doi:10.11659/jjssx.07E016024

·综述·

线粒体在抗心肌缺血再灌注损伤中作用的研究进展

刘 雪[1],邓胜利[2],朱昭琼[2] (1.遵义医学院麻醉学系,贵州省麻醉与器官保护基础研究重点实验室,贵州 遵义 563000;2.遵义医学院附属医院麻醉科,贵州 遵义 563003)

Research progress of mitochondrion in preventing myocardial ischemia reperfusion injury

LIU Xue[1],DENG Sheng-li[2],ZHU Zhao-qiong[2] (1. Department of Anesthesiology,Zunyi Medical University,Anesthesia and Organ Protection Laboratory in Guizhou,Zunyi Guizhou 563000,China;2. Department of Anesthesiology,Affiliated Hospital of Zunyi Medical University,Zunyi Guizhou 563003,China)

[摘 要] 主动脉夹层和二、三尖瓣置换等手术都会涉及心肌缺血再灌注损伤(MIRI),而线粒体作为细胞重要的细胞器,是进行电子传递、氧化磷酸化和三羧酸循环产生 ATP 的重要场所。线粒体结构和功能的完整对于心肌细胞的存活具有重要意义,且其在抗心肌缺血再灌注损伤(MIRI)中同样发挥着举足轻重的作用。本文综述了线粒体 ATP(mitoKATP)、线粒体通透性转换孔(MPTP)及线粒体缝隙连接蛋白 43(Cx43)与 MIRI 的关系,为心肌保护、医药研究等提供理论依据。

[关键词] 线粒体;心肌;缺血再灌注损伤;mitoKATP;MPTP;Cx43

[中图分类号] R614 [文献标识码] A [收稿日期] 2016-10-07

主动脉夹层和二、三尖瓣的置换等许多心血管系统疾病的手术以及体外循环的开展均毫无疑问地会涉及心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia reperfusion injury,MIRI),对于 MIRI 的研究一直都是心血管领域研究的重中之重。线粒体作为细胞重要的细胞器,是中心代谢途径的核心场所,其在抗 MIRI 中发挥着重要的作用,而对抗 MIRI 的研究逐渐趋向于线粒体结构与功能保护。线粒体的功能除合成 ATP 外,还在细胞增殖与分化、信号传递及细胞凋亡的调控、钙稳态调节等方面发挥着重要作用。众所周知,线粒体结构与功能的完整是电子传递、氧化磷酸化、三羧酸循环等细胞生命活动得以正常进行的前提和基础[1]。然而在某些病理生理改变如缺血或再灌注时,线粒体结构与功能的紊乱可能是导致 MIRI 的重要原因,尤其是对高耗能的心脏器官。本文就心肌线粒体研究较多的线粒体 ATP 敏感性钾通道(mitochondrial ATP-sensitive potassium channels,mitoK_{ATP})、线粒体通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore,MPTP)及线粒体缝隙连接蛋白 43 (connexin43,Cx43)等有关心肌线粒体与 MIRI 之间关系作一综述。

1 mitoK_{ATP}与 MIRI

现关于 mitoK_{ATP}的分子结构众说纷纭,目前对其研究较多的是Kir6.1、Kir6.2和SUR。有学者利用免疫学技术或手段对组成其分子结构的 Kir6.1 进行研究发现其在线粒体内高度表达,提示 Kir6.1 可能是 mitoK_{ATP}通道的一个亚基[2]。而又有学者对 SUR 进行研究发现其可能是一个相对分子质量为 28 ku 的多肽[3]。尽管对其分子结构的组成仍有争论,但其基本生理作用主要是维持线粒体内钾离子平衡,通过钾离子的重新摄取与转移达到部分补偿质子泵产生的电荷移动,从而维持细胞膜内外的电位差和 pH 的相对稳定。同时,ATP 敏感性钾通道(K_{ATP})也被大多数学者认为是抗 MIRI 的终末效应器,心肌保护作用的发挥最终是激活了 K_{ATP},且 K_{ATP}通道的活性受许多因素包括药物的调控,如通道开放剂和阻滞剂等,开放剂主要有二氮嗪、尼可地尔、克罗卡林、吡那地尔等,其中二氮嗪、尼可地尔选择性激活 mitoK_{ATP}通道。阻断剂分为非磺酰脲类和磺酰脲类 2 种,而非磺酰脲类 5-羟葵酸选择性阻断 mitoK_{ATP}通道。然而,mitoK_{ATP}可能通过以下几方面发挥心肌保护的作用:①mitoK_{ATP}通道的开放可使钾离子大量内流进入线粒体,导致了细胞膜电位的下降,使线粒体膜发生去极化,降低了钙离子内流动力,抑制了钙离子内流,从而有效减轻了线粒体内钙超载,促进胞浆内钙离子浓度增加,进而通过一系列途径激活蛋白激酶 C(PKC),从而发挥抗 MIRI 的作用[4]。②研究 mitoK_{ATP}通道对氧自由基生成发现,mitoK_{ATP}通道的开放可以增加或减少氧自由基的生成,关键取决于 mitoK_{ATP}通道开放的时间对 MIRI 作用。在缺血时,有学者通过使用乙酰胆碱、二氮嗪等诱导 MIRI 早期 mitoK_{ATP}通道开放有少量活性氧(reactive oxidative

[基金项目] 贵州省科技厅社会发展攻关项目[黔科合 SY 字(2013)3024 号]

[通信作者] 邓胜利,E-mail:zydsl2004@163.com

specimen,ROS)产生,用其特异性阻滞剂 5-羟葵酸和氧自由基清除剂均能拮抗这种效应。再灌注时 mitoK$_{ATP}$通道开放又能抑制 ROS 的爆发,避免机体产生过多的氧自由基,从而产生抗 MIRI 作用。③Urocortin Ⅰ(Ucn Ⅰ)是近年来研究发现的一种由 40 个氨基酸残基构成的一种内源性神经肽,为促肾上腺皮质激素释放激素(CRF)家族的新成员。相关研究表明 Urocortin Ⅰ主要分布于心血管、中枢、消化、生殖以及免疫系统等[5-7],尤以心脏为甚。而关于 Urocortin Ⅰ与 ATP 敏感性钾通道之间的关系研究,Lawrence 等[8]使用基因芯片技术发现:Urocortin Ⅰ可上调 K$_{ATP}$亚单位 Kir 6.1的基因表达,而对 Kir 6.2、SUR1 和 SUR2 K$_{ATP}$亚单位表达无影响,说明 Urocortin Ⅰ抗 MIRI 的作用与 K$_{ATP}$的某些亚单位蛋白是否表达有关。④关于 mitoK$_{ATP}$通道与凋亡的关系 Ichinose 等[9]在诱导凋亡模型实验中发现,在诱导凋亡前或凋亡后应用二氮嗪却能产生不同的效果,在诱导前给予二氮嗪凋亡可以被抑制,且 mitoK$_{ATP}$通道阻滞剂可阻断这种作用,而在诱导凋亡开始后应用二氮嗪,却不能抑制凋亡,这表明 mitoK$_{ATP}$可能与抗细胞凋亡有关,且其作用与 mitoK$_{ATP}$开放时间有关。关于抗凋亡的原因 McCully 等[10]在猪体外循环时发现 mitoK$_{ATP}$开放剂二氮嗪通过降低促凋亡蛋白 Bax 表达、抑制 caspase-3 的活化,减少心肌细胞的凋亡,从而产生心肌保护作用。表明 mitoK$_{ATP}$通道的开放可以抗凋亡。

2 MPTP 与 MIRI

既往关于 MPTP 的组成研究与现研究有所不同,现人们通过把由 Ppif 基因编码的基质的亲质蛋白 D(Cyp-D)的 Ppif 基因敲除,发现能有效地减少因 Ca^{2+} 超载或氧化应激所诱导的小鼠线粒体及细胞 MPTP 的开放。后又有研究发现缺少此基因的小鼠与非缺乏者相比,其对 MIRI 破坏的承受能力及抗细胞凋亡的能力显著增强[11]。这使得基质的亲质蛋白 D 是 MPTP 的组成成分的观点得到了基因学的证实,动摇了既往研究所认为的电压依赖性阴离子通道(voltage dependent anion channel,VDAC)、内膜的腺苷酸转移酶(adenine nucleotide translocator,ANT)是 MPTP 必须组成成分的观点。然而影响 MPTP 开放的因素有许多,如 ROS 及 Bcl-2 家族蛋白等。缺血再灌注导致呼吸链及其链上的复合物结构与功能的改变及呼吸酶活性的下降,使氧化磷酸化、电子传递及偶联受阻,三羧酸循环障碍,ATP 合成减少,ROS 生成大量增加,氧自由基增多,使还原状态 GSH 或 NADPH 被氧化促使 MPTP 广泛开放。另外,ROS 可攻击线粒体内外膜蛋白及膜磷脂,使线粒体膜的完整性遭到损害,导致线粒体膜的通透性增加,进一步诱发 MPTP 开放[12]。因此,MIRI 过程中 ROS 的生成是导致 MPTP 大量开放的主要原因[13]。且 MPTP 开放对细胞有一定的破坏,破坏程度与其开放的状态有关。MPTP 在未受到任何外界影响的情况下常处于关闭状态,此时线粒体内膜的通透性具有选择性,仅对某些代谢底物和离子可选择性通透。当 MIRI 时上述因素改变引起 MPTP 不同程度地开放导致细胞坏死或凋亡。如果 MPTP 长期持续开放,则可引发细胞不可逆转的损伤[14]。反之,若 MPTP 开放受到抑制心肌细胞就可以得到保护。可见,MPTP 的开与闭与其对心肌的保护作用有关。

3 mitoKCa 通道与 MIRI

mitoKCa 通道有两大主要特点:①是一种电压依赖性的钙通道;②对钙离子具有高度的敏感性。而目前对其结构组成尚有争议,有研究认为 mitoKCa 通道主要由构成其孔道和调节性的 tv 亚基及 β 亚基组成[15]。而又有学者认为 mitoKCa 通道的组成并不含有 β 亚基,但 mitoKCa 通道的电压敏感性可受 β 亚基调节,并影响着通道的激活[16]。关于 mitoKCa 通道抗 MIRI 的作用机制目前报道并不多,有研究发现在缺血情况下,mitoK$_{ATP}$通道开放可有致命性的恶性心律失常事件发生,而 mitoKCa 通道则很少会有这种危险,推测与 mitoKCa 通道的开放可能更有利于减少细胞内钙超载,可进一步减轻对细胞和线粒体基质的破坏,从而发挥抗 MIRI 作用有关[17]。这在人和动物的实验研究中得到证实并有望为新药的开发提供依据[18-19]。还有研究报道关于蛋白激酶 A(protein kinasenase A,PKA)可介导和调节 mitoKCa 通道的开放剂 NS1619 激发的钙激活,有利于黄素蛋白的氧化,使 mitoKCa 通道活性增加,进而产生抗 MIRI 作用[20]。

4 Cx43 蛋白与 MIRI

目前对 Cx43 蛋白的研究仍相对较少,它是一种特殊的心肌缝隙连接的通道蛋白,存在于人的心血管系统内,其结构的完整性是其功能正常发挥的前提与保证。Cx43 蛋白的分布与表达是否受到破坏关系到其通道的传导性及通透性等特性的正常发挥[21-23]。而关于 Cx43 蛋白在抗 MIRI 中的机制目前鲜有报道,研究发现 Cx43 蛋白在正常情况下处于磷酸化状态,当其受到外界的破坏及发生 MIRI 时,其结构及分布与表达发生改变,导致其出现脱磷酸状态,使心肌细胞间物

质的传递及偶联发生障碍,损害心肌细胞,甚至使心肌细胞发生坏死或凋亡[24-27]。

5 展望

随着人们求医意识的增强及医学知识的普及加之医学技术的发展,越来越多的心血管患者选择冠脉搭桥及心脏移植等手术治疗。然而如何减轻心肌缺血或再灌注对患者的损伤或将这种损伤降至最低显得甚为重要。本文仅仅对目前研究相对较多的线粒体结构和功能的几个方面在抗 MIRI 中的作用做一总结。尽管线粒体的结构和功能极其复杂,其在抗 MIRI 中的作用机制还未完全阐明,但线粒体在心肌保护中的地位越来越受到研究者的关注,相信随着科技的进步及研究的深入,线粒体的保护将是心肌保护的新靶点,同时,线粒体的保护定会为抗 MIRI 开辟新的途径,也将会为新药的开发提供理论依据。

[参考文献]

[1] Hallar AR, Burke N, Dongworth RK, et al. Mitochondrial fusion and fission proteins: novel therapeutic targets for combating cardiovascular disease[J]. Br J Pharmacol, 2014, 171(8): 1890 – 1906. doi: 10.1111/bph.12516.

[2] Najib J. Eszopiclone, a nonbenzodiazepine sedative-hypnotic agent for the treatment of transient and chronic insomnia[J]. Clin Ther, 2006, 28(4): 491 – 516. doi: 10.1016/j.clinthera.2006.04.014.

[3] Melton ST, Wood JM, Kirkwood CK. Eszopiclone for insomnia[J]. Ann Pharmacother, 2005, 39(10): 1659 – 1666.

[4] Jia D. The protective effect of mitochondrial ATP-sensitive K^+ channel openernicorandil, combined with Na^+/Ca^{2+} exchange blocker KB-R7943 on myocardial ischemia-reperfusion injury in rat[J]. Cell Biochem Biophys, 2011, 60(3): 219 – 224. doi: 10.1007/s12013 – 010 – 9142 – 8.

[5] Bagosi Z, Csabafi K, Palotai M, et al. The effect of urocortin I on the hypothalamic ACTH secretagogues and its impact on the hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis[J]. Neuro-peptides, 2014, 48(1): 15 – 20. doi: 10.1016/j.Npep.2013.11.002.

[6] Gao L, Tao Y, Hu T, et al. Regulation of estradiol and progesterone production by CRH-R1 and -R2 is through divergent signaling pathways in cultured human placental tropho blasts[J]. Endocri-nology, 2012, 153(10): 4918 – 4928. doi: 10.1210/en.2012 – 1453.

[7] Walczewska J, Dzieza-Grudnik A, Siga O, et al. The role of urocortins in the cardiovascular system[J]. J Physiol Pharmacol, 2014, 65(6): 753 – 766.

[8] Lawrence KM, Townsend PA, Davidson SM, et al. The cardioprotective effect of urocortin during ischaemia/reperfusion involves the prevention of mitochondrial damage[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 321(2): 479 – 486. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.06.170.

[9] Ichinose M, Yonemochi H, Sato T, et al. Diazoxide triggers cardioprotectin against apopto sis induced by oxidative stress[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2003, 284(6): H2235 – H2241. doi: 10.1152/ajpheart.01073.2002.

[10] McCully JD, Wakiyama H, Cowan DB, et al. Diazoxide amelioration of myocardial injury and mitochondrial damage during cardiac surgery[J]. Ann Thorac Surg, 2002, 74(6): 2138 – 2145.

[11] Piot C, Croisille P, Staat P, et al. Effect of cyclosporine on reperfusion injury in acute myocardial infarction[J]. N Engl J Med, 2008, 359(5): 473 – 481. doi: 10.1056/NEJMoa071142.

[12] Kinnally KW, Peixoto PM, Ryu S, et al. Is MPTP the gatekeeper for necrosis, apoptosis, or both[J]. Biochim Biophys Acta, 2011, 181(34): 616 – 622. doi: 10.1016/j.Bbamcr.2010.09.013.

[13] Leucker TM, Bienengraeber M, Muravyeva M, et al. Endothelial-cardiomyocyt crosstalk enhances pharmacological cardioprotection[J]. J Mol Cell Cardiol, 2011, 51(5): 803 – 811. doi: 10.1016/j.Yjmcc.2011.06.026.

[14] 陈 伟, 黄 玮. 线粒体通透性转换孔道与心肌缺血再灌注损伤[J]. 心血管病学进展, 2013, 34(4): 571 – 574. doi: 10.3969/j.issn.10043934.2013.04.034.

[15] Stumpner J, Lange M, Beck A, et al. Desflurane-induced post-conditioning against myocardial infarction is mediated by calcium-activated potassium channels: role of the mitochondrial permeability transition pore[J]. Br J Anaesth, 2012, 108(4): 594 – 601. doi: 10.1093/bja/aer496.

[16] Jin C, Wu J, Watanabe M, et al. Mitochondrial K^+ channels are involved in ischemic post conditioning in rat hearts[J]. J Physiol Sci, 2012, 62(4): 325 – 332. doi: 10.1007/s12576 – 012 – 0206 – y.

[17] Zhu J, Rebecchi MJ, Glass PS, et al. Cardio protection of the aged rat heart by GSK-3beta inhibitor is attenuated: age-related changes in mitochondrial permeability transition pore modulation[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2011, 300(3): H922 – 930. doi: 10.1152/ajpheart00860.2010.

[18] Davidson SM, Yellon DM, Murphy MP, et al. Slow calcium waves and redox changes precede mitochondrial permeability transition pore opening in the intact heart during hypoxia and reoxygenation[J]. Cardiovasc Res, 2012, 93(3): 445 – 453. doi: 10.1093/cvr/cvr349.

[19] Ngoh GA, Watson LJ, Facundo HT, et al. Augmented O-GlcNAc signaling attenuates oxidative stress and calcium overload in cardio myocytes[J]. Amino Acids, 2011, 40(3): 895 – 911. doi: 10.1007/s00726 – 010 – 0728 – 7.

[20] Zhu J, Rebecchi MJ, Tan M, et al. Age-associated differences in activation of Akt/GSK-3beta signaling pathways and inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening in the rat heart[J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2010, 65(6): 611 – 619. doi: 10.1093/gerona/glq035.

[21] Yu LN, Yu J, Zhang FJ, et al. Sevoflurane post conditioning reduces myocardial reperfusion injury in rat isolated hearts via activation of PI3K/Akt signaling and modulation of Bcl-2 family proteins[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2010, 11(9): 661 – 672. doi: 10.1631/jzus.B1000155.

[22] Yao Y, Li L, Li L, et al. Sevoflurane post conditioning protects chronically-infarcted rat hearts against ischemia-reperfusion injury by activation of pro-survival kinases and inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening upon reperfusion[J]. Biol Pharm Bull, 2009, 32(11): 1854 – 1861.

[23] 刘 超, 王 云, 顾继伟, 等. 缝隙连接蛋白 43 在缺血预处理心肌保护中的作用[J]. 宁夏医科大学学报, 2010, 32(4): 198 – 200. doi: 10.16050/j.Cnki.issn1674 – 6309.2010.02.025.

doi:10.11659/jjssx.08E016027

腰椎微创脊柱外科研究进展

朱友余,邓雪飞 (安徽医科大学人体解剖学教研室,安徽 合肥 230032)

Research progress of minimally invasive surgery for lumbar spine

ZHU You-yu, DENG Xue-fei (Department of Human Anatomy, Anhui Medical University, Hefei Anhui 230032, China)

[摘 要] 老龄化进程的加快使得腰椎退行性变越来越常见,患者不仅遭受慢性腰痛的折磨,还可能因腰痛而致残。外科手术的目的在于减压或增加脊柱稳定性。手术技术的提高以及微创器械的进步推动了微创脊柱外科的发展。与传统开放性手术相比较,微创脊柱外科的切口小,减少了医源性肌肉挤压伤,避免了棘突旁肌腱的断裂,通过降低外科通道的宽度减少了对侧软组织损伤。本文综述了几种常用微创脊柱外科技术的进展情况,为临床相关手术入路的选择提供参考。

[关键词] 微创外科;脊柱;手术入路;现代微创脊柱外科(MIS);手术效果;进展

[中图分类号] R683.2 [文献标识码] A [收稿日期] 2016-08-08

现代微创脊柱外科(minimally invasive spine surgery,MIS)的发展自上世纪 90 年代开始,Faubert 等[1]首次将管状扩张系统用来进行内窥镜下椎间盘切除术。如今,MIS 技术和入路已经被广泛用于脊柱疾病的治疗,包括腰椎退行性变、椎间盘突出、脊柱畸形和肿瘤等[2-3]。与开放性手术相比较,MIS 具有小切口、降低软组织损伤、减少术中出血量、降低术后疼痛、减少麻醉药用量、缩短住院时间、加快患者康复等优点[4]。国家老龄化速度的加快导致对脊柱手术的微创需求大大增加。为此,本文综述了目前几种常见的 MIS 技术的进展情况。

1 微创非融合技术

1.1 MIS 显微椎间盘切除术

继发于椎间盘突出的腰骶神经根受压或者刺激是坐骨神经痛或者腰痛的一个重要原因,当保守疗法失败或者患者的症状进一步恶化时,将采用手术治疗,外科手术的目的在于去除突出的椎间盘并对神经根进行减压。MIS 显微椎间盘切除术应用系列管状扩张器逐步扩张椎旁肌性结构,不需要将其从棘突上分离[5]。虽然 MIS 的软组织损伤最小,优于开放性显微椎间盘切除术,但是开放性显微外科切除术依然是目前手术的金标准[6]。

最近的一项 meta 分析比较了 29 项研究中 MIS 和开放性显微椎间盘切除术 4 472 例患者的结局,其中 16 例是随机对照研究、13 例是非随机对照研究[6]。关于临床结局,研究发现低到中等级别的证据证实 MIS 与开放性显微椎间盘切除术之间存在显著的差异;关于术中结局,研究发现低到中等级别的证据证实 MIS 与开放性显微椎间盘切除术之间存在显著的差异。并且,2 种术式的并发症发生率和再手术率之间存在显著的统计学差异。低级别的证据显示 MIS 比开放性手术时间长 10 ~ 15 min,术中出血量少 52 mL,住院时间缩短 1.5 d。MIS 手术时间的增加主要和 MIS 的学习曲线有关。

虽然 MIS 显微椎间盘切除术的最佳适应证为初发、单纯性、单节段的外科型椎间盘突出,但是随着技术的进展,适合行开放性腰椎间盘手术的患者一般都

[基金项目] 国家自然科学基金(81200895)

[通信作者] 邓雪飞,E-mail:dengxf@ahmu.edu.cn

[24] 姚允泰,方能新,李立环,等. PI3K、ERK1/2 氟醚后处理减轻大鼠离体心脏缺血再灌注损伤中的作用[J]. 中华麻醉学杂志,2009,29(10):915 - 922.

[25] Morel S, Frias MA, Rosker C, et al. The natural cardio protective particle HDL modulates connexin43 gap junction channels[J]. Cardiovasc Res, 2012, 93(1): 41 - 49. doi: 10.1093/cvr/cvr257.

[26] Jeyaraman MM, Srisakuldee W, Nickel BE, et al. Connexin43 phosphorylation and cytoprotection in the heart[J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1818(8): 2009 - 2013. doi: 10.1080/15419060701821149.

[27] Zhao J, Su Y, Zhang Y, et al. Activation of cardiac muscarinic M3 receptors induces delayed cardio protection by preserving phosphorylated connexin43 and up-regulating cyclooxygenase-2exprssion[J]. Br J Pharmacol, 2010, 159(6): 1217 - 1223.

(编辑:杨 颖)