



第十二章 缺血-再灌注损伤

(Ischemia-reperfusion injury)

病理生理学教研室

张敬各





主要内容

- 概述
- 原因和条件
- 发生机制
- 功能代谢变化
- 防治的病理生理基础





重点难点

掌握


缺血-再灌注损伤的概念；缺血-再灌注导致自由基生成增多、钙超载及炎症反应过度激活的机制；自由基生成增多、钙超载引起缺血再灌注损伤的机制

熟悉

炎症反应过度激活引起缺血-再灌注损伤的机制；缺血-再灌注损伤时心脑功能代谢的变化

了解

缺血-再灌注损伤时其他器官缺血-再灌注损伤的变化；缺血-再灌注损伤的原因及条件；缺血-再灌注损伤防治的病理生理基础





概述





概述

➤ 缺血性损伤 (ischemic injury)

由于各种原因造成组织血液灌注减少而使细胞发生损伤。

➤ **缺血-再灌注损伤 (ischemia-reperfusion injury)** : 恢复某些缺血组织器官的血液灌注及氧供反而加重组织损伤的现象。

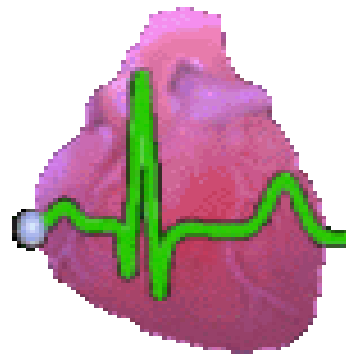




概述

认识就从这简单现象开始

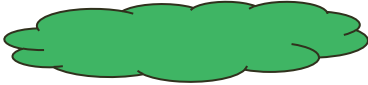
◆ 1955年，Sewell结扎狗冠状动脉后，如突然解除结扎，恢复血流，动物室颤而死亡。






概述

◆ 1960年，Jennings第一次提出
心肌缺血再灌注损伤的概念



在心肌缺血恢复血流后，缺血心肌的损伤反而加重，出现超微结构不可逆性损伤（爆发性水肿、组织结构崩解、收缩带形成等）。



概述



冠脉支架置入前后



1967年，Bulkley 和Hutchins
发现冠脉血管再通后的病人
发生心肌细胞反常性坏死。





概述

- ◆ 1981年，Greenberg等证实猫小肠缺血，3小时后再灌注时，粘膜损伤更严重。
- ◆ 此后发现几乎所有的器官都可能发生缺血再灌注损伤。





第一节 原因及条件





一、常见原因

都可能发生
再灌注损伤

- **组织器官缺血后恢复血液供应**

休克时微循环的疏通、断肢再植和器官移植等

- **某些医疗技术的应用**

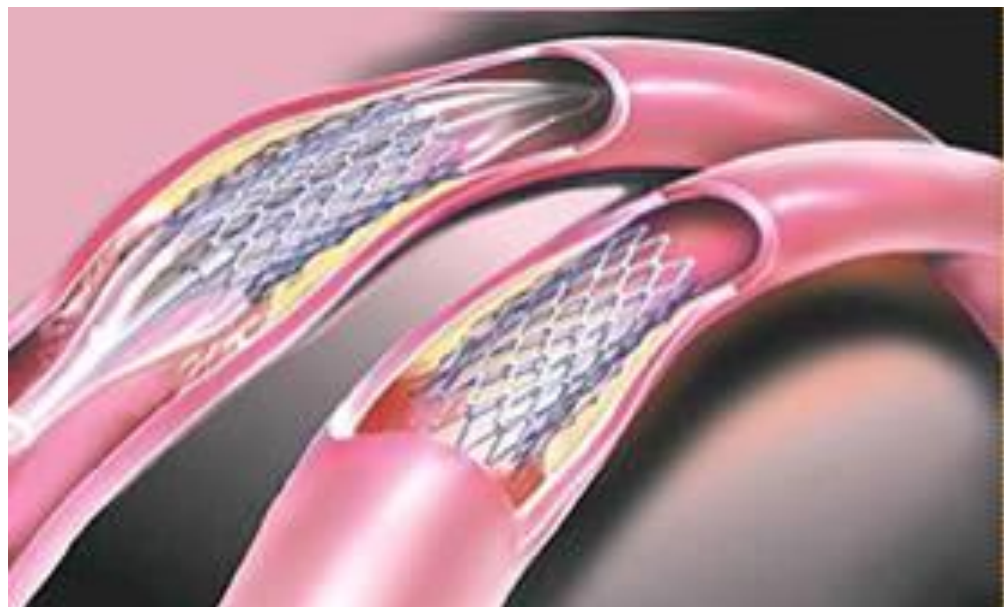
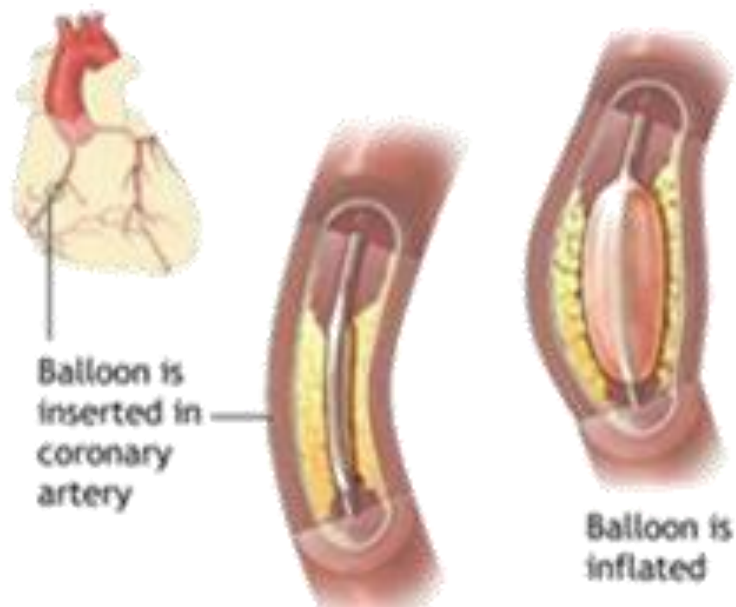
溶栓疗法、冠脉搭桥术以及经皮冠状动脉介入治疗等 (PTCA)

- **体外循环条件下的心脏手术、肺血栓切除术，心肺复苏、脑复苏等**





心脏介入手术



经皮冠状动脉腔内
成形术 (PTCA)

放置支架

PTCA结合支架治疗冠心病患者，成功率较高，长期生存率较高



二、常见条件

1. 缺血时间

缺血时间短—恢复血供后再灌注损伤不明显

缺血时间长—恢复血供后再灌注损伤明显

2. 侧支循环

3. 需氧程度

4. 再灌注条件

与再灌注时的压力、温度、pH值以及电解质浓度有关：

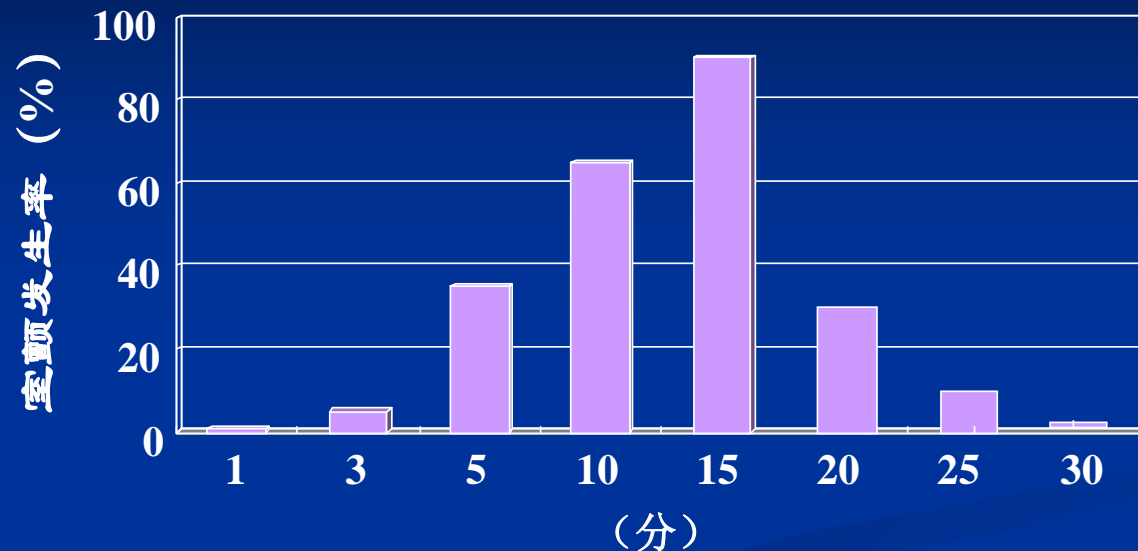
低温、低压低流、低pH、低钠、低钙—减轻；

高钠、高钙—加重。

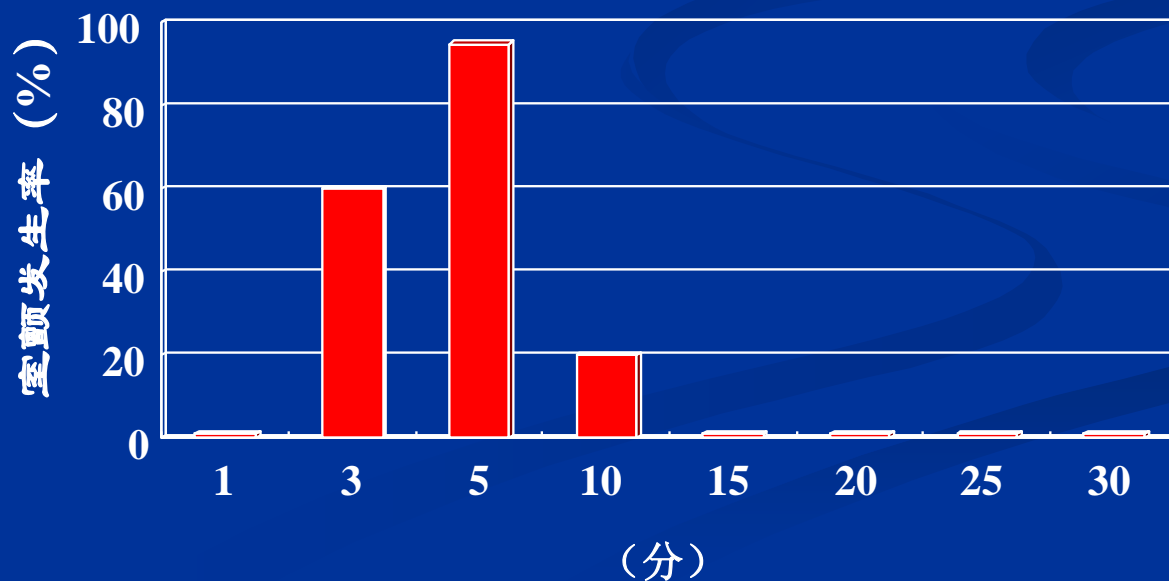


缺血时间对大鼠再灌注心律失常的影响

离体大鼠心脏



在体不麻醉





第二节 发生机制





缺血-再灌注损伤的发生机制

- 自由基增多
- 钙超载
- 炎症反应过度激活





一、自由基增多

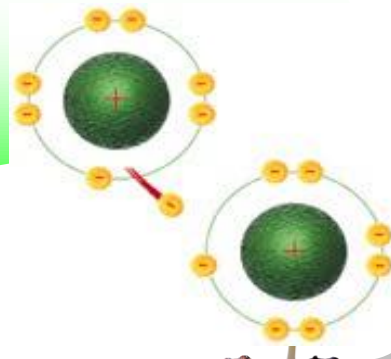
(一) 自由基概念及分类

自由基 (free radical): 指外层电子轨道上具有单个不配对电子的原子、原子团或分子。

化学性质活泼: 易于失去电子 (氧化) 或夺取电子 (还原)

氧化作用强: 强烈的引发脂质过氧化作用

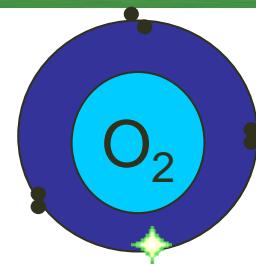
半衰期短: 平均寿命仅1ms



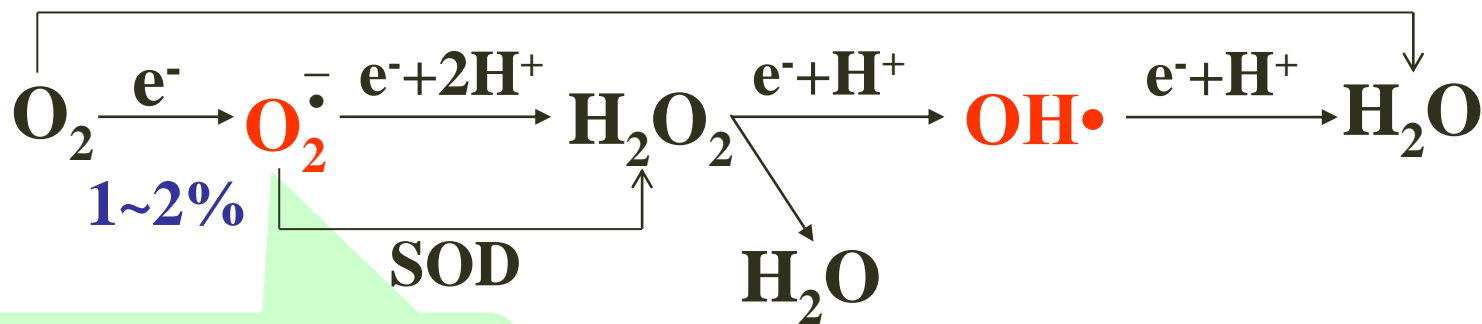


1. 氧自由基

氧自由基(oxygen free radical, OFR): 指以氧为中心的自由基。包括: 超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)、羟自由基($OH\cdot$)和一氧化氮自由基 ($NO\cdot$) 等。



98~99% $4e^- + 4H^+$ 细胞色素氧化酶系统

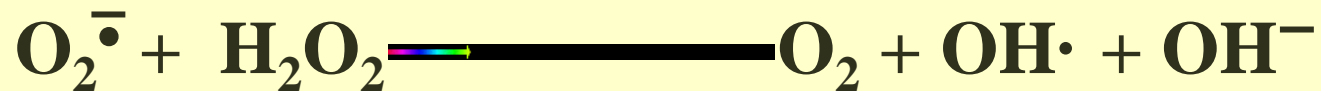


$O_2^{\cdot-}$ 是体内氧自由基存在的主要形式

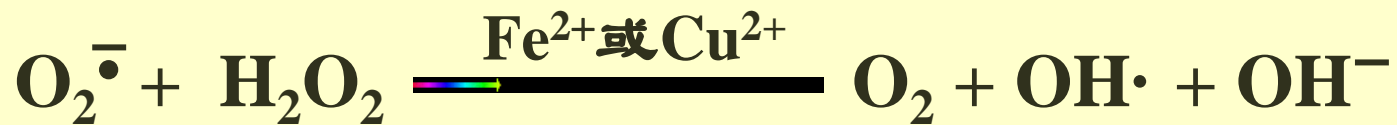




Haber-Weiss反应



Slow



Fenton反应

Fast

OH·是体内**最活跃**的氧自由基，
对机体危害最大。



- 一氧化氮 (NO·)

NO是L-精氨酸在NOS催化下产生的一种**气体自由基**。能与其他自由基反应生成毒性更强的自由基：**ONOO⁻**、**过氧亚硝酸 (HOONO)** 和**OH·**。



NO的作用具有双重性，由内皮型NOS合成的NO具有保护作用，由诱导型NOS合成的NO显示毒性作用。

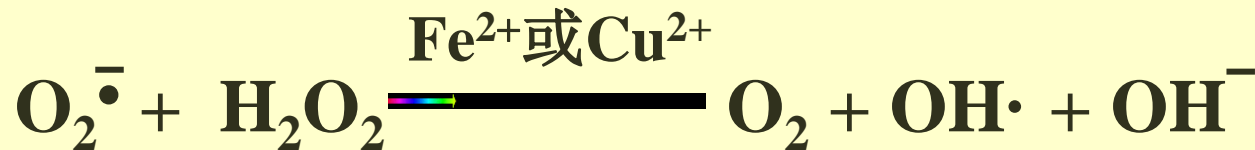




活性氧 (active oxygen species, ROS)

指化学性质活泼的含氧化合物，如**过氧化氢**、**单线态氧**、**臭氧**等。

➤ **过氧化氢** (H_2O_2)：在 Cu^{2+} 或 Fe^{2+} 的作用下可生成 **$\text{OH}\cdot$** ，或通过均裂生成 **$\text{OH}\cdot$** 。 $\text{OH}\cdot$ 的生成是 H_2O_2 导致氧化应激的主要机制。

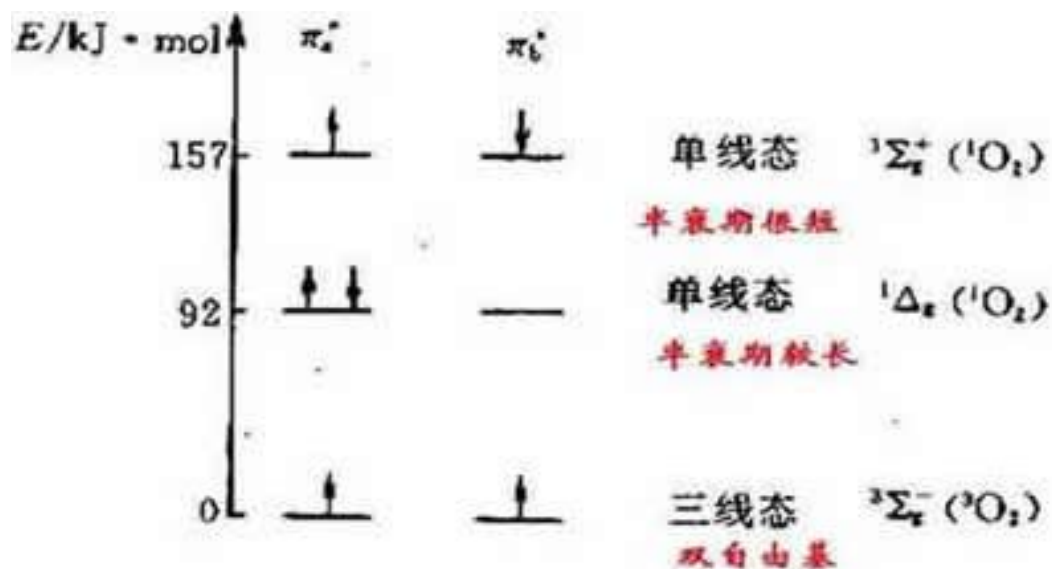


Fenton反应





➤ **单线态氧** (singlet oxygen) : 是一种激发态氧, 其氧分子的同一或不同外层轨道中有两个**自旋方向相反**的电子。在紫外光谱中呈现一条单线, 故称**单线态氧**。



π_{2p}^* 轨道电子排布及相对能量





2、其他自由基

由氧自由基与多价不饱和脂肪酸作用后生成的中间代谢产物，如：**烷自由基 (L·)**、**烷氧自由基 (LO·)**、**烷过氧自由基 (LOO·)**，**氯自由基 (Cl·)**、**甲基自由基 (CH₃·)** 等。

多价不饱
和脂肪酸

氧自由基



烷自由基 (L·)
烷氧自由基 (LO·)
烷过氧自由基 (LOO·)



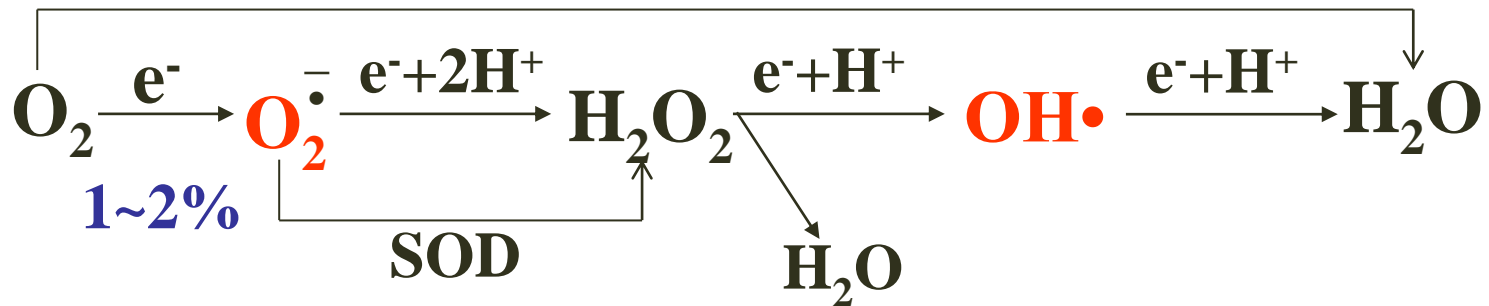


(二) 自由基的生成与清除

1. 生成

(1) 氧化磷酸化过程中单电子还原:

98~99% $4e^- + 4H^+$ 细胞色素氧化酶系统





(2) 其他反应中生成：

- ① 酶促反应：黄嘌呤氧化酶、线粒体呼吸链有关的黄素蛋白、NADH、泛醌与细胞色素酶等**
- ② 非酶促反应：电离辐射、氧合血红蛋白氧化分解、中性粒细胞及巨噬细胞吞噬细菌过程等**





2. 清除

(1) 抗氧化物质：辅酶Q、维生素E、 β -胡萝卜素、维生素C、谷胱甘肽等，提供电子使自由基还原而清除；

(2) 抗氧化酶：超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶。





抗氧化物质

还原 $O_2^{\cdot-}$ 、 1O_2 、
脂性自由基

维生素E
维生素A

清除 1O_2 ，抑
制脂质过氧化

协助维持维
生素E的活
性状态

维生素C
GSH





抗氧化酶

Mn-SOD
CuZn-SOD

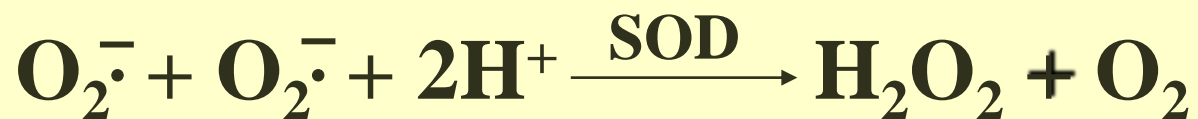
超氧化物歧化酶 (SOD)

过氧化氢酶 (CAT)

谷胱甘肽过氧化物酶

清除
 H_2O_2

清除
 $\text{OH}\cdot$



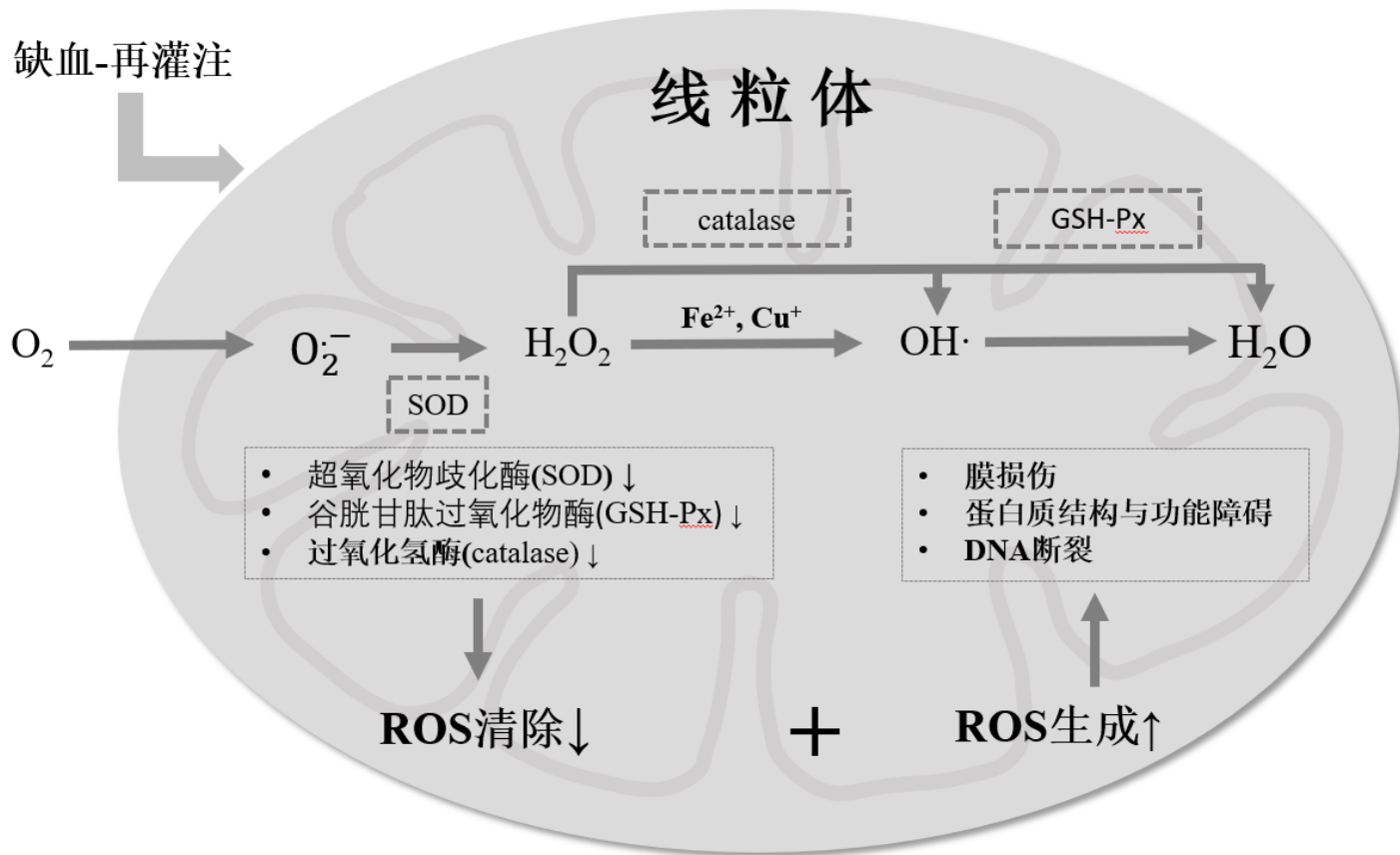


(三) 缺血-再灌注导致自由基增多的机制

- 线粒体损伤
- 中性粒细胞聚集及激活
- 黄嘌呤氧化酶形成增多
- 儿茶酚胺自身氧化增加



1. 线粒体损伤



缺血-再灌注引起线粒体内ROS生成增多及清除减少的机制

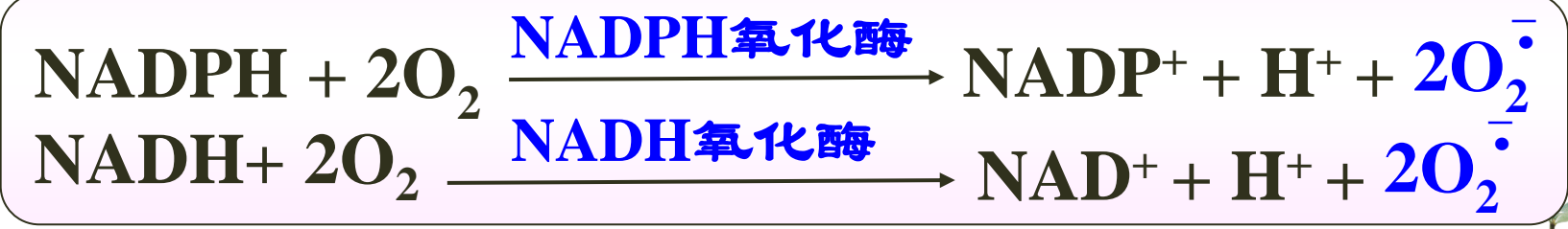
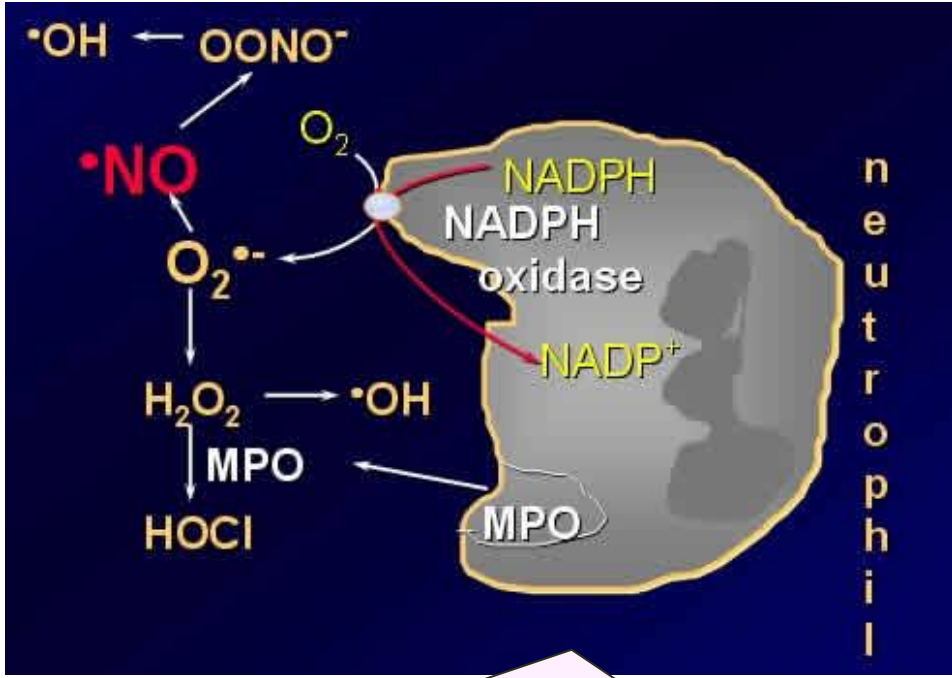




2. 中性粒细胞聚集及激活

呼吸爆发 (respiratory burst)

再灌注期间组织重新获得氧，激活的中性粒细胞耗氧量显著增加，产生大量自由基的现象。





3. 黄嘌呤氧化酶形成增多

毛细血管内皮细胞

黄嘌呤氧化酶 (XO) 10%

 **Ca²⁺依赖性蛋白酶**

黄嘌呤脱氢酶 (XD) 90%



3. 黄嘌呤氧化酶形成增多

②ATP降解

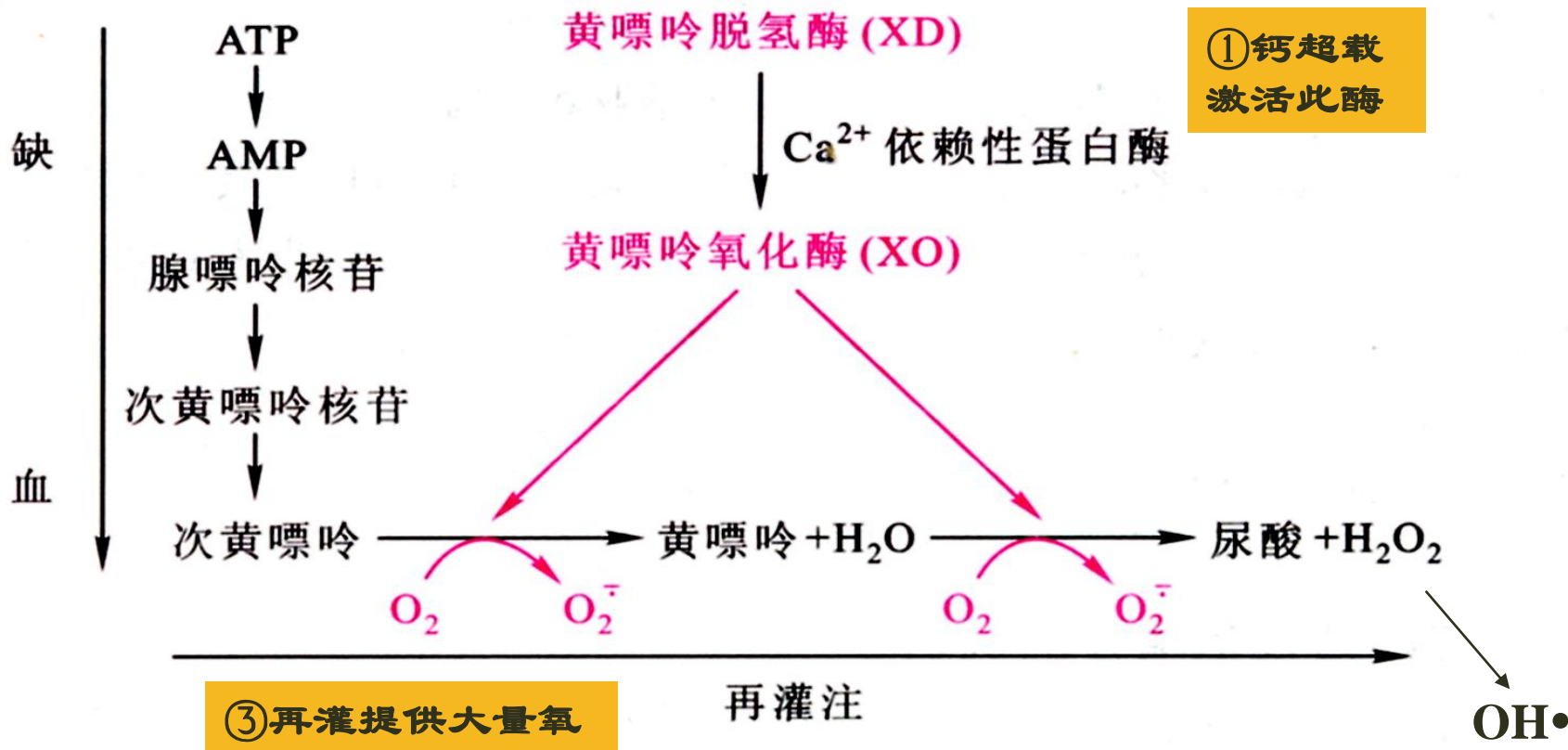


图12-4 黄嘌呤氧化酶催化ROS生成增多





4. 儿茶酚胺自身氧化增加

各种应激（包括缺血）



交感-肾上腺髓质系统兴奋



儿茶酚胺分泌增多



代偿调节作用



单胺氧化酶

自身氧化生成 O_2^-



ROS are tightly controlled resulting in a physiological balance between their production and elimination

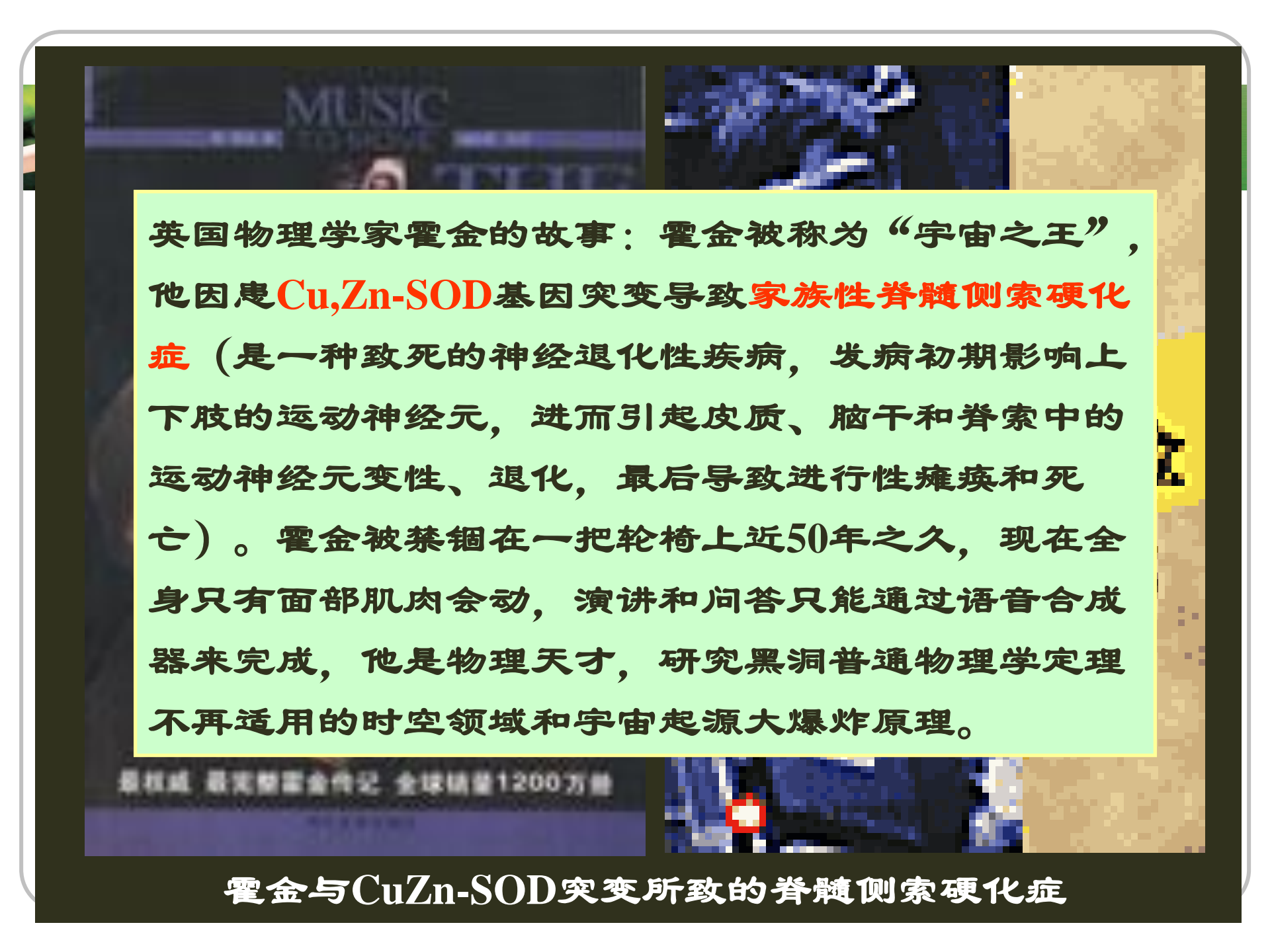


Enzymes: SOD, GPX, CAT
Non-enzyme antioxidants:
vitamines (E, A, C), thiols,
uric acid, ceruloplasmin,
transferrin, albumin, etc.

ROS:
 $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 , 1O_2 ,
 $\bullet OH$, HOCl

- ① 自由基清除能力下降
- ② 自由基大量产生

过多时造成组织细胞损伤



英国物理学家霍金的故事：霍金被称为“宇宙之王”，他因患**Cu,Zn-SOD**基因突变导致**家族性脊髓侧索硬化症**（是一种致死的神经退化性疾病，发病初期影响上下肢的运动神经元，进而引起皮质、脑干和脊索中的运动神经元变性、退化，最后导致进行性瘫痪和死亡）。霍金被禁锢在一把轮椅上近50年之久，现在全身只有面部肌肉会动，演讲和问答只能通过语音合成器来完成，他是物理天才，研究黑洞普通物理学定理不再适用的时空领域和宇宙起源大爆炸原理。

最权威 最完整霍金传记 全球销量1200万册

霍金与CuZn-SOD突变所致的脊髓侧索硬化症



(四) 自由基增多引起机体损伤的机制

自由基能和膜磷脂、蛋白质、核酸等多种细胞成分发生反应，破坏细胞的结构和功能，造成细胞损伤。

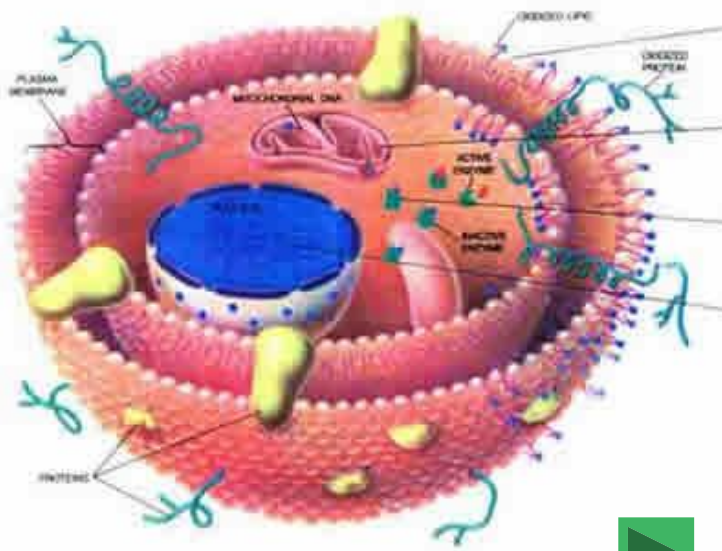
1. 膜脂质过氧化



2. 蛋白质功能抑制



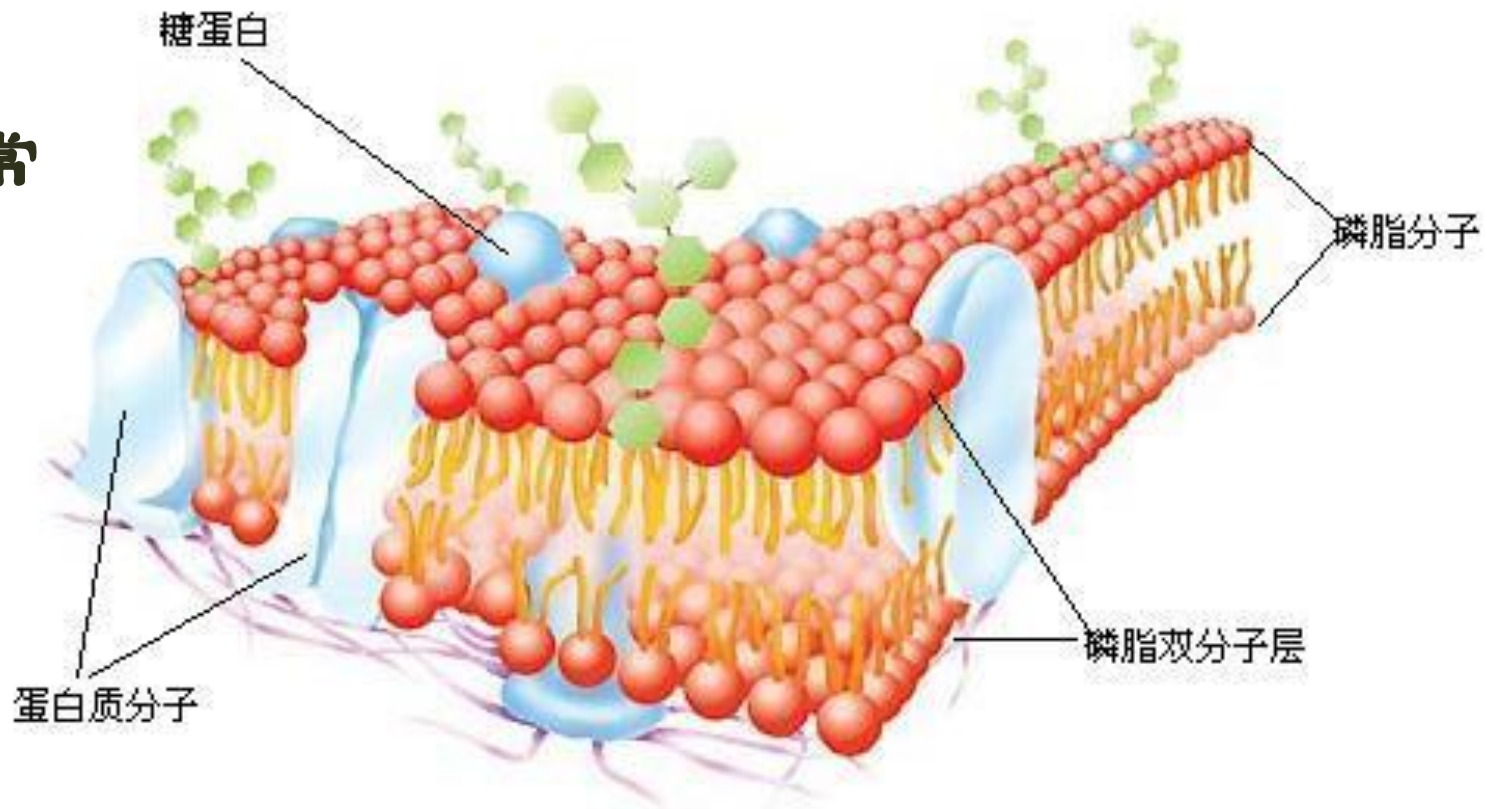
3. 核酸破坏与DNA断裂





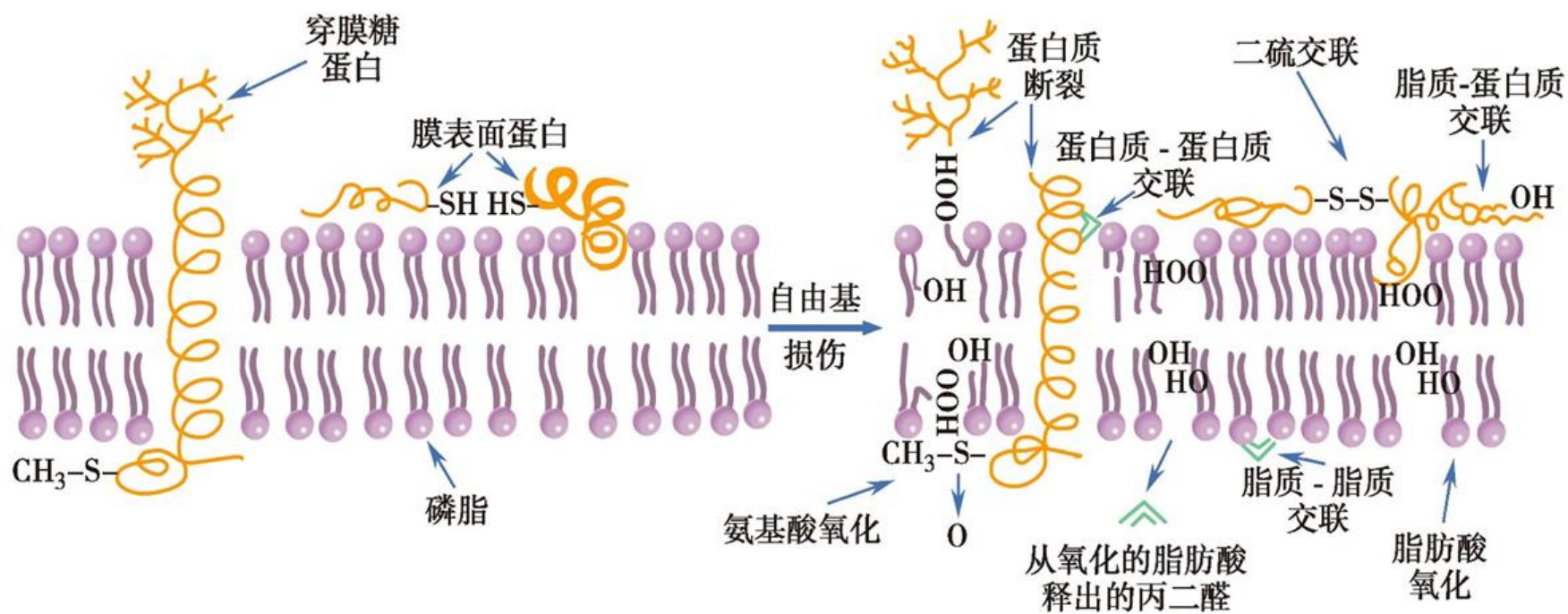
1. 膜脂质过氧化

正常



生物膜的主要成分是极性脂质（磷脂、胆固醇）和膜蛋白（酶等），是自由基攻击的主要部位。膜磷脂富含多价不饱和脂肪酸，易发生脂质过氧化。





自由基对生物膜的损伤作用





1. 膜脂质过氧化

(1) 细胞及细胞器膜结构破坏

细胞膜及细胞器膜（线粒体、溶酶体）的液态性、流动性降低及通透性升高，可使细胞外 Na^+ 与 Ca^{2+} 内流增加。

(2) 生物活性物质生成增多

磷脂酶C和D激活，膜磷脂被降解，催化花生四烯酸代谢，导致前列腺素、白三烯等生成增多，促进损伤。

(3) ATP生成减少

线粒体膜脂质过氧化导致线粒体功能抑制，ATP生成减少，细胞能量代谢障碍加重。





2. 蛋白质功能抑制

(1) 直接抑制作用

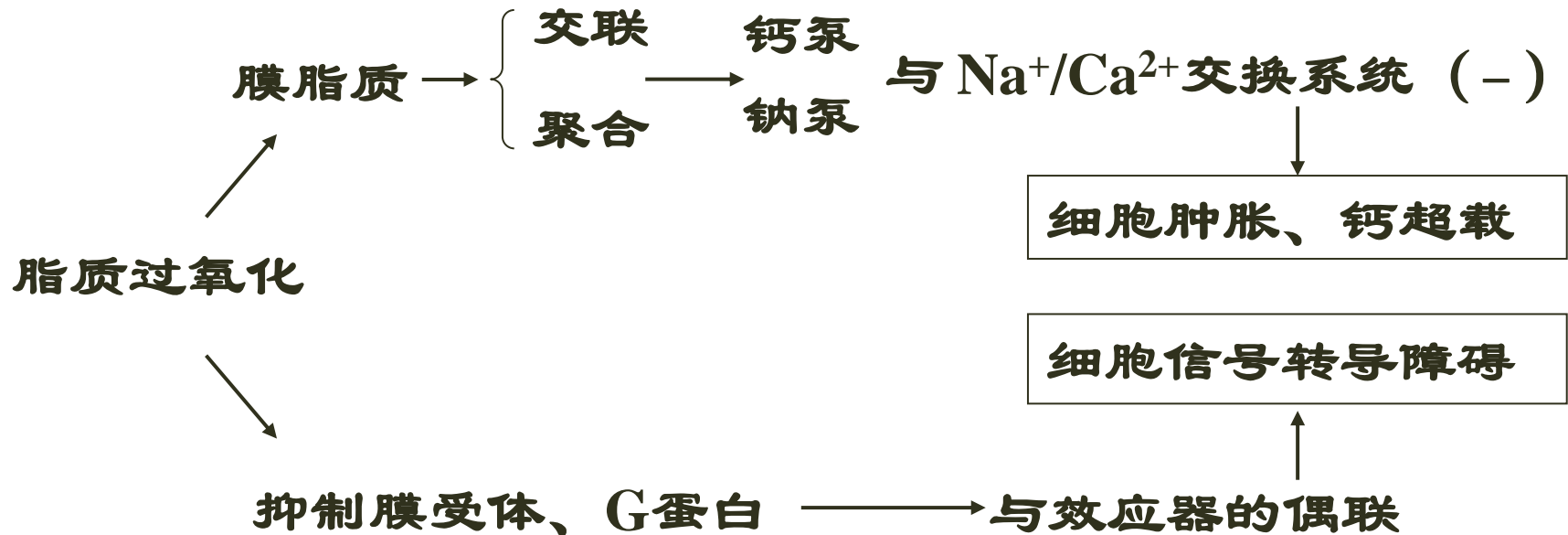
- ① 使蛋白和酶的巯基氧化
- ② 使氨基酸残基氧化
- ③ 使胞质及膜蛋白交联形成

使蛋白质变性、聚合、降解或肽链断裂，使酶、受体、离子通道等产生功能障碍。





(2) 间接抑制作用





3. 核酸破坏与DNA断裂

造成核酸碱基羟化及DNA断裂，主要是OH·所致。



氧化应激： 氧化物质增多而抗氧化防御机制降低
之间的不平衡导致的损伤。





缺血-再灌注损伤的发生机制

- 自由基增多
- 钙超载
- 炎症反应过度激活





二、钙超载

钙超载 (calcium overload) :

指各种原因引起细胞 Ca^{2+} 转运机制异常、细胞内 Ca^{2+} 含量增多，导致细胞结构损伤和功能代谢障碍。





(一) 细胞内Ca²⁺的稳态调节

细胞内钙浓度：10⁻⁷mol/L

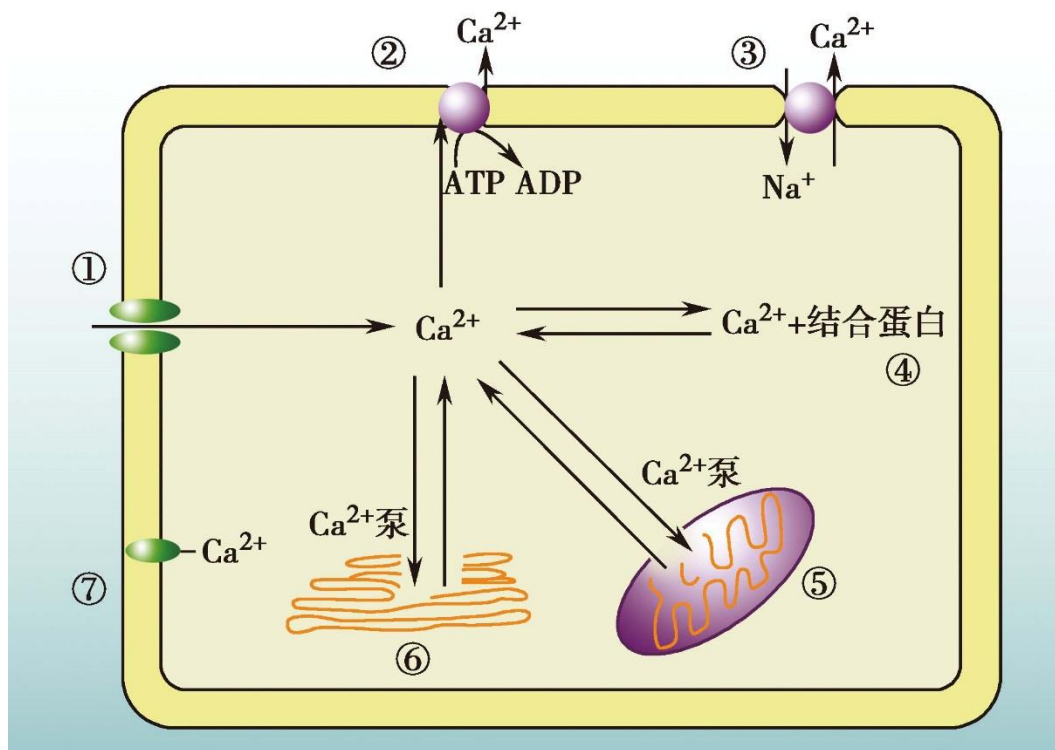
细胞外钙浓度：10⁻³mol/L

**浓度梯度的维持有赖于膜对钙的不自由
通透性和钙转运系统的调节**

细胞内Ca²⁺ {

- 细胞内钙库（内质网、肌浆网等） **44%**
- 细胞核 **50%**
- 细胞膜 **5%**
- 细胞质（结合钙**0.5%**，游离钙**0.005%**）





细胞Ca²⁺转运模式图

- ①电压依赖性钙通道；②细胞膜钙通道；③Na⁺/Ca²⁺交换；
④胞质结合钙；⑤线粒体；⑥内质网；⑦细胞膜结合钙





Ca²⁺进入胞液的途径

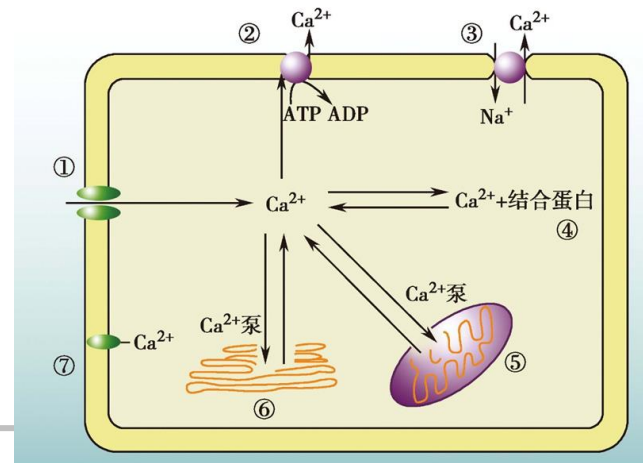
质膜钙通道：①电压依赖性钙通道

②受体操纵性钙通道

细胞内钙库释放通道：内质网(ER)/肌浆网(SR)

① 1,4,5-三磷酸肌醇 (IP₃) 操纵的钙通道：由IP₃系统调控。

② Ry敏感的钙通道：由二氢吡啶受体(RyR)系统调控。



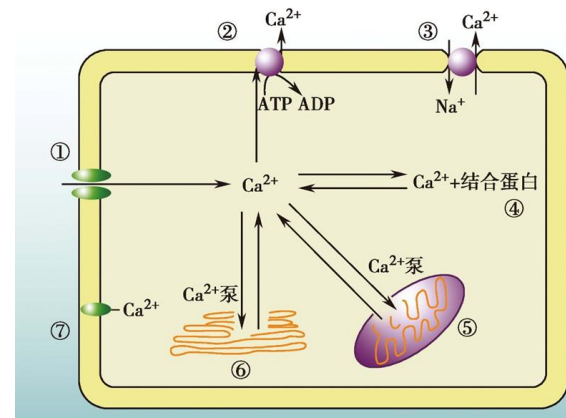


Ca²⁺离开胞液的途径

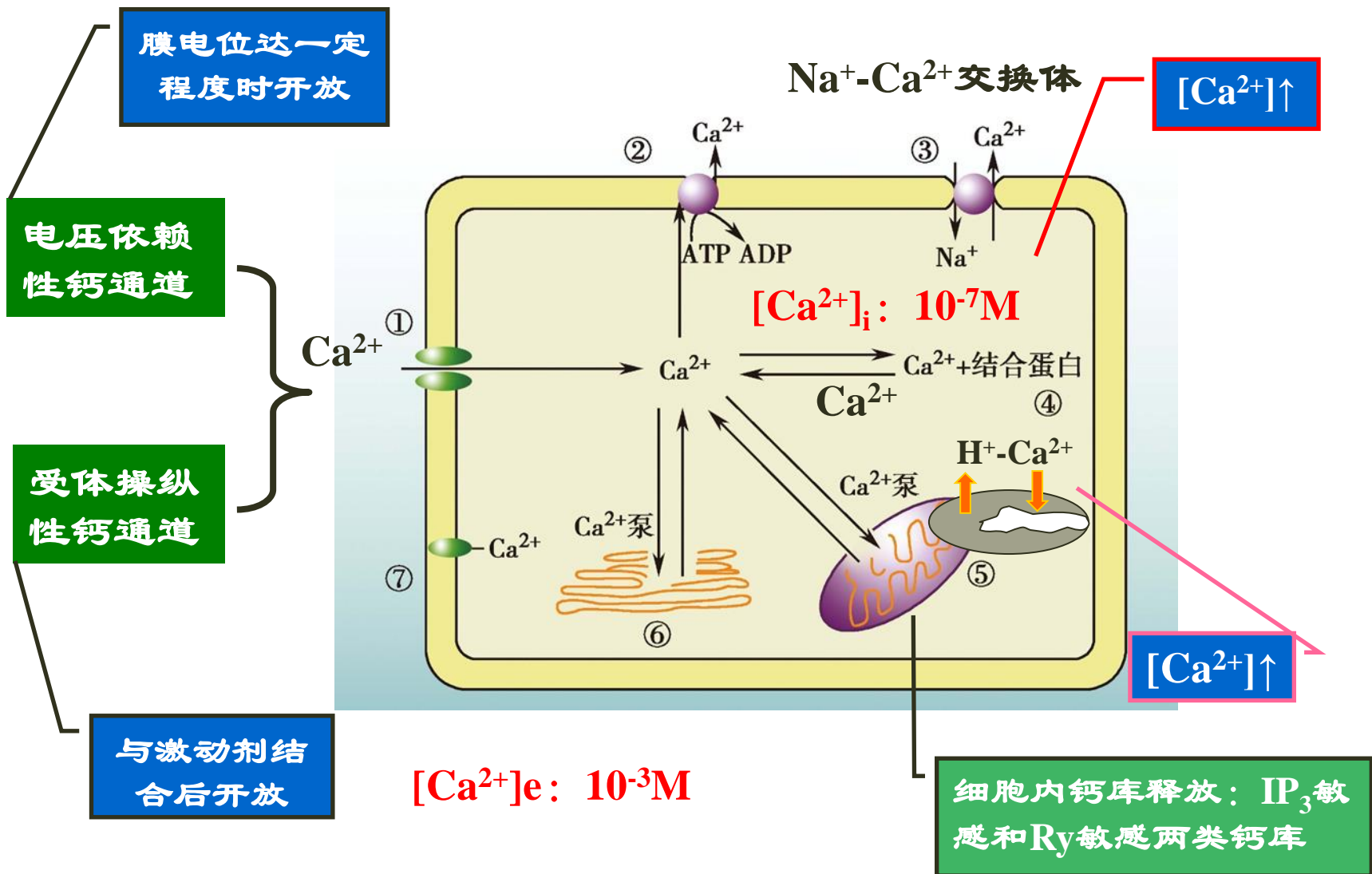
Ca²⁺泵的作用：存在于细胞膜、内质网膜和线粒体膜，
[Ca²⁺][↑]→激活钙泵 (Ca²⁺-Mg²⁺-ATP)，水解ATP
供能，Ca²⁺泵出细胞或泵入内质网及线粒体。

Na⁺-Ca²⁺交换：双向转运，主要受跨膜Na⁺梯度调节。
生理条件下，3个Na⁺顺着电化学梯度进入细胞、1个
Ca²⁺逆着电化学梯度移出细胞。

Ca²⁺-H⁺交换：主要见于线粒体，[Ca²⁺]
升高→被线粒体摄取，H⁺排至胞质。



细胞内Ca²⁺的稳态调节



膜电位达一定程度时开放

电压依赖性钙通道

受体操纵性钙通道

与激动剂结合后开放

Na⁺-Ca²⁺ 交换体 $[Ca^{2+}]_i \uparrow$

$[Ca^{2+}]_i \uparrow$

$[Ca^{2+}]_e: 10^{-3}M$

细胞内钙库释放: IP₃敏感和Ry敏感两类钙库



(二) 缺血-再灌注导致钙超载的机制

◆ $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ 交换异常



◆ 蛋白激酶C (PKC) 激活

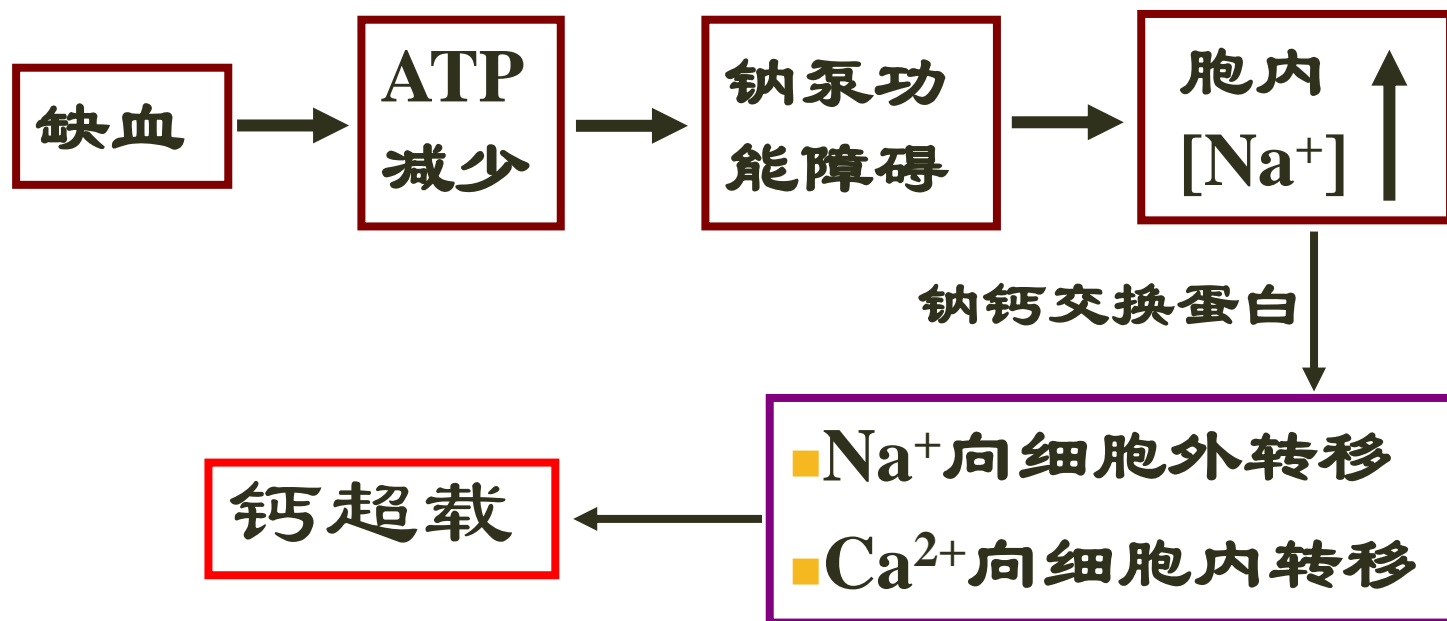


◆ 生物膜损伤



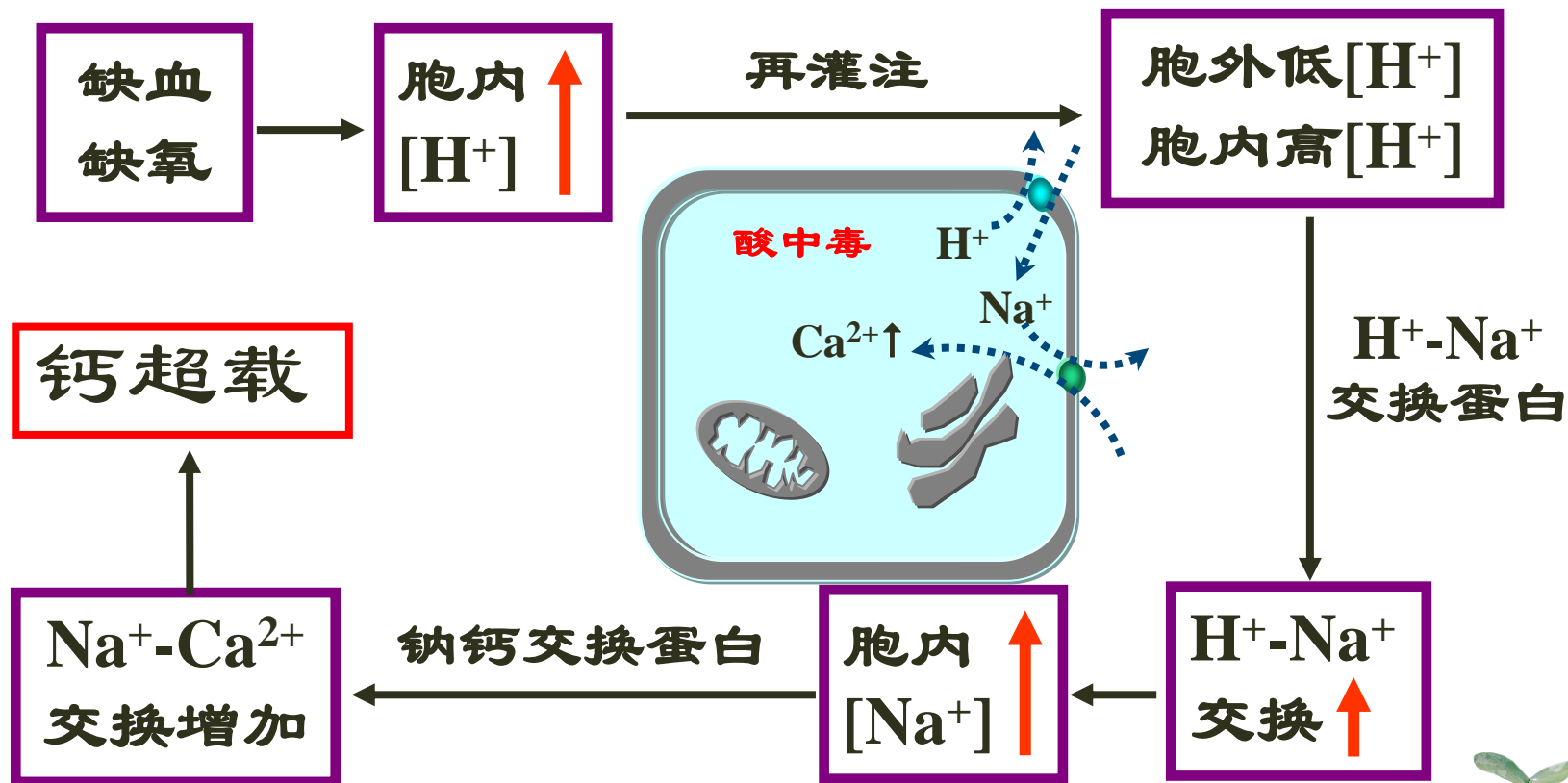
1. Na^+ - Ca^{2+} 交换异常

➤ **直接激活** (细胞内高钠直接促进 Na^+ - Ca^{2+} 交换)



1. Na^+ - Ca^{2+} 交换异常

➤ **间接激活** (细胞内高 $[\text{H}^+]$ 促进 Na^+ - Ca^{2+} 交换)



2. 蛋白激酶C (PKC) 激活

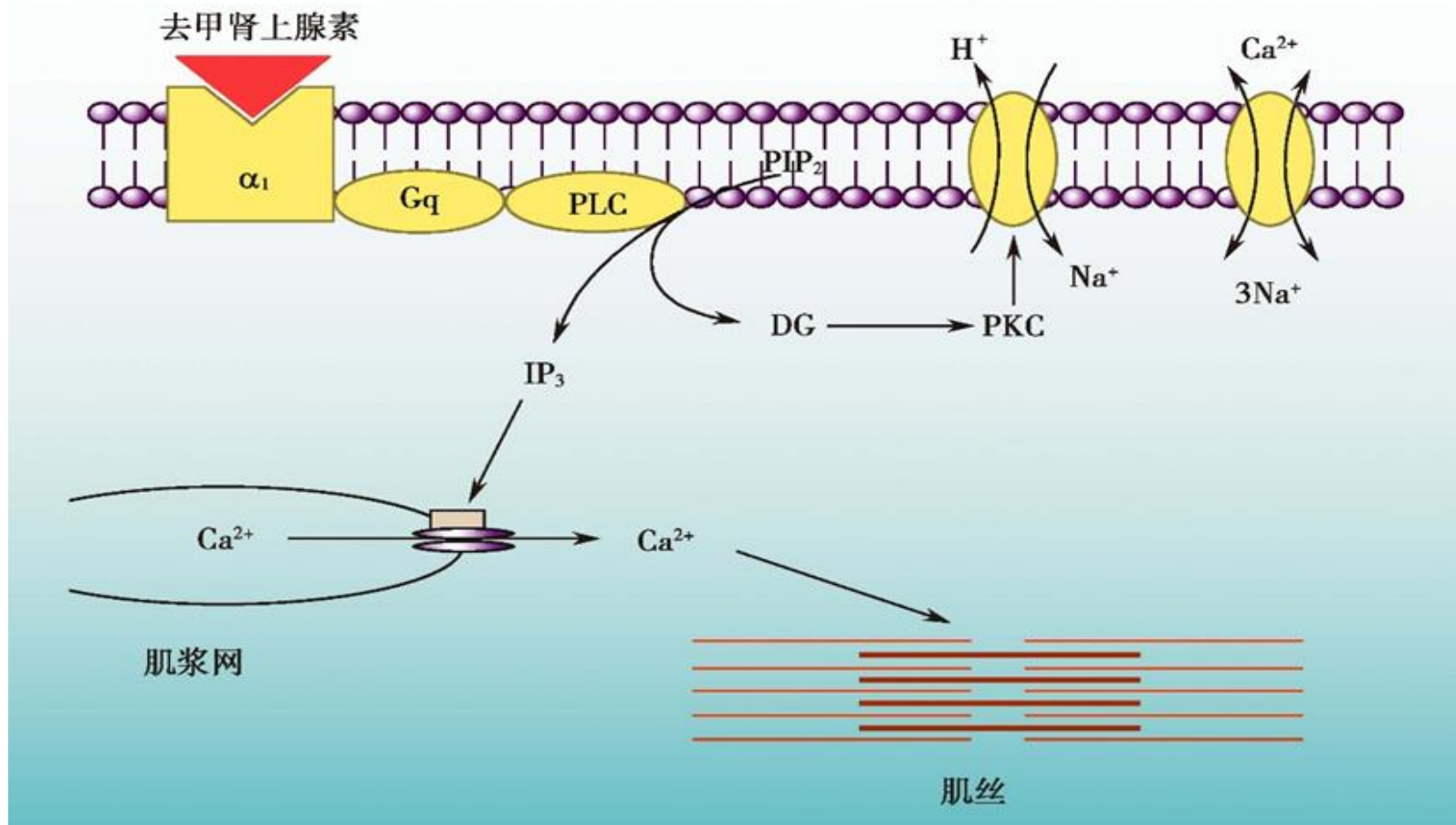


图12-7 蛋白激酶C对Na⁺/Ca²⁺交换蛋白的激活





儿茶酚胺增多

(1) α_1 受体使PLC激活→产生 IP_3 、DG

IP_3 →内质网、肌浆网钙的释放

DG → 激活PKC→促进 H^+ - Na^+ 交换 →

Na^+ - Ca^{2+} 交换↑ → 胞外 Ca^{2+} 内流

(2) β 受体使腺苷酸环化酶活化 → cAMP↑ →

激活PKA → L-型钙通道开放 → 促进钙内流





3. 生物膜损伤

细胞膜和细胞内膜性结构是维持细胞内、外以及细胞内各间区离子平衡的重要结构。生物膜损伤可使其通透性增强， Ca^{2+} 顺浓度差进入胞浆，引起钙超载。

- ◆ 细胞膜损伤
- ◆ 线粒体膜损伤
- ◆ 内质网膜损伤





3. 生物膜损伤

(1) 细胞膜损伤

① 缺血可造成细胞膜正常结构的破坏。

② 再灌注时生成的大量自由基的作用。

③ 细胞内 Ca^{2+} 增加激活磷脂酶，使膜磷脂降解，进一步损伤膜结构。





(2) 线粒体膜损伤

- ① 钙盐的沉积使线粒体ATP生成减少， Ca^{2+} 运转障碍。
- ② 呼吸酶类活性降低，产生单电子还原而生成自由基及活性氧。
- ③ 自由基损伤及膜磷脂降解损伤线粒体，ATP生成进一步减少，加重膜损伤。





(3) 内质网膜损伤

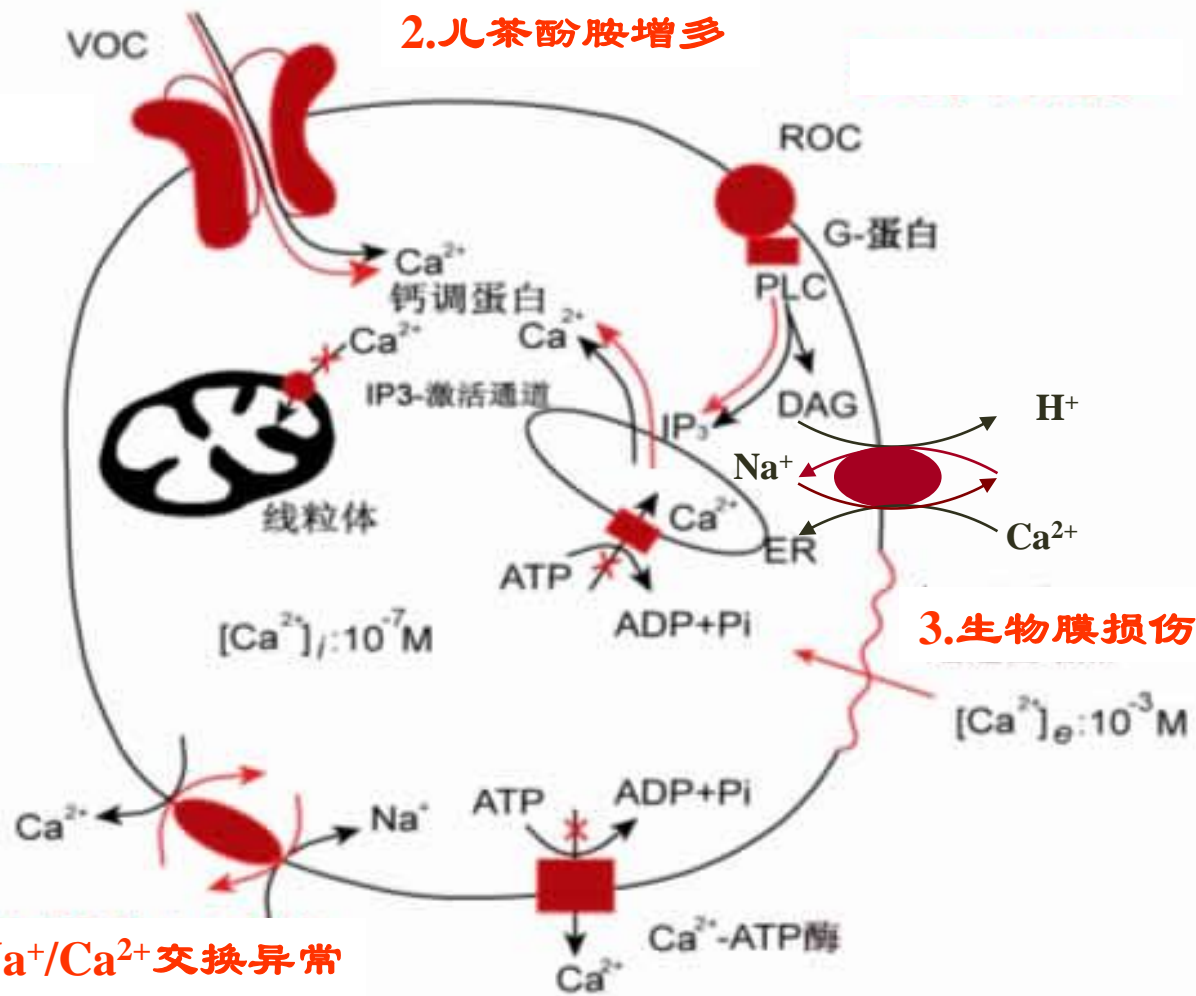
内质网钙摄取是逆浓度差的主动转运过程，内质网膜损伤后，使其钙泵功能障碍，对 Ca^{2+} 的摄取减少，可引起钙超载。

➤ 自由基及磷脂酶的作用。





(二) 细胞内钙超载的产生机制





(三) 钙超载引起机体损伤的机制

1. 能量代谢障碍

- ① 线粒体摄取 Ca^{2+} 消耗大量ATP；
- ② Ca^{2+} 与磷酸盐结合，既干扰氧化磷酸化，ATP生成减少；又损伤线粒体膜加重能量代谢障碍。





(三) 钙超载引起机体损伤的机制

2. 细胞膜及结构蛋白分解

(1) 激活蛋白酶

- ① 激活磷脂酶类 → 膜磷脂降解
- ② 激活钙依赖性蛋白酶 → 促进细胞膜与结构蛋白的分解
- ③ 激活核酸内切酶 → 引起染色体损伤

(2) 线粒体通透性转换孔开放 → 使呼吸功能抑制，也导致线粒体细胞色素C释放，诱发细胞凋亡。

(3) 溶酶体破裂 → 水解酶逸出引起细胞自溶。

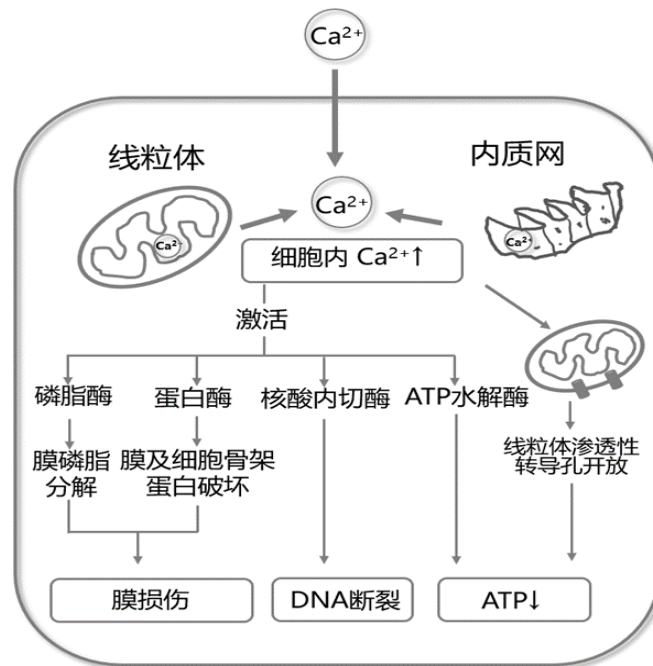


(三) 钙超载导致缺血-再灌注损伤的机制

3. 加重酸中毒

(1) 钙超载 → ATP生成减少 → 无氧酵解增强

(2) 钙超载 → 激活ATP酶 → 高能磷酸盐水解，释放H⁺



钙超载引起缺血-再灌注损伤





缺血-再灌注损伤的发生机制

- 自由基增多
- 钙超载
- 炎症反应过度激活





三、炎症反应过度激活

(一) 缺血-再灌注引起炎症反应过度激活的机制

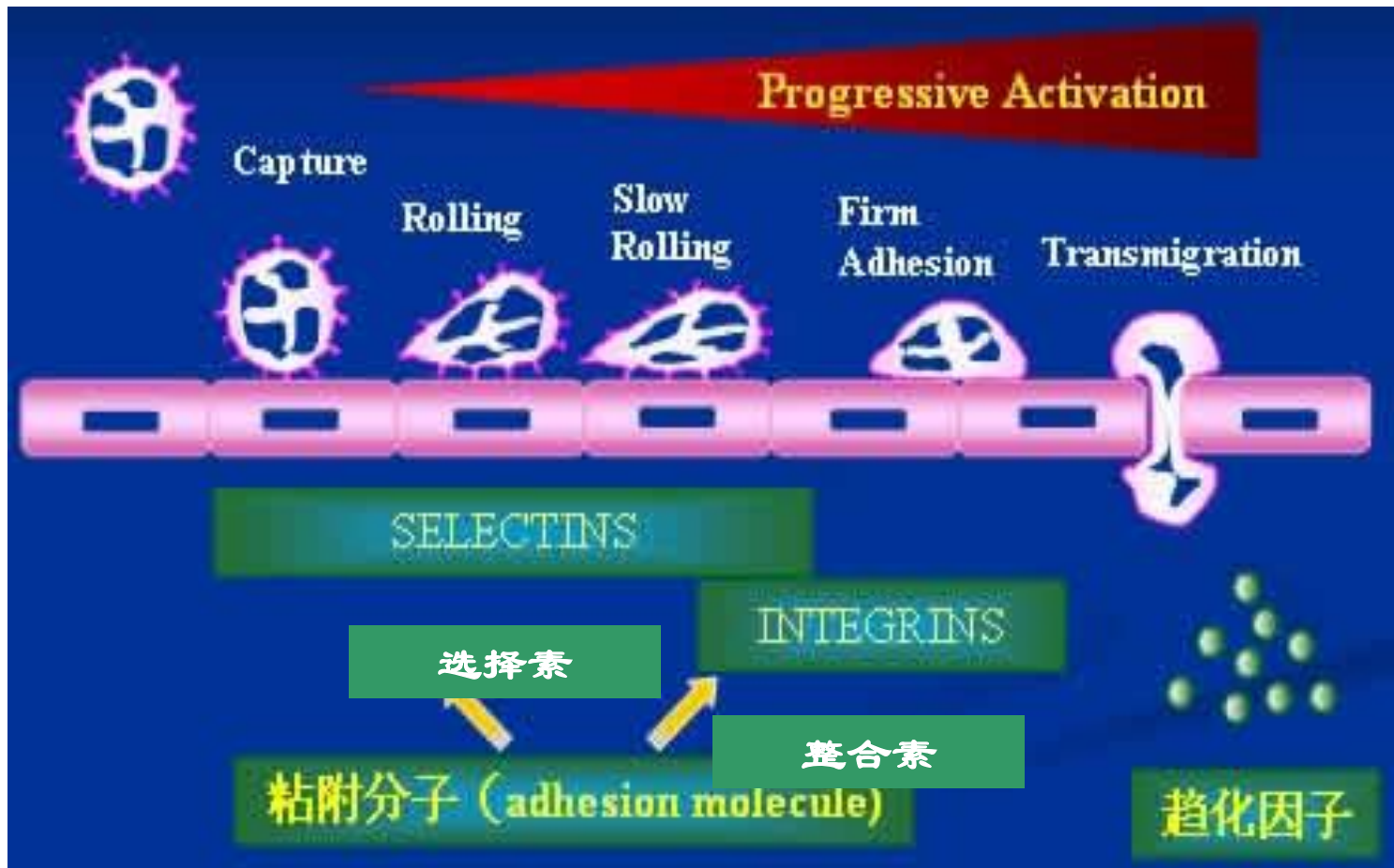
1. 细胞黏附分子生成增多

黏附分子：指由**细胞合成**的，可促进细胞与细胞之间、细胞与细胞外基质之间黏附的一类大分子物质的总称，如**整合素**、**选择素**、**细胞间黏附分子**、**血管细胞黏附分子**等。

功能 { 维持细胞结构完整
细胞信号转导

2. 趋化因子与细胞因子生成增多





1. 细胞黏附分子生成增多；
2. 趋化因子与细胞因子生成增多



2. 趋化因子与细胞因子生成增多

- 细胞膜磷脂降解，花生四烯酸代谢产物 LTB_4 、PAF \uparrow ；
- 血浆炎症介质 C3a、C5a 和激肽 \uparrow ；
- 白细胞本身释放具有趋化作用的炎症介质，如 LTB_4 、IL-8 等。

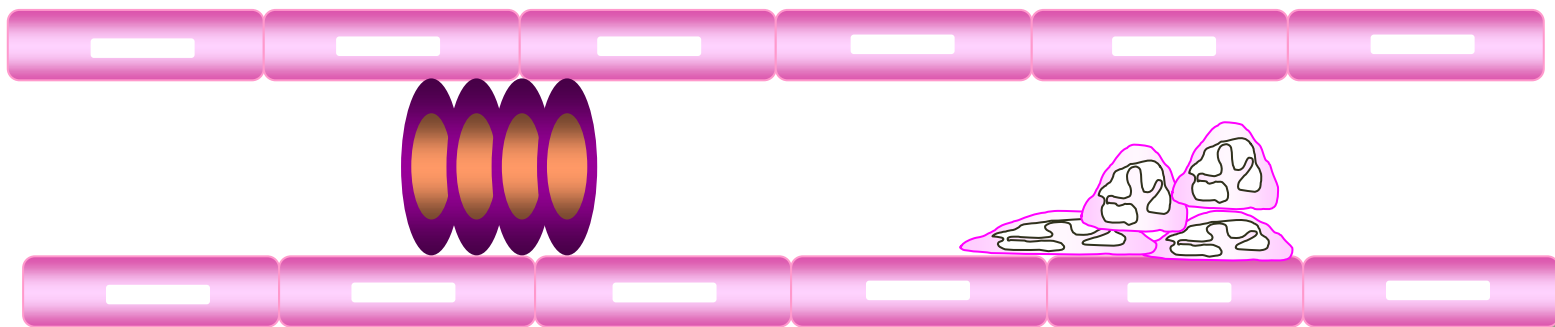


(二) 炎症反应引起损伤的机制

1. 微血管损伤

无复流现象(no-reflow phenomenon)

恢复血液灌注后，缺血区依然得不到充分血流灌注的现象，称无复流现象。主要原因可能是白细胞黏附、聚集所致的机械阻塞。





(二) 炎症反应引起损伤的机制

1. 微血管损伤

(1) 微血管血液流变学改变

- ① 白细胞不易变形
- ② 黏附分子的作用
- ③ 内皮损伤、血小板黏附、微血栓形成及组织水肿等，更易形成无复流现象。

(2) 微血管通透性增加

缺血、激肽等炎症因子 → 组织水肿、血液浓缩

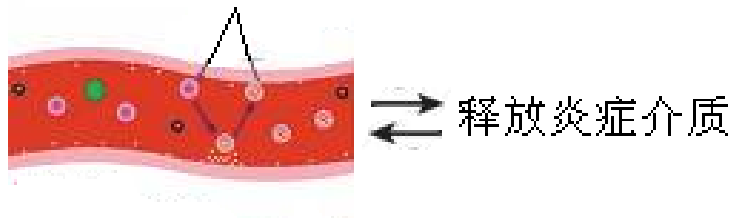




2. 细胞损伤

(1) 激活的白细胞和内皮细胞可释放大量的活性物质，如自由基、蛋白酶、溶酶体酶等，不但会改变自身的结构和功能，而且造成周围组织细胞损伤。

激活的中性粒细胞



(2) 如果黏附分子作用，白细胞浸润等炎症反应进一步加重。





缺血-再灌注损伤的发生机制

1. 自由基生成增多
2. 钙超载
3. 炎症反应过度激活



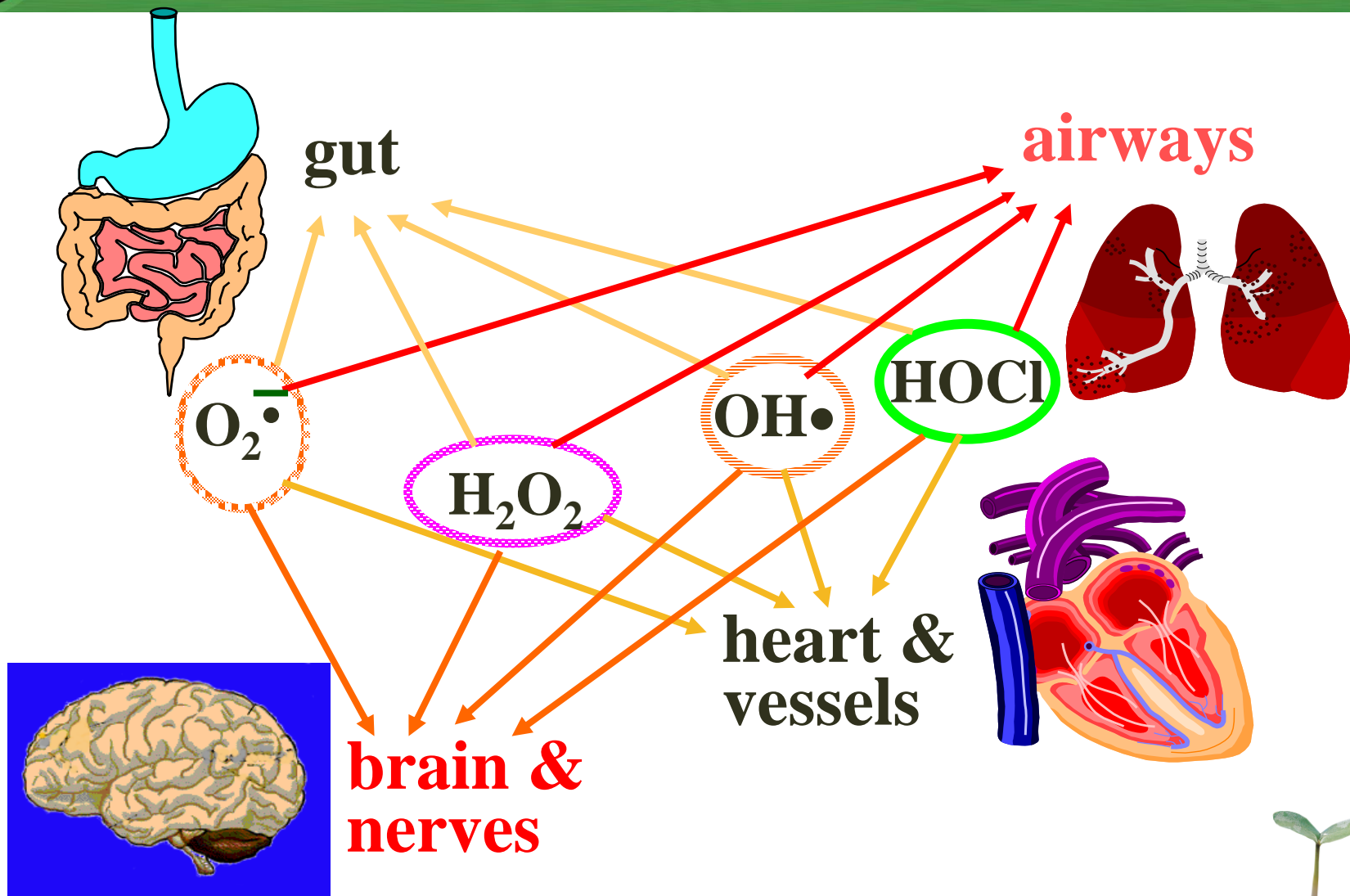




第三节 功能代谢变化



机体主要器官的缺血-再灌注损伤





一、心肌缺血-再灌注损伤

(一) 再灌注性心律失常

以**室性心律失常**居多，如**室性心动过速**和**心室纤颤**等

1. 再灌注心肌之间动作电位时程的不均一性
2. Ca^{2+} 超载
3. 自由基及活性氧增多
4. 儿茶酚胺增多





(二) 心肌舒缩功能障碍

1. 再灌注性心肌顿抑

(1) 概念：缺血心肌在恢复血液灌注后，心肌舒缩功能要经过较长的一段时间（数天到数周）后才能恢复，此为**可逆性**的心肌功能障碍。

(2) 主要机制

自由基生成增多

细胞内钙超载

炎症反应过度激活

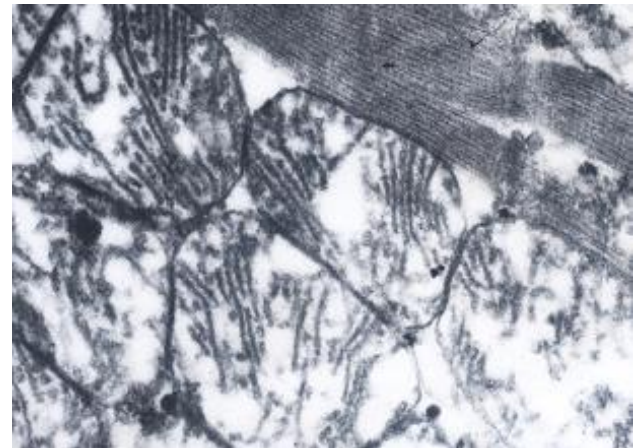
2. 微血管阻塞





(三) 心肌结构变化

- 1. 基底膜部分缺失，质膜破坏；**
- 2. 肌原纤维结构破坏（出现严重收缩带、肌丝断裂、溶解）；**
- 3. 线粒体损伤（极度肿胀、嵴断裂、溶解，空泡形成、基质内致密物增多）。**
- 4. 甚至心肌出血、坏死。**





三、其他

- (一) 肺缺血-再灌注损伤的变化**
- (二) 肝缺血-再灌注损伤的变化**
- (三) 肾缺血-再灌注损伤的变化**
- (四) 肠缺血-再灌注损伤的变化**





第四节 防治的病理生理基础





➤ 尽早恢复血流与控制再灌注条件

采用**低压、低流、低温、低pH、低钙、低钠**再灌注液

➤ 清除与减少自由基、减轻钙超载

自由基清除剂

减少自由基生成

钙通道拮抗剂等

➤ 应用细胞保护剂与抑制剂

➤ 激活内源性保护机制

缺血预适应 (ischemic pre-conditioning)

缺血后适应 (ischemic post-conditioning)

远程缺血预适应 (remote ischemic pre-conditioning, RIPC)





(一) 缺血预适应

是在长时间缺血前，实施**多次短暂缺血与再灌**的循环可减轻损伤。

(二) 缺血后适应

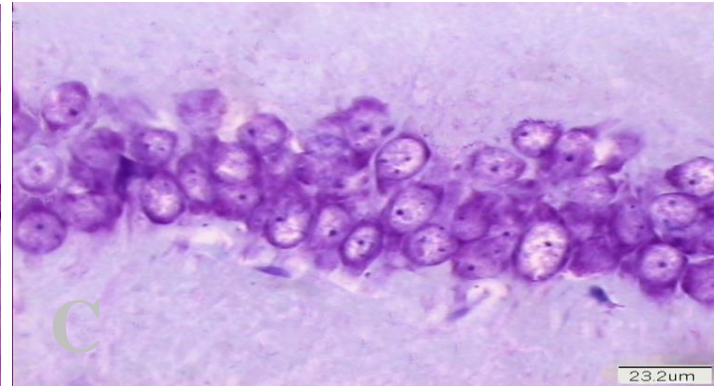
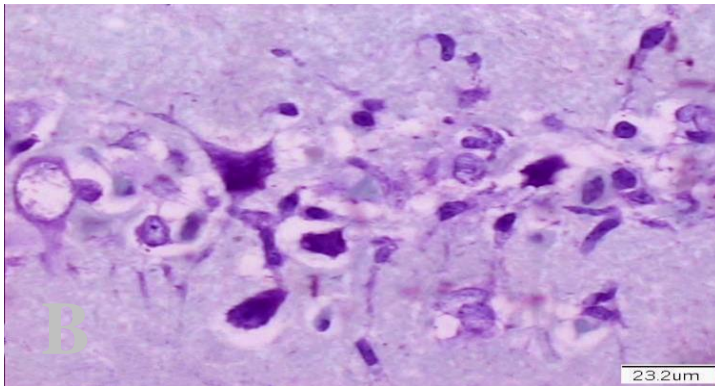
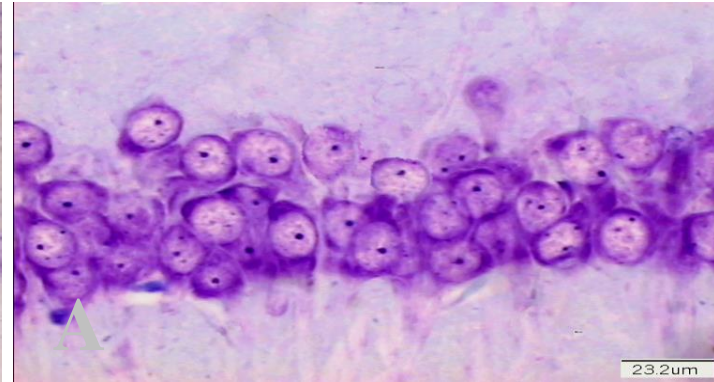
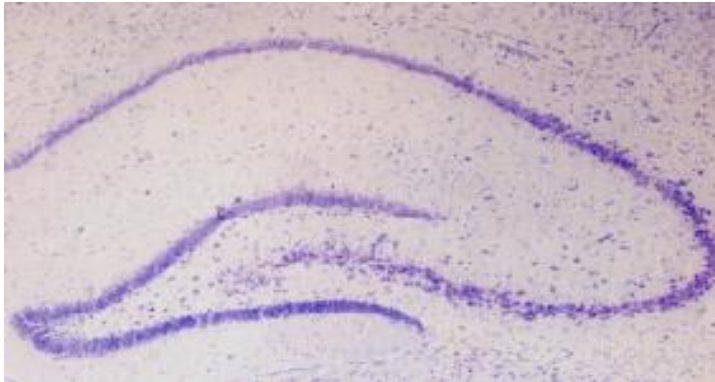
是在长时间缺血后，实施**多次短暂缺血与再灌**的循环可减轻损伤。

(三) 远程缺血预适应

是指对**心脏和脑以外**的非重要器官进行**重复缺血或缺氧**，从而改善血管功能状态，提高远隔重要器官对严重缺血或缺氧的耐受能力。



脑缺血预处理的脑保护作用



- A: 7 d after an ischemic preconditioning for 3 min;**
B: ischemic insult for 8 min;
C: preconditioning+ ischemic insult





THANK YOU

