心肌缺血再灌注损伤发生机制的研究进展

陈福晖,刘达兴,容松

(遵义医学院附属医院心血管外科,贵州 遵义 563003)

摘要:随着社会的发展,物质水平的不断提高,不健康的饮食习惯、运动的缺乏、大量吸烟饮酒、精神压力过大等因素导致心血管疾病的发病率呈逐年增高趋势,严重威胁着人类的身体健康,而在心血管疾病的治疗过程中,心肌缺血再灌注损伤可加重原有的损伤,引起心肌细胞的结构及功能发生不可逆性改变,进而加重原有的心血管疾病,最终导致患者病情恶化甚至死亡,因此探讨缺血再灌注损伤的发生机制具有十分重要的意义。该文从氧自由基爆发、 Ca^{2+} 超载、线粒体功能障碍、炎症、能量代谢障碍几个方面对心肌缺血再灌注损伤的发生机制作一综述,为临床上减轻缺血再灌注损伤提供一定的理论依据。

关键词:心肌缺血;再灌注损伤;发生机制;研究进展

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2017.12.003

Research progress of myocardial ischemia-reperfusion injury mechanism

CHEN Fuhui, LIU Daxing, RONG Song

(Department of Cardiovascular Surgery, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou 563003, China)

Abstract: With the development of the society and material level, the factors including unhealthy eating habits, lack of movement, excessive drinking and smoking and mental stress lead to the increased incidence of cardiovascular disease year by year, which seriously threaten human health. In the process of the treatment of cardiovascular disease, myocardial ischemia-reperfusion injury may increase the original damage, cause irreversible myocardial cell structure and function change, even worsen existing cardiovascular disease, eventually lead to deterioration and even death, so an exploratory examination of the mechanism of ischemia reperfusion injury is of great significance. In this paper, the mechanisms of myocardial ischemia-reperfusion injury were reviewed from several aspects such as the outbreak of oxygen free radicals, Ca^{2+} overload, mitochondrial dysfunction, inflammation, metabolic disorders energy, which provide certain theoretical basis for alleviating ischemia-reperfusion injury in clinical practice.

Key words: Myocardial ischemia; Reperfusion injury; Pathogenetic mechanism; Research progress

心肌缺血再灌注损伤的概念最早是由 Jennings 等^[1]提出。通常我们认为,当缺血的心肌组织再次

得到血液灌注后其结构和功能能够得到恢复,患者的病情可以得到缓解,但在临床中我们发现很多患者在恢复血液灌注后,其器官和组织的功能不但没有得到恢复,反而引起更加严重的损伤,包括出现严重的心律失常、原有的梗死面积扩大、心室功能

基金项目:国家自然科学基金项目(81260056)

通信作者:刘达兴,男,教授,硕士生导师,研究方向:心脏移植与心肌缺血再灌注损伤,E-mail:13639222003@163.com

[23] POWLES T, EDER JP, FINE GD, et al. MPDL3280A (anti-PD-L1) treatment leads to clinical activity in metastatic bladder cancer [J]. *Nature*, 2014, 515(7528):558-562.

[24] POWLES T. Immunotherapy: The development of immunotherapy in urothelial bladder cancer [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2015, 12(4):193-194.

[25] ROSENBERG JE, HOFFMAN-CENSITS J, POWLES T, et al. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial [J]. *Lancet*, 2016, 387(10031):1909-1920.

[26] BIDNUR S, SAVDIE R, BLACK PC. Inhibiting Immune Checkpoints for the Treatment of Bladder Cancer [J]. *Bladder Cancer*, 2016, 2(1):15-25.

[27] GALLAGHER DJ, MILOWSKY MI, GERST SR, et al. Phase II study of sunitinib in patients with metastatic urothelial cancer [J].

J Clin Oncol, 2010, 28(8):1373-1379.

[28] BAMBURY RM, BENJAMIN DJ, CHAIM JL, et al. The safety and efficacy of single-agent pemetrexed in platinum-resistant advanced urothelial carcinoma: a large single-institution experience [J]. *Oncologist*, 2015, 20(5):508-515.

[29] HERBST RS, SORIA JC, KOWANETZ M, et al. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients [J]. *Nature*, 2014, 515(7528):563-567.

[30] CAROSELLA ED, PLOUSSARD G, LEMAULT J, et al. A Systematic Review of Immunotherapy in Urologic Cancer: Evolving Roles for Targeting of CTLA-4, PD-1/PD-L1, and HLA-G [J]. *Eur Urol*, 2015, 68(2):267-279.

[31] NGUYEN LT, OHASHI PS. Clinical blockade of PD1 and LAG3--potential mechanisms of action [J]. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15(1):45-56.

(收稿日期:2016-11-27,修回日期:2016-12-10)

低下加重等表现。这种在缺血基础上恢复血液灌注后组织损伤反而加重,甚至发生不可逆性损伤的现象称为缺血再灌注损伤。其损伤的程度与缺血的时间、侧支循环的情况、需氧的程度、再灌注的条件等密切相关^[2-3]。其发生机制目前尚未完全阐明,目前主要有氧自由基爆发、Ca²⁺超载、心肌能量代谢障碍、内皮细胞功能障碍、中性粒细胞浸润、细胞凋亡和线粒体损伤等几种观点^[4-5]。现就目前存在的发生机制进行探讨,并提出自己的一些见解,以期为同行提供参考。

1 关于发生机制的探讨

1.1 氧自由基爆发 正常生理条件下,心肌细胞存在的少量氧自由基会被机体的自由基清除系统所清除,并不会导致机体产生严重的损害。但是心肌细胞在缺血、缺氧的条件下,氧自由基的清除系统功能会降低(如超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶含量减少),生成氧自由基的系统活性会逐渐增强(如丙二醛含量增加),当组织恢复血供及氧供后,氧自由基会出现爆炸式增长^[6-7]。通过相关实验同样发现^[8],从建立体外循环开始至开放升主动脉前,血浆中的丙二醛、共轭双烯、超氧化物歧化酶等指标无明显变化,开放升主动脉5 min后,丙二醛及共轭双烯等指标明显升高,超氧化物歧化酶则明显降低,进一步证实了我们前面的说法。引起氧自由基产生的其它因素包括线粒体损伤、次黄嘌呤和黄嘌呤堆积、多形核白细胞的活化、Ca²⁺超载、儿茶酚胺的自动氧化等,这些因素直接或间接加重了氧自由基的产生^[9-10]。氧自由基较强的反应活性使它可以与各种细胞成分发生反应,其中包含氧自由基作用于脂质发生过氧化反应;氧化产物会对膜磷脂产生损伤作用,对膜磷脂的损伤作用包括:破坏膜的组分、使膜的流动性降低、使膜结合酶的活性降低、形成新的离子通道、使膜脂质与蛋白质之间或蛋白质与蛋白质之间产生交联或聚合、促进“脂质三联体”的形成等,这些反应会使心肌细胞膜遭到严重破坏。而且心肌细胞缺血、缺氧时,三磷酸腺苷(ATP)的量会明显减少,不能为心肌提供足够的能量,就会引起心肌清除自由基的能力下降,当心肌细胞恢复灌注时,心肌细胞中累积的氧自由基不能及时清除,仍然在攻击心肌细胞,最终导致心肌细胞发生损伤。

1.2 Ca²⁺超载 1972年,Shen等^[11]将犬心脏冠状动脉短暂闭塞后复灌,发现可引起细胞内Ca²⁺的积聚,首次提出了Ca²⁺超载之说。多年来,Ca²⁺超载一直被认为是心肌缺血再灌注的一个主要机制,其发生

机制可能与下列因素密切相关^[12]:(1)心肌细胞膜的通透性增高;(2)Ca²⁺离子通道大量开放;(3)Na⁺-H⁺交换及Na⁺-Ca²⁺交换机制的激活;(4)Ca²⁺-Mg²⁺-ATP酶活性的降低。相关研究发现,给予针对肌纤维膜Ca²⁺离子通道、线粒体Ca²⁺单递体以及Na⁺-H⁺交换载体的拮抗剂,均可以显著降低细胞内的Ca²⁺浓度,并可缩小心肌梗死面积约50%以上^[13]。我们在实验中同样发现缺血再灌注损伤存在Na⁺-H⁺及Na⁺-Ca²⁺交换异常,缺血时出现Na⁺超载而Ca²⁺超载不明显,当再灌注恢复后细胞内的Ca²⁺超负荷比缺血时更为明显。另一方面肌浆网对缺血非常敏感,在缺血发生很短的时间内,肌浆网就出现组织学的改变,进而出现肌浆网功能失调,导致肌浆网摄取Ca²⁺能力降低。与此同时缺血后出现的低pH值和氧自由基起协同作用,使肌浆网Ca²⁺-ATP酶的活性受抑制,使Ca²⁺的摄取率下降。有研究发现缺血后肌膜上的 α 和 β 受体密度都会增加,缺血发生后内源性的儿茶酚胺会刺激 α 和 β 受体,通过相关途径异化了Ca²⁺内流,使细胞内Ca²⁺的浓度增加^[14]。当缺血发生时,心肌细胞的膜磷脂双分子层结构遭到破坏,细胞离子通透性屏障遭到破坏,细胞膜及细胞器膜结构均遭受损伤,细胞内Ca²⁺稳态丧失,从而引起细胞内Ca²⁺浓度升高^[15]。总的说来,引起Ca²⁺超载的原因复杂,涉及诸多方面,Ca²⁺超载既是再灌注损伤的机制,又是再灌注损伤一种表现,也是再灌注损伤发生后心肌细胞走向死亡的病理过程。而且Ca²⁺超载与能量代谢障碍、氧自由基爆发、线粒体功能障碍关系密切,相互作用。

1.3 线粒体功能障碍 缺血再灌注发生后,各种因素导致线粒体结构及功能遭到破坏,并引起心肌细胞发生不可逆性损伤。线粒体膜透性转换孔(mPTP)的开放是导致心肌缺血再灌注线粒体损伤的重要原因之一^[16]。正常生理条件下,mPTP处于关闭状态,然而在低氧、缺血、钙超载等应激条件刺激下,mPTP大量开放,通透性增加,线粒体内膜外的小分子物质大量进入内膜,使线粒体基质内的渗透压增大,又进一步加重小分子物质不断进入线粒体内膜,形成恶性循环,导致线粒体肿胀及线粒体外膜破裂,从而使其结构受损和功能紊乱^[17]。线粒体损伤后会释放存在于内外膜间的细胞色素C和细胞凋亡诱导因子,激活了Caspase级联反应,导致心肌细胞凋亡的发生^[18]。缺血再灌注过程中Ca²⁺超载和氧自由基的生成,可诱发或加重mPTP的开放。mPTP的过度开放可进一步加重缺血再灌注损伤的程度或进展,因此mPTP在整个缺血再灌注过

程中起了至关重要的作用。在缺血、缺氧的条件下,心肌细胞能量代谢以无氧糖酵解为主,大量的乳酸堆积,产生细胞内酸中毒,引发一些列细胞内外离子交换(主要包括 $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ 及 $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$),使线粒体发生的 Ca^{2+} 超载,改变了线粒体膜的通透性,破坏了线粒体的结构,进入线粒体的 Ca^{2+} ,以磷酸盐的形式沉积,影响了线粒体的氧化磷酸化过程。当再灌注恢复后,细胞重新摄取 O_2 ,产生大量的线粒体内活性氧,进一步增加了线粒体胞质内 Ca^{2+} 的浓度。上述各种因素介导了线粒体功能障碍的发生,并由此引发了再灌注损伤。

1.4 炎症机制 相关研究发现,缺血再灌注不但会引起严重的组织损伤,还存在着深度的炎症反应。包括先天性免疫反应及适应性免疫反应的激活^[19]。虽然心肌缺血再灌注损伤事实上是发生在无菌环境中,但先天免疫反应和适应性免疫反应的激活发生会促使心肌细胞的损伤。先天性免疫反应或适应性免疫反应的激活后,会引起大量的炎性细胞的产生,并且还会导致其它部位器官发生炎症反应^[20-21]。有研究发现白细胞参与了缺血再灌注损伤的过程,最早发现白细胞参与缺血再灌注损伤作用的是 Romson 等^[22],他们发现用抗白细胞血清消耗白细胞后,狗心肌梗死范围减少的程度与使用氧自由基清除剂一样有效,这表明白细胞参与了缺血再灌注损伤的过程,并发挥了一定的作用。Engler 等^[23]报道:狗心肌缺血 3 h 后,毛细血管内有大量白细胞聚集,并导致局部血管的阻力增高、无复流现象的发生、组织水肿的形成。在另一组实验中他们又发现,若消耗白细胞,则无复流的毛细血管明显减少,毛细血管堵塞情况明显减少,室性心律失常的发生率也明显降低。另一方面,缺血再灌注过程中存在细胞膜受损,细胞膜相关降解产物增多,部分降解产物具有很强的炎性趋化作用,吸引大量的白细胞进入组织或吸附于血管内皮,使微循环中的白细胞大量增加。当缺血再灌注的过程中一些蛋白质前体在血管内皮细胞内被激活,导致多种细胞间黏附分子释放,引起了中性粒细胞的大量浸润,中性粒细胞的大量浸润堵塞了部分毛细血管,当恢复血液灌注后,部分甚至全部缺血组织仍然得不到血液灌流,这是缺血再灌注后组织发生无复流现象的主要原因。多形核白细胞(PMN)是心肌缺血再灌注时氧自由基的一个重要物质来源,它具有很强的氧化活性,再灌注时因大量的 PMN 趋化激活及大量氧的涌入,引起 PMN 产生大量的氧自由基,它激活后的相关产物同样具有很强的氧化

活性,可引起心肌细胞的过氧化损伤^[24-25],与此同时 PMN 的激活还可以通过相关途径引起心肌细胞内 Ca^{2+} 浓度升高,产生的相关酶也可以促进膜磷脂的降解,最终导致了心肌细胞的损伤。

1.5 能量代谢障碍 能量代谢障碍被认为是缺血再灌注损伤发生的始发环节^[26]。相关研究发现能量代谢障碍发生后,心肌细胞的基因结构及表达均受到影响,且心肌细胞的凋亡、坏死与心肌细胞内的 ATP 水平密切相关^[27]。当心肌细胞缺氧,氧合血红蛋白被消耗到一定程度时,心肌能量代谢发生改变,能量代谢从有氧氧化转变为以糖酵解为主,糖酵解产生的 ATP 逐渐成为维持心肌细胞存活的唯一能量来源^[26],糖酵解的增强使细胞内乳酸水平增加,随着缺血时间的延长,乳酸等代谢产物会在细胞内堆积,使细胞发生酸中毒,相关研究发现缺血 10 min 后心肌细胞内 pH 值会降至 $5.8 \sim 6.0$ ^[28],细胞内的酸中毒抑制了糖酵解过程中的磷酸果糖激酶,使糖酵解途径受抑制,加重了机体能量供应不足。当缺血组织恢复灌注后,减弱了对糖酵解途径的抑制作用,导致酸中毒进一步加重,另一方面线粒体的结构、功能因为缺血遭到严重破坏,虽然恢复了有氧再灌注,但是线粒体不能进行有效的有氧氧化产能,导致恢复再灌注的相当一段时间内能量来源仍然主要依靠糖酵解,有实验表明,糖酵解加速在心肌再灌注早期甚至数天后仍持续活跃,说明再灌注期间糖酵解是心肌所需能量的重要来源^[29],但糖酵解产生的 ATP 远远不能满足心肌细胞的需求。另有研究发现当心肌缺血再灌注发生后,脂肪酸氧化代谢供能加强,并没有促进心功能恢复,而是使心肌功能恢复延迟^[30]。缺血再灌注发生时心肌的脂肪酸氧化增加,过度的脂肪酸 β 氧化抑制了葡萄糖的氧化磷酸化,虽然 ATP 产生增多,但同时耗氧也增加,其结果是对心肌细胞产生不利影响,导致损伤加重^[31]。另相关报道显示心肌能量代谢障碍容易诱发心律失常,引起心肌细胞的电生理改变^[32]。由此可见,能量代谢障碍是引起缺血再灌注损伤的又一重要因素。

2 结语

缺血再灌注损伤的发生机制涉及多层次、多因素,自由基爆发、 Ca^{2+} 超载、线粒体功能障碍、炎症机制、能量代谢障碍等相关机制间相互关联,协同作用。在心肌缺血再灌注损伤过程中,能量代谢障碍是产生缺氧再灌注损伤的始发环节,而缺血、缺氧的环境为氧自由基的形成创造了一定的物质基础,随着氧自由基的大量形成,组织损伤进一步加重,直接或间接的导致心肌细胞内 Ca^{2+} 超载,在炎

症机制的共同参与下,导致线粒体结构及功能的损伤,并最终引起心肌细胞发生不可逆性损伤。

3 展望

本文探讨了缺血再灌注损伤的发生机制,有助于我们对缺血再灌注损伤有更深层次的理解,我们可以根据患者出现的相应损伤表现,设计临床可行性的治疗方案,采取针对性的治疗措施,有效减轻患者心肌缺血再灌注损伤。并且随着对心肌缺血再灌注损伤研究的深入,新的理论、新的观念也在不断涌现,例如内源性的热休克蛋白、促红细胞生成素、干细胞治疗、基因治疗等新的心脏保护作用等的相关研究,一些新的治疗方法包括内源性物质类似物、干细胞治疗、基因治疗等治疗理念也开始出现,相信在不远的将来,我们将研究出更加有效的药物或治疗手段,显著减轻心肌缺血再灌注损伤,减少心血管疾病的病死率。

参考文献

- JENNINGS RB, SOMMERS HM, SMYTH GA, et al. Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of a coronary artery in the dog[J]. *Archives of Pathology*, 1960, 70(1): 68.
- 王燕, 赵美咪, 闵冬雨, 等. 不同缺血时间对豚鼠离体心脏缺血/再灌注损伤的影响[J]. *中国药理学通报*, 2013, 29(1): 73-78.
- 吴伟力, 傅向华, 马宁, 等. 缺血预适应及侧支循环对缺血再灌注心肌的保护作用[J]. *中华心血管病杂志*, 2004, 32(8): 717-722.
- TURER AT, HILL JA. Pathogenesis of myocardial ischemia-reperfusion injury and rationale for therapy[J]. *Am J Cardiol*, 2010, 106(3): 360-368.
- 李冀, 王秀珍, 李在斯, 等. 中药治疗心肌缺血再灌注损伤的研究进展[J]. *中医学报*, 2015, 43(2): 107-109.
- 周朝伟, 严冬. 心肌缺血再灌注损伤中医药研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2014, 16(3): 217-220.
- HESS ML, MANSON NH. Molecular oxygen: friend and foe. The role of the oxygen free radical system in the calcium paradox, the oxygen paradox and ischemia/reperfusion injury[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1984, 16(11): 969-985.
- ROYSTON D, FLEMING JS, DESAI JB, et al. Increased production of peroxidation products associated with cardiac operations. Evidence for free radical generation[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1986, 91(5): 759-766.
- 司良毅, 张远慧. 心肌再灌注损伤与钙超载、自由基及中性粒细胞[J]. *中国循环杂志*, 1996, 11(6): 382-384.
- OTANI H, ENGELMAN RM, ROUSOU JA, et al. Cardiac performance during reperfusion improved by pretreatment with oxygen free-radical scavengers[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1986, 91(2): 290-295.
- SHEN AC, JENNINGS RB. Kinetics of calcium accumulation in acute myocardial ischemic injury[J]. *Am J Pathol*, 1972, 67(3): 441.
- 赵亚玲, 敖虎山. 心肌缺血再灌注损伤的研究进展[J]. *中国循环杂志*, 2011, 26(5): 396-398.
- USSHER JR, LOPASCHUK GD. Targeting malonyl CoA inhibition of mitochondrial fatty acid uptake as an approach to treat cardiac ischemia/reperfusion[J]. *Basic Res Cardiol*, 2009, 104(2): 203-210.
- PEI JM, KRAVTSOV GM, WU S, et al. Calcium homeostasis in rat cardiomyocytes during chronic hypoxia: a time course study[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2003, 285(6): C1420-C1428.
- 谷天祥, 张显清, 谷春久, 等. 心肌缺血再灌注损伤亚细胞 Ca^{2+} 反常与 ATP 酶泵功能抑制[J]. *中华心血管病杂志*, 2001, 29(7): 420-423.
- KINNALLY KW, PEIXOTO PM, RYU SY. Is mPTP the gatekeeper for necrosis, apoptosis, or both[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1813(4): 616-622.
- 刘春伟, 丛洪良, 于雪芳, 等. PI3K-Akt, mito-KATP 通道及 mPTP 在阿托伐他汀后处理减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤中的作用[J]. *天津医药*, 2015, 43(1): 46-50.
- SHAHZAD T, KASSECKERT SA, IRAQI W, et al. Mechanisms involved in postconditioning protection of cardiomyocytes against acute reperfusion injury[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2013, 58: 209-216.
- BECKER LC. Myocardial reperfusion injury[J]. *J Thromb Thrombolysis*, 1997, 4(1): 43-45.
- ELTZSCHIG HK, CARMELIET P. Hypoxia and inflammation[J]. *New England Journal of Medicine*, 2011, 364(20): 1976-1977.
- DEMPSEY M. B cells as effectors and regulators of autoimmunity[J]. *Autoimmunity*, 2012, 5(5): 377-387.
- ROMSON JL, HOOK BG, KUNKEL SL, et al. Reduction of the extent of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in the dog[J]. *Circulation*, 1983, 67(5): 1016-1023.
- ENGIER RL, SCHMIDSCHONBEIN GW, PAVELEC RS. Leukocyte capillary plugging in myocardial ischemia and reperfusion in the dog[J]. *American Journal of Pathology*, 1983, 111(1): 98.
- 陈凌, 荣焯之. 心肌缺血再灌注损伤与钙通道阻滞剂的保护作用[J]. *心血管病学进展*, 1991, 12(2): 96-101.
- ROYSTON D, FLEMING JS, DESAI JB, et al. Increased production of peroxidation products associated with cardiac operations. Evidence for free radical generation[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1986, 91(5): 759-766.
- LOPASCHUK G. Regulation of carbohydrate metabolism in ischemia and reperfusion[J]. *American Heart Journal*, 2000, 139(2 Pt 3): S115-S119.
- NORDLIE MA, WOLD LE, SIMKHOVICH BZ, et al. Molecular aspects of ischemic heart disease: ischemia/reperfusion-induced genetic changes and potential applications of gene and RNA interference therapy[J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2006, 11(1): 17-30.
- MARINHO NV, KEOGH BE, COSTA DC, et al. Pathophysiology of chronic left ventricular dysfunction. New insights from the measurement of absolute myocardial blood flow and glucose utilization[J]. *Circulation*, 1996, 93(4): 737-744.
- BOHLOOL-Y M, BOLLANO E, MOBINI R, et al. Selective cerebral overexpression of growth hormone alters cardiac function, morphology, energy metabolism and catecholamines in transgenic mice[J]. *Growth Horm IGF Res*, 2005, 15(2): 148-155.
- PHILIPPOUDERC P, TAVARES NI, ROATTI A, et al. Forkhead transcription factors coordinate expression of myocardial KATP channel subunits and energy metabolism[J]. *Circ Res*, 2008, 102(2): e20-e35.
- LOPASCHUK GD, FOLMES CD L, STANLEY WC. Cardiac energy metabolism in obesity[J]. *Circ Res*, 2007, 101(4): 335-347.
- JEANES HL, TABOR C, BLACK D, et al. Oestrogen-mediated cardioprotection following ischaemia and reperfusion is mimicked by an oestrogen receptor(ER) alpha agonist and unaffected by an ER beta antagonist[J]. *J Endocrinol*, 2008, 197(3): 493-501.