

骨骼肌缺血再灌注损伤的机制及防治进展

李明超 张震宇

摘 要 骨骼肌缺血再灌注损伤常发生于组织一段时期缺血后的再灌注,目前认为损伤机制与自由基、钙超载和一氧化氮等多种炎性反应因素有关,其防治包括抗氧化药物及缺血预处理等措施。由于损伤组织发生代谢障碍,进而肌肉组织坏死,并引起一系列临床并发症,对患者预后及身心造成严重影响。故本文主要对骨骼肌缺血再灌注损伤的发病机制及临床防治进展进行综述。

关键词 骨骼肌 缺血再灌注损伤

中图分类号 R363

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.05.052

组织的正常生理代谢需要良好的血液供应,各种原因引起的血液供给中断都会引起组织及细胞局部的代谢异常,造成缺血区域不同程度地损伤,然而,当组织恢复血液再灌注后,组织及细胞的损伤反而继续加重。McCord^[1]于1985年提出了缺血再灌注(ischemia reperfusion, IR)损伤的概念。他认为组织损伤是缺血与再灌注损伤的总和。临床中常见如严重的软组织损伤、血管栓塞、断肢再植、骨筋膜室综合征以及止血带的应用等均可引起骨骼肌不同程度的缺血再灌注损伤,常导致骨骼肌局部损伤甚至造成多器官功能障碍综合征,对患者预后及生活质量产生严重影响^[2,3]。因此对骨骼肌缺血再灌注损伤致病机制及临床治疗的研究具有重要意义。故本文主要对骨骼肌缺血再灌注损伤发病机制及临床防治进展进行综述。

一、发病机制

1. 氧自由基(oxygen-derived free radicals, ODFR):氧自由基是氧的衍生物如超氧阴离子(O_2^-)、过氧化氢(H_2O_2)、羟自由基($OH^\cdot$)等。在骨骼肌缺血时,ATP生成减少使黄嘌呤脱氢酶(XDH)大量转变为可产生氧自由基的黄嘌呤氧化酶(XO);又由于ATP分解产生大量次黄嘌呤(hypoxanthine);缺氧时干扰线粒体呼吸链电子正常传递,随着缺血时间延长及再灌注后电子漏出增加,能量生产减少,导致氧自由基清除障碍;再灌注时氧供增加激活中性粒细胞通过NADPH氧化酶及髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)作用产生超氧阴离子及次氯酸,进一步导致氧自由基生产增加,上述因素共同造成缺血再灌

注后氧自由基的大量生成^[4~6]。近年来认为ODFR导致组织损伤的作用机制主要是引起脂质过氧化,这种反应不断放大,产生级联反应,通过氧化细胞膜磷脂中的多不饱和脂肪酸而损伤细胞膜,并进一步损伤细胞器膜,引起溶酶体、线粒体等细胞器膜的破裂;且又能损伤血管内皮系统,增加血管壁的通透性,导致组织水肿,并且引起血小板在微血管中黏附、聚集,形成微血栓,进一步造成微循环障碍^[7~10]。

2. 钙超载:骨骼肌IR损伤时细胞内钙超载(calcium overload)机制尚未完全清楚,可能与下列因素有关:在缺血期,细胞内pH值降低,形成酸中毒, $Na^+ - K^+ - ATP$ 酶活性降低,在再灌注时细胞内外形成pH梯度差,激活 $Na^+ - H^+$ 交换,造成细胞内 Na^+ 超载,后者在再灌注后激活细胞膜上 $Na^+ - Ca^{2+}$ 交换蛋白,因而在再灌注时随着 Na^+ 移向细胞外,大量 Ca^{2+} 进入细胞内,形成钙超载^[11]。钙超载引起的再灌注损伤机制有:可促使黄嘌呤脱氢酶转化为黄嘌呤氧化酶,促进氧自由基的产生; Ca^{2+} 与线粒体内含磷酸根的化合物结合,形成不溶性磷酸钙,干扰了线粒体的氧化磷酸化,使ATP的生成减少;此外钙超载可激活巨噬细胞,从而释放大量毒性产物如水解酶和细胞因子等,从而进一步对组织产生损害^[11]。

3. 中性粒细胞:中性粒细胞在IR中主要通过释放不同类型的细胞颗粒对骨骼肌造成影响^[12]。①释放含有MPO,弹性蛋白酶,中性蛋白酶等的嗜天青颗粒,其中的MPO通过催化过氧化氢与氯离子反应生成次氯酸($HOCl$),次氯酸($HOCl$)产生大量的氧自由基从而对组织造成严重的破坏^[13];②通过在炎症反应中释放特殊颗粒,其产物可在补体激活中起作用^[14]。特殊颗粒中含有的胶原酶及脱铁乳铁蛋白可在炎症反应中起作用^[15];③通过释放明胶酶或分泌

作者单位:150001 哈尔滨医科大学附属第一医院骨外科

通讯作者:张震宇,电子信箱:zzyuu@21cn.com

颗粒,诱导白细胞活化并黏附于血管内皮细胞上。活化的白细胞产生活性氧并释放细胞毒性酶来损伤血管屏障。血浆渗出与组织间隙内压力升高导致毛细血管的压缩,血管内微血栓的形成共同导致无复流现象的发生。因此随着时间的推移,微循环障碍导致的无复流进一步加重,从而加重组织细胞的损伤^[16]。

4. 补体:组织发生缺血再灌注损伤后导致细胞表面抗原表达并与循环中天然抗体 IgM 结合,然后其与 C1 结合,补体活化,并形成 C3a 和 C3b,然后 C3b 激活补体级联反应,形成膜攻击复合体 (MAC),它是导致组织损伤的主要中介产物,此外这种膜攻击复合体还可激活巨噬细胞释放细胞因子,进一步导致细胞及组织的损伤^[17]。

5. NO:NO 是一种强烈的扩血管物质,在生理条件下具有舒张血管,抑制血小板聚集、黏附等作用。既往认为 NO 是一种作用很强的自由基,可加重骨骼肌 IR 损伤^[18]。但其在骨骼肌 IR 损伤中的作用机制尚不明确。大量 NO 具有较强的细胞毒性,目前认为其作用机制:①NO 与超氧阴离子反应生成过氧亚硝酸根阴离子 (ONOO⁻),后者及其分解产生的羟自由基都可导致细胞毒性作用;②NO 引起核酸亚酰基化可直接破坏 DNA 结构;③抑制细胞线粒体呼吸,干扰细胞能量代谢及 DNA 合成^[19]。

6. 细胞凋亡:细胞凋亡机制参与骨骼肌缺血再灌注损伤早已有报道,其调节过程非常复杂,目前 Bcl-2 基因家族中 Bax 是公认的与缺血再灌注损伤密切相关的基因,Bax 基因具有延长细胞寿命,起到抗凋亡作用;当 Bax 表达增高时,其与 Bcl-2 形成功能二聚体,促进细胞凋亡,反之则抑制细胞凋亡;在缺血再灌注损伤中,氧自由基可通过调节 Bax 与 Bcl-2 的比例来发挥其促进细胞凋亡^[20]。此外氧自由基还可刺激线粒体中 Ca²⁺ 非 Na⁺ 依赖性释放,而 Ca²⁺ 则通过主动耗能的方式被重新摄入到线粒体内,这些能量的消耗最终导致线粒体内 ATP 合成障碍, Ca²⁺ 堆积升高,诱发细胞凋亡^[21]。

二、防治进展

1. 药物:Yao 等研究发源于缺血后并于再灌注前给予硫化氢可减轻 IR 对骨骼肌细胞造成的损伤。表面活性剂 (surfactant),是指具有固定的亲水亲油基团,在溶液的表面能定向排列,并能使表面张力显著下降的物质。表面活性剂分为离子型表面活性剂和非离子型表面活性剂等。Murphy 等^[22] 研究证实高分子非离子型表面活性剂泊洛沙姆 188 可减轻心肌细胞在 IR 中的损伤并可提高小鼠后肢 IR 模型的生

存率,其在缺血性脑卒中的治疗效果也得到肯定^[23]。Judge 等^[24] 报道抗氧化剂 (如维生素 C 等) 也被证实可在动物实验中可减轻骨骼肌细胞损伤的严重程度。磷脂酶可损伤细胞膜,辅酶 Q10 为磷脂酶的拮抗剂,可抑制磷脂酶的活性从而减轻 IR 中细胞膜的损伤^[25]。钙离子通道阻滞剂已广泛应用于治疗心脑血管疾病,Hausenloy 等报道其在缺血再灌注损伤中对机体具有保护作用。其他药物如维生素 E,中药如丹参、川芎、 β -七叶皂苷钠等可清除氧自由基,阻断脂质过氧化作用,减轻 IR 损伤。

2. 高压氧治疗:高压氧治疗是指在超过一个大气压的环境中呼吸与环境等压力纯氧。高压氧能够增强氧的弥散能力,改善微循环从而促进组织功能恢复。在大鼠后肢 IR 损伤模型中,近年来研究发现,高压氧可对 IR 损伤产生的自由基有清除作用,并可提高三磷酸腺苷合酶的活性,调节钠钙等离子平衡,减轻细胞水肿,从而减轻 IR 损伤。

3. 控制性低温:离体组织保持在一个低温环境中可耐受较长时间的缺血并能提高再植的成功率,温度过低则容易产生较大的生理紊乱,且对局部组织有一定程度的损伤。大鼠的体表温度降至 8℃ 并持续 30min 后,静脉及毛细血管管径无明显变化,相反动脉管径则明显变小 (40% ~ 50%),且低温能显著减少血流量及功能性毛细血管的密度。Teng 等在大鼠股薄肌皮瓣 IR 模型中局部低温可在早期再灌注时对骨骼肌细胞提供保护,提出了未来潜在的临床措施。

4. 弱激光疗法:弱激光是低功率密度或低能量辐射的激光,相对于强激光而言其直接照射组织时不会对靶组织造成不可逆性损伤。近期研究报道关于弱激光疗法在 IR 损伤中对骨骼肌细胞的保护作用,其机制可能通过诱导生成抗氧化剂和其他的细胞保护蛋白,如热休克蛋白-70i 等的合成来对骨骼肌细胞起到保护作用。

5. 缺血预处理:Murry 等于 1986 提出缺血预处理 (ischemic preconditioning, IPC) 的概念,指出组织短暂反复的缺血和再灌注不会造成损伤的叠加,反而可提高组织对缺血及缺氧的耐受性,其保护作用可能与释放的腺苷、一氧化氮、降钙素基因、热休克蛋白等有关。Lintz 等利用大鼠后肢建立的缺血模型中,连续 3 次的缺血 5min 与再灌注 5min 可减轻缺血再灌注损伤。

6. 脉冲电磁场:电磁辐射近年来已成为一种环境污染日益受到重视,另一方面由于电磁波对机体的生物特性在医学领域得到较好的应用前景。脉冲电磁

场(electromagnetic pulse fields, EMP) 属于瞬态电磁场, 其是由脉冲电流通过螺旋线圈产生的脉冲电场。研究表明, EMP 通过发挥其非热效应对于肿瘤、骨质疏松、骨折不愈合及促进神经损伤修复再生等方面具有肯定的治疗效果, 且其具有经济、无创等优点促进其探索及应用。目前对于 EMP 作用机制并没有统一共识, 如电动力学及跨膜离子回旋共振假说等, 且电磁场的生物作用受到诸多因素影响, 因其存在明显的窗口效应, 对于不同机体或组织存在不同强度、时间及频率的最适阈值, 对其作用机制仍有待研究。

综上所述, IR 后可通过氧自由基、钙超载及一氧化氮等作用机制对骨骼肌细胞造成损伤, 但其作用机制尚未完全阐明, 且到目前为止仍没有一种十分有效的防治手段。随着分子生物学的研究进展其损伤机制将被进一步发现, 从而提供更直接的干预措施来减少损害。

参考文献

- McCord JM. Oxygen - derived free radicals in postischemic tissue injury[J]. The New England Journal of Medicine, 1985, 312(3): 159 - 163
- Tran TP, Tu H, Pipinos II, *et al.* Tourniquet - induced acute ischemia - reperfusion injury in mouse skeletal muscles; involvement of superoxide[J]. European Journal of Pharmacology, 2011, 650(1): 328 - 334
- Guo WA. The search for a magic bullet to fight multiple organ failure secondary to ischemia/reperfusion injury and abdominal compartment syndrome[J]. Journal of Surgical Research, 2013, 184(2): 792 - 793
- Lehmann C. Biochemistry and pathophysiology of ischemia and reperfusion[J]. Deutsche Medizinische Wochenschrift (1946), 2009, 134: S409
- Brandes RP, Weissmann N, Schröder K. Nox family NADPH oxidases: molecular mechanisms of activation[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2014, 76: 208 - 226
- Garcia - Rivas GJ, Torre - Amione G. Abnormal mitochondrial function during ischemia reperfusion provides targets for pharmacological therapy[J]. Methodist DeBakey Cardiovascular Journal, 2008, 5(3): 2 - 7
- Kalyanaraman B. Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: oxidants, antioxidants and disease mechanisms[J]. Redox Biology, 2013, 1(1): 244 - 257
- Zhang YS, He L, Liu B, *et al.* A novel pathway of NADPH oxidase/vascular peroxidase 1 in mediating oxidative injury following ischemia - reperfusion[J]. Basic Research in Cardiology, 2012, 107(3): 1 - 19
- Silva LA, Silveira PCL, Ronsani MM, *et al.* Taurine supplementation decreases oxidative stress in skeletal muscle after eccentric exercise[J]. Cell Biochemistry and Function, 2011, 29(1): 43 - 49
- Brini M, Carafoli E. The plasma membrane Ca^{2+} ATPase and the plasma membrane sodium calcium exchanger cooperate in the regulation of cell calcium[J]. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology,

- 2011, 3(2): a004168
- Naparus A, Hofer S, Cahoon N, *et al.* 101: Assessment of mitochondrial calcium (Mca2 +) overload and function in ex vivo human skeletal muscle undergoing ischemia and reperfusion (I/R)[J]. Plastic and Reconstructive Surgery, 2011, 127: 59
- Schofield ZV, Woodruff TM, Halai R, *et al.* Neutrophils—a key component of ischemia - reperfusion injury[J]. Shock, 2013, 40(6): 463 - 470
- Henriksen PA. The potential of neutrophil elastase inhibitors as anti - inflammatory therapies[J]. Current Opinion in Hematology, 2014, 21(1): 23 - 28
- Albadawi H, Oklu R, O’Keefe RM, *et al.* Effect of neutrophil depletion on extracellular traps accumulation in skeletal muscle tissue following hind limb ischemia reperfusion injury[J]. Journal of Surgical Research, 2014, 186(2): 692 - 692
- Oklu R, Albadawi H, Jones JE, *et al.* Reduced hind limb ischemia - reperfusion injury in Toll - like receptor - 4 mutant mice is associated with decreased neutrophil extracellular traps[J]. Journal of Vascular Surgery, 2013, 58(6): 1627 - 1636
- Eltzschig HK, Eckle T. Ischemia and reperfusion [mdash] from mechanism to translation[J]. Nature Medicine, 2011, 17(11): 1391 - 1401
- Gorsuch WB, Chrysanthou E, Schwaeble WJ, *et al.* The complement system in ischemia - reperfusion injuries[J]. Immunobiology, 2012, 217(11): 1026 - 1033
- Nudler EA, Rafikov RR. Short peptides useful for treatment of ischemia/reperfusion injury and other tissue damage conditions associated with nitric oxide and its reactive species; U. S. Patent 8,389,482 [P]. 2013 - 3 - 5
- Stamler JS, Reynolds JD, Hess DT. Endocrine nitric oxide bioactivity and hypoxic vasodilation by inhaled nitric oxide[J]. Circulation Research, 2012, 110(5): 652 - 654
- Davis J, Kwong JQ, Kitsis RN, *et al.* Apoptosis repressor with a CARD domain (ARC) restrains bax - mediated pathogenesis in dystrophic skeletal muscle[J]. PLoS One, 2013, 8(12): e82053
- Quindry JC, Miller L, McGinnis G, *et al.* Ischemia reperfusion injury, KATP channels, and exercise - induced cardioprotection against apoptosis[J]. Journal of Applied Physiology, 2012, 113(3): 498 - 506
- Murphy AD, McCormack MC, Bichara DA, *et al.* Poloxamer 188 protects against ischemia - reperfusion injury in a murine hind - limb model[J]. Plastic and Reconstructive Surgery, 2010, 125(6): 1651 - 1660
- Gu JH, Ge JB, Li M, *et al.* Poloxamer 188 protects neurons against ischemia/reperfusion injury through preserving integrity of cell membranes and blood brain barrier[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e61641
- Judge AR, Selsby JT, Dodd SL. Antioxidants attenuate oxidative damage in rat skeletal muscle during mild ischaemia[J]. Experimental Physiology, 2008, 93(4): 479 - 485
- Braun L. What role for coenzyme Q10 with statin drugs? [J]. Australian Journal of Pharmacy, 2012, 93(1100): 38

(收稿日期: 2014 - 10 - 09)

(修回日期: 2014 - 11 - 17)