

内皮细胞损伤与心肌无复流现象

谭凤梅 综述, 韦星, 颜姝, 冯大明 审校

(南华大学心血管疾病研究所 湖南省动脉硬化重点实验室, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 内皮细胞损伤; 心肌无复流; 缺血-再灌注损伤; 临床处理

[摘要] 内皮系统是一个动态的平衡系统,对于维持局部内环境的稳定十分重要。已经证实内皮细胞结构完整及功能正常对血管壁通透性屏障、免疫防御、抗凝、抗血栓及炎症反应均有重要作用。血管内皮细胞损伤与心肌无复流密切相关,可显著降低急性心肌梗死病人的生存率,防治血管内皮细胞损伤是临床工作的重要难题。研究显示:心肌缺血-再灌注易导致内皮细胞结构及功能损伤,促进无复流的发生发展;相应的临床干预措施在一定程度上可修复损伤内皮细胞,改善心肌无复流。本文主要针对缺血-再灌注时内皮细胞损伤的最新发生机制及临床处理做一综述,以期防治心肌无复流提供理论依据。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Endothelial Cell Injury and Myocardial No-reflow

TAN Feng-Mei, WEI Xing, YAN Shu, and FENG Da-Ming

(Institute of Cardiovascular Research, Key Laboratory for Atherosclerosis of Hunan Province, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

[KEY WORDS] Endothelial Cell Injury; Myocardial No-reflow; Ischemia-reperfusion Injury; Clinical Treatment

[ABSTRACT] Endothelial system is a dynamic balance system to maintain the normal flow of blood, which is very important to maintain local homeostasis. It has been confirmed that endothelial cell integrity of the structure and function are important to the normal vessel wall permeability barrier, immune defense, anticoagulant, antithrombotic and anti-inflammatory response. Microvascular endothelial cell damage is closely related to myocardial no-reflow, which can significantly reduce the survival rate of patients with no-reflow, being clinical treatment challenges. Studies have shown ischemia-reperfusion results in structure and function of endothelial cell injury, which promote the development of no-reflow. The corresponding clinical intervention measures in a certain extent can repair the damage of endothelial cells and improve myocardial no-reflow to a certain extent. The latest endothelial cell injurious mechanism and clinical treatment application are reviewed here, in order to provide new theoretical basis of prevention of myocardial no-reflow for clinical treatment.

内皮细胞(endothelial cell, EC)是一层连续内衬于血管内壁的扁平细胞,具有多种生物学功能:①调节组织与血液的物质交换,防止血浆成分和血液细胞无序地浸入血管内膜;②平衡血液凝固纤溶和抗血小板功能,维持血液的流动性;③合成和分泌舒张和收缩相关因子,调节血管平滑肌功能。它的结构和功能损伤会导致血流运行受阻,形成无复流现象(no-reflow phenomenon, NR)。NR指的是冠状动脉闭塞减轻或解除后,微循环血流仍不能完全恢

复正常的现象,是缺血-再灌注(ischemia-reperfusion, IR)损伤(心肌顿抑、NR、再灌注心律失常、致死性再灌注损伤)^[1]的表现之一。NR患者住院期间病死率和心肌梗死的发生率明显增加,而且远期心血管急性事件发生率也增加,预后较差。随着对NR的不断研究,EC损伤与NR之间的关系逐渐被人们认识。本文主要针对心肌IR时EC损伤机制及临床相关干预措施做一综述,以期防治NR提供新的治疗靶点。

[收稿日期] 2012-09-04

[作者简介] 谭凤梅,硕士研究生,研究方向为心血管病病因、发病机制及防治,E-mail为 beautifuljune@126.com。通讯作者冯大明,教授,硕士研究生导师,研究方向为心血管病病因、发病机制及防治,E-mail为 damingfeng@126.com。韦星,博士,副教授,硕士研究生导师,研究方向为心血管病理生理学。

1 心肌缺血-再灌注时内皮细胞损伤机制

1.1 内皮细胞结构损伤

心肌 IR 时, EC 的结构和功能受损, 导致血管紧张度增加、血管炎症及粥样斑块破碎形成血栓, 还可导致细胞能量代谢障碍, ATP 生成减少, 引发内皮细胞水肿、线粒体及细胞膜损伤; 继而使微循环血管腔变窄, 造成心肌 NR 发生或加重。其机制与超钙载及自由基大量生成有关。

1.1.1 钙超载 实验研究表明, EC 钙超载主要发生在再灌注期, 主要原因是钙内流增加, 而不是钙外流减少。其机制主要有: ①细胞膜 $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ 交换增加; ②细胞膜钙泵与肌浆网钙泵被抑制; ③细胞外液 Na^+ 浓度因再灌注稀释而减少, $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ 交换再次增加。钙超载促使膜磷脂降解, 导致细胞器膜破坏, 干扰线粒体氧化磷酸化, 加重细胞能量代谢障碍, 引起水大量进入 EC 内, 发生肿胀。Schwartz 等^[2]研究发现: 肿胀 EC 在再灌注发生后 2 h 之内大量出现, 阻塞毛细血管腔, 阻塞血流。

内皮细胞线粒体参与 Ca^{2+} 、活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 与一氧化氮 (nitric oxide, NO) 之间平衡的精细调节, 该平衡是线粒体正常功能所必须的。心肌 IR 时, NO、ROS、 Ca^{2+} 之间的平衡被打破, EC 结构和功能发生障碍, 血流受阻, 引起 NR 发生。

1.1.2 自由基增多 缺血-再灌注损伤主要不是缺血本身所致, 更重要的是血液供应恢复时自由基增多造成的。自由基增多机制主要有: ①黄嘌呤氧化酶形成增多; ②中性粒细胞聚集及激活; ③线粒体功能受损; ④儿茶酚胺增多和氧化。自由基增多是心肌 IR 损伤的决定因素^[3], 介导整个损伤过程。自由基通过过氧化反应氧化细胞膜的不饱和脂肪酸和磷脂, 损伤细胞膜的结构和功能。线粒体膜脂质过氧化导致线粒体功能抑制, 减少 ATP 生成, 增加细胞膜及细胞器膜的通透性, 细胞外 Ca^{2+} 内流, 导致水大量进入细胞内, 引起细胞肿胀。自由基还可抑制蛋白质功能和破坏核酸及染色体。再灌注时进入缺血区心肌的氧经过酶 (如黄嘌呤氧化酶) 途径产生的自由基引起的氧化应激, 可能是血管 EC 损伤的重要机制^[4]。研究发现, 自由基清除剂可以减轻 IR 后血管 EC 损伤。

1.2 内皮细胞功能损伤

1.2.1 舒缩血管因子不平衡 内皮细胞能通过膜受体途径感知血流动力学变化和血液传递的信号, 合成和分泌多种血管活性物质, 包括内皮收缩

因子和舒张因子。NO 和内皮素 (endothelin, ET) 是 EC 分泌的两种活性物质。NO 对血管具有扩张作用, 还有抗炎、抗凋亡、抗氧化应激等作用; ET 对血管具有收缩作用。正常情况下两者保持动态平衡, 以舒血管物质 (NO) 的作用略占优势, 以保持血管壁的平滑和血流的通畅^[5]。EC 损伤时, NO 和 ET 之间的动态平衡遭到破坏, NO 生成量下降, ET 表达量成倍增加^[6], 导致微血管痉挛并阻塞血流。Freixa 等^[7]研究表明, ET-1 与微血管痉挛及心肌修复率降低密切相关。ET-1 是冠状动脉介入术后发生 NR 的独立预测因子^[8], 其强大的缩血管作用易导致冠状动脉小阻力血管持续痉挛, 引起血管狭窄, 导致 NR 的发生。

前列环素 (prostacyclin, PGI_2) 有很强的扩血管作用, 此作用可能是通过腺苷 3', 5'-环磷酸 (adenosine 3', 5'-cyclic monophosphate, cAMP) 途径阻断钙离子的内流产生^[9]; 还能抑制血小板聚集和阻止血栓形成, 甚至能消除已聚集的血小板^[10]。缺血缺氧时, 血管 EC 受损, PGI_2 合成酶受抑制, PGI_2 合成减少; PGI_2 生成减少引起血管扩张受限, 进一步加重缺血缺氧; 彼此相互作用形成恶性循环。

1.2.2 黏附分子增多 缺血-再灌注时 EC 受到刺激, 黏附分子表达增多, 血细胞与 EC 黏附也增多, 造成心肌微循环堵塞。缺血时炎症反应已经启动, 一些炎症介质如高敏 C 反应蛋白 (high sensitivity C-reactive protein, hs-CRP)、白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等大量产生。上述炎症介质直接损害血管 EC, 使细胞膜通透性增加, 大量细胞外基质及水分进入细胞内, 导致细胞肿胀, 阻塞血管, 引起 NR。受损的微血管中, 白细胞的聚集非常显著。白细胞产生的炎症因子, 如白细胞介素 17, 可促进细胞间黏附分子 (intercellular cell adhesion molecule, ICAM) 的表达, 增加炎症细胞与 EC 的黏附与聚集, 导致微血管阻塞, 引起 NR。IL-17 还可与干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)、TNF- α 共同促使 EC 产生大量诱导型一氧化氮 (inducible nitric oxide, iNO), 在 iNO 的作用下 ICAM-1 的表达明显增高^[11, 12]。IL-6 可作用于 TH17 细胞, 使 IL-17 表达增加^[13]。

1.2.3 微血管通透性增加 微血管通透性增加能引发组织水肿, 导致血液浓缩, 促进 NR 形成。IR 过程中内皮相关因子的变化使局部微血管通透性增加, 诱导白细胞的黏附和聚集, 阻塞血管腔。缺氧心肌组织产生的酸性代谢产物及自由基等, 增加微血管渗透压, 引起水钠潴留, 导致心肌细胞水肿。

肿胀心肌细胞压迫毛细血管,使管腔狭窄,导致心肌微循环障碍^[14]。在体外培养的人类单层 EC 中发现,血小板活化因子(platelet-activating factor, PAF)可引起 EC 结构变化,导致细胞收缩形成细胞间隙,增加微血管通透性。

2 心肌 NR 时临床保护内皮细胞和心肌的相关措施

无复流现象是心源性猝死和心脏事件的独立预测因子,因此探寻切实有效的干预措施防治 NR 是目前研究的热点。目前研究较多的是机械治疗,如经皮冠状动脉介入术(percutaneous coronary intervention, PCI)、超微立体冠状动脉内斑块旋磨术等,及使用一些血管再通的辅助药物,它们具有一定的防治、减轻 NR 的作用。

2.1 调节血管张力

Rezkalla 等^[15]研究发现,ST 段抬高的急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)病人 PCI 术后,未使用扩血管药的患者中 23% 发展为充血性心力衰竭、心源性休克甚至死亡,用扩血管药的患者中仅 9% 出现上述并发症。Zhao 等^[16]研究发现,长期接受血管紧张素转换酶抑制剂(angiotensin converting enzyme inhibitors, ACEI)治疗的患者,PCI 术后 NR 的发生率明显低于未接受 ACEI 类药物的患者(分别为 4.2% 和 14.6%, $P < 0.05$)。贝那普利能有效降低血浆及心肌组织 ET-1 的水平,对防治再灌注后 NR 有一定疗效。

2.2 抑制血小板黏附、聚集

血小板在血栓形成中起重要作用,特别是血管狭窄合并高剪切力时,更易导致血栓形成。参与血小板聚集的血小板膜糖蛋白(glycoprotein, GP) II b/III a 受体,大量存在于血小板膜表面,是血小板聚集的最后通道。当血小板被激活时,该受体大量表达,引起血小板大量聚集。Kunichika 等^[17]应用心肌声学造影观察到:冠状动脉阻塞后再灌注时应用 GP II b/III a 拮抗剂可减小梗死面积。过氧化氢酶和超氧化物歧化酶联合应用血小板-内皮细胞黏附分子抗体,明显降低 EC(受外源性活性氧和血管内皮生长因子损伤)的渗透性^[18]。联合应用血小板 GP II b/III a 受体拮抗剂有望解决 PCI 术后血液高凝状态时血栓形成,减轻血管阻塞,减少 NR 发生。

2.3 减轻钙超载

钙离子拮抗剂又称钙通道阻滞剂(calcium

channel blocker, CCB),可降低微血管阻力,改善冠状动脉前向血流,也能抑制钙内流,是降低细胞内钙离子浓度的有效药物;还可通过调节硝酸盐和 ATP 敏感钾通道开放,改善 PCI 术后引起的微循环障碍。维拉帕米抑制血小板聚集和血栓形成,并经肌纤维膜或细胞内间隔(能够保护可逆损伤心肌)增加 Ca^{2+} 流出,防止血管阻塞。尼卡地平^[19]比维拉帕米提供更有效、持久的血管舒张和更少的全身副反应。Kawai 等^[20]发现 PCI 术前静脉内注射 6 mg 尼可地尔可较好预防冠状动脉 NR,改善心肌灌注,增加靶血管血运重建率。

2.4 中药的综合作用

近来众多研究表明,在中医理论指导下运用传统中药,在防治 NR 方面往往显示出多层面、多靶点效应,疗效显著。何传飞等^[21]研究发现:姜黄素能降低心肌髓过氧化物酶水平,提高超氧化物歧化酶、过氧化氢酶水平,抑制 P 选择素 mRNA 表达,减少 P 选择素蛋白水平,减轻血管损伤,减少 NR 发生。杨秀秀等^[22]在兔急性心肌缺血再灌注中发现葛根素能显著减轻再灌注后心肌 NR 程度,且呈一定的量效关系。Qiu 等^[23]观察发现,AMI 患者 PCI 术后在西药常规治疗基础上加用益气养阴、活血化瘀的西洋参制剂(心悦胶囊和丹参制剂复方丹参片),能改善患者的临床症状及心肌微循环血流。

2.5 其他措施

无复流现象发生机制复杂,针对不同机制有不同治疗药物。进来研究发现,长期应用他汀类药物预处理 ST 段抬高的心肌梗死病人,血清 C 反应蛋白水平明显降低,再灌注治疗后血流恢复到 TIMI(thrombolysis in myocardial infarction) III 级(冠状动脉 TIMI 是指急性心肌梗死时相关血管的血流情况,III 级为血流完全恢复)也更普遍,系统炎症和心肌再灌注损伤减轻^[24]。牛尿酚刺激血管 EC 线粒体释放活性氧,通过表皮生长因子受体激活和 F 肌动蛋白骨架重组,调节内皮氧化还原信号和 NO 的释放^[25],减轻损伤。

3 展望

近年来 NR 的干预措施和机制研究取得一些进展,为治疗提供了一些理论基础和方法。NR 是一个多因素参与的过程,具体发生机制仍需进一步阐明,目前的这些干预措施并不能完全阻止其发生。NR 一旦发生,干预措施的作用欠佳,因此有必要进一步研究其发生机制和寻找更有效的干预措施(如

联合应用中西医药物),使越来越多的缺血病人在再灌注治疗中获益。

[参考文献]

- [1] Derek M, Yellon D, Derek J, et al. Myocardial reperfusion injury [J]. *N Engl J Med*, 2007, 357(11): 1 121-125.
- [2] Schwartz BG, Kloner RA. Coronary no reflow[J]. *J Mol Cell Cardio*, 2012, 52(4): 873-882.
- [3] Zweier JL. Measurement of superoxide-derived free radicals in the reperfused heart: Evidence for a free radical mechanism of reperfusion injury[J]. *J Biol Chem*, 1988, 263(3): 1 353-357.
- [4] Prasad A, Gersh BJ. Management of microvascular dysfunction and reperfusion injury[J]. *Heart*, 2005, 91(12): 1 530-532.
- [5] Burkard N, Williams T, Czolbe M, et al. Conditional overexpression of neuronal nitric oxide synthase is cardioprotective in ischemia/reperfusion[J]. *Circulation*, 2010, 122(16): 1 588-603.
- [6] Brosh D, Assali AR, Mager A, et al. Effect of no-reflow during primary percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction on six-month mortality[J]. *Am J Cardiol*, 2007, 99(4): 442-445.
- [7] Freixa X, Heras M, Ortiz JT, et al. Usefulness of endothelin-1 assessment in acute myocardial infarction [J]. *Rev Esp Cardiol*, 2011, 64(2): 105-110.
- [8] Eitel I, Nowak M, Stehl C, et al. Endothelin-1 release in acute myocardial infarction as a predictor of long-term prognosis and no-reflow assessed by contrast-enhanced magnetic resonance imaging[J]. *Am Heart J*, 2010, 159(5): 882-890.
- [9] 于 晗, 刘 义. 原花青素对心肌缺血再灌注损伤大鼠血管内皮细胞活性因子的研究[J]. *中国分子心脏病学杂志*, 2011, 11(2): 94-97.
- [10] Cheng Y, Austin SC, Rocca B, et al. Role of prostacyclin in the cardiovascular response to thromboxane A2 [J]. *Science*, 2002, 296(5567): 539-541.
- [11] Gabr MA, Jing L, Helbling AR, et al. Interleukin-17 synergizes with IFN-gamma or TNF-alpha to promote inflammatory mediator release and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression in human intervertebral disc cells[J]. *J Orthop Res*, 2011, 29(1): 1-7.
- [12] Pappu BP, Angkasekwinai P, Dong C. Regulatory mechanisms of helper T cell differentiation; new lessons learned from interleukin 17 family cytokines [J]. *Pharmacol Ther*, 2008, 117(3): 374-384.
- [13] Park SJ, Lee YC. Interleukin-17 regulation: an attractive therapeutic approach for asthma[J]. *Respir Res*, 2010, 11(1): 78.
- [14] De Mello WC. Cell swelling, impulse conduction, and cardiac arrhythmias in the failing heart: Opposite effects of angiotensin II and angiotensin (1-7) on cell volume regulation [J]. *Mol Cell Biochem*, 2009, 330(1-2): 211-217.
- [15] Rezkalla SH, Dharmashankar KC, Abdalrahman IB, et al. No-reflow phenomenon following percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction: incidence, outcome, and effect of pharmacologic therapy [J]. *J Interv Cardiol*, 2010, 23(5): 429-436.
- [16] Zhao JL, Yang YJ, Zhang YH, et al. Chronic pretreatment of ACEI reduces no-reflow in patients with acute myocardial infarction treated with primary angioplasty[J]. *Clin Cardiol*, 2007, 30(3): 130-134.
- [17] Kunichika H, Ben-Yehuda O, Lafitte S, et al. Effects of glycoprotein IIb/IIIa inhibition on microvascular flow after coronary reperfusion: A quantitative myocardial contrast echocardiography study [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2004, 43(3): 276-283.
- [18] Han J, Shuvaev VV, Muzykantov VR. Catalase and superoxide dismutase conjugated with platelet-endothelial cell adhesion molecule antibody distinctly alleviate abnormal endothelial permeability caused by exogenous reactive oxygen species and vascular endothelial growth factor[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2011, 338(1): 82-91.
- [19] Fugit MD, Rubal BJ, Donovan DJ. Effects of intracoronary nicardipine, diltiazem and verapamil on coronary blood flow [J]. *J Invasive Cardiol*, 2000, 12(2): 80-85.
- [20] Kawai Y, Hisamatsu K, Matsubara H, et al. Intravenous administration of nicorandil immediately before percutaneous coronary intervention can prevent slow coronary flow phenomenon [J]. *Eur Heart J*, 2009, 30(7): 765-772.
- [21] 何传飞, 王 祥, 余 浩, 等. 姜黄素对大鼠急性心肌缺血再灌注后无复流的影响及机制研究 [J]. *中华心血管病杂志*, 2009, 37(增刊): 277.
- [22] 杨秀秀, 陈韵岱, 田 峰, 等. 葛根素对兔急性心肌梗死再灌注后无复流的影响 [J]. *中国循环杂志*, 2010, 25(1): 30-33.
- [23] Qiu SL, Jin M, Yi JH, et al. Therapy for replenishing qi, nourishing yin and promoting blood circulation in patients with acute myocardial infarction undergoing percutaneous coronary intervention: a randomized controlled trial [J]. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao*, 2009, 7(7): 616-621.
- [24] Oduncu V, Tanalp AC, Erkol A, et al. Impact of chronic pretreatment of statins on the level of systemic inflammation and myocardial perfusion in patients undergoing primary angioplasty [J]. *Am J Cardiol*, 2011, 107(2): 179-185.
- [25] Rowlands DJ, Chapple S, Siow RC, et al. Equal-stimulated mitochondrial reactive oxygen species activate endothelial nitric oxide synthase and redox signaling in endothelial cells: roles for F-actin and GPR30 [J]. *Hypertension*, 2011, 57(4): 833-840.

(此文编辑 曾学清)