

线粒体途径保护心肌缺血再灌注损伤的研究进展

衣绍蕊 综述, 张英杰 审校

(辽宁医学院附属第一医院心内科, 辽宁省锦州市 121001)

[关键词] 线粒体; 缺血再灌注损伤; 心脏代谢

[摘要] 线粒体是细胞能量代谢和细胞内信号传导过程的关键细胞器, 参与多种复杂信号介导的细胞生存和死亡。线粒体功能障碍及由此产生的氧化应激与心肌缺血再灌注损伤密切相关, 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。最近, 线粒体生物学进展启发人们研制作用于线粒体的选择性靶向药物, 保护心肌缺血再灌注损伤。本文就此做一综述。

[中图分类号] R363

[文献标识码] B

Mitochondrial Approaches to Protect Against Cardiac Ischemia and Reperfusion Injury

YI Shao-Rui, and ZHANG Ying-Jie

(Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Liaoning Medical University, Jinzhou, Liaoning 121001, China)

[KEY WORDS] Mitochondria; Ischemia/Reperfusion Injury; Cardiac Metabolism

[ABSTRACT] The mitochondrion is a vital component in cellular energy metabolism and intracellular signaling processes and they are involved in a myriad of complex signaling cascades regulating cell survival vs death. Mitochondrial dysfunction and the resulting oxidative stress are central in the process of I/R injury. Alleviating the mitochondrial dysfunction will contribute to mitigating the severity or progression of the myocardial injury. Recently, advances in mitochondrial biology have led to selective targeting of drugs designed to modulate or manipulate mitochondrial function. This review will provide an overview of the potential role for targeting mitochondria with potential drugs that lead to protect against cell injury.

线粒体广泛存在于胞浆中, 生理条件下, 线粒体是细胞生存的“动力工厂”, 不仅产生大量 ATP, 维持细胞功能, 同时也参与许多细胞过程, 包括细胞分裂, 启动信号传导通路, 调节细胞基质代谢, 调节细胞内 Ca^{2+} 浓度及信号。生理状态下, 线粒体处于细胞代谢和离子稳定状态。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^[1], 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, 导致线粒体通透性转换孔 (mPTP) 开放^[2], 诱导细胞凋亡和坏死。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。最近, 线粒体生物学进展启发人们研制作用于线粒体的选择性靶向药物, 保护心肌缺血再灌注 (I/R) 损伤。本文就此做一综述。

1 线粒体功能和心肌细胞能量代谢

1.1 心肌细胞能量代谢

众所周知, 心肌收缩相和舒张相主要依靠 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 瞬时内流和外流, 产生动作电位并触发肌质网释放 Ca^{2+} 。 Ca^{2+} 浓度周期性升高和降低, 伴随心脏周期性收缩和舒张, 这一过程需要消耗能量。心肌能量代谢主要分为以下三步^[3]: ①基质利用: 细胞基质脂肪酸通过 β 氧化和丙酮酸通过糖酵解作用产生乙酰-CoA, 乙酰-CoA 进入线粒体进行三羧酸循环, 最终产生 NADH、FADH₂ 和二氧化碳。②氧化磷酸化: NADH 所携带的高能电子通过线粒体呼吸链传递给 O_2 , 产生大量的能量。这一过程需要线粒体内膜上的复合体 V 参与。③能量传递和利用: 基质 ATP 通过腺嘌呤核苷酸运载体, 转换成磷酸肌酸, 运输至肌纤维, 在肌纤维又能通过肌酸激

[收稿日期] 2011-12-30

[作者简介] 衣绍蕊, 硕士研究生, E-mail 为 sdyixiaoqing@163.com。通讯作者张英杰, 博士, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为心律失常和心肌缺血再灌注损伤防治, E-mail 为 zhangyingjiejinzhou@126.com。

酶能量穿梭系统转换成 ATP。

1.2 线粒体功能与心肌细胞能量代谢的关系

心肌细胞能量代谢主要是在线粒体中进行的,脂肪酸和葡萄糖氧化生成乙酰-CoA 进入线粒体进行三羧酸循环。当心肌血供正常时,葡萄糖完全氧化需要经过穿梭作用进入线粒体进行氧化磷酸化。这种穿梭作用比较缓慢,限制糖酵解的速率,而脂肪酸氧化比较快^[4],此时心肌能量代谢优选底物为脂肪酸。而当心肌缺血时,线粒体能量代谢优选底物转换为葡萄糖。三羧酸循环主要是将乙酰-CoA 彻底氧化分解,生成 CO₂、H₂O 和还原当量(NADH、FADH₂),还原当量维持质子动力和自由能,促进 ATP 的合成。

2 以线粒体为靶点保护心肌缺血再灌注损伤的可能途径

ATP 是任何细胞代谢过程中最重要的能量源。线粒体是 ATP 合成的主要场所,并在维持细胞内 Ca²⁺ 平衡中起重要作用。线粒体功能异常已经被证实是引起 I/R 损伤的重要机制之一,线粒体异常导致心肌细胞能量代谢障碍,发生心肌细胞凋亡和坏死,所以线粒体作为 I/R 损伤治疗靶点的重要性已经得到共识^[5,6]。下面具体讨论将线粒体作为靶点保护 I/R 损伤的几种可能治疗方法。

2.1 抑制线粒体氧化磷酸化过程

目前大量研究已经证实,缺血再灌注时,线粒体产生大量活性氧和钙超载^[7-9],抑制线粒体呼吸可以降低再灌注时收缩带形成和酶释放,表明再灌注初期恢复线粒体代谢,可产生不良的后果,而再灌注初期限制氧化代谢,用低氧复灌液再灌注,或者抑制电子传递链活动,能显著降低线粒体和心脏损伤^[10]。最近,Burwell 等^[11]从缺血再灌注所致活性氧突然增加和钙超载角度,提出了一个逐渐唤醒线粒体功能保护心肌的概念。即通过阻断电子传递链复合体和糖酵解过程,可逆性抑制代谢过程,缓慢恢复电子传递链中的电子,将减少损伤。

随着对心肌损伤认识的发展,目前有大量针对线粒体的治疗措施,有报道缺血前给予电子传递链复合体 I 可逆性抑制药物如雷诺嗪和抗心绞痛药,能有效预防 I/R 损伤^[12]。其他通过抑制线粒体氧化磷酸化过程保护 I/R 损伤的方法,包括使用 K⁺ 通道受体激动剂和解偶联剂(二硝基苯酚)^[13,14]。最近 Sedlic 等^[14]报道异氟烷,与二硝基苯酚一样,可以通过轻微降低线粒体跨膜电位梯度,从而减少

应激状态下活性氧的产生,使 mPTP 延迟开放来保护心肌细胞。解耦联蛋白在小鼠体内过度表达以及线粒体化学解耦联能显著减少局灶性脑 I/R 梗死面积^[15]。然而,化学解耦联剂(二硝基苯酚)一直因其毒性作用限制其临床应用^[16]。

2.2 调节线粒体三羧酸循环功能

有研究表明,缺血时,糖酵解生成的 ATP 首先激活肌质网 Ca²⁺ ATP 酶和 Na⁺-K⁺-ATP 酶,将 Ca²⁺ 泵入肌质网腔和抑制细胞内 Na⁺ 积聚^[17]。缺血时,氧利用率降低或者缺氧使得葡萄糖代谢由线粒体有氧氧化转变为无氧酵解,随着缺血时间延长会导致乳酸堆积和 NAD⁺ 水平下降。长时间处于厌氧环境下,糖酵解生成乳酸,导致线粒体功能受损,线粒体跨膜电位梯度减低,此时 F₀F₁ATP 合酶通过反馈机制水解 ATP,驱动线粒体内膜内侧的 H⁺ 迁移到膜外侧,线粒体跨膜电位梯度升高,促进 Ca²⁺/H⁺ 交换,使线粒体基质 Ca²⁺ 进一步积累,最终导致细胞永久损伤和形成恶性循环。

目前,缺血时线粒体介导细胞保护的一个新观点是增强线粒体基质底物水平磷酸化,可维持胞质 ATP 水平,形成一个内源性保护机制。线粒体基质中存在 α-酮戊二酸脱氢酶和琥珀酰-CoA 合成酶。琥珀酰-CoA 合成酶经基质底物水平磷酸化能可逆转换琥珀酰-CoA 和 ADP、GDP 与 ATP 或 GTP^[18-20],这可能是缺血时 ATP 的一个来源。当能量缺乏时,通过上述途径产生 ATP,维持细胞离子梯度至关重要,如 Na⁺/K⁺ ATP 酶和钙泵。因此,通过增强线粒体基质底物水平磷酸化产生足够的 ATP,可能挽救缺血细胞。

2.3 清除活性氧

生物氧化过程中,如果电子供给不足,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。另外,脂质过氧化物的分解产物亦能引起细胞损伤。

需氧细胞有几种主要的自我保护机制使机体免受氧自由基的侵害,其中主要是通过酶的作用,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 Cu²⁺、Zn²⁺ 为辅基的 SOD,线粒体中则存在含 Mn²⁺ 的 SOD,二者均能催化超氧离子的氧化与还原,而生成 H₂O₂ 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。

心肌 I/R 损伤可以产生大量的氧自由基,氧自

由基的生成及由它引起的细胞膜脂质过氧化是心肌 I/R 损伤的重要机制之一。因此抗氧化剂治疗便应运而生成为合理的治疗方法^[16]。传统的治疗方法联合抑制线粒体活性氧的产生速度或增加活性氧的清除速度治疗可能会保护心脏 I/R 损伤。据报道,在缺血和再灌注之前给予活性氧清除剂联用(四锰苯甲酸卟啉 + 谷胱甘肽 + 过氧化氢酶)有助于预防线粒体活性氧的产生,从而保护心脏功能^[7]。而再灌注时应用清除活性氧药物白藜芦醇、脂联素及谷氨酰胺,亦能有效预防 I/R 损伤^[21-23]。有研究证实维生素 E, 维生素 C, 辅酶 Q 以及 α -硫辛酸在近期临床试验中已经取得一定的疗效^[16]。人工抗氧化剂如超氧化物歧化酶类似物,可能比天然超氧化物歧化酶更有效,但是它们在临床试验中的疗效尚未被证实。

2.4 调节气体信号分子

目前已证实, NO^- 对心肌 I/R 损伤具有保护作用^[1,16]。近期研究表明气体分子除 NO^- 和 O_2^- 外,还有一氧化碳(CO)和硫化氢(H_2S)气体。作为气体分子第二信使,它们具有某些共同的生物学靶点,如:亚铁血红素蛋白和 K_{ATP} 通道^[24]。生理浓度下,CO 和 H_2S 气体可能有助于防止包括心血管疾病在内的许多病理情况。但在较高的浓度下能对细胞产生有害的影响^[25]。

H_2S 气体与 NO^- 一样,竞争性抑制 O_2 与电子传递链复合体 IV 结合,从而保护 I/R 心肌损伤^[25,26]。目前 H_2S 被公认是一种具有广阔治疗前景的无机介质^[27]。它可以调节心脏内环境稳态和保护心肌细胞。 H_2S 气体可以通过激活心肌细胞膜和线粒体膜 K_{ATP} 通道而发挥保护作用;研究发现 NaHS 或 Na_2S 是外源性 H_2S 的来源,心肌缺血时给予 0.01 ~ 3.00 mg/kg 剂量 NaHS 或 Na_2S 能够增加 I/R 心肌细胞活力,改善心脏功能^[28]。 H_2S 保护心脏的另一个可能的机理是通过清除活性氧,减少 I/R 心律失常^[26]。 H_2S 亦能通过增加抗氧化剂谷胱甘肽的产生抑制氧化应激,从而保护大脑神经元细胞^[29]。 H_2S 作为一种还原剂,能与 H_2O_2 发生反应,清除活性氧^[29]。但是 H_2S 的治疗途径仍不确切,尚需大量研究证实。

与 NO^- 和 H_2S 一样,CO 能与电子传递链复合体 IV 可逆性结合。缺血再灌注时,CO 可能通过竞争性抑制 O_2 与电子传递链复合体 IV 结合,保护心肌细胞。但是由于叠氮化钠和氰化物也能抑制电子传递链复合体 IV,却无心脏保护作用^[30],因此假设抑制电子传递链复合体 IV 无心脏保护作用,那么

推测 CO 除了与电子传递链复合体 IV 结合外,还有其他细胞保护作用。事实上,有报道缺血再灌注时,CO 能增加 ATP 和 GTP 水平,保持心脏缺血时有有效的能量利用^[31],这与再灌注时心脏轻松产能和减少室颤发生率密切相关。此外,CO 可通过储存线粒体 NADH 保护心脏,CO 作用于电子传递链,减少氧化还原作用。线粒体 NADH 升高,耗氧减少,导致总体代谢水平降低,凋亡标记物减少。研究表明亚铁血红素加氧酶-1 过度表达产生内源性 CO,刺激线粒体超氧化物歧化酶并产生 H_2O_2 ,而这反过来将激活信号分子,导致线粒体生物转化^[32],保护心脏。最近试验已经证实 1 ~ 24 小时内急性吸入 CO (10 ~ 1000 ppm)能保护 I/R 损伤^[33]。

最近,氢气因为具有抗氧化和抗凋亡的特点,已经被提出是一个有潜力的治疗剂^[34]。吸入氢气可以迅速到达目标,防止 I/R 损伤^[35]。因此氢气可能成为缓解 I/R 损伤很有发展前景的治疗方法^[35],但是其高度易爆炸性使其使用严重受限。上述研究提供了一个合理可靠的线粒体靶向治疗方法(低浓度气体竞争性抑制氧气与复合体 IV 结合),但是由于应用时间和浓度差异可能会导致不同的效果,因此,其对 I/R 损伤方面的应用有待进一步研究。

3 小结

本文所列的合理改变线粒体功能的方法,包括抑制线粒体氧化磷酸化过程,调节线粒体三羧酸循环功能,清除活性氧,调节气体信号分子等方法已被证明对 I/R 损伤具有保护作用,可以为线粒体作为靶点治疗心血管疾病提供依据。相信随着研究的深入,将会发现对心肌 I/R 损伤更有效可行,具有高度选择性和更少不良反应的治疗方法。

[参考文献]

- [1] Stowe DF, Camara AKS. Mitochondrial reactive oxygen species production in excitable cells: modulators of mitochondrial and cell function[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2009, 11(6): 1 373-396.
- [2] Martin LJ, Adams NA, Ann Price, et al. The mitochondrial permeability transition pore regulates Nitricoxide-mediated apoptosis of neurons induced by target deprivation[J]. *J Neurosci*, 2011, 31(1): 359-370.
- [3] Neubauer S. The failing heart-an engine out of fuel[J]. *N Engl J Med*, 2007, 356(5): 1 140-151.
- [4] Saks V, Dzeja P, Schlattner U, et al. Cardiac system bioenergetics: metabolic basis of the Frank-Starling law[J]. *J Physiol*, 2006, 571(Pt2): 253-273.
- [5] Chen Q, Camara AK, Stowe DF, et al. Modulation of electron

- transport protects cardiac mitochondria and decreases myocardial injury during ischemia and reperfusion[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2007, 292(2): C137-C147.
- [6] 邓胜利, 喻田, 刘兴奎, 等. 缺血再灌注对离体鼠心线粒体心磷脂及心功能的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2009, 19(11): 1 665-668.
- [7] Camara A, Aldakkak M, Heisner JS, et al. ROS scavenging before 27°C ischemia protects hearts and reduces mitochondrial ROS, Ca²⁺ overload, and changes in redox state[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2007, 292(3): C2 021-C2 031.
- [8] Aldakkak M, Stowe DF, Chen Q, et al. Inhibited mitochondrial respiration by amobarbital during cardiac ischaemia improves redox state and reduces matrix Ca²⁺ overload and ROS release[J]. *Cardiovasc Res*, 2008, 77(2): 406-415.
- [9] Aldakkak M, Stowe DF, Heisner JS, et al. Enhanced Na⁺/H⁺ exchange during ischemia and reperfusion impairs mitochondrial bioenergetics and myocardial function [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2008, 52(3): 236-244.
- [10] Serviddio G, Di Venosa N, Federici A, et al. Brief hypoxia before normoxic reperfusion (post-conditioning) protects the heart against ischemia-reperfusion injury by preventing mitochondria peroxide production and glutathione depletion [J]. *FASEB J*, 2005, 19(3): 354-361.
- [11] Burwell LS, Brookes PS. Mitochondria as a target for the cardioprotective effects of nitric oxide in ischemia-reperfusion injury[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2008, 10(2): 579-599.
- [12] Aldakkak M, Heisner JS, Camara AKS, et al. Ranolazine, a late sodium current inhibitor, reduces ischemia-induced superoxide emission and improves functional recovery in guinea pig hearts[J]. *FASEB J Abstract*, 2009, 23(4): 93.
- [13] Aldakkak M, Stowe DF, Cheng Q, et al. Mitochondrial matrix K⁺ flux independent of large conductance Ca²⁺-activated K⁺ channel opening [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2010, 298(3): C530-C541.
- [14] Sedlic F, Sepac A, Pravdic D, et al. Mitochondrial depolarization underlies delay in permeability transition by preconditioning with isoflurane: roles of ROS and Ca²⁺ [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2010, 299(2): C506-C515.
- [15] Duckles SP, Krause DN, Stirone C, et al. Estrogen and mitochondria: a new paradigm for vascular protection? [J]. *Mol Interv*, 2006, 6(5): 26-35.
- [16] Camara A, Lesnfsky E, Stowe D. Potential therapeutic benefits of strategies directed to mitochondria [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2010, 13(3): 279-347.
- [17] Beadle RM, Frenneaux M. Modification of myocardial substrate utilisation: a new therapeutic paradigm in cardiovascular disease [J]. *Heart*, 2010, 96(22): 824-830.
- [18] Phillips D, Aponte AM, French SA, et al. Succinyl-CoA synthetase is a phosphate target for the activation of mitochondrial metabolism[J]. *Biochemistry*, 2009, 48(30): 7 140-149.
- [19] Camara A, Aldakkak M, Stowe D. "Mitochondria as potential therapeutic targets in mitochondria-related diseases," in *Mitochondrial structure, function and dysfunction*, ed [J]. OL Svensson (Milwaukee: Nova Science), 2010, 22(3): 471-552.
- [20] Kibbey RG, Pongratz RL, Romanelli AJ, et al. Mitochondrial GTP regulates glucose-stimulated insulin secretion [J]. *Cell Metab*, 2007, 5(4): 253-264.
- [21] 毕旭东, 孙清森, 赵晶. 白藜芦醇预处理对大鼠肝脏热缺血再灌注的保护作用[J]. *中国现代医学杂志*, 2010, 20(20): 3 088-092.
- [22] 陈军, 边云飞, 郝小燕, 等. 不同浓度脂联素通过减轻氧化应激损伤保护缺血再灌注心肌[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2010, 18(11): 857-860.
- [23] 马欣, 李玉成. 谷氨酰胺与心肌缺血再灌注损伤[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2007, 15(11): 873-875.
- [24] Burwell LS, Nadtochiy SM, Brookes PS. Cardioprotection by metabolic shut-down and gradual wake-up [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2009, 46(8): 804-810.
- [25] Lefer DJ. A new gaseous signaling molecule emerges; cardioprotective role of hydrogen sulfide[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(46): 17 907-908.
- [26] Bian JS, Yong QC, Pan TT, et al. Role of hydrogen sulfide in the cardioprotection caused by ischemic preconditioning in the rat heart and cardiac myocytes[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 316(2): 670-678.
- [27] Baumgart K, Georgieff M, Radermacher P, et al. Cardioprotection by hydrogen sulfide: suspended animation, inflammation, and apoptosis[J]. *Shock*, 2009, 31(5): 218-219.
- [28] John W, William A, David J. Novel insights into hydrogen sulfide-mediated cytoprotection [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2009, 12(10): 1 203-217.
- [29] Kimura Y, Kimura H. Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative stress[J]. *FASEB J*, 2004, 18(10): 1 165-167.
- [30] Chen Q, Yin G, Stewart S, et al. Isolating the segment of the mitochondrial electron transport chain responsible for mitochondrial damage during cardiac ischemia[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 397(4): 656-660.
- [31] Lavitrano M, Smolenski RT, Musumeci A, et al. Carbon monoxide improves cardiac energetics and safe guards the heart during reperfusion after cardiopulmonary bypass in pigs[J]. *FASEB J*, 2004, 18(12): 1 093-095.
- [32] Piantadosi CA, Carraway MS, Babiker A, et al. Heme oxygenase-1 regulates cardiac mitochondrial biogenesis via Nrf2⁻ mediated transcriptional control of nuclear respiratory factor-1[J]. *Circ Res*, 2008, 103(11): 1 232-240.
- [33] Inge Bauer, Benedikt HJ. Bench-to bedside review: Carbon monoxide—from mitochondrial poisoning to therapeutic use [J]. *Crit Care*, 2009, 13(4): 220.
- [34] Wood KC, Gladwin MT. The hydrogen highway to reperfusion therapy[J]. *Nat Med*, 2007, 13(8): 673-674.
- [35] Hayashida K, Sano M, Ohsawa I, et al. Inhalation of hydrogen gas reduces infarct size in the rat model of myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 373(6): 30-35.