

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.01528

不同血液净化方式对晚期氧化蛋白产物的清除及其对动脉粥样硬化的影响

Different modes of blood purification clear advanced oxidation protein products and influence atherosclerosis

刘玲, 钟玲, 冯利平, 张玲*

重庆医科大学第二临床学院肾内科, 重庆 400010

[摘要] **目的:**观察不同血液净化方式对维持性血液透析(MHD)患者体内晚期氧化蛋白产物(AOPP)的清除,及相应颈动脉内中膜厚度(IMT)和动脉粥样斑块的变化,探讨 AOPP、血液净化方式与动脉粥样硬化之间的关系。**方法:**将 72 例尿毒症患者按不同血液净化方式分为:单纯血液透析(HD)组,血液透析联合血液滤过(HD+HDF)组,血液透析联合连续性肾脏替代治疗(HD+CRRT)组。检测单次 HD、HDF 和 CRRT 治疗对 AOPP 的清除能力,并在 12 个月治疗前后测定 3 组患者血清 AOPP、IL-6、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)水平,及作颈动脉彩色多普勒超声检查,同时设健康对照组。**结果:**HD 组患者血清 AOPP、IL-6、MCP-1、hs-CRP 水平明显高于健康对照组($P < 0.001$);HD+CRRT 组治疗后血清 AOPP 水平显著下降(HD 136.24 vs 212.01 $\mu\text{mol/L}$, $P < 0.001$;CRRT 118.76 vs 208.91 $\mu\text{mol/L}$, $P < 0.001$);治疗 12 个月后各组血液净化前血清 AOPP 水平比较,HD 组升高(由 196.24 $\mu\text{mol/L}$ 升至 264.86 $\mu\text{mol/L}$, $P < 0.01$),HD+HDF 组和 HD+CRRT 组无显著差异;HD+HDF 和 HD+CRRT 治疗的 MHD 患者 12 个月后颈动脉 IMT 低于 HD 治疗组($P < 0.05$),同时粥样硬化斑块的面积小于 HD 治疗组;Pearson 检测显示 MHD 患者血清 AOPP 水平与颈动脉 IMT、动脉粥样斑块面积呈显著正相关($r = 0.79$, $r = 0.67$, P 均 < 0.01)。**结论:**HD 辅以 HDF 和 CRRT 治疗能显著清除 AOPP,改善 MHD 患者动脉粥样硬化的发生及发展。

[关键词] 肾透析;动脉硬化;晚期氧化蛋白产物;氧化应激

[中图分类号] R 459.5 **[文献标志码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2008)12-1528-03

动脉粥样硬化是终末期肾病维持性血液透析(MHD)患者的常见并发症,由其导致的心血管疾病是 MHD 患者的主要死因^[1]。晚期氧化蛋白产物(AOPP)是 Witko-Sarsat 等^[2]于 1996 年在尿毒症患者体内发现的一类尿毒症毒素,并已证实为氧化应激的标志物。杨小兵等^[3]研究显示,AOPP 可能是影响慢性肾脏疾病(CKD)加速动脉粥样硬化的独立危险因素。由于 AOPP 是一组相对分子质量大小不等的蛋白氧化产物(以大相对分子质量为主),不同血液净化治疗对其清除效果有较大差异。本研究采用随机对照试验,观察不同血液净化方式前后 MHD 患者体内 AOPP 水平,并探讨其与动脉粥样硬化的关系。

1 对象和方法

1.1 对象 2006 年 6 月至 2007 年 12 月于我院住院或门诊行血液净化治疗的尿毒症患者 72 例(均依据第 6 版《内科学》诊断标准确诊为慢性肾功能不全尿毒症期),男 38 例,女 34 例,年龄 25~88 岁(中位年龄 63.5 岁),透析时间 3~96 个月(平均 22.9 个月),其中原发病为慢性肾小球肾炎 27 例,高血压性肾损害 18 例,糖尿病肾病 14 例,多囊肾 4 例,慢性间质性肾炎 3 例,梗阻性肾病 2 例,痛风性肾病 2 例,不

明原因 2 例。

根据不同血液净化方式,将患者分为 3 组:(1)单纯血液透析组(HD, $n = 25$),每周行常规血液透析治疗 3 次,每次 4 h,滤过膜采用血仿膜,膜表面积 1.4 m^2 ,透析机为德国贝朗 DIALOG 单泵机;(2)血液透析合并血液滤过组(HD+HDF 组, $n = 30$),在每周行常规血液透析治疗 2 次基础上,加血液透析滤过(HDF)治疗 1 次,采用高通量聚砜膜,膜表面积 1.2 m^2 ,超滤系数 42,透析机为德国贝朗 DIALOG+On line 双泵机或瑞典金宝 AK-200 Ultra 机;(3)血液透析合并连续性肾脏替代治疗组(HD+CRRT, $n = 17$),在每周行常规血液透析治疗 2~3 次基础上,每 2~4 周行连续性肾脏替代治疗(CRRT)1 次,采用日间 CVVH 法,每次 8~12 h,平均 10 h,下机前 2 h 换为 CVVHD(日间连续性静脉-静脉血液滤过透析)模式,选用高通量聚砜膜,膜表面积 1.2 m^2 ,超滤系数 42,透析机为德国贝朗 CRRT 机。所有血液净化治疗均使用碳酸氢盐透析,透析液流量 500 ml/min,普通肝素或低分子肝素抗凝,血流量 220~280 ml/min。3 组病例的性别、年龄、病种和透析时间无统计学差异。

健康对照组(C 组, 25 例):为参加本院门诊体检人员,其中男 13 例,女 12 例,平均年龄(61.24 \pm 12.35)岁,均排除高

[收稿日期] 2008-05-09 **[接受日期]** 2008-07-02

[作者简介] 刘玲,博士,主治医师. E-mail:ll10131@hotmail.com

* 通讯作者(Corresponding author). Tel:023-63713366, E-mail:lindazhang8508@hotmail.com

血压、糖尿病、高脂血症、冠状动脉粥样硬化性心脏病、恶性肿瘤及肝肾疾病。

1.2 标本采集 纳入观察后, HD 组患者于首次 HD 治疗前后分别留取静脉血 5 ml, HD+HDF 组患者于首次 HDF 治疗前后分别留取静脉血 5 ml, HD+CRRT 组患者于首次 CRRT 治疗前后分别留取静脉血 5 ml, 同期作颈动脉彩色多普勒超声, 检测内膜中层厚度(IMT)和粥样硬化斑块面积。12 个月后所有患者再次于血液净化前留取静脉血 5 ml, 并复查颈动脉彩色多普勒超声。健康对照组留取空腹静脉血 5 ml。所有标本均为非抗凝血, 采集后立即置 37℃ 温箱孵育 2 h, 然后离心分离血清, 储存于 -70℃ 冰箱。

1.3 检测方法 AOPP 检测按文献^[4]方法进行。吸取 0.3 ml 氯胺 T 标准品(100 μmol/L)或待测血清, 依次加入 2.7 ml 磷酸钾缓冲液(pH 7.4, 20 mmol/L)、150 μl 碘化钠(1.16 mmol/L), 摇匀后静置 2 min, 再加入 0.3 ml 冰醋酸, 即刻用 751 紫外分光光度计(上海康密实业公司仪器分厂)340 nm 处测光密度值, AOPP 的浓度以氯胺 T 含量表示。

白细胞介素-6(IL-6)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)检测采用 ELISA 法, 试剂盒由美国

ADL 公司提供, 按说明书操作。

颈动脉彩色多普勒超声检测采用 HPsonos5500 型彩色超声多普勒仪, 7 MHz 双深度脉冲探头, 测量颈总动脉远端距分叉处 1 cm 及分叉处的 IMT 值, 局部 IMT 值 > 1.3 mm 定义为斑块^[5]。所有患者检查由专人操作。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 11.0 统计软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 One-way ANOVA 检验。单因素相关分析用 Pearson 和 Spearman 直线回归分析。

2 结果

2.1 AOPP、IL-6、MCP-1、hs-CRP 的水平及治疗前后颈动脉彩色多普勒超声指标 血液净化治疗前 MHD 患者血清 AOPP、IL-6、MCP-1、hs-CRP 的水平明显高于健康对照者 ($P < 0.01$), 但各治疗组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。治疗 12 个月后, HD 组 IMT 值增高(但 $P > 0.05$), 动脉粥样硬化斑块面积扩大 ($P < 0.05$); 而 HD+HDF 组和 HD+CRRT 组动脉粥样硬化情况较前无统计学差异。具体数据见表 1。

表 1 3 组患者及健康对照组的血清学指标水平和超声结果

分组	例数	AOPP $c_B/(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	IL-6 $\rho_B/(\text{pg} \cdot \text{ml}^{-1})$	MCP-1 $\rho_B/(\text{pg} \cdot \text{ml}^{-1})$	hs-CRP $\rho_B/(\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1})$	IMT l/mm		斑块面积 A/mm ²	
						治疗前	治疗 12 个月后	治疗前	治疗 12 个月后
治疗组	72	205.80± 115.64**	89.97± 65.26**	292.76± 78.22**	7.66± 7.37**	0.92± 0.22**	0.97± 0.20	—	—
HD	25	196.24± 95.36	88.15± 60.43	281.77± 45.36	7.49± 7.04	0.92± 0.23	1.02± 0.25	21.84± 13.06	32.16± 18.04△△
HD+HDF	30	212.01± 104.31	90.05± 57.59	302.16± 76.85	7.63± 6.87	0.93± 0.20	0.94± 0.22	25.56± 15.37	26.77± 14.86
HD+CRRT	17	208.91± 110.23	92.51± 63.28	292.33± 62.14	7.98± 7.15	0.92± 0.28	0.93± 0.26	26.79± 11.74	26.66± 10.80
对照组	25	98.25± 35.97	38.86± 15.13	225.47± 21.51	3.46± 1.57	0.62± 0.33	—	—	—

** $P < 0.01$ 与对照组比较; △△ $P < 0.01$ 与治疗前比较。粥样硬化斑块面积为该组患者斑块面积之和, 再除以同组例数。HD: 血液透析; HDF: 血液滤过; CRRT: 连续性肾脏透析治疗; AOPP: 晚期氧化蛋白产物; MCP-1: 单核细胞趋化蛋白-1; hs-CRP: 高敏 C 反应蛋白

2.2 不同方式血液净化治疗前后 AOPP 水平 3 种血液净化方式单次治疗后 AOPP 的水平均有下降, HDF ($P < 0.001$) 和 CRRT ($P < 0.01$) 治疗前后比较有显著差异, 而 HD

治疗前后无统计学差异; 12 个月后 HD 组患者血液净化前循环 AOPP 水平升高 ($P < 0.01$), 而 HD+HDF 组和 HD+CRRT 组患者 AOPP 水平无明显改变。具体数据见表 2。

表 2 3 种血液净化治疗前后 AOPP 水平

分组	例数	[$\bar{x} \pm s, c_B/(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$]		
		治疗前	单次治疗后	治疗 12 个月后
HD	25	196.24±95.36	167.08±68.63	264.86±103.24**
HD+HDF	30	212.01±104.31	136.24±85.46**	215.19±88.52
HD+CRRT	17	208.91±110.23	118.76±91.32**	210.87±95.56

** $P < 0.01$ 与治疗前比较

2.3 单因素相关分析 MHD 患者血清 AOPP 水平与颈动脉 IMT 值、粥样硬化斑块面积呈较强正相关 ($r = 0.79, P < 0.001$; $r = 0.67, P < 0.01$)。

3 讨论

心血管疾病(CVD)是 MHD 患者最常见的并发症,

Cheung 等^[6]报道其发病率高达 80%,病死率是一般人群的 10~20 倍。动脉粥样硬化(AS)在 CVD 的发生发展中起主要作用,大量研究认为,炎症贯穿了 AS 的整个发展过程,二者联系紧密。因此对于 AS 非传统危险因素的研究是目前一大热点,如氧化应激、微炎症状态、细胞因子的异常表达等。AOPP 是一组蛋白质被次氯酸氧化修饰的产物,其相对分子质量大小不等,但大多较大(60 000~600 000)。近年来研究发现,作为氧化应激蛋白氧化的产物,AOPP 不仅可引起中性粒细胞和单核细胞的呼吸链爆发,还可进一步激活单核细胞产生活性氧(ROS)和炎性细胞因子,是一种既具有促炎症活性、也有诱导或加重氧化应激作用的尿毒症毒素^[3,8-10]。目前国内关于血液净化清除 AOPP 方面研究的报道尚较少。

本研究结果显示,MHD 患者血清 AOPP 水平显著高于健康对照者,提示患者体内有 AOPP 滞留,与文献报道一致。同时发现患者血清 IL-6、MCP-1、hs-CRP 的水平明显高于健康对照者,说明 MHD 患者体内存在炎性细胞因子、炎性蛋白与氧化应激产物共同升高的状态。近年来国内外较多研究已证实,尿症患者体内的微炎症和初始氧化应激状态,与多个代谢机制异常,导致血液循环中的 IL-1、IL-6、TNF- α 等炎性细胞因子和脂质过氧化物丙二醛水平明显升高有关^[7]。进一步研究显示 AOPP 水平与颈动脉 IMT 值、粥样硬化斑块面积呈正相关,提示 AOPP 可能参与动脉硬化形成,其机制目前尚不清楚。推测可能与加强炎症反应和加重氧化应激有关。

据我们观察,3 种血液净化治疗后 AOPP 水平均有下降,其中 HDF 和 CRRT 治疗前后比较有统计学差异,而 HD 治疗前后无统计学差异。血液净化是清除尿毒症毒素维持患者生命的重要手段。20 世纪 80 年代以前血液净化的模式以低通量(Low-Flux)HD 治疗为主,常规 HD 主要清除小分子毒素,故对 AOPP 清除能力差。近 20 余年,血液透析机和透析器膜材料的研究取得了长足发展,出现了高通量透析(High-Flux),如联机血液透析滤过(On Line-HDF)、CRRT 等。HDF 在 HD 的基础上增加了对流作用,加强了大中分子毒素的清除,而 CRRT 也主要以对流方式清除溶质,在清除大分子毒素和炎症介质方面占有优势^[11],并且 HDF 和 CRRT 治疗均采用高通量聚砜膜透析器,该滤器生物相容性好、超滤系数高、孔径较大,其较高的超滤率有利于蛋白质沉积于透析膜表面,同时聚砜膜具有更强吸附蛋白的作用,故对 AOPP 清除效果明显优于 HD。

我们发现随着透析龄延长,AOPP 水平有上升趋势,其中 HD 组升高明显($P<0.01$),这可能与血液透析本身可加重氧化应激,如透析膜生物不相容性,抗氧化物质丢失,透析液微生物、内毒素污染等有关,故氧化应激加速 AOPP 产生,而 AOPP 滞留进一步促进氧化应激,形成恶性循环。经 3 种血液净化方式治疗 12 个月后,HD 组血清 AOPP 水平升高

($P<0.01$),动脉粥样硬化加重($P<0.01$),而 HD+HDF 组和 HD+CRRT 组动脉粥样硬化情况较前无显著差异,提示有效清除 MHD 患者体内 AOPP 可能有利于延缓 AS 进展。但由于本研究临床观察期仅 1 年,且病例数不够多,尚需扩大病例数并延长随访时间,才能得出更有说服力的结果。并且由于 AOPP 的检测方法较繁琐,目前尚不能作为临床常规检查指标,需要不断完善。

[参考文献]

- [1] Foley R N,Parfrey P S. Cardiovascular disease and mortality in ESRD[J]. J Nephrol,1998,11:239-245.
- [2] Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillère-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen A T, Zingraff J, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia [J]. Kidney Int. ,1996,49:1304-1313.
- [3] 杨小兵,侯凡凡,武强,周华,刘郑荣,杨燕,等.慢性肾脏病患者晚期氧化蛋白产物血症及其与动脉粥样硬化的关系[J].中华内科杂志,2005,44:342-346.
- [4] Witko-Sarsat V, Friedlander M, Nguyen-Khoa T, Capeillère-Blandin C, Nguyen A T, Canteloup S, et al. Advanced oxidation protein products as novel mediators of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure[J]. J Immunol,1998,161:2524-2532.
- [5] 李馨,高云华.动脉粥样硬化的超声检测及其应用前景[J].中国医学影像学杂志,2004,12:56-57.
- [6] Cheung A K, Sarnak M J, Yan G, Berkoben M, Heyka R, Kaufman A, et al. Cardiac diseases in maintenance hemodialysis patients: results of the HEMO study [J]. Kidney Int, 2004, 65: 2380-2389.
- [7] Samouilidou E C, Grapsa E J, Kakavas I, Lagouranis A, Agrogiannis B. Oxidative stress markers and C-reactive protein in end-stage renal failure patients on dialysis [J]. Int Urol Nephrol, 2003, 35: 393-397.
- [8] 吴志贤,薛耀明,李晨钟,关美萍.糖尿病肾病患者 AOPP 与 SOD, GPx, NPT 的关系 [J]. 中南大学学报:医学版, 2005, 30: 704-707.
- [9] Witko-Sarsat V, Gausson V, Nguyen A T, Touam M, Drüeke T, Santangelo F, et al. AOPP-induced activation of human neutrophil and monocyte oxidative metabolism: a potential target for N-acetylcysteine treatment in dialysis patients [J]. Kidney Int, 2003, 64: 82-91.
- [10] 张志辉,刘尚喜,侯凡凡,田建伟,王力,刘志强,等.晚期氧化蛋白产物通过活性氧诱导单核细胞分泌肿瘤坏死因子 [J]. 第一军医大学学报, 2005, 25: 493-497.
- [11] 季大玺,龚德华.应重视连续性肾脏替代治疗在危重病的应用 [J]. 中国血液净化, 2007, 6: 581-583.

[本文编辑] 尹茶