

# 可变铁池:细胞氧化应激损伤与心血管疾病

余贵泉 刘 剑

**【摘要】** 可变铁池是体内一种特殊的铁存在形式,细胞内可变铁池水平可通过流式细胞技术检测。可变铁池参与氧化还原反应产生氧自由基,导致细胞氧化应激损伤,进而参与多种心血管疾病的发生、发展过程。

**【关键词】** 可变铁池;铁蛋白;氧化应激损伤;心血管疾病

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2015.01.009

铁是人体必需的微量元素,在人体内有不同的存在形式和不同的配体。人体通过调节铁与铁调节蛋白的结合以维持细胞内铁平衡。细胞中有一部分铁与铁调节蛋白结合力较弱,称为可变铁池(labile iron pool, LIP)<sup>[1]</sup>。LIP 可造成细胞内氧化应激损伤,与心血管疾病密切相关。

## 1 LIP 的形成及调节

### 1.1 形成与分布

铁经肠道吸收,以三价铁( $\text{Fe}^{3+}$ )形式进入血液循环后与转铁蛋白结合,形成转铁蛋白结合铁(transferrin-ferrum, Tf-Fe)。Tf-Fe 与细胞膜表面的转铁蛋白受体 1(transferring receptor 1, Tfr1)结合,通过内吞作用进入细胞成为内含体。内含体中的  $\text{Fe}^{3+}$  可被还原为二价铁( $\text{Fe}^{2+}$ ),再借助内含体膜上的二价金属转运蛋白 1 进入细胞质形成 LIP。LIP 主要分布在细胞内溶酶体、细胞核、线粒体等部位<sup>[2]</sup>。

### 1.2 调节

LIP 的细胞内水平受两方面调节。(1)LIP 自身反馈性调节:细胞内 LIP 水平过高可反馈性抑制 Tfr1 表达,从而减少  $\text{Fe}^{3+}$  进入细胞,降低细胞内 LIP 形成;胞内多余 LIP 还可通过细胞膜表面的 Tfr1 转运至细胞外,以维持细胞内铁平衡<sup>[3]</sup>。(2)铁蛋白调节 LIP 水平:细胞 LIP 水平较高时,铁与铁蛋白紧密结合,即储存铁,是体内铁最主要的储存形式;而储存铁又是细胞内 LIP 的来源。因此,细胞可通过控制铁蛋白的表达调节 LIP 水平<sup>[4]</sup>。

## 2 LIP 与细胞氧化应激损伤

细胞内 LIP 可参与氧化还原反应产生氧自由

基,促进细胞氧化应激损伤。热休克蛋白(heat shock protein, HSP)60 具有氧化应激抑制作用。Cabiscol 等<sup>[5]</sup>将 HSP60 高表达的酿酒酵母突变细胞及 HSP60 低表达的野生型酿酒酵母细胞置于过氧化氢环境中,通过荧光金属敏感探针——钙黄绿素检测两组细胞内 LIP,发现突变株 LIP 水平明显低于野生型;再用具有抑制 LIP 作用的铁螯合剂去铁胺处理野生型细胞,细胞氧化应激损伤及凋亡明显减少。该研究提示高水平 LIP 可加剧细胞氧化应激损伤。

细胞 LIP 内的铁有  $\text{Fe}^{3+}$  和  $\text{Fe}^{2+}$  两种形式,其中以  $\text{Fe}^{2+}$  为主<sup>[5]</sup>。LIP 内的  $\text{Fe}^{2+}$  可以与过氧化氢在催化剂作用下生成活性氧(reactive oxygen species, ROS),即 Fenton 反应,这是 LIP 促进细胞氧化应激损伤的基础。Fenton 反应产生的 ROS 包括羟自由基、超氧阴离子自由基等,具有强氧化性。LIP 通过参与 Fenton 反应,生成强氧化性的 ROS。ROS 通过参与脂类过氧化反应导致细胞生物膜结构变化及功能障碍<sup>[6-7]</sup>,而脂类过氧化反应产物壬烯可进一步诱导细胞发生凋亡<sup>[8-11]</sup>;其次,ROS 可导致以线粒体为主的脱氧核糖核酸突变,加重细胞损伤<sup>[12-14]</sup>。

## 3 LIP 与心血管疾病

LIP 及其产生的 ROS 加重细胞氧化应激损伤,与许多心血管疾病的发生、发展相关。

### 3.1 动脉粥样硬化

研究表明 LIP 参与动脉粥样硬化的发展。Li 等<sup>[5]</sup>研究了 52 例颈动脉粥样硬化患者,发现患者颈动脉斑块组织中巨噬细胞内 Tfr1、铁蛋白高表达,

在严重颈动脉斑块病变中更明显。另一研究发现, 细胞 LIP 及其产生的 ROS 可促进粥样斑块中泡沫细胞的生成<sup>[16]</sup>。抑制细胞内铁活性会减缓动脉粥样硬化发展。Zhang 等<sup>[17]</sup>给予动脉粥样硬化的小鼠铁螯合剂以降低细胞铁活性, 10 周后发现动脉粥样硬化病变明显减轻, 其机制可能是细胞内 LIP 水平降低, 使细胞粘附分子生成减少、组织炎症反应减轻。Westerink 等<sup>[18]</sup>研究发现, 降低细胞 LIP 水平可减轻炎症反应、减缓动脉粥样硬化发展。以上研究均提示高水平 LIP 可促进动脉粥样硬化发展。

LIP 可能通过促进单核细胞黏附于血管内皮参与动脉粥样硬化进展。动脉粥样硬化病变早期, 单核细胞在黏附分子及趋化因子作用下募集, 浸润内皮下层, 形成泡沫细胞, 是动脉粥样硬化斑块内最丰富的免疫细胞。单核细胞黏附被认为是动脉粥样硬化的早期病变<sup>[19]</sup>。Kuo 等<sup>[20]</sup>研究发现, 给予血液透析患者静脉铁剂治疗, 循环系统内单核细胞过氧化物产物、血管细胞黏附分子-1、细胞间黏附分子-1 均明显升高, 促进单核细胞黏附在主动脉内皮细胞, 进而促进动脉粥样硬化, 增加心血管事件。

### 3.2 冠心病

铁蛋白是调节细胞 LIP 水平最重要的因素。冠心病患者体内铁蛋白呈高水平状态, 其可能参与冠心病发生、发展过程。Holay 等<sup>[21]</sup>检测了 75 例急性心肌梗死患者及相同数量健康人的血铁蛋白水平等指标, 多因素 Logistic 回归分析显示, 高水平铁蛋白是急性心肌梗死的独立危险因素。Eftekhar 等<sup>[22]</sup>同样发现, 高水平血铁蛋白与冠心病相关。此外, Zhou 等<sup>[23]</sup>对血铁蛋白水平与冠心病风险的荟萃分析显示, 血铁蛋白每升高 50  $\mu\text{g/L}$ , 冠心病风险升高 2.4%。然而, 冠心病患者体内铁蛋白如何调节细胞 LIP 水平, 并进一步参与冠心病发生、发展过程还有待进一步研究。

### 3.3 心力衰竭

研究显示 LIP 与收缩性心力衰竭的严重程度相关。Korantzopoulos 等<sup>[24]</sup>运用流式细胞技术测定 60 例左心室射血分数 (LVEF)  $< 45\%$  的慢性收缩性心力衰竭患者各种血液细胞的 LIP 水平, 分析包括粒细胞、单核细胞等在内的白细胞亚群 LIP 水平与 LVEF 的相关性。多元 Logistic 回归分析提

示, 粒细胞 LIP 水平是严重左心室收缩功能障碍 (LVEF  $< 30\%$ ) 的独立危险因素 (OR = 0.73, 95% CI: 0.55~0.98;  $P = 0.039$ )。Spearman 秩相关分析显示, 粒细胞 LIP 水平 ( $r = -0.39$ ,  $P = 0.002$ )、单核细胞 LIP 水平 ( $r = -0.35$ ,  $P = 0.007$ ) 均与 LVEF 呈负相关, 提示粒细胞、单核细胞等白细胞亚群 LIP 水平与左心室功能障碍严重程度相关, 即 LIP 水平越高, 心脏射血功能越差。

合并贫血的心力衰竭患者经静脉补充铁剂, 可改善心功能及生活质量。Bolger 等<sup>[25]</sup>纳入 60 例合并贫血的收缩性心力衰竭患者 (LVEF 为  $26\% \pm 13\%$ ), 其纽约心脏协会 (NYHA) 心功能分级为 II~III, 血红蛋白 (hemoglobin, Hb) 均  $< 12 \text{ g/dl}$ , 予以研究对象静脉铁剂治疗。随访 ( $92 \pm 6$ ) d 后, 患者 Hb 升高, 6 min 步行距离增加, 生活质量评分改善。Okonko 等<sup>[26]</sup>给予 35 例合并贫血的收缩性心力衰竭患者静脉铁剂治疗, 随访 18 周后患者 Hb、峰值氧浓度均升高。以上研究提示, 对于合并贫血的心力衰竭患者, 静脉铁剂治疗可以提升生活质量及改善活动能力。此外, 经静脉补充铁剂可减少心力衰竭患者的再住院率<sup>[27]</sup>。Toblli 等<sup>[28]</sup>研究入选 40 例合并贫血的收缩性心力衰竭患者 (LVEF  $< 35\%$ , NYHA 心功能 II~IV 级, Hb  $< 12.5 \text{ g/dl}$ ), 予以实验组患者静脉铁剂治疗。随访 6 个月后, 实验组 LVEF 升高, 6 min 步行距离增加, 生活质量评分改善, 再住院人数明显减少。静脉补充铁剂是否通过改变患者体内 LIP 水平改善心力衰竭患者心脏功能, 还缺乏较为严谨的研究, 有待进一步探讨。

### 3.4 血栓

LIP 可能参与促进血栓形成。Day 等<sup>[29]</sup>发现过量铁可促进血栓形成。给予实验组小鼠口服过量铁剂 (右旋糖酐铁 15 mg/d, 大于 6 周), 当颈动脉损伤时, 实验组小鼠血栓形成明显快于对照组, 而使用氧化清除剂预处理小鼠后, 血栓形成时间与对照组无差异。这提示过量铁负荷促进血栓形成, 但机制尚不清楚, 可能与氧化应激损伤相关。

## 4 LIP 的检测

流式细胞技术可用于检测细胞 LIP 水平。Clark 等<sup>[30]</sup>采用荧光流式细胞技术检测了疟疾患者血细胞 LIP 水平。研究采用钙荧光素乙氧基甲酯 (calcein acetoxymethyl ester, CA-AM) 对细胞进

行预处理。CA-AM 能主动穿过细胞膜,进入细胞后分解成为游离钙黄绿素,游离钙黄绿素因不能穿越细胞膜而滞留细胞内,其发出的荧光可用流式细胞仪检测。细胞内游离钙黄绿素几乎只能与 LIP 结合,结合后不能发出荧光。因此,通过流式细胞技术测定细胞荧光变化量可作为定量检测 LIP 水平的方法。

目前,荧光流式细胞技术是检测细胞 LIP 水平的主要工具,对探索不同病理生理过程中细胞 LIP 水平及细胞氧化应激损伤很有帮助<sup>[31]</sup>。

综上所述,LIP 可参与细胞氧化应激损伤,与心血管疾病密切相关,通过一定手段改变细胞 LIP 水平可能成为治疗心血管疾病的方法。但因其作用机制仍不清楚,尚需大量基础、临床研究进行深入探索。

### 参 考 文 献

- [1] Byrne SL, Krishnamurthy D, Wessling-Resnick M. Pharmacology of iron transport[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*,2013,53: 17-36.
- [2] Au-Yeung HY, Chan J, Chantarojsiri T, et al. Molecular imaging of labile iron(II) pools in living cells with a turn-on fluorescent probe[J]. *J Am Chem Soc*. 2013, 135(40): 15165-15173.
- [3] Pierre Brissot, Martine Ropert, Caroline Le Lan, et al. Non-transferrin bound iron: A key role in iron overload and iron toxicity[J]. *Biochim Biophys Acta*,2012,1820(3):403-410.
- [4] Arosio P, Levi S. Cytosolic and mitochondrial ferritins in the regulation of cellular iron homeostasis and oxidative damage[J]. *Biochim Biophys Acta*,2010,1800(8):783-792.
- [5] Cabiscol E, Belli G, Tamarit J, et al. Mitochondrial Hsp60, resistance to oxidative stress, and the labile iron pool are closely connected in *saccharomyces cerevisiae* [J]. *J Biol Chem*,2002,277(46):44531-44538.
- [6] Jomova K, Valkob M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease[J]. *Toxicology*,2011,283(2-3): 65-87.
- [7] Fibach E, Rachmilewitz EA. The role of antioxidants and iron chelators in the treatment of oxidative stress in thalassemia[J]. *Ann N Y Acad Sci*,2010,1202:10-16.
- [8] Spickett CM. The lipid peroxidation product 4-hydroxy-2-nonenal: Advances in chemistry and analysis[J]. *Redox Biol*, 2013,1(1):145-152.
- [9] Choi IY, Lim JH, Kim C, et al. 4-hydroxy-2(E)-Nonenal facilitates NMDA-induced neurotoxicity via triggering mitochondrial permeability transition pore opening and mitochondrial calcium overload[J]. *Exp Neurobiol*, 2013, 22(3): 200-207.
- [10] Li D, Ellis EM. 4-Hydroxynonenal induces an increase in expression of Receptor for Activating C Kinase 1 (RACK1) in Chinese hamster V79-4 lung cells[J]. *Chem Biol Interact*, 2014, 213: 13-20.
- [11] Lin MH, Yen JH, Weng CY, et al. Lipid peroxidation end product 4-hydroxy-trans-2-nonenal triggers unfolded protein response and heme oxygenase-1 expression in PC12 cells: Roles of ROS and MAPK pathways[J]. *Toxicology*,2014, 315:24-37.
- [12] Al-Qenaei A, Yiakouvaki A, Reelfs O, et al. Role of intracellular labile iron, ferritin, and antioxidant defence in resistance of chronically adapted Jurkat T cells to hydrogen peroxide[J]. *Free Radic Biol Med*,2014,68:87-100.
- [13] Aroun A, Zhong JL, Tyrrell RM, et al. Iron, oxidative stress and the example of solar ultraviolet A radiation[J]. *Photochem Photobiol Sci*,2012,11(1):118-134.
- [14] Kitsati N, Fokas D, Ouzouni MD, et al. Lipophilic caffeic acid derivatives protect cells against H2O2-Induced DNA damage by chelating intracellular labile iron[J]. *J Agric Food Chem*,2012,60(32):7873-7879.
- [15] Li W, Xu LH, Forssell C, et al. Overexpression of transferrin receptor and ferritin related to clinical symptoms and destabilization of human carotid plaques[J]. *Exp Biol Med*, 2008, 233(7): 818-826.
- [16] Li W, Hellsten A, Xu LH, et al. Foam cell death induced by 7beta-hydroxycholesterol is mediated by labile iron-driven oxidative injury: mechanisms underlying induction of ferritin in human atheroma[J]. *Free Radic Biol Med*,2005,39(7): 864-875.
- [17] Zhang WJ, Wei H, Frei B. The iron chelator, desferrioxamine, reduces inflammation and atherosclerotic lesion development in experimental mice [J]. *Exp Biol Med*, 2010, 235(5): 633-641.
- [18] Westerink J, Olijhoek JK, Koppen A, et al. The relation between body iron stores and adipose tissue function in patients with manifest vascular disease[J]. *Eur J Clin Invest*, 2013,43(12):1240-1249.
- [19] 何流漾,赵建中,戚春建. 免疫细胞在动脉粥样硬化中的作用[J]. *国际心血管病杂志*,2013,40(3):139-141.
- [20] Kuo KL, Hung SC, Lin YP, et al. Intravenous ferric chloride hexahydrate supplementation induced endothelial dysfunction and increased cardiovascular risk among hemodialysis patients [J]. *PLoS One*,2012,7(12):e50295.
- [21] Holay MP, Choudhary AA, Suryawanshi SD. Serum ferritin-a novel risk factor in acute myocardial infarction[J]. *Indian Heart J*,2012,64(2):173-177.
- [22] Eftekhari MH, Mozaffari-Khosravi H, Shidfar F, et al. Relation between Body Iron Status and Cardiovascular Risk Factors in Patients with Cardiovascular Disease [J]. *Int J Prev Med*,2013,4(8):911-916.
- [23] Zhou Y, Liu T, Tian C, Kang P, et al. Association of serum

- ferritin with coronary artery disease[J]. Clin Biochem, 2012, 45(16-17):1336-1341.
- [24] Korantzopoulos P, Vlachou C, Kotsia A, et al. Leukocyte labile iron pool in patients with systolic heart failure[J]. Hellenic J Cardiol, 2012, 53(2): 95-100.
- [25] Bolger AP, Bartlett FR, Penston HS, et al. Intravenous iron alone for the treatment of anemia in patients with chronic heart failure[J]. J Am Coll Cardiol, 2006, 48(6): 1225-1227.
- [26] Okonko DO, Grzeslo A, Witkowski T, et al. Effect of intravenous iron sucrose on exercise tolerance in anemic and nonanemic patients with symptomatic chronic heart failure and iron deficiency FERRIC-HF: a randomized, controlled, observer-blinded trial[J]. J Am Coll Cardiol, 2008, 51(2): 103-112.
- [27] Jelani QU, Katz SD. Treatment of anemia in heart failure: potential risks and benefits of intravenous iron therapy in cardiovascular disease [J]. Cardiol Rev, 2010, 18(5): 240-250.
- [28] Toblli JE, Lombrana A, Duarte P, et al. Intravenous iron reduces NT-pro-brain natriuretic peptide in anemic patients with chronic heart failure and renal insufficiency[J]. J Am Coll Cardiol, 2007, 50(17):1657-1665.
- [29] Day SM, Duquaine D, Mundada LV, et al. Chronic iron administration increases vascular oxidative stress and accelerates arterial thrombosis [J]. Circulation, 2003, 107(20):2601-2606.
- [30] Clark M, Fisher NC, Kasthuri R, et al. Parasite maturation and host serum iron influence the labile iron pool of erythrocyte stage Plasmodium falciparum[J]. Br J Haematol, 2013, 161(2):262-269.
- [31] Cabantchik ZI. Labile iron in cells and body fluids: physiology, pathology, and pharmacology[J]. Front Pharmacol, 2014, 5:45.

(收稿:2014-05-23 修回:2014-08-06)

(本文编辑:梁英超)

## •敬告读者•

为了更好地服务读者和作者,提高稿件的处理速度和效率,缩短文章发表周期,《国际心血管病杂志》编辑部启用远程采编系统(<http://gjxxgz.paperopen.com>)。进入网站,点击左上侧“作者投稿”栏,登记作者信息,注册成功后即可在线投稿。请作者以实名、常用电子邮箱和移动电话登记,以便于本刊编辑与您联系。

本刊编辑部

<http://gjxxgz.paperopen.com>