

心肌缺血再灌注损伤机制研究的回顾与展望

刘丹勇¹, 夏正远^{1,2}, 韩荣辉¹, 陈昊¹, 刘新¹, 唐靖¹

(1. 广东医科大学附属第一医院麻醉科, 广东省湛江市 524000; 2. 香港大学麻醉系, 香港 999077)

[专家简介] 夏正远, 博士研究生导师, 香港大学麻醉学系访问副教授, 香港大学深圳研究院研究员, 香港大学生物医药技术国家重点实验室研究员, 中国心胸血管麻醉学会理事, 中国心胸血管麻醉学会围术期基础与转化医学分会主任委员, 广东医科大学附属第一医院麻醉科特聘教授, 加州大学戴维斯分校 (UC Davis) Volunteer Clinical Professor。2004 年在加拿大不列颠哥伦比亚大学 (University of British Columbia) 获麻醉学与药理学及治疗学医学博士学位。先后于 1998 年在美国印第安纳大学 Krannert 心脏研究所、1999 年在比利时鲁汶大学麻醉与外科实验中心及 2004 至 2006 年在加拿大不列颠哥伦比亚大学药学院等处做访问学者或博士后研究。曾先后在武汉大学及中山大学的附属医院麻醉科工作。多年来一直从事心肌缺血再灌注损伤研究。在麻醉领域顶尖杂志《Anesthesiology》、内分泌与代谢领域权威杂志《Cell Metabolism》《Diabetes》、重症医学权威杂志《Intensive Care Medicine》《Crit Care Med》、核酸研究领域顶尖杂志《Nucleic Acids Research》《Genome Biology》、氧自由基研究领域顶尖杂志《Free Radical Biology & Medicine》及心血管领域顶尖杂志《European Heart Journal》等发表 SCI 研究论文 182 篇 (著作论文及综述总数 233 篇)。主持香港研究资助局 (RGC/GRF) 基金课题 8 项, 国际心血管麻醉师学会 (Society of Cardiovascular Anesthesiologist) 课题 1 项, 香港政府医疗卫生研究基金 (HMRF) 课题 1 项; 另外主持国家自然科学基金 (NSFC) 课题 5 项。为国际著名《The Lancet》《Diabetes》《Anesthesiology》等 20 多种学术期刊审稿人, 《Journal of Diabetes Metabolism》执行主编, 及加拿大 (CIHR)、瑞士 (SNSF)、克罗地亚 (HRZZ) 及中国 (NSFC) 国家科研基金课题评审专家。关于静脉麻醉剂异丙酚 (Propofol) 用于体外循环下冠状动脉搭桥手术心肌保护的 (方案) 研究 (Anesth Analg, 2006, 103 (3): 527-532) 被《2011 ACCF/AHA Guideline for Coronary Artery Bypass Graft Surgery》(J Am Coll Cardiol, 2011, 58 (24): e123-e210) 指南引用, 推动了相关临床的实践与研究。2005 年与加拿大 David Ansley 教授共同获得国际麻醉研究学会 (International Anesthesia Research Society, IARS) 临床学者奖 (Clinical Scholar Award), 2019 年获得香港大学医学院杰出研究成果奖 (Outstanding Research Output Award)。



[关键词] 心肌缺血再灌注损伤; 钙超载; 氧化应激; 自噬; 细胞凋亡; 焦亡; 程序性坏死

[摘要] 心肌梗死是全球冠心病患者死亡的主要原因之一。在急性心肌梗死早期行经皮冠状动脉介入术、冠状动脉旁路移植术、药物等治疗手段, 可恢复缺血区心肌组织血供, 挽救濒死的心肌, 降低患者的致死率。然而, 心血供中断后, 一定时间内再通恢复血供后, 原缺血心肌可发生较缺血时更为严重的损伤, 这一现象称为心肌缺血再灌注损伤 (MIRI), 其发生机制尚未完全阐明。文章就近年来 MIRI 机制的研究进展作一综述, 阐述 MIRI 的病理生理机制, 将有助于开发新的治疗干预手段, 为临床治疗心肌梗死提供帮助。

[中图分类号] R54

[文献标识码] A

Review and prospect on the mechanism of myocardial ischemia-reperfusion injury

LIU Danyong¹, XIA Zhengyuan^{1,2}, HAN Ronghui¹, CHEN Hao¹, LIU Xin¹, TANG Jing¹

(1. Department of Anesthesiology, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang, Guangdong 524000, China; 2. Department of Anesthesiology, University of Hong Kong, Hong Kong 999077, China)

[KEY WORDS] myocardial ischemia-reperfusion injury; calcium overload; oxidative stress; autophagy; cell apoptosis; pyroptosis; programmed necrosis

[收稿日期] 2020-06-15

[修回日期] 2020-09-07

[基金项目] 国家自然科学基金 (81670770)

[作者简介] 刘丹勇, 硕士研究生, 主治医师, 研究方向为心肌缺血再灌注损伤, E-mail 为 danyong_Liu@163.com。通信作者 夏正远, 博士, 教授, 研究方向为心肌缺血再灌注损伤, E-mail 为 Zhengyuan_xia@yahoo.com。

[**ABSTRACT**] Myocardial infarction is one of the leading causes of death in patients with coronary heart disease worldwide. In the early stage of acute myocardial infarction, percutaneous coronary intervention, coronary artery bypass grafting, drugs and other treatment means can restore the blood supply of ischemic myocardial tissue, save the dying myocardium and reduce the mortality rate of patients. However, after the interruption of myocardial blood supply and the restoration of blood supply within a certain period of time, the original ischemic myocardium may suffer more serious damage than that of ischemia. This phenomenon is called myocardial ischemia-reperfusion injury (MIRI), and its mechanism has not been fully elucidated. In this paper, the research progress of MIRI mechanism in recent years is reviewed, and the pathophysiological mechanism of MIRI is expounded, which will help to develop new therapeutic interventions and provide help for clinical treatment of myocardial infarction.

冠心病是世界范围内导致死亡和残疾的主要原因之一,其最有效的治疗干预措施是在心肌梗死早期尽快恢复缺血区域血流,减少急性心肌缺血性损伤和梗死范围。然而某些心肌梗死患者心肌再灌注过程中可能进一步加剧缺血心肌细胞的死亡,这种现象被称为心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia reperfusion injury, MIRI)^[1-2]。目前公认的MIRI有4种表现形式:再灌注诱发的心律失常、心肌顿抑、微血管阻塞、致死性心肌再灌注损伤,前2种表现形式是可逆的,而后2种是不可逆的^[3];临床上经皮冠状动脉介入术、抗血小板及抗凝剂等治疗主要是针对后2种损伤,目的是维持相关冠状动脉的通畅。然而在心肌再灌注过程中及时、有效的改善再灌注,仍不能有效的预防和治理MIRI。

1 心肌缺血再灌注损伤的病理生理机制

MIRI的病理生理机制与氧化应激、细胞内钙超载、能量代谢障碍、细胞凋亡、内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)、自噬、焦亡、铁死亡、坏死等密切相关,而且损伤机制之间相互联系,常常触发或间接引起另一损伤因素加重。

1.1 氧化应激

活性氧(reactive oxygen species, ROS)是指含氧反应性物质。它是一种总称,包括超氧化物(O_2^-)、过氧化氢(H_2O_2)、羟基自由基(OH^\cdot)、单线态氧(1O_2)、过氧化氢自由基(LOO^\cdot)、烷氧基自由基(LO^\cdot)、脂质过氧化物($LOOH$)、过氧亚硝酸盐($ONOO^-$)、次氯酸($HOCl$)和臭氧(O_3)等^[4]。ROS是涉及各种细胞功能和生物学过程调控的小反应性分子,在较小或中等浓度下,可以充当信号分子,但不受控制的较高水平的ROS会导致与蛋白质、脂质和脱氧核糖核酸的结构和功能改变相关的自由基损伤^[5-6]。ROS可以诱导不同类型细胞死亡方式(如凋亡、坏死、焦亡),在多器官缺血再灌注损伤

(ischemia reperfusion injury, IRI)中起重要作用^[7]。另外ROS诱导的血管内皮功能障碍在各种器官IRI的发生发展中亦起重要作用^[8-9]。氧化应激是指ROS生成过多、超过机体清除能力、使氧化和抗氧化系统失衡、导致细胞组织损伤的病理过程^[10]。

缺血再灌注时,尤其是再灌注阶段由于黄嘌呤氧化酶形成增多、中性粒细胞呼吸爆发、线粒体电子传递链损伤等多重机制使ROS生成增加^[11]。而过度增加的ROS通过对生物膜脂质的过氧化反应,使膜流动性降低,钙离子通透性增加,加重细胞内钙超载和线粒体损伤,诱发细胞色素C(cytochrome C, CytC)等促凋亡因子释放。此外ROS与蛋白发生氧化反应使其丧失原有结构和功能,并破坏核酸及染色体^[6]。再者,ROS触发炎症级联反应和黏附分子的表达,导致白细胞聚集,内皮细胞肿胀,造成无复流现象。再灌注诱导的氧化应激被认为是IRI的主要机制^[7]。氧化应激能引起内皮功能障碍、心肌细胞损伤、凋亡等病理改变,参与心室重构等过程,促进心肌病形成、发展,引起心功能减退,而功能减退的心肌细胞则对氧化应激损伤更敏感,形成恶性循环。在所有潜在的ROS来源中,烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶、黄嘌呤氧化酶、线粒体和未偶联的一氧化氮合酶是再灌注诱导的氧化应激最主要的来源。而细胞的内源性自由基清除系统不足以清除这些具有高反应性的ROS^[12],它们不仅可以直接破坏膜和蛋白质,还可以通过打开线粒体通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, MPTP)和随后的促凋亡途径激活而引起间接破坏,通过多种机制导致心肌损伤和心肌细胞死亡^[13]。内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)合成的一氧化氮(nitric oxide, NO)是MIRI的重要防御机制之一^[14-15]。我们的研究表明激活PI3K/Akt通路和Janus激酶2/信号转导因子和转录激活因子3(JAK2/STAT3)通路可以减弱MIRI^[16-18],其机制与激活eNOS及增加NO生

成有关。

1.2 细胞内钙超载

心肌细胞经过一定时间的缺氧后,会造成细胞内的代谢异常,使细胞内 H^+ 聚集而引起胞内 pH 降低,进而通过 H^+/Na^+ 交换使细胞内 Na^+ 增多。心肌细胞内 Na^+ 的聚集会使 Na^+/Ca^{2+} 交换蛋白的活动增强,这一过程虽然可以减少胞内 Na^+ 的聚集,但同时也将胞外的 Ca^{2+} 转运至胞内,从而使胞质内的 Ca^{2+} 浓度不断增高,进而引起钙超载。此时迅速复氧可使细胞外液 pH 升高,进而加大细胞膜内外的 H^+ 梯度,使得 H^+/Na^+ 、 Na^+/Ca^{2+} 交换得到加强,进一步造成细胞内钙超载^[19]。除 H^+/Na^+ 、 Na^+/Ca^{2+} 交换机制外, H^+/Ca^{2+} 直接交换的机制也是一种能够引起细胞内钙超载的重要原因。 Ca^{2+} 的处理和进一步的流入或流出受到蛋白质通道的调节^[20]。严格调控细胞内钙稳态对维持正常心功能和生长至关重要,而细胞内钙稳态的破坏可以导致 ERS,加重心肌细胞缺血损伤^[6]。有研究表明,地尔硫卓作为一种钙拮抗剂,具有心脏保护作用,有助于进一步减少氧化应激损伤,纠正能量代谢,改善内皮功能和调节细胞凋亡^[21]。此外,临床试验发现地尔硫卓可显著降低心脏事件。地尔硫卓的有益作用主要是改善心肌缺血患者的左心室收缩功能和冠状动脉血流动力学,预防经皮冠状动脉介入治疗后心电图 ST 段抬高型心肌梗死患者再灌注性心律失常^[21]。

1.3 能量代谢障碍

线粒体作为细胞内重要的三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 产生和能量代谢的细胞器,心肌细胞内线粒体的完整性和功能的缺失被认为是心脏结构和功能改变的病理因素。线粒体形成一个动态网络,通过分裂和融合不断改变其形态,以满足心肌细胞的功能需求^[22]。心肌细胞需要消耗大量能量,因此,细胞内线粒体的密度相对较高。线粒体的功能受多个因素调节。在正常的生理状态下,线粒体 Ca^{2+} 是一种积极的效应物,可以触发线粒体代谢机制的激活,从而产生更高的 ATP 输出。但是,在缺血再灌注过程中,上述胞质钙超载导致随后的线粒体钙超载。细胞内 Ca^{2+} 流入线粒体主要是由 MCU 介导的,这是一种小电导 Ca^{2+} 选择性通道。MCU 调节细胞内 Ca^{2+} 瞬变,调节 ATP 的产生和细胞死亡^[23]。 Ca^{2+} 跨线粒体膜循环可导致线粒体 Ca^{2+} 超负荷的放大并引起线粒体功能障碍^[24]。线粒体 Ca^{2+} 过载可耗散膜电势,促进 MPTP 的开放,并进一步导致 ATP 合成受损。MPTP 是线粒体内

膜的非选择性通道,已被认为是 IRI 的关键参与者^[25]。线粒体内膜通常不渗透离子和蛋白质,负责维持线粒体跨膜电位孔的形成,产生非选择性的通道,并导致跨过该膜的电势耗散。在我们的研究中,发现 MPTP 的开放程度与线粒体形态变化程度相对应,这为证明线粒体功能与其在 IRI 期间的形态密切相关提供了证据^[22]。线粒体稳态的紊乱在急性器官衰竭和缺血后细胞损伤中起重要作用^[9]。MPTP 开放与关闭是维持线粒体膜电位的主要机制。缺血诱导 MPTP 关闭,再灌注促进 MPTP 开放^[25]。在急性缺血再灌注期间,MPTP 保持缺血期间关闭并且在再灌注期因线粒体的钙与磷酸盐的过载、氧化应激和快速校正 pH 而开放^[26-27]。IRI 可诱导 ROS 在短时间内大量产生,触发胞质 Ca^{2+} 超负荷,导致线粒体 Ca^{2+} 过度增加,进而诱导 MPTP 打开并使线粒体膜电位去极化^[25]。MPTP 的开放导致 ATP 损失、线粒体肿胀和 CytC 释放,从而导致细胞凋亡^[28]。我们的研究证实了通过调节线粒体形态、抑制 MPTP 开放和维持线粒体膜电位可以保护心肌细胞免受缺血再灌注损伤,这些效应与 Mfn2、Opa1 和 Drp1 蛋白的调节有关,为靶向治疗提供了理论依据^[22]。

1.4 细胞凋亡

细胞凋亡是细胞死亡的一种调节形式,其导致细胞收缩以及胞质和细胞核的凝结,最终形成凋亡小体。因为凋亡小体被细胞膜包裹,所以凋亡细胞最终可以被吞噬细胞吞噬和消化,而不会引起炎症反应,凋亡细胞部分细胞器的保存可至晚期。现有研究证据发现存在 3 种经典的细胞凋亡信号传导途径:外在(死亡受体)途径、内在(线粒体)途径和 ERS 途径;通过激活上述一种或多种途径,环境刺激可诱导细胞凋亡^[29]。外在途径诱导的细胞凋亡是由跨膜死亡受体触发的,跨膜死亡受体是肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 受体家族的成员,并包含“死亡域”。涉及凋亡刺激片段配体 (FasL)/FasR、TNF- α /TNFR1、TNF 相关凋亡诱导配体 (TRAIL)/DR4 和 TRAIL/DR5 的几种典型配体和相应的死亡受体可以帮助将死亡信号从细胞表面传递至死亡域的细胞内途径。例如,在 FasL 与 FasR 结合或 TNF- α 与 TNFR1 结合后,将募集 Fas 相关死亡域 (FADD) 并与配体-受体复合物结合。FADD 连续激活 Procaspase-8 并形成诱导死亡的信号复合物 (DISC)。最后,由 DISC 激活的 Caspase-8 触发 Caspases-3 和 Caspases-7,从而诱导凋亡级联反

应,导致凋亡的执行阶段^[30]。

内在信号传导途径是线粒体引发的,也可以触发细胞凋亡。通常由涉及缺氧、体温过高和缺乏生长因子的刺激激活。这些刺激促进 MPTP 的开放,阻碍线粒体跨膜电位,从而加速涉及 CytC 和凋亡诱导因子的促凋亡蛋白从膜间空间释放到细胞质中^[31]。CytC 能结合并激活 Caspases-9,随后导致 Caspases-9 活化,从而促进 Caspases-3 和 Caspases-7 形成。然而,在细胞凋亡的后期,凋亡诱导因子易位至细胞核并以与胱天蛋白酶无关的方式诱导 DNA 片段化和染色质浓缩。值得注意的是,上述线粒体引发的事件受线粒体外膜中的 B 细胞淋巴瘤 2 (Bcl-2) 家族蛋白调节。Bcl-2 家族蛋白控制线粒体膜的通透性,然后调节 CytC 的释放。它们可以在功能上分为促凋亡蛋白和抗凋亡蛋白^[30],前者包括 Bad、Bax、Bak、Bid、Bim、Puma 和 BNIP3,后者包含 Bcl-2、Bcl-x、Bcl-xL 和 BAG^[32]。其中 Bcl-2 家族蛋白可通过在细胞核或线粒体(np53 或 MP53)上调肿瘤抑制蛋白 p53,从而阻断 np53 或 MP53 介导的凋亡。当 p53 的表达被抑制时,冠心病心脏组织中的 Bax 和 Caspase-3 被下调。有趣的是,外在途径和内在途径之间也存在相互作用,这由 Fas 介导的细胞凋亡可以通过 Bid 的 Caspase-8 裂解导致线粒体损伤来证明。

1.5 内质网应激

内质网是蛋白质合成、修饰和加工的重要场所,其正常功能在维持细胞内稳态方面起着重要作用。但是,诸如缺血和缺氧等不利刺激会导致内质网和 ERS 中蛋白质的积累或折叠错误。未折叠蛋白的积累同时激活了 3 个跨膜应力传感器 IRE1、ATF6 和 PERK,被称为未折叠蛋白反应^[33]。ERS 是调控细胞凋亡的相对较新的途径,它参与一些生理功能或病理损伤,包括蛋白质折叠、细胞内 Ca^{2+} 储存、氧化应激、缺氧、局部缺血和脂质代谢紊乱^[34-35]。尽管 ERS 对细胞存活至关重要,但只有长期刺激下它才会导致细胞凋亡。近年来,已发现缺血再灌注与 ERS 有关^[34]。ERS 中未折叠的蛋白反应可能诱导心肌损伤,心肌损伤也可能诱导 ERS,从而影响心肌细胞的代谢状态并导致更强的损伤^[33]。也有报道称并非所有的 ERS 通路都是有害的。例如,Glombotski 博士的实验室报道,内质网应激转录因子活化转录因子 6 诱导保护心肌细胞免受 IRI^[36-37]。在 ERS 反应期间,一些转录因子有助于基因程序的诱导,该程序编码旨在恢复内质网蛋白折叠的蛋白质。但是,如果恢复蛋白质折叠的能力

不足,则持续的 ERS 会导致细胞凋亡。

1.6 自噬

自噬是一种细胞在溶酶体内消化细胞质的现象,被认为是维持心脏正常结构和功能的关键。自噬的主要功能是清除和回收错误折叠或损坏的蛋白质和细胞器,不仅与细胞存活有关,还与细胞死亡密切相关^[38-39]。在心肌缺血的阶段,自噬降解非功能性胞质蛋白,为关键生命活动提供关键营养,从而抑制细胞凋亡和坏死。最近的证据表明,自噬是减少急性心肌缺血后心肌损害的必要条件,自噬过程可通过去除受损的线粒体来限制 NLRP3 炎性小体(inflammasome)的活化^[19]。但是,过度自噬在再灌注阶段可能会对心脏产生负面影响。根据自噬体的来源,将内含物以不同方式转运至溶酶体。自噬过程大致分为 3 种主要类型^[40]:(1)巨自噬:膜的主要来源来自内质网和高尔基体,通过完全包含要降解的物体并将其与溶酶体膜融合以形成自噬体,降解产物被溶酶体酶降解;(2)微自噬:被溶酶体膜直接包裹以在溶酶体中降解和消化;(3)伴侣蛋白介导的自噬(CMA):伴侣蛋白首先结合到待降解的蛋白质上,以指导该物质向溶酶体的运输,并通过酶的作用进行消化和分解,并且 CMA 途径是可溶性蛋白分子,因此 CMA 途径具有明确的选择性,在这一点上与前 2 种方式有很大的差异。

自噬的分子机制主要由 mTORC1(雷帕霉素复合物 1 的哺乳动物靶标)、AMPK(AMP 激活的蛋白激酶)、ERS 和 p53 介导 4 个途径组成。雷帕霉素(mTOR)和 Beclin1 是 2 个重要的自噬相关分子,在 MIRI 的不同阶段起着重要作用。在缺血阶段,mTOR 通过 AMPK/mTOR 和 PI3K/Akt/mTOR 途径发挥作用^[41],而 Beclin1 在再灌注阶段通过上调发挥作用^[19,38-39]。Beclin1 是调节自噬小体形成和加工的关键自噬蛋白。总的来说,Beclin1 的上调负责再灌注过程中的自噬激活。但是,关于 MIRI 如何激活 Beclin1 的问题仍有待阐明。一种可能的机制是其与 Bcl-2 蛋白的关联。体外研究显示,Beclin1 介导的对心肌细胞营养缺乏的自噬反应受 Bcl-2 蛋白的调节。另外,ROS 可能也是 Beclin-1 在再灌注过程中介导自噬的强大诱导剂。ROS 的产生不是能量危机,而是再灌注过程中自噬的主要促进因素。再灌注阶段导致氧化应激增加,并伴有 Beclin1 过表达。除调节 Beclin1 的表达外,ROS 还可能氧化并降低自噬相关蛋白的活性,从而导致 LC3 脂化和自噬的开始。此外,由于 Beclin1 主要位于内质网,因此由再灌注条件引起的 ERS 是否也参与 Bec-

lin1 的上调尚需进一步探索。

1.7 焦亡

细胞焦亡 (pyroptosis) 是近年发现的一种新的促炎程序性细胞死亡方式,可能由 NLRP3/ASC/Caspase-1 途径的激活和高水平的白细胞介素 1β (interleukin- 1β , IL- 1β) 导致^[42]。其最主要的生物学特征是依赖于 Caspase-1 并伴随炎症级联反应,在内源性和外源性刺激作用下,凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein, ASC) 作用于 Pro-caspase-1 形成炎性小体并激活 Pro-caspase-1,活化的 Caspase-1 促进下游细胞因子如 IL- 1β 、IL-18 活化和表达,引起组织细胞损伤^[43]。同时也是宿主对病原体 and 内源性损伤作出反应的关键机制^[44];与其他的细胞死亡方式比较,其具有独特的功能,包括通过细胞内炎性胱天蛋白酶活化、膜孔的形成以及泄漏编程。细胞焦亡可以导致炎性细胞因子释放,并具有凋亡 (包括 DNA 片段化和核浓缩) 和坏死 (如质膜完整性丧失和细胞内内容物如 LDH 释放) 的某些特征。其中焦亡过程中细胞膜破裂是由 Gasdermin D 蛋白 (GSDMD) 介导的^[30]。在健康细胞中,GSDMD 通过其 COOH-末端 (抑制) 和 NH₂-末端 (促死亡) 结构域的分子内相互作用而保持功能不活跃。炎症性 Caspase-1 对 GSDMD 水解生成功能强的 NH₂-末端裂解产物 (GSDMD-NT)^[45]。GSDMD-NT 单体通过尚不明确的机制齐聚在质膜上形成孔洞,并导致胞内物质的释放,导致细胞死亡,有趣的是,GSDMD 本身也可从细胞焦亡中释放出来,但不会损伤邻近细胞^[46]。研究表明,细胞焦亡作为一种新的细胞死亡方式与多种疾病的发展和组织损伤密切相关^[47-48]。

1.8 铁死亡

铁死亡 (ferroptosis) 是一种独特的铁依赖性非凋亡调节细胞死亡形式,是谷胱甘肽依赖性抗氧化防御机制被破坏、脂质过氧化物蓄积形成的被称为铁依赖的程序性细胞死亡。其主要特征是细胞体积缩小和线粒体膜密度增加,而没有典型的凋亡和坏死表现^[48]。铁死亡依赖于细胞内的铁,而不依赖于其他金属,并且在形态、生化和遗传上与凋亡、坏死和自噬不同^[49]。铁参与线粒体的氧化磷酸化过程中,细胞会产生 ROS 及 ATP。超过细胞抗氧化能力的 ROS 水平会导致氧化应激反应,从而直接或间接破坏蛋白质、核酸和脂质等大分子物质,导致细胞损伤或死亡^[50]。铁载体蛋白转铁蛋白和氨基酸谷氨酰胺被认为是引起铁死亡的原因。细胞表面转铁蛋白受体和以谷氨酰胺为燃料的细胞内代谢

途径谷氨酰胺分解在死亡过程中起着至关重要的作用^[51]。几乎所有涉及铁死亡的基因都是由 NRF2 转录调控的,包括调节谷胱甘肽、NADPH 再生的基因,这些基因对 Gpx4 活性、脂质过氧化和铁的调节至关重要^[52]。

1.9 程序性坏死

在死亡受体途径中,坏死诱导的关键是受体相互作用蛋白激酶 3 (receptor interacting protein kinase 3, RIPK3) 的激活,这是一种丝氨酸/苏氨酸激酶。RIPK3 通常通过同源 RIPK1 的磷酸化而被激活。RIPK3 随后磷酸化并激活一种称为混合系列蛋白激酶样结构域 (mixed lineage kinase domain-like protein, MLKL) 的假激酶,该激酶使质膜寡聚并渗透,从而导致坏死。RIPK3-MLKL 信号被认为是程序性坏死的典型信号模块^[53]。坏死是由复杂的 IIb (也称为坏死体) 介导的,包括 RIPK1、RIPK3 和 MLKL。RIPK3 诱导坏死作用的一个主要靶点是假激酶 MLKL。RIPK3 介导的 MLKL 磷酸化暴露了 MLKL 中的一个四螺旋束,该螺旋束可促进其半胱氨酸依赖的四聚体化、向淀粉样长丝的进展以及向质膜的转移和渗透^[54]。MLKL 磷酸化和 4 个半胱氨酸对程序性坏死都是至关重要的。多项研究表明,MLKL 是坏死作用的执行者^[54-55]。MLKL 包含一个 N 末端的四螺旋束结构域,与 C 末端的假激酶相连,螺旋束是 MLKL 的功能域。正常情况下,RIPK3 使 MLKL 磷酸化,从而使其发生构象变化,抵消 MLKL 中激酶同源 C 末端区域的自噬效应。目前认为 MLKL 是引发坏死的主要靶点,但其下游信号仍不确定^[56]。

2 结 语

本文介绍了 MIRI 病理生理学的最新研究成果,特别是 ROS 和细胞死亡途径的参与;缺血缺氧导致心肌细胞内线粒体中电子传输链的代谢和功能障碍;ATP 生成的降低导致离子交换通道功能障碍、细胞肿胀和细胞质中酶活性的损害;在再灌注状态下线粒体损伤和电解质失衡通过 NADPH 氧化酶系统、黄嘌呤氧化酶系统、NOS 系统等因素导致大量 ROS 的产生,促进了氧化应激;最后,ROS 的增加会引起细胞损伤,并通过自噬、凋亡、程序性死亡和坏死等方式导致细胞死亡。目前 MIRI 相关的机制尚未完全阐明,其中 Ca²⁺ 超载、能量代谢障碍、氧化应激、自噬等方面的阐述相对比较完善;而焦亡、坏死、铁死亡方面还有待进一步探索,尤其是现已

知信号通路的下游信号尚不明确。MIRI 是一个错综复杂涉及基因分子细胞组织等多层面多因素相互作用的过程,对病理生理学发生与发展机制的充分了解可能对改善 MIRI 的预后及降低心血管疾病的死亡率提供新的治疗靶点和思路。

[参考文献]

- [1] Hausenloy DJ, Yellon DM. Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(1): 92-100.
- [2] Ogura Y, Ouchi N, Ohashi K, et al. Therapeutic impact of follistatin-like 1 on myocardial ischemic injury in preclinical models[J]. *Circulation*, 2012, 126(14): 1728-1738.
- [3] Yang CF. Clinical manifestations and basic mechanisms of myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. *Ci Ji Yi Xue Za Zhi*, 2018, 30(4): 209-215.
- [4] Li R, Jia Z, Trush MA. Defining ROS in biology and medicine[J]. *React Oxyg Species (Apex)*, 2016, 1(1): 9-21.
- [5] González-Montero J, Brito R, Gajardo AI, et al. Myocardial reperfusion injury and oxidative stress: Therapeutic opportunities[J]. *World J Cardiol*, 2018, 10(9): 74-86.
- [6] Kandula V, Kosuru R, Li H, et al. Forkhead box transcription factor 1: role in the pathogenesis of diabetic cardiomyopathy[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2016, 15(1): 44.
- [7] Li H, Xia Z, Chen Y, et al. Mechanism and therapies of oxidative stress-mediated cell death in ischemia reperfusion injury[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 2910643.
- [8] Xia Z, Chen Y, Fan Q, et al. Oxidative stress-mediated reperfusion injury: Mechanism and therapies[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 2014: 373081.
- [9] Xia Z, Chen Y, Fan Q, et al. Oxidative stress-mediated reperfusion injury 2014[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2015, 2015: 689416.
- [10] García N, Zazueta C, Aguilera-Aguirre L. Oxidative stress and inflammation in cardiovascular disease[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 5853238.
- [11] Goldhaber JJ, Weiss JN. Oxygen free radicals and cardiac reperfusion abnormalities[J]. *Hypertension*, 1992, 20(1): 118-127.
- [12] Kura B, Szeiffova-Bacova B, Kalocayova B, et al. Oxidative stress-responsive microRNAs in heart injury[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(1): 358.
- [13] Wu MY, Yiang GT, Liao WT, et al. Current mechanistic concepts in ischemia and reperfusion injury[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 46(4): 1650-1667.
- [14] Li H, Yao W, Liu Z, et al. Hyperglycemia abrogates ischemic postconditioning cardioprotection by impairing adipoR1/caveolin-3/STAT3 signaling in diabetic rats[J]. *Diabetes*, 2016, 65(4): 942-955.
- [15] Su W, Zhang Y, Zhang Q, et al. N-acetylcysteine attenuates myocardial dysfunction and postischemic injury by restoring caveolin-3/eNOS signaling in diabetic rats[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2016, 15(1): 146.
- [16] Wang T, Mao X, Li H, et al. N-Acetylcysteine and allopurinol up-regulated the Jak/STAT3 and PI3K/Akt pathways via adiponectin and attenuated myocardial postischemic injury in diabetes[J]. *Free Radic Biol Med*, 2013, 63: 291-303.
- [17] Xue R, Lei S, Xia Z, et al. Selective inhibition of PTEN preserves ischaemic post-conditioning cardioprotection in STZ-induced type 1 diabetic rats: role of the PI3K/Akt and JAK2/STAT3 pathways[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2016, 130(5): 377-392.
- [18] Wu Q, Wang T, Chen S, et al. Cardiac protective effects of remote ischaemic preconditioning in children undergoing tetralogy of fallot repair surgery: a randomized controlled trial[J]. *Eur Heart J*, 2018, 39(12): 1028-1037.
- [19] Aghaei M, Motalebnezhad M, Ghorghanlu S, et al. Targeting autophagy in cardiac ischemia/reperfusion injury: A novel therapeutic strategy[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(10): 16768-16778.
- [20] Talukder MAH, Zweier JL, Periasamy M. Targeting calcium transport in ischaemic heart disease[J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 84(3): 345-352.
- [21] Chen C, Lu W, Wu G, et al. Cardioprotective effects of combined therapy with diltiazem and superoxide dismutase on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats[J]. *Life Sci*, 2017, 183: 50-59.
- [22] Yu J, Wu J, Xie P, et al. Sevoflurane postconditioning attenuates cardiomyocyte hypoxia/reoxygenation injury via restoring mitochondrial morphology[J]. *PeerJ*, 2016, 4: e2659.
- [23] Fieni F, Johnson DE, Hudmon A, et al. Mitochondrial Ca^{2+} uniporter and CaMKII in heart[J]. *Nature*, 2014, 513(7519): E1-E2.
- [24] Santulli G, Xie W, Reiken SR, et al. Mitochondrial calcium overload is a key determinant in heart failure[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(36): 11389-11394.
- [25] Cheng Y, Xia Z, Han Y, et al. Plant natural product formononetin protects rat cardiomyocyte H9c2 cells against oxygen glucose deprivation and reoxygenation via inhibiting ROS formation and promoting GSK-3 β phosphorylation[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 2060874.
- [26] Shintani-Ishida K, Inui M, Yoshida K. Ischemia-reperfusion induces myocardial infarction through mitochondrial Ca^{2+} overload[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2012, 53(2): 233-239.
- [27] Kulek AR, Anzell A, Wider JM, et al. Mitochondrial quality control: Role in cardiac models of lethal ischemia-reperfusion injury[J]. *Cells*, 2020, 9(1): 214.
- [28] Chang J, Lien C, Lee W, et al. Intermittent hypoxia prevents myocardial mitochondrial Ca^{2+} overload and cell death during ischemia/reperfusion: The role of reactive oxygen species[J]. *Cells*, 2019, 8(6): 564.
- [29] Dong Y, Chen H, Gao J, et al. Molecular machinery and interplay of apoptosis and autophagy in coronary heart disease[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2019, 136(1): 27-41.
- [30] Del Re DP, Amgalan D, Linkermann A, et al. Fundamental mechanisms of regulated cell death and implications for heart disease[J]. *Physiol Rev*, 2019, 99(4): 1765-1817.
- [31] Kosuru R, Cai Y, Kandula V, et al. AMPK contributes to cardioprotective effects of pterostilbene against myocardial ischemia-reperfusion injury in diabetic rats by suppressing cardiac oxidative

- stress and apoptosis[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 46(4): 1381-1397.
- [32] Li M, Wang D, He J, et al. Bcl-XL: A multifunctional anti-apoptotic protein[J]. *Pharmacol Res*, 2020, 151: 104547.
- [33] Sanderson TH, Gallaway M, Kumar R. Unfolding the unfolded protein response: Unique insights into brain ischemia[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(12): 7133-7142.
- [34] Chen X, Wang Y, Xie X, et al. Heme oxygenase-1 reduces sepsis-induced endoplasmic reticulum stress and acute lung injury[J]. *Mediators Inflamm*, 2018, 2018: 9413876.
- [35] 张琼霞, 夏中元, 苏娃婷, 等. 内质网-线粒体结构偶联在糖尿病心肌缺血再灌注损伤中的作用研究进展[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2017, 9(12): 1538-1540.
- [36] Vekich JA, Belmont PJ, Thuermer DJ, et al. Protein disulfide isomerase-associated 6 is an ATF6-inducible ER stress response protein that protects cardiac myocytes from ischemia/reperfusion-mediated cell death[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2012, 53(2): 259-267.
- [37] Glembocki CC. Roles for ATF6 and the sarco/endoplasmic reticulum protein quality control system in the heart[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, 71: 11-15.
- [38] Shi B, Ma M, Zheng Y, et al. mTOR and beclin1: Two key autophagy-related molecules and their roles in myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(8): 12562-12568.
- [39] Wang S, Wang C, Yan F, et al. N-acetylcysteine attenuates diabetic myocardial ischemia reperfusion injury through inhibiting excessive autophagy[J]. *Mediators Inflamm*, 2017, 2017: 9257291.
- [40] Abdrahmanov A, Gogvadze V, Zhivotovsky B. To eat or to die: Deciphering selective forms of autophagy[J]. *Trends Biochem Sci*, 2020, 45(4): 347-364.
- [41] Zhang D, He Y, Ye X, et al. Activation of autophagy inhibits NLRP3 inflammasome activation and attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury in diabetic rats[J]. *J Diabetes Investig*, 2020. DOI: 10.1111/jdi.13235.
- [42] Sun L, Ma W, Gao W, et al. Propofol directly induces Caspase-1-dependent macrophage pyroptosis through the NLRP3-ASC inflammasome[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(8): 542.
- [43] Ball DP, Taabazuing CY, Griswold AR, et al. Caspase-1 interdomain linker cleavage is required for pyroptosis[J]. *Life Sci Alliance*, 2020, 3(3): e202000664.
- [44] Toldo S, Mauro AG, Cutter Z, et al. Inflammasome, pyroptosis, and cytokines in myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2018, 315(6): H1553-H1568.
- [45] Liu X, Zhang Z, Ruan J, et al. Inflammasome-activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores[J]. *Nature*, 2016, 535(7610): 153-158.
- [46] He WT, Wan H, Hu L, et al. Gasdermin D is an executor of pyroptosis and required for interleukin-1 beta secretion[J]. *Cell Res*, 2015, 25(12): 1285-1298.
- [47] Yue R, Lu S, Luo Y, et al. Calpain silencing alleviates myocardial ischemia-reperfusion injury through the NLRP3/ASC/Caspase-1 axis in mice[J]. *Life Sci*, 2019, 233: 116631.
- [48] Djulbegovic MB, Uversky VN. Ferroptosis--An iron-and disorder-dependent programmed cell death[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 135: 1052-1069.
- [49] Yu H, Guo P, Xie X, et al. Ferroptosis, a new form of cell death, and its relationships with tumorous diseases[J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21(4): 648-657.
- [50] 李文远, 夏中元, 李维, 等. 铁死亡在心肌缺血再灌注损伤中的作用研究进展[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2019, 33(6): 607-610.
- [51] Gao M, Monian P, Quadri N, et al. Glutaminolysis and transferrin regulate ferroptosis[J]. *Mol Cell*, 2015, 59(2): 298-308.
- [52] Ge Z, Lian Q, Mao X, et al. Current status and challenges of NRF2 as a potential therapeutic target for diabetic cardiomyopathy[J]. *Int Heart J*, 2019, 60(3): 512-520.
- [53] Murphy JM, Czabotar PE, Hildebrand JM, et al. The pseudokinase MLKL mediates necroptosis via a molecular switch mechanism[J]. *Immunity*, 2013, 39(3): 443-453.
- [54] Wu J, Huang Z, Ren J, et al. Mkl1 knockout mice demonstrate the indispensable role of Mkl1 in necroptosis[J]. *Cell Res*, 2013, 23(8): 994-1006.
- [55] Sun L, Wang H, Wang Z, et al. Mixed lineage kinase domain-like protein mediates necrosis signaling downstream of RIP3 kinase[J]. *Cell*, 2012, 148(1-2): 213-227.
- [56] Wang L, Wang T, Li H, et al. Receptor interacting protein 3-mediated necroptosis promotes lipopolysaccharide-induced inflammation and acute respiratory distress syndrome in mice[J]. *PLoS One*, 2016, 11(5): e155723.

(此文编辑 曾学清)