

· 综述 ·

远程缺血预适应对心肌保护作用的研究进展

贾魁 寇俊杰

远程缺血预适应(remote ischemia preconditioning, RIPC)是指某一器官在缺血预处理后,对远隔器官在随后发生的缺血事件中有保护作用。1993年 Przyklenk 等通过对狗的心脏左旋支进行预处理时,发现其对之后左前降支的梗死也能减少其梗死面积。从而极大地拓展了对早期缺血预适应的认识,这被称为“心内远程预适应”。之后又发现远程预适应并非局限于一个特定的脏器,它被称为“器官间预适应”或“远程预适应”。RIPC的保护效应分早期保护作用 and 延迟保护作用,分别发生在缺血后1~3 h和缺血后24~72 h^[1]。其机制可能是神经、体液或者两者的共同作用,包括腺苷、阿片类药物^[2]、蛋白激酶C、K-ATP通道、内源性大麻素类^[3]、热休克蛋白等。但是具体的机制目前仍不清楚。本文主要论述 RIPC 对心肌保护作用的机制和临床应用。

一、RIPC 的机制

缺血预适应是迄今为止发现的最强大的内源性保护作用。如同经典预适应的机制一样,RIPC的机制还不清楚,对其机制的研究仍在进行中。以下我们将介绍几种已证实会对 RIPC 产生影响的因素及其可能的机制。

(一) 神经机制

RIPC 的心肌保护作用与神经机制有关。例如冠状动脉阻塞后的缺血区心肌可能没有接触到循环中的传导介质,这时预适应保护可能是由神经机制发挥的作用。在远程预适应前用六羟季胺阻断神经,结果心脏保护作用消失^[4],这说明神经系统参与其中。

(二) 体液机制

1. 腺苷:当心肌出现低灌注时,由于心肌细胞内 ATP 消耗增加,心肌间质内的腺苷水平随即升高,腺苷作为一种神经递质,与 G 蛋白偶联 A1 受体^[5]结合,促进 ATP 敏感性钾通道开放,细胞膜超极化,减少钙离子内流和兴奋性氨基酸的释放,保护心肌缺血性损伤。用外源性腺苷 AMP579(腺苷 A1 和 A2 受体激动剂)可以模拟缺血预适应效应,腺苷拮抗剂则可以阻断预适应的效应^[6]。

2. 缓激肽:很多实验证明在缺血预适应中缓激肽起着重要的作用。在大鼠肠系膜动脉内注射缓激肽可模拟肠缺血预适应的心肌保护作用^[7],缓激肽 B2 受体阻断剂能取消肠缺血预适应的心肌保护作用。

3. 蛋白激酶 C(PKC) 信号通路:以往研究表明,PKC 是经典 IPC 的重要信使分子,并且可能是一条共同通路。PKC 减少离子通道对细胞内 ATP 的敏感性,激活线粒体 ATP 敏感性钾通道,减轻线粒体内 Ca²⁺ 超载,促进线粒体呼吸和增加 ATP 合成。Churchill 等^[8]发现缺血预适应通过 ATP 依赖的 26S 蛋白酶体的

功能,来保护再灌注时的心肌,这期间促凋亡酶 δPKC 的积累减少,而促生存酶 εPKC 的积累增多。同样的,在缺血预处理模型上,预先给予 PKC 的选择性阻断剂 chelerythrine(白屈菜季胺碱)可消除 RIPC 的心肌保护效应。

4. 线粒体 ATP 敏感性钾通道(KATP):研究发现下肢4次5 min 缺血预适应能减少离体心脏局部缺血再灌注损伤后的梗死面积,改善心功能,其机制可能涉及 KATP^[9],因为离体心脏局部缺血再灌注前给予非选择性 KATP 阻滞剂格列本脲和线粒体 KATP 阻滞剂 5-HD 可阻断 RIPC 的保护作用^[10],而肌浆膜 KATP 阻滞剂 HMR-4098 则无此作用。Moss 等的研究支持这一结果,后者发现静脉注射选择性线粒体 KATP 开放剂 BMS-491095 能模拟 RIPC 的抗心肌梗死作用,此作用可被预先给予 5-HD 所阻断。线粒体 KATP 主要有两方面的生理作用:(1)在线粒体氧化磷酸化过程中,通过 K⁺ 的再摄取可以部分补偿质子泵产生的电荷转移,从而维持线粒体跨膜电位和 pH 梯度。(2)维持线粒体内 K⁺ 平衡,从而控制线粒体基质容积的改变。近期研究提示线粒体 KATP 介导的心肌保护作用可能与降低线粒体膜电位,减轻钙超载,抑制线粒体通透性转换孔道(mPTP)的开放有关^[11],关于线粒体 KATP 在 RIPC 中的机制尚需进一步研究。

5. 氧自由基(oxygen free radical, OFR):OFR 包括超氧化物防御系统氧阴离子、羟自由基和过氧化氢等。OFR 可引起脂质过氧化,降低细胞膜流动性,增加其通透性,损伤细胞膜离子泵,引起细胞能量和离子稳态的异常,最终导致细胞损伤甚至死亡。正常情况下,机体存在超氧化物歧化酶^[12]、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶等内源性抗氧化防御系统,可将其及时清除。但在缺血缺氧情况下,OFR 清除系统功能减弱或丧失,而生成系统潜在活性增强,恢复供血供氧后,呼吸爆发生成大量 OFR,超过抗氧化防御系统的清除能力,导致细胞结构和功能损伤。在灌注期生成的 OFR 具有双重作用^[13]。Weinbrenner 等^[14]提出氧自由基可能有益于 RIPC,他们发现自由基清除剂能取消 RIPC 对心肌的保护作用。自由基在 RIPC 中可能起到信号递质的作用,但是具体机制目前尚不清楚,需要进一步研究。

6. 降钙素基因相关肽(CGRP):CGRP 是辣椒素敏感的感觉神经主要递质,广泛分布于动物和人的心血管组织。预先应用辣椒素耗竭感觉神经递质 CGRP 后,家兔肠系膜动脉阻塞预适应的早期和延迟心肌保护作用均显著减弱。Wolftrum 等^[15]采用肠系膜动脉阻塞预处理模型,通过测定血浆 CGRP 浓度和外源性应用 CGRP 等方法,证实了 CGRP 介导 RIPC 的心肌保护作用,并且与 PKC 的转位有关。

7. NO:内源性 NO 参与缺血预处理的早期保护作用已被许多实验所证实。NO 在缺血预处理中是一种重要的信息和传递分子^[16],具有抑制中性粒细胞和血小板在局部的黏附、聚集,抑制中性粒细胞释放毒性介质,抑制自由基形成和脂膜脂质过氧化反应,从而对心肌起保护作用。NO 还可使血管平滑肌内的鸟苷酸环化酶激活,cGMP 浓度升高,游离 Ca²⁺ 浓度降低,血管扩张。研究表明,NO 介导缺血预处理的保护作用不仅表现在心肌

DOI: 10. 3877/cma. j. issn. 1674-0785. 2012. 03. 031

基金项目: 黑龙江省自然科学基金(D200968)

作者单位: 150001 哈尔滨医科大学第一附属医院心内科

通讯作者: 寇俊杰, Email: junjiekuo@yahoo. com. cn

细胞还表现在血管内皮细胞,其心肌保护作用可能继发于保护血管内皮,因为其保护血管内皮同时能缩小心肌梗死范围。试验表明肢体缺血预处理后 iNOS 的转录及表达增强,NO 合成增多^[17],从而产生对缺血/再灌注损伤的保护作用,提示 NO 在肢体缺血预处理的早期心肌保护中起重要作用。

(三) 心肌细胞凋亡

研究证实缺血预适应对心肌的保护作用和抑制心肌细胞凋亡关系密切^[18]。发现心肌梗死高峰时凋亡细胞数比坏死细胞数高七倍,并且梗死灶周边区域的心肌细胞凋亡扩大了梗死面积和促进了心室重构,对心肌产生不利影响,因此心肌细胞凋亡是心肌梗死面积大小的主要决定因素。但 RIPC 对心肌缺血/再灌注损伤引起心肌细胞凋亡的保护作用机制尚未完全清楚。心肌凋亡的多种调控机制包括: Bcl-2 家族、Fas^[19]、热休克蛋白(heat shock protein, HSP)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(Caspase)^[20]、p53 基因等。

1. p53 基因: 基因 p53 在细胞凋亡反应中起重要作用^[21],野生型 p53 基因具有诱导细胞凋亡的功能,突变型 p53 基因可抑制凋亡。心肌缺血时 DNA 损伤, DNA 损伤可激活两种调节 p53 的激酶,共济失调毛细血管扩张空变激酶(AIM)和 DNA 依赖性蛋白激酶。p53 活化后转移至胞核,起转录因子作用,诱导凋亡基因表达。缺血可以使 p53 基因表达增高,但经过缺血预适应的动物,再灌注时心肌内 p53 基因表达明显下降,说明预适应与降低凋亡 p53 基因有关。

2. HSP: HSP 是一种多肽,分为四个主要家族: HSP90 家族、HSP70 家族、HSP60 家族、小分子 HSP 家族,每个家族又包括不同的 HSPs 亚型。HSP 在正常心肌组织中含量较低,氧化等反应可致变性蛋白及变构蛋白的出现而产生热休克反应。这些异构蛋白可激活热休克转录因子家族而转录编码合成热休克分子伴侣及蛋白酶基因合成 HSP。目前认为 HSP25、27、32、70 和 72 以及 α B 晶状体蛋白具有抗心肌 I/R 损伤作用。对于 HSP25 的研究显示, HSP25 转染心肌细胞后可增强细胞抗缺血性损伤的能力^[22]。除了上述作用外, HSP25 还是 MAPK 信号分子的底物并参与对肌动蛋白多聚/解聚的调节^[23]。HSP70 包括 Hsp72、Hsp73、Hsp78、Hsp75 4 个成员,与蛋白质的合成、折叠、寡聚化和运输关系密切,在机体蛋白质的生物合成和细胞间运输中起着必不可少的作用^[24]。HSP70 还能保护不直接引起蛋白质损伤的细胞,即干扰应激所启动的凋亡程序。实验表明 HSP70 水平升高可能通过下调细胞凋亡相关的基因、蛋白和蛋白酶活性,抑制线粒体损伤、核碎裂等发挥作用。因此有人甚至将 HSP70 视为除 Bcl-2 之外的抗凋亡蛋白^[25]。HSP 另一家族成员 HSP32, 又称血红素氧化酶-1(HO-1)也有抗 I/R 损伤作用。转基因小鼠研究表明, HO-1 基因的过表达可减少 I/R 梗死面积,改善心功能,减少细胞凋亡。其作用可能与胆绿素、胆红素的抗氧化及 CO 的调节血管舒张和抗炎特性等有关。总之,目前观点认为 HSP 是哺乳动物中作用最强的心肌保护蛋白,甚至能够使损伤的蛋白质多肽链解聚,利于重新折叠和组合,恢复活性。

二、RIPC 的临床应用

缺血性预适应已被证明能有效地减少缺血引起的心肌细胞损伤。虽然缺血预处理是一个很强大的保护缺血心肌细胞的方法,但它并不容易转化为临床应用。没有可靠的方法来预测心肌梗死何时会发生,因此没有办法诱导缺血预处理或使用模拟预处理剂。在冠状动脉球囊血管成形术、冠状动脉旁路移植手术中,缺血预处理已经应用于其中的一些情况,通过多个简短的

球囊起伏或冠状动脉结扎。可是这些缺血性预适应创伤大、风险高,限制了其临床应用。这时远程缺血预处理体现了它的优势。

Hausenloy 等^[26]研究 57 例接受冠状动脉搭桥手术的患者。患者被随机分为对照组($n=30$)和远程缺血预处理组($n=27$),对远程缺血预处理组进行 4 个缺血再灌注循环,每次 5 min 诱导右上肢缺血发作(用自动血压计飙升到 200 mm Hg)和 5 min 的袖带松开再灌注。分别测定术前和术后 6~72 h 血清肌钙蛋白 T 浓度。缺血预处理使血清肌钙蛋白 T 从对照组的 36 μ g/L 降至远程缺血预处理组的 21 μ g/L(减少 43%; $P=0.005$)。因此,使用远程缺血预处理(上臂缺血预处理)减少冠状动脉旁路移植术中的缺血性心肌损伤。

Cheung 等^[27]通过随机对照试验评估 RIPC 对接受心脏外科手术患者的影响。将 37 例接受心脏修复手术的先天性心脏缺损儿患者被随机分为两组,远程缺血预处理组和对照组。对远程缺血预处理组进行 4 个缺血再灌注循环,每次用血压计袖带对下肢加压 5 min,再松开 5 min;对照组没有远程缺血预处理。主要检测手术前、后肌钙蛋白 I 水平。肌钙蛋白 I 水平在远程缺血预处理组比对照组低。

Botker 等^[28]的一项对照研究发现,入院前 RIPC 可以对 ST 段抬高型急性心肌梗死行急诊冠状动脉介入手术的患者产生保护作用。因此远程缺血预处理可以用来减少心肌缺血损伤,对心肌起到保护作用。已经有相当多同类的研究支持这个观点。

RIPC,此方法更具优越性。其特点是简单易操作,基本无副作用,医师和患者都能接受,临床应用前景广泛。特别是当前溶栓,经皮冠状动脉血管成形术,冠状动脉搭桥术和器官移植术等血运重建的方法,难免会造成再灌注损伤。如果术前给予适当的缺血预适应,将能不同程度地减轻这种损伤,减少后遗症。RIPC 具有很高的临床应用价值。

三、总结

总之, RIPC 的保护机制目前尚未完全阐明。譬如 RIPC 是神经机制和体液机制共同作用还是分别单独作用; RIPC 和经典缺血预适应是否有共同的机制等。但其过程很复杂,涉及很多因素参与,包括多种分子甚至基因表达。且每个因素并非孤立存在,它们之间存在着错综复杂的联系。由于 RIPC 易操作性及无创性,对它机制的进一步研究不仅有很高的理论价值,而且还有很高的临床应用价值。相信随着科技的发展,我们对 RIPC 了解会越来越多,为心脏缺血性治疗提供更大的帮助。

参 考 文 献

- [1] Ren C, Gao X, Steinber GK, et al. Limb remote-preconditioning protects against focal ischemia in rats and contradicts the dogma of therapeutic time windows for preconditioning. *Neuroscience*, 2008, 151: 1099-1103.
- [2] Peart JN, Gross ER, Gross GJ. Effect of exogenous kappa-opioid receptor activation in rat model of myocardial infarction. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2004, 43: 410-415.
- [3] Hajrasouliha AR, Tavakoli S, Ghasemi M, et al. Endogenous cannabinoids contribute to remote ischemic preconditioning via cannabinoid CB2 receptors in the rat heart. *Eur J Pharmacol*, 2008, 579: 246-252.
- [4] Liem DA, Verdouw PD, Ploeg H, et al. Sites of action of adenosine in interorgan preconditioning of the heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2002, 283: H29-37.

- [5] Cohen MV, Yang XM, Neumann T, et al. Favorable remodeling enhances recovery of regional myocardial function in the weeks after infarction in ischemically preconditioned hearts. *Circulation*, 2000, 102: 579-583.
- [6] Niels P, Riksen A, Bigail W, et al. Ischaemic preconditioning and postconditioning do not affect adenosine A1 and A2A receptor sensitivity. *Cardiovascular Drugs Ther*, 2009, 23: 415-417.
- [7] Schoemaker RG, van Heijningen CL. Bradykinin mediates cardiac preconditioning at a distance. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2000, 278: H1571-1576.
- [8] Churchill EN, Ferreira GC, Brum PC, et al. Ischaemic preconditioning improves proteasomal activity and increases the degradation of deltaPKC during reperfusion. *Cardiovasc Res*, 2010, 85: 385-394.
- [9] Kristiansen SB, Henning O, Kharbanda PK, et al. Remote preconditioning reduces ischemic injury in the explanted heart by a KATP channel-dependent mechanism. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 288: H1252-1256.
- [10] Loukogeorgakis SP, Williams R, Panagiotidou AT, et al. Transient limb ischemia induces remote preconditioning and remote postconditioning in humans by a K(ATP)-channel dependent mechanism. *Circulation*, 2007, 116: 1386-1395.
- [11] Serejo FC, Rodrigues LF, Jrda Silva Tavares KC, et al. Cardioprotective properties of humoral factors released from rat hearts subject to ischemic preconditioning. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2007, 49: 214-220.
- [12] Flohe L, Ursini F. Peroxidase: a term of many meanings. *Antioxid Redox Signal*, 2008, 10: 1485-1490.
- [13] Khanna G, Diwan V, Singh M, et al. Reduction of ischemic pharmacological and remote preconditioning effects by an antioxidant N-Acetyl Cysteine pretreatment in isolated rat heart. *Yakugaku Zasshi*, 2008, 128: 469-477.
- [14] Weinbrenner C, Schulze F, Sarvary L, et al. Remote preconditioning by infrarenal aortic occlusion is operative via delta1-opioid receptors and free radicals in vivo in the rat heart. *Cardiovasc Res*, 2004, 61: 591-599.
- [15] Wolfrum S, Nienstedt J, Heidbreder M, et al. Calcitonin gene related peptide mediates cardioprotection by remote preconditioning. *Regul Pept*, 2005, 127: 217-224.
- [16] Wu SN, Wu AZ, Sung RJ. Identification of two types of ATP-sensitive K⁺ channels in rat ventricular myocytes. *Life Sci*, 2007, 80: 378-387.
- [17] 王保强, 谢德红, 李鹏, 等. 肢体缺血预适应的肝保护作用与一氧化氮/内皮素-1 系统关系的研究. *中国应用生理学杂志*, 2010, 26: 376-379.
- [18] 李淑娟, 吴艳娜, 康毅, 等. 无创性肢体缺血预适应对大鼠心肌梗死/再灌注损伤后心肌凋亡的影响. *中国药理学通报*, 2009, 25: 100-104.
- [19] 栗竞, 王汉斌, 冯全洲, 等. Fas 在缺氧心肌细胞中的表达及其意义. *细胞与分子免疫学杂志*, 2009, 25: 952-954.
- [20] 温凯, 孙尧, 张艳梅, 等. Caspase-3 在慢性心力衰竭大鼠心肌重塑中动态表达及意义. *中国循证心血管医学杂志*, 2009, 1: 96-98.
- [21] Cheng T, Liu D, Griffin JH, et al. Activated protein C blocks p53-mediated apoptosis in ischemic human brain endothelium and is neuroprotective. *Nat Med*, 2003, 9: 338-342.
- [22] Mikami K, Otaka M, Goto T, et al. Induction of a 72-kDa heat shock protein and protection against lipopolysaccharide-induced liver injury in cirrhotic rats. *J Gastroenterol Hepatol*, 2004, 19: 884-890.
- [23] Tupling AR, Bombardier E, Vigna C, et al. Interaction between Hsp70 and the SR Ca²⁺ pump: a potential mechanism for cytoprotection in heart and skeletal muscle. *Appl Physiol Nutr Metab*, 2008, 33: 1023-1032.
- [24] Akao M, Ohler A, O'Rourke B, et al. Mitochondrial ATP-sensitive potassium channels inhibit apoptosis induced by oxidative stress in cardiac cells. *Circ Res*, 2001, 88: 1267-1275.
- [25] Gauthaman K, Banerjee SK, Dinda AK, et al. Terminalia arjuna (Roxb) protects rabbit heart against ischemic-reperfusion injury: role of antioxidant enzymes and heat shock protein. *J Ethnopharmacol*, 2005, 96: 403-409.
- [26] Hausenloy DJ, Mwamure PK, Venugopal V, et al. Effect of remote ischaemic preconditioning on myocardial injury in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: a randomized controlled trial. *Lancet*, 2007, 370: 575-579.
- [27] Cheung MM, Kharbanda RK, Konstantinov IE, et al. Randomized controlled trial of the effects of remote ischemic preconditioning on children undergoing cardiac surgery: first clinical applications in humans. *J Am Coll Cardiol*, 2006, 47: 2277-2282.
- [28] Botker HE, Kharanda 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 randomized trial. *Lancet*, 2010, 375: 727-734.

(收稿日期: 2011-09-30)

(本文编辑: 张岚)

贾魁, 寇俊杰. 远程缺血预适应对心肌保护作用的研究进展[J/CD]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2012, 6(3): 665-667.