

• 综述 •

心肌缺血再灌注损伤的机理 及中药防治的研究

中国中医研究院西苑医院(北京 100091) 许秀森 刘春香

缺血一定时间的心肌恢复灌流后,组织损伤反而进行性加重,心肌细胞从可逆损伤转变为不可逆损伤,该现象称为缺血心肌的再灌注损伤(reperfusion injury)⁽¹⁾,其机理尚不清楚。临床上再灌注损伤引起的心律失常是常见的现象。冠状动脉痉挛后再扩张可以触发心律失常,并被认为是引起猝死的原因之一。在体外循环缺血性心脏停搏的胸外手术中,对经历数十分钟甚或几小时缺血的心肌进行再灌注时常发生严重的室性心律失常。在对急性心肌梗塞的患者进行冠状动脉旁路手术或药物溶栓疗法中也往往会引起再灌注性心律失常⁽²⁾。动物实验发现,再灌注除了引起心律失常外,还可导致广泛的出血性梗塞^(3,4)。

心肌缺血再灌注损伤的机理

目前有许多研究表明,心肌细胞再灌注损伤与自由基有密切的关系。在心肌组织缺血缺氧和再灌注时,自由基可以从心肌细胞内外两个空间中产生^(5~7)。心肌中的黄嘌呤氧化酶在氧化次黄嘌呤过程中产生氧自由基。心肌外中性粒细胞的NADPH氧化酶在“呼吸爆裂”过程中产生氧自由基。在心肌组织缺血缺氧和再灌注后,自由基大量产生及自由基引发的脂质过氧化作用是再灌注损伤的主要原因。另一方面,缺氧和再灌注也削弱了心肌组织内抗自由基系统的活力。在缺血时,心肌细胞的SOD、CAT和GSH-Px活性下降,并使细胞丧失巯基和谷胱甘肽^(8,9)。在再灌注时,内源性的SOD、CAT、GSH-Px可以从缺血区被灌洗掉⁽¹⁰⁾。缺血和再灌注也使线粒体内的Mn-SOD活性减弱⁽¹¹⁾。

心肌缺血和再灌注改变了自由基生成和自由基清除剂之间的平衡,心肌组织中产生了大量的自由基。自由基作用于细胞膜上的不饱和脂肪酸,使膜上脂质过氧化(lipid peroxidation)⁽¹²⁾。膜脂过氧化后改变了膜结合酶、受体和离子通道的脂质微环境,从而改变了这些蛋白质的正常功能;形成了新的离子通道,引起心肌胞浆的钙离子过负荷,并进而钙盐在线粒体中的累积,抑制心肌能量的产生;促进了膜上的蛋白

质和磷脂交联,引起蛋白质不可逆的抑制;氧化膜结合酶活性中心上的巯基,导致酶活性的丧失;脂质过氧化过程的激活,可以使含有大量磷脂酶的溶酶体活化,释放出的磷脂酶和被激活的膜结合磷脂酶能破坏磷脂双层膜并产生溶血磷脂和游离脂肪酸,通过其洗涤作用又能诱导脂质过氧化的激活,这一系列的连锁反应,引起膜对钙离子的通透性的增加,而钙离子又再激活磷脂酶和脂质过氧化反应,这种急性循环的持续进行,最终导致心肌细胞从可逆性损伤发展至不可逆损伤,直至细胞死亡^(11,13)。

中药对心肌缺血再灌注损伤防治的研究

现已发现多种中药及其有效成份具有直接或间接减少氧自由基的产生,清除氧自由基,提高SOD活性以及抗氧化酶类的功能,对心肌缺血和再灌注损伤有保护作用。但目前大多数尚处于动物实验阶段的研究。

一、人参皂甙

方氏等在国内首先对中药防治心肌缺血再灌注损伤进行了研究。发现人参总皂甙对犬心肌梗塞再灌注损伤可使CPK下降,PGI₂上升,TXA₂下降,PGI₂/TXA₂比值趋向平衡⁽¹⁴⁾。其后又用大鼠心脏灌流证实了上述作用⁽¹⁵⁾。李氏等⁽¹⁶⁾对人参皂甙及其组分对心肌细胞缺氧再给氧和心肌缺血再灌注损伤的保护作用进行了研究。实验结果表明:人参总皂甙及其组分R_b+R_c能保护大鼠乳鼠心肌细胞培养缺糖缺氧性损伤,减少再给氧损伤时乳酸脱氢酶(LDH)释放,降低离体大鼠心脏缺血再灌注损伤时肌酸磷酸激酶(CPK)释放。对离体心肌细胞缺氧后再给氧损伤和离体心脏缺血再灌注损伤均有保护作用。杨氏等⁽¹⁷⁾以在体大鼠心肌缺血和梗塞模型观察了人参皂甙的抗心肌缺血作用及其对自由基代谢的影响。实验结果表明:人参皂甙除显著减少大鼠缺血心肌CPK释放并相应降低血清中CPK活性外,同时保护心肌SOD活性,能显著影响心肌梗塞大鼠血清FFA的升高,以及心肌脂质过氧化物(TBA-R₈)含量。

上述实验揭示了人参皂甙对心肌缺血再灌注损伤

的保护作用可能与抗心肌缺血有关,延缓心肌缺血从可逆转为不可逆损伤的病理过程。而其抗心肌缺血作用可能与抑制氧自由基产生有关。人参皂甙能促进 PGI_2 释放,其保护缺血心肌SOD活性和降低脂质过氧化物的作用,可能与此有关。

二、丹参

马氏⁽¹⁸⁾用家兔心肌缺血再灌注损伤模型,以腺苷酸类、脂质过氧化物和心肌总钙为观察指标,分别测定缺血组、缺血再灌组和丹参保护组三组实验动物缺血与非缺血区心肌组织中三项指标的变化。研究表明,缺血再灌组ATP、ADP、AMP、AN(腺苷酸总量)ATP/ADP, ATP/AMP和能均比缺血组丹参保护组的非缺血区与缺血区中上述指标水平明显降低,与缺血组和丹参保护组的非缺血区与缺血区比较,缺血再灌组的缺血区脂质过氧化物水平明显增加,而该组缺血区心肌钙也明显增加($P < 0.01$),研究结果证明了丹参可保护缺血再灌损伤的心肌。孙氏⁽¹⁹⁾等用大鼠离体心脏灌注模型观察丹参酮对心肌缺血再灌注损伤的保护作用。结果表明再灌注加丹参组与再灌注组脂质过氧化物水平之间差异显著($P < 0.001$)。用DPH探针($2 \times 10^{-6}\text{M}$)方法观察心肌线粒体膜流动性,结果显示再灌注组心肌线粒体的荧光偏振度(ρ)和微粘度(η)均高于再灌注加丹参酮组,差异显著($P < 0.05$)。心肌细胞超微结构观察结果显示再灌注组心肌细胞结构破坏严重,细胞水肿加剧,线粒体极度肿胀,出现大范围空化区溶解,肌后纤维节断裂溶解,间盘水肿扩张。再灌注加丹参酮组,依丹参酮含量的增加即10mg/L、20mg/L、30mg/L三种水平丹参酮,其心肌超微结构的损伤依次减轻,甚至接近正常对照组,再灌注加30mg/L丹参酮组,心肌超微结构与正常对照组差异不显著,粗细肌丝有规律地相间排列,明暗带清晰可见。线粒体膜完整,嵴致密,未见粗大高电子密度颗粒,糖原颗粒丰富,间盘结构正常。再灌注加丹参酮10mg/L、20mg/L和30mg/L三种水平组时心肌线粒体膜流动性等对照比较,差异不显著($P > 0.05$),心肌组织超微结构损伤亦轻。说明丹参酮对缺血再灌注损伤有保护性效应。唐氏⁽²⁰⁾也采用大鼠离体心脏灌注模型观察了丹参素对心肌缺血再灌注损伤时的保护作用。实验结果显示:随着缺血时间的延长,SOD及GSH—Px的活性逐步下降。当心肌缺血40min后富氧再灌注20min,SOD的活性仍然继续下降,GSH—Px的活性明显低于60min组,此时超微结构损伤最为严重。预先给丹参素及亚硒酸再进行缺血再灌注,心肌SOD,GSH—Px活性明显高于单纯缺血再灌

注时,超微结构损伤亦较轻,凡丹参素的保护效果优于亚硒酸钠。杨氏^(21,22)等用电子顺磁共振(ESR)直接观察了用冷钾停搏液停搏的离体兔心在有氧再灌注前后的氧自由基改变,研究SOD、CAT和复方丹参注射液对心肌再灌注产生的氧自由基的清除作用。结果表明,复方丹参注射液能有效地清除心肌再灌注产生的氧自由基。其效果与SOD相似,而优于CAT。推测复方丹参注射液能保护心肌的机制之一是清除氧自由基免于对心肌再灌注时的损伤。其后又用黄嘌呤——黄嘌呤氧化酶体系产生超氧阴离子 $\text{H}_2\text{O}_2\text{—Fe}^{3+}$ 体系产生羟自由基,利用ESR和自旋捕集技术研究了复方丹参注射液的氧自由基清除作用。研究结果表明,丹参注射液对 $\text{H}_2\text{O}_2\text{—Fe}^{3+}$ 体系中的羟自由基的清除率为65%,对黄嘌呤——黄嘌呤氧化酶体系中超氧阴离子的清除率为100%。提高清除具有细胞毒性的氧自由基可能是丹参的重要药理机制之一。

三、其他

李氏⁽²³⁾对绞股蓝总皂甙(Gyperosides, GP)对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用进行了研究。研究表明,GP显著提高心肌GSH—Px活性,使GSH—Px/MDA比值显著升高,机体抗氧化能力有所提高,使产生的氧自由基可能得到及时的清除,同时,GSH—Px可能阻止脂质过氧化反应,使心肌MDA含量降低,心肌细胞线粒体膜流动性维持正常状态,心肌超微结构明显得到保护,提示GP可能通过某些途径降低氧自由基,发挥其抗氧化效应,保护心肌缺血再灌注损伤的作用。

李氏⁽²⁴⁾用三七总皂甙(PNS)观察其对整体大鼠和离体心脏心肌缺血再灌注损伤作用,并探讨了PNS对氧自由基损伤心肌的影响。实验结果证明,PNS呈剂量依赖性地缩小在体大鼠冠脉结扎再通后梗死范围,减轻离体灌流大鼠心脏低灌复灌引起的心肌CPK释放和钙聚集;显著保护SOD活力的降低,减少MDA生成。提示PNS的抗脂质过氧化作用是其保护缺血再灌注心肌的一个重要方面。

成氏⁽²⁵⁾、胡氏⁽²⁶⁾分别用蝙蝠葛碱、粉防己碱和唐松草舒平定(Thalisopidine, thal)对大鼠冠脉复灌所致心律失常的影响进行了研究。实验表明,在麻醉大鼠缺血复灌模型上,复灌可恒定而可靠地诱发多种类型的严重的室性心律失常。粉防己碱的保护作用较弱,而蝙蝠葛碱能显著地抗复灌所致的心律失常,尤其表现在降低室颤的发生率上。thal可使室速及室颤的发生率均降低。其机理为蝙蝠葛碱对心肌细胞 Na^+ 、 Ca^{2+} 内流均有抑制作用,粉防己碱和thal主要抑制心

肌细胞 Ca^{2+} 内流。

心肌缺血再灌注损伤的防治,是当代心血管病学研究的前沿学科之一。近年来由于介入心脏学的开展,使这课题的研究得以迅速发展,国内许多实验室进行了活性氧与心肌再灌注损伤之间关系的研究。除对活性氧进行直接测定外,还观察了各种活性氧清除剂能否减轻再灌注损伤以及加入活性氧发生系统后,再灌注损伤是否加重。并在多种动物体内外复制出各种心肌缺血再灌注损伤模型,从不同水平和角度对心肌各类功能指标,酶学指标及超微结构进行了测定和观察。中药防治心肌缺血再灌注损伤的研究,目前还不够深入,国内一些实验室仅开展了少数几味中药有效成份对心肌缺血再灌注损伤防治的研究。而且多侧重从心肌酶与代谢产物测定及超微结构观察等方面的研究,对心肌各类功能指标如心肌收缩力,冠脉流量,左室舒张末压等观察较少,对复方中药制剂观察较少,大量抗心肌缺血的中药对再灌注损伤的影响还需系统深入地结合中医理论及临床进行研究,以希它们在防治心肌缺血再灌注损伤中发挥作用。

参 考 文 献

1. Braunwald E, et al. Myocardial Reperfusion, A Double edged sword? *J clin Invest* 1985; 76 (5): 1713.
2. Bernier M, et al. Reperfusion induced Arrhythmias and Oxygen derolved free redicals. *Circ Res* 1986; 58: 331.
3. Kaplinsky E, et al. In stantaneous and delayed ventricular arrhythmias after reperfusion of acutely ischemic myocardium: Evidience for multiple mechanisms. *Circulation* 1981; 63: 333.
4. Axelrod KJ, et al. Vulnerability to Ventricular fibrillation during acute coronary arterial occlusion and release. *Am J cardiol* 1975; 36: 776.
5. 陈 修. 抗心肌缺血药研究的新思路与方法. *药 学 学 报* 1987; 22: 161.
6. 姚 睦. 再灌注与自由基: 再灌注损伤机制的探讨. *国外医学(心血管分册)* 1987; 14(2): 100.
7. Rook Pk, et al. H_2O_2 velcase from human granulocytes during phagocytosis, Relationship to super oxide anion for mation and cellular catabolism of H_2O_2 , studys with normal and cytochalasin B-treated cells. *J Clin Invest* 1977; 60: 1266.
8. Rao PS, et al. Lipid peroxide production and glutathione peroxidase depletion in rat myocardium after acute infarction. *Clin Chem* 1981; 27: 1027.
9. Guarnieric, et al. Role of hypoxic heart. *J Mal Cell Cardiol* 1980 12: 797.
10. McCord JM. In therapeutic approaches to myocardial infaret sire, Limitation 1984: 209.
11. Ferrari R, et al. Intra cellular effects of myocardial is chemic and reperfusion, role of calcium and oxygen. *Eur Heart J* 1986; 7(supply A): 3.
12. Jame A, et al. The oxygen free radical system, A fundamental mechanism in the production of myocardial necrosis. *Prog Cardiovasc Dis* 1986; 28: 449.
13. Meuron FZ, et al. The role of lipid peroxidation in pathogenesis of ischemic damage and the antioxidant protection of the heart. *Basic Research Cardiol* 1982; 77: 465.
14. 方云祥, 等. 人参总皂甙能保护心肌梗塞再灌注损伤并改善 $\text{PGI}_2/\text{TXA}_2$ 比值. *心血管药理学动态(中国药理学会四川分会编印)*, 1985: 1428.
15. 方云祥, 等. Beneficial changes in PGI_2 and TXA_2 by ginsenosides in experimental myocardial infarction. *中国药理学报* 1986; 7: 226.
16. 李元建, 等. 人参皂甙及其组分对心肌细胞缺氧再给氧和心肌缺血再灌注损伤的保护作用. *药理学报* 1987; 22: 1.
17. 杨白纯, 等. 人参皂甙有效组分与心得安保护大鼠心肌缺血与抗脂质过氧化的关系. *中华医学杂志* 1988; 65 (5): 294.
18. 马丽英, 等. 急性心肌缺血灌注损伤及其保护的研究: 丹参制剂的作用. *中国病理生理杂志* 1989; 5(4): 212.
19. 孙丹丹, 等. 丹参酮对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用. *中国病理生理杂志* 1989; 5(7): 394.
20. 唐立辉, 等. 丹参素对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用. *中国病理生理杂志* 1989; 5(2): 65.
21. 杨卫东, 等. 电子顺磁共振直接检测心肌再灌注产生的氧自由基. *中华心血管病杂志* 1989; 17(3): 178.
22. 杨卫东, 等. 丹参的氧自由基清除作用. *中国药理学通报* 1990; 6(2): 118.
23. 李冬辉, 等. 绞股蓝总皂甙对大鼠心肌缺血/再灌注损伤的保护作用. *基础医学与临床* 1990; 10(1): 29.
24. 李 杏, 等. 三七皂甙对大鼠实验性心肌缺血再灌注损伤的保护作用. *中国药理学报* 1990; 11(1): 26.
25. 成建华, 等. 奎尼丁、蝙蝠葛碱、粉防己碱对大鼠复灌所致心律失常的影响. *中国药理学通报* 1989; 5(3): 151.
26. 胡国胜, 等. 唐松草舒平定抗实验性心律失常作用. *中国药理学通报* 1990; 6(2): 109.