

琥珀酸盐及琥珀酰化与心血管疾病

王玉婷 石琳

【摘要】 蛋白质翻译后修饰 (PTM) 是心血管疾病发病机制中的重要环节。随着蛋白质组学的发展及质谱的应用, 研究发现琥珀酰辅酶 A 在心脏中的表达水平远高于其他器官, 琥珀酰化也是心脏 PTM 的关键部分。该文介绍琥珀酸盐及琥珀酰化在缺血性心脏病、高血压、心肌纤维化、心肌肥大、心率失常和心力衰竭发生过程中的研究进展。

【关键词】 心血管疾病; 琥珀酰化; 表观遗传学

doi: 10.3969/j.issn.1673-6583.2023.05.007

心血管疾病 (CVD) 是目前世界范围内死亡的主要原因之一^[1]。心脏为高耗能器官, 心肌代谢可利用多种底物, 胎儿心肌代谢主要利用葡萄糖酵解及乳酸氧化^[2], 成人心肌代谢主要底物为脂肪酸 (60%~90%)^[3], 当其心功能下降时, 则脂肪酸供能减少, 糖酵解供能增加^[4]。

蛋白质翻译后修饰 (PTM) 是控制基因表达而不改变生物体遗传序列的表观遗传机制。既往大量研究主要集中在 PTM 中的赖氨酸乙酰化^[5], 随着蛋白质组学的发展及质谱的应用, 许多新型赖氨酸酰基化修饰模式被发现, 包括赖氨酸丙酰化、丙二酰化、丁酰化、琥珀酰化等。已有研究发现 CVD 的发病机制与上述新型酰化过程密切相关^[6-7], 其中琥珀酰辅酶 A 在心脏中的表达水平远高于其他器官, 琥珀酰化也是心脏 PTM 的关键部分^[8]。

1 琥珀酸盐

琥珀酸盐主要产生并存在于宿主及微生物的线粒体基质中, 应激和炎症反应时也可在细胞外积聚。琥珀酸盐大部分由三羧酸 (TCA) 循环中琥珀酰辅酶 A 转化形成, 另有小部分为 α -酮戊二酸脱氢酶复合物的下游产物, 或 γ -氨基丁酸、乙醛酸分解形成^[9]。琥珀酸盐主要通过琥珀酸脱氢酶 (SDH) 或线粒体电子传递链的复合物 II 氧化代谢为富马酸盐^[10]。

2 琥珀酰化

2.1 琥珀酰化的发生过程

琥珀酰化是指将琥珀酰基 ($-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$) 与赖氨酸残基的 N- ϵ -胺共价结合的动态可逆过程, 在多种真核生物及原核生物如大肠杆菌、酵母细胞、刚地弓形虫、HeLa 细胞和小鼠肝脏中广泛存在^[11]。琥珀酰化主要发生于线粒体, 其次是细胞质和细胞核, 故在富含线粒体的高耗能组织 (如心脏、棕色脂肪组织和肝脏) 中含量丰富^[8]。琥珀酸可以直接转化为琥珀酰化的供体琥珀酰辅酶 A, 后进一步衍化为琥珀酰基。琥珀酰基为酸性酰基, 可将赖氨酸残基正电荷转化为负电荷^[12]。

2.2 琥珀酰化的调控

沉默信息调节因子 (Sirtuin) 是高度保守的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖性脱酰酶家族。Sirtuin5 (Sirt5) 具有去丙二酰化酶和去琥珀酰化酶的作用。琥珀酰化受 Sirt5 监管, 2 者共同参与尿素循环、氨转移和葡萄糖代谢等细胞代谢过程^[13], 同时在心脏中调节 TCA 循环、脂肪酸代谢、氧化磷酸化、丙酮酸代谢、酮生成、支链氨基酸代谢和三磷酸腺苷 (ATP) 合成。Sadhukhan 等^[8]报道在 Sirt5 敲除小鼠心脏细胞中, 琥珀酰辅酶 A 和琥珀酰肉碱水平与对照组无明显差异, 而琥珀酰化水平明显增加, 揭示了 Sirt5 对琥珀酰化的负向调控作用。

3 琥珀酸盐及琥珀酰化在 CVD 中的作用机制

3.1 缺血性心脏病

在心肌细胞缺血性损伤的不同时期, 琥珀酸盐有不同的作用。心肌处于缺血状态时, 缺氧导致

基金项目: 北京市科学技术委员会 (Z211100002921035); 首都卫生发展科研专项 (首发 2022-3-2105)
作者单位: 100020 北京, 首都儿科研究所附属儿童医院心血管内科
通信作者: 石琳, E-mail: shilin9789@126.com

乳酸堆积及 pH 下降,琥珀酸盐通过单羧酸盐转运蛋白 1 从胞内传送到胞外,与琥珀酸受体 1 结合,调节血管张力,改善心脏肥大^[14]。同时琥珀酸盐是缺氧诱导因子(HIF)-1 α 的稳定剂,心脏缺血时可以保护心脏。功能失调的心脏发生代谢异常,导致缺血后心脏中琥珀酸盐积累,反而使 HIF 羟化酶抑制剂琥珀酸盐的表达降低,抑制 HIF-1 α 的活性^[15]。活性氧(ROS)是心肌缺血再灌注的重要驱动因子,线粒体电子传递链中的复合物 I 为 ROS 的重要来源。心肌缺血时,富马酸盐通过复合物 II 的反向作用转化为琥珀酸盐,导致琥珀酸盐积聚,再灌注后氧含量回升,以琥珀酸盐形式储存在复合物 II 中的巨大电子池快速氧化,复合物 III 无法消耗琥珀酸盐氧化提供的所有电子,多余的电子被迫通过复合物 I 反向传递,导致 ROS 大爆发和心肌细胞死亡^[16]。再灌注早期,冠状动脉内的丙二酸盐抑制 SDH,增加琥珀酸表达水平,在猪短暂冠状动脉闭塞模型中,再灌注损伤和梗死面积减少,而不引起心肌收缩功能下降或心律失常^[17]。因此,琥珀酸盐对缺血状态下的心肌细胞有保护作用,但会损伤再灌注状态下的心肌细胞。

缺血环境下,心肌琥珀酰化水平呈下降趋势。当人心肌细胞处于缺血状态时,琥珀酰辅酶 A 生成减少,线粒体琥珀酰胆碱 A 随之减少,心肌细胞肌原纤维及线粒体蛋白中琥珀酰化水平随之降低^[18],ST 段抬高型心肌梗死患者和大鼠外周血清蛋白琥珀酰化水平同样呈下降趋势^[19]。Zhou 等^[20]发现在心肌梗死后的急性缺血期,Sirt5 通过肝-心串扰机制抑制心肌细胞琥珀酰化,表现出心脏保护作用。Boylston 等^[21]发现,缺血损伤后 Sirt5 敲除小鼠模型心脏的心肌梗死面积较对照组增加。心肌细胞缺血损伤时,赖氨酸琥珀酰化水平下降,Sirt5 可进一步下调琥珀酰化水平。

3.2 高血压

琥珀酸盐在肥胖高血压^[22]及妊娠高血压^[23]患者血液循环中表达水平升高。琥珀酸盐表达水平增加,刺激肾素分泌,促使血压上升^[24]。保持全身及局部琥珀酸盐稳态,有利于维持血压的稳定。SDH 基因缺失可发生嗜铬细胞瘤,引起血压升高^[25]。

3.3 心肌纤维化

Milutinović 等^[26]发现,使用线粒体毒素 3-硝基丙酸抑制 SDH 活性时,心肌细胞出现糖原累积、心肌细胞弥漫性肿胀、肌原纤维体积分数较低的

细胞横纹丢失以及单核浸润的纤维化。在主动脉弓缩窄术(TAC)建立的心肌纤维化和心力衰竭小鼠模型中,槲皮素可增加 Sirt5 的表达,抑制琥珀酰化,维持线粒体稳态,在炎症反应时保护小鼠心肌细胞,改善心肌纤维化,降低心力衰竭的发生率^[27]。因此,琥珀酸及琥珀酰化均可导致心肌纤维化。

3.4 心肌肥大

琥珀酸盐依赖 G 蛋白偶联受体 91(GPR91)可导致心肌肥大。琥珀酸盐可直接结合并激活 GPR91,促进心肌肥大信号的表达,如细胞外信号调节激酶 1/2 的磷酸化、钙(钙调素)依赖性蛋白激酶 II δ 的表达以及组蛋白去乙酰化酶 5 向细胞质的转位^[28]。在肺动脉环扎术诱导右心室肥大大鼠中,琥珀酸盐刺激 GPR91/磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)-蛋白激酶 B(Akt)轴,上调肥大基因,加重心室肌肥大^[29]。丙二酸抑制 SDH,琥珀酸表达水平升高,导致成人心肌细胞增殖^[30]。

他莫昔芬诱导的心脏特异性 Sirt5 敲除产后小鼠,暴露于长期慢性压力负荷时,心肌细胞蛋白的琥珀酰化水平持续上升,诱导小鼠心肌肥大;全身 Sirt5 敲除的产后小鼠长期暴露于慢性压力负荷时,死亡率增加^[31]。这提示琥珀酰化参与心肌肥大的进程,具体的作用机制尚不明确。

3.5 心律失常

琥珀酸盐表达水平增加,引起 TCA 中物质变化,这与心房颤动(AF)的发生风险相关^[32]。在大白猪心室颤动实验模型中,心肌细胞中出现琥珀酸盐累积^[33]。Bai 等^[34]发现 AF 患者左心耳组织蛋白中,246 个位点出现琥珀酰化上调,45 个位点出现琥珀酰化下调,在能量代谢、细胞外基质和细胞结构相关蛋白中,琥珀酰化和 AF 状态下的蛋白具有高度富集性。琥珀酰化可能是 AF 患者心脏能量代谢新的潜在调节模型。

3.6 心力衰竭

当 SDH 相关基因缺失时,琥珀酸盐表达水平增加,心肌细胞损伤,心功能下降^[35]。琥珀酸盐的蓄积也与心房功能障碍相关。琥珀酰辅酶 A 敲除小鼠的琥珀酰化水平较低,TAC 后小鼠心功能无明显下降^[36]。而在 Sirt5 敲除小鼠中琥珀酰辅酶 A 表达水平升高,琥珀酰化水平上调,小鼠出现随年龄增加的射血分数降低,心功能下降^[8]。因此,琥珀酸盐及琥珀酰化均可导致心功能下降。

4 小结

琥珀酰化与琥珀酸盐不仅直接参与 CVD 的病理生理过程, 还通过参与应激、炎症反应、肥胖等相关病因及诱因间接调控 CVD, 共同参与心脏的负向调节, 其在 CVD 发展中的机制有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Roth GA, Johnson C, Abajobir A, et al. Global, regional, and national burden of cardiovascular diseases for 10 causes, 1990 to 2015[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2017, 70(1):1-25.
- [2] Tang XQ, Chen XF, Chen HZ, et al. Mitochondrial sirtuins in cardiometabolic diseases[J]. *Clin Sci*, 2017, 131(16):2063-2078.
- [3] Lopaschuk GD, Jaswal JS. Energy metabolic phenotype of the cardiomyocyte during development, differentiation, and postnatal maturation[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2010, 56(2):130-140.
- [4] Arumugam S, Sreedhar R, Thandavarayan RA, et al. Targeting fatty acid metabolism in heart failure: is it a suitable therapeutic approach?[J]. *Drug Discov Today*, 2016, 21(6):1003-1008.
- [5] Shvedunova M, Akhtar A. Modulation of cellular processes by histone and non-histone protein acetylation[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2022, 23(5):329-349.
- [6] Al-Lahham S, Rezaee F. Propionic acid counteracts the inflammation of human subcutaneous adipose tissue: a new avenue for drug development[J]. *Daru*, 2019, 27(2):645-652.
- [7] Onyszkiewicz M, Gawrys-Kopczynska M, Konopelski P, et al. Butyric acid, a gut bacteria metabolite, lowers arterial blood pressure via colon-vagus nerve signaling and GPR41/43 receptors[J]. *Pflugers Arch*, 2019, 471(11-12):1441-1453.
- [8] Sadhukhan S, Liu XJ, Ryu D, et al. Metabolomics-assisted proteomics identifies succinylation and SIRT5 as important regulators of cardiac function[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(16):4320-4325.
- [9] Tretter L, Patocs A, Chinopoulos C. Succinate, an intermediate in metabolism, signal transduction, ROS, hypoxia, and tumorigenesis[J]. *Biochim Biophys*, 2016, 1857(8):1086-1101.
- [10] Michaeli S, Fromm H. Closing the loop on the GABA shunt in plants: are GABA metabolism and signaling entwined?[J]. *Front Plant Sci*, 2015, 6:419.
- [11] Li XL, Hu X, Wan YJ, et al. Systematic identification of the lysine succinylation in the protozoan parasite *Toxoplasma gondii*[J]. *J Proteome Res*, 2014, 13(12):6087-6095.
- [12] Sabari BR, Zhang D, Allis CD, et al. Metabolic regulation of gene expression through histone acylations[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, 18(2):90-101.
- [13] Du JT, Zhou YY, Su XY, et al. Sirt5 is a NAD-dependent protein lysine demalonylase and desuccinylase[J]. *Science*, 2011, 334(6057):806-809.
- [14] Zhang J, Wang YT, Miller JH, et al. Accumulation of succinate in cardiac ischemia primarily occurs via canonical Krebs cycle activity[J]. *Cell Rep*, 2018, 23(9):2617-2628.
- [15] Dodd MS, da Luz Sousa Fialho M, Montes Aparicio CN, et al. Fatty acids prevent hypoxia-inducible factor-1 α signaling through decreased succinate in diabetes[J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2018, 3(4):485-498.
- [16] Chouchani ET, Pell VR, James AM, et al. A unifying mechanism for mitochondrial superoxide production during ischemia-reperfusion injury[J]. *Cell Metab*, 2016, 23(2):254-263.
- [17] Valls-Lacalle L, Barba I, Miró-Casas E, et al. Selective inhibition of succinate dehydrogenase in reperfused myocardium with intracoronary malonate reduces infarct size[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):2442.
- [18] Ali HR, Michel CR, Lin YH, et al. Defining decreased protein succinylation of failing human cardiac myofibrils in ischemic cardiomyopathy[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2020, 138:304-317.
- [19] Zhou BD, Du YP, Xue YJ, et al. Identification of malonylation, succinylation, and glutarylation in serum proteins of acute myocardial infarction patients[J]. *Prot Clin Appl*, 2020, 14(1):e1900103.
- [20] Zhou BD, Xiao M, Hu H, et al. Cardioprotective role of SIRT5 in response to acute ischemia through a novel liver-cardiac crosstalk mechanism[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9:687559.
- [21] Boylston JA, Sun JH, Chen Y, et al. Characterization of the cardiac succinylome and its role in ischemia-reperfusion injury[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, 88:73-81.
- [22] Serena C, Ceperuelo-Mallafré V, Keiran N, et al. Elevated circulating levels of succinate in human obesity are linked to specific gut microbiota[J]. *ISME J*, 2018, 12(7):1642-1657.
- [23] Zhou YY, Zhang F, Jiang HJ, et al. Fumaric acid and succinic acid treat gestational hypertension by downregulating the expression of KCNMB1 and TET1[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(4):1072.
- [24] Yang XY, Yao S, An JX, et al. SLC26A6 and NADC-1: future direction of nephrolithiasis and calculus-related hypertension research (Review)[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 24(5):745.
- [25] Else T, Lerario AM, Everett J, et al. Adrenocortical carcinoma and succinate dehydrogenase gene mutations: an observational case series[J]. *Eur J Endocrinol*, 2017, 177(5):439-444.
- [26] Milutinović A, Zorc-Plesković R. Glycogen accumulation in cardiomyocytes and cardiotoxic effects after 3NPA treatment[J]. *Bosn J Basic Med Sci*, 2012, 12(1):15-19.
- [27] Chang X, Zhang T, Wang JY, et al. SIRT5-related desuccinylation modification contributes to quercetin-induced protection against heart failure and high-glucose-prompted cardiomyocytes injured through regulation of mitochondrial quality surveillance[J]. *Oxidative Med Cell Longev*, 2021, 2021:1-17.
- [28] Aguiar CJ, Rocha-Franco JA, Sousa PA, et al. Succinate causes pathological cardiomyocyte hypertrophy through GPR91 activation[J]. *Cell Commun Signal*, 2014, 12:78.
- [29] Lei Y. Succinate receptor GPR91 is involved in pressure

- overload-induced right ventricular hypertrophy[J]. PLOS ONE, 2016, 11(1):e0147597.
- [30] Bae J, Salamon RJ, Brandt EB, et al. Malonate promotes adult cardiomyocyte proliferation and heart regeneration[J]. Circulation, 2021, 143(20):1973-1986.
- [31] Hershberger KA, Abraham DM, Liu J, et al. Ablation of Sirtuin5 in the postnatal mouse heart results in protein succinylation and normal survival in response to chronic pressure overload[J]. J Biol Chem, 2018, 293(27):10630-10645.
- [32] Bulló M, Papandreou C, García-Gavilán J, et al. Tricarboxylic acid cycle related-metabolites and risk of atrial fibrillation and heart failure[J]. Metabolism, 2021, 125:154915.
- [33] Varvarousis D, Xanthos T, Ferino G, et al. Metabolomics profiling reveals different patterns in an animal model of asphyxial and dysrhythmic cardiac arrest[J]. Sci Rep, 2017, 7(1):16575.
- [34] Bai F, Tu T, Qin F, et al. Quantitative proteomics of changes in succinylated proteins expression profiling in left appendages tissue from valvular heart disease patients with atrial fibrillation[J]. Clin Chimica Acta, 2019, 495:345-354.
- [35] Jia YZ, Chang HC, Schipma MJ, et al. Cardiomyocyte-specific ablation of Med1 subunit of the mediator complex causes lethal dilated cardiomyopathy in mice[J]. PLoS One, 2016, 11(8):e0160755.
- [36] Byrne NJ, Soni S, Takahara S, et al. Chronically elevating circulating ketones can reduce cardiac inflammation and blunt the development of heart failure[J]. Circ Heart Fail, 2020, 13(6):e006573.
- (收稿:2023-01-18 修回:2023-05-24)
(本文编辑:洪玮)

