

• 综 述 •

急性缺血性脑卒中再灌注中的脑保护研究进展

刘昊 万跃

【中图分类号】 R743.3 【文献标识码】 A 【文章编号】 1007-0478(2020)06-0841-03
【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2020.06.033

缺血性脑卒中是世界成人残疾和死亡的主要原因,是与遗传和环境因素相关的多因素异质性疾病。急性缺血性脑卒中导致脑功能的丧失,主要与大脑区域内血流量的减少有关。目前静脉溶栓和血管内治疗已成为全球治疗急性缺血性脑卒中最有效的手段,但是脑缺血再灌注过程中由于炎症反应、氧化应激、兴奋性氨基酸等变化会导致脑再灌注损伤。本研究综述脑缺血再灌注损伤的重要影响因素,为急性缺血性脑卒中再灌注脑保护的药物治疗提供理论依据。

缺血性脑组织的再灌注的治疗目标是使闭塞的血管再通。再灌注损伤是一种病理生理学术语,描述了复杂的生化机制,即使成功地将闭塞的血管再通,也可能会加重缺血组织的损伤。脑缺血的实验研究表明炎症介质、氧化应激、线粒体的损伤和细胞凋亡等许多生物因素可能参与再灌注损伤^[1]。目前可以通过减轻炎症反应、抗氧化应激、保护线粒体的损伤和降低细胞凋亡等途径来发挥对缺血性脑卒中(Ischemic stroke, IS)的脑保护作用。

1 影响自由基的产生

大脑仅占人体总重量的 2%,但几乎占人体耗氧量的 20%,比其他器官产生更多的自由基。另外,脑组织中含有大量的脂质,具有不饱和脂肪酸和高浓度的铁,因此大脑更容易受到自由基的损害。自由基分为两大类:活性氧(Reactive oxygen species, ROS)和活性氮(Reactive nitrogen species, RNS)。ROS 和 RNS 在缺血再灌注过程的许多病理过程中起着关键作用。氧化应激是由过量产生的 ROS 引起的。主要有害类型的 ROS 包括超氧阴离子、羟自由基和过氧化氢。在生理条件下超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化氢酶和其他抗氧化酶可以通过催化防止 ROS 损害脑组织,维持中性平衡^[2]。在缺血性脑卒中的早期 ROS 主要由线粒体产生。缺血性脑卒中后脑组织缺乏氧气和葡萄糖,这会影响 ATP 的生成^[3]。在缺乏 ATP 的条件下神经元中钙的水平升高,通过线粒体去极化,产生大量的 ROS。随着神经系统炎症反应期间巨噬细胞和其他免疫细胞的浸润,这些免疫细胞中 NADPH 氧化酶的活化也促进了 ROS 的生成,在再灌注过程发生时称为“氧爆发”^[4]。

依达拉奉在亚洲国家广泛使用,可以改善线粒体水肿,增加内皮型一氧化氮合酶的表达,减少自由基形成,减少脑梗死面积并防止神经元迟发性损伤^[5]。依达拉奉还具有抗凋亡、抗细胞坏死和抗炎作用。还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶是一种特定的产生 ROS 的酶,尤其是氧化酶的非吞噬细胞氧化酶 4(non-phagocytic cell oxidase, NOX),主要在神经元中产生 ROS。Lou 等研究发现抑制 NOX4 的药物可能对缺血/再灌注损伤后的脑组织有保护作用^[6]。酪蛋白激酶 2(CK2)是 NADPH 氧化酶的重要调节剂,大脑组织中 CK2 的失活可以增加 NOX2 的活性,并增加 ROS 的产生和神经元的死亡^[7]。四甲基吡嗪类似物 Z-11 在缺血性脑卒中再灌注中起保护作用,其机制与通过激活 NADPH 氧化酶途径来增强氧化防御系统有关^[8]。

2 保护线粒体的功能

线粒体是疾病期间细胞命运的关键调节因子。线粒体通过产生可促进细胞进程的 ATP 来控制细胞存活,相反地线粒体也通过释放促凋亡因子(例如细胞色素 C)来诱导细胞死亡。因此,至关重要的是要有严格的质量控制机制以确保健康的线粒体网络运行。质量控制机制主要包括线粒体动力学和线粒体调控。线粒体的动力学主要是指线粒体的融合和分裂保持动态平衡。线粒体质量控制周期涉及线粒体的分裂、融合、吞噬和降解的动态过程。当线粒体去极化或功能障碍时它们被标记为降解。标记后线粒体中不健康的部分将从健康的线粒体网络中分裂出来。某些受损的线粒体可以与其他健康的线粒体融合,以挽救线粒体,但是功能异常的线粒体通常会发生线粒体吞噬。当功能异常的线粒体与健康的线粒体网络隔离开来时线粒体会积累线粒体标志物,从而招募吞噬细胞。吞噬细胞会附着在功能异常的线粒体上,与溶酶体融合形成自溶体,并降解线粒体。功能异常的线粒体降解后,细胞将回收氨基酸和脂肪酸,以使剩余的健康线粒体网络得以正常运行。

越来越多的证据表明,缺血性脑卒中自噬的激活可能有助于神经保护作用^[9]。李小强等^[10]人在研究金纳多(银杏叶提取物注射液)改善缺血性脑卒中大鼠的神经功能中发现,金纳多对大脑中动脉闭塞再灌注的大鼠初始给药 24 h 后表现出明显的神经保护作用。金纳多的神经保护作用机制包括通过激活 AMPK 途径诱导自噬、维持线粒体稳态和抑制细胞凋亡。余婷等^[11]在苦参素对大鼠脑缺血后脑线粒

基金项目:武汉市卫健委科研项目(WX16C31)

作者单位:430000 武汉,湖北省第三人民医院阳逻院区[刘昊 万跃(通信作者)]

体损伤保护作用的研究中发现苦参素对脑缺血后脑线粒体损伤具有一定的保护作用,其机制可能与降低 Ca^{2+} 水平、抑制氧化应激损伤以及改善 ATPase 活性有关。

3 减少炎症反应

炎症在脑缺血病理的发生发展中起重要作用。与抢救脑缺血再灌注损伤(Brain ischemia and reperfusion injury, BIRI)的原发性损伤比较,BIRI 后炎症继发性损伤的治疗时间窗更长。因此,抗炎是最受欢迎的治疗靶点^[12]。炎症是炎症细胞和分子之间一系列复杂的相互作用,所有这些都可能具有神经毒性作用^[13]。在 BIRI 的前 24 h 内 BIRI 与血管白细胞和内源性小胶质细胞的炎症反应的发展有关。信号趋化因子协调不同炎症细胞类型与受损组织之间的交流,导致细胞趋化作用和占位效应,特别是在缺血半暗带周围。这也导致细胞粘附分子在脑和外周血白细胞募集中分别上调。炎症细胞一旦被激活就会释放大量的细胞毒性物质如 MMPs、NO、ROS 等。这些变化可能导致细胞损伤和血脑屏障(Blood-brain barrier, BBB)和细胞外基质的破坏,使血清神经毒性物质进入大脑,引起脑水肿。

与 BIRI 炎症相关研究最多的细胞因子是促炎细胞因子 TNF- α 、IL-1 和 IL-6, IL-8, IL-10, IL-17 和 TGF- β , 这些促炎细胞因子存在患有急性脑缺血患者的脑中。先前的报道表明促炎性细胞因子在 IRI 后显著上调,不同类型的细胞因子在 IRI 后数小时到数天达到峰值^[14]。据报道,脑脊液和血清中 TNF- α 水平升高具有神经毒性,增加了梗死体积,而降低水平则具有神经保护作用^[15]。在针对急性脑卒中患者的报道中脑脊液和血浆中 IL-6 的水平在发病后数小时内增高,并且 IL-6 的水平被认为是早期神经系统疾病病情恶化的有效标志^[16]。另外,IL-6 的释放与脑梗死面积的增加和临床预后的恶化直接相关^[16]。IL-10 是一种抗炎症细胞因子,在脑损伤时表达,可促进炎症级联的消退。IL-10 通过抑制 IL-1 和 TNF- α 的增高而发挥作用,并可以抑制 TNF- α 细胞因子受体的表达及减少受体的活化。在 IRI 的实验模型中 IL-10 的水平升高^[17]。

在南亚和东亚患有 IS 的患者中中药已被广泛使用了几个世纪。在过去的十年中许多临床前和临床研究都集中在中药对 IS 或 IS 诱发的 BIRI 的治疗作用中。为了发现和开发新的天然化合物,研究了具有治疗选择性的中药有效成分、单味中药及复方或方药对脑缺血再灌注损伤的神经保护作用。一项荟萃分析评估了 28 项试验,包括 2780 例 IS 患者,结果表明几种中草药专利药物可有效改善脑卒中^[18]。同样,对 14 项具有实验性 TBI 的动物进行的高质量研究的荟萃分析系统评价表明,中药复方具有有益的治疗作用,表现为脑组织含水量减少,BBB 通透性改善和 TNF- α /NO 表达水平降低^[19]。在许多研究中中药的有益神经保护作用归因于抑制炎症细胞因子的产生和减弱脑组织炎症反应。

4 降低兴奋性氨基酸的毒性

脑部发生缺血性损伤时会出现以谷氨酸为代表的兴奋

性氨基酸释放水平增高,升高的谷氨酸会引起大量神经元的去极化和钙超载,产生兴奋性毒性作用^[20]。Dorothee Lang 等人在小鼠模型中对银杏叶提取物的特定成分白果内酯的神经保护特性进行测试,研究发现白果内酯减少脑缺血后神经元死亡,其作用机制涉及减少缺血诱导的谷氨酸释放、降低兴奋性毒性,白果内酯在脑梗死的组织中起作用,是一种神经保护化合物^[21]。

5 减少细胞凋亡

经典凋亡的激活通过 2 个主要途径发生^[22]。其中之一是外在途径,这是通过激活细胞表面凋亡受体如 Fas 而启动,并最终激活半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-8 (caspase-8) 或 caspase-10;另一个是内在途径,也称为线粒体凋亡途径,其起源于细胞色素 C 的线粒体释放并相应激活 caspase-9。这两种途径均导致信号传导级联,其集中于 caspase-3 的激活,最终导致细胞凋亡。线粒体是细胞器,在缺血性损伤的凋亡途径中起关键作用^[23]。先前的研究表明,脑缺血再灌注产生的自由基主要由线粒体释放,从而导致神经元的氧化应激。线粒体过量产生活性氧会破坏蛋白质和脂质,从而损害线粒体功能并导致线粒体膜通透性增加;通透性增高的线粒体释放细胞色素 C,激活 Caspase 并导致脑缺血再灌注后的细胞死亡^[24]。

陈秀英等^[25]人在进行白藜芦醇对脑缺血再灌注损伤后脑保护作用的实验中发现白藜芦醇可通过 Wnt 通路降低促凋亡蛋白的表达,来抑制脑缺血再灌注大鼠神经细胞凋亡,从而发挥神经保护作用。Tsoi 等^[26]人研究了安宫牛黄丸对大鼠缺血再灌注脑损伤的神经药理作用,发现安宫牛黄丸具有改善神经功能缺损、减少梗死面积并保护 BBB 完整性、抑制细胞凋亡、抗氧化应激的神经保护作用。中药制剂、中药及活性化合物抑制缺血性脑卒中再灌注诱导的活性氧突出、炎症介质过度产生、白细胞浸润、微血管高通透性、血小板聚集等,导致血脑屏障破坏和毛细血管灌注不足多种脑微循环损伤,最终达到改善脑水肿和/或脑出血、脑损伤的目的;另一方面,通过改善脑微循环、抗凋亡、抗兴奋性氨基酸的毒性、促神经细胞增殖,中药制剂、中药本草及活性化合物有可能缓解缺血性脑卒中再灌注后的神经功能障碍。

缺血性脑卒中再灌注后引起的脑微循环障碍、继发性脑损伤和神经元损伤是 1 个复杂的过程,需要对多个靶点进行干预才能成功治疗。中药制剂和中药中含有多种有效成分,数十年来被广泛应用于临床,是治疗缺血性脑卒中再灌注损伤的一种潜在的治疗策略,需要进一步的临床和实验研究来了解它们的作用。

参 考 文 献

- [1] Suzuki Y, Nagai N, Umemura K. A review of the mechanisms of blood-brain barrier permeability by tissue-type plasminogen activator treatment for cerebral ischemia[J]. Front Cell Neurosci, 2016, 10:2.
- [2] Robinson NJ, Winge DR. Copper metallochaperones[J]. Annu Rev Biochem, 2010, 79(1):537-562.

- [3] Shenoda B. The role of Na⁺/Ca²⁺ exchanger subtypes in neuronal ischemic injury[J]. *Transl Stroke Res*, 2015, 6(3): 181-190.
- [4] Granzotto A, Sensi SL. Intracellular zinc is a critical intermediate in the excitotoxic cascade[J]. *Neurobiology of Disease*, 2015, 81: 25-37.
- [5] Song Y, Bei Y, Xiao Y, et al. Edaravone free radical scavenger, protects neuronal cells' mitochondria from ischemia by inactivating another new critical factor of the 5-lipoxygenase pathway affecting the arachidonic acid metabolism[J]. *Brain Res*, 2018, 1690: 96-104.
- [6] Lou Z, Wang AP, Duan XM, et al. Upregulation of NOX2 and NOX4 mediated by TGF- β signaling pathway exacerbates cerebral ischemia/reperfusion oxidative stress injury[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 46(5): 2103-2113.
- [7] Kim GS, Jung JE, Niizuma K, et al. CK2 is a novel negative regulator of NADPH oxidase and a neuroprotectant in mice after cerebral ischemia[J]. *J Neurosci*, 2009, 29(47): 14779-14789.
- [8] Li Z, Yulei J, Yaqing J, et al. Protective effects of tetramethylpyrazine analogue Z-11 on cerebral ischemia reperfusion injury[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 844: 156-164.
- [9] Gabryel B, Kost A, Kasprowska D. Neuronal autophagy in cerebral ischemia—a potential target for neuroprotective strategies? [J]. *Pharmacol Rep*, 2012, 64(1): 1-15.
- [10] Xiaoqiang Li, Deli Zhang, Yinliang Bai, et al. Ginaton improves neurological function in ischemic stroke rats via inducing autophagy and maintaining mitochondrial homeostasis[J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2019, 15: 1813-1822.
- [11] 余婷, 韩亚非. 苦参素对大鼠脑缺血后脑线粒体损伤保护作用的研究[J]. *中国中医急症*, 2018, 27(5): 834-837, 841.
- [12] Kawabori M, Yenari M. Inflammatory responses in brain ischemia[J]. *Curr Med Chem*, 2015, 22(10): 1258-1277.
- [13] Malone K, Amu S, Moore AC, et al. The immune system and stroke: from current targets to future therapy [J]. *Immunol Cell Biol*, 2019, 97(1): 5-16.
- [14] Schwarzmaier SM, Zimmermann R, McGarry NB, et al. In vivo temporal and spatial profile of leukocyte adhesion and migration after experimental traumatic brain injury in mice[J]. *J Neuroinflammation*, 2013, 10: 32.
- [15] Shi CX, Ding YB, Jin F, et al. Effects of sevoflurane post-conditioning in cerebral ischemia-reperfusion injury via TLR4/NF- κ B pathway in rats[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(6): 1770-1775.
- [16] Huang J, Upadhyay UM, Tamargo RJ. Inflammation in stroke and focal cerebral ischemia[J]. *Surg Neurol*, 2006, 66(3): 232-245.
- [17] Qj L, Jiang M, Wang XH, et al. Pre-existing interleukin 10 in cerebral arteries attenuates subsequent brain injury caused by ischemia/reperfusion[J]. *IUBMB Life*, 2015, 67(9): 710-719.
- [18] Han SY, Hong ZY, Xie YH, et al. Therapeutic effect of Chinese herbal medicines for post stroke recovery: A traditional and network meta-analysis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(49): e8830.
- [19] Yang B, Wang Z, Sheng C, et al. Evidence-based review of oral traditional Chinese medicine compound recipe administration for treating weight drop-induced experimental traumatic brain injury[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2016, 16: 95.
- [20] Amantea D, Bagetta G. Excitatory and inhibitory amino acid neurotransmitters in stroke: from neurotoxicity to ischemic tolerance[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2017, 35(8): 111-119.
- [21] Lang D, Kiewert C, Mdzinarishvili A, et al. Neuroprotective effects of bilobalide are accompanied by a reduction of ischemia-induced glutamate release in vivo[J]. *Brain Res*, 2011, 1425: 155-163.
- [22] Ham PB, Raju R. Mitochondrial function in hypoxic ischemic injury and influence of aging[J]. *Prog Neurobiol*, 2017, 157: 92-116.
- [23] Krajewski S, Krajewska M, Ellerby LM, et al. Release of caspase-9 from mitochondria during neuronal apoptosis and cerebral ischemia[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96(10): 5257-5752.
- [24] Xing B, Chen H, Zhang M, et al. Ischemic postconditioning inhibits apoptosis after focal cerebral ischemia/reperfusion injury in the rat[J]. *Stroke*, 2008, 39(8): 2362-2369.
- [25] 陈秀英, 黄文, 程畅. 白藜芦醇对脑缺血再灌注损伤后脑保护作用的研究[J]. *现代中西医结合杂志*, 2019, 28(36): 4017-4020, 4089.
- [26] Tsoi B, Chen X, Gao C, et al. Neuroprotective effects and hepatorenal toxicity of angong niuhuang wan against ischemia-reperfusion brain injury in rats[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 593.

(2020-04-20 收稿)