

类风湿合并颈动脉硬化患者血清氧化应激状态与 MMPs 相关性分析

丁艳杰, 赵清, 王来芳, 苏培培, 王婧, 张冰毅, 张媛
(河南大学淮河医院风湿免疫科, 河南 开封 475000)

[摘要] **目的** 探讨类风湿合并血清颈动脉硬化患者血清氧化应激状态与 MMPs 水平及临床意义。 **方法** 选择缓解期类风湿患者 92 例, 分为无颈动脉硬化组 (A 组) 45 例, 合并颈动脉组 (B 组) 47 例, 同时选择健康人群 40 例作为对照组 (C 组)。分别检测 MMP-3、MMP-9、TIMP-1、MDA、SOD、GSH。 **结果** A 组 MMP-9、TIMP-1 较 C 组均差异有统计学意义 ($P < 0.05$), B 组 MMP-3、MMP-9、TIMP-1 较 A 组、C 组差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。A 组 SOD、GSH 较 C 组均存在下降 ($P < 0.05$), B 组 SOD、GSH 较 A 组、C 组 79 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), MDA 较 A 组有升高 ($P < 0.05$)。SOD 与 MMP-9、TIMP-1 有相关 ($P < 0.05$), 与 MMP-3 未见相关性 ($P > 0.05$)。GSH 与 MMP-3、MMP-9 有负相关 ($P < 0.05$), 与 TIMP-1 正相关 ($P < 0.05$)。 **结论** 稳定期类风湿合并颈动脉硬化患者 MMPs 与氧化应激的紊乱密切相关, 共同促进颈动脉硬化的发生。

[关键词] 类风湿; 颈动脉硬化; 氧化应激; MMPs

[中图分类号] R543.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095 - 610X (2014) 05 - 0061 - 03

Correlation Analysis of Serum Oxidative Stress with MMPs in Rheumatoid Patients with Carotid Atherosclerosis

DING Yan - jie, ZHAO Qing, WANG Lai - fang, SU Pei - pei, WANG Jing, ZHANG Bing - yi,
ZHANG Yuan
(Dept. of Rheumatology, Huaihe Hospital of Henan University, Kaifeng Henan 475000, China)

[Abstract] **Objective** The purpose of this study was to investigate the correlation of serum oxidative stress with MMPs in rheumatoid patients with carotid atherosclerosis. **Methods** Ninety-two cases of rheumatoid patients were divided into non-carotid atherosclerosis group (group A, 45 cases) and carotid artery (group B, 47 cases), while 40 cases of healthy person were selected as the control group (group C). MMP-3, MMP-9, TIMP-1, MDA, SOD and GSH were detected. **Results** There were significant differences in MMP-9 and TIMP-1 between groups A and C ($P < 0.05$), and in MMP-3, MMP-9 and TIMP-1 between group B and the other two groups ($P < 0.05$). Compared with group C, SOD and GSH in group A have decreased significantly ($P < 0.05$). There were significant differences in SOD and GSH between group B and groups A and C, and MDA in group B increased significantly compared with group A ($P < 0.05$). SOD showed significant correlations with MMP-9 and TIMP-1 ($P < 0.05$), while no correlation with MMP-3 ($P > 0.05$). There were negative correlations of GSH with MMP-3 and MMP-9 ($P < 0.05$), while was significant positive correlation with TIMP-1 ($P < 0.05$). **Conclusion** MMPs were closely related to the oxidative stress disorder in rheumatoid patients with carotid atherosclerosis, which promote the incidence of carotid artery atherosclerosis.

[Key words] Rheumatoid; Carotid atherosclerosis; Oxidative stress; MMPs

类风湿性关节炎是以非化脓性关节炎为主的 心肌炎、肺炎、神经炎等关节外表现^①。近年的研究
系统性结缔组织性疾病, 可伴发血管炎、胸膜炎、 研究发现, 类风湿患者有较高的心血管疾病的发病

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (81102247)

[作者简介] 丁艳杰 (1983~), 女, 河南商丘市人, 医学硕士, 主治医师, 主要从事风湿免疫病临床工作。

[通讯作者] 赵清. E-mail:ding154340034@126.com

率,并且成为导致该类患者死亡的重要原因之一^[2]。颈动脉作为动脉硬化累及的重要血管^[3],长期冲击动脉壁引起动脉内膜机械性损伤,造成血脂易在动脉壁沉积,形成脂肪斑块并造成大血管如颈动脉动脉硬化狭窄,颈动脉粥样硬化轻者可只出现头晕、目眩等症状,随病情进展会增加患者缺血性脑梗死的发生率^[4]。引起动脉硬化等心血管疾病的机制在于免疫系统紊乱及炎症反应加剧血管内皮功能障碍,体内氧化应激损伤等发生也促进了动脉硬化的发生。基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、MMP-3参与细胞之间及细胞与细胞外基质(ECM)之间相互作用及信号传导^[5],该类患者MMPs活性升高参与纤维帽中的胶原纤维降解,导致纤维帽变薄及破裂风险增加。笔者对自2011年1月至2013年6月对就诊于河南大学淮河医院的类风湿合并颈动脉硬化患者检测了血清MMPs与氧化应激相关指标等,旨在明确相关因子对病情评估的意义及与病情进展的关系,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择自2011年1月至2013年6月期间到河南大学淮河医院就诊处于缓解期的类风湿患者92例,男性25例,女性67例,年龄34~71岁,平均(51.6±18.5)岁,均符合美国风湿病学会(ACR)制定的类风湿诊断标准。所有患者入选后采用HP5500彩色多普勒进行颈动脉超声检查明确颈动脉硬化发生情况,分为单纯类风湿组(A组,IMT<1.0 mm),类风湿合并颈动脉硬化组(B组,

IMT≥1.0 mm),分别有45例、47例。同时选择同期行健康体检的40例研究对象为对照组(C组),均无糖尿病及高血压、类风湿等疾病。所有入选对象均无恶性肿瘤,无近期服用激素类药物史,3组之间年龄、性别构成等具有可比性($P>0.05$)。

1.2 检测方法与观察指标

1.2.1 血清基质金属蛋白酶检测 3组患者均于入选后次日晨抽取静脉血5 mL,室温静止30 min后离心,取血清留存待检。采用酶联免疫吸附实验(ELISA)法检测MMP-3、MMP-9及TIMP-1,试剂由陕西博达生物公司提供。

1.2.2 血清氧化应激状态评估 采用南京建成生物公司丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽(GSH)试剂盒检测血清氧化应激状态。检测由我院检验科严格按照说明进行,保证在有效期内使用且质控符合国家标准。

1.3 统计学方法

应用SPSS软件进行统计分析,计量资料均采用($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较应用方差分析后进行 q 检验,计数资料采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清基质金属蛋白酶水平比较

C组研究对象MMP-3、MMP-9、TIMP-1检测结果均在参考值范围内,A组MMP-9、TIMP-1较C组均差异有统计学意义($P<0.05$),MMP-3未见差异($P>0.05$)。B组MMP-3、MMP-9、TIMP-1较A组差异有统计学意义($P<0.05$),见表1。

表1 血清基质金属蛋白酶水平比较($\bar{x}\pm s$)

Tab. 1 Comparison of MMPs among three groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	MMP-3 (ng/L)	MMP-9 (ng/L)	TIMP-1 (ng/L)
A组	45	58.17±8.46	241.57±21.08*	301.34±30.87*
B组	47	81.48±10.18*#	360.84±45.34*#	238.43±21.03*#
C组	40	40.79±5.19	124.56±17.51	381.25±27.74

与C组比较,* $P<0.05$;与A组比较,# $P<0.05$ 。

2.2 血清氧化应激状态评估

C组研究对象MDA、SOD、GSH检测结果均在参考值范围内,A组SOD、GSH较C组均下降($P<0.05$),MDA差异无统计学意义($P>0.05$)。B组SOD、GSH较A下降($P<0.05$),MDA较A组有升高($P<0.05$),见表2。

2.3 基质金属蛋白酶与氧化应激相关性分析

分析基质金属蛋白酶与氧化应激相关性,MDA与MMP-3、MMP-9、TIMP-1未见显著相关性($P>0.05$),SOD与MMP-9、TIMP-1显著相关($P<0.05$),与MMP-3未见显著相关性($P>0.05$)。GSH与MMP-3、MMP-9显著负相关($P<0.05$),与TIMP-1显著正相关($P<0.05$),见表3。

表 2 血清氧化应激状态评估 ($\bar{x} \pm s$)Tab. 2 Evaluation of oxidative stress status in three groups ($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	MDA (nmol/mL)	SOD (U/L)	GSH (mg/mL)
A 组	45	19.03 ± 3.27	21.35 ± 3.48*	47.38 ± 7.41*
B 组	47	26.39 ± 4.02**	19.82 ± 4.35**	43.79 ± 6.58**
C 组	40	17.41 ± 1.16	38.51 ± 7.37	78.52 ± 12.94

与 C 组比较, * $P < 0.05$; 与 A 组比较, # $P < 0.05$.

表 3 基质金属蛋白酶与氧化应激相关性分析

Tab. 3 Correlation analysis of MMPs with oxidative stress

项 目	MDA	SOD	GSH
MMP-3			
<i>r</i>	0.105	-0.083	-0.374
<i>P</i>	> 0.05	> 0.05	< 0.05
MMP-9			
<i>r</i>	0.091	-0.365	-0.349
<i>P</i>	> 0.05	< 0.05	< 0.05
TIMP-1			
<i>r</i>	-0.117	0.481	0.376
<i>P</i>	> 0.05	< 0.05	< 0.05

3 讨论

近年来, 随着对类风湿研究的深入, 类风湿患者中颈动脉硬化有较高的发病率. 且动脉硬化等心血管疾病成为导致类风湿关节炎患者早期死亡的重要原因之一. 目前的研究表明, 全身炎症反应是导致类风湿关节炎发生及发展的重要病理生理基础, 导致的效应包括脂质代谢紊乱、氧化应激增强、血管内皮功能障碍已经胰岛素抵抗等^[6]. 目前的研究表明, 自由基参与类风湿及动脉硬化的发生和发展, 产生效益包括滑囊炎性病变和骨质破坏. MMP-3、MMP-9 等是引起细胞外基质 (ECM) 降解的重要因子^[7], 在类风湿患者中其水平升高可导致软骨韧带及骨破坏, 另外与动脉硬化的发生也密切相关. 而氧化应激与 MMPs 等在类风湿合并动脉硬化患者中的关系尚未完全明确, 因此有必要针对此类患者进行相关研究.

由本研究可以看出, 未合并颈动脉硬化患者 MMP-9、TIMP-1 较对照组均存在差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 合并颈动脉硬化组 MMP-3、MMP-9、TIMP-1 较其余两组均差异有统计学意义 ($P < 0.05$). 未合并颈动脉硬化患者 SOD、GSH 较对照组均存在下降, 合并颈动脉硬化患者组 SOD、GSH 较其余两组差异有统计学意义 ($P < 0.05$),

MDA 有显著升高. MMPs 家族在细胞外基质降解过程中起关键作用, MMP-9 过度表达可分解 ECM 中四型胶原成分^[8], 导致正常状态下隐藏的功能位点暴露, 而该位点暴露参与基膜降解及细胞外机制重塑、细胞迁移等过程^[9], 加剧血管内皮病变的进展. 目前多认为内皮功能失调等可导致血管病变的发生, 而活性氧 (ROS) 是启动血管内皮损伤的重要因素. SOD 及 GSH 是体内抗氧化的重要酶类之一, 其水平下降, 使得体内拮抗 ROS 能力下降, 该过程中 IL-17 等炎症因子的参与, 最终通过刺激内皮细胞激活、有趋白细胞趋化及聚集^[10], 导致骨结构及软骨结构渐进性破坏, 在颈动脉则表现为血管内皮受损, 加重血管内皮炎症的发生发展以及炎性细胞浸润^[11], 最终导致颈动脉硬化及斑块的形成. 而该过程又会促进白细胞黏附于血管内皮细胞, 进而释放多种炎性介质^[12], 导致下游级联反应的出现. 分析氧化应激与 MMPs 相关性, SOD 与 MMP-9、TIMP-1 显著相关, 与 MMP-3 未见显著相关性. GSH 与 MMP-3、MMP-9 显著负相关, 与 TIMP-1 显著正相关. 由此可以推断, 类风湿患者细胞外基质降解失衡, 通过对巨噬细胞募集及炎性因子释放, 导致 ROS 释放增加, 氧化-还原稳态被破坏, 最终导致粥样硬化改变的发生.

综上所述, 针对颈动脉硬化在类风湿患者中的发病情况, 有必要对 MMPs 及氧化应激进行密切观察, 探索通过抗氧化治疗等对该类患者的保护作用, 并通过该过程中涉及的粘附因子变化等方面进行密切观察, 具有较好的临床应用前景.

[参考文献]

- [1] BENUCCI M, MANFREDI M, SAVIOLA G, et al. Changes in atherosclerosis markers during tocilizumab treatment in rheumatoid arthritis: preliminary results [J]. Clin Exp Rheumatol, 2013, 31(2):322 - 323.
- [2] SINEGLAZOVA A V. Coronary atherosclerosis and osteoporosis in rheumatoid arthritis [J]. Vestn Rentgenol Radiol, 2013, 12(1):25 - 28.

(下转第 73 页)

- [9] FUKUMOTO Y, ITO A, UWATOKU T, et al. Extracorporeal cardiac shock wave therapy ameliorates myocardial ischemia in patients with severe coronary artery disease[J]. *Coron Artery Dis*, 2006, 17(9):63 – 70.
- [10] WANG Y, GUO T, CAI H Y, et al. Cardiac shock wave therapy reduces angina and improves myocardial function in patients with refractory coronary artery disease [J]. *Clin Cardiol*, 2010, 33(11):693 – 699.
- [11] GUTERSOHN A, CASPARI G. Shock wave upregulate vascular endothelial growth factor mRNA in human umbilical vascular endothelial cells [J]. *Circulation*, 2000, 102 (suppl):18 – 23.
- [12] 王钰, 郭涛, 蔡红雁, 等. 体外心脏震波治疗冠心病的应用研究[J]. *中华心血管病杂志*, 2010, 38(8):711 – 715.
- [13] 杨萍, 彭云珠, 郭涛, 等. 体外心脏震波治疗冠心病患者的临床研究[J]. *重庆医学*, 2012, 41(9):847 – 851.
- [14] UWATOKU T, ITO K, ABE K, et al. Extracorporeal cardiac shock wave therapy proves left ventricular remodeling after acute myocardial infarction in pigs [J]. *Coron Artery Dis*, 2007, 18(5):397 – 404.
- [15] FU M, SUN C K, LIN Y C, et al. Extracorporeal shock wave therapy reverses ischemia-related left ventricular dysfunction and remodeling:molecular-cellular and functional assessment [J]. *P LoS One*, 2011, 6(9):e24342.

(2014-02-02 收稿)

(上接第 63 页)

- [3] FROSTEGARD J. Atherosclerosis and cardiovascular disease in rheumatoid arthritis [J]. *J Rheumatol*, 2012, 39 (12):2233 – 2234.
- [4] DESSEIN P H, NORTON G R, JOFFE B I, et al. Metabolic cardiovascular risk burden and atherosclerosis in african black and caucasian women with rheumatoid arthritis: a cross-sectional study [J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2013, 31 (1):53 – 61.
- [5] KAWASHIRI S Y, KAWAKAMI A, UEKI Y, et al. Decrement of serum cartilage oligomeric matrix protein (COMP) in rheumatoid arthritis (RA) patients achieving remission after 6 months of etanercept treatment: comparison with CRP, IgM-RF, MMP-3 and anti-CCP Ab[J]. *Joint Bone Spine*, 2010, 77(5):418 – 420.
- [6] KAHLENBERG J M, KAPLAN M J. Mechanisms of premature atherosclerosis in rheumatoid arthritis and lupus [J]. *Annu Rev Med*, 2013, 64(5):249 – 263.
- [7] HUAI C, SONG J, MA Z, et al. Allelic variation of the M – MP3 promoter affects transcription activity through the transcription factor C-MYB in human brain arteriovenous malformations[J]. *P LoS One*, 2013, 8(3):e57958.
- [8] 温玉荣, 钟波, 吕社民. 无症状型系统性红斑狼疮或类风湿性关节炎女性患者中冠状动脉钙和C反应蛋白的研究[J]. *国外医学医学地理分册*, 2012, 33(4):269 – 272.
- [9] SINGAM E R, RAJAPANDIAN V, SUBRAMANIAN V. Molecular dynamics simulation study on the interaction of collagen like peptides with gelatinase-a (mmp-2) [J]. *Biopolymers*, 2013, 34(6):316 – 328.
- [10] JACOBSON G A, IVES S J, NARKOWICZ C, et al. Plasma glutathione peroxidase (GSH-Px) concentration is elevated in rheumatoid arthritis: a case-control study [J]. *Clin Rheumatol*, 2012, 31(11):1543 – 1547.
- [11] ZHANG H P, ZHENG F L, ZHAO J H, et al. Genistein inhibits ox-LDL-induced VCAM-1, ICAM-1 and MCP-1 expression of HUVECs through heme oxygenase-1 [J]. *Arch Med Res*, 2013, 44(1):13 – 20.
- [12] ASTARCI E, SADE A, CIMEN I, et al. The NF-kappaB target genes ICAM-1 and VCAM-1 are differentially regulated during spontaneous differentiation of Caco-2 cells[J]. *FEBS J*, 2012, 279(16):2966 – 2986.

(2014-02-20 收稿)