脑缺血耐受预处理措施的研究进展及临床展望

李雪静 唐强 朱路文 叶涛

缺血性脑卒中目前是世界范围内致残和致死的主要疾病之一,诱发脑缺血耐受为缺血性脑血管病的研究及临床脑保护治疗方法的探索提供了启发和线索^[1]。笔者检索了近年来关于诱导脑缺血耐受的预处理措施文献,将其分为缺血预处理和非缺血预处理措施两大类,本文着重论述各种诱导脑缺血耐受预处理措施的研究进展及临床展望,旨在为今后实验和临床提供较好的参考。

缺血预处理诱导脑缺血耐受

Janoffd 等^[2]1964 年提出了缺血耐受的概念,随后人们相继在心脏、脑、肾脏等器官中发现短暂的一次或重复缺血后,可以增强组织、器官对缺血的耐受性,对二次损伤有一定的保护作用,这种现象称之为缺血预处理。其机制虽然尚未完全阐明,但大量文献已证实,其潜在的神经保护机制涉及兴奋性或抑制性神经递质、炎症因子、腺苷、信号通路转导、细胞凋亡、DNA 自我修复或重塑机制、线粒体细胞器保护作用及内质网应激等。目前实验研究中,脑缺血预处理模型的制备大致采用全脑缺血和局灶缺血模式,具体的制备方法主要有开颅机械法、栓塞法、化学诱导法、机械压迫皮质梗死法、内皮缩血管肽-1 注射等。实验对象多以 Sprague-Dawley (SD) 大鼠为主,但也有人提出老鼠大脑的构造及尺寸与人类不同,应选择与人类在解剖学中更为相近的动物(如猪),并应用磁共振成像和免疫组织化学等方法来进行对比研究和论证^[3]。

Przyklenk 等^[4]1993 年提出远程缺血预处理的概念,即对某器官或组织进行亚致死性短暂缺血,激发机体内源性保护机制,对随后远距离的器官或组织致死性缺血产生保护作用。临床中多采用对远端肢体进行短暂的缺血刺激作为预处理手段诱导缺血耐受,目前此种方法以被应用于冠状动脉旁路移植术、器官移植和腹主动脉瘤切除术中。在神经保护方面,Arvola 等^[5]证实,远端缺血预处理可以减少在缺血再灌注猪模型脑部的氧化应激从而达到脑保护作用。但 Hougaard 等^[6]将远端缺血预处理与溶栓进行了比较,发现对 1 个月时脑梗死的体积及功能的恢复情况没有明显改善,这也说明将远程缺血预处理应用于神经保护方面还需大量的实验提供进一步的理论支持。

非缺血性预处理诱导脑缺血耐受

实验中,脑缺血耐受模型的制备都是侵入性的、有创的,这在临床上并不适用。通过一个非伤害性的刺激模拟缺血性损伤,从而诱发脑缺血耐受以对抗随后而至的缺血再灌注损伤称为非缺血性预处理^[7]。

一、浅低温预处理

浅低温是将机体温度下降至某一特定的、安全的范围,使人体对损伤产生保护性应激反应,从而达到自我保护的一种方法。目前临床上浅低温疗法被应用于儿童心脏骤停的治疗以及围手术期患者的预防等^[8],虽然它的具体机制尚不清楚,但大量的实验研究都证实了浅低温预处理对于局灶和全脑缺血缺氧损害具有一定的保护作用。Ma 等^[9]将 180 只大鼠按随机数字表法分成实验组、手术组和假手术组,实验组在大鼠缺血损伤前给予 4 次持续各 2 min 左右的双侧颈总动脉动脉夹闭,5 min 再灌注,将大鼠体温调节在(25.0±0.5)℃,最后给予双侧颈总动脉夹闭 120 min 后予以再灌注和复温,手术组大鼠与实验组处置相同但无体温降低,假手术组予以相同的操作但不给予动脉夹闭;研究表明,低体温具有能减低脑损伤时细胞色素-C 释放、抑制半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (caspase-3) 和线粒体凋亡通路的活化等作用,但对于低体温预处理诱导脑缺血耐受并没有统一的体温降低标准。

二、高压氧预处理

高压氧作为一种治疗手段已经被广泛的应用于临床治疗中,Yusa 等^[10]实验发现在给蒙古沙土鼠脑缺血前行间隔 1 d 的连续 5 次的高压氧,缺血后 7 d 取脑组织行海马 CA1 神经元密度计数,统计显示实验组 CA1 神经元数目明显多于不给高压氧预处理组。Soejima 等^[11]通过研究发现,高压氧预处理通过降低大脑中动脉闭塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 大鼠体内缺氧诱导因子-1a 含量并下调基质金属蛋白酶-2 和基质金属蛋白酶-9 的表达改善了梗死后神经功能缺损。高压氧预处理能够诱导脑、脊髓缺血耐受,安全性高,可行性好,有望成为预防和减轻脑再灌注损伤的有效方法。

三、低氧预处理

缺氧会对细胞造成致命打击,但有研究表明,对组织进行适当的低氧预处理有利于激发内源性神经保护系统的启动。Poinsatte 等^[12]将大鼠予以时长 2~4 h、浓度 8%~11% 的低氧预处理发现,它能减少梗死面积,减轻血脑屏障的破坏,减少梗死后炎症反应,诱发内源性中枢神经系统保护机制。另外,当脑缺血预处理时,转录因子家族中的信号传感器和转录催化剂就已经被活化^[13]。如此推论,通过应用抗氧化剂就可以减轻细胞内氧化应激反应,这也为临床上如何应对脑缺血提供了启示。

四、化学药物预处理

人们在研究中也确实发现了许多药物制剂能够切实可行的活化内源性神经保护通路^[14-21],而药物的可调节性和可操作性较好,应用药物作为预处理因素诱导脑缺血耐受似乎更贴合临床实际。Krzyszowska 等^[14]将模型大鼠于缺血前 5 d 重复使用头孢曲松和 N-乙酰半胱氨酸进行预处理,发现二者均可转换 MCAO 模型大鼠谷氨酸转运体-1 的前额皮质、海马、背侧纹状体的 mRNA 和蛋白水平表达,减少梗死面积和神经功能缺损。Lee 等^[15]在大鼠腹腔内注射吡啶美辛非选择性环氧合酶抑制

剂发现,吡啶美辛可以适度增加神经元间和突触间锌的含量,诱导细胞核内的锌达到平衡,并释放神经保护蛋白,从而达到神经保护作用。Li 等^[16]研究发现,异氟醚(医学麻醉用)预处理通过作用于兴奋性氨基酸转运体-3 诱导缺血急性期神经保护,同样作用的还有另外一种麻醉药物七氟醚。笔者检索科学网(Web of Science)近 10 年的文章发现,目前有下列药物被用于研究预处理,红霉素、雷帕霉素、米屈肼、美金刚、柿叶类黄酮、银杏酚、聚肌胞苷酸、凝血酶、阿司匹林、缓激肽、神经营养因子、细胞因子、内毒素等^[17-21]。

五、睡眠剥夺预处理

睡眠障碍虽然是心脑血管疾病发病的重要诱因,但近年来逐渐有人证实,急性睡眠剥夺可以诱发缺血大鼠模型的内源性神经保护作用,从而达到神经保护和促进功能恢复。Moldovan 等^[22]对脑缺血模型前的大鼠予以 6 h 温和触摸(gentle handling),主要方法是轻轻敲打和摇晃鼠笼,触摸尾巴和胡须使其保持觉醒,结果发现,实验组和对照组在脑损伤后 3 d 内的神经功能恢复上差异无统计学意义,但 4~7 d 时实验组大鼠在形态学和神经功能恢复上均优于对照组($P < 0.05$)。这种睡眠剥夺的脑保护作用可能是通过觉醒时释放了大量的肾上腺素 A1 受体,增加了炎性细胞因子白细胞介素(interleukin, IL)-6 和 IL-10 释放,从而达到改善缺血后神经功能效果。有人还尝试了 12、24 和 48 h 的睡眠剥夺实验^[23],但并未对各个时间点进行详细的比较,而详尽的机制尚有待于进一步研究。

六、皮质扩散性抑制

1944 年由 Leao^[24]首次提出了皮质扩散抑制现象,它是大脑皮层通过周边神经元和胶质细胞去极化来应对伤害性刺激的自发神经保护行为。皮质扩散性抑制可以由电刺激、机械刺激和高浓度 K^+ 等化学刺激诱发。虽然皮质扩散抑制在脑外伤或脑缺血急性期会加重病变过程,然而多项研究^[25]发现,病损前多次短暂的诱发则可诱导脑缺血耐受。Matsushima 等^[26]测定了皮质扩散性抑制预处理后 MCAO 模型大鼠的梗死病灶体积,发现总梗死体积与皮层梗死体积均小于对照组,且差异有统计学意义($P < 0.05$);但也观测到皮层下梗死体积与对照组差异无统计学意义($P > 0.05$),并证实皮质扩散抑制预处理与缺血半暗带细胞凋亡相关,在改善脑卒中神经功能恢复方面发挥作用。近些年,它被广泛应用于偏头痛、脑血管意外、癫痫、动脉瘤出血、脑外伤等治疗^[27]。

七、电针预处理

预处理这个概念在中医属于“治未病”范畴,是中医中药的预防医学思想。应用针灸的方法来“治未病”称为“逆针灸”,电针作为临床治疗的常用且有效手段,其脑保护作用受到越来越多人的重视并应用于临床及围手术期,研究^[28]表明,电针预处理不仅可以有效减轻缺血再灌注损伤,在缺血发生后给予电针治疗亦具有良好的神经保护作用。熊利泽等^[29]2003 年首次证实“百会穴”电针预处理可明显减少大鼠脑梗死体积改善神经功能。电针可兴奋迷走神经调节儿茶酚胺水平产生全身抗炎作用,增加内源性阿片释放影响全身免疫系统以及调节自主神经功能维持免疫细胞正常比例,电针预处理可上调脑缺血再灌注后大鼠脑内神经元 α -7 亚基烟碱型乙酰胆碱受体表达,降低脑再灌注损伤后脑组织和血浆中促炎因子高迁移率族蛋白-1 的水平,抑制神经系统炎症反应并产生脑保护作用^[30]。尽管其

机制未完全研究清楚,但为脑保护的研究提供了成熟的模型和更多的理论依据,为治疗脑缺血损伤提供更多的有效靶点。

脑缺血预处理的临床应用前景

随着对脑缺血预处理诱导脑缺血耐受保护机制研究的深入,越来越多有效的预处理措施被发掘出来,但要应用到临床实际工作中还存在着许多问题,如:①研究中绝大多数的缺血预处理体内模型试验都是在啮齿动物身上进行的,是有创和侵入性的操作,这在临床治疗中是不太实际的;②动物模型与人类脑组织结构不同,白质和灰质的比例也不同,且动物本身存在一些不可控的因素;③研究中的动物模型并没有设定与实际患者相对应的年龄对照(年龄大人患心脑血管疾病的风险明显高于年轻人);④同一种缺血预处理措施的刺激强度、时间点、持续时间以及部位等并没有相对一致标准。

目前缺血预处理应用于临床仍有困难,但远端缺血预处理在临床上的成功应用也为缺血预处理的临床应用带来了希望。远端缺血预处理从细胞保护角度出发,周期性暂时性阻断和再恢复前肢远端血流循环能够诱发保护因子释放入血,传递到靶器官达到脑保护作用。临床上在冠状动脉旁路手术前应用血压袖带对患者的上臂或大腿行远端缺血预处理,观察到手术患者的心脏射血分数、嫁接通路畅通程度和心电图参数都有很大改善^[31]。Laiwalla 等^[32]对 21 例重症蛛网膜下腔出血患者的四肢远端进行了 4 次(每天不连续)每次 5 min 的远端预处理,发现远端缺血预处理可以很好地改善神经学评分(可信区间 1.21~25.02)。还有研究表明,运动预处理增强神经胶质细胞对谷氨酸的重摄取作用,减轻神经毒性,下调缺血半暗带 toll 样受体 4、核因子- κ B 的表达,降低外周血清肿瘤坏死因子- α 、IL-1 β 含量,抑制脑缺血或再灌注期间炎症级联反应,降低脑缺血或再灌注炎性损伤发挥脑缺血耐受功能^[33]。这些都为缺血性脑卒中的预防和治疗拓展思路;而进一步研究缺血耐受的神经保护机制并应用于临床,还需要做更多的工作。

参 考 文 献

- [1] Narayanan SV, Dave KR, Perezpinzon MA. Ischemic preconditioning and clinical scenarios[J]. Curr Opin Neurol, 2013, 26(1):1. DOI: 10.1097/WCO.0b013e32835bf200.
- [2] Vijayakumar TN, Sangwan A, Sharma B, et al. Cerebral ischemic preconditioning: the road so far[J]. Mol Neurobiol, 2016, 53(4):2579-2593. DOI:10.1007/s12035-015-9278-z.
- [3] Zhang R, Bertelsen LB, Fløe C, et al. Establishment and characterization of porcine focal cerebral ischemic model induced by endothelin-1[J]. Neurosci Lett, 2016, 635(1):1-7. DOI:10.1016/j.neulet.2016.10.036.
- [4] Przyklenk K, Whittaker P. Remote ischemic preconditioning current knowledge, unresolved questions, and future priorities[J]. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2011, 16(3-4):255-259. DOI: 10.1177/1074248411409040.
- [5] Arvola O, Haapanen H, Herajärvi J, et al. Remote ischemic preconditioning reduces cerebral oxidative stress following hypothermic circulatory arrest in a porcine model[J]. Semin Thorac Cardiovasc Surg, 2016, 28(1):92-102. DOI:10.1053/j.semtcvs.2016.01.005.
- [6] Hougaard KD, Hjort N, Zeidler D, et al. Remote ischemic preconditioning

- ning as an adjunct therapy to thrombolysis in patients with acute ischemic stroke; a randomized trial [J]. *Stroke*, 2014, 45 (1): 159-167. DOI:10.1161/strokeaha.113.001346.
- [7] Kitagawa K. Ischemic tolerance in the brain: endogenous adaptive machinery against ischemic stress [J]. *J Neurosci Res*, 2012, 90 (5): 1043-1054. DOI: 10.1002/jnr.23005.
- [8] Lamb JA, Rajput PS, Lyden PD. Novel method for inducing rapid, controllable therapeutic hypothermia in rats using a perivascular implanted closed-loop cooling circuit [J]. *J Neurosci Methods*, 2016, 267 (1): 55-61. DOI:10.1016/j.jneumeth.2016.04.011.
- [9] Ma ZF, Chen W, Cao CC, et al. Ischemic preconditioning attenuates brain injury induced by ischemia/reperfusion during moderate hypothermia low-flow procedures [J]. *Int J Neurosci*, 2014, 124 (11): 824-833. DOI:10.3109/00207454.2014.884088.
- [10] Yusa T, Beckman J S, Crapo J D, et al. Hyperoxia increases H₂O₂ production by brain in vivo [J]. *J Appl Physiol*, 1987, 63 (1): 353-358.
- [11] Soejima Y, Hu Q, Krafft PR, et al. Hyperbaric oxygen preconditioning attenuates hyperglycemia-enhanced hemorrhagic transformation by inhibiting matrix metalloproteinases in focal cerebral ischemia in rats [J]. *Exp Neurol*, 2013, 247: 737-743. DOI:10.1016/j.expneurol.2013.03.019.
- [12] Poinssat K, Selvaraj UM, Ortega SB, et al. Quantification of neurovascular protection following repetitive hypoxic preconditioning and transient middle cerebral artery occlusion in mice [J]. *J Vis Exp*, 2015, (99): e52675-e52675. DOI:10.3791/52675.
- [13] Lin HW, Thompson JW, Morris KC, et al. Signal transducers and activators of transcription; STATs-mediated mitochondrial neuroprotection [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 14 (10): 1853-1861. DOI:10.1089/ars.2010.3467.
- [14] Krzyzanowska W, Pomierny B, Budziszewska B, et al. N-Acetylcysteine and ceftriaxone as preconditioning strategies in focal brain ischemia: influence on glutamate transporters expression [J]. *Neurotox Res*, 2016, 29 (4): 539-550. DOI:10.1007/s12640-016-9602-z.
- [15] Lee JY, Oh SB, Hwang JJ, et al. Indomethacin preconditioning induces ischemic tolerance by modifying zinc availability in the brain [J]. *Neurobiol Dis*, 2015, 81 (1): 186-195. DOI: 10.1016/j.nbd.2014.12.019.
- [16] Li L, Deng J, Zuo Z. Glutamate transporter type 3 mediates isoflurane preconditioning-induced acute phase of neuroprotection in mice [J]. *Brain Res Bull*, 2013, 98 (1): 23-29. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2013.06.005.
- [17] Guan J, Li H, Lv T, et al. Bone morphogenic protein-7 contributes to cerebral ischemic preconditioning induced-ischemic tolerance by activating p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathway [J]. *Inflammation*, 2014, 37 (4): 1289-1296. DOI: 10.1007/s10753-014-9856-7.
- [18] Lu W, Li G, Xie H, et al. Erythromycin pretreatment induces tolerance against focal cerebral ischemia through up-regulation of nNOS but not down-regulation of HIF-1 α in rats [J]. *J Neuro Sci*, 2014, 35 (5): 687-693. DOI:10.1007/s10072-013-1584-5.
- [19] Miao M, Zhang X, Wang L. Persimmon leaf flavonoid induces brain ischemic tolerance in mice [J]. *Neural Regen Res*, 2013, 8 (15): 1376. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5374.2013.15.004.
- [20] Wu X, Zhou C, Du F, et al. Ginkgolide B preconditioning on astrocytes promotes neuronal survival in ischemic injury via up-regulating erythropoietin secretion [J]. *Neurochem Int*, 2013, 62 (2): 157-164. DOI: 10.1016/j.neuint.2012.11.007.
- [21] Granziera C, Thevenet J, Price M, et al. Thrombin preconditioning improves functional outcome after focal cerebral ischemia [J]. *Stroke*, 2006, 37 (2): 683-684.
- [22] Moldovan M, Constantinescu AO, Balseanu A, et al. Sleep deprivation attenuates experimental stroke severity in rats [J]. *Exp Neurol*, 2010, 222 (1): 135-143. DOI: 10.1016/j.expneurol.2009.12.023.
- [23] Weil ZM, Norman GJ, Karelina K, et al. Sleep deprivation attenuates inflammatory responses and ischemic cell death [J]. *Exp Neurol*, 2009, 218 (1): 129-136. DOI:10.1016/j.expneurol.2009.04.018.
- [24] Leão AA. The slow voltage variation of cortical spreading depression of activity [J]. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1951, 3 (3): 315-321.
- [25] Shen P P, Hou S, Ma D, et al. Cortical spreading depression-induced preconditioning in the brain [J]. *Neural Regeneration Research*, 2016, 11 (11): 1857-1864. DOI:10.4103/1673-5374.194759.
- [26] Matsushima K, Hogan MJ, Hakim AM. Cortical spreading depression protects against subsequent focal cerebral ischemia in rats [J]. *Brain Res*, 1996, 16 (2): 221-226. DOI: 10.1097/00004647-199603000-00006.
- [27] Schmidt RF, Willis WD. Cortical spreading depression // *Encyclopedia of pain* [M]. Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2007: 477.
- [28] 吴周全. mTOR 通路介导的细胞自噬在电针预处理抗脑缺血再灌注损伤中的机制研究 [D]. 南京中医药大学, 2014.
- [29] Xiong L, Lu Z, Hou L, et al. Pretreatment with repeated electroacupuncture attenuates transient focal cerebral ischemic injury in rats [J]. *Chin Med J*, 2003, 116 (1): 108-111.
- [30] 马冠峰. 脑缺血预处理诱导内源性神经保护机制的研究进展 [J]. *求医问药*, 2012, 10 (2): 274-275. DOI: 672-2523 (2012) 02-0274-02.
- [31] Hoole SP, Heck PM, Sharples L, et al. Cardiac remote ischemic preconditioning in coronary stenting (CRISP stent) study: a prospective, randomized control trial [J]. *Circulation*, 2009, 119 (6): 820-827. DOI:10.1161/circulationaha.108.809723.
- [32] Laiwalla AN, Ooi YC, Liou R, et al. Matched cohort analysis of the effects of limb remote ischemic conditioning in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage [J]. *Transl Stroke Res*, 2016, 7 (1): 42-48. DOI:10.1161/strokeaha115.009618.
- [33] 叶涛. 运动预处理调控 TLR4/ NF- κ B 信号通路降低脑缺血/再灌注炎症损伤的研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2015: 1-76.

(修回日期:2017-02-25)

(本文编辑:汪玲)