维普资讯 http://www.cqvip.com

1990, 28: 28.

12. Gros L, Demiprence E, Bataille D, et al. Characterization of hiGh affinity receptors for GlucaGon-like peptide-1(7-36)amide on a Somatostatin seerctinG cell line Biomed Res, 1992, 13: 143.

13. Fehmann HC, Goke R, Goke B, Cell and molecular bioloGy o f the incretin hormones GlucaGon-like peptide-1 and Glucose-dependent insulin releasinG poly peptide. Endocrine Reviews, 1995, 16: 390.

14. Ritzel R, Orskov C, Holst JJ. et al. Pharmacokinetic, insulinotropic, and GlucaGonostatic properties of GLP-1(7-36) amide after subcataneous injection in healthy volunteers. DiabetoloGia, 1995, 38: 720.

15. WetterGrn A, SchjoldaGer B, Mortensen PE, et al. Truncated Clp-1(proGlucaGon 78-107 amide) inhibits Gastric and pancreatic functions in man. DiG Dis Sci, 1993, 38: 665.

16. Eissele R, KoopH, Arnold R. Effect of GlucaGon-like peptide-1 on Gastric Somatostatin and Gastrin secretion in the rat. Scand J Gastroenterol, 1990. 25: 499.

17. Han VKM, Hynes MA Jin C, et al. Cellar localization of proGlucaGon/GlucaGon I ike peptide-1 messenGer RNAs in rat brain, J Newrosci Res, 1986, 16: 97.

18. Liu EY, Asa SL, Drucker DJ, et al. GlucaGon and related peptides in fetal rat hypotha lamus in vivo and in vitro, EndocrinoloGy, 1990, 126: 110.

19. Mora F, Exposito I Sanz B, et al. Selective release of Glutamine and Glutamic acid produced by perfusion of Clp-1(7-36)amide in t the basal GanGlia of the conscious rat. Brain res Bull, 1992, 29: 359.

20. Villanueva-Panacarillo ML, Alcantara AL, Clemente F, et al. Potent GlycoGenic effect of Clp-1(7-36) amide in rat skeletal muscle DiabetoloGia, 1994, 37: 1163.

21. Gwtniak M, Oskov, Holst JJ, et al. AntidiabetoGenic effect of GlucaGon-Like peptide-1(7-36)amide in normal subjects and patients with Diabetes Mellitus. New EnG J Med, 1992, 326: 1316.

22. Gutniak Mk, Linde B, Efendic S. Subcataneous injection of GlucaGon like insulinotropic peptide reduces postprandial Glycemia in NIDDM. DiGestion, 1993, 54: 389.

(收稿:1999-06-08)

71-72 谷氨酸 缺血性 脑损伤 脑缺血 综述 41

谷氨酸与缺血性脑损伤

胡 鸣* 徐丹令**

R743.3 02

脑缺血时缺血的神经元大量释放谷氨酸是引起神经元损伤的重要原因。近几年来对这一方面的研究取得了一定的进展,包括细胞外液谷氨酸异常升高的原因,谷氨酸受体活化机制,细胞内 Ca^{2+} 升高而导致细胞死亡的过程及影响谷氨酸兴奋性毒性的因素,以下将分别予以叙述。

一、概述

兴奋性氨基酸(EAA)是具有两个羧基和一个氨基的酸性游离氨基酸,谷氨酸就是这类氨基酸。它兼有对神经元的兴奋作用和毒性作用。这一事实已被多种兴奋性氨基酸所证实,兴奋性强的毒性也强,无兴奋性的也无毒性。谷氨酸是中枢神经系统中最丰富的氨基酸,大部分参与神经细胞和胶质细胞的中间代谢过程,少量作为中枢神经系统主要兴奋性神经递质,在维持神经元正常信号传递过程中起重要作用。

1957年 Lucas 和 Newhouse 发现在刚出生小鼠皮下注射谷氨酸后其视网膜内侧核迅速发生了变性、坏死,第一次证明了谷氨酸有潜在的神经毒作用[1]。十二年后,Olney 观察到皮下注射谷氨酸对一些位于血脑屏障之外的一些特定区域的神经元有毁坏作用。在婴儿期注射过谷氨酸的动物在成年后会出现肥胖症和一种来自于谷氨酸对下丘脑弓状核神经元的损害而造成多种内分泌混乱的综合征。

目前已有众多证据表明谷氨酸参与脑的缺氧血性损伤。首先,在缺血初期细胞外液谷氨酸可持续高出正常值数十倍,构成了谷氨酸的毒性环境[2]。其次已知易受缺血损伤的皮层海马等区域有较高含量的谷氨酸。最有力的证据来自于谷氨酸受体拮抗对缺血缺氧性脑损伤的治疗和防护作用。脑损伤或脑缺氧后脑内或脑脊液中谷氨酸浓度明显升高。脑损伤越严重者,谷氨酸浓度升高越显著[3]。Takagi 研究发现,当脑血流量降到正常的48%时,谷氨酸开始中度释放。当脑血流量降到正常的20%以下时,谷氨酸大量释放,缺血20~30分钟时细胞外谷氨酸水平达高峰,70分钟后基本恢复正常[4]。

二、细胞外液谷氨酸升高原因

谷氨酸有代谢库与递质库之分,后者指贮存于末梢突触小泡内的谷氨酸,浓度达 100mmol/L。代谢库是指存在于胞浆及线粒体中的部分,浓度为 10mmol/L。目前认为造成细胞外液谷氨酸浓度持续升高的原因有:摄取功能下降,甚至摄取方向的逆转以及末梢释放量的增加。摄取是去除细胞外液谷氨酸的唯一方式。由于神经元及胶质细胞含有与摄取有关的谷氨酸载体,由突触小泡释出的谷氨酸可在数百毫秒内被清除[5]。这是一个与 Na^+ 耦合的转运耗能过程,依赖于正常的膜电位。缺血缺氧时能量供应障碍,膜电位无法维持,这将影响摄取功能

* 作者单位:200331 上海市铁道大学医学院97级医学系
** 人体解剖教研室

维普资讯 http://www.cqvip.com

甚至出现对谷氨酸转运方向的逆转,发生非 Ca^{2+} 依赖的胞浆内谷氨酸向细胞外液转移。细胞外液谷氨酸浓度升高将不利于突触间隙谷氨酸的弥散和摄取,导致突触间隙持续有高浓度的谷氨酸存在,且激活其受体,引起短期内谷氨酸摄取的抑制和刺激谷氨酸进一步释放使神经细胞外谷氨酸浓度过度升高并形成恶性循环。

三、谷氨酸受体活化机制

已有研究表明,谷氨酸通过受体活化方式而起兴奋性介质作用。作为神经递质的谷氨酸贮于末梢突触小泡内,随冲动由 Ca^{2+} 流所触发释放到突触间隙,作用于突触后膜 EAA 受体。EAA 受体亚型以其特异的配基来命名,即亲离子受体 NMDA 型(N-甲基-D-天冬氨酸盐,N-methyl-D-asparate)、非 NMDA 型(海人草酸盐 Kainate,KA,使君子酸盐 AMPA/quisqualate)和亲代谢性 ACPD 型受体(Metabotropic)。上述的亲离子型受体在离子选择性和介导谷氨酸反应速度等方面有所不同。非 NMDA 受体主要引导 Na^+、K^+ 通道开放,引起快速的兴奋效应。NMDA 受体激活可引起 Na^+、K^+、Ca^{2+} 通透性增加,导致缓慢的兴奋效应。ACPD 型亲代谢性受体通过第二信使三磷酸肌醇(IP_3)介导细胞效应。

NMDA 受体活化至少需要三个信号:甘氨酸与 NMDA 受体结合,谷氨酸与 NMDA 受体结合,膜去极化。NMDA 受体上有高亲和力的甘氨酸结合位点,无甘氨酸存在时受体不发挥作用。NMDA 受体有一离子通道,允许 Ca^{2+} 通过,且它是 Ca^{2+} 内流的重要途径。在静息状态下,Mg^{2+} 处在 NMDA 受体的离子通道内。阻断 Ca^{2+} 内流定点诱变发现 Mg^{2+} 结合位点是离子通道内跨膜螺旋 M_2 上的天冬酰胺残基[6,7]。神经兴奋时,突触前神经元释放谷氨酸进入突触间隙与突触后 NMDA 受体及 AMPA 受体结合,后者与谷氨酸结合后反应快,Na^+ 内流产生膜去极化。谷氨酸与 NMDA 受体结合,其受体通道保持开放状态,时间较长约 100 毫秒,在此时间内若膜去极化信号到达,则将 Mg^{2+} 排放出通道外使胞外 Ca^{2+} 内流。

四、Ca^{2+} 内流导致细胞死亡机理

近几年认识到,Ca^{2+} 自稳状态紊乱是引起缺血性脑损伤的一个重要机制[8]。据认为如果细胞内 Ca^{2+} 由 0.1μm 水平增加数十倍后,将激活在正常条件下受 Ca^{2+} 调控的各种酶系统,包括蛋白分解酶、磷脂酶、核酸内切酶等。这些酶的活化将破坏细胞骨架和膜脂质进而威胁细胞的生存。神经细胞去极化后首先破坏细胞内外的 Cl^- 平衡使氯通道开放,细胞内 Cl^- 增加渗透压升高导致细胞肿胀,此后 Ca^{2+} 通道开放使 Ca^{2+} 进入胞内并使细胞内原贮存的 Ca^{2+} 释放,造成细胞内 Ca^{2+} 超载引起神经细胞的脂质和蛋白质代谢紊乱,而且 Ca^{2+} 进入脑血管壁可通过钙调素(CaM)或直接作用于内皮细胞刺激胞饮转运增加,细胞收缩,使血脑屏障(BBB)紧密连接扩大,通透性增高,最终导致神经细胞水肿,细胞膜损伤,蛋白质水解引起不可逆性蛋白质变性而致神经细胞死亡[3]。

五、谷氨酸毒性影响因素

缺血缺氧时细胞外液出现高 K^+ 低 Na^+,这将增加谷氨酸毒性。在受体水平上可解释为膜电位降低导致 Mg^{2+} 对 NMDA 受体通道的抑制被解除。谷氨酸释放还受其它递质的调节。在缺血缺氧初期细胞外液便观察到具有兴奋性的谷氨酸、天门冬氨酸、多巴胺(DA)浓度较正常高出 1~2 个数量级,抑制性递质 γ-氨基丁酸、牛磺酸、腺苷、甘氨酸浓度也大幅度增高[9]。Rodorf 等认为在脑水肿或癫痫状态之后会产生热休克蛋白(HsPs)。HsPs 经过一定的变化可能对谷氨酸产生拮抗作用,从而减弱谷氨酸受体的过度活化而减轻了继发性脑损伤。一些实验证明,由脑缺血引起的谷氨酸释放量和迟发性神经细胞坏死程度均受缺血中及血流再灌后温度的影响。在对缺血最敏感的沙土鼠海马 CA 细胞观察中发现,由缺血引起的谷氨酸释放量在脑温降至 35℃时比 37℃时减少了二分之一。而 33℃时的释放量是 37℃的四分之一。在这里仅有 2~4℃的脑温之差就可使谷氨酸释放量大幅度减少,细胞损伤程度呈戏剧性的减轻,提示低脑温的神经保护作用与阻止损伤初期谷氨酸释放及 NMDA 受体介导的 Ca^{2+} 内流有密切关系。

目前在对谷氨酸受体活化介导的继发性脑损害的作用机理研究方面有一定的进展,而对谷氨酸受体拮抗剂的研究虽取得一定显著的结果,但与临床需求存在较大差距。进一步详细研究脑损伤或脑缺血缺氧后谷氨酸及受体的变化,阐明其在神经细胞继发性损害中的作用机理,将为临床脑外伤、脑缺血等疾病的治疗提供有益的参考。

参 考 文 献

1. Lucas DR, Newhouse JP. The toxic effect of sodium l-glutamate on the inner layer of the retina. AMA Arch Ophthalmol, 1957, 58: 193.
2. Simon RP. Treatment of brain ischmia from preclinical pharmacology to clinical practice. In excitatory amino acid and brain ischemia, ed G biggo. Advances in biosciences, 1990, 78: 79 - 91.
3. 张新伟.《国外医学》创伤与外科基本问题分册, 1995, 16(3): 141 - 144.
4. Takagi k, et al. J Cereb Blood Flow Metab, 1993, 13: 575 - 585.
5. Manev H, Fararon M, Vicini S, et al. Gangliosidemediated Protection from glutamate-induced neuronal death. Acta Neruobiol Exp Warsz, 1990, 50: 475 - 488.
6. Burnasher N, Schoepfer R, Monyer H, et al. Science, 1992, 257 (5075): 1415 - 1419.
7. Mori H, Masaki H, Yamakura T, et al. Nature, 1992, 358(6388): 673 - 675.
8. 左萍萍.基础医学与临床, 1994, 14(1): 9 - 11.
9. Hillered l, Hallstorm A, Sagersvard S, et al. Dynamics of extracellular metabolites in the striatum after middle cerebral artery occlusion in the rat monitored by intracerebral microdialysis, J Cereb Blood Flow Metab, 1989, 9: 607 - 616.

(收稿:1999-08-30)