

缺血预适应的血管内皮保护作用及机制

周伏文 李元建

(湖南医科大学药理学教研室, 长沙 410078)

主题词 缺血再灌注: 缺血预适应: 血管内皮: 心肌保护: 蛋白激酶 C: 降钙素基因相关肽

摘要 缺血预适应能显著地减轻缺血再灌注等因素所致冠状动脉内皮、外周血管内皮和培养的内皮细胞损伤。缺血预适应的血管内皮保护可能是其保护缺血心肌的重要机制之一。缺血预适应的血管内皮保护机制是通过释放内源性血管活性物质所介导。

Murry 等首次报道结扎犬冠状动脉的前降支以产生短暂的心肌缺血后紧跟随一个长时间缺血, 不仅没有产生“累积性”缺血损伤, 反而能改善心肌能量代谢, 减少心肌梗死面积, 作者将此现象称为缺血预适应 (ischemic preconditioning)。缺血预适应在不同种属 (大鼠、兔、猪及豚鼠等) 和临床患者中得到了证实^[1,2]。缺血预适应的机制尚未完全明了。新近的研究表明, 缺血预适应保护冠状动脉内皮可能是其保护缺血心肌的重要机制之一^[3,4]。本文简要综述缺血预适应的血管内皮保护作用及其机制。

1 血管内皮与心肌缺血再灌注损伤

血管内皮细胞具有多种功能, 除作为机械屏障及灭活化学递质外, 还能分泌多种血管活性物质, 如调节局部血管张力的舒血管因子 (内皮源性松弛因子和前列环素) 与缩血管因子 (内皮素-1 和血栓素), 影响血液的流动性和血小板粘连的纤维连结素、胶原、冯维勒布兰德氏因子 (vWF)、表达组织因子、分泌因子 V 及纤维蛋白酶原抑制物。冠状动脉内皮在调节冠状动脉血流保护心脏中起重要作用。当冠状动脉内皮损伤时, 某些有关物质如前列腺素 I₂、内皮细胞衍生舒张因子、组织纤维蛋白溶解酶原激活剂、蛋白质 S、血栓调制素和肝素样物质生成分泌减少, 而另一些物质如内皮素-1 和血栓素等生成释放增加, 并可加剧缺血心肌损伤。

缺血再灌注所致血管内皮损伤见于不同组织 (心脏和心外组织) 和不同模型 (在体和离体心脏)。缺血再灌注损伤可累及冠状动脉内皮系统包括微动脉、小动脉和大动脉^[5]。缺血再灌注显著削弱血管内皮依赖性舒张反应, 这种内皮功能异常可发生在较短时间缺血后的再灌注。有研究证明, 在犬冠状动脉闭塞 15 min 后再灌注 3 h 就显示出内皮依赖性舒张功能减弱。血管内皮功能受损与一氧化氮、前列腺素 I₂ 释放减少有关。血管内皮损伤时, 血管对缩血管物质反应性增强, 这与内皮素-1 和血栓素释放增加有关。急性心肌缺血动物和临床患者血浆中内皮素浓度显著升高, 这可能与缺血再灌注时内皮素基因的表达增高有关。内皮素是一强效缩血管物质, 在体与离体心脏均已证明内皮素可致心肌损伤^[6]。缺血再灌注时内源性内皮素积聚可导致心肌梗死范围的扩大。

缺血再灌注时内皮细胞损伤的形态学表现为微血管内细胞肿胀加重和胞浆形成突起物伸向管腔, 内皮网扩张成大小不一的空泡, 引起管腔变窄甚至阻塞。加之血小板、白细胞聚集及纤维蛋白的沉积, 从而促进血栓形成和管腔阻塞。因此, 即使心肌恢复再灌注后, 仍可因部分心内膜下不能得到血液供应, 出现“无再灌注”现象。

心肌缺血再灌注损伤涉及到一系列细胞和分子变化过程, 此过程中两个关键阶段是早期冠状动脉内皮细胞损伤及其后所引发的中性粒细胞积聚。缺血再灌注早期激活嗜中性粒细胞和嘌呤氧化酶等使自由基产生增加; 另一方面消除氧自由基酶类的 (超氧化物歧化酶和触酶) 活性降低, 导致氧自由基堆积。氧自由基能灭活一氧化氮, 并能攻击膜脂质进一步损伤内皮细胞而减少一氧化氮生成。有资料表明, NO 除了调节血管张力外, 还具有抑制血小板和白细胞粘附、抗氧化及保护缺血心肌等作用。缺血再灌注抑制血管内皮生成释放一氧化氮, 因而易导致心肌损伤^[7]。第二阶段是中性粒细胞与损伤内皮细胞相互作用, 产生粘附、积聚及穿内皮细胞的游走, 释放某些介质, 加剧缺血心肌的损害。

2 血管内皮与缺血预适应心肌保护

缺血预适应能显著减轻缺血再灌注引起的血管内皮损伤, 表现为改善血管内皮依赖性舒张功能。国外几个实验室分别在不同动物模型 (离体大鼠心脏低灌缺血再灌或在体大鼠、猪及犬心结扎冠状动脉) 均已证明缺血预适应显著改善受损血管对乙酰胆碱诱导的内皮依赖性舒张反应^[8,9]。我们和其它学者也证明心外组织 (如肾、后肢) 缺血预适应也能保护血管内皮, 改善内皮依赖性舒张^[10,11]。Zhou 等^[3]在培养的牛冠状动脉内皮细胞实验中证明, 低氧诱导预适应能减少细胞内酶的释放。腺苷或降钙素基因相关肽替代缺血应激也能产生缺血预适应样血管内皮保护作用^[3,11,12]。

正如上述, 在心肌缺血再灌注中, 冠状动脉内皮损伤是促进缺血心肌损伤的重要因素, 人们推测缺血预适应的血管内皮保护可能是其保护缺血心肌的机制之一^[3,4]。早期的研究证明, 麻醉犬缺血预适应的抗心律失常作用可被亚硝基精氨酸甲酯 (一氧化氮合酶抑制剂) 或亚甲蓝 (鸟苷酸环化酶抑制剂) 所取消^[13,14]。一氧化氮供体 (硝酸甘油) 诱导预适应降

低再灌注心律失常的发生率,促进心功能恢复和减少肌酸激酶释放^[15,16]。最近,我们在离体大鼠心脏证明,缺血预适应改善心功能和减少肌酸激酶释放与保护冠状动脉内皮密切相关^[12]。

缺血预适应表现为早期心脏保护(数分钟内出现,持续 2~3 h)和延迟心脏保护(24 h 重现保护作用,持续数天)。缺血预适应不仅可触发上述早期内皮保护作用,也能诱导延迟内皮保护^[17]。Kaeffer 等^[18]证明缺血预适应(冠状动脉缺血 5 min,再灌 5 min,重复三次)诱导延迟内皮保护,其作用可持续 1 月。

3 缺血预适应血管内皮保护的机制

目前,大多数学者认为缺血预适应早期心脏保护与心脏释放内源性心肌保护物质有关,并已证明腺苷、儿茶酚胺、缓激肽、一氧化氮和降钙素基因相关肽等内源性活性物质参与缺血预适应的心肌保护^[19-21]。缺血预适应的内皮保护作用也可能是通过内源性活性物质所介导^[3]。一氧化氮合酶抑制剂或鸟苷酸环化酶抑制剂能取消预适应的保护作用,这提示内源性一氧化氮参与缺血预适应的调节^[22]。支持一氧化氮介导缺血预适应的另一证据是硝酸甘油(一氧化氮供体)诱导预适应产生缺血预适应样的心脏保护^[15,16]。腺苷可能是缺血预适应内皮保护的另—重要调节物。在离体心脏,缺血预适应的血管内皮保护作用可被腺苷受体拮抗剂 8-苯基茶碱完全阻断^[23]。在培养的内皮细胞,缺氧诱导预适应能显著升高细胞中腺苷含量,并已证明其介导预适应内皮保护作用为腺苷 A₂ 受体^[3]。在大鼠后肢,缺血预适应的内皮保护可能与内源性阿片样肽释放有关,因为阿片受体拮抗剂纳络酮能取消其保护作用^[24]。

降钙素基因相关肽是辣椒素敏感的感觉神经主要递质,广泛分布于心血管组织。降钙素基因相关肽具有广泛复杂的心血管作用,除了强效扩血管作用外,对组织细胞(包括血管内皮细胞)具有保护作用^[25]。我们实验室和其他研究者均已证明降钙素基因相关肽在大鼠心肌缺血预适应心肌保护中起重要作用^[21,26,27]。基于降钙素基因相关肽对内皮细胞直接保护作用以及介导缺血预适应能显著增加缺血心脏的冠状动脉流量,因而推测降钙素基因相关肽介导缺血预适应可能与保护血管内皮有关。在大鼠后肢,缺血预适应能阻止长时间缺血对乙酰胆碱舒血管效应的抑制作用,这种保护作用可被反复应用辣椒素耗竭降钙素基因相关肽释放所取消。急性应用辣椒素促进内源性降钙素基因相关肽释放或外源性应用降钙素基因相关肽均可产生缺血预适应样的血管内皮保护作用^[11]。在体动物急性应用辣椒素促进降钙素基因相关肽释放或在离体血管预先用降钙素基因相关肽处理均能减轻溶血性磷脂酰胆碱所致内皮损伤^[28,29]。在离体心脏,缺血预适应改善长时间缺血再灌注时冠状动脉对乙酰胆碱诱导的内皮依赖性舒张,该作用可被预先应用辣椒素耗竭降钙素基因相关肽所取消^[12]。这些结果提示,缺血预适应内皮保护与促进内源性降钙素基因相关肽释放有关。

预适应的延迟内皮保护机制尚未完全阐明。Chen 等^[30]

在离体血管与培养的内皮细胞证明,血管紧张素转化酶抑制剂抗氧自由基损伤内皮细胞是通过诱导一氧化氮生成。Yoshida 等^[31]证明,单磷脂 A(一种无毒性内毒素衍生物)诱导延迟保护作用也与增加诱导型一氧化氮合酶活化及一氧化氮生成有关。缺血预适应能促进血管内皮生长因子 mRNA 的表达,血管内皮生长因子是一氧化氮释放的强效激动剂,能有效增加侧枝循环血流,并促进侧枝血管生长,增加梗死区小冠状动脉血供,改善缺血心肌供血,促进缺血心肌功能恢复,保护心肌^[32]。最近,有学者证明,外源给予一氧化氮供体可直接诱导延迟保护作用^[33]。这些资料直接或间接地支持内源性活性物质参与调节缺血预适应的延迟内皮保护。

内源性心肌保护物质介导缺血预适应早期保护是通过激活细胞内信息传导途径而发挥作用。蛋白激酶 C 是缺血预适应细胞内传导的重要途径。缺血或药理性预适应时,心肌组织蛋白激酶 C 活性增加,其抑制剂能取消缺血预适应的早期保护作用,其激动剂 CGS-21680 或 PMA 能模拟缺血预适应^[3,34]。有实验证明,降钙素基因相关肽诱导预适应对离体大鼠胸主动脉血管内皮的保护作用可被激活蛋白激酶 C 抑制剂 H-7 所取消,提示在胸主动脉降钙素基因相关肽的血管内皮保护作用与激活蛋白激酶 C 有关^[29]。KATP 阻断剂优降糖能减弱低氧或腺苷引起离体冠状动脉舒张,也能取消缺血预适应对冠状动脉内皮依赖性舒张功能的保护作用。这些结果提示腺苷介导缺血预适应的冠状动脉内皮保护与激活 ATP 敏感钾通道有关^[35]。

预适应的延迟内皮保护作用可能是内源性活性物质诱导热休克蛋白和抗氧化酶的表达所介导。文献[36~38]报道,缺血、高温或药理性预适应诱导的延迟心肌保护与增加热休克蛋白和抗氧化酶的表达有关,这已在在体心脏和培养的心肌细胞所证实。缺血预适应的延迟内皮保护作用是否通过内源性血管活性物质诱导热休克蛋白和抗氧化酶的表达所介导,尚未见到文献。但有学者证明,在兔胸主动脉离体血管环和培养的牛肺动脉内皮细胞模型中,血管紧张素转化酶抑制剂抗氧自由基损伤内皮细胞的延迟保护作用通过减少缓激肽的降解,进一步激活蛋白激酶 C,增加一氧化氮合酶活性,产生一定量一氧化氮,诱导热休克蛋白的表达而发挥效应^[30]。

新近研究表明,核因子- κ B(NF- κ B)在心肌缺血预适应的延迟保护效应中起重要作用,缺血预适应诱导的 NF- κ B 表达可被一氧化氮合酶抑制剂及蛋白激酶 C 抑制剂所取消^[39]。预适应的延迟内皮保护是否通过 NF- κ B 所调节,尚待研究。

4 结束语

血管内皮细胞能分泌多种血管活性物质包括自分泌、旁分泌和内分泌物质,它在调节局部血管张力保持正常血液循环中起重要作用。“内皮细胞功能不全”是缺血性心脏病等多种心血管疾病发生发展的病理基础。随着血管与内皮细胞迅速发展而形成的一门新学科——内皮细胞药理学。保护血管内皮或调节内皮细胞功能是防治心血管疾病的重要

途径。动物实验证明,血管紧张素转化酶抑制剂防治缺血性心脏病与保护血管内皮密切相关^[40]。临床应用左旋精氨酸(一氧化氮前体物)防治缺血性心脏病和高血压。获得肯定的疗效。缺血预适应的血管内皮保护为心血管疾病的防治提供了一种新的措施。

研究缺血预适应的血管内皮保护(早期或延迟)另一重要意义是为探讨缺血预适应心肌保护的机制提供了新思路。目前研究报道缺血预适应的血管内皮保护作用多在不同实验模型证实其作用,而对其保护作用的机制报道较少。缺血预适应内皮细胞保护的细胞内信号传导途径尚未完全清楚,内皮细胞对心肌细胞保护的调节作用也尚未阐明,这些都是需要研究的问题。

参考文献

- Yellon DM, Alkhalafi AM, Browne EE, et al. Ischemic preconditioning limits infarct size in the rat heart. *Cardiovasc Res*, 1992, **26**: 983 - 987
- Margolina AA. Effect of ischemic preconditioning on myocardial metabolism in patients with critical coronary artery stenosis. *Eur Heart J*, 1996, **17** (Abs suppl1): 101- 106
- Zhou X, Zhai X, Ashraf M. Preconditioning of bovine endothelial cells the protective effect is mediated by an adenosine A2 receptor through a protein kinase C signaling pathway. *Circ Res*, 1996, **78**: 73 - 81
- Losano G, Gattullo D, Pagliaro P. Myocardial, general and vascular aspects of ischemic preconditioning. *Life Sci*, 1996, **59**: 1 185 - 192
- Sobey CG, Woodman OL. Myocardial ischemia: what happens to the coronary arteries? *Trends Pharmacol Sci*, 1993, **14**: 448 - 453
- Han H, Neubauer S, Barbara B, et al. Endothelin-1 contributes to ischemia/reperfusion injury in isolated heart-attenuation of ischemic injury by the endothelin-1 antagonists BQ 123 and BQ 610. *J Mol Cell Cardiol*, 1995, **27**: 761 - 766
- Hansen PR, Stawski G. Neutrophil mediation damage to isolated myocytes after anoxia and reoxygenation. *Cardiovasc Res*, 1994, **28**: 565 - 569
- De Fily DV, Chilian WM. Preconditioning protects coronary arteriolar endothelium from ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol*, 1993, **265**: H700 - 706
- Richard V, Kaeffer N, Tron C, et al. Ischemic preconditioning protects against coronary endothelial dysfunction induced by ischemia and reperfusion. *Circulation*, 1994, **89**: 1 254 - 261
- Loke KE, Woodman OL. Effect of ischemic preconditioning on vascular dysfunction induced by ischemia and reperfusion in rat hindquarters. *Cardiovasc Res*, 1996, **32**: 1 081- 087
- Zhou FW, Li YJ, Deng HW. Mediation of calcitonin gene-related peptide in protection of ischemic preconditioning in rat hindlimbs. *Acta Pharmacol Sin*, 1998, **19**: 477 - 480
- Zhou FW, Li YJ, Rong Lu, et al. Protection of calcitonin gene-related peptide-mediated preconditioning against coronary endothelial dysfunction induced by reperfusion in the isolated rat heart. *Life Sci*, 1999, **64**: 1 091 - 097
- Yao Z, Gross GJ. Role of nitric oxide, muscarinic receptors, and the ATP-sensitive K⁺ channel in mediating the effect of acetylcholine to mimic preconditioning in dogs. *Circ Res*, 1993, **73**: 1 193 - 201
- Vegh A, Papp IJ, Szekeres I, et al. The local intracoronary administration of methylene blue prevents the pronounced antiarrhythmic effect of ischemia reperfusion. *Br J Pharmacol*, 1992, **107**: 910 - 911
- Hu CP, Li YJ, Deng HW. The cardioprotective effects of nitroglycerin-induced preconditioning are mediated by calcitonin gene-related peptide in isolated rat hearts. *Eur J Pharmacol*, 1999, **369**: 189 - 194
- Bilinska M, Maczewski M, Bereswicz A. Donors of nitric oxide mimics effects of ischemic preconditioning on reperfusion induced arrhythmias in isolated rat heart. *Mol Cell Biochem*, 1996, **160/161**: 265 - 271
- Kaeffer N, Richard V, Blanc T, et al. Delayed coronary endothelial protection 24 hours after preconditioning: role of free radicals. *Circulation*, 1997, **96**: 2 311 - 316
- Kaeffer N, Richard V, Francois A, et al. Preconditioning prevents chronic reperfusion-induced coronary endothelial dysfunction in rats. *Am J Physiol*, 1996, **271**: H842 - 849
- Parratt JR. Protection of the heart by ischemic preconditioning: mechanisms and possibilities for pharmacological exploitation. *Trend Pharmacol Sci*, 1994, **15**: 19 - 25
- Parratt J. Endogenous myocardial protective (antiarrhythmic) substance. *Cardiovasc Res*, 1993, **27**: 693 - 702
- Li YJ, Xiao ZS, Peng CF, et al. Calcitonin gene-related peptide-induced preconditioning protects against ischemia-reperfusion injury in isolated rat hearts. *Eur J Pharmacol*, 1996, **311**: 163 - 167
- Richard V, Blanc T, Kaeffer N, et al. Myocardial and coronary endothelial protective effects of acetylcholine after myocardial ischemia and reperfusion in rats: role of nitric oxide. *Br J Pharmacol*, 1995, **115**: 1 532 - 538
- Bouchard JF, Lamontagne D. Mechanisms of protection afforded by preconditioning to endothelial function against ischemic injury. *Am J Physiol*, 1996, **271**: H1 801 - 806
- Zhou FW, Li YJ, Deng HW. Protection of ischemic preconditioning mediated by endogenous opioid peptides in the rat hindquarters. *Chinese J Pharmacol Toxicol*, 1998, **12**: 249 - 252
- Li YJ, Li YJ, Peng CF, et al. Calcitonin gene-related peptide protects against endothelial cell damage due to oxidized low-density lipoprotein. *Med Sci Res*, 1995, **23**: 253- 254
- Ferdinandy P, Csont T, Csonka C, et al. Capsaicin-sensitive local sensory innervation is involved in pacing-induced preconditioning in rat hearts: role of nitric oxide and CGRP? *Naunyn - Schmiedeberg Arch Pharmacol*, 1997, **356**: 356 - 363
- 欧阳伟, 钱学强, 李志梁, 等. 内源性降钙素基因相关肽在整体大鼠心肌缺血预适应中的作用. *中国动脉硬化杂志*, 1999, **7**: 24 - 26
- Tang YH, Lu R, Li YJ, et al. Protection by capsaicin against attenuated endothelium-dependent vasorelaxation due to lysophosphatidylcholine. *Naunyn - Schmiedeberg Arch Pharmacol*, 1997, **356**: 364 - 367
- Tang YH, Lu R, Li YJ, et al. Protective effect of calcitonin gene-related peptide-induced preconditioning on attenuated endothelium-dependent vasorelaxation due to lysophosphatidylcholine. *Acta Phar-*

- macol Sin*, 1997, **18**: 405 - 407
- 30 Chen X, Liu SK. Ramipril induces delayed endothelial preconditions against free radical injury via heat shock protein synthesis. *J Mol Cell Cardiol*, 1998, **27**: A156
- 31 Yoshida KI, Maaieh MM, Shipley JB, et al. Monophosphoryl lipid A induces pharmacologic 'preconditioning' in the rabbit hearts without concomitant expression of 70 kDa heat shock protein. *Mol Cell Biochem*, 1996, **159**: 73 - 80
- 32 Tofukuji M, Metais C, Li JY, et al. Effects of ischemic preconditioning on myocardial perfusion, function and microvascular regulation. *Circulation*, 1998, **98**: 197 - 205
- 33 Takano H, Manchikalapudi M, Tang XL, et al. Nitric oxide synthase is the mediator of delay preconditioning against myocardial infarction in conscious rabbits. *Circulation*, 1998, **98**: 441 - 449
- 34 Ytrehus, Liu Y, Downey JM. Preconditioning protects ischemic rabbit heart by protein kinase C activation. *Am J Physiol*, 1994, **266**: H1145 - 152
- 35 Gross GJ, Auchampach JA. Blockage of ATP-sensitive potassium channels prevents myocardial preconditioning in dogs. *Circ Res*, 1992, **70**: 223 - 233
- 36 Yellon DM, Baxter GF, Garcia- Dorado D, et al. Ischemic preconditioning: present position and future directions. *Cardiovasc Res*, 1998, **37**: 21 - 33
- 37 Benjamin IJ, Mc Millan DR. Stress (heat shock) proteins molecular chaperones in cardiovascular biology and disease. *Circ Res*, 1998, **83**: 117 - 132
- 38 Jin Z Q, Chen X. Ramipril- induced delayed myocardial protection against free radical injury involves bradykinin B2 receptor- no pathway and protein synthesis. *Br J Pharmacol*. 1998. **125**: 556- 562
- 39 Xuan YJ, Tang XL, Banerjee S, et al. Nuclear factor- κ B plays an essential role in the late phase of ischemic preconditioning in conscious rabbits. *Circ Res*, 1999, **84**: 1095 - 109
- 40 Kitakaze M, Minamino T, Node K, et al. Beneficial effects of inhibition angiotension- converting enzyme on ischemic myocardium during hypertension. *Circulation*, 1995, **92**: 950 - 961
- (此文 1999- 06- 03 收到, 1999- 10- 22 修回)
- (此文编辑 文玉珊)