

综述

心肌缺血再灌注损伤中的氧化应激信号通路

胡娜娜¹, 门冰欣¹, 张亚苹¹, 王一华¹, 蒋玉娇¹, 张锦^{1,2*}¹兰州大学第一临床医学院, 兰州 730000; ²兰州大学第一医院心内科, 兰州 730000)

摘要: 缺血性心脏病(ischemic heart disease, IHD)是全球主要死亡原因之一。目前, IHD的有效治疗策略包括通过药物溶栓、冠状动脉搭桥手术和经皮冠状动脉介入治疗进行血运重建。然而, 这些血运重建治疗可能会导致心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia reperfusion injury, MIRI)。MIRI是IHD治疗中的一个重要挑战, 目前尚无针对MIRI的既定临床治疗方法。研究表明, 氧化应激是导致MIRI的关键因素, 在MIRI相关的细胞死亡中起着至关重要的作用。本研究总结了氧化应激在MIRI中的作用, 并介绍了MIRI中抑制和加剧氧化应激的相关信号通路的最新研究成果。这些发现为进一步探索MIRI的发病机制以及制定更有效的IHD治疗策略奠定了基础。

关键词: 缺血性心脏病; 缺血再灌注损伤; 氧化应激

Oxidative stress signaling pathway in myocardial ischemia reperfusion injury

HU Nana¹, MEN Bingxin¹, ZHANG Yaping¹, WANG Yihua¹, JIANG Yujiao¹, ZHANG Jin^{1,2*}¹First Clinical Medical School, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China;²Department of Cardiology, First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

Abstract: Ischemic heart disease (IHD) is a widespread cardiovascular condition characterized by an inadequate oxygen supply to the myocardium due to limited coronary blood flow, resulting in significant global morbidity and mortality. The prevailing therapeutic approach for IHD focuses on revascularization techniques designed to restore impaired blood flow. Common interventions include thrombolytic therapy, coronary artery bypass grafting (CABG), and percutaneous coronary intervention (PCI). Although these treatments are effective in reestablishing blood perfusion, they can also result in myocardial ischemia reperfusion injury (MIRI). Currently, there is a lack of specific clinical treatments for MIRI, with numerous studies identifying oxidative stress as a key factor contributing to this injury. The primary aim of this study is to delve into the role of oxidative stress in MIRI. Through a comprehensive review of relevant literature, the study delineates the crucial role of oxidative stress in mediating MIRI-induced cellular death and presents recent research findings on the signaling pathways involved in both the inhibition and exacerbation of oxidative stress. These insights not only provide a novel perspective for further understanding the pathogenesis of MIRI, but also establish a robust foundation for developing more effective therapeutic strategies for IHD.

收稿日期: 2024-07-14

基金项目: 甘肃省科技计划自然科学基金项目(22JR11RA018)

第一作者: E-mail: hunana0222@163.com

*通信作者: E-mail: chzhangjin@163.com

Key Words: ischemic heart disease; ischemia reperfusion injury; oxidative stress

缺血性心脏病(ischemic heart disease, IHD)是一种由于冠状动脉血流受限导致心肌供血、供氧不足的心脏疾病,是全球范围内发病率和病死率均相对较高的疾病^[1]。IHD的主要风险因素包括高血压、高胆固醇、吸烟、糖尿病以及肥胖等。这些因素共同作用,导致冠状动脉狭窄或堵塞,使心肌无法获得足够的血氧供应。早期心肌血运重建治疗是IHD患者减少心肌梗死面积、改善预后的关键^[2]。目前,IHD的有效治疗策略主要包括药物溶栓、冠状动脉搭桥手术和经皮冠状动脉介入治疗。然而,再灌注可能会加剧IHD患者缺血心肌细胞的损伤,导致不可逆转的心肌损伤,这一现象被称为心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia reperfusion injury, MIRI)^[3]。MIRI是IHD治疗中的一个重大挑战,目前尚无针对这一问题的特定临床治疗方法。

MIRI的发病机制极其复杂,涉及氧化应激、钙超载、内质网应激、线粒体损伤、炎症反应、细胞自噬、焦亡、铁死亡等^[4]。有研究表明,氧化应激是导致MIRI的关键因素^[5]。在再灌注过程中,大量的活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)产生并攻击细胞膜、蛋白质以及DNA,进而导致细胞功能障碍和死亡。目前,关于MIRI氧化应激机制的研究主要集中在各种相关信号通路、表观遗传修饰以及铁死亡等方面。本文在回顾现有文献的基础上,总结了氧化应激在MIRI中的关键作用,并介绍了近年来在抑制和加剧氧化应激的相关信号通路方面的最新研究成果,旨在深入探讨氧化应激在MIRI中的作用。

1 氧化应激的概述

氧化应激是一种复杂的生物学现象,指的是体内氧化与抗氧化作用失衡的状态。在正常情况下,细胞依赖抗氧化系统来维持氧化还原平衡。然而,当细胞暴露于氧化应激条件下时,抗氧化防御系统无法完全抵御,导致ROS积累,从而引起蛋白质、脂质和核酸等生物分子的氧化损伤。适度的氧化应激可以促进细胞信号传导、调节基因表达

和细胞增殖,但过度的氧化应激则会破坏细胞结构和功能,甚至诱导细胞凋亡。氧化应激在多种疾病的发生和发展中起着重要作用,其在MIRI中发挥的作用尤为显著。深入了解氧化应激的发生机制对于MIRI的研究至关重要。

1.1 氧化应激的产生

适量的ROS和活性氮自由基(reactive nitrogen species, RNS)作为氧化还原信号介质,在细胞的正常生理功能中起着重要作用,如信号传导、细胞增殖以及凋亡调控等。然而,ROS和RNS的产生超过细胞能够清除的范围就会导致机体氧化和抗氧化防御系统紊乱,进而引起细胞和组织的损伤,发生氧化应激。ROS的产生途径包括黄嘌呤氧化酶系统、NADPH氧化酶(NADPH oxidase, Nox)系统、一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)系统以及线粒体电子传递链系统。RNS是由L-精氨酸在NOS催化下产生的NO及其衍生物,其中NO能与O₂迅速反应形成过氧亚硝酸盐(peroxynitrite, ONOO⁻)。尽管NO和O₂之间的反应速率常数较高,但在细胞内超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的作用下,O₂在遇到NO之前就被去除了^[6]。机体内存在两类重要的化学物质,可以及时清除上述自由基,从而维护机体正常生理功能。一类是抗氧化物质,包括辅酶Q、维生素E、维生素C以及谷胱甘肽等。这些物质能提供电子以还原并清除自由基。另一类是抗氧化酶,包括SOD、过氧化氢酶(catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)等。机体在受到内、外环境有害刺激时会发生氧化应激,过量的ROS和RNS可以直接或间接诱发基因的突变、蛋白质变性和脂质过氧化。氧化应激参与各种疾病的生理病理过程,包括癌症、心血管疾病、神经退行性病变以及炎症性疾病等^[7,8],其在IHD引起的MIRI中发挥的作用尤为显著。

1.2 氧化应激与MIRI的关系

心脏作为一个高耗氧器官,其重量不到人体总体重的5%,但却占据了全身氧耗的7%。通常情况下,心肌主要依靠脂肪酸 β -氧化作为能量供应方

式。从氧消耗的角度来看, 脂肪酸 β -氧化是一种更高耗氧的能量供应方式。因此, 在氧化应激条件下, 心肌细胞会产生更多的ROS。在生理条件下, 心脏具备强大的抗氧化系统, 可以对抗氧化应激。然而, 在长时间的缺血后血流重建过程中, 会产生过量的ROS, 超过心肌细胞的抗氧化能力, 从而引发氧化应激。

在心肌严重缺氧的情况下, 为了维持细胞活力, 能量代谢从脂肪酸 β -氧化转变为糖酵解。线粒体是细胞氧化磷酸化反应的主要场所, 当心肌缺氧时, 线粒体的氧化磷酸化功能受损, ATP生成减少, 线粒体内 Ca^{2+} 增加, 抗氧化酶活性降低。如果未能及时恢复心肌血流灌注, 就会进入一种以线粒体弥漫性肿胀、细胞膜损伤和糖原明显消耗为特征的不可逆损伤阶段。因此, 尽早进行心肌血流重建是治疗IHD的关键。然而, 当缺血心肌恢复血流灌注时, 堆积的脂肪酸会被充分氧化, 抑制葡萄糖的氧化过程。此外, 大量氧气进入细胞内, 并通过单电子还原反应产生爆发性增加的ROS, 进而引发氧化应激^[9]。

爆发性增加的ROS可以与脂质、蛋白质、核酸和糖类生物大分子反应, 破坏其结构和功能^[10]。ROS还可以通过逆转 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换器导致 Na^+ 外流, Ca^{2+} 内流, 影响L-型钙通道, 增强兰尼碱受体2的活性, 并抑制肌浆网 Ca^{2+} -三磷酸腺苷的活性, 进而促进细胞内 Ca^{2+} 超载^[11]。ROS和 Ca^{2+} 浓度升高可诱导线粒体膜通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, mPTP)持续开放, 增加线粒体膜通透性, 使大量的非选择性分子和其他物质进入线粒体并导致其破裂, 最终导致心肌细胞的不可逆死亡, 这在MIRI中起到关键作用^[12]。IHD引起的氧化应激与ROS的产生密切相关。ROS可以通过多种途径引发心肌细胞损伤, 包括生物大分子的氧化破坏和细胞内钙离子的失衡, 最终导致心肌细胞的死亡。因此, 了解和干预心肌氧化应激对于预防和治疗IHD具有重要意义。

2 抑制氧化应激的信号通路

MIRI发生机制的研究逐渐聚焦于MIRI中的氧化应激机制, 特别是对各种相关信号通路的探讨。在这些信号通路中, 有些能够通过抑制氧化应激

的发生和发展, 从而对心肌起到保护作用。深入了解并促进这些抑制氧化应激的信号通路, 有望为未来开发针对MIRI的治疗策略提供关键指导。

2.1 PI3K/Akt信号通路

磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)信号通路的主要组成包括PI3K家族和Akt。有研究表明, 激活PI3K/Akt信号通路能够减轻氧化应激引发的MIRI^[13]。PI3K被激活后, Akt作为该途径中的核心分子被激活^[14], 通过磷酸化调控多种生物底物发挥生物学功能。Akt的下游效应分子包括: FOXO、GSK-3 β 、p21、内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)等。FOXO转录因子是细胞抗氧化应激的关键介质, 通过激活多个抗氧化基因如SOD、CAT和锰超氧化物歧化酶, 增强细胞的抗氧化能力。有研究表明, FOXO转录因子通过诱导抗氧化途径以促进心肌细胞在氧化应激的条件下的存活^[15]。GSK-3 β 是PI3K/Akt信号通路的关键效应因子。研究表明, 电压依赖性阴离子通道蛋白1的磷酸化会增加其对Bax蛋白的亲和力, 减少其与己糖激酶2的相互作用, 导致ROS的产生和mPTP的打开。而白藜芦醇可以通过激活PI3K/Akt/GSK-3 β 途径去磷酸化电压依赖性阴离子通道蛋白1, 有效抑制氧化应激, 进而减轻MIRI^[16]。细胞周期依赖性激酶是细胞周期调控中的重要因子, Akt通过磷酸化细胞周期依赖性激酶的抑制蛋白p21影响细胞增殖。在MIRI过程中, 上调的p21通过提高热休克蛋白5的表达和抑制内质网应激, 从而抑制氧化应激, 减轻MIRI^[17]。此外, PI3K/Akt/eNOS信号通路也参与MIRI的保护作用^[18]。Akt磷酸化可通过增加eNOS的酶活性, 产生更多的NO, 这是内源性NO的主要来源之一。内源性NO在减轻MIRI中起关键作用, 其不仅可以改善冠状动脉血供并保护心肌内皮细胞, 还有利于舒张血管、减少血小板的黏附、聚集, 并减少ROS生成、从而减轻MIRI。

此外, PI3K/Akt信号通路还可调控铁死亡参与MIRI过程。有研究表明, 高良姜素可以通过消除PI3K抑制剂对PI3K、Akt磷酸化水平的抑制作用, 从而进一步发挥抗铁死亡的作用, 是一种有效的铁死亡抑制剂^[19]。综上所述, PI3K/Akt信号通路通

过调控多种下游效应分子和生物过程,发挥着抗氧化应激、抗铁死亡和保护心肌的关键作用。这些机制的协调作用有助于减轻MIRI,提高心肌细胞的存活率。因此,进一步研究PI3K/Akt信号通路的调控机制和相关治疗药物的开发具有重要的临床意义和研究价值。

2.2 Notch信号通路

Notch信号通路由Notch受体、Notch配体、细胞内效应分子及Notch调节分子等组成。目前在哺乳动物中已发现4种Notch受体(Notch1、Notch2、Notch3、Notch4)以及5种Notch配体(DLL1、DLL3、DLL4、JAG1和JAG2)^[20]。有研究表明,Notch信号通路可通过抑制氧化应激来减轻MIRI,而该通路的抑制则使心肌细胞更为脆弱,更易收到损害^[21]。例如,醛缩酶A的过表达能通过上调VEGF/Notch1/Jagged1信号通路来抑制MIRI中的氧化应激^[22]。

NOS有3种亚型: eNOS、神经型一氧化氮合酶(neuronal nitric oxide synthase, nNOS)和诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)。这些亚型均需要四氢生物蝶呤作为必要辅助因子,将电子从氧分子转移到L-精氨酸生成L-瓜氨酸和NO。然而,当NOS解偶联时,会主要产生ROS而非NO^[23]。eNOS解偶联是NOS系统产生ROS的关键机制。在MIRI过程中,ROS的增加强烈影响着eNOS的活性,并导致了eNOS解偶联,最终进一步加剧了氧化应激^[24]。研究表明,选择性沉默Notch1可通过上调iNOS的表达增加NO的产生,而过量的NO积累会与ROS反应生成ONOO-, ONOO-的存在会直接导致eNOS解偶联,进一步加重氧化应激^[25]。PTEN是PI3K/Akt信号通路的重要负调节因子,具有脱磷酸化PIP3的酶活性,能将其转化为PIP2,从而限制PI3K/Akt信号通路的激活。Notch信号通路能通过PTEN/Akt途径抑制氧化应激,进而减轻MIRI^[25]。研究表明,Notch1的下调降低了Akt的磷酸化水平,并增加了参与调节Akt磷酸化的关键磷酸酶PTEN的表达。此外,Notch1还通过抑制MIRI中NOX2的表达以减少O₂·-的产生,从而减轻心肌细胞的氧化损伤^[25]。综上所述,Notch信号通路通过多种机制调控心肌细胞对MIRI的反应,包括调节氧化应激、NOS系统和PI3K/Akt信号通路等。这

些机制的协调作用有助于减轻心肌再灌注损伤,提高心肌细胞的存活率。

2.3 Nrf2信号通路

核转录因子红系2相关因子2(nuclear factor-erythroid 2-related factor 2, Nrf2)是一个对抗氧化应激反应至关重要的转录因子,包含七个高度保守的ECH同源结构域,分别被称为Neh1-7^[26]。Nrf2通过结合在保护基因启动子区域的抗氧化反应元件(antioxidant response elements, ARE)上,启动下游抗氧化酶的转录表达。

Nrf2/Keap1/ARE信号通路通过抑制氧化应激来减轻MIRI^[27]。在生理条件下, Nrf2被Kelch样ECH相关蛋白1(Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1)复合体泛素化修饰后在细胞质中降解^[28]。然而,当心肌组织发生氧化应激时,ROS会刺激Nrf2从Keap1解离,激活Keap1-Nrf2/ARE信号通路。随后, Nrf2进入细胞核,与小Maf蛋白结合成异二聚体,激活ARE介导的下游基因表达,以保护心脏免受再灌注损伤^[29]。受Nrf2调控的抗氧化酶主要包括血红素加氧酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)、SOD、GSH-Px等^[30]。其中, HO-1可催化血红素分解产生CO、Fe²⁺和胆绿素,从而抑制细胞脂质过氧化和ROS的产生^[31,32]。在缺血、缺氧等刺激下, Nrf2的激活会增加HO-1的表达,发挥显著的抗氧化作用。Nrf2/HO-1信号通路能促进SOD和GSH-Px等抗氧化酶的生成,从而减少ROS产生,并减缓MIRI中的氧化应激反应。过量的Ca²⁺内流能够激活Ca²⁺依赖性降解酶,导致细胞氧化应激和功能障碍的发生。然而, Nrf2/HO-1信号通路能够通过减少Ca²⁺内流的方式,维持细胞内Ca²⁺的稳态,抑制心肌细胞的氧化应激反应^[33]。此外, Nrf2还直接参与线粒体Nrf2依赖性抗氧化酶的表达,诱导过氧化物酶3和过氧化物酶5以及硫氧还原酶2的表达,从而抑制氧化应激损伤^[34,35]。

有研究通过对Nrf2与DNA结合的转录组分析和测序,揭示了Nrf2能够调节与组织修复和炎症抑制相关的基因。这一发现解释了Nrf2除了抗氧化和解毒反应外的作用。因此,这为我们提供了对Nrf2特征和激活机制的新的分子见解。未来有望开发针对调节Nrf2信号通路的药物以预防MIRI,这具有潜在的临床研究意义^[36]。

2.4 HIF-1 α 信号通路

缺氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor-1, HIF-1)在介导缺氧适应性反应中具有关键作用^[37]。HIF-1由两个亚基组成, 包括诱导表达的HIF-1 α 亚基和组成型表达的HIF-1 β 亚基。HIF-1 α 是一种氧敏感转录因子, 通过抑制氧化应激反应来减轻MIRI^[38]。在正常氧浓度条件下, HIF-1 α 在特定的脯氨酸残基上发生羟化反应, 导致该亚基被迅速泛素化并通过蛋白酶体降解。然而, 在缺氧条件下, HIF-1 α 则不会被氧依赖性泛素蛋白酶体系统降解, 从而保持稳定表达^[37]。这种稳定表达有助于心肌组织在MIRI时适应缺氧环境。

在IHD中, 缺氧会破坏线粒体电子传递链, 导致ROS产生增加。然而, 在缺氧条件下, HIF-1可以通过糖酵解途径提供ATP, 并激活丙酮酸脱氢酶激酶1, 抑制丙酮酸脱氢酶的活性, 从而减弱线粒体内三羧酸循环, 降低ROS的产生^[39]。此外, 在MIRI过程中, HIF-1 α 通过上调Nrf2来激活GSH-Px和SOD等抗氧化酶的表达, 从而增强内源性ROS的清除以减轻MIRI^[40]。Nox系统是ROS的一个重要来源。Nox包括7种亚型, 其中Nox2和Nox4亚型介导的氧化应激在MIRI中起关键作用。研究表明, 内源性Nox2或Nox4所产生的低水平ROS可以通过激活HIF-1 α 来抑制过氧化物酶体增殖物激活受体 α 途径, 从而提升I/R小鼠心肌细胞的存活率^[41]。这表明, HIF-1不仅在缺氧条件下发挥保护作用, 还通过与其他信号通路的交互作用, 进一步调控心肌细胞对再灌注损伤的反应。针对HIF-1 α 信号通路在MIRI中的抗氧化应激作用, 未来有望寻找新的药物或治疗策略, 以增强心肌对缺氧和再灌注损伤的抵抗力。

2.5 Wnt信号通路

Wnt信号通路是一种复杂的信号通路, 参与调控生物体内多种细胞的增殖、分化和凋亡等过程^[42]。该通路包括经典Wnt通路(即Wnt/ β -连环蛋白信号通路)和非经典Wnt通路(包括Wnt/PCP通路和Wnt-Ca²⁺通路)。Wnt信号通路在心血管疾病中通过调控心脏发育、血管生成、炎症反应、血管重塑和心肌保护等方面发挥关键作用, 对心血管系统的正常功能和疾病发展具有重要影响。

有研究发现, 心肌缺血小鼠心肌细胞中的Wnt

蛋白表达减少, 导致Wnt/ β -连环蛋白信号传导受到抑制。细胞质中的 β -连环蛋白被降解使其无法进入细胞核, 从而阻断了对细胞色素c转录的抑制, 导致细胞色素c浓度增加。高浓度的细胞色素c加剧了心肌细胞内的氧化应激水平, 并刺激ROS的产生。反过来, 过量产生的ROS进一步增加了线粒体膜转运通道的通透性, 释放更多的细胞色素c, 最终导致心肌细胞凋亡^[43]。此外, 在缺血大鼠心肌细胞H9C2中, Wnt/ β -连环蛋白途径也受到了抑制, 导致了氧化应激的发生^[44]。有研究证实, 外源性Wnt3a的应用能激活Wnt/ β -catenin途径并抑制氧化应激^[43]。另有研究发现, 一种以抗氧化特性著称的金枪鱼骨架衍生肽能清除ROS^[45]。在MIRI模型中, 金枪鱼骨架衍生肽能够以剂量依赖的方式恢复Wnt/ β -连环蛋白的活性, 保护线粒体免受氧化应激的影响, 维持心肌功能^[45]。此外, 使用诱导多能干细胞衍生的培养基补充大鼠心肌细胞H9C2, 也可上调Wnt/ β -连环蛋白信号传导, 促进心肌细胞增殖, 并抑制氧化应激和细胞衰老^[44]。这些研究结果表明, 通过激活Wnt/ β -连环蛋白信号通路, 不仅可以减少氧化应激, 还能维持心肌细胞的存活和功能, 从而为MIRI的治疗提供新的策略。

3 加重氧化应激的信号通路

除了上述有助于抑制氧化应激的信号通路外, 机体内还存在一些可能加重氧化应激的机制。各种相关信号通路、表观遗传修饰以及铁死亡等因素可能进一步加剧MIRI中的氧化应激反应, 从而导致心肌损伤的加重。通过深入研究和干预这些机制, 我们可以更全面地理解MIRI的发病机制, 为未来制定更有效的诊疗策略提供重要的参考依据。

3.1 NF- κ B信号通路

核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)信号通路是一种重要的细胞信号转导途径, 参与调控细胞的生长、凋亡、炎症和免疫反应等生理过程。NF- κ B信号传导通过经典和非经典途径进行调节。在经典途径中, NF- κ B位于细胞质中, 与NF- κ B抑制蛋白结合形成复合物。当细胞受到TNF- α 、IL-1等炎症因子的刺激时, NF- κ B抑制蛋白被磷酸化并降解, 使NF- κ B得以释放和激活。激活的NF- κ B进入

细胞核,与特定DNA序列(κ B位点)结合,促进目标基因的转录^[46]。而非经典途径则主要通过BAFF和LT β -R等信号通路激活。

NF- κ B是MIRI中发挥重要调控作用。MIRI引起的促炎介质和内源性Toll样受体配体可激活NF- κ B^[47]。此外,缺氧也可通过增加HIF-1的表达,进而增加NF- κ B的表达水平^[48]。NF- κ B信号通路激活后,可通过调控多种活性细胞因子和黏附分子的表达,促使白细胞聚集,并释放炎症因子如肿瘤坏死因子- α 、肿瘤坏死因子- β 和白介素-6等,进而加剧机体的炎性反应。这些促炎介质的高水平表达不仅加剧炎症反应,还进一步促进ROS的产生,加重心肌的氧化应激反应,导致心肌不可逆损伤。有研究表明,黄芪甲苷IV通过抑制Nox/ROS/NF- κ B通路,阻止或逆转了eNOS的解偶联,从而减少了ROS的产生,并增强了SOD、CAT等多种抗氧化酶活性,从而改善H₂O₂和异丙肾上腺素诱导的氧化应激反应^[49]。因此,靶向NF- κ B信号通路进行抑制可能是治疗MIRI损伤的潜在选择。然而,使用Toll样受体抑制剂或拮抗剂预防或治疗心脏病目前尚未在人体临床试验中启动,仍然需要进一步的研究来设计保护心肌免受额外损伤的方法,并辅助治疗心肌梗死。

3.2 蛋白激酶C(protein kinase C, PKC) β II / P66shc途径

蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)是一种多功能蛋白激酶,通常存在于细胞质中,并发挥着重要的调节作用。PKC激活可通过G蛋白偶联受体以及肌醇三磷酸信号传导途径等多种途径激活^[50]。PKC家族包括多个亚型,如经典型PKC(classic protein kinase C, cPKC)、新型PKC(novel protein kinase C, nPKC)和非经典型PKC(atypical protein kinase C, aPKC)等。他们在不同的细胞环境和生理条件下发挥不同的作用^[51]。

目前研究认为,PKC通过磷酸化p66Shc的CH2结构域的Ser36,使得p66Shc易位到线粒体,从而促进ROS的产生^[52]。PKC β 是调控p66Shc活性最密切的PKC成员,与其他PKC家族成员不同,其通过C末端外显子交替剪接从单个位点产生2种亚型(PKC β I 和PKC β II)。PKC β I 和PKC β II 具有相似的一级结构,但具有不同的C-端结构域。磷酸化

的p66shc促进FOXO3a的磷酸化,FOXO3a在磷酸化时变得无活性,而有活性的FOXO3a上调抗氧化酶SOD的表达^[53]。毒蜥激动肽4是一种胰高血糖素样肽-1受体激动剂,既往研究表明,其可通过抑制氧化应激来预防MIRI^[54]。毒蜥激动肽4被证实通过抑制蛋白激酶C β II /P66shc途径,显著降低ROS水平^[55]。同时,该物质显著增加了MIRI大鼠左室中GSH和锰超氧化物歧化酶的水平,从而减少了62%MIRI诱导的大鼠梗死面积,保留左室功能,并降低血清LDH和CK-MB水平^[54]。因此,抑制PKC β II /p66shc通路,不仅降低ROS产生,而且抑制促凋亡因子的活化,对MIRI损伤的治疗有显著效果。

3.3 表观遗传修饰在MIRI中的作用

表观遗传修饰作为MIRI中一个备受瞩目的新兴领域,主要是研究在基因的核苷酸序列不发生改变的情况下,基因出现的可遗传变化,主要涉及DNA甲基化、组蛋白修饰以及非编码RNA调控等^[55]。DNA甲基化是指DNA序列上特定的碱基在DNA甲基转移酶的催化下,将活化的甲基加入到胞嘧啶的5'-C端,形成5-甲基胞嘧啶。研究表明,MIRI大鼠的DNA甲基化及相关酶的基因、线粒体基因、抗氧化基因、凋亡基因表达升高^[56]。靶向抑制DNA甲基化能通过调控炎症、氧化应激和线粒体功能等途径来改善MIRI^[57]。组蛋白是染色体内与DNA结合的碱性蛋白质,其对染色体的结构至关重要。染色体由核小体构成,每个核小体包括一个核心8聚体(由4种核心组蛋白H2A、H2B、H3和H4的各两个单体组成)。研究表明,MIRI发生时,H2B组蛋白在泛素特异性蛋白酶7作用下发生泛素化,激活p53转录因子,导致转铁蛋白受体1表达上调,进而加剧大鼠心脏细胞铁死亡及MIRI^[58]。

miRNA是一种高度保守的单链非编码RNA。有研究表明,在MIRI心肌组织中,miRNA的不同表达水平对损伤有不同影响,主要取决于下游靶基因的作用机制^[59]。N6-甲基腺苷是一种常见的mRNA转录后修饰,其在调节细胞自噬过程中发挥着重要作用,并被认为是与MIRI相关。研究发现,miR-193a-3p在MIRI大鼠的心脏组织中水平升高,ALKBH5是miR-193的靶基因^[60]。当miR-193a-3p过

表达或ALKBH5沉默时, N6-甲基腺苷甲基化减少, 从而减弱了MIRI大鼠心脏中的自噬。既往研究表明, miR-143-3p是MIRI的潜在调节分子。Lu等^[61]通过建立了小鼠的MIRI模型发现, 再灌注后缺血性心脏组织中的miR-143-3p随时间推移而增加, 转染miR-143-3p的心肌细胞更容易发生细胞凋亡, 而特异性抑制miR-143-3p可减少MIRI时心肌细胞凋亡。该研究表明, 抑制miR-143-3p可能是治疗IHD的有效方法。在MIRI领域, 关于miRNA潜在治疗应用的研究仍处于早期阶段。miRNA的各种药代动力学和体内生物分布方面需要进一步的研究。

3.4 铁死亡在MIRI中的作用

铁死亡是一种依赖于铁离子的新型程序性细胞死亡方式, 以脂质过氧化物的积累为特征。相较于其他细胞死亡方式, 对于铁死亡在MIRI中的作用机制的研究尚有所欠缺。铁死亡在MIRI的发病机制中发挥着关键作用, 与氧化应激密切相关^[62]。在MIRI时, 常常会引起细胞内“不稳定铁池”中 Fe^{2+} 的超载。细胞内蓄积的 Fe^{2+} 异常积聚通过芬顿反应或哈伯-韦斯反应生成ROS, 导致多不饱和脂肪酸的氧化, 造成脂质过氧化物蓄积, 最终导致细胞膜破坏和线粒体受损^[63]。研究发现, 心肌缺血阶段会引起花生四烯酸15-脂氧合酶的表达, 促进不饱和磷脂的过氧化。这一发现推翻了氧化损伤仅发生在再灌注阶段的观点, 并提出15-羟基二十四碳烯酸可能是心肌细胞铁死亡的触发因素。

谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase 4, GPX4)是一种重要的抗氧化酶, 对抑制 Fe^{2+} 依赖性ROS的形成至关重要^[64]。System Xc^- /GSH/GPX4是铁死亡的主要抗氧化系统, 参与调节氨基酸、谷胱甘肽的代谢, 其主要功能是调节胱氨酸与谷氨酸的交换, 胱氨酸在谷氨酸半胱氨酸连接酶和谷胱甘肽合成酶的催化作用下合成GSH, 在GPX4催化下, 将脂质过氧化物还原为脂质醇, 发挥保护心肌细胞的作用^[65]。若System Xc^- 系统受到抑制, 细胞内生产GSH的原材料不足, 或GPX4失活, 细胞内ROS和脂质过氧化物的积累会导致细胞发生铁死亡。此外, 铁死亡激活剂RSL3一直以来被认为是GPX4抑制剂, 能够消耗GSH生成原料, 参与MIRI和铁死亡过程。然而, 有研究发现,

RSL3并非直接作用于GPX4, 而是作用于硫氧还蛋白还原酶1, 且可以通过铁死亡抑制剂Fer-1解除, 对于硫氧还蛋白还原酶1是否参与调节铁死亡和MIRI及其具体机制有待进一步研究^[66]。铁死亡在MIRI中的作用机制复杂且多样, 涉及多种交叉影响的机制, 未来的研究可以进一步探索靶向抑制铁死亡的药物, 并评估其在临床应用中的效果。这将为改善心脏病患者的预后和生存率提供新的希望, 为心脏保护和治疗提供新的方向。

4 总结与展望

综上, MIRI是一个复杂的病理过程, 涉及多个信号通路的相互作用。氧化应激在MIRI中发挥着至关重要的作用, 其是MIRI引发细胞内环境不平衡、细胞损伤和心肌功能障碍的关键机制之一。目前已经确定了多种信号通路参与了MIRI中的氧化应激过程。然而, 即便是目前已发现的相关信号通路, 也仍然包含着许多未知的部分, 需要我们进一步研究。幸运的是, 目前已经存在一些干预措施可通过干预这些信号通路和靶向ROS的生成和清除, 进而用于治疗ROS诱导的再灌注损伤。随着科学技术的不断进步, 对MIRI通路的深入研究为我们揭示了更多治疗的可能性。这些研究有望为MIRI治疗领域带来新的突破, 为患者提供更有效、个性化的治疗选择。

参考文献

- [1] Roth GA, Mensah GA, Johnson CO, et al. Global burden of cardiovascular diseases and risk factors, 1990–2019. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 76(25): 2982-3021
- [2] Wu Y, Liu H, Wang X. Cardioprotection of pharmacological postconditioning on myocardial ischemia/reperfusion injury. *Life Sci*, 2021, 264: 118628
- [3] Liu NB, Wu M, Chen C, et al. Novel molecular targets participating in myocardial ischemia-reperfusion injury and cardioprotection. *Cardiol Res Pract*, 2019, 2019: 6935147
- [4] Ogura Y, Ouchi N, Ohashi K, et al. Therapeutic impact of follistatin-like 1 on myocardial ischemic injury in preclinical models. *Circulation*, 2012, 126(14): 1728-1738
- [5] Chouchani ET, Pell VR, Gaude E, et al. Ischaemic accumulation of succinate controls reperfusion injury through mitochondrial ROS. *Nature*, 2014, 515(7527):

- 431-435
- [6] Tomasian D. Antioxidants and the bioactivity of endothelium-derived nitric oxide. *Cardiovasc Res*, 2000, 47(3): 426-435
- [7] Ma QW, Han RT, Wu ZJ, et al. Melatonin derivative 6a as a PARP-1 inhibitor for the treatment of Parkinson's disease. *Front Pharmacol*, 2024(15): 1363212
- [8] Nosalski R, Siedlinski M, Neves KB, et al. Editorial: the interplay between oxidative stress, immune cells and inflammation in cardiovascular diseases. *Front Cardiovasc Med*, 2024(11): 1385809
- [9] Braunersreuther V, Jaquet V. Reactive oxygen species in myocardial reperfusion injury: from physiopathology to therapeutic approaches. *Curr Pharm Biotechnol*, 2012, 13(1): 97-114
- [10] Ma H, Guo R, Yu L, et al. Aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) rescues myocardial ischaemia/reperfusion injury: role of autophagy paradox and toxic aldehyde. *Eur Heart J*, 2011, 32(8): 1025-1038
- [11] van der Pol A, van Gilst WH, Voors AA, et al. Treating oxidative stress in heart failure: past, present and future. *Eur J Heart Fail*, 2019, 21(4): 425-435
- [12] Lisa F, Bernardi P. Modulation of mitochondrial permeability transition in ischemia-reperfusion injury of the heart. advantages and limitations. *Curr Med Chem*, 2015, 22(20): 2480-2487
- [13] Deng RM, Zhou J. The role of PI3K/AKT signaling pathway in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Int Immunopharmacol*, 2023(123): 110714
- [14] Hua H, Zhang H, Chen J, et al. Targeting Akt in cancer for precision therapy. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1): 128-153
- [15] Krafczyk N, Klotz L. FOXO transcription factors in antioxidant defense. *IUBMB Life*, 2022, 74(1): 53-61
- [16] Yu D, Xiong J, Gao Y, et al. Resveratrol activates PI3K/AKT to reduce myocardial cell apoptosis and mitochondrial oxidative damage caused by myocardial ischemia/reperfusion injury. *Acta Histochemica*, 2021, 123(5): 151739
- [17] Li H, Zou T, Meng S, et al. p21 protects cardiomyocytes against ischemia-reperfusion injury by inhibiting oxidative stress. *Mol Med Rep*, 2018, 17(3): 4665-4671
- [18] Liu XM, Zhang Z, Zhong J, et al. Long non-coding RNA MALAT1 modulates myocardial ischemia-reperfusion injury through the PI3K/Akt/eNOS pathway by sponging miRNA-133a-3p to target IGF1R expression. *Eur J Pharmacol*, 2022, 916: 174719
- [19] Chen K, Xue R, Geng Y, et al. Galangin inhibited ferroptosis through activation of the PI3K /AKT pathway *in vitro* and *in vivo*. *FASEB J*, 2022, 36(11): e22569
- [20] Sun Y, Tong H, Chu X, et al. Notch1 regulates hepatic thrombopoietin production. *Blood*, 2024, 143(26): 2778-2790
- [21] Feng G, Zhang H, Guo Q, et al. NONHSAT098487.2 protects cardiomyocytes from oxidative stress injury by regulating the Notch pathway. *Heliyon*, 2023, 9(6): e17388
- [22] Luo G, Wang R, Zhou H, et al. ALDOA protects cardiomyocytes against H/R-induced apoptosis and oxidative stress by regulating the VEGF/Notch 1/Jagged 1 pathway. *Mol Cell Biochem*, 2021, 476(2): 775-783
- [23] Shen Y, Dong Z, Fan F, et al. Targeting cytokine-like protein FAM3D lowers blood pressure in hypertension. *Cell Rep Med*, 2023, 4(6): 101072
- [24] Janaszak-Jasiecka A, Płoska A, Wierońska JM, et al. Endothelial dysfunction due to eNOS uncoupling: molecular mechanisms as potential therapeutic targets. *Cell Mol Biol Lett*, 2023, 28(1): 21
- [25] Pei H, Yu Q, Xue Q, et al. Notch1 cardioprotection in myocardial ischemia/reperfusion involves reduction of oxidative/nitrative stress. *Basic Res Cardiol*, 2013, 108(5): 373
- [26] Zhang J, Pan W, Zhang Y, et al. Comprehensive overview of Nrf2-related epigenetic regulations involved in ischemia-reperfusion injury. *Theranostics*, 2022, 12(15): 6626-6645
- [27] Li HX, Wang TH, Wu LX, et al. Role of Keap1-Nrf2/ARE signal transduction pathway in protection of dexmedetomidine preconditioning against myocardial ischemia/reperfusion injury. *Biosci Rep*, 2022, 42(9): BSR20221306
- [28] Torrente L, DeNicola GM. Targeting NRF2 and its downstream processes: opportunities and challenges. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2022, 62(1): 279-300
- [29] Shen Y, Liu X, Shi J, et al. Involvement of Nrf2 in myocardial ischemia and reperfusion injury. *Int J Biol Macromol*, 2019, 125: 496-502
- [30] Zhang Q, Liu J, Duan H, et al. Activation of Nrf2/HO-1 signaling: An important molecular mechanism of herbal medicine in the treatment of atherosclerosis via the protection of vascular endothelial cells from oxidative stress. *J Adv Res*, 2021, 34: 43-63
- [31] Leal EC, Carvalho E. Heme oxygenase-1 as therapeutic target for diabetic foot ulcers. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(19): 12043
- [32] Xu J, Zhu K, Wang Y, et al. The dual role and mutual dependence of heme/HO-1/Bach1 axis in the carcinogenic and anti-carcinogenic intersection. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2023, 149(1): 483-501
- [33] Wu T, Yao H, Zhang B, et al. κ Opioid receptor agonist inhibits myocardial injury in heart failure rats through activating Nrf2/HO-1 pathway and regulating Ca^{2+} -SER-

- CA2a. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 1-13
- [34] Miyamoto N, Izumi H, Miyamoto R, et al. Quercetin induces the expression of peroxiredoxins 3 and 5 via the Nrf2/NRF1 transcription pathway. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52(2): 1055
- [35] Hu B, Wu Y, Liu J, et al. GSK-3 β inhibitor induces expression of Nrf2/TrxR2 signaling pathway to protect against renal ischemia/reperfusion injury in diabetic rats. *Kidney Blood Press Res*, 2016, 41(6): 937-946
- [36] Han X, Wang H, Du F, et al. Nrf2 for a key member of redox regulation: a novel insight against myocardial ischemia and reperfusion injuries. *Biomed Pharmacother*, 2023, 168: 115855
- [37] Choudhry H, Harris AL. Advances in hypoxia-inducible factor biology. *Cell Metab*, 2018, 27(2): 281-298
- [38] Zheng J, Chen P, Zhong J, et al. HIF-1 α in myocardial ischemia-reperfusion injury (Review). *Mol Med Rep*, 2021, 23(5): 352
- [39] Bao X, Zhang J, Huang G, et al. The crosstalk between HIFs and mitochondrial dysfunctions in cancer development. *Cell Death Dis*, 2021, 12(2): 215
- [40] Zhu N, Li J, Li Y, et al. Berberine protects against simulated ischemia/reperfusion injury-induced H9C2 cardiomyocytes apoptosis *in vitro* and myocardial ischemia/reperfusion-induced apoptosis *in vivo* by regulating the mitophagy-mediated HIF-1 α /BNIP3 pathway. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 367
- [41] Matsushima S, Kuroda J, Ago T, et al. Broad suppression of NADPH oxidase activity exacerbates ischemia/reperfusion injury through inadvertent downregulation of hypoxia-inducible factor-1 α and upregulation of peroxisome proliferator-activated receptor- α . *Circ Res*, 2013, 112(8): 1135-1149
- [42] Rim EY, Clevers H, Nusse R. The Wnt pathway: from signaling mechanisms to synthetic modulators. *Annu Rev Biochem*, 2022, 91(1): 571-598
- [43] Shen J, Li Y, Jiao Y, et al. Wnt 3a protects myocardial injury in elderly acute myocardial infarction by inhibiting serum cystatin C/ROS-induced mitochondrial damage. *Front Physiol*, 2022, 13: 950960
- [44] Guo X, Gu X, Hareshwaree S, et al. Induced pluripotent stem cell-conditional medium inhibits H9C2 cardiomyocytes apoptosis via autophagy flux and Wnt/ β -catenin pathway. *J Cell Mol Medi*, 2019, 23(6): 4358-4374
- [45] Zhang L, Cao M, Yu Z, et al. The restoration of Wnt/ β -catenin signalling activity by a tuna backbone-derived peptide ameliorates hypoxia-induced cardiomyocyte injury. *Am J Transl Res*, 2020, 12(9): 5221-5236
- [46] Hayden MS, Ghosh S. Regulation of NF- κ B by TNF family cytokines. *Semin Immunol*, 2014, 26(3): 253-266
- [47] van der Heiden K, Cuhlmann S, Luong LA, et al. Role of nuclear factor κ B in cardiovascular health and disease. *Clin Sci*, 2010, 118(10): 593-605
- [48] Wang G, Wang J, Li X, et al. Hypoxia and TNF- α synergistically induce expression of IL-6 and IL-8 in human fibroblast-like synoviocytes via enhancing TAK1/NF- κ B/HIF-1 α signaling. *Inflammation*, 2023, 46(3): 912-924
- [49] Meng P, Yang R, Jiang F, et al. Molecular mechanism of astragaloside IV in improving endothelial dysfunction of cardiovascular diseases mediated by oxidative stress. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 1-8
- [50] Miao L, Pan D, Shi J, et al. Role and mechanism of PKC- δ for cardiovascular disease: current status and perspective. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9: 816369
- [51] Chen L, Shi D, Guo M. The roles of PKC- δ and PKC- ϵ in myocardial ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol Res*, 2021, 170: 105716
- [52] Zhao Y, Wang Z, Feng D, et al. p66Shc contributes to liver fibrosis through the regulation of mitochondrial reactive oxygen species. *Theranostics*, 2019, 9(5): 1510-1522
- [53] Sampaio SF, Branco AF, Wojtala A, et al. p66Shc signaling is involved in stress responses elicited by anthracycline treatment of rat cardiomyoblasts. *Arch Toxicol*, 2016, 90(7): 1669-1684
- [54] Eid RA, Alharbi SA, El-kott AF, et al. Exendin-4 ameliorates cardiac remodeling in experimentally induced myocardial infarction in rats by inhibiting PARP1/NF- κ B axis in a SIRT1-dependent mechanism. *Cardiovasc Toxicol*, 2020, 20(4): 401-418
- [55] Handy DE, Castro R, Loscalzo J. Epigenetic Modifications. *Circulation*, 2011, 123(19): 2145-2156
- [56] Boovarahan SR, AlAsmari AF, Ali N, et al. Targeting DNA methylation can reduce cardiac injury associated with ischemia reperfusion: one step closer to clinical translation with blood-borne assessment. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9: 1021909
- [57] Boovarahan SR, Kurian GA. Investigating the role of DNMT1 gene expression on myocardial ischemia reperfusion injury in rat and associated changes in mitochondria. *Biochim Biophys Acta*, 2022, 1863(6): 148566
- [58] Tang LJ, Zhou YJ, Xiong XM, et al. Ubiquitin-specific protease 7 promotes ferroptosis via activation of the p53/TfR1 pathway in the rat hearts after ischemia/reperfusion. *Free Radical Biol Med*, 2021, 162: 339-352
- [59] Sun Y, Chu S, Wang R, et al. Non-coding RNAs modulate pyroptosis in myocardial ischemia-reperfusion injury: a comprehensive review. *Int J Biol Macromol*, 2024, 257: 128558

- [60] Wang D, Wang D, Jin Q, et al. Suxiao Jiuxin Pill alleviates myocardial ischemia/reperfusion-induced autophagy via miR-193a-3p/ALKBH5 pathway. *Phytomedicine*, 2024, 125: 155359
- [61] Lu CH, Chen DX, Dong K, et al. Inhibition of miR-143-3p alleviates myocardial ischemia reperfusion injury via limiting mitochondria-mediated apoptosis. *Biol Chem*, 2023, 404(6): 619-631
- [62] Zhang CH, Yan YJ, Luo Q. The molecular mechanisms and potential drug targets of ferroptosis in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Life Sci*, 2024, 340: 122439
- [63] Rochette L, Dogon G, Rigal E, et al. Lipid Peroxidation and iron metabolism: two corner stones in the homeostasis control of ferroptosis. *Int J Mol Sci*, 2022, 24(1): 449
- [64] Barbosa P, Abo El-Magd NF, Hesketh J, et al. The role of rs713041 glutathione peroxidase 4 (GPX4) single nucleotide polymorphism on disease susceptibility in humans: a systematic review and meta-analysis. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(24): 15762
- [65] Tang D, Chen X, Kang R, et al. Ferroptosis: molecular mechanisms and health implications. *Cell Res*, 2021, 31(2): 107-125
- [66] Cheff DM, Huang C, Scholzen KC, et al. The ferroptosis inducing compounds RSL3 and ML162 are not direct inhibitors of GPX4 but of TXNRD1. *Redox Biol*, 2023, 62: 102703