bouin M, Meunier P, Riberdy M, et al. Pain hypersensitivity in patients with functional gastrointestinal disorders: a gastrointestinal specific defect or a general systemic condition. *Dig Dis Sci*, 2001, 46: 2542-2548.

[15] Zhang J, Renp G, Avsian-Kretschmer O, et al. Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science*, 2005, 310: 996-999.

[16] Zhao CM, Furnes MW, Stenstrom B, et al. Characterization of obestatin- and ghrelin-producing cells in the gastrointestinal tract and pancreas of rats: an immunohistochemical and electron-microscopic study. *Cell Tissue Res*, 2008, 331: 575-587.

[17] Gourcerol G, Million M, Adelson DW, et al. Peripheral injection of CCK and obestatin in the regulation of gastric satiety signaling in rodents. *Peptides*, 2006, 27: 2811-2819.

[18] Lagaud GJ, Young A, Acena A, et al. Obestatin reduces food intake and suppresses body weight gain in rodents. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 357: 264-269.

[19] De Smet B, Thijs T, Peeters TL, et al. Effect of peripheral obestatin on gastric emptying and intestinal contractility in rodents. *Neurogastroenterol Motil*, 2007, 19: 211-217.

(收稿日期: 2013-09-02)

(本文编辑: 马超)