

硫化氢在心肌缺血再灌注损伤中的作用机制

王茜

【摘要】 硫化氢(H_2S)是一种气体信号分子,在哺乳动物体内广泛存在。内源性 H_2S 主要在线粒体中代谢。外源性或内源性 H_2S 对心肌缺血再灌注损伤均具有保护作用,主要作用机制包括抗炎、抗氧化、抗凋亡和促进血管新生等。该文介绍 H_2S 在心肌缺血再灌注损伤中的作用和机制及 H_2S 供体相关药物,以期对缺血性心脏病的干预提供新思路。

【关键词】 硫化氢;心肌缺血再灌注损伤;炎症反应;细胞凋亡

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2021.04.003

H_2S 是继一氧化氮(NO)和一氧化碳(CO)之后被发现的第三种内源性气体信号转导分子^[1],具有维持体内稳态、诱导血管舒张和心脏保护作用^[2-3]。

1 H_2S 的生物学特性

H_2S 是一种无色、具有臭鸡蛋气味且易燃的水溶性气体。在哺乳动物组织中, H_2S 通过非酶促和酶促 2 种途径产生。 H_2S 生物合成后,可以扩散到周围环境或存储在细胞中^[4]。在非酶促途径中,由于从葡萄糖氧化获得的还原当量,元素硫被还原为 H_2S 。每消耗 2 个分子的葡萄糖、3 个分子的乳酸和二氧化碳,就会产生 6 个分子的 H_2S 。然而,大多数内源性 H_2S 来源于 2 种 5'-吡哆醛磷酸化依赖酶的催化产物,这 2 种酶为胱硫醚- β -合酶(CBS)和胱硫醚- γ -裂合酶(CSE)。CBS 和 CSE 需要 L-半胱氨酸作为底物合成 H_2S ^[5],抑制 CSE 和 CBS 会导致内源性 H_2S 水平的显著减少。在哺乳动物组织中, H_2S 主要在线粒体中代谢。

2 H_2S 对心肌缺血再灌注损伤的保护作用

H_2S 是一种在心血管系统中起重要作用的内源性信号分子。在心脏中, H_2S 在成纤维细胞、心肌和血管中产生,由 L-半胱氨酸在 CSE、CBS 和 3-巯基丙酮酸硫转移酶(3-MST)的催化下形成。外源性或内源性 H_2S 对缺血心肌均具有保护作用。Bliksoen 等^[6]发现抑制 CSE 可减少 H_2S 的产生,导致大鼠心脏缺血再灌注损伤后梗死面积扩大。有研究发现,调节心脏的 CSE 与心肌缺血再灌注损伤

有关,过表达 CSE 使 H_2S 浓度增加,进而显著减少损伤区域;敲除 CSE 基因则使心肌缺血再灌注损伤加重^[7]。

3 H_2S 的心脏保护作用机制

3.1 H_2S 的抗炎效应

心肌缺血引发的炎症反应,可减轻细胞损害并促进组织修复,是心脏自身修复必不可少的环节;但过度的炎症反应会导致细胞碎片和促炎性细胞因子增多,造成心肌损害^[8]。 H_2S 具有抑制白细胞黏附和外渗的作用^[9]。Sodha 等^[10]采用心肌缺血再灌注损伤猪模型,在再灌注前 10 min 给予硫化物(NaHS)处理,可以减少白细胞浸润,降低髓过氧化物酶活性。

H_2S 能限制中性粒细胞黏附和激活,抑制白细胞外渗,并减少产自由基的炎症因子[如肿瘤坏死因子(TNF)- α]水平,进而减轻炎症反应。另外,心肌缺血再灌注损伤时肥大细胞脱颗粒可诱导炎症反应,肾素过度释放。已有研究表明,在炎症反应中, H_2S 可抑制肥大细胞激活和肾素释放^[11-12]。

3.2 H_2S 的抗氧化作用

H_2S 还是一种强还原剂,研究表明 H_2S 在预防和减弱氧化应激、减轻缺血再灌注损伤后的心脏损害方面都发挥重要作用^[13-14]。Calvert 等^[15]采用心肌缺血再灌注损伤小鼠模型,预防性给予外源性硫化钠(Na_2S),结果发现 H_2S 通过减轻氧化应激和线粒体功能障碍,防止心肌结构和功能恶化,改善左室功能。Ling 等^[16]报告外源性 H_2S 促进核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)的核积累,并增强其他重要抗氧化剂如血红素加氧酶-1、超氧化物歧化酶及缺

氧诱导因子(HIF)-1 α 的表达,促进 Nrf2/HIF-1 α 信号通路活化。King 等^[7]发现,与野生型小鼠相比,CSE 基因敲除小鼠在缺血再灌注时,具有较高的氧化应激水平,心肌缺血再灌注损伤加重。

3.3 H₂S 的抗凋亡作用

在缺血再灌注损伤实验模型中,H₂S 通过激活线粒体功能、抑制 p38 丝裂原激活的蛋白激酶(MAPK)信号通路激活,发挥抗心肌细胞凋亡的作用。其中,在暴露于低氧/复氧的原代培养大鼠心肌细胞模型中,H₂S 减少了早期 Jun 激酶(JNK)的磷酸化,使 B 细胞淋巴瘤 2 (*Bcl-2*)表达增加,从而促进了抗凋亡作用。在心肌缺血再灌注损伤大鼠模型中,也检测到了较高水平的 *Bcl-2*,表明 H₂S 减弱了从高风险区域(AAR)分离的心肌细胞中胱天蛋白酶(caspase)-9 的活性^[17]。

在生理条件下,心肌缺血再灌注损伤会减少 caspase 招募结构域(ARC)磷酸化,从而增加细胞凋亡以及分子修饰,例如增加 *Fas* 和 *Fas* 配体(*FasL*)表达的以及增强 caspase-3 活性。H₂S 通过诱导 ARC 磷酸化和负调控 *Fas* 和 *FasL* 表达以及 caspase-3 活性,减少细胞凋亡^[18]。此外,输注 H₂S 还降低了凋亡诱导因子(*AIF*)的表达。在大鼠心肌缺血再灌注损伤大鼠模型中,H₂S 诱导缺血心肌中存活蛋白(*Survivin*)的蛋白和 mRNA 表达,从而阻止了线粒体介导的细胞凋亡过程^[19]。

3.4 H₂S 促进血管生成

体外和体内研究显示低浓度的 H₂S 暴露可诱导内皮细胞增殖和细胞迁移,提示 H₂S 是血管生成的内源性刺激物^[20]。在体内模型中,H₂S 处理 48 h 可诱导血管延长和血管分支增加;采用 H₂S 合成抑制剂则使微血管的形成显著减少。此外,在伤口愈合模型中,通过增强内皮祖细胞的功能和激活血管生成素-1,H₂S 可改善伤口的愈合。在心肌缺血再灌注损伤的情况下,H₂S 的促血管生成作用可以改善缺血后心脏功能并减少梗死面积^[21]。

4 H₂S 供体

H₂S 在多种生理及病理过程中发挥重要的调控作用,但是由于 H₂S 具有挥发性,且其毒理效应浓度接近于生理和药理有效浓度,导致 H₂S 在体内的有效浓度难以精确控制。因此,寻找安全、可控的 H₂S 供体药物成为研发的主要方向。

4.1 含硫无机化合物

该类供体分子结构简单,主要为 Na₂S 和

NaHS,在水溶液中数秒内可完成释放 H₂S 的过程,不受其他分子或药效团的干扰。然而,该类供体释放 H₂S 的模式与生理状态下相对缓慢且持续的释放模式不同,而且瞬时过量的 H₂S 释放会产生血压急剧降低等不良反应。硫化钙(CaS)是传统草药中的有效成分之一,口服 CaS 可在胃酸环境中分解更多的 H₂S^[22]。

4.2 天然有机含硫化合物

多种植物中存在的天然有机含硫化合物是缓释型 H₂S 供体。藻类、蘑菇、大蒜和洋葱通过化学转化和酶促反应可以形成 H₂S。大蒜具有调脂、抗菌、抗血小板、增强免疫、抗癌、抗诱变和抗增殖等作用。大蒜提取物还具有保护肝脏、保护神经和抗氧化的作用。完整大蒜中的主要含硫化合物是 γ -谷氨酰基-S-烯丙基-L-半胱氨酸和 S-烯丙基半胱氨酸(SAC)。

SAC 是 γ -谷氨酰基-S-烯丙基-L-半胱氨酸的主要转化产物,是一种可在血液中检出的硫氨基酸,被证实具有生物活性和生物利用度。已有研究报道 SAC 对神经系统和心血管系统的保护作用,在心血管系统中,SAC 可显著降低急性心肌梗死大鼠的死亡率,减小梗死面积。S-丙基-L-半胱氨酸(SPC)和 S-烯丙基-L-半胱氨酸(SPRC)是 SAC 的结构类似物。有研究报道 SPRC 在降低死亡率、增加细胞生存力、减小心梗死面积、降低乳酸脱氢酶和肌酸激酶水平和活性以及抗氧化特性方面表现出比 SAC 更强的心脏保护作用^[22]。

4.3 人工合成 H₂S 供体

目前已有多类人工合成的 H₂S 供体,GYY4137 是在基础研究中应用最早的硫代磷酸酯类化合物,可以通过水解作用在体内外释放 H₂S,释放速度受 pH 和温度的影响^[23],GYY4137 释放 H₂S 的过程相对较慢,在细胞培养中高于基线的 H₂S 水平能保持超过 7 d,动物实验给药后在血液中可维持 2 h 左右。GYY4137 具有舒张血管、抗高血压、抗炎、抗癌及维持肾功能等多种活性,且这些活性与其释放 H₂S 相关。N-苄硫基苯甲酰胺是一类硫醇触发的 H₂S 供体,是最常见的非水解触发的合成供体,在大鼠心肌缺血再灌注模型中,该供体可减少心肌梗死面积,具有心脏保护作用^[24]。基于 N-巯基(N-SH)设计的 H₂S 供体在小鼠心肌缺血再灌注损伤模型中表现出显著的心肌细胞保护作用^[25]。酯酶活化的 H₂S 供体 BW-HP-102 可减轻心肌缺血再

灌注损伤模型小鼠的心肌组织缺失^[26]。

5 小结

虽然有关 H₂S 的研究大多仍在动物实验阶段, 但为相关药物的研发提供了依据, 为缺血性心脏病的临床干预提供了新思路。

参 考 文 献

- [1] Martelli A, Testai L, Breschi MC, et al. Hydrogen sulphide: novel opportunity for drug discovery[J]. *Med Res Rev*, 2012, 32(6):1093-1130.
- [2] Li H, Zhang C, Sun W, et al. Exogenous hydrogen sulfide restores cardioprotection of ischemic post-conditioning via inhibition of mPTP opening in the aging cardiomyocytes[J]. *Cell Biosci*, 2015, 5:43.
- [3] Li H, Wang Y, Wei C, et al. Mediation of exogenous hydrogen sulfide in recovery of ischemic post-conditioning-induced cardioprotection via down-regulating oxidative stress and up-regulating PI3K/Akt/GSK-3 β pathway in isolated aging rat hearts[J]. *Cell Biosci*, 2015, 5:11.
- [4] Wu D, Si W, Wang M, et al. Hydrogen sulfide in cancer: friend or foe? [J]. *Nitric Oxide*, 2015, 50:38-45.
- [5] Chen Y, Zhang F, Yin J, et al. Protective mechanisms of hydrogen sulfide in myocardial ischemia[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(12):9059-9070.
- [6] Bliksoen M, Kaljusto ML, Vaage J, et al. Effects of hydrogen sulphide on ischaemia-reperfusion injury and ischaemic preconditioning in the isolated, perfused rat heart [J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2008, 34(2):344-349.
- [7] King AL, Polhemus DJ, Bhushan S, et al. Hydrogen sulfide cytoprotective signaling is endothelial nitric oxide synthase-nitric oxide dependent[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(8):3182-3187.
- [8] Frangogiannis NG. The inflammatory response in myocardial injury, repair, and remodelling[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2014, 11(5):255-265.
- [9] Gemici B, Wallace JL. Anti-inflammatory and cytoprotective properties of hydrogen sulfide[J]. *Methods Enzymol*, 2015, 555:169-193.
- [10] Sodha NR, Clements RT, Feng J, et al. Hydrogen sulfide therapy attenuates the inflammatory response in a porcine model of myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2009, 138(4):977-984.
- [11] Marino A, Martelli A, Citi V, et al. The novel H₂S donor 4-carboxy-phenyl isothiocyanate inhibits mast cell degranulation and renin release by decreasing intracellular calcium[J]. *Br J Pharmacol*, 2016, 173(22):3222-3234.
- [12] Roviezzo F, Bertolino A, Sorrentino R, et al. Hydrogen sulfide inhalation ameliorates allergen induced airway hyperactivity by modulating mast cell activation [J]. *Pharmacol Res*, 2015, 100:85-92.
- [13] Vasquez-trincado C, Garcia-carvajal I, Pennanen C, et al. Mitochondrial dynamics, mitophagy and cardiovascular disease[J]. *J Physiol*, 2016, 594(3):509-525.
- [14] Zhang Z, Jin S, Teng X, et al. Hydrogen sulfide attenuates cardiac injury in takotsubo cardiomyopathy by alleviating oxidative stress[J]. *Nitric Oxide*, 2017, 67:10-25.
- [15] Calvert JW, Elston M, Nicholson CK, et al. Genetic and pharmacologic hydrogen sulfide therapy attenuates ischemia-induced heart failure in mice[J]. *Circulation*, 2010, 122(1):11-19.
- [16] Ling K, Xu A, Chen Y, et al. Protective effect of a hydrogen sulfide donor on balloon injury-induced restenosis via the Nrf2/HIF-1 α signaling pathway[J]. *Int J Mol Med*, 2019, 43(3):1299-1310.
- [17] Ruiz-meana M, Nunez E, Miro-casas E, et al. Ischemic preconditioning protects cardiomyocyte mitochondria through mechanisms independent of cytosol[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, 68:79-88.
- [18] Yao X, Tan G, He C, et al. Hydrogen sulfide protects cardiomyocytes from myocardial ischemia-reperfusion injury by enhancing phosphorylation of apoptosis repressor with caspase recruitment domain[J]. *Tohoku J Exp Med*, 2012, 226(4):275-285.
- [19] Citi V, Piragine E, Testai L, et al. The role of hydrogen sulfide and H₂S-donors in myocardial protection against ischemia/reperfusion injury[J]. *Curr Med Chem*, 2018, 25(34):4380-4401.
- [20] Szabo C, Papapetropoulos A. Hydrogen sulphide and angiogenesis: mechanisms and applications [J]. *Br J Pharmacol*, 2011, 164(3):853-865.
- [21] Polhemus D, Kondo K, Bhushan S, et al. Hydrogen sulfide attenuates cardiac dysfunction after heart failure via induction of angiogenesis[J]. *Circ Heart Fail*, 2013, 6(5):1077-1086.
- [22] Wen YD, Wang H, Zhu YZ. The drug developments of hydrogen sulfide on cardiovascular disease[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018:4010395.
- [23] Qabazard B, Masocha W, Khajah M, et al. H₂S donor GYY4137 ameliorates paclitaxel-induced neuropathic pain in mice[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 127:110210.
- [24] Feng S, Zhao Y, Xian M, et al. Biological thiols-triggered hydrogen sulfide releasing microfibers for tissue engineering applications[J]. *Acta Biomater*, 2015, 27:205-213.
- [25] Zhao Y, Yang C, Organ C, et al. Design, synthesis, and cardioprotective effects of N-mercapto-based hydrogen sulfide donors[J]. *J Med Chem*, 2015, 58(18):7501-7511.
- [26] Li Z, Organ CL, Zheng Y, et al. Novel esterase-activated hydrogen sulfide donors attenuate? myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. *Circulation*, 2016, 134 (Suppl 1):A17903.

(收稿:2021-03-20 修回:2021-05-25)

(本文编辑:丁媛媛)