

二甲双胍基于AMPK保护缺血再灌注心肌损伤的研究进展

裴艺淞, 叶巧玲, 蒋鹏, 陈国柱*

重庆医科大学附属第二医院心血管内科, 重庆

收稿日期: 2024年2月25日; 录用日期: 2024年3月19日; 发布日期: 2024年3月26日

摘要

心肌缺血再灌注损伤(MIRI)是指缺血的心肌在恢复血液再灌注后, 反而使心肌出现代谢紊乱和结构损伤, 引起细胞死亡, 造成心脏功能进一步损害的现象。心肌缺血缺氧导致细胞内AMP升高, AMP依赖的蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)信号通路被激活。越来越多的文献表明, AMPK的激活对心脏的缺血再灌注(I/R)损伤具有保护作用。二甲双胍是治疗2型糖尿病最常用且首选的口服降糖药, 疗效安全稳定。已有研究证明二甲双胍可以通过激活AMPK的方式来调节多种信号传导通路, 通过调节能力代谢、抗氧化应激、减轻炎症反应、调节自噬、抑制细胞凋亡以减轻I/R损伤, 为临床实践提供了参考依据。二甲双胍展现出成为治疗MIRI理想药物的潜力, 但当前仍需进行更多的临床试验以深入研究其有效性。

关键词

缺血再灌注, 二甲双胍, AMPK

Research Progress on Metformin Protection against Ischemic Reperfusion Myocardial Injury Based on AMPK Pathway

Yisong Pei, Qiaoling Ye, Peng Jiang, Guozhu Chen*

Department Cardiovascular Medicine, The Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing

Received: Feb. 25th, 2024; accepted: Mar. 19th, 2024; published: Mar. 26th, 2024

Abstract

Myocardial ischemia-reperfusion injury (MIRI) refers to the phenomenon where the myocardium,
*通讯作者。

文章引用: 裴艺淞, 叶巧玲, 蒋鹏, 陈国柱. 二甲双胍基于AMPK保护缺血再灌注心肌损伤的研究进展[J]. 临床医学进展, 2024, 14(3): 1303-1308. DOI: 10.12677/acm.2024.143842

after being reperfused following a period of ischemia, experiences metabolic disorders and structural damage leading to cell death and further impairment of cardiac function. Ischemic conditions in the myocardium lead to an increase in intracellular AMP, which activates the AMP-activated protein kinase (AMPK) signaling pathway. Increasing evidence suggests that the activation of AMPK plays a protective role against ischemia-reperfusion (I/R) injury in the heart. Metformin, the most commonly used and preferred oral hypoglycemic agent for treating type 2 diabetes, has shown to be safe and effective. Studies have demonstrated that metformin can regulate multiple signaling pathways by activating AMPK, modulating energy metabolism, counteracting oxidative stress, reducing inflammatory responses, regulating autophagy, and inhibiting apoptosis to alleviate I/R injury. This provides a reference for clinical practice. Metformin shows potential as an ideal drug for treating MIRI, but further clinical trials are needed to explore its effectiveness in-depth.

Keywords

Ischemia-Reperfusion, Metformin, AMP-Activated Protein Kinase

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

心肌缺血/再灌注损伤(myocardial ischemia reperfusion injury, MIRI)是临床上常见的一种病理性损伤,如缺血性心脏病、外科心脏大血管手术易出现此类损伤。缺血性心脏病(Ischemic heart disease, IHD)是全球范围内的主要死亡原因之一,也被称为冠状动脉粥样硬化心脏病[1]。IHD 最严重的类型是急性心肌梗死,存在着不同程度上的心肌缺血再灌注损伤。急性心肌梗死发生时,冠状动脉血流受到突然的完全或不完全阻断,使心肌供血减少,严重时发生心肌坏死,进而可能会造成恶性心律失常、心功能减退以及心脏骤停[2]。心肌梗死的主要治疗手段包括冠状动脉药物溶栓、经皮冠状动脉介入治疗术、冠脉搭桥术等,而缺血梗死区的复灌会进一步增加梗死区损伤。因此,如何防治心肌缺血以及相应的 MIRI,是临床工作者面对的重要难题。

在心肌梗死的发展过程中,斑块破裂和随后的血栓形成导致心肌缺氧和缺血,进而使得细胞内 ATP 被大量消耗,同时产生大量的 ADP 和 AMP,从而导致 AMP/ATP 比值增大。这一过程中,细胞质内游离 AMP 的浓度上升是内源性嘌呤核苷酸生成的关键因素,进而触发 AMPK 信号通路的激活。二甲双胍(metformin, MET)为双胍类口服降糖药,能改善胰岛素抵抗,当前众多研究表明,二甲双胍在减轻心肌梗死带来的负面影响方面,主要是通过激活 AMPK 通路和 PI3K/Akt 等信号途径来实现的,这些途径在维持心脏细胞的生存、促进血管生成、改善心脏功能等方面发挥关键作用。二甲双胍能够激活 AMPK 通路,通过调节能量代谢、抗氧化应激、减轻炎症反应、抑制细胞凋亡以及调节自噬来保护缺血再灌注心肌损伤。但由于目前仅在动物模型上证实二甲双胍有减轻 MIRI 的作用,二甲双胍在 MIRI 的临床应用尚未获得明确的推荐指导。本文通过回顾相关文献,对二甲双胍通过激活 AMPK 通路以减轻心肌缺血再灌注损伤的研究发展进行了总结。

2. AMPK 的生物学功能

AMPK (AMP-activated protein kinase)是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,由 α 催化亚基及 β 和 γ 两个调

节亚基组成。这三个亚基各承担不同功能,其中 β 亚基主要涉及糖原的结合, γ 亚基负责与AMP/ATP相结合,这样的结构配置让AMPK在真核细胞中的众多代谢活动中发挥关键角色。AMPK充当细胞内的“能量传感器”,当ATP水平的下降和AMP/ADP比值的上升时,AMPK被激活,这种激活方式使AMPK成为细胞在能量紧缺时的重要调节方式,启动一系列的生物学反应,以调节细胞代谢和维持细胞生存。不同的刺激,如低氧、缺血、营养缺乏等情况下,都可以导致AMPK的激活,从而适应细胞生存的需要。此外,LKB1(肝素结合蛋白激酶B1)、CaMKK2(钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶激酶2)也是AMPK的主要激活激酶[3],使AMPK接受不同的信号,更加全面地调节细胞的代谢以适应不同的环境条件。AMPK的生物学作用主要包括促进葡萄糖的摄取和酵解、抑制葡萄糖异生、抑制脂肪酸合成和促进脂肪酸氧化以调节脂质代谢、抑制蛋白质合成、激活自噬以促使细胞内废弃物的降解和再利用、增强线粒体功能和生物合成、抑制炎症信号途径发挥抗炎作用等[4]。AMPK作为细胞能量代谢总开关,其调控涉及多个代谢途径,功能涵盖了细胞代谢及调节的多个方面,随着对AMPK研究的进展,逐渐揭示了其在多种疾病中的关键作用,如心血管疾病、糖尿病等,因此对AMPK的研究具有重要的生物医学意义。

3. 二甲双胍激活AMPK保护缺血再灌注心肌损伤

3.1. 抗氧化应激

氧化应激是一种生理和病理条件下产生的生物学反应,其核心特征是细胞内产生过多的活性氧(ROS),ROS是氧分子的代谢产物[5],在正常的生理条件下参与细胞信号传导和调控,但如果产生过多,就可能会导致氧化应激。既往有研究报告称,在心肌细胞中,活性氧主要由NADPH氧化酶2(NOX2)和NADPH氧化酶4(NOX4)产生,这两种酶在细胞的增殖及凋亡过程中扮演着关键的调控角色[6]。抑制NOX2和NOX4有助于减少ROS和缓解MIRI。Shi等[7]在二甲双胍对心脏MIRI作用的研究中观察到在缺氧/复氧损伤后的新生大鼠心室肌细胞中,二甲双胍抑制了NOX4的表达,并使用AMPK抑制剂可以逆转这种抑制作用。表明二甲双胍通过激活AMPK来抑制NOX4的表达,从而减少氧化损伤,最终在心肌中发挥保护作用。Wang等[8]在探讨二甲双胍对心肌I/R损伤的保护作用的试验中观察到:与IR组相比,IR+二甲双胍组中磷酸化的LKB1/AMPK/ACC表达上调,凋亡蛋白(Bax和cleaved caspase 3)表达下调;在体内或体外,二甲双胍显著上调了抗氧化酶(MnSOD和过氧化氢酶)的表达;Compound C(AMPK的抑制剂)消除二甲双胍对抗氧化酶的促进作用,减弱二甲双胍对体外IR损伤的保护作用。表明二甲双胍对心肌IR损伤具有保护作用,且该作用依赖于AMPK/抗氧化酶途径。Zhang等[9]研究二甲双胍对氧化应激反应下I/R损伤的潜在机制中观察到二甲双胍可显著激活AMPK并抑制C/EBP β 的表达,进一步的分析表明,C/EBP β 敲低可能导致miR-1a-3p表达的减少和GRP94表达的增加,并可能保护心肌细胞免于凋亡。表明二甲双胍可以通过调节AMPK/C/EBP β /miR-1a-3p/GRP94通路来保护心肌细胞免受H₂O₂诱导的损伤,这提示二甲双胍在I/R过程中可能具有重要的抗氧化应激作用。二甲双胍通过激活AMPK减少缺血再灌注心肌细胞氧化应激,为心肌提供了全面的保护,有望为心脏疾病的治疗提供新的治疗策略。

3.2. 改善炎症反应

NF- κ B(nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)是一种可以调节基因表达的核转录因子,对免疫反应、炎症响应、细胞生长以及细胞程序性死亡等关键生物过程有着重要影响。JNK(c-Jun氨基末端蛋白激酶)是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族(MAPK)的成员,参与调控细胞的生存、凋亡和炎症等生理过程,被认为是NF- κ B的上游因子,可通过缺血和再灌注激活。Chen等[10]在动物模型研究中发现I/R损伤诱导了心肌细胞H9c2细胞凋亡和ROS的产生,且促炎细胞因子IL-6和TNF- α 的水平升高。AMPK通过调节NF- κ B活性抑制缺氧应激介导的炎症反应。表明,二甲双胍可通过激活AMPK抑制JNK-NF- κ B

信号通路,降低促炎细胞因子 TNF- α 和 IL-6 的 mRNA 水平,从而限制 I/R 条件下的细胞损伤。nod 样受体蛋白 3 (NLRP3)炎性小体作为炎性免疫反应的参与者,与心血管疾病密切相关[11]。大量研究证实,NLRP3 炎性小体参与了心肌 I/R 损伤、心肌病、心律失常等疾病的发生发展[12]。Zhang 等[13]使用二甲双胍后处理动物组织和细胞模型,研究结果表明,二甲双胍可能通过激活 AMPK,抑制 NLRP3 炎症小体,从而保护心肌免受 I/R 损伤。这一发现为二甲双胍在心脏病治疗中的潜在应用提供了新的科学依据,并揭示了心肌保护的一个新的作用机制。

3.3. 抑制细胞凋亡

磷酸甘油酸变位酶 5 (PGAM5)是一种非典型的线粒体丝氨酸/苏氨酸磷酸酶,可调节线粒体碎裂和细胞凋亡。最近的研究表明,PGAM5 是肿瘤坏死因子受体(TNFR)触发的和活性氧(ROS)诱导的凋亡途径所必需,特别是在细胞应对外部刺激时的响应机制中[14]。Wang 等[15]在 AMPK 的激活对细胞坏死性凋亡的影响的研究表明,AMPK 在坏死诱导时被激活,激活的 AMPK 通过促进 keap1 介导的 PGAM5 降解来保护细胞免于坏死。AMPK 激动剂二甲双胍可减少心肌细胞坏死性凋亡,改善心肌缺血再灌注损伤。AMPK 在细胞生存和凋亡过程中的复杂作用提供了新的视角,并为开发新的治疗方法提供了可能的分子靶点。

3.4. 调节自噬

自噬(autophagy)这种代谢途径广泛存在于真核细胞中。自噬流的功能障碍在心血管疾病的形成和进展中扮演着角色,如心力衰竭、缺血性心脏疾病等[16]。Wang 等[17]在 MIRI 自噬调控的研究探讨了二甲双胍通过 AMPK α 1 和 AMPK α 2 途径促进自噬的分子机制,包括 AMPK α 1 在细胞质中调节 mTOR (哺乳动物雷帕霉素靶蛋白)信号通路,以及 AMPK α 2 在核内调控与自噬相关的基因表达。揭示了二甲双胍在心肌 I/R 损伤中通过激活 AMPK α 1 和 AMPK α 2 途径促进自噬的新机制。线粒体自噬是细胞清除受损线粒体的一种重要方式,其中 FUNDC1 蛋白作为一个关键的线粒体自噬受体,对于调节这一过程起着重要作用[18]。王鑫等[19]在利用二甲双胍干预 I/R 条件下的心肌细胞,观察细胞内 FUNDC1 介导的线粒体自噬变化的研究中发现:二甲双胍通过上调 FUNDC1 表达,促进线粒体自噬的激活,并且这一作用可以通过抑制 AMPK 来逆转。结果表明二甲双胍通过 AMPK/FUNDC1 途径,能提升在 I/R 情况下心肌细胞中受阻的线粒体自噬活性,有助于缓解心肌细胞的凋亡。Li 等[20]研究发现在 I/R 处理的心肌细胞和 MI/R 小鼠中,自噬流被抑制,心脏中的 CHMP2B 积累增加。通过激活 AMPK,二甲双胍抑制了 CHMP2B 的积累,改善了 I/R 引起的自噬功能障碍,并且激活的 AMPK 上调了 atrogin-1 的 mRNA 表达和蛋白水平,从而促进了 MI/R 心肌中 CHMP2B 的降解。这表明二甲双胍通过 AMPK-atrogin-1 依赖的途径降解 CHMP2B,以维持缺血/再灌注期间心肌自噬流的稳态。这些发现为二甲双胍在心脏疾病治疗中的潜在应用提供了新的机制认识。

4. 总结与展望

二甲双胍,一种常用于治疗 2 型糖尿病的药物,近年来在心肌 I/R 损伤的研究中表现出了潜在的治疗效果。研究发现,二甲双胍通过激活 AMP 活化蛋白激酶(AMPK)途径,对心肌细胞具有保护作用。AMPK 作为一个关键的能量感应酶,在心肌细胞的抗氧化应激、减轻炎症反应、抑制细胞凋亡以及调节自噬等方面发挥着重要作用。这些作用共同减轻了心肌 I/R 损伤,并有助于维持心脏的功能。近年有研究表明 AMPK 与 Hedgehog 信号途径存在串话机制,二甲双胍的促进心肌 I/R 损伤后增殖作用可能是通过激活 AMPK 信号通路实现的,且二甲双胍可能通过激活心肌细胞中的 Hedgehog 信号通路发挥促增殖作用。二甲双胍在心肌 I/R 损伤治疗中的应用前景值得进一步探索。尤其是在深入理解其通过 AMPK 途径具体保护心肌的分子机制方面,以及评估其在临床治疗中的安全性和有效性方面,为临床提供更有效的治疗

策略。

基金项目

2019 年度重庆市南岸区科卫联合医学科研项目, 2019-02 二甲双胍基于 AMPK 保护缺血再灌注心肌损伤的机制研究。

参考文献

- [1] Khan, M.A., Hashim, M.J., Mustafa, H., *et al.* (2020) Global Epidemiology of Ischemic Heart Disease: Results from the Global Burden of Disease Study. *Cureus*, **12**, e9349. <https://doi.org/10.7759/cureus.9349>
- [2] Ibanez, B., James, S., Agewall, S., *et al.* (2018) 2017 ESC Guidelines for the Management of Acute Myocardial Infarction in Patients Presenting with ST-Segment Elevation: The Task Force for the Management of Acute Myocardial Infarction in Patients Presenting with ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*, **39**, 119-177. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehx393>
- [3] Fujiwara, Y., Kawaguchi, Y., Fujimoto, T., *et al.* (2016) Differential AMP-Activated Protein Kinase (AMPK) Recognition Mechanism of Ca²⁺/Calmodulin-Dependent Protein Kinase Kinase Isoforms. *Journal of Biological Chemistry*, **291**, 13802-13808. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.727867>
- [4] Ding, R., Wu, W., Sun, Z. and Li, Z. (2020) AMP-Activated Protein Kinase: An Attractive Therapeutic Target for Ischemia-Reperfusion Injury. *European Journal of Pharmacology*, **888**, Article ID: 173484. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173484>
- [5] Maejima, Y., Kuroda, J., Matsushima, S., *et al.* (2011) Regulation of Myocardial Growth and Death by NADPH Oxidase. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, **50**, 408-416. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2010.12.018>
- [6] Matsushima, S., Tsutsui, H. and Sadoshima, J. (2014) Physiological and Pathological Functions of NADPH Oxidases during Myocardial Ischemia-Reperfusion. *Trends in Cardiovascular Medicine*, **24**, 202-205. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2014.03.003>
- [7] Shi, Y. and Hou, S.A. (2021) Protective Effects of Metformin against Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury via AMPK-Dependent Suppression of NOX4. *Molecular Medicine Reports*, **24**, Article No. 712. <https://doi.org/10.3892/mmr.2021.12351>
- [8] Wang, X., Yang, L., *et al.* (2017) Metformin Attenuates Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury via Up-Regulation of Antioxidant Enzymes. *PLOS ONE*, **12**, e0182777. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182777>
- [9] Zhang, Y., Liu, X., Zhang, L., *et al.* (2018) Metformin Protects against H₂O₂-Induced Cardiomyocyte Injury by Inhibiting the MiR-1a-3p/GRP94 Pathway. *Nucleic Acids*, **13**, 189-197. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2018.09.001>
- [10] Chen, X., Li, X., Zhang, W., *et al.* (2018) Activation of AMPK Inhibits Inflammatory Response during Hypoxia and Reoxygenation through Modulating JNK-Mediated NF- κ B Pathway. *Metabolism*, **83**, 256-270. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.03.004>
- [11] Liu, D., Zeng, X., Li, X., *et al.* (2018) Role of NLRP3 Inflammasome in the Pathogenesis of Cardiovascular Diseases. *Basic Research in Cardiology*, **113**, Article No. 5. <https://doi.org/10.1007/s00395-017-0663-9>
- [12] Yue, R.C., Lu, S.Z., Luo, Y., *et al.* (2019) Calpain Silencing Alleviates Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury through the NLRP3/ASC/Caspase-1 Axis in Mice. *Life Sciences*, **233**, Article ID: 116631. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116631>
- [13] Zhang, J., Huang, L., Shi, X., *et al.* (2020) Metformin Protects against Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury and Cell Pyroptosis via AMPK/NLRP3 Inflammasome Pathway. *Aging*, **12**, 24270-24287. <https://doi.org/10.18632/aging.202143>
- [14] Sun, L., Wang, H., Wang, Z., *et al.* (2012) Mixed Lineage Kinase Domain-Like Protein Mediates Necrosis Signaling Downstream of RIP3 Kinase. *Cell*, **148**, 213-227. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.11.031>
- [15] Wang, Y.S., Yu, P., Wang, Y., *et al.* (2018) AMP-Activated Protein Kinase Protects against Necroptosis via Regulation of Keap1-PGAM5 Complex. *International Journal of Cardiology*, **259**, 153-162. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2018.01.036>
- [16] Xie, M., Morales, C.R., Lavandero, S. and Hill, J.A. (2011) Tuning Flux: Autophagy as a Target of Heart Disease Therapy. *Current Opinion in Cardiology*, **26**, 216-222. <https://doi.org/10.1097/HCO.0b013e328345980a>
- [17] Wang, Y., Yang, Z., Zheng, G., *et al.* (2019) Metformin Promotes Autophagy in Ischemia/Reperfusion Myocardium via Cytoplasmic AMPK α 1 and Nuclear AMPK α 2 Pathways. *Life Sciences*, **225**, 64-71. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.04.002>

- [18] Wu, W., Tian, W., Hu, Z., *et al.* (2014) ULK1 Translocates to Mitochondria and Phosphorylates FUNDC1 to Regulate Mitophagy. *EMBO Reports*, **15**, 566-575.
- [19] 王鑫, 刘乃丰. 二甲双胍对 H9c2 心肌细胞缺氧复氧损伤中 FUNDC1 介导线粒体自噬的影响及其机制[J]. 东南大学学报(医学版), 2020, 39(2): 156-162.
- [20] Li, T., Yin, Y., Mu, N., *et al.* (2020) Metformin-Enhanced Cardiac AMP-Activated ProteinKinase/Atrogin-1 Pathways Inhibit Charged Multivesicular Body Protein 2B Accumulation in Ischemia-Reperfusion Injury. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **8**, Article 621509. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.621509>