

胆红素和氧自由基与心血管疾病的关系

杨俊娟¹, 程宇彤², 张钧华¹

(1. 北京大学第一医院心内科, 北京市 100034; 2. 北京世纪坛医院心内科, 北京市 100038)

[关键词] 内科学; 胆红素、氧自由基与心血管疾病的关系; 综述; 胆红素; 氧自由基

[摘要] 胆红素是血红蛋白的代谢产物, 多年来一直被认为是人体的排泄物, 近年来国内外的研究表明许多心血管疾病与氧自由基引起的氧化应激有关, 胆红素在生理浓度下即可有效清除氧自由基对血管内皮细胞和平滑肌细胞的损害, 防止低密度脂蛋白的氧化修饰, 是内源性、生理性抗氧化剂和细胞保护剂, 对心血管疾病的预防和治疗具有重大意义。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

胆红素是血红蛋白的代谢产物, 多年来一直被列为诊断肝胆疾病的重要依据, 近年的研究表明它是内源性抗氧化剂, 胆红素在生理浓度下即可有效清除氧自由基, 防止低密度脂蛋白的氧化修饰, 保护血管内皮功能, 从而防止动脉粥样硬化的发生, 降低冠心病的危险性, 本文将胆红素、氧自由基与心血管疾病的关系做一综述。

1 胆红素来源与体内代谢

胆红素在体内有两个来源, 一是红细胞被肝、脾、骨髓的单核-巨噬细胞分解, 释放血红蛋白, 而后分解为游离珠蛋白及血红素(亚铁原卟啉), 后者在限速酶血红素氧合酶 1(heme oxygenase 1, HO-1)的催化下分解为胆绿素、一氧化碳、二价铁离子, 胆绿素在胆绿素转化酶作用下还原为胆红素, 此种方式生成占胆红素的 80% 以上, 另外 10% 的胆红素来源于骨髓幼稚红细胞的血红蛋白和肝内含有亚铁血红素的蛋白质(如过氧化氢酶、过氧化物酶及细胞色素氧化酶与肌红蛋白等)。上述形成的胆红素称为非结合胆红素, 非结合胆红素在形成后与血浆白蛋白结合而输送至肝, 经肝代谢形成结合胆红素。大约不到 10% 的胆红素在体内转化后排入肠道还原为尿胆原、粪胆原, 其中大部分排出体外, 小部分参加“肝肠循环”。正常情况下, 胆红素进入与离开血循环保持动态的平衡, 血中的胆红素浓度保持平衡, 总胆红素为 1.7 ~ 17.1 $\mu\text{mol/L}$ 。

2 胆红素的抗氧化和抗炎生物学特性

氧自由基包括超氧阴离子自由基和羟自由基, 后者由过氧化氢在金属离子存在时或缺血再灌注条件下产生。超氧负离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)、羟自由基(HO^{\cdot})、过氧化氢(H_2O_2)、单线态氧, 统称活性氧。还有与氧自由基作用相似的氧相关自

由基, 包括氧化硝基、过氧化硝基、脂类自由基。一种自由基生成后可通过自由基链反应产生多种自由基。自由基带不对称电子, 具高度氧化能力, 一旦体自由基增加, 即形成所谓氧化应激。

长期以来, 胆红素被认为是亚铁血红素降解而来的人体排泄物, 作为肝胆及血液系统疾病的诊断指标在临床应用。自 1950 年起, 人们便发现了胆红素的抗氧化性质, 此后一系列实验采用不同的方法均证实胆红素家族成员均具有抗氧化自由基作用^[1]。2002 年第一次在活体细胞中证实胆红素是生理性的抗氧化剂和细胞保护剂, 胆红素分子上的白蛋白的不对称性促使胆红素 C10 上的氢转化为活性氢原子, 易与超氧阴离子等自由基结合, 清除氧自由基。胆红素在体内组织浓度 20~50 nmol/L , 比已知的抗氧化剂谷胱甘肽的组织浓度的 0.1% 还少, 它强大的抗氧化作用是通过胆绿素还原酶的接触性扩增作用实现的, 占机体总抗氧化能力的 30% 左右, 它比已知的维生素 C 和 E 等抗氧化剂能更有效地保护细胞免受自由基损伤, 在氧化应激时发挥对心血管系统的保护作用^[2]。

沉积在血管壁中的血浆低密度脂蛋白在过量的氧自由基作用下, 与体内大量多价不饱和脂肪酸发生过氧化反应, 大量卵磷脂转化为溶血卵磷脂, 过氧化的脂肪酸与载脂蛋白 B 中的赖氨酸结合, 发生氧化修饰形成氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL), ox-LDL 对内皮细胞有高度的细胞毒性, 可引起血管内皮通透性增高, 巨噬细胞受 ox-LDL 作用而活化, 释放出大量细胞因子如白细胞介素 1 和肿瘤坏死因子 α 等, 均可诱导血管平滑肌细胞血小板源生长因子基因表达, 促进血管平滑肌细胞增殖。既往对血管内皮损伤机制及其保护的一系列实验研究证实 ox-LDL 对内皮细胞上的受体凝血酶样氧化型低密度脂蛋白受体 1(lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1, LOX-1)介导了 ox-LDL 对内皮细胞形态学及功能学上的损伤作用^[3,4]。胆红素在体外能阻止 LDL 被 2, 2' 偶氮(2-丙基咪)的双盐酸盐在 37 $^{\circ}\text{C}$ 产生的氧自由基修饰, 从而抑制 ox-LDL 的生成^[5]。

胆红素亦介导 HO-1 的抗炎作用, 抑制单核细胞趋化和白细胞粘附血管壁, 保护血管内皮功能。文献报道胆红素和

[收稿日期] 2005-11-23

[修回日期] 2006-07-17

[作者简介] 杨俊娟, 博士, 主任医师, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为心血管内科, E-mail 为 yjj66@yahoo.com.cn。程宇彤, 硕士, 研究方向为冠心病的基础和临床。张钧华, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 主要从事动脉粥样硬化疾病、冠心病的基础与临床研究。

胆绿素均能抑制感染过程中的补体反应,HO-1 活性增加,炎症反应清除快,若抑制酶的活性则炎症反应强烈,证明胆红素在一定程度上可抑制炎症反应。胆红素的抗免疫与炎症反应可能在一定程度上减缓心血管疾病的病理生理进程^[6]。

3 胆红素的作用机制

血红素氧合酶 1(HO-1) 作为血红素分解的限速酶,其活性增加使一氧化碳(carbon monoxide, CO)、铁离子及胆绿素生成增多。这些代谢产物在血浆中浓度的改变都会对心血管疾病的病理进程产生影响。HO-1 在血管内皮、平滑肌中低浓度表达,血红素、金属离子、缺氧、氧化应激、炎症介质、 α -LDL 可诱导其大量表达。通过转染 HO-1 基因至鼠肺的微血管细胞,可以抵抗血红素与 H_2O_2 所导致的细胞损伤,若加入 HO-1 的竞争性抑制剂,这种保护作用就会消失^[7]。HO-1 通过对血红素的降解避免其对血管壁细胞的毒性损伤,而且血红蛋白是一氧化氮(nitric oxide, NO) 的清道夫,血红素的降解可增强 NO 的血管舒张作用、调节血小板功能以及防御感染等有益作用。CO 可通过调节血管张力和抑制血小板聚集来维持血管通畅,并且介导 HO-1 的抗血管平滑肌细胞增殖、凋亡和抗炎等作用^[8]。胆红素能够抑制 α -LDL 的产生,保护血管内皮功能,从而使细胞避免 α -LDL 引起的补体活化和炎症反应带来的损伤,阻止或减慢动脉粥样硬化的进程^[9]。HO-1 促进铁的释放,改变铁在体内的储存分布,加速铁蛋白的合成,保护血管内皮细胞免受氧化损伤^[10]。HO-1 活性增加的总结果为细胞对氧化损伤的抵抗力增强,胆红素是血红素氧合酶活性增加的标志,以上诸因素相互作用并保持动态平衡是防止心血管疾病的病理生理过程的重要因素。既往研究发现携带 GT 重复少于 25 次等位基因的冠心病患者冠状动脉支架术后再次狭窄率低,提示 HO-1 基因多态性与冠状动脉支架术后再次狭窄相关^[11]。

4 胆红素与心血管疾病的关系

4.1 活性氧对心血管的影响

血管内皮细胞通过分泌多种血管活性物质调节血管紧张度、血液流变学以及细胞对血管壁的粘附,活性氧可以损伤血管内皮细胞使血管内皮功能异常,已知血管壁细胞对氧化具有应激反应及抗氧化应激能力^[12]。在氧化应激时,由于血管内皮舒张因子 NO 生物活性的丧失导致内皮依赖的血管松弛功能异常,NO 合成酶表达减少、NO 合成酶生成底物或辅因子减少、NO 合成酶活性未被激活、活性氧降解 NO 等均可导致 NO 异常^[13]。 $O_2^{\cdot -}$ 可以抑制 NO 而超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD) 可以稳定 NO,给高脂饮食兔投饲 SOD 后明显改善其内皮功能,而对于普通饮食兔则无此效果,表明在高胆固醇时 $O_2^{\cdot -}$ 可以抑制 NO 的生物活性。高血压患者血管内皮依赖性舒张功能与舒张压呈负相关,与血清 NO 和 SOD 呈正相关,存在氧化应激增强和抗氧化能力降低^[14]。许多研究表明高血压、高血脂、糖尿病、吸烟、心功能衰竭等存在的内皮功能异常与氧化应激有关^[15]。

活体的平滑肌细胞本身就可以产生活性氧 $O_2^{\cdot -}$ 和 H_2O_2 , 也与循环血细胞、炎性细胞、内皮细胞释放的自由基发生作用。研究表明黄嘌呤/黄嘌呤氧化酶可以刺激平滑肌细胞增殖,并证明是由此酶产生的 H_2O_2 导致平滑肌细胞增殖。血管紧张素 ① 诱导的细胞肥厚也是通过活性氧介导的,至少其中一部分是还原型辅酶 iv(NADH)/还原型辅酶 ③ (NADPH) 产生的作用^[16]。文献报道在球囊损伤血管 14 天之内,细胞质中的 SOD 水平是降低的,而血管内氧化应激增加(表现为过氧化硝基物质生成增加)及动脉中层基质成分增多。在球囊损伤血管 7~14 天之间给予外源性 SOD 可以减少 59% 的活体血管管腔直径丢失以及基质的增加,但不影响新生内膜的生成,同时还可以使血管内 NO 合成酶明显增加,使 NO 生成增加^[17]。另有报道,球囊生物学损伤血管之后给予胆绿素可以抑制血管平滑肌细胞迁移,减少新生内膜形成^[18],说明活性氧在平滑肌细胞增殖中扮演着重要的角色^[19,20]。

4.2 胆红素与冠心病

1994 年, Schwertner 首先在 619 名行血管造影检查的正常人群中观察到血浆胆红素浓度在正常生理范围内与冠心病的发病呈明显的负相关关系,随后在 161 例早发家族性冠心病的队列研究中亦发现高浓度的血浆胆红素与低早发家族性冠心病发病相关,认为其是独立的保护性因素,作用与高密度脂蛋白相当,OR 值是 0.23^[21]。一项英国 7 685 例中年人的前瞻性研究,平均随访 11.5 年,以血浆胆红素浓度 ($\leq 7, 8-9, 10-11, 12-17, \geq 17$) 分组,发现在调整年龄因素后,这五组发生缺血性心脏病的危险呈 U 型曲线,即血浆胆红素浓度高或低组发生缺血性心脏病的危险比血浆胆红素浓度居中组高,OR 值是 0.68(95% 可信区间 0.51~0.89);多变量分析显示,吸烟、抗高血压药物治疗、呼吸功能 1 s 量、高密度脂蛋白、血浆白蛋白与血浆胆红素浓度明显相关,在调整些危险因素后,五组发生缺血性心脏病的危险仍呈 U 型曲线,且各组间差异有显著性^[22]。一项有关 Framingham 后代的随机前瞻性研究,共入选 4 276 例,在男性中校正年龄、吸烟、血脂、血压等混杂因素后,随着血清总胆红素浓度的增高,心肌梗死和冠状动脉病变死亡、心血管疾病发生风险显著降低^[23]。近年来多项临床研究均提示低胆红素水平作为冠心病的一个独立危险因素。胆红素与胆固醇合用预测冠心病的发生较单用后者增加 3%,而年龄与胆固醇合用仅增加 0.9%;低密度脂蛋白与高密度脂蛋白合用预测冠心病的发生率是 28.4%,低密度脂蛋白、高密度脂蛋白与胆红素合用预测冠心病的发生率准确性是 35.3%,敏感性由 40.4% 增加到 51.7%(P 值分别是 0.033 和 0.048)^[24]。

4.3 胆红素与心功能衰竭

Raju 等^[25] 研究表明狗在右心功能衰竭时,右心室 HO-1 mRNA 表达增高,HO-1 蛋白活性及催化产物增高,cGMP 含量也增加,这种增加对心脏结构和功能都具有保护作用。Kozma 等^[26] 证实这种保护作用是通过 CO 扩张心内小动脉及胆红素抗氧自由基作用实现的,同时由于血红素的分解代谢减轻了血红素的细胞毒作用。程友琴等^[27] 观察到老年心功能衰竭患者血胆红素水平与心功能衰竭临床症状、类型及

预后关系较为密切,发现老年心功能衰竭发作时血胆红素水平较缓解时明显增高,全心功能衰竭者比单纯心功能衰竭者增高,预后良好者比预后不良者增高,推测心功能衰竭患者胆红素水平增加与 HO-1 活性增高有关,但是胆红素对心功能衰竭的保护作用尚有待进一步研究。

5 结语

在今天看来,胆红素不再仅是人体的排泄物,它有抗氧化特性,即与氧化自由基发生反应的特性。在生理状态下能清除氧自由基,抗 α -LDL 生成,有抗炎作用,保护细胞免受损伤,对血管平滑肌细胞的迁移和增殖有抑制作用,有抗动脉粥样硬化的作用,是血红素氧合酶活性增加的标志。胆红素与氧自由基均参与了心血管疾病发生发展的病理生理过程,动脉粥样硬化、高血压、糖尿病、心功能衰竭等是血管壁抗氧化和致氧化因素之间失衡的结果,对其的透彻了解无疑对目前心血管疾病的预防和治疗具有重大意义,目前已有证据表明在生理范围内较高血浆胆红素浓度水平可降低冠心病发病率,可预测动脉粥样硬化的发生风险,改善心功能衰竭患者的预后,但是目前临床上还不能通过增加胆红素的办法来研究胆红素与各种心血管疾病的关系。另外,在病理状态下,胆红素水平的过度升高是否对心血管系统有毒害作用等尚需进一步探讨,也许通过调控 HO-1 基因来增加血浆或组织的胆红素水平来减少某些心血管疾病的氧化应激、有效保护血管内皮细胞可能是今后研究的方向。

[参考文献]

- [1] Kranc KR, Pyne GJ, Tao L, Claridge TD, Harris DA, Cadoux-Hudson TA, et al. Oxidative degradation of bilirubin produces vasoactive compounds[J]. *Eur J Biochem*, 2000, **267** (24): 7 094-101
- [2] Baranano DE, Rao M, Ferris CD, Snyder SH. Biliverdin reductase: a major physiologic cytoprotectant[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99** (25): 16 093-098
- [3] 徐雅琴, 张钧华, 柯杨, 宁涛, 冯莉雅, 唐朝枢. 氧化低密度脂蛋白内皮受体在氧化低密度脂蛋白致内皮细胞损伤中的作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2000, **16** (10): 897-900
- [4] 徐雅琴, 王士雯, 曹静, 施伟伟, 张钧华, 汪丽惠, 等. 氧化低密度脂蛋白对内皮细胞 L-精氨酸-NO 系统的影响及其机制[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2002, **4** (4): 259-261
- [5] Wu TW, Fung KP, Wu J, Yang CC, Weisel RD. Antioxidation of human low density lipoprotein by unconjugated and conjugated bilirubins[J]. *Biochem Pharmacol*, 1996, **51**: 859-862
- [6] Greabu M, Olinescu R, Kummerow FA, Crocna DO. The levels of bilirubin may be related to an inflammatory condition in patients with coronary heart disease[J]. *Acta Pol Pharm*, 2001, **58** (3): 225-231
- [7] Yang L, Quan S, Abraham NG. Retrovirus-mediated HO gene transfer into endothelial cells protects against oxidant-induced injury[J]. *Am J Physiol*, 1999, **277** (1): 127-133
- [8] Peyton KJ, Reyna SV, Chapman GB, Ensenat D, Liu XM, Wang H, et al. Heme oxygenase-1 derived carbon monoxide is an autocrine inhibitor of vascular smooth muscle cell growth[J]. *Blood*, 2002, **99** (12): 4 443-448
- [9] Kawamura K, Ishikawa K, Wada Y, Kinura S, Matsumoto H, Kohro T, et al. Bilirubin from heme oxygenase-1 attenuates vascular endothelial activation and dysfunction[J]. *Thromb Vasc Biol*, 2005, **25** (1): 155-160
- [10] Kraml P, Potockova J, Koprivova H, Stipek S, Crkovska J, Zima T, et al. Ferritin, oxidative stress and coronary atherosclerosis[J]. *Vnitř Lek*, 2004, **50** (3): 197-202
- [11] 杨俊娟, 罗奕龙, 高炜, 霍勇, 刘兆平, 周爱儒. 血红素氧合酶 1 基因多态性与冠状动脉支架术后再次狭窄相关[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2005, **13** (1): 91-93
- [12] Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress[J]. *Circ Res*, 2000, **87**: 840-844
- [13] Wilcox JN, Subramanian RR, Sundell CL, Tracey WR, Pollock JS, Harrison DG, et al. Expression of multiple isoforms of nitric oxide synthase in normal and atherosclerotic vessels[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, **17** (11): 2 479-488
- [14] 李卫萍, 孙明, 周宏研. 高血压患者血管内皮依赖性舒张功能与血清一氧化氮和超氧化物歧化酶的关系[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2003, **11** (2): 155-158
- [15] Takahashi H, Hara K. Cardiovascular diseases and oxidative stresses[J]. *Rinsho Byori*, 2003, **51** (2): 133-139
- [16] Ushio-Fukai M, Zafari AM, Fukui T, Ishizaka N, Griendling KK. p22phox is a critical component of the superoxide-generating NADH/NADPH oxidase system and regulates angiotensin II-induced hypertrophy in vascular smooth muscle cells[J]. *J Biol Chem*, 1996, **271** (38): 23 317-321
- [17] Leite PF, Danilovic A, Moriel P, Dantas K, Marklund S, Dantas AP, et al. Sustained decrease in superoxide dismutase activity underlies constrictive remodeling after balloon injury in rabbits[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, **23** (12): 2 197-202
- [18] Nakao A, Murase N, Ho C, Toyokawa H, Billiar TR, Kanno S. Biliverdin administration prevents the formation of intimal hyperplasia induced by vascular injury[J]. *Circulation*, 2005, **112** (4): 587-591
- [19] Szocs K, Lassegue B, Sorescu D, Hilenski LL, Valppu L, Couse TL, et al. Upregulation of Nox-based NAD(P)H oxidases in restenosis after carotid injury[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, **22**: 21-27
- [20] Jacobson GM, Douron HM, Liu J, Carretero OA, Reddy DJ, Andrzejewski T, et al. Novel NAD(P)H oxidase inhibitor suppresses angioplasty-induced superoxide and neointimal hyperplasia of rat carotid artery[J]. *Circ Res*, 2003, **92**: 637-643
- [21] Schwertner HA, Jackson WG, Tolan G. Association of low serum concentration of bilirubin with increased risk of coronary artery disease[J]. *Clin Chem*, 1994, **40** (1): 18-23
- [22] Breimer IH, Wannamethee G, Ebrahim S, Shaper AG. Serum bilirubin and risk of ischemic heart disease in middle-aged British men[J]. *Clin Chem*, 1995, **41**: 1 504-508
- [23] Djousse L, Levy D, Cupples LA, Evans JC, D'Agostino RB, Ellison RC. Total serum bilirubin and risk of cardiovascular disease in the Framingham offspring study[J]. *Am J Cardiol*, 2001, **87** (5): 1 196-2 000
- [24] Schwertner HA, Fischer JR Jr. Comparison of various lipid, lipoprotein, and bilirubin combinations as risk factors for predicting coronary artery disease[J]. *Atherosclerosis*, 2000, **150** (2): 381-387
- [25] Raju Vs, Imai N, Liang CS. Chamber-specific regulation of heme oxygenase-1 (heat shock protein 32) in right-sided congestive heart failure[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1999, **31** (8): 1 581-589
- [26] Kozma E, Johnson RA, Nasjletti A. Role of carbon monoxide in heme-induced vasodilation[J]. *Eur J Pharmacol*, 1997, **323** (2-3): R1-2
- [27] 程友琴, 曹少军, 尹秋生, 崔吉君. 老年心力衰竭患者血胆红素水平的变化[J]. *中华老年医学杂志*, 2001, **20** (5): 331-333

(此文编辑 文玉珊)