

· 论 著 ·

不同标本类型间髓过氧化物酶水平的检测分析*

王永博¹, 钱 净^{2△}, 陈慧琳³

(1. 昆明医科大学临床检验诊断学专业硕士研究生, 昆明 650011; 2. 昆明医科大学附属甘美医院检验科, 昆明 650011; 3. 云南省昆明市盘龙区妇幼保健中心 650011)

摘要:目的 探讨不同标本类型间髓过氧化物酶(MPO)检测结果的差异性、抗凝剂的选择及检测结果的比对。方法 同时采集 165 例健康体检人群含乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K2)、肝素钠两种抗凝剂的血浆标本及不含抗凝剂的普通生化管的血清标本, 分别检测 3 种标本类型中 MPO 水平, 并对各组检测结果进行统计学分析。结果 同一例体检者不同抗凝剂的血浆标本间及与不含抗凝剂的血清标本间 MPO 检测结果差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 不同标本类型对血液标本中 MPO 水平检测结果差异较大, 建议各个实验室检测时根据不同抗凝剂制订相应的参考区间; 由于 EDTA-K2 抗凝血浆不受体外白细胞中 MPO 释放的影响, 推荐采用 EDTA-K2 抗凝血作为检测 MPO 水平的首选。

关键词:髓过氧化物酶; 抗凝剂; 标本类型; 参考区间

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.23.001

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)23-3246-03

Detection and analysis of myeloperoxidase level in different types of samples*

WANG Yongbo¹, QIAN Jing^{2△}, CHEN Huilin³

(1. Master Postgraduate Student of Clinical Laboratory Diagnosis, Kunming Medical University, Kunming, Yunnan 650011, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Ganmei Hospital, Kunming Medical University, Kunming, Yunnan 650011, China; 3. Center of Maternal and Child Health Care of Panlong District, Kunming, Yunnan 650011, China)

Abstract: Objective To explore the difference of myeloperoxidase(MPO) detection results among different types of samples, anticoagulant selection and comparison of detection results. **Methods** The plasma samples containing EDTA-K2 or heparin and serum samples of common biochemical tube without containing anticoagulant were collected from 165 persons undergoing healthy physical examination. The MPO level in 3 kinds of sample was detected. Then the detection results in each group were performed the statistical analysis. **Results** The MPO detection results had statistical difference between plasma samples with different anticoagulants and between plasma samples with different anticoagulants and serum sample without anticoagulant in the same person($P < 0.05$). **Conclusion** Different samples types have larger difference in MPO detection results. It is suggested that each laboratory should formulate the corresponding reference intervals according to different anticoagulants; because EDTA-K2 anticoagulation plasma is not affected by the release of MPO from in vitro leukocytes, it is recommended to adopt EDTA-K2 anticoagulation blood as the first selected of MPO level detection.

Key words: myeloperoxidase; anticoagulant; types of samples; reference intervals

冠心病已成为现代社会病死率最高的疾病之一, 而心肌梗死又是冠心病人群猝死率最高的病因^[1]。髓过氧化物酶(MPO)作为一种重要的含铁溶酶体, 存在于髓系细胞(主要是中性粒细胞和单核细胞)的嗜苯胺蓝颗粒中, 是髓细胞的特异性标志, 是过氧化物酶家族中重要的成员。当机体出现炎症反应时, MPO 迅速从中性粒细胞中释放到循环系统中, 参与机体的炎症反应^[2]。有研究显示, 在确诊冠心病患者粥样斑块中, 有大量具有 MPO 活性的中性粒细胞、巨噬细胞等浸润, 提示 MPO 对粥样斑块的形成及演变具有重要的作用^[3]。Bonomin 等^[4-5]研究表明, MPO 通过促进脂质等蛋白质的过氧化反应, 来促进炎症反应, 参与动脉粥样硬化过程的发生、发展。但目前国内关于 MPO 的实验室检测尚未推广, 尤其是 MPO 检测时不同标本类型的选择更是没有统一标准, 本文就不同标本类

型间 MPO 的检测差异及抗凝剂的选择进行探讨, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2015 年 3~4 月在昆明医科大学附属甘美医院健康体检者 142 例, 其中男 72 例、女 70 例, 年龄 21~87 岁, 平均 56 岁。将 142 例研究对象按年龄进行分组, 分为小于 30 岁、30~<40 岁、40~<50 岁、50~<60 岁、60~<70 岁、≥70 岁共 6 组。研究对象纳入标准: (1) 无任何影响检测结果的生理指征; (2) 未服用药物或进行饮食治疗; (3) 发育、精神正常, 无心血管及脏器的器质性疾病; (4) 3 个月内无输血和手术史; (5) 女性不在月经期、妊娠期或哺乳期; (6) 无酗酒史。排除标准: (1) 急、慢性感染性疾病; (2) 肝肾功能不全; (3) 骨髓移植术; (4) 风湿性瓣膜性心脏病; (5) 严重创伤或肿瘤; (6) 免疫性

* 基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划)资助项目(2011AA02A111)。

作者简介: 王永博, 男, 检验师, 主要从事临床生物化学检验工作。△ 通讯作者, E-mail: rmyyqj@163.com。

疾病及其他影响炎症指标的疾。

1.2 仪器与试剂 采用 Olympus AU5421 全自动生化分析仪检测标本中 MPO 水平,试剂由北京九强生物技术股份有限公司提供的胶乳增强免疫比浊法检测 MPO 试剂盒。校准品批号 15-0424,质控品批号 15-0424,试剂批号 150424,均由厂家提供。

1.3 方法

1.3.1 质量控制 首先对检测系统进行方法学验证,性能验证通过后对给定的校准品校准,然后对提供的配套质控品进行测定,保证配套质控品的测量结果必须在靶值范围内,以保证后续实验结果的可靠性。

1.3.2 标本的收集及测量 将符合入选和排除标准的健康体检者血清标本采集后 2 h 内,室温下 4 000 r/min,离心 10 min,分离出血清及血浆标本,并做好标记分装 EP 管,置于 -80 °C 冰箱保存以备集中检测。待标本收集完成后,集中检测,来评价不同标本类型间 MPO 水平检测结果的差异性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS16.0 统计软件进行数据处理。数据分布的正态性检验采用 Kolmogorov-Smirnow 检验,组间比较用非参数秩和检验,其中不同年龄组 MPO(多组间)比较采用 Kruskal-Wallis H 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各年龄组中 3 种标本类型的 MPO 检测结果 对 3 种标本类型的标本 MPO 检测值进行正态性检验(Kolmogorov-Smirnow 检验),乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K2)抗凝血、血清与肝素锂抗凝血正态性检验结果 Z 分别为 2.954、1.328、1.364,均 $P < 0.05$,数据均为偏态分布资料。各年龄组中 3 种标本类型检测的 MPO 水平结果差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 不同性别间 3 种标本类型的 MPO 水平检测结果 不同性别间 3 种标本的 MPO 水平比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 各年龄组中 3 种标本类型的 MPO 检测结果(ng/mL)

组别	n	EDTA-K2 抗凝血浆			血清			肝素抗凝血浆		
		中位数	$P_{2.5}$	$P_{97.5}$	中位数	$P_{2.5}$	$P_{97.5}$	中位数	$P_{2.5}$	$P_{97.5}$
<30 岁	11	82.5	53.7	517.6	325	195.1	756.6	248	153.0	445.9
30~<40 岁	21	88.0	54.6	747.6	456	271.6	905.0	233	132.8	486.0
40~<50 岁	22	77.0	41.8	141.2	358	122.4	703.0	240	153.2	395.4
50~<60 岁	21	82.0	38.0	382.5	371	165.5	790.0	213	120.0	503.0
60~<70 岁	31	89.0	42.6	314.8	381	170.5	840.9	229	85.2	579.3
≥70 岁	35	82.5	49.3	576.2	400	110.9	769.7	228	109.3	602.5
Z			0.348			1.001			0.914	
P			0.998			0.269			0.374	

表 2 3 种不同标本类型的不同性别的 MPO 检测结果(ng/mL)

性别	n	EDTA-K2 抗凝血浆			血清			肝素抗凝血浆		
		中位数	$P_{2.5}$	$P_{97.5}$	中位数	$P_{2.5}$	$P_{97.5}$	中位数	$P_{2.5}$	$P_{97.5}$
男	72	95.5	44	579.5	425	165.3	787.4	253	109.1	598.7
女	70	75.0	40.5	516.8	346	124.9	840.9	200	117.6	434.3
Z			-2.516			-1.961			-2.663	
P			0.012			0.049			0.008	

3 讨 论

MPO 是由活化的中性粒细胞、巨噬细胞、单核细胞等在机体炎症过程中分泌到细胞外液的一种含铁血红素蛋白酶。而炎症在冠心病等心血管疾病的发生、发展过程中起到了十分重要的作用。Anatoliotakis 等^[6]研究表明,MPO 作为炎症反应的标志物可以促进基质蛋白聚糖的降解,并最终促使动脉粥样硬化斑块失去稳定。也有学者发现在急性心肌梗死患者外周血中 MPO 水平也明显升高,提示有助于早期诊断急性心肌梗死^[7]。还有研究发现,在急性心肌梗死患者胸痛症状发作后 2 h 内 MPO 就已明显升高,并可以被实验室检测到,而被临床广泛应用于判断心肌细胞受损的 cTNT 需要在心梗发生后 3~6

h 才升高^[8-9]。MPO 作为一项炎症指标,目前已被认为是稳定性冠心病以及急性心肌损伤最有潜力的心肌生物标志物之一,是未来发生心肌梗死的独立影响因素^[10]。

鉴于 MPO 的检测对临床心血管疾病的重要意义,在新研制试剂的试验方法时,实验室能够真实地反映患者血液中 MPO 浓度水平显得尤为重要。本实验是在国家高技术研究发展计划(863 计划)课题支持下,针对北京九强生物技术股份有限公司研制的胶乳增强免疫比浊法检测血液中 MPO 水平的试剂盒展开研究的。选择不同种类标本类型进行研究,以期为临床选择何种标本类型提供实验室依据。本研究结果显示,3 种不同类型标本 MPO 水平差异有统计学意义($P < 0.05$)。各

年龄组间 3 种标本类型的 MPO 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 此结论与 Sawicki 等^[11] 研究发现一致。且含抗凝剂的两组标本 MPO 水平明显低于不含抗凝剂组, 考虑可能原因有 (1) 不含抗凝剂的普通生化管组血液凝固时, 存在于多形核中性粒细胞中的 MPO 释放到血清中; (2) 白细胞、血小板等聚集时释放出部分 MPO 到血清中; 造成血清检测结果明显高于血浆检测结果。这与 Shih 等^[12] 的研究一致; 而两抗凝剂组结果也存在差异, 肝素抗凝剂组 MPO 水平明显高于 EDTA-K2 抗凝剂组, 考虑可能为 (1) 过量的肝素抗凝剂会引起白细胞聚集, 导致中性粒细胞中 MPO 的释放; (2) 肝素刺激白细胞脱颗粒和血液凝固过程引起; 有研究显示, 肝素抗凝血浆保存在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下相对稳定, 但在室温下保存 2 h 将会导致 MPO 水平增加 4 倍^[13]。另有研究表明, 肝素能够依赖性地降低多形核白细胞的百分比和抑制他们的呼吸 (以减少 MPO 从胞内的嗜苯胺蓝颗粒中释放)^[14]。Scheffer 等^[15] 研究显示, MPO 水平在 EDTA-K2 抗凝管中, 室温下在上机检测前 2 h 不随时间而改变。结合以上研究观点及本研究结果, 考虑由于 EDTA-K2 抗凝血浆不受体外白细胞 MPO 释放的影响, 可以准确反映循环血液中 MPO 水平, 建议采用 EDTA-K2 抗凝血浆来检测 MPO 水平。

本研究存在的问题: (1) 未对标本进行及时检测, 而是保存后集中检测, 可能会对实验结果造成一定的影响; (2) 研究对象均是空腹血清标本, 欲知与非空腹血清标本之间检测是否有差别, 仍需进一步研究证明; (3) 本研究标本量不够大, 尚需扩大标本量进一步研究证明。同时实验室必须根据自身实际情况选择合适的标本类型并建立适合的参考区间, 以便更好地服务临床、更好地为患者提供有价值的检测结果。

参考文献

- [1] Khand A, Fisher M, Jones J, et al. The collateral circulation of the heart in coronary total arterial occlusions in man; systematic review of assessment and pathophysiology[J]. *Am Heart J*, 2013, 166(6): 941-952.
- [2] Tang WH, Wu Y, Nicholls SJ, et al. Plasma myeloperoxidase predicts incident cardiovascular risks in stable patients undergoing medical management for coronary artery disease[J]. *Clin Chem*, 2011, 57(1): 33-39.
- [3] Ferrante G, Nakano M, Prati F, et al. High levels of systemic myeloperoxidase are associated with coronary plaque erosion in patients with acute coronary syndromes: a clinical-pathological study [J]. *Circulation*, 2010, 122(24): 2505-2513.
- [4] Bonomini F, Tengattini S, Fabiano A, et al. Atherosclerosis and oxidative stress[J]. *Histol Histopathol*, 2008, 23(3): 381-390.
- [5] Malle EJ, Furtmiilhr PG, SaththW et al. Myeloperoxidase: a target for new drug development? [J]. *Br J Pharmacol*, 2007, 182(6): 838-854.
- [6] Anatoliotakis N, Defkreas S, Bouras G, et al. Myeloperoxidase: expressing inflammation and oxidative stress in cardiovascular disease [J]. *Curr Top Med Chem*, 2013, 13(2): 115-138.
- [7] Kataoka Y, Shao M, Wolski K, et al. Myeloperoxidase levels predict accelerated progression of coronary atherosclerosis in diabetic patients: insights from intravascular ultrasound[J]. *Atherosclerosis*, 2014, 232(2): 377-383.
- [8] Loria V, Dato I, Graziani F, et al. Myeloperoxidase: a new biomarker of inflammation in ischemic heart disease and acute coronary syndromes[J]. *Mediators Inflamm*, 2008, 2008(1): 100-108.
- [9] Goldmann BU, Rudolph V, Rudolph TK, et al. Neutrophil activation precedes myocardial injury in patients with acute myocardial infarction[J]. *Free Radic Biol Med*, 2009, 47(1): 79-83.
- [10] 周玉杰, 韩红亚. 心肌生物标志物的应用前景与挑战[J]. *中华检验医学杂志*, 2013, 36(9): 769-772.
- [11] Sawicki M, Sypniewska G, Kozinski M, et al. Diagnostic efficacy of myeloperoxidase for the detection of acute coronary syndromes[J]. *Eur J Clin Invest*, 2011, 41(6): 667-671.
- [12] Shih J, Datwyler SA, Hsu SC, et al. Effect of collection tube type and preanalytical handling on myeloperoxidase concentration[J]. *Clin Chem*, 2008, 54(6): 1076-1079.
- [13] Schindhelm RK, Alsema M, Diamant M, et al. Comparison of two consecutive fat-rich and carbohydrate-rich meals on postprandial myeloperoxidase response in women with and without type 2 diabetes mellitus[J]. *Metabolism*, 2008, 57(2): 262-267.
- [14] Borawski J, Naumnik B, Mysliwiec M. Heparin, Myeloperoxidase, and Atherosclerosis: A New Focus on an Old Drug [J]. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2007, 13(2): 219-220.
- [15] Scheffer PG, Zwan LD, 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): 1490-1492.

(收稿日期: 2016-03-06 修回日期: 2016-05-24)