

· 论著 ·

黄杞苷减轻 H9c2 心肌细胞的缺氧再复氧损伤

文江艳 滕藤 唐其柱

(武汉大学人民医院心血管内科 代谢与相关慢病湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430060)

【摘要】目的 探讨黄杞苷对 H9c2 心肌细胞缺氧再复氧损伤的影响及作用机制。**方法** 构建 H9c2 心肌细胞缺氧再复氧模型,将 H9c2 细胞随机分为常氧+溶剂组、常氧+黄杞苷组、缺氧再复氧+溶剂组和缺氧再复氧+黄杞苷组。实时荧光定量聚合酶链反应检测相关抗氧化酶(过氧化物歧化酶 2、谷胱甘肽过氧化物酶 1、过氧化氢酶)的 mRNA 水平;试剂盒检测超氧化物歧化酶、心肌损伤标志物、丙二醛以及胱天蛋白酶-3(caspase-3)水平;免疫组织化学染色检测细胞氧化应激水平;原位末端转移酶标记法染色检测细胞凋亡水平;Western blot 检测相关蛋白核转录因子红系 2 相关因子 2(Nrf2)、血红素加氧酶 1(HO-1)表达水平。**结果** 常氧+溶剂组与常氧+黄杞苷组心肌损伤标志物、氧化应激、细胞凋亡等指标及 Nrf2、HO-1 蛋白表达比较,无统计学差异($P>0.05$);与常氧+溶剂组比较,缺氧再复氧+溶剂组心肌损伤标志物、活性氧、丙二醛、caspase-3 以及细胞凋亡率明显升高,相关抗氧化酶的 mRNA、超氧化物歧化酶及 Nrf2、HO-1 蛋白表达明显降低($P<0.05$);与缺氧再复氧+溶剂组比较,缺氧再复氧+黄杞苷组心肌损伤标志物、活性氧、丙二醛、caspase-3 以及细胞凋亡率明显下降,相关抗氧化酶的 mRNA、超氧化物歧化酶及 Nrf2、HO-1 蛋白表达明显升高($P<0.05$)。**结论** 黄杞苷可以减轻缺氧再复氧的 H9c2 心肌细胞的氧化应激损伤及细胞凋亡,可能是通过 Nrf2/HO-1 通路发挥作用。

【关键词】 黄杞苷;缺氧再复氧;氧化应激;细胞凋亡**【DOI】**10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2024.06.020

Engeletin Alleviates Hypoxia Reoxygenation Injury in H9c2 Cells

WEN Jiangyan, TENG Teng, TANG Qizhu

(Department of Cardiology, Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei Key Laboratory of Metabolic and Chronic Diseases, Wuhan 430060, Hubei, China)

【Abstract】Objective To investigate the effect and mechanism of engeletin on hypoxia reoxygenation injury in H9c2 cells. **Methods** A hypoxia reoxygenation model of H9c2 cells was constructed, and H9c2 cells were randomly divided into normoxia + vehicle group, normoxia + engeletin group, hypoxia reoxygenation + vehicle group, and hypoxia reoxygenation + engeletin group. Real-time quantitative polymerase chain reaction detection of mRNA levels of related antioxidant enzymes (peroxidase 2, glutathione peroxidase 1, catalase). The kit detects levels of superoxide dismutase, myocardial injury markers, malondialdehyde, and caspase-3. Immunohistochemical staining was used to detect cellular oxidative stress levels. TdT-mediated dUTP-biotin nick end labeling assay staining was used to detect the level of cell apoptosis. Western blot was used to detect the expression levels of red blood cell nuclear factor 2 related factor 2 (Nrf2) and heme oxygenase 1 (HO-1) related proteins. **Results** There was no statistically significant difference in myocardial injury markers, oxidative stress, cell apoptosis, and Nrf2, HO-1 protein expression between the normoxia + vehicle group and the normoxia + engeletin group ($P>0.05$). Compared with the normoxia + vehicle group, the hypoxia reoxygenation + vehicle group showed a significant increase in myocardial injury markers, reactive oxygen species, malondialdehyde, cell apoptosis rate, and caspase-3 levels, while the mRNA levels of related antioxidant enzymes, superoxide dismutase levels, and Nrf2, HO-1 protein expression decreased significantly ($P<0.05$). Compared with the hypoxia reoxygenation + vehicle group, the hypoxia reoxygenation + engeletin group showed a significant decrease in myocardial injury markers, reactive oxygen species, malondialdehyde, cell apoptosis rate, and caspase-3 levels. The mRNA levels of related antioxidant enzymes, superoxide dismutase levels, and Nrf2, HO-1 protein expression were significantly increased ($P<0.05$). **Conclusion** Engeletin can alleviate oxidative stress damage and apoptosis in H9c2 cells subjected to hypoxia reoxygenation, possibly through the Nrf2/HO-1 pathway.

【Keywords】 Engeletin; Hypoxia reoxygenation; Oxidative stress; Apoptosis

基金项目:国家自然科学基金(81530012);国家自然科学基金区域创新发展联合基金(U22A20269);国家重点研发项目(2018YFC1311300)

通信作者:唐其柱, E-mail: qztang@whu.edu.cn

缺血性心脏病是一种发病率极高的心血管疾病,至今仍然是一个重要的健康问题,并持续受到全球关注^[1]。心肌梗死预后差且死亡率高,常导致左心室功能障碍、心肌重构、心力衰竭,甚至死亡^[2]。早期疏通梗死区血管恢复血流,以挽救濒死心肌改善预后是目前最重要的治疗措施,但再灌注治疗自身也会引起缺血再灌注损伤,导致细胞损伤增加和梗死面积扩大,严重影响临床疗效^[3]。近年来,许多实验数据^[4]显示,一些天然化合物具有抗炎、抗氧化、抗凋亡和心脏保护作用,发现或开发新的策略来干预心肌缺血再灌注损伤,以改善患者的临床结果至关重要。相关研究^[5-6]表明,缺血再灌注诱导的心肌细胞损伤与心肌细胞氧化应激及心肌细胞凋亡密切相关。心肌缺血再灌注损伤源于氧化应激、炎症和细胞内钙超载,并引起细胞凋亡、自噬和坏死导致大量心肌细胞死亡,从而导致心肌损伤和功能障碍^[7]。

黄杞苷(Engeletin, Eng)是一种属于黄烷醇糖苷的天然化合物,存在于水果和蔬菜中,同时广泛分布在许多草药中,因其作为许多药物的主要生物活性成分,在中医治疗中应用广泛^[8-9]。Eng 可以有效抑制活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生,可通过多种途径减轻不同疾病中的细胞氧化应激^[10-11]。同时越来越多研究^[12-13]表明,Eng 具有抗溃疡、抗凋亡和抗炎等作用。但 Eng 对心肌细胞缺氧再复氧的作用尚不明确,因此本研究利用细胞缺氧再复氧模拟心肌缺血再灌注损伤过程,探讨 Eng 对 H9c2 心肌细胞缺氧再复氧损伤的影响及其作用机制。

1 材料与方法

1.1 试剂与材料

H9c2 心肌细胞购于中国科学院上海细胞库; Eng 购于 MCE 公司; 无血清细胞冻存培养基(Dulbecco's modified eagle medium, DMEM)培养液、胎牛血清和 0.25% 胰蛋白酶均购于 Thermo Fisher; 核转录因子 2 相关因子 2(nuclear factor-erythroid 2-related factor 2, Nrf2)、血红素加氧酶 1(heme oxygenase-1, HO-1)和甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体购于美国 CST 公司; 心肌损伤标志物[心肌肌钙蛋白 I(cardiac troponin I, cTnI)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、肌酸激酶同工酶(creatine kinase myocardial band, CK-MB)]检测试剂盒购于上海酶联生物科技有限公司; 原位末端转移酶标记法(TdT-mediated dUTP-biotin nick end labeling assay, TUNEL assay)凋亡检测试剂盒、胱天蛋白酶(caspase)-3 活性检测试剂盒、2', 7'-二氯荧光素二乙酸酯(2', 7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate,

DCFH-DA)探针、过氧化氢酶(catalase, CAT)检测试剂盒购于上海碧云天; 丙二醛(malondialdehyde, MDA)检测试剂盒、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)检测试剂盒购于南京建成生物工程研究所。

1.2 细胞培养、模型构建及分组

复苏冻存的 H9c2 心肌细胞,用含有 10% 胎牛血清及 1% 双抗的 DMEM 培养基培养,放置于 5% CO₂、37 °C 的培养箱中。每隔 1~2 d 更换培养基,传代培养,取对数生长期 H9c2 心肌细胞接种于 96 孔板中进行实验。首先将 H9c2 心肌细胞用磷酸盐缓冲溶液洗涤两次,换为无糖、无胎牛血清的培养基放置于氧浓度为 2% 的培养箱中培养 3 h,再换为正常培养基放置在氧浓度 21% 的培养箱中培养 3 h,以构建 H9c2 心肌细胞缺氧再复氧(hypoxia reoxygenation, HR)损伤模型。空白对照组不构建模型,于常规条件下孵育。将 H9c2 心肌细胞随机分为四组:常氧+溶剂组(Normoxia + Veh 组)、常氧+Eng 组(Normoxia + Eng 组)、缺氧再复氧+溶剂组(HR + Veh 组)和缺氧再复氧+Eng 组(HR + Eng 组)。Normoxia + Veh 组:10% DMEM 培养基培养 24 h; Normoxia + Eng 组:10% DMEM 培养基培养同时加入 1.5 mmol/L 的 Eng 处理 24 h; HR + Veh 组:构建 HR 模型培养 24 h; HR + Eng 组:构建 HR 模型后加入 1.5 mmol/L 的 Eng 培养 24 h。

1.3 生化指标检测

刺激结束后弃细胞培养液,收集细胞制成细胞匀浆,离心后取上清进行检测。按照试剂检测说明书检测 cTnI、LDH、CK-MB、MDA、SOD 水平及 CAT、caspase-3 活性。

1.4 Western blot 检测

刺激结束后弃细胞培养液,收集细胞按照说明书提取 H9c2 心肌细胞的总蛋白并进行二喹啉甲酸定量,通过十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白样本,经过电转法将蛋白转于聚偏二氟乙烯膜上。在 4 °C 条件下进行一抗孵育过夜,次日充分清洗后孵育二抗 1 h。采用化学发光显影仪检测各组蛋白,并用 Image J 软件进行条带灰度值处理及分析。以 GAPDH 为内参,定量结果以相关目的条带和内参的比值显示。

1.5 实时荧光定量聚合酶链反应检测

刺激结束后弃细胞培养液,采用 Trizol(1 mL/皿)提取收集细胞,按照说明书经过 RNA 抽提、沉淀、漂洗、溶解后提取 H9c2 心肌细胞的总 RNA; 利用分光光度计检测波长 260 nm 和 280 nm 的光密度值,计算比值,测量 RNA 浓度及纯度,逆转录成互补 DNA 后以 GAPDH 为内参,检测相关抗氧化酶 mRNA 的表达。

1.6 细胞染色

1.6.1 TUNEL 检测染色

将细胞接种于 24 孔板爬片,处理结束后弃细胞培

养液,根据说明书对 H9c2 心肌细胞进行 TUNEL 检测染色,于荧光倒置显微镜进行观察,对四组细胞拍照并计算凋亡阳性细胞比例进行定量分析。

1.6.2 荧光探针 DCFH-DA 检测

将细胞接种于 6 孔板,处理结束后弃细胞培养液,按照 ROS 检测试剂盒说明书对各组细胞进行 ROS 染色,于荧光倒置显微镜观察并拍照。运用 Image J 软件分析实验结果光密度,然后根据光密度数据选择数据分析软件(GraphPad Prism)进行数据分析及作图。

1.7 统计学分析

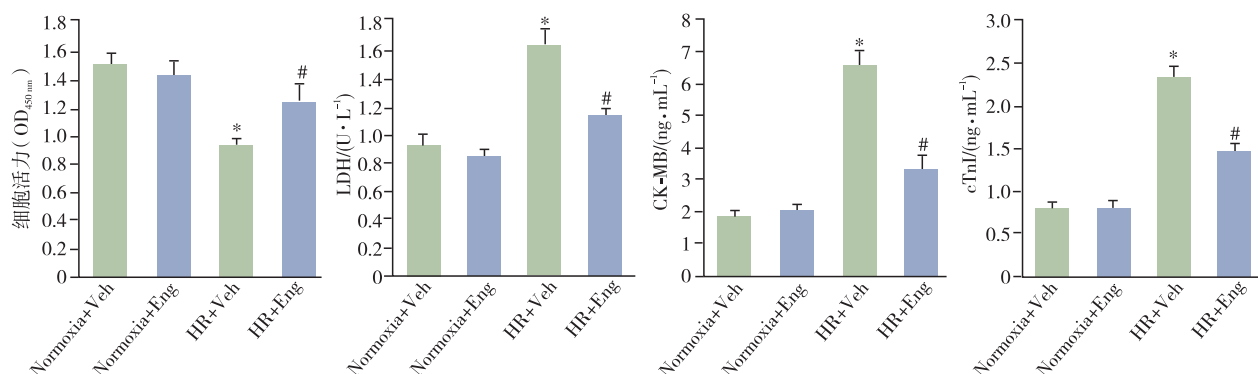
采用 SPSS 25.0 统计软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ (均数 \pm 标准差) 表示,两两样本比较采用两独立样本 t 检验,多组间样本比较采用单因素方差分

析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Eng 减轻 H9c2 心肌细胞的 HR 损伤

细胞活力检测实验表明,HR 刺激降低了 H9c2 心肌细胞活性 ($P < 0.05$),而 Eng 治疗明显抑制了 HR 诱导的细胞活性下降现象 ($P < 0.05$); Normoxia + Veh 组与 Normoxia + Eng 组心肌损伤标志物 LDH、CK-MB 及 cTnI 水平相比较,无统计学差异 ($P > 0.05$); 与 Normoxia + Veh 组比较,HR + Veh 组 LDH、CK-MB 及 cTnI 水平明显升高 ($P < 0.05$); 与 HR + Veh 组比较,HR + Eng 组 LDH、CK-MB 及 cTnI 水平明显下降 ($P < 0.05$) (图 1),说明 HR 明显造成了心肌损伤,而 Eng 治疗可以有效改善这种损伤。



注:OD,光密度; * 表示与 Normoxia + Veh 组相比, $P < 0.05$; #表示与 HR + Veh 组相比, $P < 0.05$; $n = 6$ 。

图1 各组细胞活力和心肌损伤标志物 LDH、CK-MB 和 cTnI 的水平

2.2 Eng 减轻 H9c2 心肌细胞的氧化应激损伤

DCFH-DA 染色显示,HR 处理后 H9c2 心肌细胞 ROS 产生明显增加,Eng 处理可显著抑制 HR 诱导的 ROS 产生 ($P < 0.05$)。HR 处理的细胞较 Normoxia + Veh 组细胞中的 MDA 含量明显升高 ($P < 0.05$),Eng 治疗可以明显减少细胞中由 HR 诱导的 MDA 的生成 ($P < 0.05$)。HR 处理后细胞 SOD 水平明显降低,而在 Eng 治疗后显著恢复 ($P < 0.05$)。与 Normoxia + Veh 组相比,HR 处理的细胞 SOD2、CAT 以及谷胱甘肽过氧化物酶 1 (glutathione peroxidase 1, GPX1) 的 mRNA 表达水平降低 ($P < 0.05$),Eng 治疗的细胞较 HR 细胞的 SOD2、GPX1 以及 CAT 的 mRNA 表达水平明显上调 ($P < 0.05$) (图 2)。

2.3 Eng 减轻 HR 诱导的 H9c2 心肌细胞凋亡

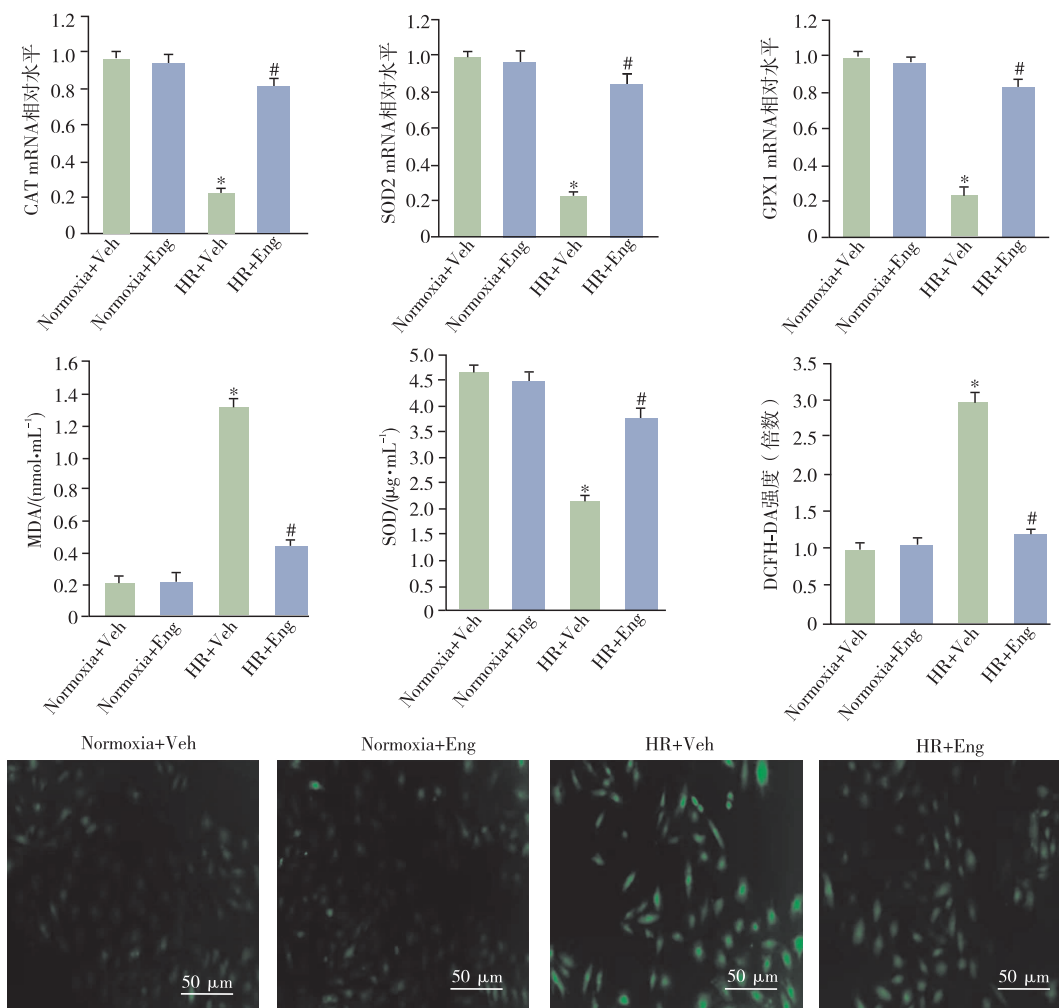
TUNEL 检测染色显示,HR 处理后 H9c2 心肌细胞凋亡水平明显增加,Eng 治疗可显著降低 HR 后细胞凋亡水平 ($P < 0.05$)。与 Normoxia + Veh 组相比,HR 处理后 H9c2 心肌细胞的 caspase-3 的活性增加,Eng 治疗可显著降低由 HR 诱导的 caspase-3 的活性的增加 ($P < 0.05$) (图 3)。

2.4 Eng 通过 Nrf2/HO-1 通路发挥对 H9c2 心肌细胞的保护作用

Western blot 结果显示,HR + Veh 组的 H9c2 心肌细胞 Nrf2、HO-1 明显降低;而使用 Eng 治疗显著恢复了细胞中 Nrf2、HO-1 的含量 ($P < 0.05$) (图 4)。这一结果表明,Eng 可能是通过 Nrf2/HO-1 通路发挥对 H9c2 心肌细胞的保护作用。

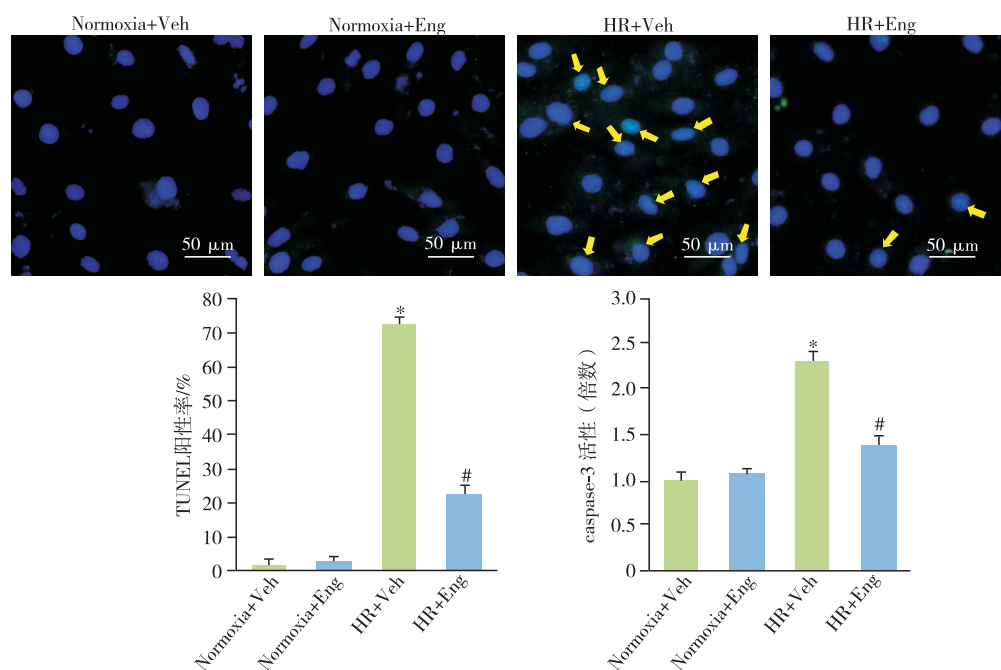
3 讨论

迄今为止,缺血性心脏病依然是全球高发疾病。心肌梗死后通过多种途径诱导心肌细胞死亡,导致心律失常、心肌重构及心力衰竭,最终可能导致死亡^[14]。及时恢复冠状动脉血流灌注从而限制心肌的缺血区是解救急性心肌梗死的最佳方式,可以有效改善心肌梗死患者预后,降低死亡率^[15]。然而,再灌注治疗本身会矛盾地触发心肌梗死的加重和加速损伤,称为缺血再灌注损伤。因此减轻心肌细胞缺血再灌注后的损伤并保持心脏功能对于降低缺血性心脏病乃至心血管疾病的风险至关重要^[16-17]。对于找到能缓解相关损伤的治疗药物具有十分重要的研究意义。



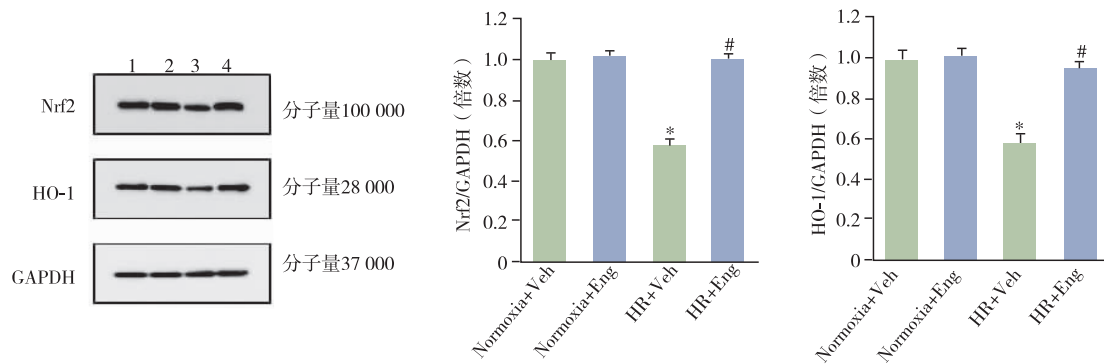
注: * 表示与 Normoxia + Veh 组相比, $P < 0.05$; # 表示与 HR + Veh 组相比, $P < 0.05$; $n = 6$ 。

图2 各组细胞 CAT、SOD2、GPX1 的 mRNA 水平和 MDA、SOD 水平及 DCFH-DA 染色情况



注: * 表示与 Normoxia + Veh 相比, $P < 0.05$; # 表示与 HR + Veh 组相比, $P < 0.05$; $n = 6$ 。

图3 各组细胞 caspase-3 的活性及细胞凋亡情况



注:1, Normoxia + Veh;2, Normoxia + Eng;3, HR + Veh;4, HR + Eng。* 表示与 Normoxia + Veh 组相比, $P < 0.05$; #表示与 HR + Veh 组相比, $P < 0.05$; $n = 6$ 。

图4 各组细胞 Nrf2 及 HO-1 蛋白表达水平

研究^[18]表明,尽管缺血再灌注诱导的心肌细胞损伤机制十分复杂,但缺血再灌注导致的细胞氧化应激通常被认为是主要的病理机制之一,过量 ROS 的产生导致了心肌毒性。在生理条件下,ROS 是正常细胞代谢过程的结果,在生理条件下其与抗氧化剂保持动态平衡^[19]。再灌注治疗后,在高氧张力刺激下,立即诱导更高水平的 ROS 产生,细胞 ROS 和内源性抗氧化剂之间失衡,而这可能引起心肌细胞结构的氧化损伤,如引发脂质过氧化、蛋白质羰基化、DNA 氧化以及线粒体功能障碍^[5,20-21]。相关报道^[22]显示,大脑中动脉闭塞大鼠脑缺血再灌注损伤模型及氧-葡萄糖剥夺和复氧模型中诱导的神经元细胞氧化应激损伤在 Eng 治疗后显著改善。Xu 等^[23]研究发现,Eng 通过 HMGB1/TLR4/NF- κ B 信号通路显著保护氧-葡萄糖剥夺/复氧导致的神经细胞损伤。本研究也发现,Eng 可以明显改善由于 HR 引起的心肌细胞氧化应激,保护心肌细胞。

同时,凋亡在 HR 中也发挥重要作用^[17]。HR 诱导过量 ROS 产生,引起心肌细胞结构的氧化损伤,其中包括线粒体功能障碍,线粒体损伤加速细胞色素 C 从线粒体释放到胞质中,激活 caspase,引起多条凋亡通路的激活^[24]。此外,还可通过跨膜死亡受体触发细胞凋亡,肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体通过内质网应激和 NF- κ B 信号通路增强死亡受体多巴胺受体 5 的表达,并促进 HR 治疗后巨噬细胞的迁移,同时伴有炎症因子的表达^[25]。有作者实验证明 Eng 可抑制 NF- κ B 和 MAPK 通路抑制细胞凋亡^[13]。Zhang 等^[26]研究表明,Eng 可抑制转化生长因子胞内信号蛋白和氨基末端激酶的磷酸化,引起淋巴结细胞 RNA 水平降低,减轻细胞凋亡。Eng 还可通过抑制水溶性相关蛋白表达和上调 B 细胞淋巴瘤-2 表达来改善软骨细胞凋亡^[10]。本文研究数据显示,HR 处理后 H9c2 心肌细胞凋亡水平明显增加,Eng 治疗可显著降低 HR 后细胞凋亡水平;同时,Eng 治疗可显著降低由 HR 诱导的 caspase-3 活性的增加。

Nrf2 是细胞抗氧化防御系统中的关键因子,研究

显示 Nrf2 在急性肾损伤中改善炎症和氧化应激损伤方面发挥着重要作用^[27]。Nrf2 的上调可以增强 HO-1 的表达,从而清除细胞中积累的 ROS,减轻内质网应激和细胞凋亡也得到研究证实^[28]。Huang 等^[29]研究发现 Eng 可以诱导 Nrf2 的激活,并显著保护大鼠淀粉样蛋白 β 1-42 诱导后细胞氧化应激。同时研究^[30]表明,Nrf2 可改善异丙肾上腺素诱导的小鼠心肌重构以及氧化应激,显示出心脏保护作用。本文研究数据表明,HR 模型可导致大量心肌细胞氧化应激和细胞凋亡,而 Eng 治疗可以明显改善由于 HR 引起的心肌细胞氧化应激和细胞凋亡,恢复因 HR 导致的 Nrf2、HO-1 降低,说明 Eng 对心肌 HR 具有保护作用并可能通过 Nrf2/HO-1 通路实现。

心肌梗死后灌注恢复不及时可能引起心肌瘢痕的形成,进一步导致心肌重构和心力衰竭。包括经皮冠状动脉介入治疗在内的再灌注治疗大大降低了心肌梗死的死亡率,改善了心肌梗死的预后。但是,再灌注治疗本身会触发心肌缺血再灌注损伤,因此,研究如何改善心肌缺血再灌注损伤具有重要的医学意义。本研究发现了 Eng 在 HR 诱导的心肌细胞中显著减轻了心肌细胞氧化应激损伤及细胞凋亡,而保护作用可能通过 Nrf2/HO-1 通路实现。

参考文献

- [1] Tsao CW, Aday AW, Almarazooq ZI, et al. Heart disease and stroke statistics—2023 Update; a report from the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2023, 147(8):e93-e621.
- [2] Bergmark BA, Mathenge N, Merlini PA, et al. Acute coronary syndromes [J]. *Lancet*, 2022, 399(10332):1347-1358.
- [3] Lecour S, Andreadou I, Bøtker HE, et al. Improving Preclinical Assessment of Cardioprotective Therapies (IMPACT) criteria: guidelines of the EU-CARDIOPROTECTION COST Action [J]. *Basic Res Cardiol*, 2021, 116(1):52.
- [4] Dong L, Shen Z, Chi H, et al. Research progress of chinese medicine in the treatment of myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. *Am J Chin Med*, 2023, 51(1):1-17.

(下转第 576 页)

幼年特发性关节炎和代谢综合征各组分的相关性研究

贾朗^{1,2} 张伟³ 薛艳² 陈娅君² 汪汉² 谢江^{1,2}

(1. 西南医科大学临床医学院儿科, 四川 泸州 646000; 2. 成都市第三人民医院, 四川 成都 610031; 3. 成都市妇女儿童中心医院儿童风湿免疫科, 四川 成都 611731)

【摘要】目的 分析幼年特发性关节炎(JIA)患者代谢综合征(MetS)各组分[腰围、血压、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、甘油三酯(TG)、空腹血糖]发生情况,并探索JIA与代谢异常风险是否相关及相关因素。**方法** 收集2020年1月—2022年12月西南医科大学附属医院、成都市第三人民医院、成都市妇女儿童中心医院确诊的JIA患者140例作为病例组,以及儿童保健门诊接受体检的儿童140例作为对照组,比较两组患儿之间MetS各组分发生情况,及探索JIA患者代谢异常发生的可能因素。**结果** 两组患儿的HDL-C、TG有统计学差异($P < 0.05$),体重指数、腰围、血压、空腹血糖均无统计学差异($P > 0.05$);与对照组比较,JIA患者的MetS两项指标异常检出率更高($P = 0.004$),MetS三项及以上指标的异常检出率在组间差异无统计学意义($P > 0.05$);JIA患者的白蛋白、血红蛋白显著下降,天冬氨酸转氨酶、肌酐显著升高($P < 0.05$),丙氨酸转氨酶、尿素、尿酸无统计学差异($P > 0.05$)。疾病活动度(DAS28评分)与空腹血糖呈正相关($r = 0.240, P = 0.004$),与HDL-C呈负相关($r = -0.402, P < 0.001$),而与体重指数、腰围、血压、TG无关系($P > 0.05$)。多因素logistic回归分析发现,DAS28评分和病程是JIA合并MetS的独立危险因素($P < 0.05$)。**结论** JIA与MetS无显著相关性,但JIA中DAS28评分与MetS患病风险增加有关,提示JIA患者的炎症活动在MetS中可能起着重要作用。

【关键词】 幼年特发性关节炎;代谢综合征;心血管风险

【DOI】10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2024.06.021

The Relationship Between Juvenile Idiopathic Arthritis and Various Components of Metabolic Syndrome

JIA Lang^{1,2}, ZHANG Wei³, XUE Yan², CHEN Yajun², WANG Han², XIE Jiang^{1,2}

(1. Department of Pediatrics, School of Clinical Medicine, Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan, China; 2. The Third People's Hospital of Chengdu, Chengdu 610031, Sichuan, China; 3. Pediatric Immunology and Rheumatology Department, Chengdu Women's and Children's Central Hospital, Chengdu 611731, Sichuan, China)

【Abstract】Objective To analyze the prevalence of various components of metabolic syndrome (MetS) [waist circumference, blood pressure, high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), triglycerides (TG), fasting blood glucose] in patients with juvenile idiopathic arthritis (JIA), and to explore whether JIA is associated with the risk of metabolic abnormality and its related factors. **Methods** There were 140 patients with JIA in The Affiliated Hospital of Southwest Medical University, The Third People's Hospital of Chengdu, and The Chengdu Women's and Children's Center Hospital from January 2020 to December 2022. 140 children who underwent physical examination from the child health clinic were selected as the control group. The prevalence of components of MetS in the study group and control group were compared, and the possible factors of metabolic abnormalities in patients with JIA were explored. **Results** There were statistical differences in HDL-C and TG between the two groups ($P < 0.05$), and no statistical differences in body mass index, waist circumference, blood pressure, and fasting blood glucose ($P > 0.05$). Compared with the control group, the detection rate of two abnormalities of MetS was higher in patients with JIA ($P = 0.004$). There were no statistical differences in the detection rate of three or more abnormalities of MetS between groups ($P > 0.05$). The patients with JIA had significant reductions in albumin and hemoglobin and significant increases in aspartate transaminase and creatinine ($P < 0.05$), while there were no statistical differences in alanine transaminase, urea and uric acid between groups ($P > 0.05$). The level of disease activity (DAS28) was positively correlated with fasting blood glucose ($r = 0.240, P = 0.004$), and negatively correlated with HDL-C ($r = -0.402, P < 0.001$), whereas no relationship with body mass index, waist circumference, blood pressure, and TG ($P > 0.05$). In multivariate logistic regression analysis, the level of DAS28 and disease duration were found to be independent risk factors for MetS ($P < 0.05$). **Conclusion** JIA was not significantly associated with MetS, but the level of DAS28 was associated with an increased risk of MetS,

基金项目:四川省科技厅项目(2021YJ0170);成都市科技局项目(2019-YF05-00498-SN)

共同第一作者:贾朗,张伟

通信作者:谢江, E-mail:909380599@qq.com

suggesting that inflammatory activity in patients with JIA may play an important role in MetS.

【Keywords】 Juvenile idiopathic arthritis; Metabolic syndrome; Cardiovascular risk

幼年特发性关节炎(juvenile idiopathic arthritis, JIA)是一种常见的慢性炎症性关节病,主要发生于 16 周岁以下的儿童和青少年,其重要特征是关节不明原因肿胀持续 6 周以上,且其他病因已被排除。目前病因尚不明,至今无可治愈的方法。该病发病率为 1/10 万~22/10 万。中国目前仍主要采用 2001 年国际风湿病学联盟儿科常委专家组的诊断及分类标准:类风湿因子(rheumatoid factor, RF)阳性多关节型、RF 阴性多关节型、少关节型、全身型、附着点炎相关型、银屑病型、未分类型^[1-4],其中西方国家少关节型多见,东南亚国家全身型多见^[5]。JIA 患者的心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)风险高,易出现血压、血糖、血脂异常等^[6-8]。有研究^[9]表明,CVD 已成为 JIA 患者死亡的第二大原因。

代谢综合征(metabolic syndrome, MetS)也称为 X 综合征、胰岛素抵抗综合征等^[10],MetS 本身不是一种疾病,而是一组代谢失调,包括胰岛素抵抗、动脉粥样硬化性血脂异常、向心性肥胖和高血压^[11]。MetS 是心血管事件的危险因素集合^[12],全球患病人数约占世界人口的 1/4^[10],且患病率呈日益增加的趋势,其中包括儿童,2020 年就已估计全球儿童 MetS 患病率约为 3%,青少年约为 5%^[13],正逐渐成为严重的健康问题和经济负担^[14]。

有研究表明,在类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)中,MetS 患病率为 30.6%^[15-16],而 JIA 和 RA 具有临床和遗传相似性^[17-18]。在 JIA 患者中,是否易伴发 MetS 尚不明确,本研究回顾性分析了 JIA 患者中 MetS 及各组分的发生情况,并试图探讨 JIA 患者中 MetS 与疾病活动度的可能关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

1.1.1 病例收集

本研究回顾性收集了 2020 年 1 月—2022 年 12 月西南医科大学附属医院、成都市第三人民医院、成都市妇女儿童中心医院就诊确诊的 JIA 患者 140 例作为病例组,其中男性 85 例(61%),女性 55 例(39%),男女比例 1.5:1,年龄 7~16 岁。同时选取了同时期排除有任何慢性疾病、内分泌疾病、心脑血管疾病和高脂血症的上述医院儿童保健门诊接受体检的儿童 140 例作为本次对照组。本研究获得成都市第三人民医院伦理委员会批准(编号:2023S23)。

1.1.2 纳入及排除标准

JIA 患者的纳入标准:(1)符合 2001 年国际风湿病学联盟儿科常委专家组制定的诊断及分类标准,具体包括,①年龄<16 周岁;②全身有一个或多个关节表现出红肿、疼痛、活动受限等情况;③排除其他已知病因的关节炎;④7 个亚型分类(全身型、RF 阳性多关节型、RF 阴性多关节型、少关节型、银屑病型、附着点炎相关型、未分类型)。(2)年龄 7~16 岁。

排除标准:(1)已患有如肝硬化、肿瘤等严重影响内分泌系统的患者;(2)近 1 个月内使用糖皮质激素的患者;(3)资料不完善的患者。

对照组的纳入标准:(1)年龄 7~16 岁;(2)排除了慢性疾病、内分泌疾病、心脑血管疾病及高脂血症的儿童保健门诊接受体检的儿童。

排除标准:(1)近 1 个月内使用糖皮质激素的患者;(2)资料不完善的患者。

1.2 方法

1.2.1 人体测量及实验室检查

测量身高、体重、腰围,并计算体重指数(body mass index, BMI);电子血压计测量安静状态下右上臂血压。在空腹状态下抽取静脉血化验,包括甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、白蛋白、丙氨酸转氨酶(alanine transaminase, ALT)、天冬氨酸转氨酶(aspartate transaminase, AST)、尿素、肌酐、尿酸、血红蛋白(hemoglobin, Hb)等项目。

1.2.2 疾病活动度评分

疾病活动度评分(disease activity score, DAS):是用于评估 RA 患者的疾病活动度和治疗效果最常用的指标,DAS28 评分是包含 28 个关节的风湿活动度评分,根据关节肿胀数、压痛数、红细胞沉降率、C 反应蛋白和患者全身疾病活动水平计算而得分,由于数学公式的复杂性,临床上多使用专用计算器完成^[19]。通常 DAS28 评分<2.6 分说明疾病处于缓解期,2.6~<3.2 分说明处于低度活动期,3.2~5.1 分说明处于中度活动期,>5.1 分说明处于高度活动期。

1.2.3 儿童肥胖及 MetS 的界定

儿童肥胖诊断标准:采用中国肥胖问题工作组^[20]提供的《中国学龄儿童青少年超重、肥胖筛查体重指数分类标准》。MetS 诊断标准:由于目前国内外尚无关于儿童及青少年 MetS 的统一诊断标准,因此,根

据 Cook 等^[21]在美国国家胆固醇教育计划Ⅲ定义的美国青少年 MetS 标准,制定了用于本研究人群的 MetS 诊断标准^[22]。符合以下 5 项指标中的 3 项及以上者可诊断为 MetS:(1)向心性肥胖[腰围 \geq 同年龄同性别第 90 百分位数(P_{90})];(2)血压 \geq 同年龄同性别第 90 百分位数(P_{90});(3)TG 水平高($TG \geq 1.24$ mmol/L);(4)HDL-C 水平低(男性和女性 HDL-C 均 <1.03 mmol/L);(5)FBG 水平高($FBG \geq 5.6$ mmol/L)(美国糖尿病协会,2003)。

1.3 统计方法

使用 SPSS 26.0 软件包进行统计分析。计量资料使用中位数(四分位间距)描述统计量,组间比较则使用 t 检验或秩和检验,计数资料使用率(构成比)描述统计量,并使用 χ^2 检验进行组间比较,相关性分析使

用 Spearman 相关分析。通过控制混杂因素进行多因素 logistic 回归分析。以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 JIA 患者和对照组的 MetS 各组分及异常指标检出率比较

与对照组比较,JIA 患者的 TG 升高、HDL-C 降低有统计学差异($P < 0.05$),BMI、腰围、血压、FBG 均无统计学差异($P > 0.05$),见表 1;与对照组比较,JIA 患者更易出现 HDL-C 降低($P < 0.001$)和 TG 升高($P = 0.023$),腰围过大、血压升高和 FBG 水平升高的发生率在组间无统计学差异($P > 0.05$);JIA 患者的 MetS 两项异常指标检出率更高($P = 0.004$),三项及以上异常指标检出率在组间无统计学差异($P > 0.05$)(见表 2)。

表 1 JIA 患者和对照组的 MetS 各组分及其他临床特征分析

变量	病例组($n = 140$)	对照组($n = 140$)	P
年龄/岁	10.00(9.00,12.00)	10.00(8.00,13.00)	0.753
性别			
男/[$n(\%)$]	85(61)	98(70)	0.103
女/[$n(\%)$]	55(39)	42(30)	
BMI/($\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$)	16.35(14.58,18.81)	15.55(13.89,18.77)	0.141
腰围/cm	60.05(54.00,68.20)	59.90(55.20,69.40)	0.786
收缩压/mm Hg	102.00(96.00,108.00)	103.00(97.00,109.75)	0.261
舒张压/mm Hg	63.50(56.25,69.75)	62.00(58.00,67.00)	0.106
TG/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	1.11(0.88,1.50)	0.91(0.69,1.32)	0.003*
HDL-C/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	1.18(0.88,1.47)	1.38(1.23,1.68)	$<0.001^*$
FBG/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	4.89(4.25,5.37)	4.81(4.55,5.33)	0.461
白蛋白/($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	41.65(38.10,44.78)	42.90(41.00,44.80)	0.004*
ALT/($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)	13.45(10.70,19.40)	13.05(11.10,16.88)	0.359
AST/($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)	21.65(17.80,27.08)	18.90(16.30,22.45)	$<0.001^*$
尿素/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	4.22(3.50,5.33)	4.22(3.37,4.82)	0.395
尿酸/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	280.80(232.55,320.08)	280.60(241.43,327.55)	0.238
肌酐/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	36.25(31.70,39.80)	36.20(35.20,46.20)	0.003*
Hb/($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	122.00(111.25,130.00)	133.00(126.00,142.00)	$<0.001^*$
病程/年	0.50(0.20,1.00)		

注:*表示 $P < 0.05$,具有统计学意义。1 mm Hg = 0.133 3 kPa。

表 2 JIA 患者和对照组的 MetS 各组分异常指标检出率比较

变量	病例组($n = 140$)	对照组($n = 140$)	P
腰围 $\geq P_{90}$ (同年龄同性别)/[$n(\%)$]	4(2.9)	12(8.6)	0.072
收缩压 $\geq P_{90}$ (同年龄同性别)和/或舒张压 $\geq P_{90}$ (同年龄同性别)/[$n(\%)$]	19(13.6)	17(11.4)	0.588
$TG \geq 1.24$ mmol $\cdot\text{L}^{-1}$ /[$n(\%)$]	56(40.0)	38(27.1)	0.023*
$HDL-C < 1.03$ mmol $\cdot\text{L}^{-1}$ /[$n(\%)$]	49(35.0)	17(12.1)	$<0.001^*$
$FBG \geq 5.6$ mmol $\cdot\text{L}^{-1}$ /[$n(\%)$]	27(19.3)	19(13.6)	0.197
两项指标异常/[$n(\%)$]	33(23.6)	15(10.7)	0.004*
\geq 三项指标异常/[$n(\%)$]	13(9.3)	8(6.0)	0.257

注:*表示 $P < 0.05$,具有统计学意义。

2.2 JIA 患者和对照组的其他临床特征分析

与对照组比较,JIA 患者的白蛋白、Hb 下降,AST、

肌酐升高,有统计学差异($P < 0.05$),ALT、尿素、尿酸无统计学差异($P > 0.05$)(表 1)。

2.3 JIA 患者的 DAS28 评分与 MetS 各组分的相关性

将 JIA 患者的 DAS28 评分与 MetS 各组分进行 Spearman 相关分析,发现 DAS28 评分与 FBG 呈正相关($r = 0.240, P = 0.004$),与 HDL-C 负相关($r = -0.402, P < 0.01$),而与 BMI、腰围、血压水平、TG 无关系($P > 0.05$)(表 3)。

2.4 JIA 患者 MetS 的多因素 logistic 回归分析

将 JIA 患者分为 JIA 合并 MetS、JIA 非合并 MetS,

进行多因素二元 logistic 回归分析发现,DAS28 评分($OR = 4.839, 95\% CI 1.007 \sim 23.263$)、病程($OR = 1.447, 95\% CI 1.004 \sim 2.086$)是 JIA 合并 MetS 的独立危险因素(表 4)。无 MetS 组分的 JIA 患者($n = 44$)的中位 DAS28 评分为 3.0(2.7 ~ 3.3),而存在 1 ~ 2 个 MetS 组分的患者($n = 83$)的中位 DAS28 评分为 3.7(3.1 ~ 4.0), ≥ 3 个 MetS 组分的患者($n = 13$)的 DAS28 评分为 4.0(3.5 ~ 4.9)(图 1)。

表 3 JIA 患者的 DAS28 评分与 MetS 各组分的相关性

		BMI	腰围	收缩压	舒张压	TG	HDL-C	FBG
DAS28 评分	r	-0.035	-0.072	0.084	0.055	0.148	-0.402	0.240
	P	0.677	0.399	0.322	0.517	0.080	<0.001*	0.004*

注:*表示 $P < 0.05$,具有统计学意义。

表 4 JIA 患者 MetS 的多因素 logistic 回归分析

变量	β	SE	$Wald$	OR	95% CI	P
DAS28 评分	1.577	0.801	3.874	4.839	1.007 ~ 23.263	0.049*
病程	0.370	0.187	3.920	1.447	1.004 ~ 2.086	0.048*
年龄	-0.074	0.149	0.244	0.929	0.694 ~ 1.244	0.621
BMI	0.041	0.093	0.192	1.042	0.868 ~ 1.250	0.661
性别	0.407	0.620	0.431	1.502	0.446 ~ 5.062	0.511

注:*表示 $P < 0.05$,具有统计学意义。

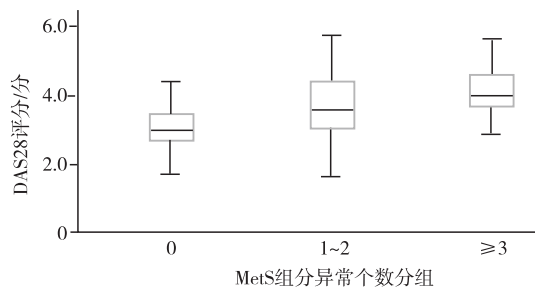


图 1 DAS28 与存在的 MetS 组分数量的相关性

3 讨论

本研究发现,JIA 患者中 MetS 组分两项指标异常的检出率高于对照组($P = 0.004$),三项及以上指标的异常检出率在两组间并无统计学差异($P > 0.05$),此外,还发现 DAS28 评分与 JIA 患者 MetS 患病风险增加有关。目前国内外关于 JIA 和 MetS 的研究都较为有限,原因可能是国际上对于儿童 MetS 无统一的诊断标准,因此很多研究只涉及 MetS 的某一个组分与 JIA 之间的关系。

本研究还发现,与对照组比较,JIA 患者的血脂异常率更高($P < 0.001$),此外还发现 DAS28 评分与血脂紊乱之间存在显著相关性($P < 0.001$)。以往的研究^[8,23]发现,超过 3/4 的 JIA 患者有血脂异常,其中,低 HDL-C 水平是最常见的脂质改变,其余脂质谱改变

略有差异。这种促动脉粥样硬化的脂质谱更常见于全身型 JIA 患者。Sun 等^[24]还发现 JIA 亚型及 DAS28 评分与 JIA 患者的血脂代谢紊乱有影响,其中全身型 JIA、RF 阳性多关节型患者在疾病活动期 HDL-C 降低,低密度脂蛋白胆固醇升高,而治疗后缓解期的血脂紊乱较活动期有所改善。然而,治疗 JIA 的药物如糖皮质激素,可通过提高脂肪酶的活性、促进脂肪分解和增强细胞内脂肪酸氧化功能的方式导致机体内脂肪代谢紊乱^[25]。因此,JIA 患者的脂质改变可能与炎症活动度、亚型、治疗药物的影响有关。本研究的血脂异常率低于 Rodrigues 等^[8]的研究结果,这种差异可能归因于本研究人群大多数为儿童专科医院的患者,处于疾病早期或疾病控制中,低度炎症状态导致血脂异常还未出现,但本研究缺少亚型分析,这是一个不足之处。

本研究中关于 JIA 患者与 MetS 其他方面关系的分析发现,JIA 患者的 BMI 高于对照组,但可能由于病例数量相对较少,并未发现统计学差异($P > 0.05$)。2011 年一项关于摩洛哥 JIA 患者超重患病率的横断面研究^[26]发现,这些患者中超过 60% 存在超重。而 Merwin 等^[27]通过分析 2013—2016 年的美国 NHANES 数据发现,有 JIA 史的患者肥胖风险增加了 3 倍。这些研究结果提示,肥胖和超重可能是 JIA 患者面临的

潜在不良后果。因此,需动态监测 JIA 患者的 BMI,以防止肥胖和超重带来的远期风险。此外,本次研究中未观察到两组患者在 FBG 水平方面存在显著差异,但发现 FBG 与 DAS28 评分之间存在相关性($r=0.240$, $P=0.004$),这提示随着慢性炎症持续存在,JIA 患者可能会有远期血糖升高的风险。

一项美国的商业保险数据^[7]显示,与正常对照组比较,JIA 患者罹患 1 型糖尿病的风险有所上升。Schenck 等^[28]同样发现,JIA 患者中 1 型糖尿病的发病率高于正常人群,发病率为 0.5%,且未接受治疗的人群发病率可能更高。JIA 的治疗方式主要是通过控制炎症达到缓解病情的目的。JIA 患者的低度慢性炎症可能持续到成年^[1,29],因此,JIA 长期得不到妥善治疗远期可能导致糖代谢紊乱。此外,在多因素回归分析中,调整年龄、性别、BMI 等混杂因素后,发现 JIA 合并 MetS 患者的 DAS28 评分中高风险显著性高($P=0.049$),这表明 JIA 患者的炎症活动可能在代谢紊乱的演变中发挥着重要作用。因此,控制炎症可能会减少 JIA 患者的代谢性疾病的发生和发展,同时建议动态监测 JIA 患者的 MetS 各组分,如血脂、FBG、肥胖等,以降低远期心血管风险。

JIA 是一种慢性炎症,超过 1/3 的 JIA 患者的炎症可持续到成年后,且炎症持续时间越长,导致代谢异常的特征越明显^[29]。由于持续存在的慢性低度炎症,可能引起 JIA 患者并发 MetS 的风险增加,从而导致 JIA 患者成年后心血管风险增加,正如 RA 患者的 MetS 患病风险高,心血管风险也高。MetS、肥胖、2 型糖尿病等慢性疾病的形成原因均有慢性炎症的作用^[14],JIA 与 MetS 具有相同的全身低度慢性炎症机制,这种慢性炎症会导致脂肪、肝脏和心血管系统等组织中的免疫细胞激活,分泌细胞因子,干扰生物信号传导,促进 MetS 的形成与发展^[30]。因此,JIA 患者中代谢性疾病、CVD、肥胖等慢性患病率较高^[31]。

作为一项观察性研究,本研究存在一定局限性,变量间的因果关系无法确定。此外,由于研究中样本量相对较少,且 JIA 患者中已有部分患者接受了治疗,这导致 MetS 检出率低。本研究中,由于 JIA 患者的药物剂量、疗程不可控制,所以本研究未纳入这方面的内容,因此也未分析 MetS 与具体的治疗药物、方式、剂量、疗程及治疗状态之间的相关性。

综上所述,JIA 可能与 MetS 中的脂代谢异常有关。JIA 患者的疾病活动度(DAS28 评分)与 MetS 存在正相关,提示 JIA 患者的炎症活动在 MetS 中可能起着重要作用。希望未来更大规模的研究来阐明 MetS 在 JIA 患者中的重要性,从而为该人群提供新的诊疗

依据,对减少 CVD 的发生作出贡献。

参考文献

- [1] Zaripova LN, Midgley A, Christmas SE, et al. Juvenile idiopathic arthritis: from aetiopathogenesis to therapeutic approaches [J]. *Pediatr Rheumatol Online J*, 2021, 19(1):135.
- [2] McHugh J. Global prevalence of JIA, JSLE and club foot [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2020, 16(8):408.
- [3] Thierry S, Fautrel B, Lemelle I, et al. Prevalence and incidence of juvenile idiopathic arthritis: a systematic review [J]. *Joint Bone Spine*, 2014, 81(2):112-117.
- [4] Barut K, Adrovic A, Şahin S, et al. Juvenile idiopathic arthritis [J]. *Balkan Med J*, 2017, 34(2):90-101.
- [5] Consolaro A, Giancane G, Alongi A, et al. Phenotypic variability and disparities in treatment and outcomes of childhood arthritis throughout the world: an observational cohort study [J]. *Lancet Child Adolesc Health*, 2019, 3(4):255-263.
- [6] Gicchino MF, di Sessa A, Guarino S, et al. Prevalence of and factors associated to chronic kidney disease and hypertension in a cohort of children with juvenile idiopathic arthritis [J]. *Eur J Pediatr*, 2021, 180(2):655-661.
- [7] Lee H, Jin Y, Liu J, et al. Risk of diabetes mellitus in patients with juvenile idiopathic arthritis [J]. *J Rheumatol*, 2020, 47(9):1405-1408.
- [8] Rodrigues WDR, Sarni ROS, Fonseca FLA, et al. Biomarkers of lipid metabolism in patients with juvenile idiopathic arthritis: relationship with disease subtype and inflammatory activity [J]. *Pediatr Rheumatol Online J*, 2021, 19(1):66.
- [9] Ciurtin C, Robinson GA, Pineda-Torra I, et al. Challenges in implementing cardiovascular risk scores for assessment of young people with childhood-onset autoimmune rheumatic conditions [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2022, 9:814905.
- [10] Saklayen MG. The global epidemic of the metabolic syndrome [J]. *Curr Hypertens Rep*, 2018, 20(2):12.
- [11] Fahed G, Aoun L, Bou Zerdan M, et al. Metabolic syndrome: updates on pathophysiology and management in 2021 [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(2):786.
- [12] Silveira Rossi JL, Barbalho SM, Reverete de Araujo R, et al. Metabolic syndrome and cardiovascular diseases: going beyond traditional risk factors [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2022, 38(3):e3502.
- [13] Noubiap JJ, Nansseu JR, Lontchi-Yimagou E, et al. Global, regional, and country estimates of metabolic syndrome burden in children and adolescents in 2020: a systematic review and modelling analysis [J]. *Lancet Child Adolesc Health*, 2022, 6(3):158-170.
- [14] Xu H, Li X, Adams H, et al. Etiology of metabolic syndrome and dietary intervention [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 20(1):128.
- [15] Hallajzadeh J, Safiri S, Mansournia MA, et al. Metabolic syndrome and its components among rheumatoid arthritis patients: a comprehensive updated systematic review and meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2017, 12(3):e0170361.
- [16] Gomes KWP, Luz AJP, Felipe MRB, et al. Prevalence of metabolic syndrome in rheumatoid arthritis patients from Northeastern Brazil: association with disease activity [J]. *Mod Rheumatol*, 2018, 28(2):258-263.
- [17] Bohr AH, Fuhlbrigge RC, Pedersen FK, et al. Premature subclinical atherosclerosis in children and young adults with juvenile idiopathic arthritis. A review considering preventive measures [J]. *Pediatr Rheumatol Online J*, 2016, 14(1):3.
- [18] Hinks A, Marion MC, Cobb J, et al. Brief report: the genetic profile of rheumatoid factor-positive polyarticular juvenile idiopathic arthritis resembles that of adult rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2018, 70(6):957-962.
- [19] Barczyńska TA, Dura M, Blumfield E, et al. DAS28 score vs. ultrasound examination for assessment of rheumatoid arthritis disease activity: comparison

- and discussion of pros and cons[J]. *Reumatologia*, 2015, 53(4):213-218.
- [20] 中国肥胖问题工作组. 中国学龄儿童青少年超重、肥胖筛查体重指数值分类标准[J]. *中华流行病学杂志*, 2004, 25(2):97-102.
- [21] Cook S, Auinger P, Li C, et al. Metabolic syndrome rates in United States adolescents, from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2002[J]. *J Pediatr*, 2008, 152(2):165-170.
- [22] 万乃君, 米杰, 王天有, 等. 北京市超重和肥胖学龄儿童中代谢综合征的流行特征[J]. *中华儿科杂志*, 2007, 45(6):417-421.
- [23] Rodrigues WDR, Sami ROS, Abad TTO, et al. Lipid profile of pediatric patients with chronic rheumatic diseases—A retrospective analysis[J]. *Rev Assoc Med Bras* (1992), 2020, 66(8):1093-1099.
- [24] Sun DM, Ding Y, Xia K, et al. [Serum lipid profile in children with different subtypes of juvenile idiopathic arthritis][J]. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*, 2019, 21(6):547-551.
- [25] Quagliarini F, Makris K, Friano ME, et al. EJE Prize 2023: genes on steroids—genomic control of hepatic metabolism by the glucocorticoid receptor[J]. *Eur J Endocrinol*, 2023, 188(5):R111-R130.
- [26] Amine B, Ibn Yacoub Y, Rostom S, et al. Prevalence of overweight among Moroccan children and adolescents with juvenile idiopathic arthritis[J]. *Joint Bone Spine*, 2011, 78(6):584-586.
- [27] Merwin S, Mackey E, Sule S. US NHANES Data 2013-2016: increased risk of severe obesity in individuals with history of juvenile idiopathic arthritis[J]. *Pediatr Rheumatol Online J*, 2021, 19(1):119.
- [28] Schenck S, Rosenbauer J, Niewerth M, et al. Comorbidity of type 1 diabetes mellitus in patients with juvenile idiopathic arthritis[J]. *J Pediatr*, 2018, 192:196-203.
- [29] Skare TL, Silva MB, Negreiros P. Lipid profile in adult patients with idiopathic juvenile arthritis[J]. *Rev Bras Reumatol*, 2013, 53(4):371-374.
- [30] Catrysse L, van Loo G. Inflammation and the metabolic syndrome: the tissue-specific functions of NF- κ B[J]. *Trends Cell Biol*, 2017, 27(6):417-429.
- [31] Fernández-Armenteros JM, Gómez-Arbonés X, Buti-Soler M, et al. Psoriasis, metabolic syndrome and cardiovascular risk factors. A population-based study[J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2019, 33(1):128-135.

收稿日期:2023-12-27

(上接第 570 页)

- [5] Xiang M, Lu Y, Xin L, et al. Role of oxidative stress in reperfusion following myocardial ischemia and its treatments[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021:6614009.
- [6] Popov SV, Mukhomedzyanov AV, Voronkov NS, et al. Regulation of autophagy of the heart in ischemia and reperfusion[J]. *Apoptosis*, 2023, 28(1-2):55-80.
- [7] Heusch G. Myocardial ischaemia-reperfusion injury and cardioprotection in perspective[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2020, 17(12):773-789.
- [8] Xu Y, Zhang J, Yu L, et al. Engeletin alleviates depression-like phenotype by increasing synaptic plasticity via the BDNF-TrkB-mTORC1 signalling pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2023, 27(23):3928-3938.
- [9] Zhao X, Chen R, Shi Y, et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of six flavonoids from *Smilax glabra* roxb[J]. *Molecules*, 2020, 25(22):5295.
- [10] Wang H, Jiang Z, Pang Z, et al. Engeletin protects against TNF- α -induced apoptosis and reactive oxygen species generation in chondrocytes and alleviates osteoarthritis in vivo[J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14:745-760.
- [11] Wang C, La L, Feng H, et al. Aldose reductase inhibitor engeletin suppresses pelvic inflammatory disease by blocking the phospholipase C/protein kinase C-dependent/NF- κ B and MAPK cascades[J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68(42):11747-11757.
- [12] Alam F, Mohammadin K, Shafique Z, et al. Citrus flavonoids as potential therapeutic agents: a review[J]. *Phytother Res*, 2022, 36(4):1417-1441.
- [13] Li B, Yang X, Zhang P, et al. Engeletin alleviates the inflammation and apoptosis in intervertebral disc degeneration via inhibiting the NF- κ B and MAPK pathways[J]. *J Inflamm Res*, 2022, 15:5767-5783.
- [14] Kuppe C, Ramirez Flores RO, Li Z, et al. Spatial multi-omic map of human myocardial infarction[J]. *Nature*, 2022, 608(7924):766-777.
- [15] Alfonso F, Cuesta J, Diez-Villanueva P. PCI for ischemic left ventricular dysfunction[J]. *N Engl J Med*, 2023, 388(2):188.
- [16] Ferdinandy P, Andreadou I, Baxter GF, et al. Interaction of cardiovascular nonmodifiable risk factors, comorbidities and comedications with ischemia/reperfusion injury and cardioprotection by pharmacological treatments and ischemic conditioning[J]. *Pharmacol Rev*, 2023, 75(1):159-216.
- [17] Xiang Q, Yi X, Zhu XH, et al. Regulated cell death in myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2024, 35(3):219-234.
- [18] Zhang G, Wang X, Li C, et al. Integrated stress response couples mitochondrial protein translation with oxidative stress control[J]. *Circulation*, 2021, 144(18):1500-1515.
- [19] Sies H, Belousov VV, Chandel NS, et al. Defining roles of specific reactive oxygen species(ROS) in cell biology and physiology[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2022, 23(7):499-515.
- [20] Songbo M, Lang H, Xinyong C, et al. Oxidative stress injury in doxorubicin-induced cardiotoxicity[J]. *Toxicol Lett*, 2019, 307:41-48.
- [21] Prag HA, Murphy MP, Krieg T. Preventing mitochondrial reverse electron transport as a strategy for cardioprotection[J]. *Basic Res Cardiol*, 2023, 118(1):34.
- [22] Liu H, Li S, Xu Y, et al. Engeletin protects against cerebral ischemia/reperfusion injury by modulating the VEGF/vasohibin and Ang-1/Tie-2 pathways[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2021, 54(10):e11028.
- [23] Xu Y, Zhang J, Gao F, et al. Engeletin alleviates cerebral ischemia reperfusion-induced neuroinflammation via the HMGB1/TLR4/NF- κ B network[J]. *J Cell Mol Med*, 2023, 27(12):1653-1663.
- [24] Bock FJ, Tait SWG. Mitochondria as multifaceted regulators of cell death[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(2):85-100.
- [25] Jiang Y, Chen X, Fan M, et al. TRAIL facilitates cytokine expression and macrophage migration during hypoxia/reoxygenation via ER stress-dependent NF- κ B pathway[J]. *Mol Immunol*, 2017, 82:123-136.
- [26] Zhang J, Chen X, Chen H, et al. Engeletin ameliorates pulmonary fibrosis through endoplasmic reticulum stress depending on Irf949-mediated TGF- β 1-Smad2/3 and JNK signalling pathways[J]. *Pharm Biol*, 2020, 58(1):1105-1114.
- [27] Hejazian SM, Hosseiniyan Khatibi SM, Barzegari A, et al. Nrf-2 as a therapeutic target in acute kidney injury[J]. *Life Sci*, 2021, 264:118581.
- [28] Lu X, Xu G, Lin Z, et al. Sulforaphane delays intervertebral disc degeneration by alleviating endoplasmic reticulum stress in nucleus pulposus cells via activating Nrf-2/HO-1[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2023, 2023:3626091.
- [29] Huang Z, Ji H, Shi J, et al. Engeletin attenuates A β 1-42-induced oxidative stress and neuroinflammation by Keap1/Nrf2 pathway[J]. *Inflammation*, 2020, 43(5):1759-1771.
- [30] Fang Z, Liu Z, Tao B, et al. Engeletin mediates antiarrhythmic effects in mice with isoproterenol-induced cardiac remodeling[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 161:114439.

收稿日期:2023-12-12