

•临床研究•

[文章编号] 1007-3949(2008)16-04-0296-03

类风湿关节炎患者丙二醛修饰型低密度脂蛋白及
低密度脂蛋白循环免疫复合物水平分析胡 兵¹, 汪俊军², 张春妮², 蔡 辉¹

(中国人民解放军南京军区南京总医院 1. 中西医结合科, 2. 全军临床检验医学研究所, 江苏省南京市 210002)

[关键词] 病理学与病理生理学; 低密度脂蛋白; 氧化修饰; 免疫复合物; 类风湿关节炎; 动脉粥样硬化

[摘要] 目的 分析类风湿关节炎患者丙二醛修饰型低密度脂蛋白、低密度脂蛋白循环免疫复合物及血脂水平, 探讨其与心血管病高发生率的关系。方法 选择类风湿关节炎患者 55 例, 其中合并心血管疾病患者(并发症组) 13 例, 单纯类风湿关节炎患者(单纯组) 42 例; 正常对照组 60 例。采用酶联免疫吸附试验分别测定血浆丙二醛修饰型低密度脂蛋白和低密度脂蛋白循环免疫复合物水平, 同时对受检者血脂和炎症指标进行检测。结果 两组类风湿关节炎患者除载脂蛋白 B 高于对照组外($P < 0.05$), 其它脂质和载脂蛋白水平无明显改变; 并发症组与单纯组间脂质和载脂蛋白水平相似。并发症和单纯组血浆丙二醛修饰型低密度脂蛋白(分别为 187.81 ± 90.89 和 102.01 ± 57.73 mg/L) 和低密度脂蛋白循环免疫复合物水平(分别为 2.58 ± 1.69 和 1.87 ± 0.74 AU) 均明显高于对照组(分别为 32.65 ± 27.00 mg/L 和 1.21 ± 0.38 AU, $P < 0.01$), 且并发症组高于单纯组($P < 0.01$ 或 0.05)。低密度脂蛋白循环免疫复合物与 C 反应蛋白正相关($r = 0.301$, $P = 0.026$), 丙二醛修饰型低密度脂蛋白与血沉趋于相关($r = 0.263$, $P = 0.057$)。结论 类风湿关节炎患者丙二醛修饰型低密度脂蛋白和低密度脂蛋白循环免疫复合物水平显著升高, 参与动脉粥样硬化的发生、发展过程。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Analyzing the Level of Malondialdehyde-Modified Low-Density Lipoproteins and Its Immune Complexes in Patients with Rheumatoid Arthritis

HU Bing, WANG Jun-Jun, ZHANG Chun-Ni, and Cai Hui

(Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing General Army Hospital of the People's Liberation Army, Nanjing 210002, China)

[KEY WORDS] Low Density Lipoprotein; Oxidative Modification; Immune Complex; Rheumatoid Arthritis; Atherosclerosis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate malondialdehyde-modified (MDA) low-density lipoprotein (LDL), its immune complexes (LDL-IC) and blood lipid levels in patients with rheumatoid arthritis (RA), and to explore the mechanism of high incidence from cardiovascular disease in patients with RA. **Methods** 55 patients with RA, 13 of which had cardiovascular disease (CAD), 42 of which had simply RA, and 60 healthy controls were randomly chosen. Plasma MDA-LDL and its immune complexes (LDL-IC) levels were determined by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Blood lipid levels and inflammatory markers were also studied. All data was subjected to statistical analysis. **Results** Compared with the control, plasma lipids and apolipoproteins levels in patients with RA remained unchanged, except that apolipoprotein B levels increased in RA patients ($P < 0.05$); meanwhile no difference was found in plasma lipids and apolipoproteins concentrations between simple RA patients and RA patients with CAD. MDA-LDL level in RA with CAD, simple RA and control were 187.81 ± 90.89 mg/L, 102.01 ± 57.73 mg/L and 32.65 ± 27.00 mg/L, respectively. LDL-IC level in the three groups were 2.58 ± 1.69 AU, 1.87 ± 0.74 AU and 1.21 ± 0.38 AU, respectively. Compared with the control, MDA-LDL and LDL-IC levels increased in simple RA patients and RA patients with CAD ($P < 0.01$), furthermore, MDA-LDL and LDL-IC levels in RA patients with CAD were both found significantly higher than those in simple RA ($P < 0.01$ or 0.05). LDL-IC level was found related with C-reactive protein ($r = 0.301$, $P = 0.026$), and MDA-LDL level tended to be related with erythrocyte sedimentation rate ($r = 0.263$, $P = 0.057$).

Conclusions MDA-LDL and LDL-IC were both increased in RA patients, and may play an important role in atherosclerosis.

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)患者发生心血管事件相对危险率是正常人群的 2~5 倍, 而

[收稿日期] 2007-10-08

[修回日期] 2008-03-18

[基金项目] 国家自然科学基金(30471649); 江苏省自然科学基金青年科技创新人才项目(BK2006529)

[作者简介] 胡兵, 副主任医师, 主要从事中西医结合风湿免疫病的临床和科研工作, E-mail 为 hubing9202@yahoo.cn. 通讯作者汪俊军, 硕士, 主任技师, 教授, 硕士研究生导师, 从事脂蛋白与动脉粥样硬化关系研究, E-mail 为 wangjj6@jlonline.com. 张春妮, 博士, 主任技师, 主要从事脂蛋白与动脉粥样硬化关系研究。

且发病年龄较一般人群年轻, 心血管疾病成为 RA 主要的死亡原因, 而传统的心血管病危险因素如高血脂、高血压、糖尿病和肥胖等不能完全解释这一现象^[1-3]。氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)在动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)的发生发展中起重要作用, 大量文献报道高 ox-LDL 水平是预测 As 性心血管疾病发生的有力指标^[4,5]。Ox-LDL 除经清道夫受体途径被巨噬细胞吞噬外, 还可与自身抗体结合, 形成低密度脂蛋白循环免疫复合物(low density lipoprotein immune complexes, LDL-IC), 诱导巨噬细胞内胆固醇酯堆积转化为泡沫细胞, 效果强于其他任何途径; 同时释放多种细胞因子、破坏血管内皮和诱导平滑肌细胞增殖, 加速 As 进程; LDL-IC 水平高低亦是 As 的预测指标^[6,8]。本文对 RA 患者的丙二醛修饰型 LDL(malondialdehyde-modified LDL, MDA-LDL)及 LDL-IC 水平进行分析, 探讨 RA 患者心血管病高发生率的机制。

1 对象和方法

1.1 临床资料

55 例 RA 患者来自我院 2005~2006 年门诊及住院患者, 均符合美国风湿病协会 1987 年修订的类风湿关节炎分类诊断标准^[9], 排除其他风湿免疫性疾病。其中男 19 例, 女 36 例, 年龄 17~78 岁, 平均 46.6 ± 14.8 岁; 病程 1~360 个月, 平均 70.3 ± 82.8 个月; 24 例处于活动期(血沉 28 mm/h 或 C 反应蛋白 > 10 mg/L), 31 例处于非活动期; 明确合并心血管疾病(并发症组)患者 13 例(包括高血压性心脏病、冠心病和心律失常, 均有典型临床表现、心电图和心脏超声证据, 符合相应疾病诊断标准), 单纯 RA(单纯组)患者 42 例。正常对照组为无 RA 和心脑血管等疾病的健康者 60 例, 年龄、性别相匹配。血液标本采自禁食 12 h 以上, 3 000 r/min 离心 5 min 后留取血浆, -70°C 保存。

1.2 丙二醛修饰型低密度脂蛋白和低密度脂蛋白循环免疫复合物的测定

MDA-LDL 采用兔抗人 MDA-LDL 为包被抗体, 酶标抗载脂蛋白 B 为检测抗体的酶联免疫吸附试验(ELISA)测定, MDA-LDL 为参考标准, Lowry 法测定蛋白质含量。LDL-IC 采用抗人 IgG 为包被抗体, 酶标抗载脂蛋白 B 为检测抗体的 ELISA 法测定, 参考血清浓度定为 1 个相对单位(AU)^[18]。

1.3 血脂、载脂蛋白和炎症指标的测定

总胆固醇(total cholesterol, TC)用一步酶法测定,

甘油三酯(triglyceride, TG)用二步酶法测定, 高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)用一步直接法测定, 使用 BM 公司试剂。低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)用 Friedewald 公式计算。载脂蛋白(apolipoprotein, apo) A iv 和 B 采用日本第一化学免疫比浊试剂测定。测定仪器为日立 7600 生物化学自动分析仪。血沉用魏氏法测定, C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)用免疫比浊法测定。

1.4 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 数据处理采用 SPSS V. 11 软件。多组间比较采用方差分析, 其中组间的两两比较用 LSD 检验, 若方差不齐采用 Tamhane's T2 检验; 变量间相关性采用非参数 Spearman rank coefficient test 分析。

2 结果

2.1 类风湿关节炎患者血脂和载脂蛋白水平

与对照组比较, RA 并发症组和单纯组患者的 TC、TG、HDLC、LDLC 和载脂蛋白 A iv 水平有升高趋势, 但差异无统计学意义($P > 0.05$); RA 并发症组和单纯组载脂蛋白 B 水平均较对照组明显升高($P < 0.05$); 但 RA 并发症组与单纯组之间血脂和载脂蛋白水平差异无统计学意义($P > 0.05$, 表 1)。

表 1. 类风湿关节炎患者血脂和载脂蛋白水平

指 标	对照组 ($n = 60$)	并发症组 ($n = 13$)	单纯组 ($n = 42$)
TC (mmol/L)	4.47 ± 0.62	4.65 ± 1.35	4.82 ± 1.29
TG (mmol/L)	1.23 ± 0.42	1.47 ± 0.77	1.53 ± 0.82
HDLC (mmol/L)	1.46 ± 0.26	1.47 ± 0.39	1.60 ± 0.41
LDLC (mmol/L)	2.42 ± 0.50	2.56 ± 1.11	2.53 ± 1.25
载脂蛋白 A iv (g/L)	1.40 ± 0.24	1.60 ± 0.56	1.49 ± 0.36
载脂蛋白 B (g/L)	0.92 ± 0.11	1.21 ± 0.33^a	1.08 ± 0.36^a

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

2.2 类风湿关节炎患者血浆丙二醛修饰型低密度脂蛋白和低密度脂蛋白循环免疫复合物水平

RA 患者血浆 MDA-LDL 和 LDL-IC 水平均明显增加, 且 RA 并发症患者 MDA-LDL 和 LDL-IC 水平均较单纯 RA 患者明显升高($P < 0.05$ 或 0.01 , 表 2)。

2.3 血浆丙二醛修饰型低密度脂蛋白和低密度脂蛋白循环免疫复合物水平与炎症指标相关性分析

LDL-IC 与 RA 患者 CRP 水平呈正相关($r =$

0.301, $P = 0.026$), 与血沉变化无相关性 ($r = 0.161$, $P = 0.25$); MDA-LDL 水平与 CRP 水平不相关 ($r = 0.089$, $P = 0.524$), 与血沉有相关趋势 ($r = 0.263$, $P = 0.057$)。

表 2. 类风湿关节炎患者血浆丙二醛修饰型低密度脂蛋白、低密度脂蛋白循环免疫复合物水平

指 标	对照组 ($n = 60$)	并发症组 ($n = 13$)	单纯组 ($n = 42$)
MDA-LDL (mg/L)	32.65 \pm 27.00	187.81 \pm 90.89 ^{ac}	102.01 \pm 57.73 ^a
LDL-IC (AU)	1.21 \pm 0.38	2.58 \pm 1.69 ^{ab}	1.87 \pm 0.74 ^a

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比; b 为 $P < 0.05$, c 为 $P < 0.01$, 与单纯组比。

3 讨论

本研究发现, RA 患者血浆 MDA-LDL、LDL-IC 水平均比对照组明显升高, 且 RA 并发症患者较单纯 RA 患者明显升高; RA 患者载脂蛋白 B 水平明显高于对照组, 其他血脂及载脂蛋白水平与对照组差异无显著性; MDA-LDL、LDL-IC 与炎症指标相关。RA 患者血脂谱特点一般为低 TC、低 HDLC 和高 TG^[10]。有研究显示 RA 患者的血脂水平与 CRP 和血沉等呈负相关; 随着炎症的控制, TC 和 HDLC 等水平会上升^[11]。亦有文献报道 RA 患者 TC、LDLC 和载脂蛋白 B 水平可升高^[12]。McMahon 等^[13]发现 RA 患者体内有高比例的促炎症反应性 HDL 存在, 其抗脂蛋白氧化能力受损。在慢性炎症的过程中及使用改善病情的抗风湿药物控制病情的疗程中 RA 患者脂质表型可能发生改变^[14, 15]。本研究发现 RA 患者 TG、TC、LDLC 和 HDLC 这些传统的心血管疾病相关指标有升高趋势, 但无统计学意义。

LDL-IC 不仅具有高效致 As 作用, 其水平高低亦是 As 的预测指标^[6, 8]。Paimela 等^[16]研究显示早期 RA 患者中 14% ox-LDL 水平升高, 这些患者在以后的 3 年里 ox-LDL 水平仅升高 4%, 认为不足以解释其高死亡率; Kim 等^[17]发现活动期 RA 患者 ox-LDL 水平较非活动期 RA 患者及正常对照组均升高。MDA-LDL 是氧化 LDL 的一种形式, 为 LDL 中花生四烯酸被氧化后释放出的 MDA 与载脂蛋白 B 共价交联的产物。本研究发现 RA 患者血浆 MDA-LDL 和 LDL-IC 水平较对照组明显增加, 特别是 RA 并发症患者较单纯 RA 患者明显升高。RA 患者伴有严重的炎症反应, 机体处于急性时相反应时, 与 HDL 相连的、具有抗 LDL 氧化功能的对氧磷酶活性及转铁蛋白水平均降低, 而具有促进 LDL 氧化功能的血浆铜蓝蛋白水平升高, 均加速了 RA 患者体内脂蛋

白的氧化修饰^[18]。我们先前的研究也发现 RA 患者氧化脂蛋白(a)及其 IC 水平显著升高, 且与炎症活动密切相关^[19]; 本文资料也显示 MDA-LDL 和 LDL-IC 水平与炎症活动相关, 进一步表明炎症导致 RA 患者脂蛋白高氧化状态。

本文结果提示高 MDA-LDL 和 LDL-IC 水平在 RA 患者高发 As 性心血管病过程中起重要作用。

[参考文献]

- [1] Bacon PA, Stevens RJ, Carruthers DM, et al. Accelerated atherogenesis in autoimmune rheumatic diseases [J]. *Autoimmun Rev*, 2002, **1** (6): 338-347.
- [2] Turesson C, Jarenros A, Jacobsson L. Increased incidence of cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: results from a community based study [J]. *Ann Rheum Dis*, 2004, **63** (8): 952-955.
- [3] Del Rincon ID, Williams K, Stern MP, et al. High incidence of cardiovascular events in a rheumatoid arthritis cohort not explained by traditional cardiac risk factors [J]. *Arthritis Rheum*, 2001, **44** (12): 2737-745.
- [4] Ehara S, Ueda M, Naruko T, et al. Elevated levels of oxidized low density lipoprotein show a positive relationship with the severity of acute coronary syndromes [J]. *Circulation*, 2001, **103** (15): 1955-960.
- [5] Holvoet P, Collen D, Van de Werf F. Malondialdehyde-modified LDL as a marker of acute coronary syndromes [J]. *JAMA*, 1999, **28** (18): 1718-721.
- [6] Kearney JF. Immune recognition of ox-LDL in atherosclerosis [J]. *J Clin Invest*, 2000, **105** (12): 1683-1685.
- [7] 汪俊军, 李雯, 刘恋, 等. 氧化低密度脂蛋白循环免疫复合物诱导巨噬细胞胆固醇酯蓄积[J]. *医学研究生学报*, 2005, **18** (3): 193-195.
- [8] Wang J, Qiang H, Zhang C, et al. Detection of IgG-bound lipoprotein(a) immune complexes in patients with coronary heart disease [J]. *Clin Chim Acta*, 2003, **327** (1-2): 115-122.
- [9] Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Rheum*, 1988, **31** (3): 315-324.
- [10] Khovidhunkit W, Memon RA, Feingold KR, et al. Infection and inflammation induced proatherogenic changes of lipoproteins [J]. *J Infect Dis*, 2000, **181** (S3): S462-472.
- [11] Munro R, Morrison E, McDonald AG, et al. Effect of disease modifying agents on the lipid profiles of patients with rheumatoid arthritis [J]. *Ann Rheum Dis*, 1997, **56** (6): 374-377.
- [12] Van Halm VP, Nielen MM, Nummohamed MT, et al. Lipids and inflammation: serial measurements of the lipid profile of blood donors who later developed rheumatoid arthritis [J]. *Ann Rheum Dis*, 2007, **66** (2): 184-188.
- [13] McMahon M, Crossman J, Fitzgerald J, et al. Proinflammatory high-density lipoprotein as a biomarker for atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Rheum*, 2006, **54** (8): 2541-549.
- [14] Park YB, Lee SK, Lee WK, et al. Lipid profiles in untreated patients with rheumatoid arthritis [J]. *J Rheumatol*, 1999, **26** (8): 1701-704.
- [15] 周凌, 徐沪济. 类风湿关节炎动脉粥样硬化的进展[J]. *国际内科学杂志*, 2007, **34** (7): 415-417.
- [16] Paimela L, Helve T, Leirisalo-Repo M, et al. Clinical significance of antibodies against oxidized low density lipoprotein in early RA [J]. *Ann Rheum Dis*, 1996, **55** (8): 558-559.
- [17] Kim SH, Lee CK, Lee EY, et al. Serum oxidized low-density lipoproteins in rheumatoid arthritis [J]. *Rheumatol Int*, 2004, **24** (4): 230-233.
- [18] 王云龙, 卢恕来, 曾威武, 等. 高密度脂蛋白抗炎症到促炎症的转变[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2007, **15** (3): 239-240.
- [19] Wang JJ, Hu B, Kong LT, et al. Native, oxidized lipoprotein(a) and lipoprotein(a) immune complex in patients with active and inactive rheumatoid arthritis: plasma concentrations and relationship to inflammation [J]. *Clin Chim Acta*, 2008, **390** (1): 67-71.

(此文编辑 陈临溪, 许雪梅)