

非糖尿病维持性血液透析患者髓过氧化物酶与颈动脉硬化的相关性

赵战云¹, 颜炳丽¹, 王春光², 李松¹, 郝力海¹, 尹丽丽¹
(山东省潍坊市人民医院 1. 血液净化中心, 2. 超声科, 山东省潍坊市 261041)

[关键词] 维持性血液透析; 髓过氧化物酶; 颈动脉粥样硬化

[摘要] 目的 探讨非糖尿病维持性血液透析患者髓过氧化物酶与颈动脉硬化相关指标的关系。方法 酶联免疫吸附法测定非糖尿病维持性血液透析患者同一次透析前后血浆髓过氧化物酶和血清弹性蛋白酶水平变化, 同时 B 超测定两侧颈总动脉内膜中膜厚度、斑块数量及面积, 并对各项指标做相关性分析。结果 血液透析后血浆髓过氧化物酶水平明显高于血液透析前 ($P < 0.01$), 血清弹性蛋白酶水平透析前后无明显变化。年龄、血液透析前髓过氧化物酶水平与颈总动脉内膜中膜厚度明显正相关 ($P < 0.01$), 血液透析后髓过氧化物酶水平与血液透析前后弹性蛋白酶水平无相关, 与各项颈动脉硬化指标也无相关。结论 年龄及血液透析前髓过氧化物酶水平与动脉硬化有关, 而特定血液透析条件时血液透析后血浆髓过氧化物酶水平的升高与中性粒细胞脱颗粒及动脉硬化程度无关, 可能是肝素诱发的动脉壁髓过氧化物酶释放, 这种释放对维持性血液透析患者动脉硬化的意义有待进一步研究。

[中图分类号] R5 [文献标识码] A

Correlation of Myeloperoxidase and Carotid Atherosclerosis in Non-diabetic Patients with Maintenance Hemodialysis

ZHAO Zhan-Yun¹, YAN Bing-Li¹, WANG Chun-Guang², LI Song¹, HAO Li-Hai¹, and YIN Li-Li¹
(1. Blood Purification Center, 2. Department of Ultrasound, Weifang People's Hospital, Weifang, Shandong 261041, China)

[KEY WORDS] Maintenance Hemodialysis; Myeloperoxidase; Carotid atherosclerosis

[ABSTRACT] **Aim** To study possible clinical relationships of myeloperoxidase (MPO) and carotid atherosclerosis in non-diabetic patients with maintenance hemodialysis (MHD). **Methods** Levels of plasma MPO and serum elastase (ELT) of non-diabetic patients with MHD were determined by ELISA. Carotid intima-media thickness (IMT), quantity and area of carotid plaque were measured by B-mode ultrasonography. **Results** There was no significant difference of serum ELT before and after hemodialysis (HD). Plasma MPO was significantly higher after HD than before HD ($P < 0.01$). There was positive correlation between age, MPO level before HD and carotid IMT ($P < 0.01$). There was no correlation between the levels of plasma MPO after HD and serum ELT or carotid IMT. **Conclusions** MPO level before HD contributed to carotid atherosclerosis in patients on MHD. In contrast, there was no relation between higher MPO level after HD and carotid atherosclerosis. This finding suggests that increased plasma MPO levels after HD do not reflect increased activation/degranulation of leukocytes and supports the view that the increase in circulating MPO reflects the heparin-induced release from the atherosclerotic vascular wall.

髓过氧化物酶(MPO)是亚铁血红蛋白酶, 包含阳离子、糖基化蛋白, 分子量 144 kDa。MPO 是强碱性物质, 是机体防御系统的一部分。预先储存在中性粒细胞中, 中性粒细胞被激活后释放 MPO 到血液

中, 催化次氯酸的产生^[1]。此外, MPO 氧化低密度脂蛋白胆固醇, 激活金属蛋白酶, 促进不同靶蛋白的氧化修饰, 更重要的是, MPO 在被中性粒细胞释放后结合到内皮细胞, 经过胞转作用, 聚集在内皮下基

[收稿日期] 2011-03-30
[基金项目] 山东省自然科学基金(y2007c114)
[作者简介] 赵战云, 主任医师, 教授, 研究方向为血液净化及肾脏病。颜炳丽, 护师。王春光, 副主任医师, 副教授, 研究方向为超声影像学。

质中,催化酪氨酸残基的硝基化,消耗内皮细胞衍生的一氧化氮(NO),从而损伤血管舒张功能^[2]。因此,一般认为,MPO在血管损伤和动脉硬化中扮演了一个重要角色。

颈动脉内膜中膜厚度(IMT)可以提示动脉硬化程度,并预测临床心血管事件。有研究表明,维持性血液透析(MHD)患者MPO明显升高,而且是颈总动脉IMT增加的独立危险因素^[1],也有研究表明MHD患者MPO水平与颈总动脉IMT无关^[3]。为此本研究进一步了解MPO与颈动脉硬化关系。

1 对象和方法

1.1 对象

2009年在我院的慢性肾衰竭MHD患者,排除糖尿病患者、近2个月内有感染患者及使用影响白细胞数量和功能药物患者,留取标本前一个月停用铁剂。

1.2 治疗方法

一次性使用双醋酸膜血液透析器,双重反渗水处理系统,血液透析(HD)用水电导度 $<1\text{ }\mu\text{S/cm}$,内毒素监测 $<0.5\text{ kEU/L}$ 。用普通肝素抗凝,剂量 $125\text{ U}/(\text{kg}\cdot\text{w})$ 。HD开始前用半量静脉注射,剩余部分HD期间持续追加,HD结束前1h停用。每周血液透析2~3次,每次5h。

1.3 MPO和弹性蛋白酶测定

分别在患者同一次HD开始前未使用肝素时及结束时立即留取静脉血,分别装入EDTA抗凝试管和普通试管,抗凝血 2500 r/min 离心,分离血浆检测MPO,未抗凝血制作血清标本检测弹性蛋白酶(ELT)。MPO(试剂盒购自德国Merck公司)和ELT(试剂盒购自美国SAN JOSE公司)均使用酶联免疫吸附法测定。

1.4 颈动脉超声检查

在留取MPO和ELT标本后一周内为患者行两侧颈总动脉B超检查,测定颈总动脉无斑块处最大厚度作为颈总动脉IMT,并测定颈总动脉阻力指数(RI)、粥样硬化斑块数量及面积,并计算同一指标的单侧平均值(即同一指标左右两侧之和的1/2)。

1.5 统计学方法

先用Shapiro-wilk方法进行正态分布检验,正态分布数据用Pearson相关(积差相关)分析,非正态分布数据用Spearman相关(秩相关)进行非参数相关性检验,用Wilcoxon方法进行非参数均值检验。

2 结果

2.1 患者一般情况

共有31例患者参加了研究,其中男19例,女12例,年龄23~83岁,已经透析时间9~105个月,平均 31 ± 9 个月(表1)。

2.2 HD前后MPO和ELT水平变化

由于HD前后MPO及HD后ELT数据是非正态分布,因此对HD前后的MPO和ELT的差异进行了中位数Wilcoxon秩检验,结果表明,HD前后ELT无明显变化,HD后MPO水平则明显高于HD前($P<0.01$;表1)。

表1. 患者各项指标及正态分布检验

Table 1. Parameters of patients and normality test				
项 目	均值	标准差	中位数	P
年龄(岁)	51.4	20.0	50	<0.05
HD前ELT($\mu\text{g/L}$)	177.5	80.2	—	>0.05
HD前MPO($\mu\text{g/L}$)	147.7	141.2	96.7	<0.05
HD后ELT($\mu\text{g/L}$)	185.0	103.5	181.2	<0.05
HD后MPO($\mu\text{g/L}$)	265.7	198.0	209.6	<0.05
单侧平均颈总动脉IMT(mm)	0.68	0.16	—	>0.05
单侧平均RI	0.81	0.39	0.77	<0.05
单侧平均斑块数(个)	1.90	2.32	1.0	<0.05
单侧平均斑块面积(mm^2)	38.7	61.0	4.82	<0.05

2.3 相关性分析

HD后MPO水平与HD前后ELT水平无相关,与各项颈动脉硬化指标也无相关;年龄、HD前MPO均与单侧颈总动脉IMT正相关($P<0.01$)。此外,年龄还与颈总动脉RI、单侧斑块数及单侧斑块面积明显正相关($P<0.01$;表2)。

3 讨 论

MPO是一种中性粒细胞释放的酶,它催化生成许多活性氧化剂。除了是先天性免疫反应的组成部分外,MPO衍生的氧化剂在炎症期间加重组织损伤。MPO催化的反应有潜在致动脉粥样硬化的生物活性,它贯穿整个心血管疾病进展过程,包括动脉粥样硬化进程的开始、扩大和急性并发症阶段^[4]。MPO还是一种对血管壁有强力亲和性的酶,特别是在炎症状态下。由于内皮表面及细胞外基质中大量存在富含阴离子的硫酸乙酰肝素(HS),作为一种强阳离子蛋白,中性粒细胞黏附到内皮屏障并脱颗粒

表 2. 相关性分析

Table 2. Correlation analysis

		年龄	HD 前 ELT	HD 前 MPO	HD 后 ELT	HD 后 MPO
HD 前 ELT	<i>r</i>	0.079		0.132	0.741	-0.127
	<i>P</i>	0.672		0.477	0.000	0.497
HD 前 MPO	<i>r</i>	0.194	0.132		0.343	0.278
	<i>P</i>	0.295	0.477		0.059	0.130
HD 后 ELT	<i>r</i>	0.069	0.741	0.343		0.070
	<i>P</i>	0.714	0.000	0.059		0.707
HD 后 MPO	<i>r</i>	0.050	-0.127	0.278	0.070	
	<i>P</i>	0.788	0.497	0.130	0.707	
单侧平均颈总动脉 IMT	<i>r</i>	0.708	-0.040	0.560	0.092	0.228
	<i>P</i>	0.000	0.833	0.001	0.622	0.217
单侧平均 RI	<i>r</i>	0.472	0.215	0.263	0.131	0.045
	<i>P</i>	0.007	0.246	0.152	0.481	0.812
单侧平均斑块数	<i>r</i>	0.695	0.095	0.281	0.030	0.190
	<i>P</i>	0.000	0.619	0.132	0.876	0.316
单侧平均斑块面积	<i>r</i>	0.691	0.055	0.228	-0.008	0.156
	<i>P</i>	0.000	0.772	0.225	0.966	0.410

产生的 MPO, 或已接触抗原的炎症循环血液中的 MPO, 会贪婪地结合到带负电荷的血管内皮上, 经过迅速的跨细胞作用, 集中在内皮基底膜外侧, 与纤维连接蛋白之类的细胞外基质蛋白保持紧密聚合。因此, MPO 属于被逐渐公认的“肝素结合蛋白”家族^[5,6]。考虑到 HD 患者使用肝素, 留取血清较困难, 因此选择了 EDTA 抗凝血浆测定 MPO。后来 Scheffer 等^[7]的观察结果支持了这一观点。其研究测定健康受试者 EDTA-抗凝血浆标本和配对的肝素抗凝血浆及血清标本 MPO 浓度, 结果发现肝素抗凝的血浆及血清 MPO 水平明显高于 EDTA 抗凝血浆, 因此认为测定 MPO, EDTA 抗凝血浆不受体外白细胞释放的 MPO 影响, 是首选标本。中性粒细胞 ELT 也是存在于中性粒细胞的一种酶, 在中性粒细胞内与 MPO 在相同颗粒中表达, 血液 ELT 水平升高提示白细胞被激活并脱颗粒^[5,8]。

本研究中, 年龄与单侧平均颈总动脉 IMT、颈总动脉 RI、单侧斑块数及单侧斑块面积明显正相关。表明随 MHD 患者年龄增长动脉硬化程度加重, 符合正常规律。HD 前 MPO 与颈总动脉 IMT 正相关, 表明 MPO 确实能促进 MHD 患者动脉硬化发生发展, 这一点与 Honda 等^[1]的研究相似, 而与 Al-

Hweish 等^[3]的研究不同。前者患者年龄 63 ± 13 岁, 没有注明 MPO 标本采集于 HD 前或后。后者患者年龄 51.5 ± 21.1 岁, 其研究结果发现无论连续不卧床腹膜透析还是 MHD 患者, 其 HD 前后血浆 MPO 水平均与颈总动脉 IMT 无关。两研究结论相反的原因可能与两组患者平均年龄差别较大有关。HD 后 MPO 水平明显升高, 而且升高后的 MPO 与颈总动脉 IMT 无关, 表明 HD 后 MPO 的升高对颈动脉硬化发展的影响较小, 究其原因, 可能与 HD 后升高的 MPO 来自血管壁 MPO 释放, 而非中性粒细胞脱颗粒。

首先, 本研究结果中 HD 后血浆 MPO 的升高不伴有标志中性粒细胞脱颗粒的 ELT 水平升高, 提示 HD 后增加的 MPO 并非来自中性粒细胞脱颗粒。这与 Borawski 等^[5]提到的研究结果相似, 该研究提到当使用生物相容性好的透析膜和超纯水 HD 时, 透析期间中性粒细胞并未脱颗粒。其次, HD 后 MPO 的升高与 HD 过程中使用肝素有关。肝素和 HS 均是带负电荷的线形葡聚糖。由含有一个糖醛酸和一个氨基糖的二糖重复单位连接而成。过去十年的研究表明, 氨基葡聚糖肝素和硫酸乙酰肝素约束和调节许多蛋白的活性^[9]。肝素不同于 HS: HS

大量存在于内皮细胞表面和内皮基底膜外基质中，与基质中带正电的 MPO 结合，肝素则是在结缔组织肥大细胞颗粒中发现的，是一种 HS 类似物，是最常用的抗凝药物^[10]，此外肝素还具有抗炎和抗氧化作用有关^[11]。Honda 等^[1]在体外分别用肝素和用生理盐水处理隐静脉，前者 MPO 含量是显著下降的，说明肝素促使基质蛋白、内皮细胞和冠心病患者隐静脉移植植物释放 MPO。Volker 对准备进行冠状动脉介入治疗患者术前随机给予未分级肝素或比伐卢定静脉注射，结果发现注射肝素患者血浆 MPO 水平明显升高，而接受注射比伐卢定患者则明显降低^[2]。Baldus 等^[12]观察了冠心病和非冠心病两组患者使用肝素前后 15 min 血浆 MPO 和 HE 水平变化，发现使用肝素后两组患者 MPO 水平明显升高而 HE 没有变化，结合其他结果，认为肝素可以促进血管壁基质及内皮细胞释放 MPO 而不引起中性粒细胞脱颗粒，从而增加内皮一氧化氮生物利用度，改善内皮细胞功能。因此，本研究中，HD 后血浆 MPO 水平升高可能是肝素的使用导致了血管壁 MPO 释放。HD 后 MPO 水平与颈总动脉 IMT 及其他动脉硬化指标无关也支持这一点。根据以上分析，我们认为，HD 后 MPO 水平的升高不能全部归因于生物相容性导致的中性粒细胞释放。

总之，本研究结果提示，年龄及 HD 前 MPO 水平与动脉硬化有关，而特定 HD 条件时 HD 后血浆 MPO 水平的升高与中性粒细胞脱颗粒及动脉硬化程度无关，可能是肝素诱发的动脉壁 MPO 释放，这种释放是否与肝素的抗炎和抗氧化作用有关，以及对 MHD 患者动脉硬化的意义有待进一步研究。

[参考文献]

[1] Honda H, Ueda M, Kojima S, et al. Assessment of myeloperoxidase and oxidative α1-antitrypsin in patients on hemodialysis [J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2009, 4 (1): 142-151.

[2] Rudolph V, Rudolph TK, Schopfer FJ, et al. Bivalirudin decreases NO bioavailability by vascular immobilization of myeloperoxidase [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2008, 327 (2): 324-331.

[3] Al-Hweish A, Sultan SS, Mogazi K, et al. Plasma myeloperoxidase, NT-proBNP, and troponin-I in patients on CAPD compared with those on regular hemodialysis [J]. Hemodial Int, 2010, 14 (3): 308-315.

[4] Nicholls SJ, Hazen SL. Myeloperoxidase and cardiovascular disease [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005, 25 (6): 1102-111.

[5] Borawski J, Naumnik B, Rydzewska-Rosolowska A, et al. Myeloperoxidase as a marker of hemodialysis biocompatibility and oxidative stress: the underestimated modifying effects of heparin [J]. Am J Kidney Dis, 2006, 47 (1): 37-41.

[6] Sela S, Shurtz-Swirski R, Cohen-Mazor M, et al. Primed peripheral polymorphonuclear leukocyte: a culprit underlying chronic low-grade inflammation and systemic oxidative stress in chronic kidney disease [J]. J Am Soc Nephrol, 2005, 16: 2431-438.

[7] Scheffer PG, van der Zwan LP, Schindhelm RK, et al. Myeloperoxidase concentrations in EDTA-plasma of healthy subjects are discordant with concentrations in heparin-plasma and serum [J]. Clin Biochem, 2009, 42 (13-14): 1490-492.

[8] Krieter DH, Morgenroth A, Barasinski A, et al. Effects of a polyelectrolyte additive on the selective dialysis membrane permeability for low-molecular-weight proteins [J]. Nephrol Dial Transplant, 2007, 22 (2): 491-499.

[9] Powell AK, Yates EA, Fernig DG, et al. Interactions of heparin/heparan sulfate with proteins: Appraisal of structural factors and experimental approaches [J]. Glycobiology, 2004, 14: 17R-30R.

[10] Liu J, Pedersen LC. Anticoagulant heparan sulfate: structural specificity and biosynthesis [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2007, 74 (2): 263-272.

[11] Nassiri AA, Hakemi MS, Soulati M, et al. Effects of heparin and dalteparin on oxidative stress during hemodialysis in patients with end-stage renal disease [J]. Iran J Kidney Dis, 2009, 3 (3): 162-167.

[12] Baldus S, Rudolph V, Roiss M, et al. Heparins increase endothelial nitric oxide bioavailability by liberating vessel-immobilized myeloperoxidase [J]. Circulation, 2006, 113: 1871.

(此文编辑 文玉珊)