

· 临床研究 ·

OSAHS 患者 CPAP 治疗前后 MMP-9 和 FFA 水平变化

冯晓辉¹, 肖旭平¹, 王继华¹, 侯晓芳², 刘 彬³

(1. 湖南师范大学第一附属医院耳鼻咽喉科, 湖南长沙 410005; 2. 湖南省怀化市第一人民医院耳鼻咽喉科, 湖南怀化 418000; 3. 湖南省湘潭市中心医院耳鼻咽喉科, 湖南湘潭 411100)

摘要: **目的** 探讨 OSAHS 治疗前后 MMP-9、FFA 的变化及呼吸紊乱指数、最低血氧饱和度及血脂的相关性, 为研究 OSAHS 病情程度及与心血管疾病、内分泌疾病的关联提供相关依据。**方法** 对 50 例符合纳入条件的重度 OSAHS 患者在进行 CPAP 治疗前及治疗后 6 个月 PSG 监测并抽取清晨空腹血清测定 MMP-9、FFA 及临床常规血脂四项 (TG、TCH、HDL、LDL), 并做相关比较。**结果** ① OSAHS 患者治疗后呼吸紊乱指数 (AHI) 下降, 与术前比较有统计学意义 ($P < 0.01$), 最低血氧饱和度 (SO_2) 上升, 与术前比较有统计学意义 ($P < 0.05$)。② OSAHS 患者治疗后 MMP-9 水平较治疗前有统计学意义 ($P < 0.01$)。FFA 水平较治疗前有统计学意义 ($P < 0.01$)。③ OSAHS 患者治疗后 TG、TCH、LDL 值下降, HDL 值上升, 较术前均有统计学意义 ($P < 0.01$)。**结论** 应用持续正压通气 (continuous positive airway pressure, CPAP) 治疗 OSAHS 可以降低 MMP-9 与 FFA 的水平, 有效降低 OSAHS 所致炎症反应及心血管疾病的发生。

关键词: 睡眠呼吸暂停低通气综合征; 基质金属蛋白酶-9; 游离脂肪酸; 持续气道正压通气治疗

中图分类号: R766.4

文献标识码: A

文章编号: 1007-1520(2011)04-0277-06

Changes of MMP-9 and FFA levels in OSAHS patients before and after CPAP treatment

FENG Xiao-hui, XIAO Xu-ping, WANG Ji-hua, et al.

(Department of Otolaryngology, the First Affiliated Hospital, Hunan Normal University, Changsha 410005, China)

Abstract: **Objective** To study the relativity between the serum levels of matrix metalloproteinase (MMP-9), FFA and apnea-hypopnea index (AHI), minimum oxygen saturation (SO_2), blood lipids in OSAHS patients before and after continuous positive airway pressure (CPAP) treatment to present evidences for assessment of OSAHS and its relativity with cardiovascular and endocrine diseases. **Methods** Before CPAP treatment, PSG was monitored and the serum levels of MMP-9, FFA and four lipids (TG, TCH, HDL, LDL) were determined in 50 patients with severe OSAHS. The above-mentioned parameters were retested 6 months after treatment and compared with those before treatment. **Results** After treatment, the AHI got reduced ($P < 0.01$) and SO_2 increased ($P < 0.05$). The serum levels of MMP-9 and FFA after treatment (88.07 ± 13.57 ug/ml, 0.71 ± 0.22 mmol/l) were significantly lowered than those before treatment (123.09 ± 39.03 ug/ml, 0.87 ± 0.23 mmol/l) ($P < 0.01$) respectively. Serum levels of TG, TCH, LDL after treatment were

基金项目:长沙市科技计划项目(k0902221-31)。

作者简介:冯晓辉,男,主任医师。

通讯作者:刘 彬,Email:fengxiaohui8@yahoo.com.cn.

also lower than those before treatment ($P < 0.01$) while that of HDL got increased. **Conclusion** CPAP treatment can reduce serum levels of MMP-9 and FFA in OSAHS patients, therefore effectively reduce OSAHS-induced inflammatory reaction and the incidence of cardiovascular disease.

Key words: Obstructive sleep apnea hypopnea syndrome; Matrix metalloproteinase-9; Free fatty acid; Continuous positive pressure airway ventilation

阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征 (obstructive sleep apnea and hypopnea syndrome, OSAHS) 是一种常见的睡眠呼吸障碍性疾病。引起 OSAHS 主要原因是由于上气道解剖结构狭窄、阻力增加等导致咽腔与睡眠相关的腭肌收缩能力丧失。睡眠中反复发生上气道塌陷, 咽腔横截面积减少从而导致间歇性低氧和高碳酸血症形成, 导致神经内分泌紊乱及血液流变学改变。OSAHS 在睡眠过程中反复低氧再氧合过程与临床上缺血/再灌注损伤极其类似, 而缺血/再灌注可导致活性氧大量形成氧化应激状态^[1], 诱发各种炎症因子异常表达。基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinase, MMP-9) 可能是介导 OSAHS 心血管损害重要的炎症蛋白。国内外学者在近年通过对 OSAHS 的研究也已经证实了 MMP-9 与 OSAHS 的缺氧特点有直接的联系^[2]。同时 MMP-9 异常表达, 胰岛素抵抗 (IR) 及脂质代谢紊乱与心血管疾病密切相关。血浆游离脂肪酸 (free fatty acid, FFA) 是指非脂化的脂肪酸, FFA 水平明显升高是胰岛素抵抗、胰岛素功能不足的重要因素和中心环节^[3]。但是 FFA 参与血脂血糖代谢异常及心血管疾病的机制比较复杂, 有待进一步的研究和探讨。两者在 OSAHS 后高血压、高血脂等并发症的发生和发展中, 均占重要的地位, 及其机制比较复杂, 有待进一步探研。本研究通过对 OSAHS 患者治疗前后 MMP-9、FFA 的水平变化, 为其相关研究提供临床依据。

1 对象与方法

1.1 对象分组

选取 2008 年 4 月 ~ 2009 年 8 月湖南师范大学第一附属医院耳鼻咽喉头颈外科住院男性重度 OSAHS 患者 50 例, 分治疗前组和治疗后组。所选患者均行 PSG 监测, 并

依照 2009 年 2 月《中华耳鼻咽喉头颈外科分会咽喉会组》制定的诊断依据和病情程度分级标准, 即睡眠呼吸暂停低通气指数 > 30 次/h 和最低血氧饱和度 $< 65\%$ 指标诊断。同时排除急慢性感染、肝纤维化、恶性肿瘤、严重肝肾功能不全, 创伤和手术, 并排除内分泌和血管疾病因素所致的继发性高血脂、高血压及其他重要脏器疾病者, 并排除术前曾进行过相关内科治疗者。其体重指数和年龄无统计学上差异 ($P > 0.05$)。50 例患者平均年龄 (42.12 ± 7.22) 岁, 体重指数 (BMI) 平均为 (28.62 ± 3.63) kg/m^2 。所有入选对象鼻通气良好, 颅颌面发育良好, 咽、舌腭弓、悬雍垂松弛、肥厚; Müller 试验、CT 成像测量证实上气道软腭后区、悬雍垂区狭窄。入选者皆给予持续气道正压 (Continuous positive airway pressure, CPAP) 治疗。并在治疗前及治疗后 6 个月行 PSG 监测和抽空腹血清查 MMP-9、FFA 及血脂 4 项。

1.2 血清 FFA、MMP-9 和血脂四项的测定

受试者于 CPAP (每夜 CPAP 治疗 7 h 持续 6 个月不间断, 治疗仪采用 CURATIVE 福通 ST-33 双水平无创呼吸机, CPAP 通气模式, IPAP 吸气压力 4 ~ 33 cmH_2O , EPAP 呼气压力 4 ~ 20 cmH_2O , CPAP 4 ~ 20 cmH_2O , 呼吸频率 5 ~ 50 次/min) 治疗前及治疗 6 个月后, 禁食 12 h 后, 于次日清晨 7 时抽取肘前静脉血 3 ml 3 份, 室温放置 30 min 使其凝固, 然后 1000 r/min, 离心 10 min, 吸取血清。其中 1 份采用氧化酶法测定血清总胆固醇 (TC)、甘油三脂 (TG)、高密度脂蛋白 (HDL), LDL 由 Friedwald (mg/dl) 公式求出: $\text{LDL} = \text{TC} - \text{HDL} - \text{TG}/5$ 计算。1 份采用比色法测定 FFA, 由专人在 24 h 之内操作, 标本 -20°C 存放, 人游离脂肪酸比色法试剂系英国北爱尔兰 RANDOX Laboratories 公司生产; 另 1 份放入 -75°C 冰箱冻存, 统一用酶

联免疫分析技术测定血清MMP-9,人MMP-9 ELISA试剂系美国Cell signaling公司生产。

1.3 统计学方法

应用SPSS16.0统计软件对实验数据进行统计分析。对治疗前后一般临床资料及常规血脂四项进行配对 t 检验;对治疗前后MMP-9和FFA进行配对 t 检验;MMP-9和FFA与AHI、LSPO₂及血脂四项的关系,采用多元回归分析;FFA与MMP-9关系采用Pearson直线相关分析。 $P < 0.05$ 为有统计

学意义。

2 结果

2.1 实验室检测结果

OSAHS患者呼吸紊乱指数(AHI)最低血氧饱和度(LSPO₂)基质金属蛋白酶P-9(MMP-9)游离脂肪酸(FFA)血脂四项(TG/TC/HDL/LDL)治疗后与治疗前比较差异($P < 0.01$)有统计学意义(表1,2)。

表1 AHI、LSPO₂、MMP-9及FFA在治疗前与治疗6个月比较($\bar{x} \pm s$)

分组	例数	AHI(次/h)	LSPO ₂ (%)	MMP-9($\mu\text{g/ml}$)	FFA(mmol/l)	BMI(kg/m^2)
治疗前	50	56.70 \pm 11.81	58.02 \pm 14.42	123.09 \pm 39.03	0.87 \pm 0.23	28.62 \pm 3.63
治疗后	50	8.01 \pm 3.73	89.28 \pm 2.42	88.07 \pm 13.57	0.71 \pm 0.22	27.24 \pm 3.51
t 值		39.618	-16.247	7.788	6.015	0.367
P 值		<0.01	<0.05	<0.01	<0.01	>0.05

表2 治疗前与治疗6个月比较血脂四项(TG/TC/HDL/LDL)($\bar{x} \pm s$)

分组	例数	TG	TC	HDL	LDL
治疗前	50	2.88 \pm 1.61	5.54 \pm 1.06	0.92 \pm 0.32	4.39 \pm 2.10
治疗后	50	1.87 \pm 1.02	4.41 \pm 0.93	1.125 \pm 0.24	2.98 \pm 0.56
t 值		6.967	6.747	-7.766	9.935
P 值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

2.2 MMP-9、FFA与AHI、LSPO₂及血脂4项的相关性

相关分析显示OSAHS患者中MMP-9与

AHI、TG呈正相关,MMP-9与LSPO₂、HDL呈负相关;FFA与AHI、TG呈正相关,FFA与LSPO₂、HDL呈负相关(表3)。

表3 MMP-9、FFA与AHI、LSPO₂及血脂4项的相关性比较

	AHI		LSPO ₂		TG		TC		HDL		LDL	
	r	P	r	P	r	P	r	P	r	P	r	P
MMP-9	0.55	0.01	-0.58	0.01	0.46	0.00	0.23	0.47	-0.26	0.30	0.15	0.13
FFA	0.45	0.01	-0.51	0.01	0.64	0.00	0.20	0.78	-0.38	0.00	0.50	0.15

2.3 FFA和MMP-9相关性

将FFA和MMP-9的浓度做直线相关分析,发现两者之间有直线关系,并呈正相关。Pearson相关系数=0.641, $P < 0.01$ 。

FFA(X)对MMP-9(Y)的回归方程为: $\hat{Y} = 26.860 + 110.534X$ 。经 F 检验, $F = 33.401$, $P = 0.000$;经 t 检验, $t = 5.779$, $P = 0.000$,见图1。

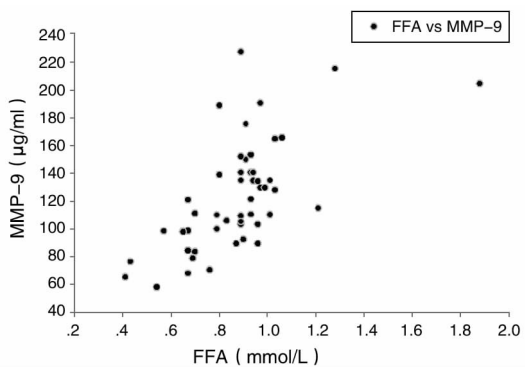


图 1 FFA 和 MMP-9 的浓度直线相关性分析

3 讨论

阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征 (OSAHS) 是一个普遍存在的现象,在人群中的发生率可达 5% ~ 15%^[4],据流行病学调查,未经治疗 OSAHS 患者中有 23.82% 合并有缺血性心脏病。且与心血管疾病的发生率和病死率密切相关。OSAHS 主要的病理生理过程在睡眠过程中由于气道生理的狭窄,如咽部肌肉(包括额舌肌)强度降低,而引起的上呼吸道非正常的狭窄或者闭塞,导致反复缺氧/再通气,也是引起 OSAHS 相关心血管疾病的始动因素。它可能通过交感神经活性增加、氧化应激、炎症反应、黏附分子增多以及内皮功能紊乱导致 OSAHS 相关心血管疾病的发生。目前对于成人 OSAHS 的主要治疗以手术和 CPAP 为主,根据患者上气道阻塞平面及病情程度采取合理治疗手段。本研究对 50 例不宜手术的重度 OSAHS 患者进行 CPAP 治疗,通过对患者治疗前后 MMP-9 和 FFA 水平监测以寻求 OSAHS 与内分泌、心血管疾病可能的机制。

3.1 MMP-9 与 OSAHS 的关系及其对相关心血管疾病影响

MMP-9 是一种含钙和锌离子的水解蛋白酶, MMP-9 的调节主要通过基因转录、酶原启动及 MMP-9 生理性抑制 (TIMP-1) 3 个水平实现。其转录水平的调节可能通过转录因子活化白-1 (AP-1) 和核转录因子-KB (NF-KB) 途径实现^[5]。血流动力学改变、炎症反应以及氧化应激均可促进

MMP-9 表达。MMP-9 具有降解细胞外基质、修饰其他炎症介质、促进粥样斑块形成及单核细胞平滑肌细胞迁移,参与心肌重构^[6]。近年研究表明, MMP-9 的表达及活性增强参与心肌缺血再灌注损伤的发展过程, Lulu 等^[7]对人心肌缺血再灌注损伤研究发现血浆 MMP-9 活性均显著增高,动物实验则显示 MMP-9 含量变化可作为左心室重构和心功能恶化的指征^[8]。

OSAHS 患者在睡眠过程中反复低氧再氧合过程与临床上缺血/再灌注损伤极其类似,而缺血/再灌注可导致活性氧大量产生,形成氧化应激状态。氧化应激可导致内皮细胞受损,血管内皮细胞损伤是引起动脉粥样硬化的重要始动环节,并且 OSAHS 患者白细胞内自由基和线粒体内活性氧 (ROS) 的产生明显增加,血浆脂质过氧化增加,加重动脉粥样硬化。流行病学调查,睡眠心脏健康研究 (The Sleep Heart Health Study, SHHS) 大样本多中心研究也证实 OSAHS 与冠心病和心肌梗死的发生密切相关,冠心病发生与 OSAHS 病情程度也明显相关。OSAHS 患者 AHI 越高, MMP-9 在血清中表达水平越高。持续气道正压机械通气治疗可降低 MMP-9 的水平和活性^[2]。本研究结果也显示重度 OSAHS 患者 MMP-9 明显增高,通过 CPAP 治疗,可以使 AHI 较治疗前明显 ($P < 0.01$), $LSpO_2$ 明显上升 ($P < 0.01$)。经过 CPAP 治疗后 MMP-9 水平较治疗前明显下降,说明随 OSAHS 患者睡眠结构改善,体内中 MMP-9 水平亦接近正常,这与国外报道一致。相关分析也发现, MMP-9 与 AHI 成正相关,与 $LSpO_2$ 成负相关即 AHI 越高, $LSpO_2$ 越低 MMP-9 水平表达越高,说明 MMP-9 与 OSAHS 病情程度有明显相关性,经 Logistic 回归分析表明,即使调整了年龄和体重指数后 (AHI) 仍与 MMP-9 相关^[9],证实了 MMP-9 的增高与临床慢性缺氧之间确实存在因果关系。这可能与以下因素有关: OSAHS 的反复缺氧再氧合过程是活性氧持续和过量的原因,而活性氧促使基质金属蛋白酶增加^[10]。氧化应激下引起血管内皮生长因子,炎症因子及黏附分子增加,上述因子皆可上调 MMP-9 表达^[9],

MMP-9的启动有利于巨噬细胞,血管平滑肌细胞扩增迁移,导致斑块形成,促进动脉粥样硬化的发生。MMP-9过度表达降解细胞外基质蛋白,引起平滑肌细胞巢凋亡,由于大量平滑肌细胞凋亡使斑块无法发挥支撑作用,使斑块纤维帽的降解及破裂,导致冠心病发生,由此可见MMP-9在OSAHS相关心血管疾病发病机理中占据重要作用,通过对OSAHS的治疗,患者血清中MMP-9浓度的降低,可以视作其心血管疾病的风险降低的重要标志。

现已认为OSAHS是代谢综合征的一部分,与高血压病,心、脑、血管疾病,糖尿病以及脂代谢紊乱之间密切相关^[11],多项研究证实,OSAHS患者动脉粥样硬化的触动因子血清TG、TC、LDL-C均明显高于正常人,HDL明显降低,表明OSAHS患者存在脂质代谢紊乱,从而导致了心血管疾病的高发生率^[12]。本研究也发现OSAHS患者TC、TG、LDL、FFA明显升高,HDL降低,与OSAHS病情严重程度的指标存在明显相关性,即OSAHS血脂异常与AHI、呼吸暂停持续时间、夜间SaO₂降低程度和持续时间有关,进一步证实了OSAHS存在脂质代谢紊乱,并参与其心脑血管并发症的发生发展。提示OSAHS患者长期慢性间歇缺氧可能是导致机体氧化应激,内分泌紊乱,脂质代谢异常的重要原因。

3.2 OSAHS患者MMP-9与FFA的内在关系

在关于MMP-9与FFA之间的动物研究表明,高血浆FFA可直接诱导机体氧化应激增强,超氧化物增加^[13],游离脂肪酸增强了胰岛素介导的基质金属蛋白酶-9^[14],也增加了Jun氨基末端激酶(Jun N-terminal kinases, JNK)和p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK)的活动,而后两者是可以刺激炎症因子的产生。Tripathy等^[15]的研究显示,急性增加FFA的水平能使白细胞生成ROS增加,并且增加循环中单核细胞的炎性改变,导致单核细胞核因子NF-KB的集聚升高,启动内皮细胞的炎性过程^[5]。氧化应激和慢性炎症导致内皮系统受损,从而启动基质金属蛋白

酶,MMP-9的启动有利于巨噬细胞,血管平滑肌细胞扩增迁移,导致斑块形成,促进动脉粥样硬化的发生。MMP-9过度表达降解细胞外基质蛋白,引起平滑肌细胞巢凋亡,由于大量平滑肌细胞凋亡使斑块无法发挥支撑作用,斑块纤维帽的降解及破裂,导致冠心病发生,Monti等^[16]的研究也证实,胰岛素抵抗和高脂血症的心脏脂肪沉积增加导致基质金属蛋白酶蛋白表达增强。并随着时间的推移导致动脉粥样硬化和急性心血管性疾病的发生。高血脂本身损伤血管内皮细胞,同时高血脂有利于LDL在血管壁沉积;慢性间歇低氧诱发氧化应激反应,进一步损伤血管内皮细胞。上述系列研究证明,慢性炎症和氧化应激与OSAHS心血管疾病有着密切联系^[17],这与本研究的统计分析结果一致。

由此可见OSAHS患者体内MMP-9和FFA之间在心血管疾病的发生发展中存在协同关系,两者之间的相互作用以及其他各种炎症因子对其调节,这些过程是复杂的,具体的调节机制目前还不十分清楚,还需进一步探索。

参考文献:

- [1] Ryan S, Taylor CT, McNicholas WT. Selective, Activation of inflammatory pathways by intermittent hypoxia in obstructive sleep apnea syndrome [J]. *Circulation*, 2005, 112(4): 2660-2667.
- [2] Tazaki T, Minoguchi K, Yoke T, et al. Increased levels and activating of matrix metalloproteinase-9 in obstructive sleep apnea syndrome [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2004, 170(2): 1354-1359.
- [3] Taskinen MR. Diabetic dyslipidaemia: from basic research to clinical practice [J]. *Diabetologia*, 2003, 46(2): 733-743.
- [4] Barcelo A, Llompart E, Barbe F. Plasminogen activator Inhibitor-1 (PAI-1) polymorphisms in patients with obstructive Sleep apnoea [J]. *Respir Med*, 2002, 96(3): 193-196.
- [5] Chandrasekar B, Mummidi S, Mahimainathan L. Intereukin-18 induced human Coronary Atery Smooth Muscle Cell migration Is Dependent on NF-kappaB and AP-1 mediated matrix Metalloproteinase-9 expression and is inhibited, datorvastatin [J]. *BiolChem*, 2006, 28(22): 15099-15109.

(下转第285页)