

脑缺血后适应的基础研究及其临床应用前景

李盼¹, 苏立凯², 李晓芳²

(1. 河北大学, 河北 保定 071000; 2. 河北大学附属医院神经内科, 河北 保定 071000)

摘要: 缺血后适应的提出源于缺血预适应, 脑缺血后适应是指在脑缺血后给予一次或多次反复短暂的动脉闭塞后再灌注以期达到减轻脑组织缺血再灌注损伤的目的。相对于预适应, 后适应具有临床治疗的可行性。近年来诸多研究发现其具有明显的脑保护作用, 主要对其发现、发展、脑保护作用机制及其临床应用前景进行综述。

关键词: 缺血后适应; 脑缺血; 脑保护; 缺血预适应

中图分类号: R54

文献标志码: A

文章编号: 1674-490X(2014)04-0075-06

The experimental research and clinical application prospect of ischemic postconditioning in brain ischemia

LI Pan¹, SU Likai², LI Xiaofang²

(1. Hebei University, Baoding 071000, China; 2. Department of Neurology of Affiliated Hospital of Hebei University, Baoding 071000, China)

Abstract: Ischemic postconditioning is a concept originally defined to contrast with that of ischemic preconditioning. While both preconditioning and postconditioning confer a neuroprotective effect on brain ischemia, preconditioning is a sublethal insult performed in advance of brain ischemia, and postconditioning, which conventionally refers to a series of brief occlusions and reperfusion of the blood vessels, is conducted after ischemia/reperfusion. In recent years, extensive studies show that postconditioning has apparently protective effects. We mainly review the discovery and development, the underlying mechanisms and clinical application of it.

Key words: ischemic postconditioning; cerebral ischemia; neuroprotection; ischemic preconditioning

脑血管疾病的发病率、病死率、致残率及复发率均高, 是人类三大死因之一。目前得到认可的缺血性脑血管病的治疗手段较少, 主要有建立卒中单元、重组组织型纤维溶酶原激活物静脉溶栓治疗、血管内介入治疗、抗凝、抗血小板治疗^[1]。为了寻求更加令人满意的治疗方法, 近年来缺血后适应成为了内源性脑神经保护的研究热点。

收稿日期: 2014-06-05

作者简介: 李盼(1987—), 女, 河北清苑人, 在读硕士。

通信作者: 苏立凯(1962—), 男, 河北顺平人, 教授, 硕士, 硕士生导师, 主要从事脑血管病的基础研究与内科治疗。

E-mail: sulikai2008@163.com

1 缺血后适应概念的提出及演变

脑缺血预适应 (IPC) 为大脑通过适应轻微的有害损伤从而在受到未知损害时产生自我保护作用的现象。1986 年, Murry 等^[2] 首次提出了 IPC 的概念。他们在犬实验模型给予持续 40 min 致死性心肌缺血前, 给予 5 min 缺血 / 5 min 再灌注的 4 个循环的缺血再灌注, 发现能明显减少随后长时间缺血引起的心肌梗死。Zhao 等^[3] 用犬心肌缺血模型, 将犬的左冠状动脉前降支闭塞 1 h 后, 给予连续 3 次 30 s 再灌注 / 30 s 闭塞, 发现恢复冠脉血流后心肌梗死面积较对照组减少 44%, 首次正式报导提出了缺血后适应 (IPostC) 的概念。之后, Zhao 等^[4] 首先将 IPostC 运用到脑保护作用的研究中, 发现其可将梗死体积减少 80%。

虽然 IPC 的保护作用已研究 20 多年, 是已明确的最有利的脑缺血内源性保护机制, 然而其不可预见性使得 IPC 的临床应用几乎不可能。相对预适应, 后适应具有临床治疗的可行性, 近十年来, 已有许多实验室在局灶性或全脑缺血动物模型中证实了 IPostC 具有脑保护作用并对其脑保护相关机制进行了多方面较详尽的研究^[5-8]。随着研究的发展, 因后适应实施时间的不同, 将其分为快速缺血后适应和延迟缺血后适应。

快速缺血后适应是指再灌注后立即或在数分钟内给予后处理, 是后适应研究的主要形式。有研究在永久性 dMCA 模型分别闭塞颈总动脉 25、30、60 min 发现快速缺血后适应具有不同程度的脑保护作用, 可以分别减小梗死面积 80%、51%、17%。并且在该闭塞时间为 30 min 的模型中给予不同循环次数、不同缺血 / 再灌时间的处理时, 结果显示当在再灌注后 10~30 s 给予后处理可以减小脑梗死面积, 而在 3 min 后开始则不能起到脑保护作用, 暗示快速缺血后适应的脑保护作用依赖于实施后处理的起始时间、循环次数及持续时间。此外, 在局灶性脑梗死模型^[9]、短暂性全脑缺血模型^[10-11]、体外模型的细胞培养实验研究^[12] 中也同样都发现脑缺血后适应的脑保护作用与其实施的起始时间、循环次数及持续时间密切相关。

快速缺血后适应的干预时间为再灌后数秒钟到数分钟很短的范围内, 大大阻碍了其临床转化的可能性。于是开始了许多关于在再灌注后比较晚的时间内给予后处理是否有脑保护作用的研究, 进而产生了延迟缺血后适应的概念, 指再灌注后数小时或数天内给予后处理。同快速缺血后适应一样, 其在不同的体内缺血模型^[13-17] 及体外缺血模型^[18] 中研究均发现其具有脑保护作用, 且其脑保护作用的程度与其起始时间、循环次数及持续时间密切相关。

经典的缺血后适应是在缺血器官上再次给予缺血处理, 在临床上对大脑这样重要的器官实施是很危险的。为了更好地应用到临床治疗中, 源于对经典 IPostC 的修改又涌现了一些更加具有可操作性的诱导缺血耐受的方法。远端肢体后处理 (RIPostC) 即对脑的远隔器官而非脑 (最为常见的是四肢) 进行一系列短暂的缺血以产生缺血耐受进而起到脑保护作用。RIPostC 的实施方法大幅地减轻了对患者的安全危险, 近年来被广泛研究^[19]。

药物后适应是指通过药物激发或模拟一个短暂的脑缺血或药物保护作用通过缺血后适应的常规机制呈现的后适应保护作用。研究发现异氟烷后适应能够明显降低梗死面积和减轻神经功能缺损^[20], 除了异氟烷, 研究发现七氟烷、他利克索诱导亚低温、异丙酚均具有后处理脑保护作用^[21-23]。近期诸多药物研究已经或正在研究中, 为后适应更好地应用到梗死后脑保护中提供了新的手段, 虽然提出了药物后处

理的概念，但其重叠于卒中后脑保护作用药物的研究。

2 脑缺血后适应脑保护作用的机制

2.1 保护血-脑脊液屏障

血-脑脊液屏障（BBB）是由脑微血管内皮细胞及其紧密连接蛋白、基膜和星形胶质细胞组成的一种具有高度限制性屏障结构，可使脑组织少受甚至不受循环血液中有物质的损害，以保持脑组织内环境的基本稳定及维持中枢神经系统正常生理状态。研究发现延迟缺血后适应可减轻脑水肿，保护 BBB 的完整性，增加脑细胞葡萄糖摄取和代谢水平^[24]；IPostC 的脑保护作用与细胞外基质蛋白表达增多所致的血-脑脊液损伤减轻密切相关^[5]；IPostC 可以有效地防止脑水肿，改善 BBB 渗透率^[25]。Han 等^[26] 研究发现 IPostC 可以有效地减少缺血再灌注后神经元、星形胶质、内皮细胞的损伤及增加紧密连接蛋白的表达和改善 BBB 的渗透性，即 IPostC 可通过保护神经血管单元保护 BBB。

2.2 减轻炎症反应

减轻炎症损伤是公认的治疗脑缺血再灌注损伤的重要方法之一。IPostC 可明显降低再灌注 24 h 后 MPO 活性、IL-1 β 、TNF- α 、ICAM-1 的表达^[27] 及可阻碍 TLR-4 受体的表达，减轻炎症损伤^[17]。随着研究的深入，发现其可能通过减轻固有免疫及获得性免疫细胞浸润及降低外周淋巴细胞减少起到抗炎达到脑保护作用^[28]；还可通过调控 TLR-2/TLR-4 途径等减轻炎症损伤^[9]。

2.3 抗氧化应激及自由基损伤

氧化应激通过介导线粒体途径、DNA 修复酶及转录因子等多种机制引起神经元死亡及神经功能缺损。Wang 等^[29] 发现缺血后适应可以抑制活性氧自由基（ROS）的影响。IPostC 可提高过氧化氢聚集、超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化氢酶（CAT）及蛋白酶体的活性等^[30]。PKC 调控 NO 信号途径可能在 IPostC 脑保护作用机制中起重要的作用^[31]。

2.4 抑制细胞凋亡

凋亡和坏死是脑缺血后细胞的主要死亡形式。IPostC 可通过下调 caspase-3, caspase-6, caspase-9 和 Bax，上调 Bcl-2，阻止细胞凋亡起到脑保护作用^[32]。随着 NF- κ B/p65 的抑制，凋亡相关蛋白 Caspase-3、Noxa、Bim 和 Bax 均显著的下调，说明 IPostC 抑制凋亡的脑保护作用与抑制 NF- κ B/p65 的活性密切相关^[10]。

2.5 抑制自噬

自噬是一种细胞内成分降解过程，其作用与细胞损伤程度有关，自噬具有双重作用，关于自噬脑缺血不同阶段所扮演的作用研究尚无定论。近几年的研究发现自噬在 IPostC 脑保护作用机制中起着至关重要的作用，IPostC 可抑制自噬级联反应中的启动点 LC3/Beclin1 的敏感性，同时减少自噬蛋白 p62 的生成^[8]；通过在 RIPostC 模型中研究发现可通过抑制 AKT/GSK3 β 依赖的自噬途径阻滞 Caspase-3 的激活，进而减轻细胞凋亡起到脑保护作用^[33]。

3 脑缺血后适应的临床前景

脑缺血后适应因其可操作性被广泛研究，其中 RIPostC 已被视为一种更为安全的、耐受良好的、有

可行性的、价格低廉的极具前景的脑缺血再灌注损伤后的治疗手段。

目前关于其处理时间已有大量的实验室研究,在短暂性脑缺血再灌注模型中,再灌注时或再灌注3 h后给予股动脉3个循环的15 min闭塞/15 min再灌,均可减少脑梗死面积^[34]。在再灌注后3 h甚至6 h后给予双侧股动脉3个循环的5 min/8 min的闭塞与再灌也可减小脑梗死面积^[35]。机械的动物模型实验虽然为临床提供了很大依据,但距应用到临床还有很大差距,因其突然的线栓拔出与自发的再通和tPA诱导的血栓再通所产生的渐进的脑血流恢复存在很大不同^[36]。

临床研究发现给予患有颅内动脉狭窄患者双侧上臂重复的预处理可以显著的降低新发脑卒中,提示通过肢体的缺血处理对卒中高患病风险的人具有保护作用^[37]。一项对送往医院前的急性脑梗死患者实施远端肢体缺血处理的随机临床试验已在丹麦展开。试验随机分为2组即用血压袖带对患者上肢进行4个循环的5 min扎紧/5 min松开与不做处理组。虽然这项研究的结果尚未报道,但是这项研究目前为止证实了对人进行肢体缺血处理是安全可操作可耐受的^[38]。

4 展望

缺血后适应具有临床可操作性,具有实际应用价值,尤其在急性脑卒中早期溶栓治疗和血管内介入治疗时,为延长溶栓时间窗和减轻再灌注损伤提供了可能。大量研究提示其神经保护作用机制非常复杂,涉及多个方面和多条途径,他们彼此之间相互作用、相互影响,构成了复杂的调控网络,希望能从各个方面进行干预是不现实的,因此在研究各种作用机制的同时,应着重探讨核心机制。虽然其脑保护作用已相当明确,但其研究主要停留在实验室阶段,并且存在很多有待深入研究的问题:诸如实验室动物模型的制备、后适应最佳实施的时间选择及循环次数的组合等诸多方面。关于患者,在实施了后适应之后,需要去发现更多的相关生化指标用于评价。如何将后适应更好地应用于临床,怎样才能实现最有效的后适应保护,后适应能否提高神经功能,太多的问题摆在眼前,因此,有关后适应脑保护的研究需要更加深入广泛。

参考文献:

- [1] JAUCH E C, SAVER J L, ADAMS H P Jr, et al. Guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke: A guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association[J]. Stroke, 2013, 44(3): 870-947.
- [2] 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.
- [3] ZHAO Zhiqing, CORVERA J S, HALKOS M E, 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): 579-588.
- [4] ZHAO Heng, SAPOLSKY R M, STEINBERG G K. 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): 1114-1121.
- [5] LIU Xiangrong, LUO Mei, YAN Feng, et al. Ischemic postconditioning diminishes matrix metalloproteinase 9 expression and attenuates loss of the extracellular matrix proteins in rats following middle cerebral artery occlusion and reperfusion[J]. CNS Neurosci Ther, 2012, 18(10): 855-863.
- [6] YANG Fuwei, ZHANG Xiaojie, SUN Ying, et al. Ischemic postconditioning decreases cerebral edema and brain blood barrier

- disruption caused by relief of carotid stenosis in a rat model of cerebral hypoperfusion[J]. PLoS One, 2013, 8(2): e57869.
- [7] DING Zhemin, WU Bing, ZHANG Weiqiao, et al. Neuroprotective effects of ischemic preconditioning and postconditioning on global brain ischemia in rats through the same effect on inhibition of apoptosis[J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(5): 6089–6101.
- [8] GAO Li, JIANG Teng, GUO Jun, et al. Inhibition of autophagy contributes to ischemic postconditioning-induced neuroprotection against focal cerebral ischemia in rats[J]. PLoS One, 2012, 7(9): e46092.
- [9] WANG Ying, GE Pengfei, YANG Li, et al. Protection of ischemic postconditioning against transient focal ischemia-induced brain damage is associated with inhibition of neuroinflammation via modulation of TLR2 and TLR4 pathways[J]. J Neuroinflammation, 2014, 33(11): 15.
- [10] LIANG Jianmin, LUAN Yongxin, LU Bin, et al. Protection of ischemic postconditioning against neuronal apoptosis induced by transient focal ischemia is associated with attenuation of NF- κ B/p65 activation[J]. PLoS One, 2014, 9(5): e96734.
- [11] LIU Kezhou, YAN Ming, ZHENG Xiaoxiang, et al. The dynamic detection of NO during the ischemic postconditioning against global cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. Nitric Oxide, 2014, 38(30): 17–25.
- [12] SCARTABELLI T, GERACE E, LANDUCCI E, et al. Neuroprotection by group I mGlu receptors in a rat hippocampal slice model of cerebral ischemia is associated with the PI3K-Akt signaling pathway: a novel postconditioning strategy?[J]. Neuropharmacology, 2008, 55(4): 509–516.
- [13] BONOVA P, BURDA J, DANIELISOVA V, et al. Delayed post-conditioning reduces post-ischemic glutamate level and improves protein synthesis in brain[J]. Neurochem Int, 2013, 62(6): 854–860.
- [14] RYBNIKOVA E, VOROBYEV M, PIVINA S, et al. Postconditioning by mild hypoxic exposures reduces rat brain injury caused by severe hypoxia[J]. Neurosci Lett, 2012, 513(1): 100–105.
- [15] ZHAN Lixuan, LI Danfang, LIANG Donghai, et al. Activation of Akt/FoxO and inactivation of MEK/ERK pathways contribute to induction of neuroprotection against transient global cerebral ischemia by delayed hypoxic postconditioning in adult rats[J]. Neuropharmacology, 2012, 63(5): 873–882.
- [16] LECONTE C, TIXIER E, FRERET T, et al. Delayed hypoxic postconditioning protects against cerebral ischemia in the mouse[J]. Stroke, 2009, 40(10): 3349–3355.
- [17] FENG Rui, LI Shuqing, LI Fan. Toll-like receptor 4 is involved in ischemic tolerance of postconditioning in hippocampus of tree shrews to thrombotic cerebral ischemia[J]. Brain Res, 2011, 1384: 118–127.
- [18] FAN Yanying, ZHANG Xiangnan, HE Ping, et al. Transient lack of glucose but not O₂ is involved in ischemic postconditioning-induced neuroprotection[J]. CNS Neurosci Ther, 2013, 19(1): 30–37.
- [19] REN Changhong, GAO Mingqing, DORNBOSS D III, et al. Remote ischemic post-conditioning reduced brain damage in experimental ischemia/reperfusion injury[J]. Neurol Res, 2011, 33(5): 514–519.
- [20] LI Hong, YIN Jinbo, LI Liaoliao, et al. Isoflurane postconditioning reduces ischemia-induced nuclear factor- κ B activation and interleukin 1 β production to provide neuroprotection in rats and mice[J]. Neurobiol Dis, 2013, 54: 216–224.
- [21] ADAMCZYK S, ROBIN E, SIMERABET M, et al. Sevoflurane pre- and post-conditioning protect the brain via the mitochondrial K⁺ ATP channel[J]. Br J Anaesth, 2010, 104(2): 191–200.
- [22] JOHANSEN F F, HASSELDAM H, RASMUSSEN R S. Drug-Induced hypothermia as beneficial treatment before and after cerebral ischemia[J]. Pathobiology, 2013, 81(1): 42–52.
- [23] LIANG Chao, CANG Jing, WANG Hao, et al. Propofol Attenuates Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury Partially Using Heme Oxygenase-1[J]. J Neurosurg Anesthesiol, 2013, 25(3): 311–316.
- [24] REN Chuancheng, GAO Xuwen, NIU Gang, et al. Delayed postconditioning protects against focal ischemic brain injury in rats[J]. PLoS One, 2008, 3(12): e3851.

- [25] YANG Fuwei, ZHANG Xiaojie, SUN Ying, et al. Ischemic postconditioning decreases cerebral edema and brain blood barrier disruption caused by relief of carotid stenosis in a rat model of cerebral hypoperfusion[J]. PLoS One, 2013, 8(2): e57869.
- [26] HAN Dong, ZHANG Shuo, FAN Bin, et al. Ischemic postconditioning protects the neurovascular unit after focal cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. J Mol Neurosci, 2014, 53(1): 50–58.
- [27] XING Bianzhi, CHEN Hui, ZHANG Min, et al. Ischemic post-conditioning protects brain and reduces inflammation in a rat model of focal cerebral ischemia/reperfusion[J]. J Neurochem, 2008, 105(5): 1737–1745.
- [28] JOO S P, XIE W, XIONG X, et al. Ischemic postconditioning protects against focal cerebral ischemia by inhibiting brain inflammation while attenuating peripheral lymphopenia in mice[J]. Neuroscience, 2013, 243(23): 149–157.
- [29] WANG Qiang, ZHANG Xiaofeng, DING Qian, et al. Limb remote postconditioning alleviates cerebral reperfusion injury through reactive oxygen species-mediated inhibition of delta protein Kinase C in rats[J]. Anesth Analg, 2011, 113(5): 1180–1187.
- [30] LI Z Y, LIU B, YU J, et al. Ischaemic postconditioning rescues brain injury caused by focal ischaemia/reperfusion via attenuation of protein oxidization[J]. J Int Med Res, 2012, 40(3): 954–966.
- [31] GULATI P, SINGH N. Neuroprotective mechanism of ischemic postconditioning in mice: a possible relationship between protein kinase C and nitric oxide pathways[J]. J Surg Res, 2014, 189(1): 174–183.
- [32] DING Zhemin, WU Bing, ZHANG Weiqiao, et al. Neuroprotective effects of ischemic preconditioning and postconditioning on global brain ischemia in rats through the same effect on inhibition of apoptosis[J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(5): 6089–6101.
- [33] QI Zhifeng, LUO Yumin, LIU Xiangrong, et al. AKT/GSK3 β -dependent autophagy contributes to the neuroprotection of limb remote ischemic postconditioning in the transient cerebral ischemic rat model[J]. CNS Neurosci Ther, 2012, 18(12): 965–973.
- [34] REN Chuancheng, YAN Zhimin, WEI Dingtai, et al. Limb remote ischemic postconditioning protects against focal ischemia in rats[J]. Brain Res, 2009, 1288: 88–94.
- [35] SUN Jing, TONG Li, LUAN Qi, et al. Protective effect of delayed remote limb ischemic postconditioning: role of mitochondrial K(ATP) channels in a rat model of focal cerebral ischemic reperfusion injury[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2012, 32(5): 851–859.
- [36] HOSSMANN K A. The two pathophysiologicals of focal brain ischemia: implications for translational stroke research[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2012, 32(7): 1310–1316.
- [37] 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.
- [38] HOUGAARD K D, HJORT N, ZEIDLER D, et al. Remote ischemic preconditioning in thrombolysed stroke patients: randomized study of activating endogenous neuroprotection—design and MRI measurements[J]. Int J Stroke, 2013, 8(2): 141–146.

(责任编辑: 高艳华)