

· 综 述 ·

诱导缺血性脑损伤内源性神经保护的方法及机制研究进展*

缪亦锋¹综述,邱永明²审校

(1. 南京医科大学附属无锡第二医院脑科中心 214002; 2. 上海交通大学附属仁济医院神经外科 200127)

关键词:缺血性脑损伤;缺血预处理;缺血后处理;神经保护

中图分类号:R743.302

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)13-1743-03

由于脑卒中的药物神经保护策略在临床实验中不断失败^[1],科学家提出了大脑的内源性神经保护的概念。到目前为止,2种内源性神经保护机制被发现并分别命名为缺血预处理和缺血后处理。但是,直到目前为止,仍没有一种机制被明确证实参与缺血损伤的内源性神经保护。因此,本文综述了缺血预处理和缺血后处理的方法和主要机制。

1 缺血预处理的概念和诱导方法

缺血预处理的概念是在研究心肌缺血时提出的:一次或多次短暂性缺血再灌注后,组织对以后较长时间的缺血性损伤可以产生显著的耐受性。自1990年首先在沙土鼠脑缺血模型上描述了脑缺血预处理(neuronal ischemic preconditioning, NIPC)现象后,在此基础上陆续发展了其他脑缺血预处理类型,如用大鼠大脑中动脉短暂夹闭20 min后,再灌注24 h,发现可以诱导对随后全脑缺血的保护;或者短暂全脑缺血可逆转随后大脑中动脉永久阻塞引起的局灶缺血性损伤;Moncayo等^[2]对2 490例首发脑梗死的患者进行临床研究,发现短暂性脑缺血发作病史与脑梗死的良好预后具有相关性,可能说明一次或多次短暂的局灶性缺血亦可对随后较长时间的局灶性缺血产生耐受。目前缺血耐受的类型可分为全脑-全脑型、局部-全脑型、全脑-局部型和局部-局部型。

2 缺血后处理的概念和诱导方法

2003年Zhao等^[3]发现大鼠心肌缺血后再灌注前,进行反复、短暂的心肌缺血再灌注能保护心肌以对抗随后的再灌注损伤,进而提出了缺血后处理的概念,即改良缺血再灌注方法并延长缺血再灌注时间能够产生保护作用。

随后脑缺血后处理的保护效应在多种动物模型中得到证实,Zhao等^[4]用大鼠暂时夹闭双侧颈动脉和永久夹闭大脑中动脉,在再灌注前进行处理(双侧颈动脉再灌注30 s和缺血10 s),循环3次后发现缺血后处理能减少脑梗死的面积,其脑保护效应明显。Wang等^[5]应用全脑缺血模型验证了多种缺血后处理方式如15 s/15 s、30 s/30 s、45~15 s/15 s等,发现适宜的缺血后处理能够起到神经保护作用。

3 缺血预处理与后处理诱导内源性神经保护作用的机制

目前,缺血预处理及后处理的保护作用仅在心血管方面的研究比较深入,在神经保护方面的研究尚不足,尤其是后处理的脑保护方面研究更是刚起步。

3.1 细胞离子平衡 三磷酸腺苷敏感性钾通道(KATP)是电压非依赖性的配体门控通道。目前研究发现KATP可能是缺血预处理及后处理的终末效应器之一。Yuan等^[6]发现,经缺氧预处理的海马神经元脑片能够明显恢复由随后长时间缺氧引起的去极化所诱发的电位改变。这种保护效应可以被

KATP抑制剂所阻断,而KATP激动剂则可模拟这种预处理的保护效应。除了KATP通道之外,mPTP也是缺血预处理及后处理的终末效应器。mPTP是位于线粒体内膜的非特异性孔道,在缺血时保持关闭,在再灌注的最初几分钟内开放。mPTP开放后线粒体和胞浆的一些物质可以自由交换,从而使线粒体外膜破裂,凋亡始动因子漏出,触发了细胞凋亡的级联反应。Paillard等^[7]通过兔在体模型研究发现,缺血预处理和后处理均能抑制mPTP的开放,且二者的保护效应一致,两组诱导mPTP开放所需的钙离子量均较对照组明显下降,推测缺血预处理及后处理对mPTP的影响可能与减轻再灌注时细胞内及线粒体内钙超载有关。

3.2 能量代谢 脑组织缺血缺氧时,细胞外腺苷含量可较正常增高100~1 000倍。腺苷的大部分作用是通过位于细胞表面受体介导。腺苷发挥神经保护作用主要是通过位于神经元及星形细胞上的A1受体介导的突触前、后膜的神经调节作用实现的,通过阻滞Ca²⁺内流,减轻细胞内钙超载及消除神经元去极化。用高效选择性腺苷A1受体拮抗剂82环戊21,32二丙基黄嘌呤,可阻断预处理诱导的保护作用,而用选择性腺苷A1受体激动剂氮62环戊基腺苷预处理能起到明显的脑保护效应^[8]。Rogel等^[9]发现,腺苷受体的激活仅为触发因子,需通过顺序激活蛋白激酶C及三磷酸腺苷敏感性钾通道(KATP)途径来产生脑缺血耐受。另外,存在于脑血管平滑肌、内皮细胞及血小板上的A2受体可介导腺苷的扩张血管及减轻内皮细胞损伤等作用。缺血预处理与后处理均可通过腺苷释放的增加及腺苷受体的激活来发挥对抗再灌注损伤的细胞保护作用。

3.3 一氧化氮(NO) NO是由左旋精氨酸和分子氧在NO合酶(nitric oxide synthase, NOS)催化下生成。在中枢神经系统中含有3种NOS,包括神经元型NOS、诱导型NOS和内皮型NOS。一般情况下,血管内皮细胞中的内皮型NOS主要表现为有利的神经保护作用,而分布于神经元及炎性细胞的神经元型NOS和诱导型NOS则主要表现为神经毒性作用。当脑组织发生缺血时血管内皮细胞释放的保护性NO减少。而缺血初期及后期、再灌注期升高的NO水平,分别来源于神经元型NOS和诱导型NOS催化生成,介导缺血神经元的进一步损伤。然而,在经过缺血预处理及后处理的梗死模型中却观察到一系列具有保护效应的NO释放增多的生理效应,包括中性粒细胞黏附减少、P2选择素表达减少、内皮对乙酰胆碱的血管舒张反应性增强等,说明经缺血预处理及后处理后可使内皮型NOS催化生成NO的功能受到保护。研究发现,用NOS阻滞剂可以消除缺血预处理及后处理的保护作用^[10]。另外,NO

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(30471771);上海市科委科学基金资助项目(74107019)。

还可在存活激酶(PI3K-Akt)信号通路中充当下游信号分子,一方面可阻止线粒体通透性转换孔道 mPTP 开放;另一方面又可激活线粒体 KATP,从而发挥保护作用^[11]。

3.4 蛋白激酶及细胞内信号转导通路 蛋白激酶 C 是一类 Ca^{2+} 、磷脂依赖性蛋白激酶,在跨膜信号传递过程中起着重要作用。缺血预处理及后处理均可使机体内源性保护物质腺苷、NO 等产生或释放增加,分别通过细胞膜上各自受体经细胞内信号转导激活蛋白激酶 C,蛋白激酶 C 移位作用于相应蛋白质使其发生磷酸化,从而产生细胞保护作用。由此认为,蛋白激酶 C 激活是缺血预处理及后处理细胞保护的共同通路。Tsukamoto 等^[12]发现,缺血预处理诱导了蛋白激酶 C 转位的发生,提示蛋白激酶 C 可能参与了缺血预处理诱导脑缺血耐受的信号转导过程。最近 Fantinelli 等^[13]发现,于再灌注前 5 min 注射蛋白激酶 C 活化剂能模拟缺血后处理的心肌保护效应,而注射蛋白激酶 C 阻滞剂却能消除缺血后处理的保护作用,提示蛋白激酶 C 同样参与了缺血后处理过程。

存活激酶(PI3K-Akt)通路和细胞外信号调节激酶通路的激活共同组成了再灌注损伤补救激酶通路。在再灌注前实施缺血预处理或后处理,可能出现再灌注损伤补救激酶活性的上调,激活 PI3K-Akt,细胞外信号调节激酶 IP2 及其下游靶点内皮型 NOS 和 p70 核糖体 S6 激酶,从而抑制 mPTP 的开放,抑制缺血细胞凋亡及蛋白质转录,最终保护缺血细胞。Yin 等^[14]发现脑组织缺血后磷酸化 Akt 的水平呈现出延缓而持续的减少过程,而经缺氧预处理后则可以恢复磷酸化 Akt 和其底物糖原合成酶激酶 3β 水平,减少促炎性介质核因子 κ B、环氧合酶 2、CD68 等释放,从而减轻缺血脑组织的坏死程度。但使用 PI3K 抑制剂后该保护作用被取消。而在心肌缺血再灌注模型中亦证实了后处理可通过激活再灌注损伤补救激酶通路,尤其存活激酶 PI3K-Akt 途径,以及激活其下游目标内皮型 NOS、p70 核糖体 S6 激酶而保护心肌。而分别加入 PI3K 和细胞外信号调节激酶的抑制剂后可以抵消后处理的保护作用。有研究发现^[15]细胞外信号调节激酶传导通路在细胞凋亡过程中有双重的作用,过量的细胞外信号调节激酶激活能引起细胞凋亡发生,加重再灌注损伤。另外,有学者认为 PI3K-Akt 通路在预处理与后处理中均被激活,而细胞外信号调节激酶通路仅在后处理中被激活,其中的机制尚待进一步明确。

3.5 氧化应激 众所周知,活性氧可通过引起细胞脂质过氧化、提高 DNA 分子和调节细胞凋亡相关基因诱发细胞凋亡。Rivera 等^[16]研究发现,对大鼠给予 3 min \times 3 次(间隔 7 min)的 IPC,2 d 内脑皮层脂质过氧化明显下降;若直接给予 PMCAO 很快出现脂质过氧化升高;若先予 IPC 再行 PMCAO,则脂质过氧化升高幅度减低,提示 IPC 诱发神经保护与其降低脂质过氧化升高的幅度有关。IPC 后超氧化物歧化酶(SOD)活性上调已被证实在神经保护作用中起重要作用。然而,在大鼠 IPC 前静脉注射人类重组的 SOD(hrSOD)非但没能加强 IPC 的神经保护作用,反而还抑制了 IPC 诱导的神经耐受性的产生,提示外源性 SOD 能够抑制内源性 SOD 的产生,故对应用 hrSOD 预防性治疗缺血性脑损伤的可行性提出质疑。

3.6 炎症因子 已有大量证据表明,缺血性脑损伤后不久即有炎症细胞因子、趋化因子和内皮-白细胞黏附分子增高,炎症细胞因子对中枢神经系统发挥神经营养、神经保护及神经毒性双重作用,其作用依浓度不同而异。Kariko 等^[17]研究表明,大鼠 IPC(MCAO 10 min)后 6~8 h 同侧皮层 IL-1 mRNA 的峰

表达量明显低于单纯行 PMCAO 者,同侧皮层 IL-1 蛋白的增加于 IPC 后 1 周时最多,与脑缺血耐受时程一致。提示 IPC 后 IL-1 的诱生在缺血耐受形成中起一定作用。同时研究也发现大鼠在 IPC(MCAO 10 min)后 1 h 即有同侧皮层 TNF mRNA 生成增加,6 h 达高峰,持续 2 d,表明 TNF α 在 IPC 现象中有重要价值。若在大鼠 PMCAO 前 48 h 通过脑室注射 TNF,则可减轻脑梗死的面积,并提示 TNF 预处理以时间和剂量依赖性方式影响脑梗死的面积,进一步说明了 TNF 具有神经保护作用,且很可能是影响了参与调节 TNF 的信号转导途径,TNF 水平的变化在沙土鼠缺血耐受实验中也得到了证实,二者升高的程度与缺血部位及缺血持续时间有关。

3.7 热休克蛋白 许多研究证实,热休克蛋白(heat shock protein,HSP)可参与内源性神经保护。Zhao 等^[18]实验证明,缺血预处理以及缺血后处理后 6 h,HSP70 mRNA 开始增高,而 HSP27 mRNA 则在预处理 24 h 开始增高,免疫生化检测表明,HSP70 蛋白于预处理后 1~5 d 在缺血皮质广泛表达。HSP70 是脑缺血敏感的应激指标,在一定的时间窗内存在量效关系,对机体具有保护作用。

4 展 望

临床应用缺血预处理的最大障碍在于很难预知何时会发生缺血,在临床应用中不实际,因此限制了其在临床的应用。但通过其研究了解机体缺血后自身保护的机制,从而有人提出了药物性缺血预处理的新道路。通过化学预处理的效果已经在动物实验中得到证实^[19],应用亚致死剂量干扰细胞能量代谢的物质激发或模拟机体内源性物质(如腺苷、缓激肽、NO 等)能发挥保护作用、提高组织缺血、缺氧的耐受性。

相对于缺血预处理,缺血后处理是一个新的概念,与缺血预处理或远距离预处理比较,缺血后处理方式最大的优点在于保护性的多次短暂复灌注是施加于缺血发生之后,因此在血管干预手术、血管旁路手术和器官移植等领域具有良好的应用价值。其有效性已经在临床中得到了证实,并且应用于心脏手术成功病例的报道^[20]。

综上所述,缺血预处理和缺血后处理 2 种干预方式对脑的保护各有特点,在动物实验中得到了基本肯定。如何充分和有效地利用这 2 种干预方式预防和治疗脑缺血/灌注性损伤尚有待进一步临床实践。

参考文献:

- [1] Biegon A, Fry PA, Paden CM, et al. Dynamic changes in N-methyl-D-aspartate receptors after closed head injury in mice: Implications for treatment of neurological and cognitive deficits[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(14):5117.
- [2] Moncayo J, de Freitas GR, Bogousslavsky J, et al. Do transient ischemic attacks have a neuroprotective effect[J]. Neurology, 2000, 54(11):2089.
- [3] Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2003, 285(2):579.
- [4] Zhao H, Sapolsky RM, Steinberg GK. Interrupting reperfusion as a stroke therapy: ischemic postconditioning reduces infarct size after focal ischemia in rats[J]. J Cereb

- Blood Flow Metab, 2006, 26(9):1114.
- [5] Wang JY, Shen J, Gao Q, et al. Ischemic postconditioning protects against global cerebral ischemia/reperfusion-induced injury in rats[J]. Stroke, 2008, 39(3):983.
- [6] Yuan HB, Huang Y, Zheng S, et al. Hypothermic preconditioning increases survival of purkinje neurons in rat cerebellar slices after an in vitro simulated ischemia[J]. Anesthesiology, 2004, 100(2):331.
- [7] Paillard M, Gomez L, Augeul L, et al. Postconditioning inhibits mPTP opening independent of oxidative phosphorylation and membrane potential[J]. J Mol Cell Cardiol, 2009, 46(6):902.
- [8] Sebastiao AM, Ribeiro JA. Triggering neurotrophic factor actions through adenosine A2A receptor activation: implications for neuroprotection[J]. Br J Pharmacol, 2009, 158(1):15.
- [9] Rogel A, Bromberg Y, Sperling O, et al. The neuroprotective adenosine-activated signal transduction pathway involves activation of phospholipase C[J]. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids, 2006, 25(11):1283.
- [10] Pignataro G, Scorziello A, Di Renzo G, et al. Post-ischemic brain damage: effect of ischemic preconditioning and postconditioning and identification of potential candidates for stroke therapy[J]. Febs J, 2009, 276(1):46.
- [11] Strijdom H, Friedrich SO, Hattingh S, et al. Hypoxia-induced regulation of nitric oxide synthase in cardiac endothelial cells and myocytes and the role of the PI3-K/PKB pathway[J]. Mol Cell Biochem, 2009, 321(1-2):23.
- [12] Tsukamoto O, Asanuma H, Kim J, et al. A role of opening of mitochondrial ATP-sensitive potassium channels in the infarct size-limiting effect of ischemic preconditioning via activation of protein kinase C in the canine heart[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 338(3):1460.
- [13] Fantinelli JC, Mosca SM. Comparative effects of ischemic pre and postconditioning on ischemia-reperfusion injury in spontaneously hypertensive rats (SHR)[J]. Mol Cell Biochem, 2007, 296(1-2):45.
- [14] Yin W, Signore AP, Iwai M, et al. Preconditioning suppresses inflammation in neonatal hypoxic ischemia via Akt activation[J]. Stroke, 2007, 38(3):1017.
- [15] Miyawaki T, Mashiko T, Ofengeim D, et al. Ischemic preconditioning blocks BAD translocation, Bcl-xL cleavage, and large channel activity in mitochondria of postischemic hippocampal neurons[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(12):4892.
- [16] Rivera F, Costa G, Abin A, et al. Reduction of ischemic brain damage and increase of glutathione by a liposomal preparation of quercetin in permanent focal ischemia in rats[J]. Neurotox Res, 2008, 13(2):105.
- [17] Kariko K, Weissman D, Welsh FA. Inhibition of toll-like receptor and cytokine signaling—a unifying theme in ischemic tolerance[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2004, 24(11):1288.
- [18] Zhao J, Sun S, Chen X. Protective effects of focal ischemic preconditioning and HSP70 expression on middle cerebral artery occlusion in rats[J]. J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci, 2006, 26(4):436.
- [19] Turan NN, Basgut B, Aypar E, et al. Chemical preconditioning effect of 3-nitropropionic acid in anesthetized rat heart[J]. Life Sci, 2008, 82(17-18):928.
- [20] Li B, Chen R, Huang R, et al. Clinical benefit of cardiac ischemic postconditioning in corrections of tetralogy of Fallot[J]. Interact Cardiovasc Thorac Surg, 2009, 8(1):17.

(收稿日期:2009-10-14 修回日期:2010-02-10)

• 综 述 •

针刺治疗偏头痛的国际认识进展

王运锋 综述, 周冀英 审校

(重庆医科大学附属第一医院神经内科 400016)

关键词: 针刺; 偏头痛; 进展

中图分类号: R747.2; R245.31

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)13-1745-03

偏头痛作为原发性头痛中最常见的两种类型之一, 高发于青壮年, 疼痛程度多为中到重度, 严重时可明显影响工作、学习和生活, 而对偏头痛的治疗现多局限于药物治疗, 有效率 60%~65%^[1], 且药物均存在不同程度的不良反应。针刺镇痛效果肯定, 不良反应小, 在偏头痛的临床应用也较为广泛。2006 年的调查显示在美国每年有 213 万的患者接受针刺治疗^[2], 在德国有近 100 万的针刺治疗患者, 其中头痛患者中 2/3 为紧张型头痛患者, 其余的 1/3 多为偏头痛患者。国外近年来进行了大量的研究, 以求确定针刺治疗偏头痛的疗效和作用, 国内尚缺乏大型的随机对照研究, 现将国内外对针刺治疗

偏头痛的认识综述如下。

1 偏头痛的有关发病机制及针刺治疗机制

偏头痛的发病机制尚未明了, 西医理论多认为与三叉神经血管系统的激活有关, 支配脑膜血管、静脉窦、硬脑膜和软脑膜的感觉纤维为细小的 C 纤维, 由三叉神经的第 1 分支和上颈段神经根共同支配。偏头痛发作起始为三叉神经节的中枢激活, 引起三叉神经纤维相应脑膜支配区血管活性肽, 如 CGRP、P 物质等的释放^[3], 继而引起血管扩张和神经源性炎症反应, 最终导致头痛的发生。偏头痛的中医理论认为偏头痛部位在头之一侧, 痛连同侧眼齿, 累及部位多为足少阳胆经、手少阳三焦