

# 心脑缺血再灌注损伤的机制及防治策略研究进展

夏 强, 钱令波

(浙江大学医学院生理学系, 浙江 杭州 310058)

**[摘 要]** 缺氧缺血性心脑血管病已成为我国发病率、致残率和死亡率最高的疾病。恢复血流再灌注在挽救心脑缺血患者生命的同时,带来了新的损伤,降低了再通手术成功率,此为缺血再灌注损伤。心脑缺血再灌注损伤机制涉及氧化应激、细胞内钙超载、线粒体功能紊乱、细胞炎症、自噬、凋亡等诸多细胞与分子生物学事件,相互之间交叉成一个复杂的网络。与缺血再灌注损伤的复杂机制相对应,防治心脑缺血再灌注损伤的策略从单一的针对某一机制的药物治疗,发展到了缺血预处理、远距预处理、缺血后处理、联合用药干预及常压高氧联合溶栓治疗等,针对多个损伤机制的综合防治手段。

**[关键词]** 心肌缺血; 脑缺血; 缺血再灌注损伤; 氧化应激; 钙超载; 线粒体; 炎症反应; 缺血预处理; 后处理

**[中图分类号]** R 541; R 743 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1008-9292(2010)06-0551-08

来自中国 CDC(疾病预防控制中心)慢性病中心综合防治室的数据显示,每年我国有300万人死于缺氧缺血性心脑血管疾病,占全部死亡人数的40%左右,相当于每12秒钟就有一人死于心肌梗死或中风,缺氧缺血性心脑血管病已成为我国发病率、致残率和死亡率最高的疾病。及时恢复心脑组织血液供应是挽救心脑缺血患者生命的最佳办法,但是恢复血流灌注后又给心脑组织带来了新的损伤,即缺血再灌注损伤,如何减轻再灌注损伤已成为医学界的研究热点之一。缺血再灌注损伤机制复杂,目前认为,涉及多种生物活性分子及细胞内信号转导通路,如再灌注诱发的活性氧(reactive oxygen species, ROS)大爆发、一氧化氮(nitric oxide, NO)生物利用率减少、细胞内钙超载、线粒体渗透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, mPTP)开放,以及细胞炎症、自噬、细胞凋亡等,均参与了心肌/脑缺血再灌注损伤,最终加重心脑损伤、危及患者生命。随着对缺血再灌注损伤机制研究的深入,对心脑缺血再灌注损伤的防治策略研究也有了长足的发展,从1986年Murry等<sup>[1]</sup>提出缺血预

处理能缩小心肌缺血再灌注导致的梗死面积开始,经过20多年的研究,进一步发展了药物预处理、远距缺血预处理、药物/缺血后处理等多种减轻心脑缺血再灌注损伤的防治手段。

## 1 心肌缺血再灌注损伤

1960年, Jennings等人<sup>[2]</sup>首次在犬科动物上发现缺血后再灌注加重了心肌坏死;1985年, Braunwald和Kloner明确提出了“心肌缺血再灌注损伤”的概念<sup>[3]</sup>。再灌注在改善心肌供血的同时,又加重了单纯心肌缺血所造成的损伤,出现心律失常、梗死面积扩大、持久性心室收缩功能低下等状况,此为心肌缺血再灌注损伤。

### 1.1 介导心肌缺血再灌注损伤的相关机制

如表1所示,心肌缺血再灌注损伤机制复杂。早期研究发现,心肌缺血期间细胞内 $\text{Na}^+$ 、 $\text{H}^+$ 、

收稿日期:2010-10-26 修回日期:2010-10-29

基金项目:教育部博士点基金(200803350098)。

作者简介:夏 强(1961-),男,博士,教授,博士生导师,主要从事心脑血管生理和病理生理研究;E-mail: xiaqiang@zju.edu.cn

$\text{Ca}^{2+}$  积聚,造成组织酸中毒;而再灌注迅速改变了细胞内离子流量,在快速纠正细胞 pH 的同时反而增加了细胞毒性<sup>[4]</sup>。缺血缺氧期,由于心肌细胞的无氧代谢增强使  $\text{H}^+$  生成增加,再灌注期间细胞通过  $\text{Na}^+-\text{H}^+$  交换体和  $\text{Na}^+-\text{HCO}_3^-$  转运体排出多余的  $\text{H}^+$ ,而细胞外的  $\text{Na}^+$  内流,细胞内  $\text{Na}^+$  浓度增高,后者继发性激活  $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$  交换体,促进  $\text{Ca}^{2+}$  内流;此外肌浆/内质网  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶功能障碍进一步加重了细胞内钙超载。钙超载可以激活蛋白酶和钙依赖性磷脂酶,破坏生物膜的结构完整性,最终表现为心肌强直收缩、细胞内 ATP 耗竭、线粒体超微结构破坏及心肌顿抑。由此可见,再灌注迅速纠正 pH 的代价是细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  内流增加,导致细胞内钙超载,激发  $\text{Ca}^{2+}$  介导的心肌细胞毒性作用。

心肌细胞富含线粒体,以满足其收缩时对能量的需求,作为“能量工厂”的线粒体本身含有多种活性介质和促凋亡分子,与心肌缺血再灌注损伤有着密切联系。其中 mPTP 是广大学者关注的焦点,mPTP 的确切组成成分尚不完全清楚。目前认为,缺血再灌注引发的心肌细胞内钙超载、细胞内 pH 迅速恢复正常以及氧化应激均能促使 mPTP 开放<sup>[5]</sup>。mPTP 的开放促使离子及蛋白分子自由出入线粒体,导致线粒体跨膜电位崩解,线粒体 ROS 释放进入细胞质以及凋亡小体形成。调控 mPTP 的开放可能还涉及到  $\text{Ca}^{2+}$  激活  $\text{K}^+$  通道和线粒体 ATP 敏感性  $\text{K}^+$  通道,本实验室研究发现,缺血预处理、葛根素预处理分别能通过开放  $\text{Ca}^{2+}$  激活  $\text{K}^+$  通道和线粒体 ATP 敏感性  $\text{K}^+$  通道,抑制下游的 mPTP 开放,起到减少心肌缺血再灌注损伤的作用<sup>[6-7]</sup>。提示 mPTP 在心肌缺血再灌注损伤中起了承上启下的作用,可能是一个治疗枢纽点。

氧化应激是缺血再灌注损伤的作用已经得到了共识,缺血再灌注期间,ROS 通过心肌细胞线粒体、黄嘌呤氧化酶、中性粒细胞的呼吸爆发等途径大量生成,超出了细胞内源性 ROS 清除能力<sup>[8]</sup>。ROS 损伤心肌的机制如下:①过量 ROS 攻击脂质,破坏心肌细胞膜、细胞器膜的流动性及通透性;②攻击结构蛋白和酶,破坏心肌细胞结构和抑制酶的活性;③攻击核酸,使

DNA、RNA 交联甚至断裂,影响心肌细胞基因表达;④过量 ROS 促使 mPTP 开放,后者又增加线粒体 ROS 释放,由此形成 ROS 激活 ROS 释放的正反馈回路。以上这些 ROS 攻击均可导致再灌注性心律失常,心肌顿抑,细胞凋亡与坏死,微血管与大血管结构功能损伤等。此外,缺血再灌注期间不仅心肌细胞本身产生 ROS,血管内皮细胞 NO 也过量生成,与超氧阴离子( $\text{O}_2^{\cdot-}$ )反应转化为活性更强的过氧亚硝基阴离子( $\text{ONOO}^-$ ),增加了缺血再灌注心肌的氧化应激损伤。

内皮细胞极易受 ROS 攻击,在缺血再灌注诱导的氧化应激下,冠状动脉内皮细胞通过释放内皮素等缩血管活性物质促使冠脉收缩,冠脉血流发生障碍而加重心肌损伤;内皮细胞还能通过表达细胞因子、粘附分子、趋化因子等物质激活免疫系统,如 Toll 样受体激活、补体级联反应、T 细胞/巨噬细胞介导的免疫应答等,继发性加重了心肌缺血再灌注损伤<sup>[9]</sup>。不仅如此,再灌注早期中性粒细胞与血管内皮细胞接触而被激活,释放 ROS、蛋白酶等毒性因子破坏心肌细胞。临床上,心肌缺血再灌注损伤主要发生在心肌梗死患者,急性心梗患者的冠状动脉常伴有血栓堵塞,而这种血栓形成与炎症反应在用结扎动脉制备的心肌缺血再灌注动物模型上并不常见,白细胞与血小板碎片堵塞微血管可能是造成心梗患者缺血再灌注损伤的一个重要原因。此外,左心室肥大、糖尿病、动脉完全闭塞前的慢性缺血(反复缺血预处理)等合并症均影响患者对缺血再灌注损伤的敏感性,这也是动物模型的心肌缺血再灌注损伤机制不能与临床很好吻合的原因之一。尽管动物模型与临床存在不一致的现象,但是内皮细胞功能紊乱与冠脉堵塞是缺血再灌注损伤中一个不容忽视的问题,通过药物或其他干预手段改善内皮功能可能是防治心肌缺血再灌注损伤的一个新方向。

作为进化过程中一个保守的胞内异化系统,自噬在细胞发育、细胞免疫、组织重塑及对环境适应方面有十分重要作用,有趣的是,最近的研究显示心肌缺血再灌注中也存在自噬现象,尽管其确切作用不甚清楚,可能是清除受损细胞及细胞器,或者是加速细胞凋亡<sup>[10]</sup>。随着

表1 心肌缺血再灌注损伤的病理生理机制

Table 1 Pathophysiologic mechanisms of myocardial ischemia-reperfusion injury

- 离子堆积(细胞内钙超载,细胞内钠离子急剧增加,缺血期细胞 pH 下降/再灌注早期 pH 迅速得到纠正)
- 线粒体膜电位崩解(mPTP 开放)
- ROS 过量生成(黄嘌呤氧化酶,线粒体,中性粒细胞浸润,ROS 激活 ROS 释放)
- NO 代谢障碍(NO 舒血管活性丧失,ONOO<sup>-</sup> 增加)
- 凋亡与自噬
- 内皮功能障碍(分泌细胞因子,趋化因子,粘附分子;血管舒张活性减弱)
- 血小板聚集与微血栓形成
- 免疫应答(补体激活,Toll 样受体表达;中性粒细胞积聚;T 细胞/巨噬细胞介导的损伤)

研究的深入,自噬有可能成为防治心肌缺血再灌注损伤的新靶点。

**1.2 心肌缺血再灌注损伤的防治策略** 尽管有关心肌缺血再灌注损伤机制的研究在急性心梗动物模型获得了极大进展,但是在临床研究中却发现心梗患者心肌缺血再灌注损伤的影响因素远没有动物模型那么简单,单纯一种干预手段并不能有效减轻患者缺血再灌注损伤,初步临床试验获得成功的治疗方法,很多在随后的大样本临床试验中是失败的<sup>[11]</sup>。心肌缺血再灌注损伤防治手段所涉及的靶点包括氧化应激、炎症反应、Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> 交换体、NO 代谢、代谢添加剂等(表 2),尽管这些单一防治策略在临床试验中并没有获得满意的疗效,但是相关的研究却一直没有停止。

缺血再灌注期心肌细胞内钙超载,针对这一机制,采用 pyridoxal-5'-phosphate 可以抑制缺血再灌注心肌细胞内钙超载,但是在 III 期临床试验中未获得预期疗效;Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> 交换体抑制剂卡立泊来德(cariporide)能减少心外科病人术后的心梗发生,但是使用该药物后诱发了中风并改变了患者的精神状态,反而增加了死亡率。尽管这些离子通道干预药物没有取得理想的临床疗效,其他途径的心肌保护药物研究却取得了令人欣喜的成果。例如在缺血再灌注心肌中,促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)具有抗凋亡、正性心肌重构、招募内皮祖细胞等作用,被认为可能通过多种机制干预缺血再灌注损伤<sup>[12]</sup>,美国 NIH 于 2006 年开始启动 EPO 对抗心肌缺血再灌注损伤的临床试验。另外,美国 NIH 于 2008 年、2009 年分别进行了 IL-1 受

体拮抗剂阿那白滞素(anakinra)、胰高血糖素样多肽-1 类似物(exendin-4)的心肌缺血再灌注损伤防治临床试验。

随着保护新药的不断开发,给药方式也越来越趋向于靶向化,经皮冠状动脉介入治疗使得将心血管保护药靶向运输到冠脉内皮和心肌组织成为可能,比较成熟的靶向药物有腺苷和硝普钠这两种。腺苷不仅能舒张血管,还参与了缺血预处理和后处理,抑制了 mPTP 开放,极具心肌保护价值<sup>[13]</sup>。嘌呤类似物阿卡地辛(acadesine)能够增加组织腺苷水平,具有极强的心肌保护作用,小规模临床试验表明 acadesine 能有效减少中风、心梗及因心脏病导致的死亡率,从 2009 年 3 月开始,美国 NIH 正在资助进行一项大规模的临床试验,以明确 acadesine 对心肌缺血再灌注损伤的治疗作用。但是在 AMISTAD-II 临床试验中发现,系统注射腺苷并不能减少急性心梗病人的死亡率,而在一项冠脉内注射腺苷治疗急性心梗的小规模临床试验中发现,腺苷对患者心电图及血管造影改变有改善作用<sup>[14]</sup>。同样小规模冠脉注射硝普钠治疗无复流患者的临床试验也取得了很好的疗效,推测硝普钠与腺苷联合冠脉内注射可能疗效会更好<sup>[15]</sup>。

缺血预处理通过抑制 mPTP 开放发挥其心肌保护作用,这在本实验室也得到了确证<sup>[6]</sup>。临床上缺血预处理主要应用在心外科手术上,减少了术后患者心律失常的发生<sup>[16]</sup>。本实验室近期研究显示,远距缺血预处理对缺血再灌注心脏也有明显的保护作用,κ 阿片受体及其下游的 mPTP 可能参与了这种作用<sup>[17]</sup>。缺血后处理

是指在冠脉血流重建之前,给予几次冠脉内气囊扩张。动物实验证明这种后处理明显减小了心肌梗死面积,一些临床试验也得到了较好的疗效<sup>[18]</sup>。缺血后处理的心肌保护作用可能与减缓心肌 pH 改变速度,降低 ROS 和减少  $\text{Ca}^{2+}$  激发的 mPTP 开放有关;此外本实验室近期发现, $\kappa$  阿片受体及其下游的线粒体 ATP 敏感性  $\text{K}^+$  通道也参与了缺血后处理的心肌保护作用<sup>[19]</sup>。心肌 mPTP 被认为是诸多上游细胞内信号通路的共同效应器,显然是一个治疗靶点。近年来一项前瞻性临床试验发现,静脉注射 mPTP 非选择性抑制剂环孢菌素 A(cyclosporine A),在 ST 段抬高的心梗患者中获得了较好的疗效<sup>[20]</sup>,提示再灌注早期抑制 mPTP 开放可能也会在大规模的临床试验中获得成功。

在外科手术中,对停搏心脏常给予丙酮酸、谷氨酸、天门冬氨酸等代谢添加剂,以减少脂肪酸氧化供能,减轻再灌注期间的氧化应激

损伤,但这仅限于小规模临床试验,所取得的数据还不足以进行大规模推广。此外,针对免疫系统的干预手段,比如抗 C5a 抗体 pexelizumab,抗炎药 aprotinin 预处理均能减少心外科手术 after 心肌梗死和再灌注损伤,但是前者在大规模的临床试验中未见成效,而后者因为具有明显的副作用而被停用。

最近的研究发现,细胞膜修复可能是缺血预处理减轻心肌损伤的重要机制之一, mitsugumin 53(MG53)是一种只在肌肉和心肌表达的 TRIM72 家族蛋白,在正常生理条件下参与囊泡运输,2010 年肖瑞平研究组发现, MG53 与 caveolin-3 以及下游的 PI3K-Akt、MEK1/2-Erk1/2 细胞信号转导通路介导了缺血预处理的心肌保护作用<sup>[21]</sup>。这提示细胞膜修复可能在心肌缺血预处理保护作用中发挥了重要作用,再灌注期间激活 MG53 可能是治疗急性心梗患者的新靶点。

表 2 减轻心肌缺血再灌注损伤的治疗手段

Table 2 Some notable therapeutic interventions that have been used (with variable success) to reduce ischemia-reperfusion injury

|                                                                                                                      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ● 缺血预处理(远距预处理,主动脉重复横断钳闭术)                                                                                            |
| ● 增加局部腺苷浓度(系统注射,冠脉内单次剂量注射,acadesine)                                                                                 |
| ● 阻止细胞内钙超载(cariporide 或 eniporide 抑制 $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ 交换体, $\text{Ca}^{2+}$ 通道阻断剂, pyridoxal-5'-phosphate) |
| ● 抑制 mPTP 开放(cyclosporine A)                                                                                         |
| ● 减少 ROS 生成(别嘌呤醇抑制黄嘌呤氧化酶等)                                                                                           |
| ● NO 代谢(硝普钠)                                                                                                         |
| ● 心脏停搏液的代谢添加剂(丙酮酸,氨基酸)                                                                                               |
| ● 抗炎反应(抑制白细胞积聚,如抗 CD11/CD18,白细胞过滤;补体抑制,如 pexelizumab;类固醇)                                                            |
| ● 吸入性麻醉剂                                                                                                             |
| ● 舒张血管( $\text{K}^+$ 通道开放剂,如 nicorandil)                                                                             |
| ● 缺血后处理(重复球囊扩张术)                                                                                                     |

2 脑缺血再灌注损伤

脑血流量约占心脏搏出量的 1/6,占全身总耗氧量的 20%,长时间缺血缺氧将导致神经细胞功能紊乱及不可逆性坏死,直至死亡。及时恢复脑组织血液灌流是挽救患者生命的最有效办法,但是恢复血流后脑缺血损伤却进一步

加重,出现血脑屏障破坏、脑水肿、脑出血、神经血管损伤及神经元死亡等脑缺血再灌注损伤。如何减轻脑缺血再灌注损伤,提高脑缺血患者抢救及手术的成功率,改善患者生存质量成为各国科学家急需攻克的难题。脑缺血再灌注损伤机制十分复杂,主要包括 ROS、细胞内钙超载、NO 失调、兴奋性氨基酸毒性、炎症反应

及细胞凋亡等事件,彼此构成一个互相促进的复杂网络(图1)。

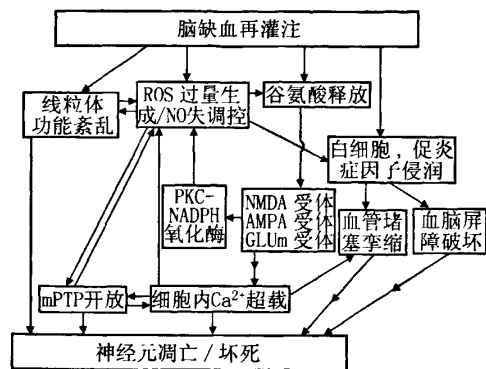


图1 脑缺血再灌注损伤相关机制

Fig.1 The relative mechanism of cerebral ischemia reperfusion injury

**2.1 介导脑缺血再灌注损伤的相关机制** 脑组织线粒体约2%~5%的电子流产生 $O_2\cdot^-$ 和过氧化氢( $H_2O_2$ ),在后续的酶促/非酶促反应中,进一步衍生出羟自由基( $\cdot OH$ )和 $ONOO^-$ 等活性更强的ROS,参与了神经系统膜脂质、结构蛋白、酶及核酸的过氧化反应,导致脑血管痉挛、脑缺血、脑膜炎等神经系统疾病。在脑缺血期间,脑细胞中的线粒体被大量破坏,不能有效利用有氧代谢产生ATP,血液再灌注所带入的氧一方面在黄嘌呤氧化酶及NADPH氧化酶作用下产生新的 $O_2\cdot^-$ ,另一方面通过线粒体脱耦联生成更多的ROS。此外,再灌注带入的 $Ca^{2+}$ 、 $Fe^{3+}$ 等也重新触发了自由基连锁反应,机体内源性清除ROS的酶被大量耗竭,ROS产生/清除严重失控,使得再灌注区域神经-血管单位氧化应激增强,最终导致细胞死亡<sup>[22]</sup>。与心肌缺血再灌注相类似,脑再灌注期间产生的ROS主要引起①脑细胞脂质、蛋白质和核酸的过氧化,细胞结构与功能发生不可逆改变,导致神经元凋亡、坏死;②ROS促使花生四烯酸单向转化为血栓烷 $A_2$ ,诱导再灌注区血管栓塞,梗死面积扩大,加重组织损伤;③ROS损伤内皮细胞,增加血脑屏障通透性;④ROS促使兴奋性氨基酸释放增加,导致神经毒性损伤;⑤

ROS刺激细胞因子和粘附分子表达,介导炎症和免疫反应,加重脑组织再灌注损伤;⑥ROS本身又能破坏线粒体氧化磷酸化反应,使得线粒体膜系统因脂质过氧化而崩解,促使线粒体细胞色素c释放,引发caspase级联反应,最终导致再灌注区脑细胞凋亡。提示再灌注诱发的ROS大爆发可能在脑缺血再灌注损伤中居于中枢地位。

脑缺血缺氧时ATP供应不足,细胞膜ATP敏感性 $K^+$ 通道和 $Ca^{2+}$ 激活 $K^+$ 通道开放受阻, $K^+$ 外流减少,使神经元在缺血初期就处于电静息的超极化状态;而 $Na^+-K^+-ATPase$ 失活又导致神经元胞外 $K^+$ 聚集。当细胞膜电位一旦达到去极化阈值,再灌注血液所带来 $Na^+$ 、 $Ca^{2+}$ 大量流入神经元胞内,使细胞迅速去极化,后者促使神经末梢释放具有兴奋毒性的谷氨酸,过度激活N-甲基-D-门冬氨酸(NMDA)受体和 $\alpha$ -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑-丙酸(AMPA)受体,使得与其偶联的钙通道开放及膜通透性增大而致细胞外 $Ca^{2+}$ 内流增加、内质网 $Ca^{2+}$ 释放,造成细胞内钙超载,继而诱导mPTP开放,加速了ROS的生成和凋亡因子的释放,最终导致神经元凋亡或坏死<sup>[23]</sup>。此外,细胞内钙超载,使血管收缩,进一步加重脑缺血再灌注损伤。已有大量研究表明,谷氨酸等兴奋性氨基酸大量释放是引发缺血再灌注神经元凋亡及坏死的主要原因,抑制谷氨酸释放(lubeluzole)或抑制NMDA受体(MK-801、氯胺酮、AP5、MDL-100等),在动物实验中均被证明有较好的神经保护作用。

炎症反应导致的微血管功能紊乱也是脑缺血再灌注继发性损伤的重要原因之一<sup>[24]</sup>。缺血区的小胶质细胞、巨噬细胞、白细胞、星形胶质细胞及神经元大量释放iNOS、COX-2、IL-1及MCP-1等促炎症因子,脑组织炎症反应失控,在堵塞血管的同时还增加了血管的通透性,引发水肿;多种炎性介质及白细胞通过与内皮细胞粘连,促使内皮细胞破裂坏死,使血脑屏障破坏,加重了缺血再灌注区的损伤。

**2.2 脑缺血再灌注损伤的防治策略** 脑缺血再灌注损伤牵涉如上多种病理生理机制,因此,针对某种单一的损伤机制来开发治疗药物显然

难以取得满意的疗效,而且可能会带来难以预料副作用。随着功能核磁共振成像技术(fMRI)的日益发展,人们对脑缺血再灌注的损伤/修复过程及治疗手段的选择有了更深刻的认识,在寻找神经保护性药物的同时,也提出了诸如亚低温疗法、常压高氧疗法和缺血预处理及缺血后处理等多种综合性干预脑缺血再灌注损伤的治疗策略。

防治脑缺血再灌注损伤的药理学策略主要有以下几方面:减少缺血时间,阻断谷氨酸受体偶联的  $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  内流(NMDA 受体拮抗剂、 $\text{Na}^+$  通道阻断剂、 $\text{Ca}^{2+}$  通道阻断剂、 $\gamma$ -氨基丁酸激动剂),清除 ROS(NXY-059),抑制凋亡,减少炎症反应(ICAM-1 抗体),促进脑组织生长与修复(CDP-胆碱)。尽管许多药物在局灶性/全脑缺血动物模型上取得了明显的神经保护作用,但是没有哪一种神经保护药能够在治疗中风的 III 期临床试验中获得成功。目前正在进行多项临床试验,包括一项白蛋白治疗急性中风(ALIAS)的临床试验,有关结果将在 2010 年底揭晓;在急性缺血性中风发生 24 h 之内给予洛伐他汀治疗 3 d,评价洛伐他汀最佳治疗剂量与安全性的 IB 期临床试验(NeuSTART);ESPRIT 和 ACTIVE W 正在资助的一项临床试验是研究阿司匹林与双嘧达莫(dipyridamole)双重抗血小板凝集疗法在预防中风的作用。

虽然神经保护药在临床试验中的疗效并不理想,但是在脑缺血再灌注动物模型中,却发现了多种新型的神经保护药,如噻二唑烷酮类化合物 NPO31112 被认为通过 PPAR- $\gamma$  受体抑制炎症和神经退行性病变,可能具有防治脑缺血再灌注损伤的作用<sup>[25]</sup>;抑制热休克蛋白可能有助于增强营养因子神经修复的作用;抑制大麻素 B1 受体在缺血再灌注小鼠模型上显示了明显的保护作用,提示通过内源性大麻素调控大麻素 B1/B2 受体的平衡可能是神经保护策略中一个重要的新靶点<sup>[26]</sup>;EPO 的抗炎、神经营养和血管新生等特性使其成为防治脑缺血再灌注损伤的最佳药物之一。此外,麻醉剂干预缺血再灌注损伤的作用也越来越引起人们的重视,静注麻醉剂右旋美托咪啶(dexmedetomidine)是新一代  $\alpha_2$ -肾上腺素能受体激动

剂,显示了极强的神经保护作用,减少了 ICU 机械通气患者精神错乱或昏迷的时间<sup>[27]</sup>;吸入式麻醉剂预处理也显著减轻了动物脑缺血再灌注损伤,其机制可能与线粒体 ATP-敏感性  $\text{K}^+$  通道开放有关,并且腺苷受体、PI3-Akt 激酶、丝/苏氨酸和酪氨酸激酶、iNOS、抑制 ROS 过量生成可能都有参与;异氟醚(isoflurane)后处理明显改善了缺血再灌注损伤大鼠脑细胞的存活和神经功能评分,线粒体 ATP-敏感性  $\text{K}^+$  通道似乎是介导此作用的关键因子<sup>[28]</sup>。

动物实验已经明确证实亚低温能显著减轻缺血再灌注脑损害程度,促进神经功能的恢复,但是在临床研究中,亚低温的脑缺血再灌注保护作用尚存在争议。亚低温提高了心肺复苏患者神经功能的恢复,但是对颅内肿瘤外科手术患者却没有明显作用,这可能是因为亚低温在保护患者神经系统的同时还诱导了一些系统并发症,从而降低了亚低温的疗效。由于亚低温的不确定性,临床上在急性脑缺血中风中又引入了常压高氧配合溶栓的治疗方案,常压高氧非但没有增加局灶性脑缺血再灌注的氧化应激损伤,反而减小了脑梗死面积<sup>[29]</sup>,这可能与常压高氧延长了溶栓及其他神经保护药的治疗时间窗有关。

缺血预处理能提高脑缺血耐受,这已经在动物实验中得到证实,并且缺血预处理引发的脑缺血耐受是受体依赖的。其启动因子包括腺苷、阿片类物质、缓激肽等,其保护作用发生在再灌注后的数分钟内,并持续约 1~4 h。1993 年 Kuzuya 等在研究中首次发现,缺血预处理的保护作用在再灌注后 24 h 又出现,并且持续 2 到 3 d,此种被称为晚期保护作用。关于缺血预处理的晚期保护作用机制并不是很清楚,可能牵涉到细胞内复杂的信号通路改变和新的保护性蛋白的合成增加。Moncayo 等对 2 492 例首次发生脑梗死的患者进行研究,发现短暂性脑缺血发作(TIA)病史与脑梗死的良好预后具有相关性,病前无 TIA 病史的患者发生脑梗死时病情更严重,神经功能缺损更明显。

相对于缺血预处理,缺血后处理在临床上更具有实现的可能性。脑缺血后处理的研究主要集中在动物实验,不同种属动物后处理的方

法及实施时间不尽相同,但都强调了在完全再灌注前反复进行短暂缺血/再灌注循环。在脑缺血再灌注动物模型中,缺血后处理减小了梗死面积,减少了神经元死亡,其机制主要涉及如下:减少ROS生成及钙超载,促进ATP-敏感性 $K^+$ 通道开放,激活PI3-Akt激酶,阿片受体通路及腺苷通路等。本实验室近期研究发现缺血后处理对全脑缺血再灌注损伤大鼠的神经保护作用可能与改善脑血流,抑制细胞色素c的转位有关<sup>[30]</sup>。缺血后处理在临床上已显示具有良好的心肌保护作用,但在脑缺血再灌注损伤的临床研究中,缺血后处理尚处于起步阶段,需要进一步明确后处理的实施时间、方法及作用机制,以期进行大规模的临床试验。

### 3 展望

尽管对心脑血管缺血再灌注损伤机制的研究在不断深入和发展,但是心脑血管缺血再灌注损伤各种机制的枢纽点/交汇点尚不明确,有待于更深入地研究。动物实验中所发现的心脑血管再灌注损伤防治药物并不能在临床试验中获得理想的疗效,这可能与缺血再灌注损伤机制过于复杂,单一的药物治疗并不足以对抗再灌注导致的心脑血管病理生理改变有关。联合生理(亚低温、高氧、缺血等),药理(腺苷、EPO、麻醉剂等)及溶栓等治疗手段,可能是临床防治心脑血管缺血再灌注损伤的发展趋势。但是,联合防治策略实施的时间点、组合方式均不明确,尚需要进行大量的动物实验。如何充分和有效地利用已知的缺血再灌注损伤机制来预防和治疗缺血性心脑血管疾病,尚有待进一步临床实践。

### References:

- [1] MURRY C E, JENNINGS R B, REIMER K A. Preconditioning with ischemia; a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium [J]. *Circulation*, 1986, 74(5): 1124-1136.
- [2] JENNINGS R B, SOMMERS H M, SMYTH G A, et al. Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of a coronary artery in the dog [J]. *Arch Pathol*, 1960, 70: 68-78.
- [3] BRAUNWALD E, KLONER R A. Myocardial reperfusion: a double-edged sword [J]? *J Clin Invest*, 1985, 76(5): 1713-1719.
- [4] LEMASTERS J J, BOND J M, CHACON E, et al. The pH paradox in ischemia reperfusion injury to cardiac myocytes [J]. *EXS*, 1996, 76: 99-114.
- [5] KIM J S, JIN Y, LEMASTERS J J. Reactive oxygen species, but not  $Ca^{2+}$  overloading, trigger pH- and mitochondrial permeability transition dependent death of adult rat myocytes after ischemia-reperfusion [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006, 290(5): H2024-H2034.
- [6] CAO C M, XIA Q, GAO Q, et al. Calcium-activated potassium channel triggers cardioprotection of ischemic preconditioning [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, 312(2): 644-650.
- [7] GAO Q, PAN H Y, QIU S, et al. Atractyloside and 5-hydroxydecanoate block the protective effect of puerarin in isolated rat heart [J]. *Life Sci*, 2006, 79(3): 217-224.
- [8] MISRA M K, SARWAT M, BHAKUNI P, et al. Oxidative stress and ischemic myocardial syndromes [J]. *Med Sci Monit*, 2009, 15(10): RA209-219.
- [9] BOROS P, BROMBERG J S. New cellular and molecular immune pathways in ischemia/reperfusion injury [J]. *Am J Transplant*, 2006, 6(4): 652-658.
- [10] MATSUI Y, TAKAGI H, QU X, et al. Distinct roles of autophagy in the heart during ischemia and reperfusion: roles of AMP-activated protein kinase and Beclin 1 in mediating autophagy [J]. *Circ Res*, 2007, 100(6): 914-922.
- [11] YELLON D M, HAUSENLOY D J. Myocardial reperfusion injury [J]. *N Engl J Med*, 2007, 357(11): 1121-1135.
- [12] BURGER D, XENOCOSTAS A, FENG Q P. Molecular basis of cardioprotection by erythropoietin [J]. *Curr Mol Pharmacol*, 2009, 2(1): 56-69.
- [13] KI J, MCINTOSH R, SHEN X, et al. Adenosine A2a and A2b receptors work in concert to induce a strong protection against reperfusion injury in rat hearts [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2009, 47(5): 684-690.
- [14] STOEL M G, MARQUES K M, DE COCK C C, et al. High dose adenosine for suboptimal myocardial reperfusion after primary PCI: a

- randomized placebo-controlled pilot study [J]. **Catheter Cardiovasc Interv**, 2008, 71(3): 283-289.
- [15] AMIT G, CAFRI C, YAROSLAVTSEV S, et al. Intracoronary nitroprusside for the prevention of the no-reflow phenomenon after primary percutaneous coronary intervention in acute myocardial infarction. A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial [J]. **Am Heart J**, 2006, 152(5): 814-887.
- [16] WALSH S R, TANG T Y, KULLAR P, et al. Ischaemic preconditioning during cardiac surgery: systematic review and meta-analysis of perioperative outcomes in randomised clinical trials [J]. **Eur J Cardiothorac Surg**, 2008, 34(5): 985-994.
- [17] ZHANG S Z, WANG N F, XU J, et al. Kappa-opioid receptors mediate cardioprotection by remote preconditioning [J]. **Anesthesiology**, 2006, 105(3): 550-556.
- [18] STAAT P, RIOUFOL G, PIOT C, et al. Postconditioning the human heart [J]. **Circulation**, 2005, 112(14): 2143-2148.
- [19] WANG Jue, GAO Qin, SHEN Jia, et al (王珏, 高琴, 沈佳, 等).  $\kappa$ -Opioid receptor mediates the cardioprotective effect of ischemic postconditioning [J]. **Journal of Zhejiang University: Medical Sciences** (浙江大学学报: 医学版), 2007, 36(1): 41-47. (in Chinese)
- [20] PIOT C, CROISILLE P, STAAT P, et al. Effect of cyclosporine on reperfusion injury in acute myocardial infarction [J]. **N Engl J Med**, 2008, 359(5): 473-481.
- [21] CAO C M, ZHANG Y, WEISLEDER N, et al. MG53 constitutes a primary determinant of cardiac ischemic preconditioning [J]. **Circulation**, 2010, 121(23): 2565-2574.
- [22] SUGAWARA T, CHAN P H. Reactive oxygen radicals and pathogenesis of neuronal death after cerebral ischemia [J]. **Antioxid Redox Signal**, 2003, 5(5): 597-607.
- [23] HALESTRAP A P. Calcium, mitochondria and reperfusion injury: a pore way to die [J]. **Biochem Soc Trans**, 2006, 4(Pt 2): 232-237.
- [24] JIN R, YANG G, LI G. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: role of inflammatory cells [J]. **J Leukoc Biol**, 2010, 87(5): 779-789.
- [25] LUNA-MEDINA R, CORTES-CANTELI M, SANCHEZ-GALLIANO S, et al. NPO31112, a thiadiazolidinone compound, prevents inflammation and neurodegeneration under excitotoxic conditions: potential therapeutic role in brain disorders [J]. **J Neurosci**, 2007, 27(21): 5766-5776.
- [26] ZHANG M, MARTIN B R, ADLER M W, et al. Modulation of the balance between cannabinoid CB1 and CB2 receptor activation during cerebral ischemic/reperfusion injury [J]. **Neuroscience**, 2008, 152(3): 753-760.
- [27] RIKER R R, SHEHABI Y, BOKESCH P M, et al. Dexmedetomidine vs midazolam for sedation of critically ill patients: a randomized trial [J]. **JAMA**, 2009, 301(5): 489-499.
- [28] LEE J J, LI L, JUNG H H, et al. Postconditioning with isoflurane reduced ischemia-induced brain injury in rats [J]. **Anesthesiology**, 2008, 108(6): 1055-1062.
- [29] SINGHAL A B, LO E H, DALKARA T, et al. Advances in stroke neuroprotection: hyperoxia and beyond [J]. **Neuroimag Clin N Am**, 2005, 15(3): 697-720.
- [30] WANG J Y, SHEN J, GAO Q, et al. Ischemic postconditioning protects against global cerebral ischemia/reperfusion-induced injury in rats [J]. **Stroke**, 2008, 39(3): 983-990.

[责任编辑 张荣连]