

高同型半胱氨酸血症致心功能不全的机制

喻 澄 陈桢玥

【摘要】 高同型半胱氨酸作为心血管疾病的危险因素,与动脉粥样硬化、血栓形成、心力衰竭和卒中等均有相关性。同型半胱氨酸作为心力衰竭的危险因素之一,在临床并未受到广泛关注。高同型半胱氨酸血症引发的心功能不全机制复杂多样,该文就高同型半胱氨酸血症致心肌重构的机制作一简介。

【关键词】 同型半胱氨酸;高同型半胱氨酸血症;心力衰竭;心肌重构

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2015.06.007

大量的基础和临床实验表明,血浆同型半胱氨酸(homocystein, hcy)水平增高不仅是动脉粥样硬化(AS),而且是心力衰竭的独立危险因素。研究发现,高同型半胱氨酸血症(hyperhomocysteinemia, hhcy)通过不同的病理机制促进了心肌重构和心力衰竭的发生。心肌重构通常是心肌对于异常血流动力学负荷的反应,心肌细胞肥厚、纤维化增加、不成比例的胶原沉积等使心肌肥厚、顺应性下降和心功能不全^[1]。早期的心肌肥厚是适应性的,但长期慢性的心肌重构必将导致心功能不全和失代偿性心力衰竭的发生^[2]。

1 hhcy 与心功能不全

2004 年弗雷明汉心脏研究发现,在女性人群中血 hcy 水平与左室质量和室壁厚度直接相关^[3]。Nasir 等^[4]在没有症状的人群中用带标记的磁共振成像研究左室功能,结果发现,增高的血浆 hcy 水平和左室局部收缩功能下降相关。在高血压伴 hcy 增高的患者中,左室舒张功能明显低于不伴有 hcy 增高的患者^[5]。Takehiko 等^[6]发现在有急性心肌梗死(AMI)病史的患者中,hcy 水平与心力衰竭的发生相关,能对心力衰竭的发生起预测作用。早在 2003 年,Vasan 等^[7]就证实没有 AMI 病史的人群中,hcy 是慢性心力衰竭发生的一个危险因素。一项对 68 例左室收缩功能正常即左室射血分数(LVEF)>50%的心力衰竭患者进行的回顾性研究显示,在心力衰竭患者组中血浆总 hcy 比正常对照组高^[8]。除临床研究外,大量的细胞实验和动物

实验也证实了 hcy 与心肌肥厚和心功能不全的关系。高 hcy 的刺激可以使体外培养的心肌细胞收缩力减弱,凋亡增加^[9-10]。在饮食诱导或基因敲除构建的 hhcy 动物模型中,出现心肌损伤、心肌肥厚、纤维化增加等心肌重构的表现和心肌舒缩功能的下降^[11]。选择性降低 hcy 有利于减轻过重负荷所致的心肌肥厚和小鼠 AMI 后的心脏重构,增强心脏舒张功能^[12-13]。

2 hhcy 致心功能不全的机制

2.1 氧化应激

氧化应激增强是 hhcy 引起心肌重构的主要病理机制^[14]。在 hhcy 动物模型中,心肌组织中超氧阴离子,过氧亚硝酸盐的含量增加,而在 hcy 刺激下的心肌细胞培养液中也检测到大量超氧阴离子的存在^[15]。通过蛋白组学分析发现,幼犬 hhcy 模型心肌组织中一部分蛋白表达的变化涉及氧化应激和抗氧化应激反应^[16]。hcy 含有 1 个高活性的巯基基团,这个巯基基团很容易自身氧化,与其他硫醇形成二硫键,同时产生超氧阴离子^[17]。升高的 hcy 通过上调细胞还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶,降低谷胱甘肽过氧化物酶活性,增加超氧阴离子的生成。在用 hcy 刺激的人脐静脉内皮细胞(HUVEC)培养中,使用 NADPH 氧化酶抑制剂能基本抑制 hcy 刺激产生的超氧阴离子,进一步说明 NADPH 氧化酶在氧化应激中的作用。

氧化应激最大的损伤首先来自于对一氧化氮(NO)的破坏,hcy 刺激下产生的活性氧族(ROS),能与 NO 结合生成过氧亚硝酸盐并使 NO 活性下降^[18]。在 hcy 刺激下,内皮性一氧化氮合酶(eNOS)表达下调以及 eNOS 解偶联的发生导致

NO 产量下降^[15]。NO 及其下游靶分子蛋白激酶 G (PKG) 具有抗心肌肥厚作用^[19]。NO 产量和活性的下降导致了心脏肥厚、间质纤维化。其次, 心内膜毛细血管内皮细胞中 NO 的产生对于心肌细胞的功能具有重要作用, NO 的破坏不仅影响 NO 介导的内皮舒张功能, 更引起心肌细胞功能失调, 加重心肌缺血, 引发心肌重构, 加快心功能不全的进展^[20]。NO 还被认为可以调控心肌能量代谢, 正常的心肌主要以游离脂肪酸作为能量供应来源。在 hhcy 刺激下, 心肌细胞葡萄糖摄取增加, 游离脂肪酸氧化减少^[21]。hhcy 通过氧化应激改变了心肌的代谢, 这种代谢改变见于许多心衰模型中^[22]。

在 hhcy 合并 AMI 的小鼠模型中, 通过腺病毒转染选择性降低血 hcy 水平能够减轻氧化应激, 促进心肌的愈合, 减轻心肌间质纤维化, 增加毛细血管密度, 改善心脏舒张功能^[13]。在 hhcy 的大鼠模型中使用具有抗氧化作用的 B 族维生素进行抗氧化应激干预后, 可以防止心肌纤维化和舒张功能不全的发生, 进一步证明了氧化应激在高 hcy 引起心脏重构中的重要作用^[23]。

2.2 炎症反应

在心力衰竭患者中, 不仅循环炎症因子水平增高, 心肌组织中组织坏死因子 (TNF) 表达也上调^[24]。炎症因子也参与了 hhcy 诱导的心脏重构。在饮食诱导的 hhcy 大鼠心脏中, 转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) 的表达与心脏间质纤维化和心肌细胞肥大密切相关, TGF- $\beta 1$ 可以激活基质金属蛋白酶, 引起细胞外基质降解的失衡, 参与心肌重构^[25]。Pal Singh^[26]等在蛋氨酸诱导 hhcy 大鼠模型的心肌组织中发现肥大细胞的密度增加; 而在使用了肥大细胞膜稳定剂色甘酸二钠或酮替芬后, 心肌肥厚得到缓解。肥大细胞通过脱颗粒, 释放组胺、糜酶、TNF α 和 TGF- β 等炎症因子, 促进心肌重构。Pang 等^[27]发现 hcy 可以通过 N-甲基-D-天门冬氨酸受体 (NMDAr)-ROS-细胞外调节蛋白激酶 (ERK) 1/2/p38-核因子 κB (NF- κB) 信号通路, 促进血管平滑肌增生, 上调 C 反应蛋白表达, 启动炎症反应。不仅如此, 氧化应激产生的 ROS 可以激活肥大细胞, 而肥大细胞释放的物质又可以增强 NADPH 活性^[28]。氧化应激反应和炎症反应形成恶性循环, 加重心肌损伤和重构。

2.3 基质金属蛋白酶的激活

正常心肌组织中含有的基质金属蛋白酶

(MMP) 可被氧化应激的产物激活^[29]。MMP 与 NO 以及组织金属蛋白酶抑制剂 (TIMP) 形成三元复合物, hcy 刺激产生的 ROS 与 NO 结合形成过氧亚硝酸盐后将 TIMP 氧化, MMP 被激活^[30]。激活的 MMP 可以通过蛋白酶激活受体 (PAR)-ERK-转录因子 AP1 途径又增加 MMP 的表达^[31]。Hcy 通过增加心肌组织 N-甲基-D-天门冬氨酸受体 1 (NMDA-R1) 的表达, 上调 MMP 的表达^[10]。正常心肌组织通过 MMP/TIMP 维持胶原蛋白和弹性蛋白的平衡。在 hcy 的作用下, 激活的 MMP 打破这种平衡状态, 使细胞外基质合成和降解失衡, 增加间质纤维化, 促进心肌重构和心力衰竭的发生^[31]。

2.4 线粒体功能失调

线粒体是提供心肌细胞能量的场所, 线粒体功能正常是维持心肌细胞稳态和心脏正常功能的必要条件。线粒体功能失调是 hhcy 引起心脏重构和心功能不全的重要机制。N-甲基-D-天门冬氨酸受体 (NMDA-R) 是一种神经元谷氨酸能受体, 亚型 NMDA-R1 表达于心脏组织^[32]; 脑组织中 NMDA 受体激活可致脑细胞线粒体功能失调, 活性氧聚集和细胞死亡。NMDA 受体拮抗剂能减轻 hcy 在神经细胞中产生的氧化应激毒性, 证明 hcy 可能是 NMDA 受体的配体^[33]。研究也证实心肌组织中 hcy 可以增加 NMDA-R1 的表达水平。Hcy 通过激活 NMDA-R1, 作用于 Rac-1 小 G 蛋白, 使线粒体内 ROS 增加、钙超载、MMP 表达上调和膜通透性增加, 释放促凋亡分子和细胞色素 C, 心肌细胞发生凋亡或坏死, 最终导致心力衰竭的发生^[10, 34]。Hcy 还能降低肌浆网钙泵 (SERCA) 的表达, 使心肌细胞内发生钙超载, 激活钙离子依赖性三磷酸腺苷 (ATP) 酶, 使 ATP 产量减少, 心肌收缩力减弱^[10]。敲除心脏特异性 NMDA-R1 基因能减少 hhcy 时线粒体 ROS 的生成, 改善 hcy 刺激线粒体产生的膜通透性改变并恢复心肌细胞收缩力不足的状态^[35]。这进一步证明了 hcy 通过 NMDA-R1 受体对线粒体功能的影响。

2.5 表观遗传学变化

在蛋氨酸循环中, S-腺苷蛋氨酸 (SAM) 作为直接甲基供体被 DNA 甲基转移酶 (DNMT) 催化, 生成 S-腺苷同型半胱氨酸 (SAH), SAH 水解为 hcy, hcy 通过再甲基化形成蛋氨酸, 完成蛋氨酸循环, hcy 的异常升高将会打乱循环的平衡, 影响 DNA 的甲基化^[36]。发生 hhcy 时, SAH 增高、SAM 降低,

SAH/SAM 比值升高, DNA 甲基转移酶 DNMT 表达上调^[37], DNA 呈低甲基化状态。在高蛋氨酸诱导的 hhcy 小鼠中, DNMT1 无论活性和表达均明显上调, p53 基因低甲基化, 其下游的凋亡因子 Bax 等表达上调, 凋亡抑制因子表达减少, 促进心肌细胞的凋亡和心肌损伤^[11]。此外, hhcy 通过 DNA 甲基化修饰, 使线粒体氧化呼吸链复合体 III 以及脂肪酸氧化过程中酶的表达减少, 影响心肌细胞能量代谢, 造成心肌肥厚^[38]。除甲基化修饰外, 发生 hhcy 时, 组蛋白去乙酰化酶(HDAC)下调。甲基化修饰与乙酰化修饰一起参与调控心脏重构相关基因的表达, 引起心脏重构^[36]。

2.6 组织特异性

正常情况下, hcy 一方面可以通过蛋氨酸合酶(MS)合成蛋氨酸, 或者通过 β -同型半胱氨酸甲基转移酶合成蛋氨酸完成蛋氨酸循环; 另一方面可以通过胱硫醚 β 合酶(CBS)进入转硫代谢途径合成胱硫醚和半胱氨酸, 胱硫醚在 γ -裂解酶(CSE)生成硫化氢(H_2S)^[39], 半胱氨酸可代谢生成谷胱甘肽(GSH)。然而在心脏组织中, 缺乏 CBS 和 β -同型半胱氨酸甲基转移酶^[40], 心脏组织中的 hcy 只能进入有 MS 催化的蛋氨酸循环途径, 而不能通过转硫途径生成的 GSH 和 H_2S 。GSH 具有抗氧化应激作用, H_2S 可以通过多种机制保护心脏^[41]。由于心脏特异性的 hcy 代谢特点, 心肌更容易受到损伤。

3 小结

Hcy 与心功能不全的关系已经明确, hcy 致心功能不全的机制复杂多样, 然而在使用叶酸联合维生素 B_{12} 进行血 hcy 干预的大型随机临床试验中却发现^[42], 与安慰剂组比较, 降 hcy 的干预治疗并没有影响心肌梗死、中风和全因死亡的发生率。有学者怀疑, hcy 仅为疾病的标志物。一方面对于 hhcy 的慢性应激状态, 临床干预时间不够长; 另一方面, hhcy 的病因多样化以及 hhcy 致病机制的多样, 单纯使用叶酸和维生素 B_{12} 的干预可能过于简单化。这可能是该临床试验结果阴性的原因。今后应更深入研究 hcy 致心功能不全的机制, 以期找到更为有效的干预手段。在临床随机对照试验中, 是否可以将心力衰竭作为临床终点事件之一, 以发现 hcy 与心力衰竭关系更直接的证据。

参 考 文 献

[1] Weber KT, Brilla CG. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. Fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system [J]. Circulation, 1991, 83(6): 1849-1865.

[2] Balakumar P, Singh AP, Singh M. Rodent models of heart failure[J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2007, 56(1): 1-10.

[3] Sundstrom J, Sullivan L, Selhub J, et al. Relations of plasma homocysteine to left ventricular structure and function: the Framingham Heart Study[J]. Eur Heart J, 2004, 25(6): 523-530.

[4] Nasir K, Tsai M, Rosen BD, et al. Elevated homocysteine is associated with reduced regional left ventricular function the multi-ethnic study of atherosclerosis[J]. Circulation, 2007, 115(2): 180-187.

[5] Ruhui L, Jinfa J, Jiahong X, et al. Influence of hyperhomocysteinemia on left ventricular diastolic function in Chinese patients with hypertension[J]. Herz, 2015, 40(4): 679-684.

[6] Washio T, Nomoto K, Watanabe I, et al. Relationship between Plasma homocysteine levels and congestive heart failure in patients with acute myocardial infarction homocysteine and congestive heart failure[J]. Int Heart J, 2011, 52(4): 224-228.

[7] Vasan RS, Beiser A, D'agostino RB, et al. Plasma homocysteine and risk for congestive heart failure in adults without prior myocardial infarction[J]. JAMA, 2003, 289(10): 1251-1257.

[8] Okuyan E, Uslu A, Akar MA, et al. Homocysteine levels in patients with heart failure with preserved ejection fraction [J]. Cardiology, 2010, 117(1): 21-27.

[9] Wang X, Cui L, Joseph J, et al. Homocysteine induces cardiomyocyte dysfunction and apoptosis through p38 MAPK-mediated increase in oxidant stress[J]. J Mol Cell Cardiol, 2012, 52(3): 753-760.

[10] Moshal KS, Tipparaju SM, Vacek TP, et al. Mitochondrial matrix metalloproteinase activation decreases myocyte contractility in hyperhomocysteinemia [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2008, 295(2): H890-H897.

[11] Ma S, Zhang H, Sun W, et al. Hyperhomocysteinemia induces cardiac injury by up-regulation of p53-dependent Noxa and Bax expression through the p53 DNA methylation in ApoE^{-/-} mice[J]. Acta Bioch Bioph Sin, 2013, 45(5): 391-400.

[12] Muthuramu I, Singh N, Amin R, et al. Selective homocysteine-lowering gene transfer attenuates pressure overload-induced cardiomyopathy via reduced oxidative stress [J]. J Mol Med (Berl), 2015, 93(6): 609-618.

[13] Muthuramu I, Jacobs F, Singh N, et al. Selective homocysteine lowering gene transfer improves infarct healing, attenuates remodelling, and enhances diastolic function after myocardial infarction in mice[J]. PLoS One, 2013, 8(5): e63710.

[14] Loscalzo J. The oxidant stress of hyperhomocyst(e) inemia [J]. J Clin Invest, 1996, 98(1): 5-7.

[15] Tyagi N, Sedoris KC, Steed M, et al. Mechanisms of homocysteine-induced oxidative stress [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005, 289(6): H2649-H2656.

- [16] Martinez E, Gérard N, Garcia MM, et al. Myocardium proteome remodelling after nutritional deprivation of methyl donors[J]. J Nutr Biochem, 2013, 24(7): 1241-1250.
- [17] McDowell IF, Lang D. Homocysteine and endothelial dysfunction: a link with cardiovascular disease[J]. J Nutr, 2000, 130(2s Suppl): 369S-372S.
- [18] Sood HS, Cox MJ, Tyagi SC. Generation of nitrotyrosine precedes activation of metalloproteinase in myocardium of hyperhomocysteinemic rats[J]. Antioxid Redox Signal, 2002, 4(5): 799-804.
- [19] Wollert KC, Fiedler B, Gambaryan S, et al. Gene transfer of cGMP-dependent protein kinase I enhances the antihypertrophic effects of nitric oxide in cardiomyocytes[J]. Hypertension, 2002, 39(1): 87-92.
- [20] Kundu S, Kumar M, Sen U, et al. Nitrotyrosinylation, remodeling and endothelial - myocyte uncoupling in iNOS, cystathionine beta synthase (CBS) knockouts and iNOS/CBS double knockout mice[J]. J Cell Biochem, 2009, 106(1): 119-126.
- [21] Suematsu N, Ojaimi C, Kinugawa S, et al. Hyperhomocysteinemia alters cardiac substrate metabolism by impairing nitric oxide bioavailability through oxidative stress[J]. Circulation, 2007, 115(2): 255-262.
- [22] Recchia FA, McConnell PI, Bernstein RD, et al. Reduced nitric oxide production and altered myocardial metabolism during the decompensation of pacing-induced heart failure in the conscious dog[J]. Circ Res, 1998, 83(10): 969-979.
- [23] Joseph J, Joseph L, Devi S, et al. Effect of anti-oxidant treatment on hyperhomocysteinemia-induced myocardial fibrosis and diastolic dysfunction[J]. J Heart Lung Transpl, 2008, 27(11): 1237-1241.
- [24] Torre-Amione G, Kapadia S, Lee J, et al. Tumor necrosis factor- α and tumor necrosis factor receptors in the failing human heart[J]. Circulation, 1996, 93(4): 704-711.
- [25] Raaf L, Noll C, Cherifi Mel H, et al. Myocardial fibrosis and TGF β expression in hyperhomocysteinemic rats[J]. Mol Cell Biochem, 2011, 347(1-2): 63-70.
- [26] Singh AP, Singh M, Balakumar P. Effect of mast cell stabilizers in hyperhomocysteinemia-induced cardiac hypertrophy in rats[J]. J Cardiovasc Pharm, 2008, 51(6): 596-604.
- [27] Pang X, Liu J, Zhao J, et al. Homocysteine induces the expression of C-reactive protein via NMDAR-ROS-MAPK-NF- κ B signal pathway in rat vascular smooth muscle cells[J]. Atherosclerosis, 2014, 236(1): 73-81.
- [28] Swindle EJ, Metcalfe DD, Coleman JW. Rodent and human mast cells produce functionally significant intracellular reactive oxygen species but not nitric oxide[J]. J Biol Chem, 2004, 279(47): 48751-48759.
- [29] Tyagi SC, Ratajska A, Weber KT. Myocardial matrix metalloproteinase (s): localization and activation[J]. Mol Cell Biochem, 1993, 126(1): 49-59.
- [30] Henderson BC, Tyagi SC. Oxidative mechanism and homeostasis of proteinase/antiproteinase in congestive heart failure[J]. J Mol Cell Cardiol, 2006, 41(6): 959-962.
- [31] Herrmann W, Herrmann M, Joseph J, et al. Homocysteine, brain natriuretic peptide and chronic heart failure: a critical review[J]. Clin Chem Lab Med, 2007, 45(12): 1633-1644.
- [32] Krainc D, Bai G, Okamoto S, et al. Synergistic Activation of the N-Methyl-D-aspartate Receptor Subunit 1 Promoter by Myocyte Enhancer Factor 2C and Sp1[J]. J Biol Chem, 1998, 273(40): 26218-26224.
- [33] Folbergrová J. NMDA and not non-NMDA receptor antagonists are protective against seizures induced by homocysteine in neonatal rats[J]. Eex Neurol, 1994, 130(2): 344-350.
- [34] Moshal KS, Metreveli N, Frank I, et al. Mitochondrial MMP activation, dysfunction and arrhythmogenesis in hyperhomocysteinemia[J]. Curr Vasc Pharmacol, 2008, 6(2): 84-92.
- [35] Moshal KS, Kumar M, Tyagi N, et al. Restoration of contractility in hyperhomocysteinemia by cardiac-specific deletion of NMDA-R1[J]. Am J Physiol-heart C, 2009, 296(3): H887-H892.
- [36] Chaturvedi P, Kalani A, Givvimani S, et al. Differential regulation of DNA methylation versus histone acetylation in cardiomyocytes during HHcy in vitro and in vivo: an epigenetic mechanism[J]. Physiol Genomics, 2014, 46(7): 245-255.
- [37] Jiang Y, Sun T, Xiong J, et al. Hyperhomocysteinemia - mediated DNA Hypomethylation and its Potential Epigenetic Role in Rats[J]. Acta Biochim Bioph Sin, 2007, 39(9): 657-667.
- [38] Garcia MM, Guéant-Rodriguez RM, Pooya S, et al. Methyl donor deficiency induces cardiomyopathy through altered methylation/acetylation of PGC-1 α by PRMT1 and SIRT1[J]. J Pathol, 2011, 225(3): 324-335.
- [39] Mani S, Li H, Untereiner A, et al. Decreased endogenous production of hydrogen sulfide accelerates atherosclerosis[J]. Circulation, 2013, 127(25): 2523-2534.
- [40] Chen P, Poddar R, Tipa EV, et al. Homocysteine metabolism in cardiovascular cells and tissues: implications for hyperhomocysteinemia and cardiovascular disease[J]. Adv Enzyme Regul, 1999, 39: 93-109.
- [41] Kesharwani V, Nandi SS, Sharawat SK, et al. Hydrogen sulfide mitigates homocysteine-mediated pathological remodeling by inducing miR-133a in cardiomyocytes[J]. Mol Cell Biochem, 2015, 404(1-2): 241-250.
- [42] Martí-Carvajal AJ, Solà I, Lathyris D. Homocysteine - lowering interventions for preventing cardiovascular events[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2015, 1: CD006612.

(收稿: 2015-07-24 修回: 2015-08-14)

(本文编辑: 丁媛媛)