

## 高血压患者胱硫醚- $\beta$ -合酶、硫化氢与颈动脉内膜中膜厚度的关系

覃咏梅<sup>1</sup>, 林玲<sup>2</sup>, 王延博<sup>1</sup>, 王蓓<sup>2</sup>, 冯岚<sup>3</sup>, 周莲<sup>4</sup>

(1. 广州医科大学研究生院, 广东省广州市 511400; 海南省第三人民医院 2. 心血管内科, 3. 功能科, 4. 检验科, 海南省三亚市 572000)

[关键词] 高血压; 同型半胱氨酸; 胱硫醚- $\beta$ -合酶; 硫化氢; 颈动脉内膜中膜厚度; 动脉粥样硬化

[摘要] 目的 探讨高血压患者血清胱硫醚- $\beta$ -合酶(CBS)、硫化氢( $H_2S$ )水平与颈动脉内膜中膜厚度(CIMT)的相关性。方法 对116例高血压患者,测量其血压、同型半胱氨酸(Hcy)、血脂四项(总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇),并检测CBS、 $H_2S$ 水平和CIMT。依据Hcy水平将高血压患者分为H型高血压组( $Hcy \geq 10 \mu\text{mol/L}$ )和非H型高血压组( $Hcy < 10 \mu\text{mol/L}$ ),比较两组Hcy、血脂、CBS、 $H_2S$ 、CIMT的差异。采用Pearson法分析各指标与CIMT之间的相关性。结果 H型高血压组患者CIMT高于非H型高血压组( $P < 0.05$ ),CBS、 $H_2S$ 水平均低于非H型高血压组(均 $P < 0.05$ )。相关性分析结果显示:在高血压患者中,Hcy与CIMT呈正相关( $r = 0.752, P < 0.05$ );CBS、 $H_2S$ 与Hcy呈负相关( $r$ 分别为 $-0.413$ 、 $-0.698$ ,均 $P < 0.05$ ),与CIMT呈负相关( $r$ 分别为 $-0.518$ 、 $-0.779$ ,均 $P < 0.05$ )。结论 与非H型高血压患者相比,H型高血压患者颈动脉粥样硬化程度更明显。高血压患者的CBS、 $H_2S$ 与颈动脉粥样硬化密切相关,有望作为高血压患者动脉粥样硬化的早期预测指标。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

### The correlation between cystathionine- $\beta$ -synthase, hydrogen sulfide levels and carotid intima-media thickness in patients with hypertension

QIN Yongmei, LIN Ling, WANG Yanbo, WANG Bei, FENG Lan, ZHOU Lian

(Graduate Studies of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 511400, China)

[KEY WORDS] hypertension; homocysteine; cystathionine- $\beta$ -synthase; hydrogen sulfide; carotid intima-media thickness; atherosclerosis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the correlation between serum cystathionine- $\beta$ -synthase(CBS), hydrogen sulfide( $H_2S$ ) levels and carotid intima-media thickness (CIMT) in patients with hypertension. **Methods** Between October 2017 and March 2018, a total of 116 patients with essential hypertension were enrolled from in-patient department of our hospital. The blood pressure, homocysteine (Hcy), total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL) and low density lipoprotein cholesterol (LDL) were measured in all selected hypertensive patients. At the same time, the levels of CIMT, CBS and  $H_2S$  were detected. According to the levels of Hcy, the patients with hypertension were divided into two groups: H hypertension group ( $Hcy \geq 10 \mu\text{mol/L}$ ) and non H hypertension group ( $Hcy < 10 \mu\text{mol/L}$ ), and the differences of Hcy, blood lipids, CBS,  $H_2S$  and CIMT were compared. The correlation between the indexes and CIMT was analyzed by Pearson test. **Results** The CIMT of H hypertension group was higher than that of non H hypertension group ( $P < 0.05$ ), and the levels of  $H_2S$  and CBS in H hypertension group were lower than that in non H hypertension group ( $P < 0.05$ ). Correlation analysis showed that Hcy was positively correlated with CIMT in hypertensive patients ( $r = 0.752, P < 0.05$ ). CBS and  $H_2S$  were negatively correlated with Hcy ( $r = -0.413, -0.698, P < 0.05$ ) and with CIMT ( $r = -0.518, -0.779, P < 0.05$ ). **Conclusions** Compared with non H hypertensive patients, the degree of carotid atherosclerosis is more pronounced in patients with H hypertension. In patients with hypertension,

[收稿日期] 2018-09-18

[修回日期] 2018-11-18

[基金项目] 海南省自然科学基金(20168343); 三亚市医疗卫生科技创新项目(2015YW20)

[作者简介] 覃咏梅, 硕士, 住院医师, 研究方向为心血管内科, E-mail 为 ymq1640@163.com。通信作者林玲, 博士, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为心血管内科, E-mail 为 linl6@163.com。

the levels of CBS and  $H_2S$  are closely related with carotid atherosclerosis, which is expected to be an early predictor of atherosclerosis in hypertensive patients.

高血压是动脉粥样硬化发生、发展的重要危险因素,而“H型高血压”,即伴有高同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)血症(即  $Hcy \geq 10 \mu mol/L$ )的原发性高血压,更易发生血管损伤。胱硫醚- $\beta$ -合酶(cystathionine- $\beta$ -synthase, CBS)是调控 Hcy 代谢的关键酶, Hcy 经 CBS 再次分解,最终代谢为硫化氢(hydrogen sulfide,  $H_2S$ )。已有研究证实, Hcy、 $H_2S$  的水平与 CBS 浓度密切相关。近年来,  $H_2S$  在心血管疾病方面的研究逐渐受到重视,被认为是维持心血管系统动态平衡的新型介质<sup>[1]</sup>。颈动脉是评估全身动脉粥样硬化的“窗口”,其位置表浅,易于探查,临床上常用彩色超声多普勒测量颈动脉内膜中膜厚度(carotid intima-media thickness, CMT),作为评估早期颈动脉硬化的无创方法<sup>[2]</sup>。既往研究表明高 Hcy 可促进动脉粥样硬化,而  $H_2S$  可延缓动脉粥样硬化, CBS 可维持 Hcy 和  $H_2S$  水平的动态平衡,从理论上推测,高血压患者的 CBS、 $H_2S$  与 Hcy、CMT 可能相关,但目前尚无研究明确报道。本研究旨在探讨高血压患者 CBS、 $H_2S$  与 Hcy、CMT 的相关性,为早期诊断动脉粥样硬化及预防性干预其危险因素,进一步防治动脉粥样硬化提供理论依据。

## 1 资料和方法

### 1.1 临床资料

收集 2017 年 10 月至 2018 年 3 月海南省第三人民医院收住入院的高血压患者 116 例,其中男性 62 例,女性 54 例,年龄( $68.26 \pm 5.40$ )岁。根据血清 Hcy 水平分为 H 型高血压组 66 例[男性 35 例,女性 31 例,年龄( $69.52 \pm 6.01$ )岁]及非 H 型高血压组 50 例[男性 27 例,女性 23 例,年龄( $67.54 \pm 5.00$ )岁]。比较两组患者的性别、年龄,其差异均无统计学意义(均  $P > 0.05$ ),具有可比性。纳入标准:(1)年龄  $\geq 18$  岁。(2)依据 2010 年修订的《中国高血压防治指南》<sup>[3]</sup> 标准:①连续两次静息状态收缩压  $\geq 140$  mmHg( $1 \text{ mmHg} = 0.133 \text{ kPa}$ )或(和)舒张压  $\geq 90$  mmHg 可判定为高血压;②患者既往被确切的诊断为高血压,而本次所测血压无论是否升高均可判定为高血压。排除标准:(1)继发性高血压、周围血管病、肝肾疾病、肿瘤及合并其他严重疾病者;(2)近 6 个月有服用叶酸及 B 族维生素者;(3)妊娠或哺乳期妇女。本研究获得我院伦理委员会的批准,所

有入选的患者均获知情同意,符合医学伦理学的标准。

### 1.2 标本采集

所有患者分别于入院的次日清晨空腹时,采集 5 mL 肘静脉血置于含分离胶的真空采血管中,在 1 h 内以 3 000 r/min 离心 10 min,分离血清后置于  $-20^\circ\text{C}$  的冰箱保存待测。

### 1.3 指标检测

所有患者于入院的次日清晨在静息状态下,采用汞柱式标准袖带血压计测量坐位时右上臂血压。总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)、甘油三酯等生化指标由检验科专业人员检测。采用循环酶法检测血清 Hcy 浓度(Olympus AU400 全自动生化分析仪);采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清 CBS 浓度(武汉华美生物工程有限公司提供 CBS 试剂盒);采用分光光度法检测血清  $H_2S$  水平(南京建成生物工程研究所有限公司提供  $H_2S$  试剂盒),检测的全过程严格质控。

### 1.4 颈动脉彩色超声多普勒检查

采用美国 ATL 公司的 HDI3000 增强型彩色多普勒超声仪,其探头频率为 5~12 MHz,由 2 名取得国家卫生部彩色多普勒诊断资格的医师负责检查和初步诊断,测试前需对诊断标准作统一的培训,凡是初步诊断为 CMT 增厚者或有斑块形成者,应由 1 名具备高级职称的医师复诊且确认,检查时患者的头部呈稍后仰卧位,且稍偏向非检查侧,探头应置于颈总动脉近心端,向上逐渐横向及纵向扫查,在颈总动脉分叉近心端约 1.5~2.0 cm 处测量颈总动脉内径和 CMT<sup>[4]</sup>。

### 1.5 统计学分析

采用 SPSS16.0 统计学软件进行统计分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用独立样本  $t$  检验,计数资料采用  $\chi^2$  检验,采用 Pearson 相关分析法分析两变量之间的相关性,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 一般临床资料

两组患者的性别、年龄、血压均无明显差异( $P >$

0.05),具有可比性。H 型高血压组患者的 HDLC 低于非 H 型高血压组,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),总胆固醇、甘油三酯、LDLC 在两组间均无明显差异(均  $P > 0.05$ ;表 1)。

表 1. 两组一般临床资料比较

Table 1. Comparison of general data between the two groups

变量	H 型 高血压组 ( $n=66$ )	非 H 型 高血压组 ( $n=50$ )	$\chi^2/t$	$P$
男/女(例)	35/31	27/23	0.011	0.917
年龄(岁)	69.52±6.01	67.54±5.00	1.88	0.062
收缩压(mmHg)	155.27±5.33	153.98±3.92	1.505	0.135
舒张压(mmHg)	92.52±3.90	92.08±2.91	0.689	0.492
总胆固醇(mmol/L)	4.72±0.58	4.52±0.96	1.262	0.211
甘油三酯(mmol/L)	1.58±0.85	1.40±0.67	1.264	0.209
HDLC(mmol/L)	1.18±0.20	1.33±0.32	-2.99	0.004
LDLC(mmol/L)	2.93±0.92	2.75±0.97	1.012	0.314

## 2.2 两组 Hcy、CBS、H<sub>2</sub>S 和 CMT 比较

H 型高血压组的血清 CBS、H<sub>2</sub>S 浓度均低于非 H 型高血压组,而 Hcy 和 CMT 较非 H 型高血压组增加,差异均具有统计学意义(均  $P < 0.01$ ;表 2)。

表 2. 两组 Hcy、CBS、H<sub>2</sub>S 和 CMT 比较Table 2. Comparison of Hcy, CBS, H<sub>2</sub>S and CMT between the two groups

分 组	Hcy ( $\mu\text{mol/L}$ )	CBS ( $\text{ng/L}$ )	H <sub>2</sub> S ( $\mu\text{mol/L}$ )	CMT (mm)
H 型 高血压组	14.18±3.70	119.65±12.46	25.52±1.65	1.17±0.16
非 H 型 高血压组	7.48±1.15	139.11±31.71	33.78±4.72	0.70±0.26
$t$	13.86	-4.104	-11.842	11.14
$P$	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

## 2.3 高血压患者 CBS、H<sub>2</sub>S 与 Hcy、CMT 的相关性分析

Pearson 相关分析显示,在高血压患者中,血清 CBS、H<sub>2</sub>S 浓度与血清 Hcy 水平及 CMT 均呈负相关关系(均  $P < 0.01$ );血清 Hcy 水平与 CMT 呈正相关关系( $P < 0.01$ );血清 CBS 浓度与 H<sub>2</sub>S 浓度呈正相关关系( $P < 0.01$ ;表 3)。

表 3. 高血压患者 CBS、H<sub>2</sub>S 与 Hcy、CMT 的相关性分析Table 3. Correlation analysis of CBS, H<sub>2</sub>S, Hcy, CMT

指标	CBS		Hcy		H <sub>2</sub> S	
	$r$	$P$	$r$	$P$	$r$	$P$
CMT	-0.518	<0.01	0.752	<0.01	-0.779	<0.01
H <sub>2</sub> S	0.435	<0.01	-0.698	<0.01	-	-
Hcy	-0.413	<0.01	-	-	-	-

## 3 讨 论

高血压能加重动脉硬化,使血管顺应性降低、僵硬增加,出现严重的靶器官损害(包括心脏损害、肾脏损害及血管损害等)<sup>[5]</sup>。颈动脉硬化是一种以血管内皮细胞损伤及炎症反应为核心的病理改变过程,是动脉硬化中最常见的类型,被称为“全身动脉硬化的缩影”。本研究初步证明,高血压患者的血清 CBS、H<sub>2</sub>S 浓度与血清 Hcy 水平及 CMT 均呈负相关关系,提示 CBS、H<sub>2</sub>S 可作为早期反映动脉硬化的血液学指标。

Hcy 是高活性的含硫氨基酸,其代谢可产生一系列的活性氧,如 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、OH<sup>-</sup> 等,均可刺激血管壁,损伤内皮细胞<sup>[6-7]</sup>,并导致其屏障功能受损及内分泌功能障碍,使收缩及舒张血管的物质分泌失衡<sup>[8]</sup>。同时,还可以促进血管中膜平滑肌细胞的增殖和分化,使血管内膜中膜增厚,血管的顺应性下降,通过多途径联合加快动脉粥样硬化的发生和发展<sup>[9-10]</sup>。此外,有研究报道<sup>[11]</sup>高 Hcy 可以缩短血小板的存活期,增强血小板的黏附性和聚集性,并诱导凝血酶的产生,促发动脉粥样硬化性血栓的形成,引发血管事件的发生,如卒中、心肌梗死等。本研究结果显示,H 型高血压患者的 Hcy 及 CMT 均明显高于非 H 型高血压患者,提示高 Hcy 参与动脉粥样硬化的发生发展,并可能加剧高血压患者的颈动脉硬化。

H<sub>2</sub>S 是蛋氨酸代谢过程中产生的重要分子,与 Hcy 相反的是,H<sub>2</sub>S 在心血管疾病中具备强效抗炎作用<sup>[12]</sup>。既往的研究<sup>[13-14]</sup>已证实,H<sub>2</sub>S 作为一种内源性气体信号分子可有效舒张血管,抑制血管平滑肌细胞增殖,促进血管新生等作用。近来研究表明<sup>[15-17]</sup>,H<sub>2</sub>S 还具有免疫调节功能,可通过调节免疫炎症反应以更好的预防动脉粥样硬化。Chen 等<sup>[18]</sup>在动脉粥样硬化大鼠模型的研究中发现,大鼠的血清 H<sub>2</sub>S 水平下降,血管病变加剧,当给予外源性 H<sub>2</sub>S 后,动脉粥样硬化病变则有所改善。Gao 等<sup>[19]</sup>在冠心病患者的研究中发现 H<sub>2</sub>S 水平显著降低,进一步表明内源性 H<sub>2</sub>S 产生减少可能是导致冠心病的危



险因素。在其他心血管疾病,如在高血压中  $H_2S$  同样发挥重要作用,徐冰馨等<sup>[20]</sup>临床研究发现,原发性高血压患者的  $H_2S$  水平较正常人群明显下降。我们的研究进一步证实,H型高血压患者的  $H_2S$  水平较非H型高血压患者显著降低,且与CIMT呈负相关。因此,我们推测  $H_2S$  水平的下降可能对H型高血压患者的血管损伤更为严重,内源性  $H_2S$  可能参与高血压患者血管损伤的病理生理过程。

CBS是Hcy代谢通路中转硫途径的关键酶,其转硫途径是将有毒性的Hcy去除,生成具有保护性的  $H_2S$  的内源性途径<sup>[21]</sup>。体内约53%的Hcy经CBS转硫化途径代谢,生成  $H_2S$ 。因此,CBS是维持Hcy和  $H_2S$  正常代谢的重要因素,若其浓度下降可使Hcy和  $H_2S$  代谢失衡,引发多种病理状态,如氧化应激、炎症反应、平滑肌细胞增殖等,进而影响动脉粥样硬化<sup>[22]</sup>。本研究发现,高血压患者的血清CBS浓度显著降低并伴随着  $H_2S$  水平降低,Liu等<sup>[23]</sup>研究表明,部分高Hcy患者的CBS浓度降低是由于其CBS基因突变后酶活性下降所导致的,这部分患者同时存在血浆  $H_2S$  水平的降低,与本研究结果一致,可证实CBS在调控Hcy和  $H_2S$  的代谢中发挥重要作用。此外,本研究结果显示,高血压患者的CBS浓度与  $H_2S$  水平呈正相关,与Hcy、CIMT呈负相关,表明CBS浓度不仅与动脉粥样硬化的危险因素Hcy及动脉粥样硬化的保护因子  $H_2S$  密切相关,还与动脉粥样硬化有着密切的关联,但CBS对动脉粥样硬化的作用及具体机制仍有待深入阐明。

综上所述,在高血压患者中,Hcy可能是加剧其颈动脉硬化重要危险因素,  $H_2S$  可能是延缓颈动脉硬化的保护因子,CBS可通过调节Hcy和  $H_2S$  的代谢来参与动脉硬化,这些指标均与CIMT存在相关性,有望作为高血压患者动脉粥样硬化的早期预测指标。但后续还需要扩大样本量、进一步细化检测指标,以便对机制进行更深入的研究。

#### [参考文献]

- [1] Patei V, Mclean B, Lhi NX, et al. Hydrogen sulfide: an old gas with new cardioprotective effects[J]. Clin Sci (Lond), 2015, 128: 321-323.
- [2] Jonas DE, Feltner C, Amick HR, et al. Screening for asymptomatic carotid artery stenosis: a systematic review and meta-analysis for the US preventive services task force[J]. Ann Int Med, 2014, 161: 336-346.
- [3] 中国高血压防治指南修订委员会. 中国高血压防治指南 2010 [J]. 中华高血压杂志, 2011, 19(8): 701-743.
- [4] 江朝强, 徐琳, 林大庆, 等. 颈动脉粥样硬化对轻度认知功能损害的影响[J]. 中华神经科杂志, 2010, 43(9): 617-621.
- [5] 邓敏, 欧阳辉, 刘涛. 动态动脉硬化指数在高血压患者临床应用中的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2017, 25(12): 1291-1296.
- [6] Tian X, Shi Y, Liu N, et al. Upregulation of DAPK contributes to homocysteine-induced endothelial apoptosis via the modulation of Bcl2/Bax and activation of caspase 3[J]. Mol Med Rep, 2016, 14(5): 4173-4179.
- [7] Xi H, Zhang Y, Xu Y, et al. Caspase-1 inflammasome activation mediates homocysteine-induced pyro-apoptosis in endothelial cells [J]. Circ Res, 2016, 118(10): 1525-1539.
- [8] Wang XC, Sun W T, Yu CM, et al. ER stress mediates homocysteine-induced endothelial dysfunction: modulation of IKCa and SKCa channels[J]. Atherosclerosis, 2015, 242(1): 191-198.
- [9] Zhang HP, Wang YH, Cao CJ, et al. A regulatory circuit involving miR-143 and DNMT3a mediates vascular smooth muscle cell proliferation induced by homocysteine[J]. Mol Med Rep, 2016, 13(1): 483-490.
- [10] Dong D, Wang B, Yin W, et al. Disturbance of copper homeostasis is a mechanism for homocysteine-induced vascular endothelial cell injury[J]. PLoS One, 2013, 8(10): e76209.
- [11] Martí-Carvajal AJ, Solà I, Lathyris D, et al. Homocysteine-lowering interventions for preventing cardiovascular events[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2017, 8: CD006612.
- [12] Polhemus DJ, Lefer DJ. Emergence of hydrogen sulfide as an endogenous gaseous signaling molecule in cardiovascular disease[J]. Circ Res, 2014, 114(4): 730-737.
- [13] Pushpakumar Sathnur, Kundu Sourav, Sen Utpal. Endothelial dysfunction: the link between homocysteine and hydrogen sulfide[J]. Curr Med Chem, 2014, 21(32): 3662-3672.
- [14] Lin Yan, Chen Yulong, Zhu Ninghong, et al. Hydrogen sulfide inhibits development of atherosclerosis through up-regulating protein S-nitrosylation[J]. Biomed Pharmacother, 2016, 83: 466-476.
- [15] Cao X, Bian JS. The role of hydrogen sulfide in renal system[J]. Front Pharmacol, 2016, 7: 385.
- [16] Gisterå A, Hansson GK. The immunology of atherosclerosis[J]. Nat Rev Nephrol, 2017, 13(6): 368-380.
- [17] Jones DP, True HD, Patel J. Leukocyte trafficking in cardiovascular disease: insights from experimental models[J]. Mediators Inflamm, 2017, 2017: 9746169.
- [18] Chen SJ, Yan XH, Zhu XY, et al. Effect of hydrogen sulfide on antiatherosclerosis in rats[J]. Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi, 2010, 26(1): 1-7.
- [19] Gao Lin, Xu Zuojun, Yin Zhaofang, et al. Association of hydrogen sulfide with alterations of monocyte chemokine receptors, CCR2 and CX3CR1 in patients with coronary artery disease[J]. Inflamm Res, 2015, 64(8): 627-35.
- [20] 徐冰馨, 赵建辛, 王雅琼, 等. 原发性高血压患者的血浆硫化氢浓度变化[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2011, 11(6): 328-332.
- [21] Beard Richard S, Bearden Shawn E. Vascular complications of cystathionine-β-synthase deficiency: future directions for homocysteine-to-hydrogen sulfide research[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2011, 300(1): H13-26.
- [22] Karmin O, Siow Yaw L. Metabolic imbalance of homocysteine and hydrogen sulfide in kidney disease[J]. Curr Med Chem, 2018, 25(3): 367-377.
- [23] Liu X, Shen J, Zhan R, et al. Proteomic analysis of homocysteine induced proliferation of cultured neonatal rat vascular smooth muscle cells[J]. Biochim Biophys Acta, 2009, 1794(2): 177-184.

(此文编辑 许雪梅)