

·综述·

远隔缺血预适应和后适应对缺血性卒中的脑保护作用及机制

甄晓悦¹ 陆 晓^{1,2}

1 缺血性脑卒中的远隔缺血预适应与后适应

近年来,缺血性脑卒中发病率、致残率及病死率均较高,且易再发,严重威胁人类的健康。目前治疗缺血性卒中最有效的方法是溶栓治疗,但溶栓适应证、溶栓时机和溶栓风险均限制其使用,且溶栓后可能会发生再灌注损伤,加重神经损害。因此探究一种有效可行的治疗方法非常必要。虽然各种治疗方法不断进展,但根本的治疗措施是挽救缺血半暗带,使闭塞的血管再通,尽量恢复缺血脑组织的正常血供,防止缺血脑组织发生不可逆损伤。目前,医学家们致力于研究一种内源性的神经保护,即脑缺血耐受,远隔缺血适应由于不直接作用于靶组织,以避免对重要器官造成损伤,且动物实验显示出显著的神经保护作用而受到众多学者的关注。

依据预刺激和梗死发生的时间关系,远隔缺血适应可以细分为远隔缺血预适应(缺血预刺激施加在致死性缺血或血管闭塞之前)、远隔缺血再灌前适应(缺血刺激施加在缺血后再灌注之前)、远隔缺血后适应(缺血刺激施加在缺血再灌注之后)^[1]。由于再灌前适应与后适应所施加的缺血刺激均是发生在致死性缺血之后,故目前的文献中,再灌前适应和后适应没有严格的界限,有学者直接把再灌前适应归于后适应。

1.1 远隔缺血预适应

1986年Murry等^[2]提出预先给器官一个短暂的非致死性的轻度缺血处理后,对其后致死性的缺血产生耐受,称之为缺血预适应(ischemic preconditioning, IPC),这是IPC的首次提出。但是由于在缺血器官施加缺血刺激存在一定的风险,限制了其在临床上的应用。随后Gho等^[3]发现15min的肠系膜亚致死量缺血可以在接下来的心肌缺血中起到保护作用,距离病灶较远距离的缺血处理现象被扩大到另一个远隔器官,即远隔缺血预适应(remote ischemic preconditioning, RIPC)。2006年Dave等^[4]发现在窒息性心脏骤停前48h用袖带加压法对大鼠的下肢施加缺血预适应,7d之后组织学显示,与对照组相比RIPC组脑组织受损伤的细胞数量明显减少,这是远隔缺血预适应的脑保护作用的首次报道,此后远隔缺血预适应对脑组织的保护作用被广泛研究。

1.2 远隔缺血后适应

2003年Zhao ZQ等^[5]发现在再灌注早期给予缺血的心肌短暂的缺血/再灌注处理能减少心肌梗死体积,并提出了缺血后适应(ischemia postconditioning, IpostC)的概念。缺血后适应虽然可以在疾病发生之后实施,但是由于很多缺血组织自身对缺血非常敏感,不容易控制缺血刺激施加的强度,因此其临床应用受到了很大的限制。之后,Zhao H等^[6]将缺血后适应施加到远隔器官即远隔缺血后适应(remote ischemic postconditioning, RIPostC),结果显示可以使大脑中动脉闭塞动物的脑梗死体积减少,同时30d的行为学测试亦证实,远隔缺血后处理不仅能够减少缺血早期脑梗死体积,对神经功能还具有长期的保护作用。

1.3 远隔缺血预适应和后适应的脑保护作用

目前已经有很多动物实验证实远隔缺血预适应和后适应可以减少梗死体积。2008年的一项研究证实在大鼠局部脑缺血发生前立即对下肢施加RIPC,48h后测量梗死体积比对照组减少80%^[7],当下肢缺血刺激施加在脑缺血前12h或48h也可以减少梗死体积,但减少程度不如脑缺血前立即施加RIPC明显,此外在脑缺血前立即施加RIPC还可以明显改善大鼠瘫痪侧肢体的功能预后^[8]。Re等^[9]使用左侧大脑中动脉(middle cerebral artery, MCA)永久闭塞合并双侧颈动脉缝合闭塞30min后撤掉缝合使血管再通造成的大鼠脑缺血模型,于撤掉缝合后0.5h、3h对左侧下肢施加3个周期的15min闭塞后伴随15min再灌注(3c-15min)的后处理,结果显示,RIPostC组与对照组相比能明显减少梗死体积,且2个月后,实验组大鼠的标准行为测试优于对照组,证实了缺血后适应对大脑功能也具有明显的保护作用。之后,Cecil D^[10]使用大鼠MCA临时缝合闭塞模型(将大鼠的MCA缝合闭塞120min后撤掉缝合使血管再通)将预适应和后适应进行了对比,处理方法为袖带加压法于下肢施加4c-5min;预适应组于MCA闭塞前40min开始施加,后适应组为撤掉缝合前40min开始施加。实验结果显示,与对照组相比,两种处理均可以减少梗死体积,且后适应比预适应能更有效的减少梗死体积。以上研究都证实远隔缺血适应可以有效地诱导脑

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2014.12.028

1 南京医科大学第一附属医院康复医学科,210029; 2 通讯作者
作者简介:甄晓悦,女,硕士研究生; 收稿日期:2013-12-07

1200 www.rehabi.com.cn

缺血耐受,明显减少梗死体积。

在大量的动物实验基础上,临床实验也相继开展。2012年一项前瞻性随机对照试验中,对68例颈内动脉狭窄患者随机分组,实验组接受双侧上肢缺血预处理300天,与对照组相比显示出了新发脑梗的显著减少,提示RIPC的长期应用在脑卒中高危人群中可能有重要作用^[11]。

2 远隔缺血预适应和后适应发挥脑保护作用的机制

近年来,越来越多的实验证实,RIPC及RIPostC可以产生一种强大的内源性保护作用,但具体机制尚待进一步研究。大多数的学者认为,RIPC及RIPostC的保护作用是多种机制、多种通路共同作用的结果。近年来还发现了RIPC及RIPostC产生脑保护作用的另一机制,即降低血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)的通透性及改善梗死周边区域局部脑血流量(cerebral blood flow, CBF)。

2.1 激活细胞内信号传导通路

与缺血适应保护作用有关的信号传导通路,在很大程度上是不确定的、多因素的。研究已证实远隔缺血适应对大脑组织的保护作用同对心脏的保护作用一致,存在早期相和延迟相^[12]。一般认为,早期保护主要是通过刺激已存在的内源性活性物质的释放而产生保护作用,如腺苷、缓激肽、阿片类;而延迟保护则涉及新的保护性蛋白质的合成,如一氧化氮合酶、热休克蛋白、环氧合酶-2,因诱导基因产生蛋白质需一段时间,故延迟保护一般发生于24h之后。

缺血时,组织以无氧代谢为主,ATP产生减少。不能产生足够的能量维持细胞膜中各种离子泵的活动、抗氧化作用、PH及钙的稳定、线粒体的完整性。除非迅速恢复血流量,不然缺血导致的这些损伤会不可避免的引起细胞死亡。然而,血流的再灌注可以迅速的挽救缺血组织发生不可逆损伤,但是突然涌入的氧气导致反应性氧活性物质的形成也会大大损伤缺血组织。

近年来的研究表明,细胞死亡的关键是线粒体通透性的改变,线粒体ATP敏感性钾通道(mitochondrial ATP-sensitive potassium channel, KATP)的开放影响通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, MPTP)开放,常见的现象是MPTP变小,仅容1500 kDa或更小的分子通过,这会导致小分子的快速涌入,通过氧化磷酸化的解偶联促进线粒体肿胀从而诱导细胞死亡^[13]。而缺血适应可以阻断相应的通路从而起到细胞保护作用。在脑缺血模型中,远隔缺血预适应可激活蛋白酶C导致线粒体KATP开放^[14]并上调Akt通路^[15],此外,阻断线粒体KATP通道可以相应的阻断的远隔缺血预适应^[16]和后适应^[17]对局灶性脑缺血的保护作用。以上表明,远隔缺血适应对靶器官的保护涉及并最终通路可能为线粒体KATP开放从而防止MPTP开放。

2.2 降低血脑屏障的通透性

正常情况下,血脑屏障将中枢神经系统和血液系统隔离开来,防止血浆中中毒性物质进入脑内,维持中枢神经系统的正常功能。但在脑梗患者中,脑缺血再灌注可引起BBB破坏,导致血管源性脑水肿,扩大脑梗死面积,加重缺血性脑组织损伤。

有实验证实,局部缺血预适应的早期相(脑梗死前45min在局部施加5min的缺血刺激)和远隔缺血预适应的延迟相(脑梗死前48h在下肢股动脉施加30min的缺血刺激)可以明显减轻脑组织水肿现象^[18]。之后,Wei等^[19]在脑梗死前90min施加RIPC(3c-15min),在脑梗死形成2d后也表现出相应的BBB通透性减小,水肿减轻,以上实验提示远隔缺血预适应脑保护的机制可能与BBB通透性有关。MCA闭塞后立即对双侧下肢施加RIPostC(3c-10min),MCA再灌注24h后脑梗体积与对照组相比显著减少,Evans blue染色显示BBB通透性的显著降低,脑水肿明显减轻,证实远隔缺血后适应也可以通过降低BBB的通透性来减轻水肿最后达到减小梗死体积的作用^[19]。

2.3 提高梗死周边区域CBF

缺血半暗带是指梗死后围绕在梗死中心周围的缺血性脑组织,这部分脑组织脑电波活动中止,但保持正常的离子平衡和结构的完整,若在急性期增加局部脑血流量,半暗带内缺血性脑组织可望获得恢复,这是由于大脑几乎没有储存代谢所需的前体物质能力,因此,神经元功能严格依赖CBF来满足代谢需要。当局部CBF降至15ml/(100g.min)时电活动消失,但细胞膜离子泵功能无明显变化,此时若及时增加局部CBF,神经元可恢复正常功能。

2006年,LZ^[20]在大脑中动脉和同侧颈总动脉闭塞前24h对大脑局部施加10min短暂性缺血刺激,观察在大脑中动脉和同侧颈总动脉闭塞后15min、3h、6h、24h的CBF变化,发现在15min时CBF尚未显示出明显增加,从3h开始CBF已显示出了显著增加,并持续至24h,且24h梗死体积也显示出了相应的减少。TD Vlasov^[18]对RIPC进行研究,结果表明梗死出现前48h在下肢股动脉施加30min的预刺激也可以明显增加CBF。之后,Hoda^[21]在大鼠血栓栓塞模型中对远隔缺血后适应与组织性纤溶酶原激活剂(tissue plasminogen activator, tPA)的作用进行了对比,结果显示单纯的RIPostC与单纯tPA组CBF均显示了显著增加。该实验也对RIPostC与tPA的合并效应进行了研究,表明RIPostC与tPA合用可以产生叠加效应,进一步的升高CBF。此外,Sobrinho等^[22]的研究发现缺血性脑卒中后循环内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)增加与良好的功能预后及梗死灶减小有关,且静脉内注入外源性EPCs可以减少脑梗死体积,增加缺血后48h的CBF^[23]。离体试验中,血管内皮生长因子(vascular en-

dothelial growth factor ,VEGF)浓度与EPCs的增殖率呈正相关^[24];且鼠脑室内注入VEGF可以促进脑组织缺血半暗区的血管再生过程,从而减少梗死面积,改善神经功能^[25]。由此说明,一部分的远隔缺血适应的保护作用可能与改善脑血流和微血管灌注有关并由EPCs和VEGF介导。

但是RIPC与RIPostC对脑卒中患者CBF的影响尚存在争议,其主要原因有可能为疾病过程中脑血管的自发再通和使用tPA诱导的血管再通导致CBF的逐渐恢复,与动物实验撤掉缝合时CBF的突然恢复不同^[26]。

3 小结

RIPC与RIPostC是近年来研究较多的一种安全性及耐受性良好、低成本的治疗方式,且动物实验显示了很好的脑保护作用,并对其机制进行了研究。但目前鲜有临床试验进行证实,使得RIPC与RIPostC仅限于动物实验水平,今后将加强临床研究,为其最终应用于临床提供依据。

参考文献

[1] Hess DC, Hoda MN, Bhatia K. Remote limb preconditioning and postconditioning: will it translate into a promising treatment for acute stroke?[J]. Stroke, 2013, 44(4): 1191—1197.

[2] Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium[J]. Circulation, 1986, 74(5): 1124—1136.

[3] Gho BC, Schoemaker RG, van den Doel MA, et al. Myocardial protection by brief ischemia in noncardiac tissue[J]. Circulation, 1996, 94(9): 2193—2200.

[4] Dave KR, Saul I, Prado R, et al. Remote organ ischemic preconditioning protect brain from ischemic damage following asphyxial cardiac arrest[J]. Neuroscience Letters, 2006, 404(1-2): 170—175.

[5] Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning[J]. American Journal of Physiology, 2003, 285(2): H579—588.

[6] Zhao H, Sapolsky RM, Steinberg GK. Interrupting reperfusion as a stroke therapy: ischemic postconditioning reduces infarct size after focal ischemia in rats[J]. Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism, 2006, 26(9): 1114—1121.

[7] Ren C, Gao X, Steinberg GK, et al. Limb remote-preconditioning protects against focal ischemia in rats and contradicts the dogma of therapeutic time windows for preconditioning[J]. Neuroscience, 2008, 151(4): 1099—1103.

[8] Wei D, Ren C, Chen X, et al. The chronic protective effects of limb remote preconditioning and the underlying mechanisms involved in inflammatory factors in rat stroke[J]. PLoS One, 2012, 7(2): e30892.

[9] Ren C, Yan Z, Wei D, et al. Limb remote ischemic postconditioning protects against focal ischemia in rats[J]. Brain Research, 2009, 1228: 88—94.

[10] Hahn CD, Manlihot C, Schmidt MR, et al. Remote ischemic preconditioning: a novel therapy for acute stroke?[J]. Stroke, 2011, 42(10): 2960—2962.

[11] Meng R, Asmaro K, Meng L, et al. Upper limb ischemic

preconditioning prevents recurrent stroke in intracranial arterial stenosis[J]. Neurology, 2012, 79(18): 1853—1861.

[12] Zhao H. The Protective Effects of Ischemic Postconditioning against Stroke: From Rapid to Delayed and Remote Postconditioning[J]. Open Drug Discov J, 2011, 5: 138—147.

[13] Moskowitz MA, Lo EH, Iadecola C. The science of stroke: mechanisms in search of treatments[J]. Neuron, 2010, 68(1): 161.

[14] Hausenloy DJ, Yellon DM. Preconditioning and postconditioning: Underlying mechanisms and clinical application[J]. Atherosclerosis, 2009, 204(2): 334—341.

[15] Zhou Y, Fathali N, Lekic T, et al. Remote limb ischemic postconditioning protects against neonatal hypoxic-Ischemic brain injury in rat pups by the opioid receptor/Akt pathway [J]. Stroke, 2011, 42(2): 439—444.

[16] Sun J, Tong L, Luan Q, et al. Protective effect of delayed remote limb ischemic postconditioning: role of mitochondrial KATP channels in a rat model of focal cerebral ischemic reperfusion injury[J]. Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism, 2012, 32(5): 851—859.

[17] Lee JI, Wook Nha K, Suh JS, et al. Remote postconditioning attenuates ischemia/reperfusion injury in rat skeletal muscle through mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channel-dependent mechanism[J]. J Reconstr Microsurg, 2013, 29(9): 571—578.

[18] Vlasov TD, Korzhevskii DE, Polyakova EA. Ischemic preconditioning of the rat brain as a method of endothelial protection from ischemic/reperfusion injury[J]. Neuroscience and Behavioral Physiology, 2005, 35(6): 567—572.

[19] Ren C, Gao M, Dornbos D 3rd, et al. Remote ischemic post-conditioning reduced brain damage in experimental ischemia/reperfusion injury[J]. Neurological Research, 2011, 33(5): 514—519.

[20] Zhao L, Nowak TS Jr. CBF changes associated with focal ischemic preconditioning in the spontaneously hypertensive rat[J]. Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism, 2006, 26(9): 1128—1140.

[21] Hoda MN, Siddiqui S, Herberg S, et al. Remote ischemic preconditioning is effective alone and in combination with intravenous tissue-type plasminogen activator in murine model of embolic stroke[J]. Stroke, 2012, 43(10): 2794—2799.

[22] Sobrino T, Hurtado O, Moro MA, et al. The increase of circulating endothelial progenitor cells after acute ischemic stroke is associated with good outcome[J]. Stroke, 2007, 38(10): 2759—2764.

[23] Onda T, Honmou O, Harada K, et al. Therapeutic benefits by human mesenchymal stem cells (hMSCs) and Ang-1 gene-modified hMSCs after cerebral ischemia[J]. Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism, 2008, 28(2): 329—340.

[24] Kaushal S, Amiel GE, Guleserian KJ, et al. Functional small-diameter neovessels created using endothelial progenitor cells expanded ex vivo[J]. Nature medicine, 2001, 7(9): 1035—1040.

[25] Wang YQ, Cui HR, Yang SZ, et al. VEGF enhance cortical newborn neurons and their neurite development in adult rat brain after cerebral ischemia[J]. Neurochemistry international, 2009, 55(7): 629—636.

[26] Hossmann KA. The two pathophysiologies of focal brain ischemia: implications for translational stroke research[J]. Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism, 2012, 32(7): 1310—1316.