

101104

Frontiers in
Cardiovascular Research

心血管病学前沿研究

Editor-in-Chief

Michael LX Fu, MD, PhD

傅良雄 主编



31/10

上海科学技术文献出版社

C0166052



(沪)新登字301号

心血管病学前沿研究

傅良雄 主编

*

上海科学技术文献出版社出版发行
(上海市武康路2号 邮政编码 200031)

全国各书店经销

上海科技文献出版社昆山联营厂印刷

*

开本 850×1168 1/32 印张 12.75 字数 354,000

1995年6月第1版 1995年6月第1次印刷

印数 1—800

ISBN 7-5439-0499-3/R·185

定 价: 26.50元

《科技新书目》326-289

目 录

上篇 心血管系统的基础研究与临床意义	1
第一章 心肌细胞的受体信号系统.....	3
第二章 心肌细胞的钠、钙和钾离子通道.....	12
第三章 脂蛋白受体和脂蛋白代谢酶.....	37
第四章 内皮细胞衍生的舒张因子.....	65
第五章 与心血管疾病有关的多肽及其拮抗剂.....	90
第六章 氧自由基与心肌缺血及再灌注损伤.....	115
第七章 心肌肥厚.....	126
第八章 心力衰竭.....	132
第九章 缺血后心功能恢复延迟及保护性预激态.....	141
下篇 心血管疾病的发病机制及其诊治进展	155
第十章 高血压病的研究和诊治现状.....	157
第十一章 心肌炎.....	187
第十二章 扩张性心肌病.....	208
第十三章 肥厚性心肌病.....	215
第十四章 急性心肌梗死的临床治疗现状.....	222
第十五章 心律失常的机制与治疗.....	239
第十六章 心房颤动的机制与治疗.....	271
第十七章 冠脉血栓形成及溶栓疗法.....	300
第十八章 β -受体阻滞剂在心血管疾病中的应用.....	323
第十九章 钙通道阻断剂在心血管疾病中的治疗现状与展望.....	333
第二十章 5-羟色胺拮抗剂的临床应用.....	343
第二十一章 心血管药物的相互作用.....	349
第二十二章 冠心病的人群分布、致病因素及临床防治.....	353

关键词检索	385
英汉对照词汇表	386
氨基酸缩写一览表	391

上 篇

心血管系统的基础研究 与临床意义

第一章 心肌细胞的受体信号系统

众所周知,心肌细胞膜表面有无数的受体。心肌细胞正是借助于这些受体接受外来的信息,产生相应的效应。虽说受体及效应器的发现由来已久,然而对整个受体信号系统及其机制的了解则归功于近 10 年的研究。确切地说,正是鸟苷酸结合蛋白(guanine nucleotide binding regulatory protein,简称 G 蛋白)的发现给受体信号系统的功能与特性的研究揭开了新的一页。

一、G 蛋白——调节信号传递系统的关键成分

生物体内的受体种类与数目数以千计,其中约 85% 的受体受到 G 蛋白的调节。以心肌细胞为例, α 与 β -肾上腺素能受体、组织胺受体、5-羟色胺受体、前列腺素受体、腺苷受体与胆碱能受体等,均受 G 蛋白的调节。

G 蛋白包括两大类:一类即所谓的经典 G 蛋白,属于最早发现且研究最多的一种,人们惯于称呼的 G 蛋白即指这一种;另一类是所谓的“小 G 蛋白”。这类 G 蛋白分子量小,18,848~26,784u (19~27 千道尔顿),因发现不久,真正的功能尚不甚清楚^[1]。本文中主要论述前一类 G 蛋白。

G 蛋白的主要功能是将细胞表面受体接受的信息传递给位于细胞内的效应器。G 蛋白分子量约为 99,210u (100 千道尔顿)。每一个 G 蛋白由 α 、 β 及 γ 3 个亚基组成,其中 α 亚基较大,约 44,640~54,560 u (45~55 千道尔顿)。 α 亚基决定着受体-G 蛋白和 G 蛋白-效应器之间相互作用的特异性与选择性,因此,不同的 G 蛋白有着不同的 α 亚基。相比之下, β 亚基则较小,34,720u (35 千道尔顿),常与 γ 亚基,7,936~9,920u (8~10 千道尔顿),结合

在一起。不同的 G 蛋白含有相似的 β , γ 亚基。根据 G 蛋白对腺苷酸环化酶的调节, 可将 G 蛋白分为激动型 G 蛋白(G_s)和抑制型 G 蛋白(G_i)。此外, 还有一种功能未知型(G_o)。 G_s 和 G_i 各自与不同的细胞受体相互作用(详见表 1-1)。

表 1-1 与 G 蛋白相互作用的人类心肌细胞受体

与 G_s 相互作用的受体	与 G_i 相互作用的受体
β_1 与 β_2 -肾上腺素能受体	α_2 -肾上腺素能受体
多巴胺-1 受体	胆碱能-2 受体
组织胺-2 受体	腺苷-1 受体
5-羟色胺-4 受体	5-羟色胺-1 受体
前列腺素-1 受体	血管紧张素-2 受体?

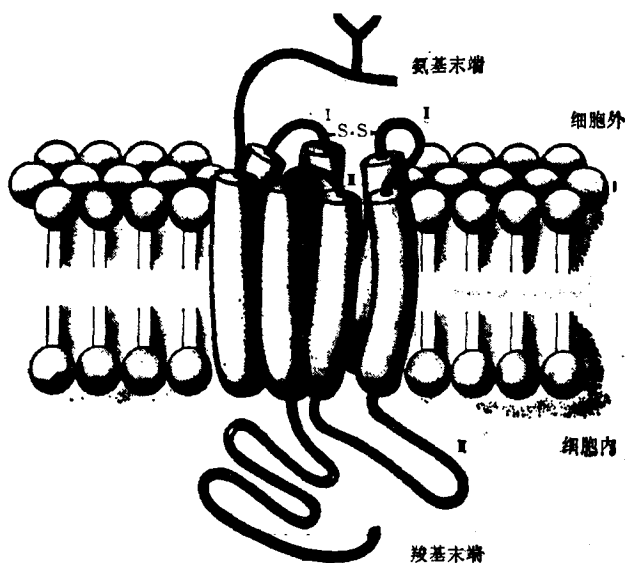


图 1-1 β 受体与胆碱能受体蛋白的大体结构

尽管人类心肌细胞上有众多的受体,但通常情况下取主导调节作用的多为 β -肾上腺素能受体、 β -胆碱能受体。两者大体结构相似,分子量大小相近,但其调节作用与功能正好相反,互为平衡。现将两者的大体结构展示于图 1-1 中,本文就以这两种受体为例,说明其信号传递的机制与调节。

二、 β -肾上腺素能受体信号传递系统

β -肾上腺素能受体信号传递系统由 3 个部分组成: (1) β -受体; (2)Gs; (3)效应器(腺苷酸环化酶、离子通道等)。当心肌细胞的 β -受体受到儿茶酚胺类递质刺激时, β -受体的构型发生变化。这种变化使得与之相联,且与二磷酸鸟苷(Guanosine diphosphate, GDP)结合的Gs释放GDP。与此同时,细胞内的三磷酸鸟苷(guanosine triphosphate, GTP)与Gs的高亲合性GTP结合部位相结合。随后GTP便开始在GTP酶催化下缓慢水解成GDP。这一水解反应很缓慢。正是在这缓慢的水解过程中,Gs的 α 亚基与 β , γ 亚基相分离,形成Gs- α 亚基-GTP复合体,此即“Gs活化”。因此Gs- α 亚基-GTP复合体可能是实际上Gs的“功能型”。当水解形成的GDP重新与Gs结合, α 亚基重新与 β , γ 亚基一起形成稳定的构型。因此,根据这一学说,作为受体激活剂的重要特性便是促使和稳定细胞受体的高亲合态。其过程从高亲合态过渡到低亲合态,反映出 β -受体-Gs复合形式的解体。处于“高亲合态” β -受体的数目与受体激活剂如异丙基肾上腺素调节腺苷酸环化酶的程度呈正比例。一言以蔽之,当儿茶酚胺类递质刺激心肌细胞膜表面的 β -受体时,产生从 β 受体-Gs-腺苷酸环化酶或离子通道,直到终端效应器的连锁式反应。来自神经或体液,中枢或局部的调节信息正是通过这一连锁式的信息传递产生特异的,并经过递增后的反应。然而当 β -受体连续地持久地受得刺激时,这种连锁式的信息传递发生异常,导致生理效应大幅度地降低,即谓“脱敏现象”(desensitization)(详见后述)^[2]。

三、胆碱能受体信号传递系统

迄今为止,已发现有5种胆碱能受体亚型($M_1 \sim M_5$),而心脏中主要是 M_2 胆碱能受体。实际上,心脏不仅存在 M_2 而且存在 M_1 ,只不过以 M_2 为主导罢了。正如前述,胆碱能受体与 β -受体在大体结构上相似,含有7个由20~28个疏水氨基酸组成的跨膜区域(transmembrane domain)。这些结构类似于哺乳类视紫质结构,故亦有人将此类结构俗称为“视紫质类结构”。胆碱能受体的N端在细胞外,因含有天冬酰胺残基,故有可能是糖基化部位,受体的C端在细胞内并含有丝氨酸与苏氨酸残基,故有可能代表磷酸化部位^[9]。

最初提出G蛋白与胆碱能受体的信号传递有关的证据来自两方面:一则是胆碱能受体能抑制腺苷酸环化酶;二则GDP及GTP能影响胆碱能受体的亲合性,进而影响其对腺苷酸环化酶的调节。现已证明, G_i 在胆碱能受体信号传递中有着重要的调节作用。务必说明的是,胆碱能受体不仅能(1)直接作用于效应器,如激活鸟苷酸环化酶及肌酸磷酸的代谢等;(2)通过 G_i 调节效应器,如关闭L型钙通道及抑制腺苷酸环化酶;而且能直接地和间接地通过 G_i 调节效应器,如配体控制型钾通道的开放。

与 β -受体信号传递系统相似,胆碱能受体在受到刺激时,其构型发生变化,使得与之相联的,含GDP的 G_i 释放GDP。与此同时,细胞内的GTP与 G_i 的“高亲合性GTP结合部位”相结合,形成 $G_{i\alpha}$ 亚基-GTP复合体, G_i 被“活化”。当水解后形成的GDP重新与 G_i 相结合, α 亚基与 β, γ 亚基相结合时, G_i 失活。胆碱能受体接受的信息正是通过这种连锁式反应将信息传递给胞内的效应器。

四、病理状态下信号传递系统的检测与意义

心肌细胞受体的数目与亲合性反映其受体的完整性与功能。

此外,处于“高亲合性”的受体往往代表着受体与G蛋白的结合程度与效率。心衰时,循环中的儿茶酚胺增加,其短期效应是心功能代偿,然而连续且持久的儿茶酚胺的升高不仅不会取得代偿作用,反而会使心肌细胞对儿茶酚胺的反应性降低。究其原因 β -受体“向下调节”(down-regulation)所致。众多的研究表明,凡是由器质性心脏疾病如缺血性心脏病、扩张性心肌病、糖尿病、心肌病等所引起的心衰,几乎都具有一个共同的特点即 β -受体数目减少^[4~7]。其减少的程度与心衰的轻重有关。与之相反,在心肌缺血初期, β -受体数目及腺苷酸环化酶活性增加。这种现象被证明是独立于G蛋白的调节之外。在经过1h缺血而引起的心肌梗死后, β -受体的数目仍升高,但腺苷酸环化酶活性却下降,提示可能因Gs活性降低而使 β -受体与G蛋白解离。一般而言, β -受体的向下调节是逐步形成的,大致可分为3步:(1)Gs与 β -受体解离;(2) β -受体由细胞膜表面向内移动(internalization);(3) β -受体数目减少,向下调节。这种“分步法”是人为的,并不意味着任何一种情形下都如此,很有可能只以其中任何一步为主(见图1-2)。

然而胆碱能受体,似乎有别于 β -受体,而并不显示出其数目减少,仅在扩张性心肌病及实验性慢性缺血性心肌病时,胆碱能受体对其激活剂氯化氨甲酰胆碱(carbachol,卡巴可)亲合性增高。

G蛋白的功能可在某种程度上表现出其对腺苷酸环化酶的调节活性。一般认为,当腺苷酸环化酶受到异丙基肾上腺素的激活时,可视其激活途径乃通过 β -受体;当腺苷酸环化酶受得GTP类激活时,可视其激活途径乃通过Gs和Gi;当腺苷酸环化酶受得氟化钠激活时,可视其激活途径乃通过Gs。由此可见,Gs的功能活性可根据氟化钠对腺苷酸环化酶的调节来测定。但这只是一种间接的测定,更为准确的应是将Gs蛋白分离出来,进行重组实验。Gi的功能可间接地根据GTP和氟化钠对腺苷酸环化酶不同的作用来测定。比如,在由慢性缺血性心肌病(结扎大鼠冠状动脉4周后)所致的心衰时,衰竭心肌组织的由氟化钠刺激的腺苷酸环化酶活性

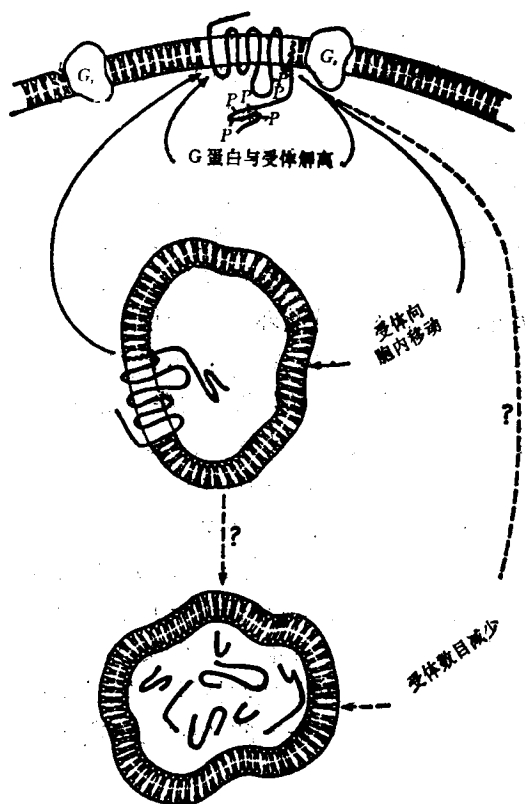


图 1-2 心肌细胞受体脱敏作用病理生理模式图

正常，与正常心肌组织无异。然而衰竭心肌组织的由 GTP 类似物刺激的腺苷酸环化酶活性明显低于正常心肌，提示或 G_s 功能下降，或 G_i 功能增加，或两者兼而有之。但如果与前一种有关氯化钠的实验结果相综合，不难看出，由缺血性心肌衰竭所致的心衰组织的 G_i 功能增加而 G_s 功能维持不变。此外，在这种心衰心肌组织，卡巴可对腺苷酸环化酶活性的抑制程度显著大于正常心肌组织。这一结果进一步佐证了，在慢性缺血性心肌病心肌组织 G_i 的功能明显增强^[4]。这种类型的功能异常并不鲜见于缺血性心肌病，亦可

见于其他类心肌病如实验性糖尿病性心肌病及人类原发性扩张性心肌病等^[6~7]。

G 蛋白的功能变化或许以其蛋白含量的变化为基础。因此,学者们对测定心肌 G 蛋白的含量怀有浓厚的兴趣。最初学者们热衷于应用二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)-核糖基化反应(ribosylation)来测定 G 蛋白含量。如果百日咳毒素(peritussis toxin, PTX)催化的 ADP-核糖基化反应增加,代表着Gi含量增加;如果霍乱毒素(cholera toxin, CTX)催化的 ADP-核糖基化反应增加,代表着Gs含量增加。殊不知这类方法很粗糙,难控制。首先,PTX 催化的 ADP-核糖基化反应的部位是 G 蛋白的 α 亚基羧基末端 4 个氨基酸的半胱氨酸。新近的研究表明,生物体内存在 6 种不同的 G 蛋白 α 亚基,包括 Gi1~3 亚型 α 亚基及 Go α 亚基等均含有相同部位的半胱氨酸。因此,上述任何一种多肽均可成为 PTX 催化的核糖基化反应的底物。有鉴于此,PTX 催化的核糖基化反应不适用于区别上述任何一种 G 蛋白含量的测量,包括 Gi。此外,有诸多因素,如内源性的 ADP-核糖基化反应等可影响底物催化的 ADP-核糖基化反应。这无疑给结果的分析带来困难。近年来人们致力于应用现代免疫学知识,如制备特异性抗体来测定 G 蛋白含量。此方法敏感性特异性均较高,而且简单实用。有关 G 蛋白的抗体很多。其中较广泛应用的是抗肽(anti-peptide)抗体,即根据 G 蛋白的氨基酸顺序合成一段特异性的肽,然后以此作为抗原(与白蛋白交联后),产生多克隆抗体。借助于这种抗体,可应用免疫酶学方法定量测定 G 蛋白。现已发现在原发性扩张性心肌病,无论Gs还是 Gi 含量均正常^[5,8]。此外,在缺血性心肌病,糖尿病性心肌病等心肌组织,均未发现 G 蛋白的含量异常。提示 G 蛋白的调节可能属于一种转译后调节(post-translational)。

综观上述,在心衰状态下,心肌细胞信号传递异常之显著特征为 β -受体数目显著减少,胆碱能受体亲合性明显增高及 Gi 功能增强。

结 束 语

G蛋白的研究给心肌细胞的调节增添了新的内容。G蛋白促
使了正常状态下心肌细胞受体信号系统的准确性、完整性与高效
率。G蛋白在病理状态下重要的功能性改变对心脏疾病的诊断与
治疗具有指导意义。虽然如此, G蛋白功能特征以及受体信号系
统在病理状态下的调节均有待进一步地深入研究。

(傅良雄)

参 考 文 献

1. Fu LXM, Waagstein F, Hjalmarson Å. An overview of β -adrenoceptor signal transduction system-desensitization in heart failure and effect of β -blockade. Intern J Cardiol 1991, 30: 261-268
2. Fu LXM, Waagstein F, Hjalmarson Å. β -adrenoceptor-G protein-adenylyl cyclase system in cardiac disease. Clin Physiol 1991, 11: 1-7
3. Fu LXM. Characterization of G-protein-mediated signal transduction system in cardiomyopathy. 1993. University of Gothenburg
4. Fu LXM, Feng QP, Liang QM, Sun XY, Hedner T, Hjalmarson Å. Hypersensitivity of G_i -mediated muscarinic receptor signaling system in chronic ischemic heart failure rats. Cardiovas Res, 1993, 27: 2065-2070
5. Fu LXM, Liang QM, Waagstein F, Hoebeke J, Sylven C, Jansson E, Sotonyi P, Hjalmarson Å. Increase in functional activity rather than amount of G_i in failing human heart with dilated cardiomyopathy. Cardiovas Res 1992, 26: 950-955

6. Bristow MR, Ginsburg R, Umans V, Fowler M, Minobe W, Rasmussen R, Zera P, Menlove R, Shah P, Jamieson S, Stinson EB. β_1 - and β_2 -adrenergic receptor subpopulations in nonfailing and failing human ventricular myocardium: Coupling of both receptor subtypes to muscle contraction and selective β_1 -receptor down-regulation in heart failure. *Circ Res* 1986, 59:297-309

7. Fu LX, Bergh C-H, Xu XF, Eriksson P, Liang QM, Sjögren KG, Hoebek J, Waagstein F, Hjalmarson Å. Diabetes induced changes in the Gi-modulated muscarinic receptor adenylyl cyclase system in rat myocardium. *Pharmacol Toxicol* 1994, 75,186-193

8. Feldman AM, Jackson DG, Bristow MR, Cates AE, Van Dop C. Immunodetectable levels of the inhibitory guanine nucleotide binding regulatory proteins in failing human heart: Discordance with measurements of adenylyl cyclase activity and levels of pertussis toxin substrate. *J Mol Cell Cardiol* 1991, 23, 439-45

第二章 心肌细胞的钠、钙和钾离子通道

心脏是一个肌性器官。它作为血液循环系统的动力泵终生不停地通过其节律性的搏动,以推动血液在全身流动。在生理学上,心脏具有4种重要特征:自律性、兴奋性、传导性和收缩性。心脏的活动以机械性收缩和舒张做功为主。这种机械性活动的调控来自节律性兴奋的发生及其信息传递,而这种兴奋的发生和传递则以电活动形式表现出来。因此,采用有关的技术来探讨心脏兴奋的发生及其传递,是心肌细胞电生理学研究的重要内容。近几十年来,人们在基础和临床方面对心脏电生理学的研究取得了许多重大进展。鉴于篇幅限制,现仅就有关心肌细胞钠、钙和钾离子通道的现代研究和认识予以介绍。

普遍认为,在正常生理情况下,与心肌细胞电活动最为密切的离子主要是钠、钙和钾3种阳离子。这些阳离子在心肌细胞膜内外存在着明显的浓度差异。例如,细胞外钠离子浓度为 $145\sim 150\text{mmol/L}$,细胞内约为 15mmol/L ;细胞外钙离子浓度为 $1.5\sim 2\text{mmol/L}$,细胞内为 10^{-4}mmol/L ;细胞内钾离子浓度为 $145\sim 150\text{mmol/L}$,细胞外为 $4\sim 5\text{mmol/L}$ 。这些离子细胞内外的浓度差构成了心肌细胞电学活动的基础,而存在于细胞膜上的某些功能性蛋白质则为这些阳离子的进出起着通道的作用。心肌细胞膜通道蛋白质结构和功能的改变则可引起相应离子电流强度的变化,进而影响心肌细胞的电生理学特性。在生命有机体中,细胞膜上离子通道蛋白质的结构与功能受着许多内源性(如神经-体液因子等)和外源性(如药物等)的配体的调控,从而使得心肌细胞电学性质的影响因素复杂化。为了较清楚地了解心肌细胞膜离子通道的基本知识、离子通道与心律失常发生的关系以及抗心律失常药物的作用机制,本作者试图对心肌细胞钠、钙、钾3种主要离子通道和电流的最新研究

进展作一综述性介绍。

一、心肌细胞的钠离子通道及其调节

正如神经和骨骼肌细胞一样，心肌细胞的动作电位除极化是由于钠离子通过细胞膜上特定的电压敏感性小孔(即钠通道)内流所致。虽然这些组织细胞的除极化过程与钠离子内流有关，但是它们膜上的钠通道性质则有所不同。例如，心肌细胞膜钠通道主要是河豚毒(TTX)不敏感类型，即钠通道选择性阻断剂TTX需在较高浓度时才能阻断该通道；而神经细胞膜钠通道则属TTX敏感型，极低浓度(纳摩尔浓度)TTX便可产生作用。另外，心肌细胞钠通道不仅与动作电位0相除极化有关，而且与动作电位2相平台期内“钠窗电流”有关。由于钠电流是心肌细胞动作电位0相除极化的主要电流成分，它决定着心房肌、心脏传导系统和心室肌的兴奋性和传导性。钠电流也往往与许多致死性心律失常发生和抗心律失常药物的作用密切有关。因此，本节将主要讨论：(1)心肌细胞钠通道的生理学和药理学特性；(2)心肌钠通道调节的细胞机制。

(一) 心肌细胞钠通道的电生理学和药理学特性

本世纪50年代初，Hodgkin和Huxley首先研究了神经细胞的钠离子电导。他俩认为，神经细胞动作电位过程中的钠通透性变化是由于某些调控钠离子跨膜移动的“闸门”随膜电位而开放或关闭所引起的。采用电生理技术可以记录到当细胞膜受刺激而除极时钠离子内流所引起的膜电流变化。图2-1表明一组典型的单个心肌细胞钠电流及其电流-电压关系曲线。

一般认为，钠通道“闸门”的开放与关闭可通过两种直接依赖于膜电位的机理来实现：(1)快速开放的激活“门”；(2)缓慢关闭的失活“门”。当细胞膜被除极到某一阈电位水平(约为 -60mV 左右)，膜钠内向电流由于钠通道激活“门”开放而迅速增大，往往在 $1\sim 2\text{ms}$ 内即可达得峰值；随着膜除极完毕和膜电位负值减小，钠