

从保护线粒体角度谈心肌缺血再灌注损伤

范宗静 吴 旻 谢连娣 崔 杰

(北京中医药大学东方医院心内科,北京,100078)

摘要 近年研究表明,线粒体在心肌缺血再灌注损伤的多个环节发挥作用,其主要作用机制与活性氧、细胞凋亡、膜通透性转换孔开放等方面有关,以线粒体为靶点中药的研究近几年来备受关注,文章从保护线粒体角度出发,对中药防治心肌缺血再灌注损伤的作用机制进行综述。

关键词 中药;心肌缺血再灌注损伤;线粒体

Study on Myocardial Ischemia Reperfusion Injury from the Perspective of Mitochondria Protection

Fan Zongjing, Wu Yang, Xie Liandi, Cui Jie

(Department of Cardiology, Dong Fang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China)

Abstract In recent years, studies have shown that mitochondria plays a role in several stages of myocardial ischemia reperfusion injury. Its main mechanism involves reactive oxygen, cell apoptosis and mitochondrial permeability transition pore opening. Traditional Chinese medicine researches using mitochondria as target point have been given a lot of attention to in recent years. The article summarizes the mechanism of traditional Chinese medicine prevention of myocardial ischemia-reperfusion injury from the perspective of protecting mitochondria.

Key Words Traditional Chinese Medicine; Myocardial ischemia reperfusion injury; Mitochondria

中图分类号:R256.22 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2015.07.041

线粒体被称为“细胞动力工厂”,是细胞内合成三磷酸腺苷和氧化磷酸化(ATP)的场所,它为细胞的生长及活动提供能量,广泛存在于胞质中。线粒体生理条件下,可产生大量三磷酸腺苷(Adenosine Trphosphate, ATP),为细胞供应能量^[1],此外,线粒体还参与了细胞信息传递、细胞分化及细胞凋亡等过程,并拥有细胞周期及调控细胞生长的作用^[2],但当细胞损伤时,线粒体偏离生理平衡点,产生大量超氧化物阴离子和活性氧,导致线粒体钙超载和氧化应激增加,线粒体膜、酶、电子传递链发生氧化损伤,产生ATP减少,诱导细胞凋亡和坏死。自从1960年Jennings首次提出心肌缺血再灌注损伤的概念,证实了再灌注会引起心肌超微结构不可逆坏死,这个名字开始引起了人们的关注。当缺血心肌恢复了血流的再灌注后,病情没有好转,反而出现了恶化,引起功能、代谢、超微结构、及电生理方面发生进一步的损伤^[3],临床上,经PCI、冠脉搭桥、或者溶栓后,闭塞的冠状动脉再通,梗死区的心肌组织经血流重建后一段时间内,有的病例发生心律失常、心力衰竭、

血压下降,甚至猝死等现象。人们开始寻找其发病的机制,逐渐发现,心肌缺血-再灌注损伤时线粒体功能障碍是再灌注损伤的重要机制,保护线粒体功能将有助于减缓心肌损伤的严重程度或进展^[4-5]。最近,线粒体生物学研究的进展启发人们研制作用于线粒体的选择性靶向中药及其提取物,保护心肌缺血再灌注损伤。本文将从线粒体在心肌缺血再灌注中的作用机制及中药在这些方面的研究进展展开讨论。

1 心肌缺血再灌注与线粒体改变

1.1 再灌注导致线粒体内膜通透性转换孔开放
线粒体膜通透性转移孔(Mitochondrial Permeability Transition Pore, mPTP)是位于线粒体内的非选择性、高导电性复核孔道,主要由线粒体外膜上的电压依赖性阴离子通道(Voltage Dependent Anion Channe, VDAC)、基质、内膜的腺苷酸转移酶和亲环蛋白D等组成。大量研究证明,心肌I/R可诱导mPTP开放^[6-7],并且该现象更多发生于再灌注初期,因为该阶段线粒体ROS的爆发生成、Ca²⁺迅速聚集以及pH

基金项目:国家自然科学基金面上项目(编号:81273692)——“黄芪多糖对缺血再灌注人心脏微血管内皮细胞凋亡及信号转导通路的影响”;国家自然科学基金青年基金项目(编号:81102573)——“黄芪多糖对缺血再灌注损伤大鼠心肌线粒体mPTP开放及其调控因素的影响”

作者简介:范宗静,硕士研究生,主治医师,中西医结合心血管方向, Tel: (010) 67689756, E-mail: fanzongjing823@126.com

通信作者:谢连娣(1974.3—),女,博士,副主任医师,研究方向:心肌缺血再灌注损伤的防治, Tel: (010) 67689756, E-mail: xielianidi74@163.com

值的逐渐升高均为 mPTP 的放提供了最佳环境^[8]。MPTP 持续快速的开放,呈高通透状态,可使细胞内 ATP 大量减少,导致细胞来不及执行相关信号的传递便出现坏死,而 MPTP 短暂的开放,线粒体则能产生足够能量来传递死亡程序,细胞不会立即坏死,线粒体释放出 AIF、cyt C 等物质而导致细胞凋亡。MPTP 除参与损伤外,它对线粒体生理功能的维持也有一定意义。在生理状况下,MPTP 周期性开放,使外室里的正离子或质子进入内室,从而防止外室正离子过度蓄积,其短暂开放有利于线粒体排出各种代谢产物、内部产生的自由基及多余 Ca^{2+} ,维持正常生理功能。有研究表明^[9-11],阻碍 MPTP 开放,从而减少 Ca^{2+} 内流,降低线粒体内钙超载,并能减少 ROS 的生成。最近研究证实,吗啡^[12-13]和白藜芦醇^[14-15]也通过抑制 mPTP 的开放而保护再灌注心肌。

1.2 再灌注细胞凋亡过程中线粒体的改变 细胞凋亡是细胞在特定条件下的一种程序性死亡模式,既在机体正常发育、保持自身稳定方面发挥重要作用,又在病理情况下引发细胞过度死亡,使组织器官丧失功能,因此,抗细胞凋亡已成为目前药物机制研究的热点^[16]。线粒体作为细胞凋亡过程的关键环节,是抗凋亡药物研究的重要靶标,线粒体内含有大量凋亡因子,在凋亡信号的刺激下,线粒体的通透性增大,线粒体的膜电位将丢失,各种凋亡因子从线粒体释放到细胞质中,从而表现出细胞凋亡的各种形态特征。其中最重要的凋亡因子是细胞色素 C,它除了参与线粒体氧化磷酸化外,而且是 Caspases 的激活所必须的成分。除了细胞色素 C,线粒体还释放其他凋亡因子,包括凋亡诱导因子(Apoptosis-inducing factor, AIF)、核酸内切酶 G、Smac/DIABLO、丝氨酸蛋白酶(HtrA2/Omi)。其中 Smac/DIABLO 和 HtrA2/Omi 可以使抗凋亡抑制蛋白(Inhibitor of Apoptosis protein, IAPs)失活,诱导细胞凋亡。

1.3 线粒体与氧自由基 氧化应激损伤在心肌缺血再灌注时起关键作用。生物氧化过程中,会使氧发生不完全还原,形成氧自由基。自由基可以使细胞膜磷脂分子中高度不饱和脂肪酸氧化生成过氧化脂质,引起生物膜损伤。需氧细胞通过酶的作用保护机体免受氧自由基的侵害,其中超氧化物歧化酶(SOD)是人体内防御内、外环境中超氧离子对人体侵害的重要的酶。胞液中含有以 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 为辅基的 SOD,线粒体中则存在含 Mn^{2+} 的 SOD,二者均能催化超氧离子的氧化与还原,而生成 H_2O_2 与分子

氧,抑制氧自由基对细胞膜脂质过氧化反应,稳定膜结构,减少细胞内酶的漏出^[17]。

2 心肌缺血再灌注损伤的中医病机

中医学没有心肌缺血再灌注损伤的病名,目前用中医理论对其发生机制的探讨不多,但本病病变部位在心,以胸闷、胸痛、疲乏无力、气短等为主要表现,多数医家认为心肌缺血再灌注损伤的机制为“本虚标实”。本虚者,多因先天禀赋不足,年迈体衰、劳逸失调、情志所伤等所引起的心之阴阳气血不足;标实者,乃由嗜食肥甘厚味、情志刺激、寒邪外袭引起血瘀、气滞、寒凝、痰浊阻塞心脉而致。但其具体的发病过程各医家尚有不同的认识。

2.1 气虚血瘀 陈相^[18]等认为心气虚为 I/R 的病机关键,气虚血瘀为其基本病理变化之一。认为在 I/R 的发展过程中,存在着不同程度的心气亏虚,多表现为心输出量及心肌收缩力下降、心律失常等。另有学者^[19]采用具有活血化瘀作用的中药汤剂血府逐瘀汤,治疗 I/R 大鼠,发现血府逐瘀汤组能降低血清 IL-6 水平,促进 IL-10 的表达,减轻心肌超微结构的损伤。杨彦平等^[20]观察加味失笑散对 I/R 模型家兔心肌组织中 MDA、SOD 等指标的影响。结果显示加味失笑散可增强缺血再灌注损伤心肌的舒张及收缩功能,有效保护心肌。加味失笑散具有活血化瘀之效,本实验反映了学者从血瘀方面对本病进行论治。

2.2 气虚痰浊 中医学认为津血同源,津聚而成痰,痰浊、瘀血皆为病理产物,可由气虚所引起,因气虚而致痰浊留聚,阻于体内,痰瘀虽为病理产物,但痰瘀留而不去可影响经脉的流通,扰乱脏腑功能,也是一种不可忽视的继发致病因素。叶宗果等^[21]采用补气法及化痰法两种方法对 I/R 模型大鼠进行研究,结果表明中医补气、化痰法均能降低心肌细胞凋亡指数,有效清除氧自由基,对心肌缺血再灌注损伤有良好的保护作用,只是两种治疗原则发挥的途径不同。

2.3 阳虚痰瘀 急性心肌缺血时心体骤损,心阳暴衰,心血瘀阻,水液代谢失调,以致产生痰、湿、瘀等病理产物。一些学者^[22]总结提出“阳虚痰瘀”观点,认为“阳虚痰瘀”是心肌缺血再灌注无复流的主要病机,立意温心阳、益心气、活血化瘀,为中医药临床防治心肌缺血再灌注无复流提供新的有效手段。

3 以线粒体为靶点中药的研究进展

心肌缺血再灌注损伤与线粒体关系密切,国内大量研究表明以线粒体为靶点的中药及复方具有良

好的抗心肌缺血-再灌注损伤作用。

3.1 中药单药

3.1.1 川芎 川芎嗪作为是传统中药“川芎”的有效成分之一,近年来备受关注,研究发现川芎嗪具有扩张冠状动脉、抗血小板聚集、防治心肌缺血、抑制平滑肌细胞等多种药理作用。目前,川芎嗪在心脑血管疾病治疗领域内,应用较为广泛。它在 I/R 过程中的作用机制可能有:1)调节线粒体内钙转运、减轻钙超载,增强线粒体抗氧化能力,减轻脂质过氧化损伤。2)对 I/R 时心肌线粒体中琥珀酸脱氢酶(SDH)和细胞色素氧化酶活力降低有很好的拮抗作用。也有研究川芎嗪可抑制血管平滑肌细胞增殖、保护血管内皮、提高机体内 NO 水平和降低 ET 水平。

3.1.2 丹参 丹参又名赤参,紫丹参,红根等。为双子叶植物唇形科,干燥根及根茎,具有活血散淤、消肿止血、消炎止痛、调经止痛、扩张冠状动脉、改善心肌缺血状况等功效,近代医学实验证明,丹参还具有抗血小板凝聚、降低血液黏度、改善微循环,护缺血缺氧心肌细胞的作用。陈雯等^[23]将 30 只雄性 Wistar 大鼠随机分为空白对照组、模型组(I/R 组)及丹参总酚酸组(TSA 组)。研究发现:与 I/R 组相比,TSA 能明显改善缺血/再灌后的心功能,增加冠脉流量,减弱冠脉流出液中 CK 的活性,可使心肌细胞损伤程度减轻,增加心肌细胞 PKC ϵ 蛋白表达,并促进 PKC ϵ 由细胞质向线粒体的转位。说明丹参总酚酸对心肌 I/R 损伤具有明显保护作用。

3.1.3 黄芪 传统中药黄芪的药用迄今已有 2 000 多年的历史,具有益卫固表、利水消肿、托毒生肌及补中益气等作用,临床应用于冠心病、心绞痛等缺血性心脏病的治疗,疗效显著。现代研究发现,黄芪及其有效成分提取物如黄芪甲苷^[24]、黄芪多糖^[25-27]等对心肌缺血再灌注损伤的保护有其独特的作用。景桂霞等^[28]经试验发现,心肌缺血-再灌注时,心肌组织腺苷酸含量明显降低,给予黄芪预处理后,心肌组织腺苷酸含量降低程度明显减轻。结合病理学检查结果,提示缺血-再灌注时心肌细胞线粒体的形态结构及功能有不同程度的受损,用黄芪预处理后,可减轻缺血-再灌注时线粒体的损害程度,ATP 分解减少。认为减轻或防止线粒体损伤对保护缺血-再灌注心肌损伤有重要意义。

3.2 中药复方

3.2.1 四逆汤 四逆汤的主要组成药物为附子、干姜、甘草,为《伤寒杂病论》中的经典名方,具有温中

回阳救逆的功效。研究表明,四逆汤可以提高心脏的功能,对心肌缺血再灌注损伤有保护作用,赵丹洋等^[29]将昆明种小鼠分为对照组、四逆汤治疗组、缺血再灌注模型组,发现四逆汤治疗组中小鼠线粒体内 SOD 活性显著提高,线粒体内 MDA 含量显著降低,本实验还发现四逆汤可以显著减轻 I/R 时线粒体肿胀程度,增强线粒体的 MnSODmRNA 的转录,从而减轻了心肌缺血再灌注过程中的线粒体的氧化损伤。

3.2.2 参附汤 参附汤由人参和炮附子组成,方中人参甘温大补元气;附子大辛大热,温壮元阳。由参附汤开发出的制剂参附注射液是红参、黑附片的提取物,有效成分含人参皂苷、乌头生物碱类,有益气补阳的作用。多种实验证实参附对于心肌缺血再灌注损伤的具有保护作用^[30],而这种保护作用是通过 MPTP 起作用的,田首元等^[31]研究证实参附预先给药可以减轻心肌缺血再灌注损伤,其机制可能与参附减轻线粒体跨膜电位和抑制心肌缺血再灌注诱发的线粒体通透性转换有关;辛毅等^[32]研究发现参附液通过正调抗凋亡基因 Bcl-2 的表达,负调促凋亡基因蛋白 Bax 的表达,起到抑制线粒体通透性转换孔 MPTP 的开放,稳定线粒体膜和调节线粒体膜的通透性,抑制心肌缺血再灌注过程中所导致的心肌细胞的凋亡作用。

另外贺运河^[33]等研究发现益气活血方(由人参、黄芪、水蛭、川芎、丹参、地龙等组成)通过保护线粒体超微结构,对心肌缺血再灌注损伤具有保护作用。

4 展望

心肌缺血再灌注损伤的过程使线粒体各种稳态平衡均发生严重改变,并且这些因素相互影响,形成恶性循环,从多种途径参与了心肌缺血再灌注损伤的发生,目前,随着分子生物学、药学等相关学科实验技术的发展,以线粒体为靶点的中药研究已取得了很大的进展,人们将会对心肌缺血再灌注损伤的机制有更深刻的认识,找到更安全、有效的治疗措施及治疗药物。目前,在这方面的研究中,西医方面的实验研究已发展较为成熟,这些研究为临床治疗提供了客观依据。然而中医药对心肌缺血再灌注损伤的研究还存在一些问题,比如中药方面的西医作用机制与中医的理论相脱节,还有多数中药的研究结论是由动物模型实验研究基础上得出,而直接对人类的临床研究较少。但相信在广大医药工作者的不断努力下,将会在祖国中医药宝库中发现对心肌缺

血再灌注损伤有更好保护作用的药物。

参考文献

- [1] 杨一萍, 骆媛, 范礼斌, 等. 线粒体在心肌缺血再灌注损伤中的作用研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2012, 26(4): 577 - 578.
- [2] 孙明, 褚俊, 朱红军, 等. 急性心肌缺血/再灌注损伤过程中的线粒体信号转导机制[J]. 中华临床医师杂志(电子版)2013, 7(16): 7509 - 7511.
- [3] 李冬, 史大卓, 刘秀华. 线粒体功能障碍与心肌缺血再灌注损伤[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2014, 16(3): 318 - 321.
- [4] Fantinelli JC, Gonzalez ALF, Perez NIA, et al. Protective effects of N-(2-mercaptopyronyl)-glycine against ischemia-reperfusion injury in hypertrophied hearts[J]. Exp Mol Pathol, 2013, 94(1): 277 - 284.
- [5] Penna C, Perrelli MG, Pagliaro P. Mitochondrial pathways, permeability transition pore, and redox signaling in cardioprotection: therapeutic implications[J]. Antioxid Redox Signal, 2013, 18(5): 556 - 599.
- [6] Perrelli MG, Pagliaro P, Penna C. Ischemia/reperfusion injury and cardioprotective mechanisms: Role of mitochondria and reactive oxygen species[J]. World J Cardiol, 2011, 3(6): 186 - 200.
- [7] Penna C, Perrelli MG, Pagliaro P. Mitochondrial pathways, permeability transition pore, and redox signaling in cardioprotection: therapeutic implications[J]. Antioxid Redox Signal, 2013, 18(5): 556 - 599.
- [8] 李雪丽, 刘建勋. 线粒体与心肌缺血/再灌注损伤[J]. 中国药理学通报, 2012, 28(12): 1633 - 1636.
- [9] Perrelli MG, Pagliaro P, Penna C. Ischemia/reperfusion injury and cardioprotective mechanisms: Role of mitochondria and reactive oxygen species[J]. World J Cardiol, 2011, 3(6): 186 - 200.
- [10] Penna C, Perrelli MG, Pagliaro P. Mitochondrial pathways, permeability transition pore, and redox signaling in cardioprotection: therapeutic implications[J]. Antioxid Redox Signal, 2013, 18(5): 556 - 599.
- [11] Petrosillo G, Di Venosa N, Moro N, et al. In vivo hyperoxic preconditioning protects against rat-heart ischemia/reperfusion injury by inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening and cytochrome c release[J]. Free Radic Biol Med, 2011, 50(3): 477 - 483.
- [12] Xi J, Tian W, Zhang L, et al. Morphine prevents the mitochondrial permeability transition pore opening through NO/cGMP /PKG/Zn2+ /GSK-3 β signal pathway in cardiomyocytes[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2010, 298(2): H601 - H607.
- [13] 贺志彪, 彭再梅, 金丽艳, 等. 吗啡预处理对大鼠缺血再灌注损伤心肌线粒体通透性转换孔的影响[J]. 中南大学学报: 医学版, 2010, 35(8): 800 - 806.
- [14] 廖章萍, 章志玲, 邹逢琳, 等. 白藜芦醇对抗线粒体电压依赖性阴离子通道介导心肌损伤作用的研究[J]. 中国药理学通报, 2011, 27(4): 477 - 481.
- [15] 贺永贵, 孙玉洁, 谢宇曦, 等. 糖原合成酶激酶 3 β 在白藜芦醇诱导的大鼠心肌线粒体保护中的作用及其机制[J]. 中华心血管病杂志, 2012, 40(10): 858 - 63.
- [16] 叶乔峰, 朱金墙, 王丹丹, 等. 中药干预细胞凋亡线粒体通路研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2013, 10(8): 100 - 103.
- [17] 李方江, 张文婷, 李清, 等. 芬太尼联合山莨菪碱后处理对兔心肌缺血再灌注心肌梗死面积和血流动力学及心律失常的影响[J]. 中国医药, 2014, 9(10): 1419 - 1423.
- [18] 陈相, 敖杰男. 浅谈心肌缺血再灌注的中医病机及其防治[J]. 陕西中医, 2008, 29(6): 697 - 699.
- [19] 唐丹丽, 刘寒华, 张华敏, 等. 血府逐瘀汤对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(22): 3077.
- [20] 杨彦平, 曹志然, 王蓓, 等. 加味失笑散对实验兔心肌缺血再灌注损伤保护作用机制研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2010, 16(9): 765.
- [21] 叶宗果, 雍苏南, 严造成. 补气法、化痰法对大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响[J]. 中国中医急症, 2011, 20(6): 926 - 927.
- [22] 刘寒华, 张华敏, 唐丹丽, 等. 从“阳虚痰瘀”探讨中医对心肌缺血再灌注无复流的认识[J]. 中国中医基础医学杂志, 2014, 20(2): 166 - 167.
- [23] 刘剑刚, 张大武, 李婕, 等. 丹参、红花水溶性组分及配伍对大鼠心肌缺血/再灌注损伤作用的实验研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(2): 189.
- [24] 贺永贵, 李王芳, 伊红丽, 等. 黄芪甲苷抑制 GSK-3 β 活性介导大鼠心肌缺血/再灌注损伤作用的线粒体机制研究[J]. 中国药理学通报, 2014, 30(3): 402 - 406.
- [25] 徐冰, 刘蓓, 朱海燕, 等. 黄芪多糖对大鼠心肌缺血再灌注损伤心肌 p38 信号通路的影响[J]. 中医杂志, 2012, 37(1): 24 - 26.
- [26] 张莹, 徐冰, 李庆祥, 等. 黄芪多糖干预缺血-再灌注损伤大鼠心肌黏附分子 ICAM-1, VCAM-1 及 p38 通路的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 12(4): 241 - 244.
- [27] 徐冰, 朱海燕, 高永红, 等. 黄芪多糖对人心脏微血管内皮细胞再灌注损伤 P、E 选择素基因转录的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2011, 62(3): 368 - 370.
- [28] 景桂霞, 王小燕. 黄芪预处理对缺血-再灌注心肌线粒体的保护作用[J]. 临床麻醉学杂志, 2009, 25(1): 61 - 63.
- [29] 赵丹洋, 赵明奇, 吴伟康. 四逆汤抗心肌缺血-再灌注线粒体氧化损伤作用及机制的研究[J]. 中药材, 2008, 31(11): 1681 - 1685.
- [30] 牟崇明, 陈玉培, 卓卓亮, 等. 参附注射液对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用及与炎症递质的关系[J]. 广东医学, 2012, 33(3): 316 - 317.
- [31] 田首元, 刘保江. 参附注射液预先给药对心肌缺血再灌注大鼠线粒体通透性转换和跨膜电位的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2010, 30(7): 871 - 874.
- [32] 辛毅, 吴永涛, 顾云, 等. 参附注射液对缺血/再灌注损伤诱导大鼠心肌细胞凋亡的实验研究[J]. 心脑血管病杂志, 2010, 29(3): 229 - 232.
- [33] 贺运河, 古继红, 陈光贤, 等. 益气活血法对大鼠心肌缺血再灌注损伤保护作用的实验研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2007, 5(8): 707 - 708.