

[文章编号] 1007-3949(2009)17-09-0757-04

• 临床研究 •

# 血尿酸与冠心病的关系

程 飞, 廖新学, 陶 军

(中山大学附属第一医院高血压血管病科, 广东省广州市 510080)

[关键词] 尿酸; 冠心病; 平滑肌细胞

[摘要] 目的 观察血尿酸水平对冠心病的影响, 并初步探讨其作用机制。方法 368例住院行冠状动脉造影的患者, 入院后检测空腹血总胆固醇、低密度脂蛋白、高密度脂蛋白、甘油三酯、血糖、尿酸, 计算体重指数。比较不同程度冠状动脉病变者血尿酸水平, 采用 Logistic 回归分析法研究血尿酸水平与冠状动脉病变之间的关系; 组织贴块法培养 SD 大鼠平滑肌细胞, 用不同浓度的尿酸与培养的平滑肌细胞共培养 48 h, CCK-8 比色法检测细胞活力。结果 血尿酸水平男性高于女性, 冠心病组高于正常对照组, 冠状动脉三支病变者高于非冠心病及单支病变者; 冠状动脉积分 15~组血尿酸水平高于其他组; 以冠状动脉病变积分作因变量行多变量 Logistic 回归, 结果血尿酸未能进入回归方程。不同浓度血尿酸对培养的大鼠平滑肌细胞活力影响差异无统计学意义。结论 血尿酸水平升高可能不是冠心病发病的独立危险因素; 血尿酸对体外培养的大鼠平滑肌细胞无明确作用。

[中图分类号]

[文献标识码] A

## A Study of the Relationship between Serum Uric Acid and Coronary Artery Disease

CHENG Fei, LIAO Xin-Xue, and TAO Jun

(Department of Hypertension and Vascular Disease, the First Hospital Affiliated to Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

[KEY WORDS] Uric Acid; Coronary Artery Disease; Vascular Smooth Muscle Cells

[ABSTRACT] **Aim** To study the relationship between serum uric acid (SUA) and coronary artery disease (CAD), and try to explain the relationship between them by observing the effect of uric acid on vascular smooth muscle cells (VSMCs) of SD rats. **Methods** The basic informations (fast blood fat, glucose, uric acid and body mass index, et al) of 368 in-patients undergone coronary artery angiography were collected. Uric acid levels were compared among patients with different degree of coronary lesions, and Logistic regression was applied to analyze the relationship between serum uric acid level and degree of coronary lesions. Vascular smooth muscle cells were cultured with attachment block method. Different concentrations of uric acid were applied to culture together with them for 48 hours, and the vital force of VSMCs was detected and compared. **Results** Levels of SUA were higher in male patients and in patients with CAD, and were relatively higher in patients with three coronary arteries lesions and in patients with coronary lesion score over 15. Taking coronary lesion score as dependent variable, SUA level didn't enter regression equation. Effects of different concentrations of uric acid on VSMCs weren't statistically different. **Conclusions** Serum uric acid isn't an independent risk factor of CAD. Uric acid have no definite effects on VSMCs of rats.

大量的研究表明血尿酸 (serum uric acid, SUA) 水平升高与冠心病 (coronary artery disease, CAD) 的发生及进展有关, 升高的尿酸可能是冠心病的危险因素之一。升高的尿酸可以通过促进血管平滑肌增殖、损伤内皮细胞功能、增加血小板的反应性、促进炎症反应等机制参与冠心病的发病及进展<sup>[1-5]</sup>。本文通过对临床资料行 Logistic 回归分析, 结合观察尿酸对培养平滑肌增殖的作用, 分析尿酸与冠心病之间的关系。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

1.1.1 研究对象 选择 2005 年 9 月到 2007 年 6 月在本院心内科住院的病人 368 例, 其中男性 226 人, 女性 142 人, 年龄 28~84 岁, 平均年龄  $61.38 \pm 10.29$  岁, 排除恶性肿瘤、血液病、严重肝肾功能不全等患者, 入院后次日空腹采血, 检测空腹血总胆固醇、低密度脂蛋白、高密度脂蛋白、甘油三酯、血糖、尿酸 (尿酸酶法), 计算体重指数; 所有患者住院期间行选择性冠状动脉造影检查。

1.1.2 诊断标准 经导管检查任何一支冠状动脉主要分支狭窄  $\geq 50\%$  诊断为冠心病, 按照冠状动脉造影 (coronary angiography, CAG) 结果分组为阴性、单支病变、双支病变、三支病变等组; 按照冠状动

[收稿日期] 2009-04-08

[修回日期] 2009-10-19

[作者简介] 程飞, 博士研究生, 主要从事冠心病的细胞学发病机制方面的研究, E-mail 为 mdc2006@126.com。廖新学, 教授, 主任医师, 主要从事心血管病的基础与临床研究, E-mail 为 liaoxinx@mail.sysu.edu.cn。通讯作者陶军, 教授, 主任医师, 主要从事心血管病的基础与临床研究, E-mail 为 taojung@yahoo.com。

脉病变积分分组为 1~、5~、10~、15~ 组<sup>[6]</sup>。

**1.1.3 统计学方法** 所有数据采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示; 两组间的比较采用 *t* 检验; 多组间的比较采用方差分析; 计数资料用中位数表示, 组间的比较用秩和检验; 以冠状动脉病变程度为因变量, 血总胆固醇、低密度脂蛋白、高密度脂蛋白、甘油三酯、血糖、尿酸水平等为自变量, 进行 Logistic 回归分析;  $P < 0.05$  时差异有统计学意义。

## 1.2 体外培养的细胞模型

**1.2.1 大鼠平滑肌细胞的体外培养** 选取重 180~200 g 的 SD 雄性大鼠, 采用组织贴块法培养原代大鼠平滑肌细胞 (smooth muscle cells, SMCs), 使用含 10% 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 的 DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium) 高糖培养基, 采用 3~6 代的 SMCs 进行实验。

**1.2.2 研究方法** 采用相差显微镜观察, 并用免疫组化方法鉴定 SMCs, 将细胞用胰蛋白酶消化、离心, 滴于经 0.2% 多聚赖氨酸粘片处理的载玻片上, 用 SABC 法对动脉平滑肌细胞行肌动蛋白免疫组化染色。将 3~6 代 SMCs 植入 24 孔板, 每孔加入 0.5 mL 含 10% FBS 的 DMEM 培养基, 于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱中共育 24 h, 换用含 0.4% FBS 的 DMEM 培养基停止分裂 12 h 之后分别用 10、20、40、80 mg/L 尿酸溶液 (溶剂为含 0.4% FBS 的 DMEM 培养基)、以及含 0.4% FBS 的 DMEM 培养基、含 10% FBS 的 DMEM 培养基与 SMCs 相同条件下共育 48 h, 以酶标仪 CCK-8 试剂盒检测细胞活力。其中每个处理组分 3 孔, 重复 8 次。

**1.2.3 统计学方法** 所有数据采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示; 两组间的比较采用 *t* 检验; 多组间的比较采用方差分析;  $P < 0.05$  时差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 不同患者血尿酸水平的比较

所有入选病例中, 男性 SUA 水平高于女性 ( $P = 0.00$ ), 冠心病患者 SUA 水平高于非冠心病者 ( $P = 0.017$ ); 按病变支数分组的不同组间, 三支病变组者 SUA 水平高于造影阴性组 ( $P = 0.00$ ), 余各组之间 SUA 水平差别无统计学意义; 按病变积分分组的组间, 积分 15~ 组 SUA 水平高于 1~、5~、10~ 组 ( $P$  值分别为 0.002、0.019、0.004)。

### 2.2 不同血尿酸水平冠状动脉三支病变发生率的比较

全部入选病例及男女性别特异性分组的 SUA 水平 3/4 位区间与 1/4 位区间冠状动脉造影三支病变发生率之间均无统计学差异 ( $P$  值分别为 0.088、0.703、0.114)。

### 2.3 Logistic 回归分析结果

以是否患冠心病为因变量, 以性别、年龄、既往史、家族史、吸烟、饮酒、体重指数、血总胆固醇、低密度脂蛋白、高密度脂蛋白、甘油三酯、血糖、尿酸水平等单危险因素为自变量, 进行 logistic 回归分析, 结果如下: 进入方程的是性别、年龄分段、既往史以及高密度脂蛋白这三个变量, SUA 未能进入回归方程; 分别以病变血管支数、病变积分等不同分类作为因变量行多变量 Logistic 回归, 结果 SUA 都未能进入回归方程, 表明 SUA 不是冠心病发病的独立危险因素。

### 2.4 组织贴块法培养大鼠平滑肌细胞

用含 10% FBS 的 DMEM 培养基在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱中培养大鼠主动脉碎片, 7 天左右见 SMCs 长出, 细胞成长梭形, 第 14 天左右呈“峰、谷”样生长 (图 1)。

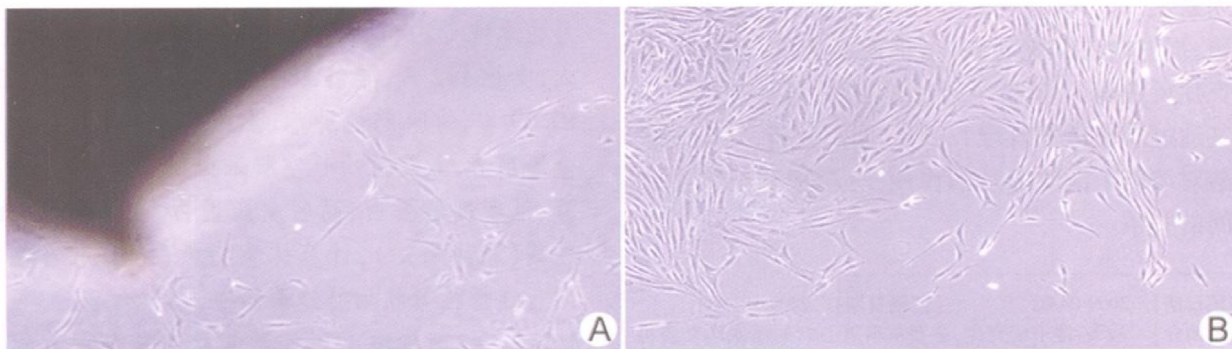


图 1 原代培养的大鼠平滑肌细胞 ( $\times 100$ ) A 为培养 7 天, 见有长梭形平滑肌细胞从组织块长出; B 为培养 14 天, 见平滑肌细胞成“峰、谷”样生长。



## 2.5 肌动蛋白免疫组化鉴定大鼠平滑肌细胞

第3代 SMCs培养3天,使用SABC试剂盒行肌动蛋白(抗 $\alpha$ -actin)免疫组化鉴定,结果可见98%以上的细胞染色阳性,即胞浆内呈现棕黄色反应,胞核不着色(图2)。

## 2.6 80 mg/L尿酸对大鼠平滑肌细胞的作用

80 mg/L尿酸(uric acid UA)DMEM与第3代 SMCs共同孵育48 h后,SMCs形态无明显改变,可见少许UA结晶沉淀(图3)。

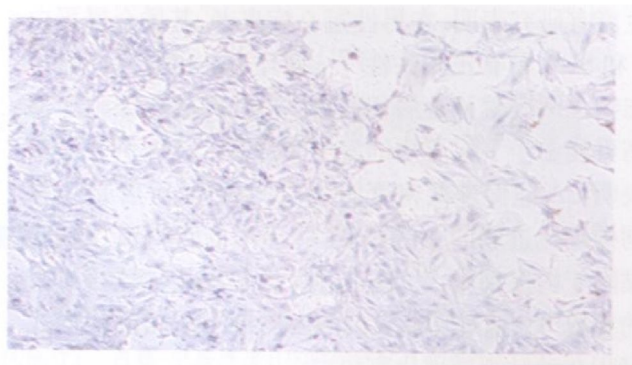


图2 第3代大鼠平滑肌细胞免疫组化鉴定( $\times 100$ )

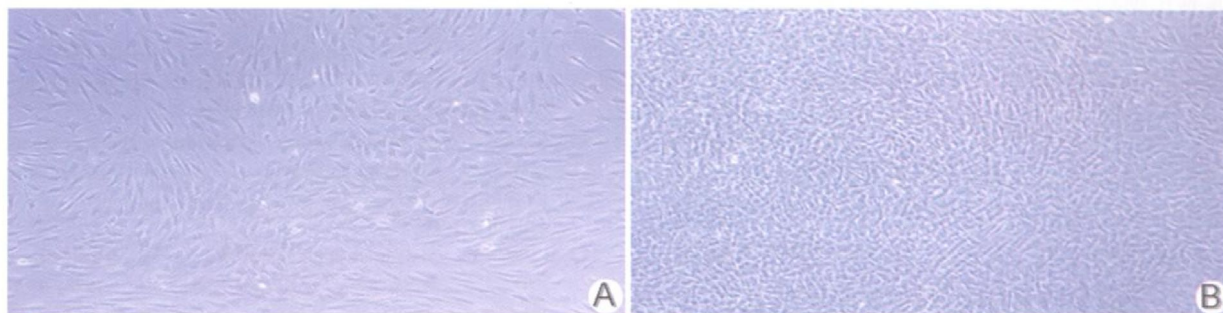


图3 第3代大鼠平滑肌细胞( $\times 100$ ) A为80 mg/L尿酸DMEM作用前,B为80 mg/L尿酸DMEM作用后。

## 2.7 不同浓度尿酸对大鼠平滑肌细胞的作用

3~6代 SMCs与不同浓度UA DMEM液共育48 h后,用CCK-8试剂盒比色法检测细胞活力,结果各处理组之间差异无统计学意义(表1)。

表1 尿酸处理后的大鼠平滑肌细胞活力

分 组	平滑肌细胞活力
0.4%胎牛血清 DMEM 组	100%
10 mg/L尿酸 DMEM 组	95.69% $\pm$ 0.65%
20 mg/L尿酸 DMEM 组	96.12% $\pm$ 0.46%
40 mg/L尿酸 DMEM 组	98.05% $\pm$ 0.64%
80 mg/L尿酸 DMEM 组	97.26% $\pm$ 0.86%

## 3 讨论

尽管有大量的研究表明SUA升高与心血管疾病的发生、发展相关联<sup>[7,8]</sup>,是心血管疾病死亡率的一个重要预测因子<sup>[9]</sup>,但这种关联与心血管疾病其它危险因素之间的独立性始终存在争议<sup>[10]</sup>。

早期的研究表明,25%~40%的未治疗的成年高血压患者有高尿酸血症( $> 65$  mg/L),更多患者具有SUA正常高值(50~65 mg/L)<sup>[11]</sup>; Mazzali M等<sup>[2]</sup>研究认为大鼠高尿酸血症可以导致肾小球前动脉病变,通过肾素-血管紧张素系统、一氧化氮(nitric oxide, NO)旁路及肾脏病变推动高血压的发生发展; Feig DI等<sup>[12]</sup>研究发现在儿童未经治疗的原发性高血压患者中,SUA值独立于肾功能与血压

水平相关联; Sundstrom J等<sup>[13]</sup>调查3329名没有高血压、心梗、心衰、痛风的Framingham心脏研究参与者的SUA水平和高血压发病率及血压进展的关系,结果发现SUA和随访4年后收缩压变化、舒张压变化呈正相关,SUA水平是高血压发病和进展的独立预测因子。Rao GN等<sup>[14]</sup>研究认为,SUA通过增加PDGFA链的表达来刺激血管SMC增殖,从而促进心血管疾病的发生、发展; Kanellis J等<sup>[5]</sup>用25~100 mg/L UA刺激大鼠主动脉平滑肌细胞,发现UA在激活丝裂素活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号分子细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)44/42和P38以及环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)mRNA表达的同时,也激活核因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)和激动子蛋白1的转录,UA通过MAPK和COX-2导致血管平滑肌细胞产生单核细胞趋化蛋白1,其调节的关键的促炎反应可能与心血管疾病有关。Zoccali C等<sup>[3]</sup>对非复杂、原发性高血压患者研究发现,SUA水平和乙酰胆碱刺激的血管舒张呈显著的负相关,这种相关独立于传统的危险因素; NO生物利用度的减低是动脉粥样硬化发展的一个重要早期步骤<sup>[15]</sup>。Maxwell AJ等<sup>[16]</sup>的研究认为,升高的SUA水平与心血管疾病之间的关联可能是继发于血管NO活性的受损,这可能是因为NO能通过其对黄嘌呤氧化酶活性的影响而调节UA的产

生。有研究表明,在男性冠心病患者,基质金属蛋白2和SUA具有正相关性<sup>[17]</sup>;循环UA和慢性炎症标志物之间有着显著的相关性<sup>[18]</sup>,其对内皮细胞的损伤可能参与了冠心病的发生和进展。体外研究已经表明UA能促进低密度脂蛋白的氧化,后者是动脉粥样硬化进展的关键步骤<sup>[19]</sup>,UA也能刺激粒细胞黏附于内皮细胞<sup>[20]</sup>,促进过氧化和超氧化氧自由基的释放<sup>[20]</sup>,通过功能失调的内皮细胞以结晶的形式沉积在动脉粥样硬化斑块内<sup>[21]</sup>。

尿酸作为一种天然抗氧化剂,可能作为一种生理性抗氧化损伤保护机制存在,其能清除单线态氧和含氧血红素氧化剂,并对亚油酸稳定性和红细胞膜完整性有保护作用<sup>[22]</sup>。Waring WS等<sup>[23]</sup>研究表明,UA可以恢复1型糖尿病及吸烟患者的内皮功能。也有研究表明,UA在动脉粥样硬化过程的早期可能是血浆抗氧化能力的最强决定因素<sup>[24]</sup>,随着动脉粥样硬化的进展,当SUA水平升高时,这种原来为抗氧化剂的物质自相矛盾地变成促氧化剂,从而促进病变进展<sup>[25]</sup>。

本研究结果显示,男性SUA水平高于女性,冠心病患者SUA水平高于非冠心病者,这与Hashem i M、GurM等的研究结果一致<sup>[26-27]</sup>。SUA不是冠心病发病的独立危险因素,UA对体外培养的血管平滑肌细胞无明确作用,这可能与UA既能抗氧化又在特定病理状态下能促氧化的双重作用有关<sup>[16-20,22-23]</sup>,表明SUA水平升高可能是心血管疾病进展过程中机体对抗病理状态的一种代偿反应,是疾病发生、进展的一种伴随现象,其在心血管疾病发生、发展中的确切作用有待于进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] Cullen BF, Larson MG, Kannel WB, et al. Serum uric acid and risk for cardiovascular disease and death: the Framingham Heart Study [J]. *Annals of internal medicine*, 1999, **131** (1): 7-13.
- [2] Mazzali M, Kanellis J, Han L, et al. Hyperuricemia induces a primary renal arteriopathy in rats by a blood pressure-independent mechanism [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2002, **282** (6): F991-997.
- [3] Zoccali C, Maio R, Mallamaci F, et al. Uric acid and endothelial dysfunction in essential hypertension [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2006, **17** (5): 1466-471.
- [4] Ginsberg MH, Kozin F, O'Malley M, et al. Release of platelet constituents by monosodium urate crystals [J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 1977, **60** (5): 999-1007.
- [5] Kanellis J, Watanabe S, Li H, et al. Uric acid stimulates monocyte chemoattractant protein-1 production in vascular smooth muscle cells via mitogen-activated protein kinase and cyclooxygenase-2 [J]. *Hypertension*, 2003, **41** (6): 1287-293.
- [6] Sullivan DR, Mawick TH, Freedman SB. A new method of scoring coronary angiograms to reflect extent of coronary atherosclerosis and improve correlation with major risk factors [J]. *American Heart Journal*, 1990, **119** (6): 1262-267.
- [7] Freedman DS, Williamson DF, Gunter EW, et al. Relation of serum uric

- acid to mortality and ischemic heart disease: The NHANES I Epidemiologic Follow-up Study [J]. *American Journal of Epidemiology*, 1995, **141** (7): 637-644.
- [8] Verdecchia P, Schillaci G, Reboli G, et al. Relation between serum uric acid and risk of cardiovascular disease in essential hypertension: The PUMA Study [J]. *Hypertension*, 2000, **36** (6): 1072-078.
- [9] Ablem MH, Cohen H, Madhavan S, et al. Serum uric acid and cardiovascular events in successfully treated hypertensive patients [J]. *Hypertension*, 1999, **34** (1): 144-150.
- [10] Nagahama K, Iseki K, Inoue T, et al. Hyperuricemia and cardiovascular risk factor clustering in a screened cohort in Okinawa, Japan [J]. *Hypertens Res*, 2004, **27** (4): 227-233.
- [11] Cannon PJ, Stason WB, Demartini FE, et al. Hyperuricemia in primary and renal hypertension [J]. *The New England Journal of Medicine*, 1966, **275** (9): 457-464.
- [12] Feig DI, Johnson RJ. Hyperuricemia in childhood primary hypertension [J]. *Hypertension*, 2003, **42** (3): 247-252.
- [13] Sundstrom J, Sullivan L, D'Agostino RB, et al. Relations of serum uric acid to longitudinal blood pressure tracking and hypertension incidence [J]. *Hypertension*, 2005, **45** (1): 28-33.
- [14] Rao GN, Corson MA, Berk BC. Uric acid stimulates vascular smooth muscle cell proliferation by increasing platelet-derived growth factor A-chain expression [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1991, **266** (13): 8604-608.
- [15] Vallance P. Nitric oxide in the human cardiovascular system—SKB lecture 1997 [J]. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 1998, **45** (5): 433-439.
- [16] Maxwell AJ, Brinana KA. Uric acid is closely linked to vascular nitric oxide activity: Evidence for mechanism of association with cardiovascular disease [J]. *Journal of the American College of Cardiology*, 2001, **38** (7): 1850-858.
- [17] Zeng B, Prasad A, Fung KC, et al. Elevated circulating levels of matrix metalloproteinase-9 and -2 in patients with symptomatic coronary artery disease [J]. *Internal Medicine Journal*, 2005, **35** (6): 331-335.
- [18] Leyva F, Anker SD, Godskind IF, et al. Uric acid in chronic heart failure: a marker of chronic inflammation [J]. *European Heart Journal*, 1998, **19** (12): 1814-822.
- [19] Schlöte V, Sevanian A, Hochstein P, et al. Effect of uric acid and chemical analogues on oxidation of human low density lipoprotein in vitro [J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 1998, **25** (7): 839-847.
- [20] Boogaerts MA, Hamerschildt DE, Roelant C, et al. Mechanisms of vascular damage in gout and oxalosis: crystal induced granulocyte mediated endothelial injury [J]. *Thrombosis and Haemostasis*, 1983, **50** (2): 576-580.
- [21] Kroll K, Bukowski TR, Schwartz IM, et al. Capillary endothelial transport of uric acid in guinea pig heart [J]. *The American Journal of Physiology*, 1992, **262** (2 Pt 2): H420-431.
- [22] Ames BN, Cathcart R, Schwiers E, et al. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1981, **78** (11): 6858-862.
- [23] Waring WS, McKnight JA, Webb DJ, et al. Uric acid restores endothelial function in patients with type 1 diabetes and regular smokers [J]. *Diabetes*, 2006, **55** (11): 3127-132.
- [24] Nyssonen K, Porkkala-Sarataho E, Kaikkonen J, et al. Ascorbate and urate are the strongest determinants of plasma antioxidative capacity and serum lipid resistance to oxidation in Finnish men [J]. *Atherosclerosis*, 1997, **130** (1-2): 223-233.
- [25] Hayden MR, Tyagi SC. Uric acid: a new look at an old risk marker for cardiovascular disease, metabolic syndrome, and type 2 diabetes mellitus: The urate redox shuttle [J]. *Nutrition & Metabolism*, 2004, **1** (1): 10.
- [26] Hashem iM, Yavari M, Amir iN, et al. Uric acid: a risk factor for coronary atherosclerosis? [J]. *Cardiovasc J S Afr*, 2007, **18** (1): 16-19.
- [27] Gur M, Yilnaz R, Demibag R, et al. Relation of serum uric acid levels with the presence and severity of angiographic coronary artery disease [J]. *Angiology*, 2008, **59** (2): 166-171.

(此文编辑 普学清)