

内源性大麻素系统对心肌缺血再灌注损伤保护作用的研究进展

梁婧^{1,2} 综述 周满红¹ 审校

1.遵义医科大学附属医院急诊科,贵州 遵义 563000;

2.遵义医科大学第三附属医院老年医学科,贵州 遵义 563000

【摘要】 心肌缺血再灌注(MI/R)已成为急性心肌梗死和体外循环患者再灌注治疗后最严重的并发症之一。MI/R 损伤与氧化应激、炎症反应、钙超载及线粒体膜通透性转换孔(mPTP)开放等有关。最近研究显示,调节大麻素系统(ECS)对氧化应激损伤、炎症反应、钙超载等具有一定的抑制效应,同时还能减轻心肌线粒体的损伤,提高 MI/R 后的心肌功能和改善预后。本文就大麻素系统对 MI/R 保护作用的研究进展进行综述。

【关键词】 内源性大麻素系统;心肌缺血再灌注损伤;氧化应激;炎症反应;钙超载;大麻素水解酶抑制剂

【中图分类号】 R542.2 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2023)07—1043—04

Research progress on the protective effect of endogenous cannabinoid system on myocardial ischemia-reperfusion injury. LIANG Jing^{1,2}, ZHOU Man-hong¹. 1. Department of Emergency, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou, CHINA; 2. Department of Geriatrics, the Third Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou, CHINA

【Abstract】 Myocardial ischemia-reperfusion (MI/R) has become one of the most serious complications after reperfusion therapy in patients with acute myocardial infarction and cardiopulmonary bypass. MI/R is related to oxidative stress, inflammatory reaction, calcium overload, and opening of mitochondrial membrane permeability transition pore (mPTP). Recent studies have shown that the regulation of cannabinoid system (ECS) has a certain inhibitory effect on oxidative stress injury, inflammatory reaction, and calcium overload. At the same time, it can also reduce the damage of myocardial mitochondria, improve myocardial function and improve prognosis after MI/R. This paper reviews the protective effect of cannabinoid system on MI/R.

【Key words】 Endogenous cannabinoid system; Myocardial ischemia/reperfusion; Oxidative stress; Inflammatory response; Calcium overload; Cannabinoid hydrolase inhibitors

缺血性心脏病仍然是全世界死亡的主要原因之一^[1]。缺血性心脏病可通过溶栓或介入治疗,使缺血区心肌得到再灌注,显著降低患者的死亡率。然而,由于再灌注过程中心肌组织经历了缺氧/复氧、PH值改变等刺激,反而导致心肌组织进一步受损,使患者

病情加重,出现心肌顿挫、心律失常等,临床上将这种病理现象称为心肌缺血再灌注(myocardial ischemia-reperfusion, MI/R)损伤^[2]。先前的研究表明,MI/R 损伤的主要机制涉及氧化应激、炎症反应、线粒体损伤、细胞内钙超载等,各种因素相互关联,进一步

第一作者:梁婧(1995—),女,在读硕士,住院医师,研究方向:心肺复苏。

通讯作者:周满红(1963—),男,主任医师,研究生导师,主要研究方向为心肺复苏,E-mail: manhongzhou@sina.com。

炎疗效观察[J]. 中国危重病急救医学, 2005, 17(1): 45.

[23] Shen Y, Wang Y, Shi Y, et al. Development of liposome as a novel adsorbent for artificial liver support system in liver failure [J]. J Liposome Res, 2020, 30(3): 246-254.

[24] Wang ZG. Technical characteristics of continuous blood purification therapy [M]//Blood Purification. Beijing Science and Technology Press, 2016: 521-522.

王质刚. 连续性血液净化治疗的技术特点[M]//血液净化学. 北京科学技术出版社, 2016: 521-522.

[25] Wang YH, Zhu X, Feng DY, et al. Artificial liver support system for acute-on-chronic liver failure combined with successful liver transplantation in stage III ~IV hepatic encephalopathy: an analysis of 14

cases [J]. Chin J Hepatol, 2018, 26(9): 676-679.

王艳红, 朱翔, 冯定云, 等. 人工肝支持慢加急性肝衰竭合并 III~IV 期肝性脑病患者成功完成肝移植 14 例分析[J]. 中华肝脏病杂志, 2018, 26(9): 676-679.

[26] Yao J, Li S, Zhou L, et al. Therapeutic effect of double plasma molecular adsorption system and sequential half-dose plasma exchange in patients with HBV-related acute-on-chronic liver failure [J]. J Clin Apher, 2019, 34(4): 392-398.

[27] Zhang J, Luo H, Han Y, et al. Sequential versus mono double plasma molecular adsorption system in acute-on-chronic liver failures: A propensity-score matched study [J]. Int J Artif Organs, 2022, 45(1): 5-13.

(收稿日期:2022-08-19)

加重心肌损害^[3]。研究发现 MI/R 损伤已成为急性心肌梗死和体外循环患者再灌注治疗后最严重的并发症之一^[4]。因此,再灌注后心肌功能障碍是必须要认真对待和处理的一个关键问题。

内源性大麻素(endocannabinoids, eCB)由于其具有可诱导低温、舒张血管和抗氧化特性以及由此产生的改善心脏代谢危险因素的能力,从而在多种心脏病中发挥着重要的防治作用^[5]。内源性大麻素系统(endocannabinoid system, ECS)包括大麻素受体(cannabinoid receptor, CBR)、eCB (如花生四烯酸乙胺醇(anandamide, AEA)与花生四烯酸甘油(2-Arachidonoylglycerol, 2-AG)),以及酶(如脂肪酸酰胺水解酶(fatty acid amide hydrolase, FAAH)与单甘油酯脂肪酶(monoacylglycerol lipase, MAGL))等。FAAH 与 MAGL 都是内源性大麻素水解酶,都能水解 eCB 生成花生四烯酸(arachidonic acid, AA)^[5-6]。目前,有多项研究提示, ECS 能改善缺血再灌注后肝脏、肺和脑功能^[7-9]。而目前关于 ECS 对 MR/I 保护作用的研究较少,因此本文就 ECS 与 MR/I 之间的关系做一综述。

1 MI/R 的机制

由于再灌注过程中心肌组织经历了缺氧/复氧、PH 值改变等刺激,反而导致心肌组织进一步受损。MI/R 的主要机制包括氧化应激反应、钙超载、炎症反应及线粒体膜通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, mPTP)开放等,这些机制在 MI/R 中相互影响,共同促进 MI/R 的发生、发展^[10]。在心肌细胞缺氧阶段,由于缺血区域的氧化磷酸化终止,而持续的糖酵解会造成细胞内乳酸的堆积,从而使细胞内 pH 下降,引起 Na⁺/H⁺通道的开放。Na⁺可通过 Na⁺通道进入细胞内,而无氧代谢使 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性下降,Na⁺泵出细胞减少,胞内 Na⁺增多导致渗透压增高,诱发心肌细胞水肿;再灌注时,缺血细胞重新获得氧,细胞内高 Na⁺除了激活钠泵外,也会刺激 Na⁺/Ca²⁺的交换,从而导致 Ca²⁺内流,同时由于 Ca²⁺ATP 酶活性降低, Ca²⁺逆浓度泵出细胞减少,同时肌浆网结合、储存钙的能力下降,导致钙超载^[11]。钙超载时细胞内钙离子能激活细胞膜上的多种磷脂酶,导致细胞膜及细胞器膜受损,促使心肌细胞凋亡、坏死。细胞内钙超载还能使钙依赖性蛋白水解酶激活,促使黄嘌呤脱氢酶转变成黄嘌呤氧化酶,致使自由基产生增多^[11-12]。机体在正常情况下自由基的产生和清除是保持平衡的。但在缺血缺氧时,自由基清除剂超氧化物歧化酶(SOD)等抗氧化酶的活性明显下降,致使自由基的含量大大增加。细胞内增多的氧自由基能使心肌细胞膜的通透性增加,加重细胞水肿、钙超载^[13];氧自由基不仅能与心肌细胞内的收缩蛋白结合,抑制心肌收缩,也可改变心肌细胞内 DNA 结构,促进细胞死亡。另外,钙

超载和氧自由基还能激活细胞膜上的磷脂酶和蛋白分解酶,使 AA 产生增加,从而使白三烯(leukotriene, LT)、前列环素(prostaglandin E2, PGE2)、血栓素 A2 (thromboxane A2, TXA2)等产生增加,促进炎症反应及血栓形成^[9],损害心肌细胞。同时细胞内增多的钙离子与氧自由基可破坏线粒体膜结构,使线粒体膜的通透性增加,线粒体肿胀。钙超载时胞浆中大量的 Ca²⁺进入线粒体会刺激线粒体内膜 mPTP 的开放, mPTP 的开放会进一步导致线粒体水肿,使线粒体能量代谢障碍,进而促进心肌细胞凋亡、死亡^[11,14]。

2 内源性大麻素系统

eCB、CBR、及参与合成、转运、降解 eCB 的酶类共同组成了 ECS。eCB 是体内天然存在的一类化合物,科学家目前研究最多的主要有两种类型,即 AEA 和 2-AG,二者具有与四氢大麻酚(THC)极为相似的三维结构,故被称为“内源性大麻素样物质”^[15]。eCB 能与 CBR 结合从而发挥一系列生物学效应, CBR 包括 2 种经典受体,即 1 型大麻素受体(cannabinoid receptor 1, CB1R)和 2 型大麻素受体(cannabinoid receptor 2, CB2R)。此外瞬时受体电位香草酸亚型 1 (transient receptor potential vanilloid type 1, TRPV1)、过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator activated receptor, PPAR)以及其他一些 G 蛋白耦联受体(G protein coupled receptor, GPR)近年来也被鉴定为新的 CBR。其中 CB1R 与 CB2R 在心脏中都有表达。AEA 与 2-AG 都是 CBR 的内源性配体, eCB 通过受体依赖性和非依赖性途径经一系列细胞内信号传导通路,以此来发挥保护心血管的效应^[15-16]。然而 eCB 是根据机体的需求而产生的,作用时间相对较短,然后被特定的酶迅速降解^[17]。FAAH 和 MAGL 分别是降解内源性大麻素 AEA 和 2-AG 的水解酶。AEA 在膜转运体的作用下,被吸收入细胞,然后在 FAAH 的作用下被水解成氨基酸和 AA。MAGL 是 2002 年被发现的一种丝氨酸水解酶,该酶能水解 2-AG 产生 AA 和甘油^[18-20]; AA 进而产生 LT、PGE2、TXA2,促进炎症反应和血栓形成。同时有研究报道, eCB 具有扩张血管、降压、抑制心肌收缩、抗炎等效应,提示 eCB 在心血管疾病的防治中有潜在的应用前景^[16]。

3 内源性大麻素系统在 MR/I 中的作用

研究发现小鼠心肌损伤后血浆和心脏中 2-AG 水平显著升高,并发现 CB2R 基因敲除的小鼠 MR/I 加重,提示 2-AG 通过 CBR 参与小鼠的心脏保护作用^[21]。Lépicier 等^[24]发现 eCB 可通过激活 CB2R 对大鼠缺血再灌注心脏发挥强大的保护作用。此外,AEA 通过 PI3K/Akt 信号通路诱导热休克蛋白 72 表达增加从而对缺血再灌注损伤具有心脏保护作用,AEA 也可抑制大鼠心肌细胞中的 Na⁺/Ca²⁺交换电流来降低细胞

内 Ca^{2+} 浓度减轻钙超载从而减轻缺血再灌注后的心肌损伤^[22],同时有研究发现由 AEA 分解形成的乙醇胺可通过激活 STAT-3 防止缺血性细胞凋亡从而对 MI/R 具有保护作用^[25]。Ma 等^[26]发现使用大麻素受体激动剂 WIN55212-2 可引起体温过低,引起心肌组织代谢降低,而这种低代谢状态可减轻整体 MI/R 后的自由基产生、线粒体损伤、细胞膜渗漏和离子泵功能障碍,从而显著改善复苏后的心功能。同时在小鼠 MI/R 模型中发现使用大麻素受体激动剂可通过减轻心肌炎症浸润来减少梗塞面积及降低缺血再灌注后室性心律失常的发生率^[22-27]。尽管多项研究已经证明 eCB 对 MI/R 具有保护作用,但在没有器官组织选择性的情况下使用大麻素受体激动剂可能会导致与大麻素相关的严重并发症,从而限制了其使用。

ECS 的酶在 eCB 的调节中起重要作用,在大麻素完成其生理作用后,FAAH 及 MAGL 分别负责分解 AEA 和 2-AG。由于大麻素水解酶在大麻素分解代谢中起重要作用,因此,抑制 FAAH 和 MAGL 可间接提高体内大麻素的水平,由此大麻素水解酶抑制剂应运而生,它通过抑制大麻素水解酶来增加 eCB 的水平,从而使内源性大麻素信号转导增强发挥保护 MI/R 的作用^[28](图 1)。近年来,科学家们研究出了各种化学性质各异的 FAAH 和 MAGL 抑制剂,如:JZL184、URB602、URB597、URB937^[18, 29-30]。有研究指出大麻素水解酶抑制剂能产生与大麻素配体同样令人满意的药理作用,但又没有因直接刺激大麻素受体而产生不利的作用,如成瘾和精神方面的副作用。JZL184 是一种具有神经保护作用的单酰基甘油酯酶(MAGL)选择性抑制剂,JZL184 通过激活 Nrf2/ARE 信号通路减轻氧化应激保护海马神经元免于缺血再灌注损伤^[31]。研究在大鼠心脏骤停-心肺复苏模型中发现腹腔注射 MAGL 抑制剂可提高心肌组织中 2-AG 的含量并降低 AA、PGI₂、TXB₂ 和 LTB₄ 等代谢产物的水平,从而抑制炎症反应及减轻心肌高凝状态,也可明显改善 CA-CPR 后大鼠的平均动脉血压、左室射血分数和左室短轴缩短率从而有效改善心功能不全;此外,研究还发现 MAGL 抑制剂能在自主循环后 15 min 阻止 mPTP 的开放,从而减轻线粒体水肿^[9, 32-33]。异丙酚是脂肪酸酰胺水解酶(FAAH)的竞争性抑制剂,其催化 eCB 的降解,异丙酚对 MI/R 损伤的保护作用主要通过增强 eCB 释放和随后激活 CB₂ 受体信号传导机制^[34]。向野生型 C57BL/6 小鼠静脉注射 2-AG 及给予 JZL184 药物阻断 MAGL,可增加心肌梗死小鼠体内的 2-AG 水平,对心脏愈合和功能产生至关重要的影响,而在 CB₂R 敲除小鼠,这种效果明显减弱^[21]。这些研究均提示调节 ECS 可通过抑制氧化应激、炎症反应、钙超载及减轻线粒体的损伤,从而实现 MI/R 的保护作用。

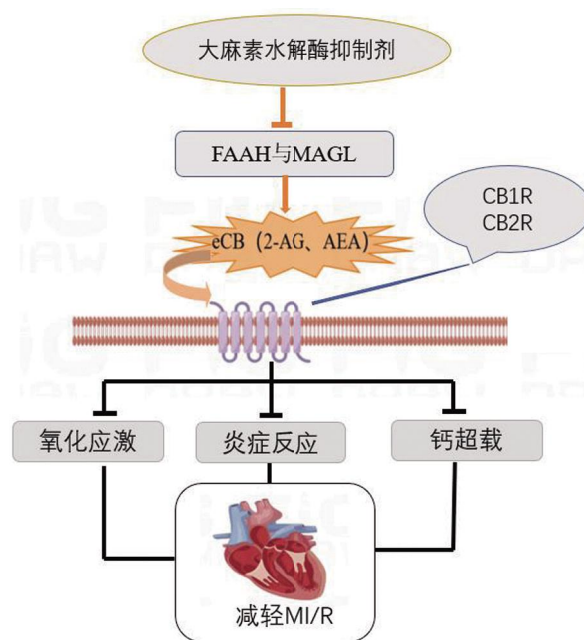


图 1 内源性大麻素系统与 MI/R 的关系

Figure 1 Relationship between endogenous cannabinoid system and MI/R

4 结语

eCB 通过与 CBR 结合对 MI/R 损伤发挥保护作用,而大麻素水解酶抑制剂通过抑制大麻素水解酶对大麻素的水解作用提高 eCB 水平,因而对 MI/R 起到一定的保护作用。目前虽已有研究表明,调节 ECS 可对 MI/R 具有保护作用,但其具体的作用机制及药物相关的副作用还有待更加深入细致的研究。因此,关于内源性大麻素系统对 MI/R 的保护作用仍需要进行更深入的研究。

参考文献

- Gumpper-Fedus K, Park KH, Ma H, et al. MG53 preserves mitochondrial integrity of cardiomyocytes during ischemia reperfusion-induced oxidative stress [J]. Redox Biol, 2022, 54: 102357.
- Cui HM. On the protective effect of the inonotus obliquus alcohol extract on the myocardial ischemia-reperfusion injury in rats [D]. Jilin University, 2022. 崔贺铭. 桦褐孔菌醇提物的成分分析及其对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用研究[D]. 长春: 吉林大学, 2022.
- Wu C, Chen RL, Wang Y, et al. Acacetin alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury by inhibiting oxidative stress and apoptosis via the Nrf-2/HO-1 pathway [J]. Pharm Biol, 2022, 60(1): 553-561.
- Zhou W, Li S, Hao S, et al. Protective effect and mechanism of low P50 haemoglobin oxygen carrier on isolated rat heart [J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2022, 50(1): 121-129.
- Sierra S, Luquin N, Navarro-Otano J. The endocannabinoid system in cardiovascular function: novel insights and clinical implications [J]. Clin Auton Res, 2018, 28(1): 35-52.
- Grabner GF, Zimmermann R, Schicho R, et al. Monoglyceride lipase as a drug target: At the crossroads of arachidonic acid metabolism and endocannabinoid signaling [J]. Pharmacol Ther, 2017, 175: 35-46.
- Cao Z, Mulvihill MM, Mukhopadhyay P, et al. Monoacylglycerol lipase controls endocannabinoid and eicosanoid signaling and hepatic

- injury in mice [J]. *Gastroenterology*, 2013, 144(4): 808-817.
- [8] Abdel Mageed SS, Ammar RM, Nassar NN, et al. Role of PI3K/Akt axis in mitigating hippocampal ischemia-reperfusion injury via CB1 receptor stimulation by paracetamol and FAAH inhibitor in rat [J]. *Neuropharmacology*, 2022, 207: 108935.
- [9] Xiong Y, Yao H, Cheng Y, et al. Effects of monoacylglycerol lipase inhibitor URB602 on lung ischemia-reperfusion injury in mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 506(3): 578-584.
- [10] Wang F, Xu Z. Research progress of mechanisms of myocardial injury after cardiopulmonary resuscitation [J]. *Medical Recapitulate*, 2012, 18(1): 93-95.
王芳, 许铁. 心肺复苏后心肌损伤机制的研究进展 [J]. *医学综述*, 2012, 18(1): 93-95.
- [11] Gazmuri RJ, Radhakrishnan J, Ayoub IM. Sodium-hydrogen exchanger isoform-1 inhibition: a promising pharmacological intervention for resuscitation from cardiac arrest [J]. *Molecules*, 2019, 24(9): 1765.
- [12] Maximilian Buja L. Mitochondria in ischemic heart disease [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 982: 127-140.
- [13] Walters AM, Porter GA, Jr, Brookes PS. Mitochondria as a drug target in ischemic heart disease and cardiomyopathy [J]. *Circ Res*, 2012, 111(9): 1222-1236.
- [14] Gouriou Y, Alam MR, Harhous Z, et al. ANT2-mediated ATP import into mitochondria protects against hypoxia lethal injury [J]. *Cells*, 2020, 9(12): 2542.
- [15] Ambrose T, Simmons A. Cannabis, cannabinoids, and the endocannabinoid system-is there therapeutic potential for inflammatory bowel disease? [J]. *J Crohns Colitis*, 2019, 13(4): 525-535.
- [16] Haspula D, Clark MA. Cannabinoid Receptors: An update on cell signaling, pathophysiological roles and therapeutic opportunities in neurological, cardiovascular, and inflammatory diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(20): 7693.
- [17] Harasim-Symbor E, Polak-Iwaniuk A, Konstantynowicz-Nowicka K, et al. Experimental activation of endocannabinoid system reveals antilipotoxic effects on cardiac myocytes [J]. *Molecules*, 2020, 25(8).
- [18] Abomalaka R, Bozkurt TE, Nemetlu E, et al. The effects of fatty acid amide hydrolase and monoacylglycerol lipase inhibitor treatments on lipopolysaccharide-induced airway inflammation in mice [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2020, 62: 101920.
- [19] Filbey FM, Beaton D, Prashad S. The contributions of the endocannabinoid system and stress on the neural processing of reward stimuli [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2021, 106: 110183.
- [20] Bononi G, Poli G, Rizzolio F, et al. An updated patent review of monoacylglycerol lipase (MAGL) inhibitors (2018-present) [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2021, 31(2): 153-168.
- [21] Schloss MJ, Horckmans M, Guillamat-Prats R, et al. 2-Arachidonoylglycerol mobilizes myeloid cells and worsens heart function after acute myocardial infarction [J]. *Cardiovasc Res*, 2019, 115(3): 602-613.
- [22] Li Q, Cui N, Du Y, et al. Anandamide reduces intracellular Ca^{2+} concentration through suppression of Na^+/Ca^{2+} exchanger current in rat cardiac myocytes [J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e63386.
- [23] Li Q, Shi M, Li B. Anandamide enhances expression of heat shock protein 72 to protect against ischemia-reperfusion injury in rat heart [J]. *J Physiol Sci*, 2013, 63(1): 47-53.
- [24] Lépicier P, Bouchard JF, Lagneux C, et al. Endocannabinoids protect the rat isolated heart against ischaemia [J]. *Br J Pharmacol*, 2003, 139(4): 805-815.
- [25] Kelly RF, Lamont KT, Somers S, et al. Ethanolamine is a novel STAT-3 dependent cardioprotective agent [J]. *Basic Res Cardiol*, 2010, 105(6): 763-770.
- [26] Ma L, Lu X, Xu J, et al. Improved cardiac and neurologic outcomes with postresuscitation infusion of cannabinoid receptor agonist WIN55, 212-2 depend on hypothermia in a rat model of cardiac arrest [J]. *Crit Care Med*, 2014, 42(1): e42-48.
- [27] Krylatov AV, Ugdyzhkova DS, Bernatskaya NA, et al. Activation of type II cannabinoid receptors improves myocardial tolerance to arrhythmogenic effects of coronary occlusion and reperfusion [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2001, 131(6): 523-525.
- [28] Della Pietra A, Giniatullin R, Savinainen JR. Distinct Activity of Endocannabinoid-Hydrolyzing Enzymes MAGL and FAAH in Key Regions of Peripheral and Central Nervous System Implicated in Migraine [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(3): 1204.
- [29] Greco R, Demartini C, Zanaboni A, et al. Characterization of the peripheral FAAH inhibitor, URB937, in animal models of acute and chronic migraine [J]. *Neurobiol Dis*, 2021, 147: 105157.
- [30] Li XH, Liu YQ, Gong DY, et al. The critical role of cannabinoid receptor 2 in URB602-induced protective effects against renal ischemia-reperfusion injury in the rat [J]. *Shock*, 2020, 54(4): 520-530.
- [31] Xu J, Guo Q, Huo K, et al. JZL184 protects hippocampal neurons from oxygen-glucose deprivation-induced injury via activating Nrf2/ARE signaling pathway [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2021, 40(7): 1084-1094.
- [32] Hai K, Chen G, Gou X, et al. Monoacylglycerol lipase inactivation by using URB602 mitigates myocardial damage in a rat model of cardiac arrest [J]. *Crit Care Med*, 2019, 47(2): e144-e151.
- [33] Ong SB, Dongworth RK, Cabrera-Fuentes H A, et al. Role of the MPTP in conditioning the heart-translatability and mechanism [J]. *Br J Pharmacol*, 2015, 172(8): 2074-2084.
- [34] Wu Q, Liu XW. SIRT1 inhibits related protein expression of endoplasmic reticulum stress in myocardial ischemic/reperfusion by activation of ERK1/2 pathway in rat [J]. *Basic Clin Med*, 2015, 35(6): 761-766.
吴倩, 刘新伟. SIRT1 激活 ERK1/2 通路抑制大鼠心肌缺血再灌注时内质网应激相关蛋白的表达 [J]. *基础医学与临床*, 2015, 35(6): 761-766.

(收稿日期:2022-08-11)