

[文章编号] 1007-3949(2004)12-02-0243-03

·文献综述·

Na⁺-H⁺ 交换抑制剂对心肌缺血再灌注损伤的保护作用

钟承华 综述, 黄达德 审校

(广州医学院附属市第一人民医院心胸外科, 广东省广州市 510120)

[关键词] 病理学与病理生理学; Na⁺-H⁺ 交换抑制剂对心肌的保护作用; 综述; 心肌缺血; 再灌注损伤

[摘要] Na⁺-H⁺ 交换体的研究表明, 心肌缺血时, 细胞酸中毒, 致细胞内 pH 值下降, 激活了 Na⁺-H⁺ 交换体, 促进 Na⁺-H⁺ 交换, 细胞内 Na⁺ 浓度升高, 最终导致细胞内 Ca²⁺ 超负荷, 造成细胞损伤。Na⁺-H⁺ 交换抑制剂可通过抑制 Na⁺-H⁺ 交换, 防止细胞内 Ca²⁺ 超负荷及其他相关作用, 对心肌缺血再灌注损伤起保护作用。从最初的阿米洛利到 3-甲磺酰苯甲酰胍-4-甲磺酸异丙酯等一系列药物的实验研究和临床试验, 有可能为心脏外科心肌保护和缺血性心脏病的治疗提供新的方法。

[中图分类号] R36

[文献标识码] A

在对心肌缺血再灌注损伤保护研究中, 发现心肌在缺血再灌注损伤时可激活 Na⁺-H⁺ 交换体(sodium hydrogen exchange, NHE), 进而引起 Na⁺-Ca²⁺ 交换, 致细胞内 Ca²⁺ 超负荷, 造成心肌细胞损伤。根据这种病理生理基础研究提示, Na⁺-H⁺ 交换抑制剂(sodium hydrogen exchange inhibitor, NHEI) 在心肌保护的研究中引起了重视, 有可能为防止心肌细胞损伤提供了新的治疗方法。

1 心肌缺血再灌注损伤与 Na⁺-H⁺ 交换体

目前认为, 心肌缺血能使心肌细胞内能量代谢发生障碍, 三磷酸腺苷生成显著减少, 同时无氧酵解增加, 糖酵解和三磷酸腺苷分解过程都会产生大量的 H⁺。缺血后再灌注能将心肌细胞外聚集的酸性代谢产物转运, 使心肌细胞内外 H⁺ 浓度差增大, 称为 pH 反常。此时细胞内 H⁺ 增多, 从而激活细胞膜 NHE 系统, 引起细胞内 Na⁺ 升高, 排出过多的 H⁺, 使细胞内 pH 值恢复。同时因代谢失调, 三磷酸腺苷供应减少, Na⁺-K⁺ ATP 酶活性受抑制, 不能将细胞内增多的 Na⁺ 及时排出, Na⁺ 过高启动 Na⁺-Ca²⁺ 交换, 致细胞内 Ca²⁺ 超负荷。Ca²⁺ 超负荷促使线粒体钙增加, 并与无机磷酸根结合成钙盐沉积, 使细胞内呼吸链功能受损, 三磷酸腺苷进一步减少, 使胞内 Na⁺、Ca²⁺ 排出障碍, 形成恶性循环, 加速心肌细胞死亡。同时线粒体受损使氧化酶活性降低致使单电子还原增多, 氧自由基增加, 致膜脂质过氧化, 促进损伤进一步发展。上述病理机制导致心功能障碍、氧化磷酸化功能受损、心肌氧利用能力下降、离子转运障碍和细胞损伤, 从而引起心肌挛缩、心律失常、心肌顿抑, 甚至细胞凋亡和死亡^[1]。

Na⁺-H⁺ 交换体存在于所有真核细胞中, 是调节细胞内 pH 的重要跨膜蛋白。NHE 以胞内 1 个 H⁺, 胞外 1 个 Na⁺ 进行等分子比例的跨膜交换, 从而排出胞内 H⁺, 并导致胞内 Na⁺ 升高, 而由 Na⁺-K⁺ ATP 酶维持正常 Na⁺ 梯度, 因此 NHE

需要 Na⁺-K⁺ ATP 酶提供能量来维持。在人类及脊椎动物细胞目前发现有 6 种亚型, 分别为 NHE-1~6, 分布广泛。NHE-1~4 主要分布于细胞膜上, NHE-6 主要存在线粒体膜上。人类心肌组织中只发现 NHE-1 和 NHE-6, 以 NHE-1 最重要。1989 年首次克隆出人类的 NHE-1 cDNA。1990 年确定其全长为 5 kb, 开放阅读框长为 2 445 bp。在人基因组中, NHE-1 基因全长跨越 70 kb, 定位在染色体的 1p35-36。NHE-1 基因由 12 个外显子及 11 个内含子组成, 其中的一个内含子长达 41.5 kb。该基因 5' 侧翼区的转录调控序列长为 1 377 bp, 包含多个复杂的顺式调控元件^[2]。

根据 NHE-1 cDNA 序列演绎的氨基酸序列及疏水性分析, NHE-1 具有 815 个氨基酸, 分子质量为 100 kDa, 其在胞膜上具有拓扑学结构分布, 该蛋白质在分子结构上具有 2 个功能域: 约 500 个氨基酸组成的 N 端疏水区域和 300 个氨基酸组成的 C 端亲水区域。N 端约 10 余个氨基酸向胞外延伸, 其余氨基酸嵌合于胞膜上形成 10~12 个分布节段。N 端功能域是 NHE-1 介导细胞 Na⁺-H⁺ 交换的必要条件, 即当 NHE-1 的胞内区域缺失突变, 仅存在 N 端功能域时仍可进行 Na⁺-H⁺ 交换, 该 N 端功能域缺失则丧失交换活性。C 端功能域位于细胞浆内, 该功能域决定 NHE-1 进行 Na⁺-H⁺ 交换的 pH 调定点, 其调定点在 pH=7.1~7.2。C 端功能域的另一作用是介导生长因子、有丝分裂原、肿瘤促发因子(如佛波酯)及激素等信号刺激对 NHE-1 的激活调节, 其结果是增加 C 端对 H⁺ 的亲和性或感受性, 从而提高细胞内 pH 调定点。NHE-1 的磷酸化反应则是其激活调节的重要方式之一。另一个激活调节方式则与钙调蛋白有关^[3]。

现阶段心肌保护方法多样, 如缺血预适应能减少心肌坏死的范围^[4]。目前大多数研究认为, NHEI 可抑制 Na⁺-H⁺ 交换引起的病理生理过程, 避免细胞内钙堆积, 延缓缺血再灌注后细胞内酸性环境的恢复, 维持细胞内钠、钙环境的稳定, 从而减轻心肌细胞水肿, 减少心肌细胞凋亡, 防止心肌坏死的发生, 起到心肌保护作用, 特别是具有选择性的 NHE-1 抑制剂更具研究前景。

[收稿日期] 2003-06-26 [修回日期] 2003-12-15

[作者简介] 钟承华, 硕士研究生, 专业方向为心肌保护; 联系电话为 020-81348278。黄达德, 主任医师, 硕士研究生导师, 从事心脏外科的临床研究。

2 Na⁺-H⁺ 交换抑制剂的研究

Na⁺-H⁺ 交换抑制剂通过抑制 Na⁺-H⁺ 交换, 避免过多 Na⁺ 进入细胞内, 进而使 Na⁺-Ca²⁺ 交换减少, 防止 Ca²⁺ 过度增加引起细胞挛缩, 坏死。这是此类药物的最主要作用机制。NHEI 还通过抑制 Na⁺-H⁺ 交换, 减少细胞内的 Na⁺ 浓度, 使渗透压下降, 防止水分进入细胞内, 因此能防止或减轻缺血后微血管内皮细胞肿胀, 防止细胞坏死。NHEI 还可减少某些物质对心肌的毒性作用: NHEI 能有效逆转外源性的乳酸对缺血再灌注后心肌的损伤, 明显减轻低浓度溶血性卵磷脂的心肌抑制作用, 预防过氧化氢对心脏的毒性作用。NHEI 与其他药物合用还可起到协同保护作用, NHEI 与羟氧自由基清除剂或吸入性麻醉药合用可加强心肌保护作用, NHEI 还能加强心脏停搏液对缺血心肌的保护作用。

2.1 阿米洛利

阿米洛利(amiloride) 是一种保钾利尿药, 是最早被研究的 NHEI, 除了抑制 NHE 系统外, 还可抑制 Na⁺-Ca²⁺ 交换, 是一种弱效的非特异性 NHEI。有人研究认为^[5], 阿米洛利能保护心肌缺血再灌注损伤, 有抗心律失常、抑制血小板聚集和抑制大鼠的左室重构作用。阿米洛利的衍生物如二甲基阿米洛利, 能抑制再灌注心肌细胞膜上 NHE, 对心肌有一定保护作用, 并在一定范围内随剂量增大其心肌保护作用增强。但该抑制剂有负性肌力作用, 特别是长期、大量使用时药物耐受性差^[6]。

2.2 苯甲酰胺类化合物

3-甲磺酰-4-哌啶基苯甲酰胺甲磺酸盐是一种甲磺酸苯甲酰胺化合物, 是一种 NHE-1 特异性抑制剂, 不作用于 Na⁺-Ca²⁺ 通道, 抗心肌缺血再灌注损伤优于阿米洛利及其衍生物。动物实验表明, 它有短期的心肌保护作用, 但长期使用易致肾功能不全和全身过敏反应。3-甲磺酰苯甲酰胺-4-甲磺酸异丙酯(4-isopropyl-3-methylsulphonylbenzoyl guanidine methanesulphonate, cariporide, HOE-642) 是 3-甲磺酰-4-哌啶基苯甲酰胺甲磺酸盐的同类异构体, 其特异性比它强 4 倍, 有较好的生物利用度。对灌注心肌有保护和抗心律失常作用, 特别是减少缺血再灌注室颤动明显。实验证明在猪左旋动脉闭塞再灌注中用心包探针监测心肌电变化, 发现其保护机制可能为抑制了早期短暂的动作电位, 使折返消失^[7]。Portman 等研究^[8] 认为, HOE-642 于缺血时使用能提高心脏舒张功能, 虽不能提高三磷酸腺苷的浓度但对磷酸有保护作用。HOE-642 联合 K⁺-Mg²⁺ 停搏液可显著缩小心肌梗死面积, 改善左心功能, 不仅用于缺血时, 还可以用于缺血再灌注的前几分钟, 缺血时和再灌注前分别给药则效果更佳, 有相加现象^[9]。兔实验^[10] 表明 HOE-642 对未成熟心肌亦有保护作用, 能减少细胞内游离钙, 减慢细胞内 pH 值的恢复, 减少三磷酸腺苷的消耗, 增加细胞内能量储备。再灌注后, 未成熟心肌收缩功能的恢复依赖一定的细胞外钙浓度及活性较好的钙通道。而 HOE-642 并不影响钙通道的活性。对心肌收缩功能恢复有明显的改善作用, 其作用机制可能为抑制了 NHE, 减轻了心肌细胞内钙超载。HOE-642 还通过抗氧化作用, 减少过氧化氢及其他氧自由基所致的血管内皮细胞的损

伤和抑制单核细胞向内膜下层的浸润, 有减少动脉粥样硬化形成的作用^[11]。

2.3 其他 Na⁺-H⁺ 交换抑制剂

Yamamoto 等^[12] 在离体鼠心完全缺血 40 min 后用 SM-20550 [N-(aminoiminomethyl)-1, 4-dimethyl-1H-indole-2-carboxamide methanesulfonic acid] 再灌注 20 min, 发现它能降低左室舒张末期压, 使冠状动脉灌注压增加, 减少心肌细胞磷酸肌酸酶的释放和减轻灌注末组织内异常增多的 Na⁺、Ca²⁺, 其保护机制可能为减少了 Na⁺、Ca²⁺ 超负荷。此外实验研究表明, SM-20550 可抑制离体培养的血管内皮细胞的 NHE, 避免氧自由基产生而损害内皮细胞, 能减轻线粒体的呼吸链损伤和线粒体 Ca²⁺ 超负荷, 从而促进缺血后左室功能的恢复^[13]。T-162559 { (5E, 7S)-[7-(5-fluoro-2-methylphenyl)-4-methyl-7, 8-dihydro-5(6H)-quinolinyldeneamino] guanidine dimethanesulphonate} 是一种非酰胺类新的 NHE-1 抑制剂^[14], 在兔、鼠的实验研究中发现具有心肌保护作用, 抑制心肌挛缩, 减少乳酸脱氢酶的释放, 提高心肌收缩能力, 但高浓度时有负性心力作用。能减小心肌梗死面积, 与 HOE-642 效果一致, 灌注时给药能发挥最大效应。Ohara^[15] 研究认为缺血再灌注心肌能产生白细胞介素 8, 3 h 后达最大浓度, 对再灌注心肌梗死起了一定的作用。FR18399 {5-(2, 5-dichlorothiophen-3-yl)-3-[(2-dimethylaminoethyl) carbamoyl] benzoylguanidine hydrochloride} 能显著减少白细胞介素 8 的浓度, 降低心肌梗死的发生, 对低温和常温下缺血心肌均有保护作用, 促进左室功能的恢复, 抑制左室舒张末压增加, 且与剂量相关。Janine 等研究 SL59. 1227 {3-[(cyclopropylcarbonyl) amino]-N-[2-(dimethylamino) ethyl]-4-[4-(5-methyl-1H-imidazo[4, 5-f] piperidin-1-yl) benzamide]}^[16], 第一种咪唑哌啶类 NHE-1 抑制剂, 在鼠行左冠状动脉闭塞和再灌注时, 能抑制缺血引起的室性心动过速和灌注性心室颤动, 起抗心律失常作用。兔实验缺血前给药明显减少心肌梗死面积, 因此是一种新的有待于进一步研究的 NHEI 药物。TY-12533 {6, 7, 8, 9-tetrahydro-2-methyl-5H-cyclohepta^[b]pyridine-3-carbonylguanidine maleate} 也是新近发现的一种 NHE-1 抑制剂, pH=6.7 时其心律失常作用 4 倍于 HOE-642, 缺血前后给药均同样具有减少再灌注后心肌梗死作用^[17]。

3 Na⁺-H⁺ 交换抑制剂的临床应用

目前阿米洛利和 3-甲磺酰-4-哌啶基苯甲酰胺甲磺酸盐的研究尚未进入临床, 只有 HOE-642 进入临床实验阶段。Theroux 等^[18] 对 11 590 例不稳定型心绞痛、非 ST 段升高心肌梗死、经皮冠状动脉介入重建血管和冠状动脉旁路移植术的患者进行 HOE-642 的 3 期临床实验 (GUARDIAN TRIAL), 虽然未证明 HOE-642 完全有效, 但提出 HOE-642 临床应用是安全可靠的; 高浓度的 NHEI 能抑制缺血再灌注的心肌坏死, 正常使用对冠状动脉旁路移植术的患者有效。HOE-642 对人类心肌冬眠、心肌顿抑、凋亡和左心室重构的临床效应有待进一步的临床实验研究。其它此类药物则尚处于动物实验阶段。

总之, NHE1 通过抑制 $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ 交换, 减少再灌注心肌细胞内 Ca^{2+} 超负荷, 减轻超微结构的破坏和心肌酶的漏出, 从而减轻心肌挛缩, 起到抑制心肌顿抑和抗心律失常作用。虽然 NHE1 尚处于实验研究和临床试验阶段, 近年对 NHE1 的作用机制的研究表明, 它有可能对心脏外科心肌保护的完善和缺血性心脏病的治疗开辟新的途径。

[参考文献]

- [1] Avkian M. Rational basis for use of sodium/hydrogen exchange inhibitor in myocardial ischemia. *Am J Cardiol*, 1999, **83**: 10G-18G
- [2] Bianchini L, Poussegur J. Molecular structure and regulation of vertebrate $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ exchangers. *J Exp Biol*, 1994, **196**: 337-345
- [3] Wakabayashi S, Fafouroux P, Sardet C, Poussegur J. The $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ antiporter cytoplasmic domain mediates growth factor signals and controls "H⁺-sensing". *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, **89**: 2 424-428
- [4] 徐成斌, 陈源源, 卢明瑜, 吴彦. 心肌缺血预适应对心肌梗死范围的临床研究. *中国动脉硬化杂志*, 1995, **3**: 303
- [5] 朱海峰, 钟宁, 张翼, 周兆年. Amiloride 和 Ni^{2+} 抑制了缺血复灌引起的大鼠心肌细胞内钙增加. *生理通讯*, 2000, **19**: 35-36
- [6] 王红杰, 马青, 张达仁, 高文山, 安海水, 段士芬, 等. $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ 交换抑制剂对离体鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用. *中华麻醉学杂志*, 2000, **20**: 229-232
- [7] Wirth KJ, Maier T, Busch AE. NHE-1 inhibitor cariporide prevents the transient reperfusion-induced shortening of the monophasic action potential after coronary ischemia in pigs. *Basic Res Cardiol*, 2001, **96**: 192-197
- [8] Portman MA, Panos AL, Xiao Y, Anderson DL, Ning X. HOE-642 (cariporide) alter $\text{pH}(i)$ and diastolic function after ischemia during reperfusion in pig hearts in situ. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2001, **280**: H830-834
- [9] 陈伟民, 黄达德, 陈文广, 罗兆榴, Toyoda Y, McCully JD. HOE-642 联

合钾镁停搏液($\text{K}^+ - \text{Mg}^{2+}$)对成年心肌的保护作用. *岭南心血管杂志*, 2001, **7**: 201-204

- [10] 扬建安, 陈翔, 余翼飞. HOE-642 对减轻缺氧/复氧致未成熟兔心肌细胞内钙超载的作用. *中国应用生理学杂志*, 2001, **17**: 240-243
- [11] 刘立英, 文继舫, 涂江华, 钟志莲, 吴晋湘. Cariporide 对高脂饮食所致兔动脉粥样硬化的保护作用. *中国动脉硬化杂志*, 2002, **10**: 1-5
- [12] Yamamoto S, Matsui K, Kitano M, Ohashi N. SM-20550, a new $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ exchange inhibitor and its cardioprotective effect in ischemia/reperfused isolated rat hearts by preventing Ca^{2+} -overload. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2000, **35**: 855-862
- [13] Yamamoto S, Matsui K, Ohashi N. Protective effect of $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ exchange inhibitor, SM-20550, on impaired mitochondrial respiratory function and mitochondrial Ca^{2+} overload in ischemic/reperfused rat hearts. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2002, **39**: 569-575
- [14] Kusumoto K, Igata H, Abe A, Ikeda S, Tsuboi A, Imamiya E, et al. In vitro and in vivo pharmacology of a structurally novel $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ exchange inhibitor, T-162559. *Br J Pharmacol*, 2002, **135**: 1 995-2 003
- [15] Ohara F, Yamamoto N, Maeda K, Ozaki T, Seki J, Goto T. Protective effect of FR183998, a $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ exchange inhibitor, against postischemic injury after normothermic and prolonged hypothermic ischemia in isolated perfused rat hearts. *Jpn J Pharmacol*, 2001, **87**: 110-116
- [16] Janine L, Veronique B, Evelyne F, Nicole D, Alain G, Philip J, et al. Pharmacological of SL59.1227, a novel inhibitor of the sodium/hydrogen exchanger. *Br J Pharmacol*, 2000, **131**: 1 188-194
- [17] Aihara K, Hisa H, Sato T, Yoneyama F, Sasamori J, Yamaguchi F, et al. Cardioprotective effect of TY-12533, a novel $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ exchange inhibitor, on ischemia/reperfusion injury. *Eur J Pharmacol*, 2000, **404**: 221-229
- [18] Theroux P, Caitman BR, Danchin N, Erhardt L, Meinertz T, Schroeder JS, et al. Inhibitor of the sodium/hydrogen exchanger with cariporide to prevent myocardial infarction in high-risk ischemic situations: Main results of the GUARDIAN Trial. *Circulation*, 2000, **102**: 3 032-038

(此文编辑 曾学清, 胡必利)