

# 心肌缺血-再灌注损伤钙超载及其防治策略

罗 涛 岳荣川综述 胡厚祥审校

**【摘要】** 缺血-再灌注(I-R)可引起肌膜损伤、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换逆转以及肌(内)质网钙泵(SERCA)含量或活性下降从而导致心肌钙超载。钙超载诱导心肌Calpain活化与线粒体膜通透性转换孔(mPTP)开放进而引起心肌细胞收缩功能障碍、凋亡甚至坏死。通过抑制 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换蛋白、 $\text{Na}^+/\text{H}^+$ 交换蛋白、Calpain活性、mPTP开放、Ryanodine受体及IP<sub>3</sub>受体,或提高SERCA2a含量或活性均能显著减轻I-R心肌钙超载;采用酸性再灌注、缺血后适应与缺血预适应等措施也被证实能有效防治I-R损伤。进一步研究探索防治心肌I-R损伤策略对于缺血性心脏病的防治具有深远的意义。

**【关键词】** 缺血-再灌注损伤;心肌;钙超载;线粒体膜通透性转换孔;肌(内)质网钙泵

DOI: 10.3969/j.issn.1673-6583.2011.01.006

急性心肌梗死(AMI)再灌注治疗使心肌组织重新得到血液灌注,然而心肌缺血后恢复血流灌注本身可能引起组织损伤和(或)功能障碍,即为再灌注(ischemia-reperfusion, I-R)损伤。目前的研究认为钙超载与氧自由基损伤是引起心肌I-R损伤的主要原因<sup>[1,2]</sup>,然而其确切机制仍有待进一步阐明。本文简要概括钙超载及其介导心肌损伤的机制,总结防治心肌I-R损伤的策略及其临床应用前景。

## 1 I-R心肌钙超载机制

### 1.1 肌膜损伤

缺血本身可破坏肌膜结构,再灌注时生成的大量氧自由基引发肌膜脂质过氧化反应进一步加重膜结构损伤。膜损伤使其对 $\text{Ca}^{2+}$ 通透性增加,造成细胞外 $\text{Ca}^{2+}$ 呈浓度梯度进入细胞引起或促进心肌钙超载。

### 1.2 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换逆转

生理情况下, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换蛋白(NCX)主要以正向转运模式将细胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 转运至细胞外,它与肌浆网和肌膜钙泵共同维持细胞静息状态下的低钙浓度。心肌缺血时ATP生成减少引起钠泵活性降低,细胞内 $\text{Na}^+$ 含量明显升高;再灌注时细胞外pH值快速恢复使细胞内外形成显著的pH值梯度,这将激活肌膜 $\text{Na}^+/\text{H}^+$ 交换蛋白(NHE)引起 $\text{Na}^+$

大量内流。细胞内 $\text{Na}^+$ 异常增多( $\text{Na}^+$ 超载)会激活NCX的反向模式转运导致大量 $\text{Ca}^{2+}$ 进入细胞,从而引起或加重心肌钙超载<sup>[3,4]</sup>。

### 1.3 肌(内)质网钙泵功能受损

肌(内)质网钙泵(sarcoendoplasmic reticulum  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase,SERCA)的功能决定着肌质网 $\text{Ca}^{2+}$ 含量和心脏收缩-舒张周期肌质网 $\text{Ca}^{2+}$ 的释放。SERCA2a是心肌组织中SERCA的主要亚型。I-R产生大量氧自由基会引起SERCA2a含量或活性降低,从而使肌质网对胞质 $\text{Ca}^{2+}$ 摄取显著减少而加重心肌钙超载<sup>[5]</sup>。钙超载是一个复杂的病理过程,肌膜L型钙通道、肌质网 $\text{Ca}^{2+}$ 释放通道如Ryanodine受体(RyR)及IP<sub>3</sub>受体(IP<sub>3</sub>R)等也被证实参与I-R心肌钙超载的发生与发展。

## 2 钙超载致心肌I-R损伤的机制

### 2.1 激活Calpain

Calpain属于钙依赖的巯基蛋白水解酶家族,钙超载会导致它的活化。活化的Calpain不仅可水解多种心肌蛋白质引起收缩功能障碍,还可通过裂解活化Bid、诱导细胞色素C释放等促进心肌细胞凋亡<sup>[3,6]</sup>。

### 2.2 开放线粒体膜通透性转换孔

线粒体单向转运蛋白可利用阴性线粒体电位将阳性 $\text{Ca}^{2+}$ 摄取到线粒体基质从而对胞质 $\text{Ca}^{2+}$ 起着重要的调节作用。当线粒体摄入的 $\text{Ca}^{2+}$ 超过其转运限度时会引起线粒体钙超载,从而触发线粒体膜通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore,mPTP)开放。mPTP开放会引起线

基金项目:四川省科技厅应用基础课题(2009JY0079),教育部第38批留学回国人员科研启动基金

作者单位:637000 南充,川北医学院第一附属医院心血管内科  
通信作者:胡厚祥,Email: huhouxiang326@yahoo.com.cn

粒体膜电位崩溃、呼吸链解偶联、细胞色素 C 及其他促凋亡因子释放、ATP 耗竭,这些代谢变化最终导致心肌细胞死亡<sup>[7]</sup>。

### 2.3 心肌纤维过度收缩与再灌注性心律失常

钙超载可引起线粒体对胞质  $\text{Ca}^{2+}$  重复摄取与释放,诱发钙振荡以及心肌细胞间增值传播的钙波,最终触发心肌纤维过度收缩和再灌注性心律失常<sup>[3,8]</sup>。

## 3 心肌 I-R 损伤的防治

### 3.1 抑制 NCX

研究发现,利用 RNA 干扰技术减少心肌细胞 NCX 含量<sup>[9]</sup>,可消除反向转运模式的  $\text{Ca}^{2+}$  内流从而显著减轻鼠心肌 I-R 损伤。相应的,再灌注时抑制 NCX 活性也可减少钙超载介导的心肌细胞挛缩和死亡,从而促进心脏功能的恢复<sup>[10]</sup>。实验动物研究表明,再灌注时应用 NCX 抑制剂可有效减轻心肌损伤,然而要将 NCX 抑制剂应用于临床 AMI 患者的再灌注治疗还面临着诸多挑战。NCX 对细胞内外  $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  进行双向转运,尽管其反向转运模式会引起钙超载,但正向转运模式则有助于排出细胞内过多  $\text{Ca}^{2+}$ 。因此理想的 NCX 抑制剂应该是可以选择性抑制 NCX 的反向转运。另外,目前对 NCX 抑制剂的研究多集中在动物实验,而在临床应用的有效性和安全性还需进一步的在体研究和临床试验来证明和完善。

### 3.2 抑制 NHE

大量研究表明,NHE 在心肌钙超载的形成中起着关键作用,抑制 NHE 可显著减轻心肌 I-R 损伤<sup>[11-14]</sup>。多项大规模临床试验先后对 NHE-1 选择性抑制剂(如 cariporide、eniporide)对人 I-R 心肌的潜在保护作用进行了评估。GUARDIAN<sup>[12]</sup>临床试验表明,应用 cariporide 可预防 I-R 情况下的心肌细胞坏死,但这仅局限于冠状动脉旁路移植术后的高风险患者;相比之下,ESCAPE<sup>[13]</sup>临床试验则未观察到 eniporide 对 AMI 患者的心肌保护效应。最近的 EXPEDITION<sup>[14]</sup>临床研究再次评估了接受冠状动脉旁路移植术患者应用 cariporide 的有效性和安全性,结果表明 cariporide 可显著减轻心肌 I-R 损伤;但同时发现它可能增加脑血管事件的发生率,因而可能会限制其临床应用。造成临床试验失败的因素很多,但大多数临床研究资料提示在心肌缺血时或整个缺血-再灌注期间应用 NHE 抑制剂对心肌有保护效益<sup>[15]</sup>。

### 3.3 提高 SERCA2a 的含量或活性

研究表明,由于 SERCA2a 含量减少和(或)其活性降低引起的细胞内钙超载是导致心肌 I-R 损伤的一个重要原因<sup>[16]</sup>。相反,通过 SERCA2a 表达或基因转染提高肌质网  $\text{Ca}^{2+}$  摄取功能可减轻心肌 I-R 损伤<sup>[17]</sup>。这些研究表明,提高 SERCA2a 含量或活性可能有益于预防或治疗心肌 I-R 损伤。但目前这些研究都集中在动物实验,有待进一步的在体研究或临床试验以探索一种能有效提高 SERCA2a 含量或活性的药物或手段。

### 3.4 抑制肌质网 $\text{Ca}^{2+}$ 释放通道

肌质网膜上至少存在 2 种性质不同的  $\text{Ca}^{2+}$  释放通道:RyR 和 IP<sub>3</sub>R。研究表明,应用 RyR 抑制剂可减轻钙超载,减少鼠心肌梗死面积、促进收缩功能的恢复以及降低心律失常的发生率<sup>[18]</sup>。IP<sub>3</sub>R 是一种细胞内 IP<sub>3</sub>-门控性  $\text{Ca}^{2+}$  释放通道,IP<sub>3</sub> 进入胞液与之结合会引起肌质网  $\text{Ca}^{2+}$  释放。目前在哺乳动物已克隆出 3 种 IP<sub>3</sub>R 的亚型即 IP<sub>3</sub>R1、IP<sub>3</sub>R2 和 IP<sub>3</sub>R3,在心室和心房 IP<sub>3</sub>R2 对 IP<sub>3</sub> 呈高亲和表达,它对心肌细胞  $\text{Ca}^{2+}$  的调控起重要作用。研究发现 IP<sub>3</sub> 的产生及释放与 I-R 心肌钙超载关系密切,细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  增加可促进 IP<sub>3</sub> 的产生,而 IP<sub>3</sub> 的释放又可能加剧钙超载。最近研究发现,I-R 后 IP<sub>3</sub>R2 缺陷鼠心肌梗死面积以及心肌细胞凋亡率明显低于对照组<sup>[19]</sup>。这些研究结果提示,抑制 IP<sub>3</sub>R 的活性可减轻心肌 I-R 损伤,然而要彻底阐明其确切机制并最终转化为临床应用还有待进一步的研究。

### 3.5 抑制 Calpain 活性

研究发现 Calpain 的活化发生于再灌注期间,因此,存在一个抑制 Calpain 活性的时间窗,这为运用 Calpain 抑制剂防治心肌 I-R 损伤提供了可行性<sup>[3,6]</sup>。在 Neuhof 等<sup>[20]</sup>的研究中,通过应用 Calpain 抑制剂 A-705253 显著减小离体鼠心脏的梗死面积。最近,Yoshikawa 等<sup>[21]</sup>则证实另外一种新的 Calpain 抑制剂 SNJ-1945,通过抑制  $\alpha$ -胞衬蛋白的水解显著减轻 I-R 引起的心脏功能障碍。然而,要将 Calpain 抑制剂应用于缺血性心脏病的临床治疗还有待于研发更安全有效和选择性更高的药物。

### 3.6 抑制 mPTP 开放

AMI 期间很大一部分不可逆性损伤由再灌注引起,mPTP 开放是引起这种损伤的关键环节<sup>[7]</sup>。环孢霉素是 mPTP 的强效抑制剂,大量的实验研究证实它的应用可减轻 I-R 损伤。在 Piot 等<sup>[22]</sup>的临

床试验中,冠状动脉介入前应用环孢霉素的 AMI 患者心肌梗死面积显著小于对照组,并且也未观察到环孢霉素的不良反应。然而对于 AMI 患者应用环孢霉素是否会改善其远期预后还需要大规模临床试验予以验证。

### 3.7 酸性再灌注

大量研究表明,再灌注初期延迟恢复细胞内酸中毒可能对心肌产生保护作用,其机制是多方面的<sup>[3,23]</sup>。它可防止 Calpain 活化从而减少心肌蛋白质降解;抑制肌原纤维收缩从而减轻心肌过度收缩;低 pH 值还可阻止 mPTP 开放从而减少心肌细胞凋亡等。尽管目前的研究已显示酸性再灌注具有巨大的临床应用前景,然而诸如再灌注的时间长短、目标 pH 值以及酸性溶液的类型等关键问题还需研究。

### 3.8 缺血后适应与缺血预适应

无论是在缺血后再灌注即刻还是在缺血前给予一系列短暂缺血应激都会使机体对随后长时间的 I-R 损伤产生明显保护作用,主要表现为缩小心肌梗死面积、减轻心肌顿抑、减少再灌注心律失常,这两种方式被称为缺血后适应和缺血预适应。相对缺血预适应而言,缺血后适应的可预测性及可控性使其在临床已经得到广泛的应用<sup>[24,25]</sup>。

## 4 结语与展望

NCX、RyR、IP<sub>3</sub>R 以及 Calpain 抑制剂可显著减轻或预防心肌 I-R 损伤,提高 SERCA2a 含量和活性或对缺血心肌采用酸性灌注均能有效地保护心肌。NHE 抑制剂和 mPTP 抑制剂的应用已进入临床试验阶段且被证实能显著减轻 AMI 患者 I-R 损伤。目前,缺血预适应和缺血后适应在临床得到广泛的应用,部分防治心肌损伤的药物或方法已进入临床试验阶段,然而大多数还处于动物实验探索阶段,随着研究的深入,越来越多的措施将会被用于临床防治心肌 I-R 损伤。

## 参 考 文 献

- [1] Omar MA, Wang L, Clanahan AS. Cardioprotection by GSK-3 inhibition: role of enhanced glycogen synthesis and attenuation of calcium overload[J]. *Cardiovasc Res*, 2010, 86(3):478-486.
- [2] Lamberts RR, Onderwater G, Hamdani N, et al. Reactive oxygen species-induced stimulation of 5' AMP-activated protein kinase mediates sevoflurane-induced cardioprotection [J]. *Circulation*, 2009, 120(11 Suppl):S10-S15.
- [3] Inserte J, Barrabés JA, Hernando V, et al. Orphan targets for reperfusion injury [J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 83(2): 169-178.
- [4] Wu F, Wei GZ, Li WJ, et al. Low extracellular K<sup>+</sup> increases intracellular Ca<sup>2+</sup> oscillation and injury by activating the reverse mode Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> exchanger and inhibiting the Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ATPase in rat cardiomyocytes[J]. *Int J Cardiol*, 2010, 140(2):161-168.
- [5] Talukder MA, Kalyanasundaram A, Zuo L, et al. Is reduced SERCA2a expression detrimental or beneficial to postischemic cardiac function and injury? Evidence from heterozygous SERCA2a knockout mice[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2008, 294(3):H1426-H1434.
- [6] Hernando V, Inserte J, Sartório CL, et al. Calpain translocation and activation as pharmacological targets during myocardial ischemia/reperfusion[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2010, 49(2): 271-279.
- [7] Gomez L, Li B, Mewton N, et al. Inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening: translation to patients [J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 83(2):226-233.
- [8] Haworth RA, Potter KT, Russell DC. Role of arachidonic acid, lipoxygenase, and mitochondrial depolarization in reperfusion arrhythmias [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2010, 299(1):H165-H174.
- [9] Maddaford TG, Díbrov E, Hurtado C, et al. Reduced expression of the Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger in adult cardiomyocytes via adenovirally delivered siRNA results in resistance to simulated ischemic injury [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2010, 298(2):H360-H366.
- [10] Feng NC, Satoh H, Urushida T, et al. A selective inhibitor of Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger, SEA0400, preserves cardiac function and high-energy phosphates against ischemia/reperfusion injury[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2006, 47(2):263-270.
- [11] Oh KS, Seo HW, Yi KY, et al. Effects of KR-33028, a novel Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger-1 inhibitor, on ischemia and reperfusion-induced myocardial infarction in rats and dogs [J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2007, 21(3):255-263.
- [12] Théroux P, Chaitman BR, Danchin N, et al. Inhibition of the sodium-hydrogen exchanger with cariporide to prevent myocardial infarction in high-risk ischemic situations. Main results of the GUARDIAN trial. Guard during ischemia against necrosis (GUARDIAN) Investigators [J]. *Circulation*, 2000, 102(25):3032-3038.
- [13] Zeymer U, Suryapranata H, Monassier JP, et al. The Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange inhibitor eniporide as an adjunct to early reperfusion therapy for acute myocardial infarction. Results of the evaluation of the safety and cardioprotective effects of eniporide in acute myocardial infarction (ESCAMI) trial[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2001, 38(6):1644-1650.
- [14] Mentzer RM Jr, Bartels C, Bolli R, et al. Sodium-hydrogen exchange inhibition by cariporide to reduce the risk of ischemic cardiac events in patients undergoing coronary artery bypass grafting: results of the EXPEDITION study[J]. *Ann Thorac Surg*, 2008, 85(4):1261-1270.

(下转第 40 页)

- infusion induces natriuresis and angiotensin type 2 receptor translocation in Wistar-Kyoto but not in spontaneously hypertensive rats[J]. Hypertension, 2009, 53(2):338-343.
- [21] Koitka A, Cao Z, Koh P, et al. Angiotensin II subtype 2 receptor blockade and deficiency attenuate the development of atherosclerosis in an apolipoprotein E-deficient mouse model of diabetes[J]. Diabetologia, 2010, 53(3):584-592.
- [22] Iwai M, Chen R, Li Z, et al. Deletion of angiotensin II type 2 receptor exaggerated atherosclerosis in apolipoprotein E-null mice[J]. Circulation, 2005, 112(11):1636-1643.
- [23] Zivković M, Djurić T, Stanić O, et al. X-linked angiotensin II type 2 receptor gene polymorphism -1332A/G in male patients with essential hypertension[J]. Clin Chim Acta, 2007, 386(1-2):110-113.
- [24] Alfakih K, Lawrence RA, Maqbool A, et al. The clinical significance of a common, functional, X-linked angiotensin II type 2-receptor gene polymorphism (-1332 G/A) in a cohort of 509 families with premature coronary artery disease[J]. Eur Heart J, 2005, 26(6):584-589.
- [25] Alfakih K, Brown B, Lawrence RA, et al. Effect of a common X-linked angiotensin II type 2-receptor gene polymorphism (-1332 G/A) on the occurrence of premature myocardial infarction and stenotic atherosclerosis requiring revascularization[J]. Atherosclerosis, 2007, 195 (1):e32-e38.
- [26] Tousoulis D, Koumallos N, Antoniades C, et al. Genetic polymorphism on type 2 receptor of angiotensin II, modifies cardiovascular risk and systemic inflammation in hypertensive males[J]. Am J Hypertens, 2010, 23(3):237-242.
- [27] Ott C, Titze SI, Schwarz TK, et al. High sodium intake modulates left ventricular mass in patients with G expression of + 1675 G/A angiotensin II receptor type 2 gene[J]. J Hypertens, 2007, 25(8):1627-1632.
- [28] Huber M, Völler H, Jakob S, et al. Role of the angiotensin II type 2 receptor gene (+ 1675G/A) polymorphism on left ventricular hypertrophy and geometry in treated hypertensive patients [J]. J Hypertens, 2010, 28 (6):1221-1229.
- [29] Zhang M, Ma H, Wang BS, et al. Angiotensin II type 2 receptor gene polymorphisms and cardioprotective role in essential hypertension[J]. Heart Vessels, 2006, 21 (2):95-101.

(收稿:2010-06-28 修回:2010-10-08)

(本文编辑:金谷英)

## (上接第 23 页)

- [15] Murphy E, Allen DG. Why did the NHE inhibitor clinical trials fail? [J]. J Mol Cell Cardiol, 2009, 46(2):137-141.
- [16] Talukder MA, Yang F, Nishijima Y, et al. Reduced SERCA2a converts sub-lethal myocardial injury to infarction and affects postischemic functional recovery[J]. J Mol Cell Cardiol, 2009, 46(2):285-287.
- [17] Prunier F, Kawase Y, Gianni D, et al. Prevention of ventricular arrhythmias with sarcoplasmic reticulum  $\text{Ca}^{2+}$  ATPase pump overexpression in a porcine model of ischemia reperfusion[J]. Circulation, 2008, 118(6):614-624.
- [18] Guo Z, Wang S, Jiao Q, et al. RNAi targeting ryanodine receptor 2 protects rat cardiomyocytes from injury caused by simulated ischemia-reperfusion [J]. Biomed Pharmacother, 2010, 64(3):184-190.
- [19] Hu H, Xiang F, Lu X, et al. Role of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor 2 in myocardial ischemia and reperfusion[J]. Acta Physiologica Sinica, 2008, 60(Suppl 1):216-217.
- [20] Neuhofer C, Fabiunk V, Speth M, et al. Reduction of myocardial infarction by postischemic administration of the calpain inhibitor A-705253 in comparison to the  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange inhibitor Cariporide in isolated perfused rabbit hearts[J]. Biol Chem, 2008, 389(12):1505-1512.

- [21] Yoshikawa Y, Zhang GX, Obata K, et al. Cardioprotective effects of a novel calpain inhibitor SNJ-1945 for reperfusion injury after cardioplegic cardiac arrest [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2010, 298(2):H643-H651.
- [22] Piot C, Croisille P, Staat P, et al. Effect of cyclosporine on reperfusion injury in acute myocardial infarction[J]. N Engl J Med, 2008, 359(5):473-481.
- [23] Inserte J, Barba I, Hernando V, et al. Delayed recovery of intracellular acidosis during reperfusion prevents calpain activation and determines protection in postconditioned myocardium[J]. Cardiovasc Res, 2009, 81(1):116-122.
- [24] Böttner HE, Kharbanda R, Schmidt MR, et al. Remote ischaemic conditioning before hospital admission, as a complement to angioplasty, and effect on myocardial salvage in patients with acute myocardial infarction; a randomised trial[J]. Lancet, 2010, 375(9716):727-734.
- [25] Lonborg J, Kelbaek H, Vejlstrup N, et al. Cardioprotective effects of ischemic postconditioning in patients treated with primary percutaneous coronary intervention, evaluated by magnetic resonance[J]. Circ Cardiovasc Interv, 2010, 3(1):34-41.

(收稿:2010-07-16 修回:2010-09-25)

(本文编辑:金谷英)