

·药物评价·

钙超载与心肌缺血再灌注损伤

第二军医大学药学院中西药研究室(上海200433)

陶学斌 李万玄

心肌缺血再灌注损伤(myocardial reperfusion injury, MRI)的发生机制研究甚多,目前尚未完全阐明,但有许多研究表明^[1-3],钙超载和氧自由基产生在MRI中发挥重要作用。本文就细胞钙稳态;钙超载与MRI;钙超载与氧自由基的关系等加以综述。

一、钙稳态

钙在维持心肌细胞兴奋耦联中起着重要作用。正常心肌细胞中钙大部分储存于线粒体,肌浆网及肌纤维膜中。细胞内钙稳态是调节细胞功能的必要条件,细胞外钙通过影响细胞内钙稳态而发挥作用。

生理情况下,胞内游离钙浓度比胞外低10000倍,维持这么高的浓度梯度对细胞生存极其重要。而维持此浓度梯度主要靠以下三个过程调节:

1. 跨胞质膜钙离子转运 (1) Ca^{2+} -ATPase逆电化学梯度主动将胞内钙泵出,此酶活性依赖于ATP及游离巯基^[4,5]; (2) Na^+ 刺激钙释放,胞内 Na^+ 可启动或调节钙流入细胞^[6]; (3) 钙顺电化学梯度被动扩散^[6]。

2. 内质网和胞质钙交换 内质网膜上的 $\text{Mg}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 可被钙激活,进而调节钙通过内质网膜的主动转运^[4]。

3. 线粒体摄取钙和释放钙 线粒体膜上存在两种不同的钙外流和内流通道。摄取钙是质子易位产生的膜电位驱动的电泳过程,钙通过单传递进入线粒体,通过对输出流,如果膜电位锐减,则钙很快通过单传递外流^[4]。正常情况下,线粒体摄钙速度很慢,但其储钙量极大,是调节胞内钙浓度最强

的细胞器^[7]。

二、缺血心肌再灌注时钙超载发生的机制

钙超载即心肌在较长时间严重缺血后再灌注时,胞浆钙显著增高。Shen^[8]等报道,再灌注早期胞浆钙急剧上升,高出正常值8~10倍。钙超载发生机理很复杂,研究表明主要有以下几种可能的机制:

心肌能量代谢障碍 能量代谢障碍,ATP缺乏是MRI发生的重要原因之一^[9]。缺血后,由于ATP缺乏,细胞膜上 Na^+/K^+ -ATPase 活性降低,胞内 Na^+ 浓度增高,进而激活 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换蛋白, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换增加,进入胞内 Ca^{2+} 增多。同时,ATP缺乏导致细胞膜 Ca^{2+} -ATPase 活性降低,对胞内钙水平调节能力减弱,进入胞内的钙不能被及时转运出去,而形成钙超载。Steenbergen^[10]等报道,心肌组织中ATP含量降至正常40%以前,心肌胞浆钙接近正常水平;当降至低于正常40%后,再灌注时胞浆钙即显著增加。当灌注液中加入葡萄糖时,钙超载不明显,心律失常较轻。提示ATP缺乏是引起钙超载的重要原因。

肌浆网受损 长时间缺血后,电镜观察表明,再灌注心肌细胞的肌浆网膜出现缺损,不连续。通透性升高,钙大量进入胞浆^[11],肌浆网膜上的 $\text{Mg}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性因ATP缺乏而受抑,重摄取钙能力下降,胞浆钙含量升高,发生钙超载。

钙被动扩散增加 严重缺血缺氧可引起心肌细胞通透性增高,再灌注时,大量钙被

动扩散进入细胞,使胞浆钙升高。灌注液中的钙激活胞膜内的钙敏磷脂酶,引发脂质过氧化,增加胞内过氧化脂质含量,后者在膜上打开一些新通道^[12,13]。

自由基介导钙超载 自由基作用于生物膜上的多不饱和脂肪酸,产生脂质过氧化,使膜结构受损,通透性升高,钙内流增加。同时自由基可使胞膜磷脂镶嵌蛋白解聚,解聚的蛋白重新形成新的钙通道,加剧钙内流。Heses^[14]等认为过氧化脂质可破坏肌浆网膜上ATPase的巯基及钙调蛋白,使酶活性降低,重摄取钙能力下降,胞浆内游离钙增加,引起钙超载。离体肌浆网暴露于氧自由基生成体系后,钙吸收降低,钙调功能受损,而自由基清除剂可逆转上述变化^[15]。

三、钙超载引起MRI的机制

1. 线粒体功能障碍及能量耗竭 生理情况下,线粒体是钙调节最重要的细胞器,但过量的钙可引起线粒体乃至整个细胞的损伤。线粒体吸收钙是与氧化磷酸化耦联的^[16],需ATP存在或与呼吸链反应交替进行。用分离的线粒体观察到每对电子从NADH传递至 O_2 ,有5个 Ca^{2+} 从基质中被摄取,即每个能量储存部位可获取1.7个 Ca^{2+} ,说明电子传递产生的能量或用于ATP合成或用于钙摄取,但不可同时进行。线粒体内过量钙存在使线粒体氧化磷酸化解耦联,ATP合成减少;同时钙可激活 Ca^{2+} -ATPase,摄取过量钙必然消耗大量ATP。线粒体每摄取2ml钙要消耗1molATP。ATP消耗增加,合成减少,最终导致ATP及CP等能量储备耗竭。线粒体内过量钙可抑制腺苷酸移位酶,使线粒体膜ADP/ATP交换受阻,胞浆中ATP水平下降,肌浆网重摄取钙能力下降,加重胞内钙超载。线粒体摄取钙的同时释放 H^+ 于胞浆中,致胞浆酸化,促进溶酶体酶的激活,加重细胞损伤。胞浆内腺苷含量升高,参与自由基形成,引起胞膜及线粒体膜损伤;线粒体在超载在摄取过量钙,易生

成磷酸钙沉淀,从而加重线粒体膜结构的损伤。形态学上可见线粒体肿胀,内嵴断裂或消失,基质内大量无定形电子致密体沉积,构成不可逆损伤。总之,钙超载诱发的线粒体功能障碍,ATP合成减少,胞浆ATP消耗增加,最终导致高能磷酸键耗竭是钙超载引起MRI的关键所在。

2. 酶的激活 钙超载激活某些钙敏磷脂酶,使膜结构降解,并产生游离脂肪酸、溶血磷脂等细胞毒性物质^[17]。钙也可激活或调节另外许多重要酶,如蛋白酶,核糖酶,腺苷环化酶 Na^+/K^+ -ATPase及糖原磷酸酶的生活。

3. 氧自由基的产生 钙超载引起钙敏蛋白水解酶活性增高,后者可使黄嘌呤脱氢酶转变为黄嘌呤氧化酶,黄嘌呤氧化酶催化次黄嘌呤氧化成尿酸,同时伴有大量超氧阴离子产生。氧自由基又是引起MRI的重要因素^[15]。

4. 心律失常与心肌挛缩 心肌缺血再灌注可引起严重的心律失常,Clusin认为这与钙超载有关^[18]。严重的心律失常干扰心肌的离子转运与电活动,影响其能量代谢,加剧心肌损伤。能量缺乏及胞内游离钙浓度增加可致心肌挛缩。Richard^[19]等将成年大鼠心室肌细胞暴露于自由基发生体系,可见单个被激活肌细胞颤动幅度一过性增加,收缩功能异常,甚至挛缩变得不可兴奋,并伴有胞内钙浓度增高,上述变化可被钙通道拮抗剂尼群地平抑制。挛缩可致膜肌破裂,酶释放^[7],蛋白质漏出。形态学上可见,闰盘断裂,收缩带形成,呈不可逆损伤。

四、钙超载与自由基

自由基与钙超载被认为是MRI的两个主要机制^[1],在MRI发生过程中两者相互作用相互影响。氧自由基可直接作用于 Na^+/K^+ -ATPase和 Ca^{2+} -ATPase,增加 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, $\text{K}^+/\text{Ca}^{2+}$, $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换,引起钙超载;也可攻击胞膜磷脂镶嵌蛋白,形成新的

钙通道,加剧钙超载。自由基引起的MRI部分是由钙超载介导的。Mary C^[2]等将离体新西兰大鼠的心肌细胞暴露于H₂O₂/Fe³⁺自由基生成体系,立即出现钙不可逆升高,尔后出现一系列MRI反应。钙超载则可通过启动黄嘌呤/黄嘌呤氧化酶系统产生大量超氧阴离子;也可激活磷脂酶A₂,通过花生四烯酸途径产生大量氧自由基。自由基与钙超载相辅相成,在MRI由可逆变成不可逆的过程发挥重要作用。

Hearse^[20]等发现,自由基清除剂或/和抗氧化剂显著减轻短时间(5~10 min)缺血后再灌注引起的心律失常。而对较长时间(20~30 min)缺血后再灌注引起的心律失常无明显减轻作用;低钙灌注则相反。提示:短时间缺血后再灌注,大量产生的自由基是MRI发生的主要原因;较长时间缺血后,由于ATP耗竭,线粒体结构和功能受损,再灌注时自由基生成量少,相反通过前述多种机制,导致胞浆钙显著增加,钙超载成为MRI的主要原因。

MRI机理很复杂,还有待进一步研究。自由基学说与钙超载学说日益受到重视,尤其是后者近年成为研究热点。

参考文献

- [1] Opie LH. *Inter J Cardiol*, 1939, 29:159
- [2] Mary C, et al. *J Clin Invest*, 1991, 89: 104
- [3] Richard A, et al. *J Biol Chem*, 1991, 266(4):2354
- [4] Thomas CE, et al. *Hepatology*, 1989, 10 (3):375
- [5] Lin SH. *J Biol Chem*, 1986, 260(19):7350
- [6] Schanne FAX, et al *J Biol Chem*, 1986, 260(21):9883
- [7] Ganote CE, et al. *J Mol Cell Cardiol*, 1985, 17:733
- [8] Shen AC, et al. *Am J Pathol*, 1972, 67: 417
- [9] Hearse DJ. *J Mol Cell Cardiol*, 1977, 9:607
- [10] Steenberg C, et al. *J Mol Cell Cardiol (Suppl.2)*. 1989 No. 431.
- [11] Jennifer S, et al. *Am J Cardiol*, 1989, 63:7E
- [12] Lubbe WF, et al. *Cardiovasc Res*, 1978, 12:212
- [13] Gesser H, et al. *J Mol Cell Cardiol*, 1988, 20:397
- [14] Hess ML, et al. *J Mol Cell, Cardiol*, 1984, 16:969.
- [15] Guiseppe A, et al. *Am J Med*, 1991, 91(Suppl.3C):86s
- [16] Nicholls D, et al. *Biochem Biophys Acta*, 1982, 633:57
- [17] Katz A, et al. *Circ Res*, 1981, 48(1):1
- [18] Clusin WT, et al. *Lancet*, 1983, 17: 272
- [19] Hasin Y, et al. *J Mol Cell Cardiol*, 1984, 16:823
- [20] Hearse DJ, et al. *J Mol Cell Cardiol*, 1988, 20:213

硒的药理作用及其保健价值

解放军第538医院(陕西西乡 723500)

倪根珊 丁兆平 姜恩欣

硒是生物体内必需的微量元素^[1], 正常

人血浆硒含量为1~3ug/L, 尿硒含量为0~