综 述 文章编号:0253-3626(2008)s1-0101-04

全脑缺血后脑损伤的研究进展

王运良

(解放军第148医院,山东淄博 200300)

【中国图书分类法分类号】R743 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-08-29

心跳骤停(Cardiac arrest,CA)、休克、窒息以及心脏手术等可发生全脑缺血(Global cerebral ischemia,GCI),所引起的血液灌注不足除了造成其他器官损害外,还会导致多种神经系统并发症发生,如昏迷、癫痫发作、缺血性卒中、精神障碍和认知损害。全脑缺血后脑损伤的最常见机制是全身血液灌注不足而触发的细胞和分子水平的级联损伤反应—神经元损伤的"最后共同通路"。本文就目前全脑缺血后相关研究及其脑损伤机制作一综述。

1 全脑与局灶性脑缺血

脑血流量减少到一定的程度会引起全脑或选择性部位损害,全脑缺血时整个脑组织血流量减少,临床常见病因的是室颤或心脏停跳5~10min以上。尽管全脑缺血后CBF可以恢复再灌注,但由于白细胞侵润引起活性氧(ROS)增加、脑水肿、出血等常导致继发性脑损伤。ROS浓度增高通过氧化或多种活化方式引起细胞内蛋白质和DNA破坏导致细胞死亡。局部脑缺血主要是某些血管分布区局部脑血流减少,临床上常见的缺血性卒中是由血栓或动脉栓子引起血管闭塞。正常CBF为50~75ml/100g脑组织/min,当脑组织CBF降低到18ml时为缺血的极限,如果低于10ml发生神经细胞死亡。局部缺血时,缺血性血管床在CBF严重降低部位组成缺血核心,外围是缺血半暗带,由侧支血管供血的半暗带包裹缺血区形成边界。局部缺血病理学主要依赖于缺血严重程度和持续时间长短,引起可逆性损伤或不可逆脑梗塞[1,2]。

2 全脑缺血模型

模拟人类全脑缺血的动物模型为脑损伤机制的研究提供组织学证据,啮齿类(沙土鼠、小鼠和大鼠)有经济上的优点,因为它们拥有相同的脉管系统和相同的品系,能产生相同的复制性损害,常结扎双侧颈总动脉和椎动脉,制作四血管结扎(4-VO)全脑缺血模型。敲除缺血性脑损伤特殊基因能用于转基因动物靶机制的研究,但对缺血期间生理学改变的监测(如pH,动脉血压、动脉血气、中心体温和颅内温度、葡萄糖浓度)不理想,对神经功能结果的评估与全面行为学的了解存在缺陷。50%蒙古沙土鼠Willis环不完全,双侧颈动脉结扎容易引起全脑缺血。较大动物模型(兔、狗、猫、猫科动物、非人类灵长类)在缺血性损伤时能观察主要的生理学变化,并能准确描绘损伤时神经功能缺损,但在使用时受到成本高和论理学观念的限制。大动物脑损伤动物模型由于头颈部供血与心室内输入中断可引起包括室颤、动脉栓塞、头臂和锁骨下动脉栓塞引起高血压、颅内压增高等。在这些动物模型中,脑内特异的神经元群包括海马CA1神经元、纹状体中等大小神经元及小脑浦肯野细胞易受损,这些神经元群敏感性多变,依赖于缺血严重程度和持续时间,海马CA1区对缺血极限最敏感(3~5min),而纹状体中等大小神经元耐受性较强(15~20min)[3]。随着复苏成功和脑循环再建立,在这些选择性神经元群中发生不可逆神经元损伤程度不一样,纹状体中等大小神经元循环再建立3h内发现神经元损伤,但海马CA1区神经元延迟到48~72h,这种现象称为"迟发性神经元死亡"。

3 神经元损伤机制

3.1 凋亡与坏死

过去10年来研究证实,脑缺血损伤后有两种暂时特征性阶段或神经细胞死亡的过程,死亡的神经细胞反过来影响周围脑组织,每一阶段都有其形态学和分子特点,电镜发现二者之间的区别。凋亡或程序性细胞死亡(PD)特点是与基因断裂有关的细胞皱缩、染色质聚集、细胞膜和线粒体完整,周围组织无炎症损害。相反,坏死是不规律和非程序化的过程,是严重脑缺血的典型表现。细胞动态平衡破坏导致线粒体严重受损,引起细胞肿胀、膜溶解、炎症、血管损害和水肿形成。尽管凋亡和坏死特征性的代表细胞损伤的特定模式,但多数文献提示共有的特点为中心神经元坏死,半暗带内神经元为凋亡,并与缺血的严重性和持续时间相关。目前认为是兴奋性氨基酸触发的级联发应在神经元坏死中起关键作用,而暴露

作者介绍:王运良(1965-),男,教授,博士,
研究方向:脑血管病的基础和临床。

于谷氨酸引起神经元凋亡，这种神经元在坏死早期存活，线粒体功能部分恢复。因此，在确定兴奋毒性引起神经元损伤的程度和进展方面，线粒体功能是主要因素。尽管对引起凋亡的共同通路还没有证实，推测为线粒体依赖的内部通路和受体介导的外部通路起作用。在内部通路中，脑缺血导致线粒体内膜上渗透性传递孔产生，线粒体外膜破坏，引起某些凋亡前物质的释放，如caspases，核酸内切酶、细胞色素C和其他与白介素-1β转换酶有关的蛋白酶，最终导致DNA断裂。外部通路涉及某些死亡受体家族如Fas，Bcl-2相关蛋白抑制作用的旁路，即控制蛋白水解系统，在凋亡细胞的死亡中也起主要作用[4]。

3.2 兴奋毒性脑损伤

1969年Olney提出兴奋毒性的概念，局部应用谷氨酸和其他酸性氨基酸(天门冬氨酸、N甲基D天门冬氨酸—NMDA、同型半胱氨酸、半胱氨酸)引起神经损伤。其他兴奋毒性介质包括儿茶酚胺、NO和相关物质。谷氨酸在脑组织含量最丰富，起多种重要功能，如代谢、营养和神经递质，分布于神经元。健康成人脑组织通过快速吸收能清除细胞外的谷氨酸，而在能量储备衰竭情况下，如缺血缺氧时，谷氨酸流入细胞外间隙引起细胞去极化，加上本身损害性摄取，导致细胞内Ca^{2+}增多，干扰半胱氨酸的摄取，引起保护性抗氧化应激作用的谷胱甘肽储存衰竭引起神经元损伤。兴奋毒性损伤的特点是对神经元树突、细胞体、轴突分支、胶质细胞、室管膜和内皮细胞最大作用，可能因为细胞膜谷氨酸受体的轴突输入、密度、分布及内在防御机制的不同。谷氨酸激活3种离子载体受体(NMDA、a氨基-3羟基-5甲基-4异恶唑和红藻酸)，并激活第二信使系统。谷氨酸毒性发生于2个特定阶段：(1)短暂强烈刺激NMDA受体快速触发兴奋毒性，这主要依赖于细胞外Ca^{2+}存在和通过NMDA闸门受体通道内流。(2) 延长对AMPA/红藻酸受体有限的Ca^{2+}通道的缓慢触发过程。

谷氨酸兴奋毒性的级联包括3种特定过程(1)诱导作用，神经元膜上受体转导细胞外谷氨酸内流，引起细胞内Ca^{2+}超载导致致命的细胞内功能紊乱。(2)细胞内紊乱累及其他神经元。(3)细胞毒性级联反应触发细胞死亡。Ca^{2+}过度释放和细胞内流被认为是各种复杂过程的主要触发因素，特定神经元群选择性易受兴奋毒性损害，可能是由于兴奋性突触输入、谷氨酸受体密度或内在防御机制的不同所致。

脑缺血时多巴胺和去甲肾上腺素从细胞内快速流入到细胞外，在脑损伤中起一定作用。其证据是应用巴比妥、异氟烷、依托咪酯时，细胞外多巴胺作用引起脑缺血减轻和病理学损伤改善。提示儿茶酚胺及其代谢产物在缺血性损伤时对纹状体神经元有选择性损害作用，如a-甲基酪酸引起儿茶酚胺耗竭对缺血损伤的神经末梢有很强的保护作用，经破坏黑质—纹状体通路降低纹状体多巴胺的含量，能保护纹状体内神经元免受脑缺血损害。

NO是由一氧化氮合成酶(NOS)作用于精氨酸产生的一种气体自由基，许多物质都可产生，如血管内皮细胞、神经元、胶质细胞、巨噬细胞、白细胞等，NO对脑组织的功能包括调节脑血流(CBF)、神经传递和炎症修复。NOS有3种异构形式，含有NOS的神经元广泛分布于脑组织，包括大脑皮层、海马和纹状体。NO对缺血性脑损伤有双重作用，一方面有血管扩张和细胞毒性，另一方面抑制线粒体传递链复合物Ⅰ、Ⅱ的重要酶系统。NO和超氧阴离子合成的过氧化硝酸盐认为是细胞毒性的重要触发因素，引起ROS、氢氧自由基、NO形成，导致蛋白质酪氨酸残基的硝基化，目前认为NO杀死神经细胞的方式之一是DNA多聚酶的活化引起ATP、烟酰胺消耗和细胞死亡[5,6]。

3.3 炎症的作用

脑缺血时巨噬细胞活化、周围白细胞向脑组织迁移、非特异性免疫反应引起炎症细胞浸润，缺血神经元和胶质细胞释放炎症细胞因子如白介素-1、肿瘤坏死因子α(TNF-α)；脑血管产生粘附分子如选择蛋白、整合蛋白，细胞内粘附分子导致血脑屏障破坏，最终导致水肿形成。细胞因子和蛋白酶如金属蛋白酶分泌增多进一步引起细胞外基质和血脑屏障的破坏。

3.4 血糖

在创伤性脑损伤、局部脑缺血及全脑缺血动物模型中证实，血糖对脑损伤有至关重要的作用，其机制包括加重EAAs释放，减少神经递质的释放，促进中性粒细胞的沉着，激活细胞色素C、caspase-9和促进caspase-3的裂解造成早期线粒体损伤[7]。临床发现血糖控制不好能加重缺血性卒中和心脏手术的脑损伤，应用胰岛素能改善严重疾病患者的神经功能。尽管胰岛素治疗能减轻全脑缺血动物模型的损伤，但对CA患者应用胰岛素控制血糖需要进一步的研究。

3.5 体温的作用

脑缺血后短暂性高温引起高能磷酸代谢不全及选择性神经元死亡，增加微血管损害和水肿，导致死亡率增加。有报道提示，实验性全脑和局部缺血时体温自发性升高认为是脑损伤的结果。轻度(34℃)和中度(30℃)低温明显减轻实验性CA的缺血性脑损伤。低温引起缺血性脑保护的机制可能是多因素的，包括减轻突触前、后兴奋毒性过程，减少氢氧自由基产生，保护脂蛋白膜，减少细胞内酸中毒及降低损伤脑组织的氧需求。最近临床试验证实，轻、中度低温治疗能改善病人临床结果和减少死亡率，未来临床试验应结合其他神经保护策略与低温联合进一步改善临床结果。

4 神经保护药物实验

药物研究的基础是脑缺血体内外各种研究的延伸，由于神经保护剂在缺血性神经元损伤中能破坏特异通路或造成受体阻滞，对缺血机制的研究有重要作用。尽管许多药物正在研究之中，但为未来全脑缺血药物治疗的研究奠定了基础。

4.1 NMDA受体拮抗剂

在4-VO大鼠治疗前后应用NMDA受体拮抗剂右啡烷，能

改善海马和皮层损害，降低钙依赖性蛋白激酶(蛋白激酶C、钙依赖性蛋白激酶Ⅱ)活性。尽管NMDA受体拮抗剂MK801已显示在全脑缺血动物模型中提供神经保护的组织学证据，但在缺血性卒中的临床应用中可产生明显的副作用，如精神错乱、幻觉等。

4.2 钙通道拮抗剂

Ca^{2+}是兴奋毒性神经元损伤的最后共同通路，Ca^{2+}内流阻滞剂尼莫地平已在全脑缺血中进行实验研究，静脉应用尼莫地平能降低EGG恢复时间，减少细胞外Ca^{2+}和BBB破坏，但在4-VO全脑缺血大鼠给予尼莫地平证实对组织学和神经功能没有有任何益处，对室颤患者应用尼莫地平的随机、双盲的前瞻性研究发现，尼莫地平对1年后存活率没有任何改善，但对迟发性复苏(>10min)患者有某些益处。

4.3 γ氨基丁酸与其激动剂

应用γ氨基丁酸(GABA)或其激动剂作为神经保护的前提是根据它们开放抑制性CL-通道的特点。应用GABA预处理能减轻全脑缺血模型的组织学损伤和神经行为学改善，但损伤后应用没有证实这种作用。应用GABA激动剂氯美噻唑，也没有证实组织学和神经行为学改善证据。以微透析方式局部输入氯美噻唑并不能改变纹状体缺血诱发的多巴胺、5羟色胺及其代谢产物的释放。腹膜内应用GABA能改善全脑缺血大鼠组织学和神经行为学结果，但GABA再摄取抑制剂噻加宾在预处理中没有证明任何组织学改善的证据。

4.4 抗惊厥药物

抗惊厥药物的基础是阻滞电压控制的Na^+通道膜电位的超极化，稳定神经元功能。芬妥英能减轻动物循环停止时脑脊液K^+集聚，减轻脑水肿、增加Na^+/K^+-ATP酶活性、降低细胞内Na^+集聚及减少乳酸、自由脂肪酸堆积。拉莫三嗪能减轻缺血导致的细胞内谷氨酸浓度增加及改善全脑缺血后组织学结果。

4.5 镁剂

硫酸镁是NMDA、钙拮抗剂和血管舒张剂，在全脑缺血大鼠治疗前后持续静脉团注硫酸镁可减轻海马CA1区神经元损害。其他研究报道，硫酸镁的神经保护作用仅在与轻度低温联合应用时有效。

4.6 麻醉剂

巴比妥具有神经保护作用，抑制脑血管收缩降低脑氧代谢率和降低CBF、蛋白激酶C，减少缺血引起的自由脂肪酸增多和EAA释放。令人沮丧的是，苯巴比妥治疗不能改善全脑缺血狗模型的存活，苯巴比妥的临床研究结果也令人失望，对缺血缺氧性脑损伤CA及邻近部位缺乏治疗益处。吸入麻醉剂(氟烷、异氟烷)没有在全脑缺血中进行系统研究，应用麻醉剂的前提是它们能够减轻脑代谢需求，增加局部CBF、减轻缺血诱导的EAA和儿茶酚胺流出，并减少钙内流。

4.7 环氧化酶抑制剂

尼美舒利是环氧化酶-2抑制剂，在缺血治疗前后(24h内)口服或腹膜内应用能减轻海马CA1区损伤，但需要在其他动物模型或临床试验中证实。

4.8 免疫抑制剂

他克莫司(FK506)与环孢霉素A是亲和素和蛋白磷酸酶抑制剂，能减轻凋亡细胞的死亡，缺血损伤前3天使用这两种药物，缺血后7d对CA1区缺血再灌注有保护作用。这些药物也能减轻CA1、CA3区及缺血损伤后24h海马齿状回环孢霉素A活性，治疗前应用环孢霉素A和FK506能抑制促凋亡蛋白Bad去磷酸化。环孢霉素A不能通过完整的血脑屏障，需要在全脑缺血的动物模型中进一步验证。

5 神经保护制剂的未来前景

5.1 性激素

成年雄性和雌性动物脑缺血不同的证据增加，反应了人类脑血管病的某些特点。因此，生物性别是脑缺血后结果与病理生理的一个重要因素。性别研究显示转基因小鼠缺血有性别依赖。提示细胞损伤的分子机制可能对男性和女性大脑有不同影响。此外，多数试验研究强调局部缺血时性激素－主要是雌激素的重要性，对全脑缺血有明显保护作用。

5.2 阿片受体激动剂

最近的试验研究提示阿片类受体在脑缺血的病理生理中起重要作用，CNS的阿片受体分为μ、κ、δ 3种亚型，尽管μ、δ亚型已证实主要在抗伤害感受中起作用，但某些研究证实κ受体激动剂在脑缺血中起神经保护作用。κ受体部位较其他亚型保存时间长(12~48h)，说明使用κ受体激动剂有较长的治疗时间窗。体外研究提示κ受体激动剂调节谷氨酸的兴奋毒性，减少Ca^{2+}进入皮层突触小体引起突触前抑制。已证实选择性κ受体激动剂BRL52537减少NO产生，对缺血神经元提供保护的是受体选择性而不是减轻纹状体缺血诱导的多巴胺的释放，在局部脑缺血发作后6h有明显的保护作用[9]。最近证实，BRL52537仅对雄性动物提供保护。因此，高度选择性的阿片受体激动剂可能在未来脑缺血中用作神经保护药物。

5.3 σ受体激动剂

非阿片类σ受体有重要的生理功能，他们是有效的抗精神药物，引起锥体外系副作用的倾向低。某些σ受体配体药物能改变NMDA受体的功能，可能是通过激活σ受体直接介导引起。σ-1受体配体4-苯丁基哌啶(PPBP)对脑缺血动物提供明显的神经保护作用，尽管确切机制不明，推测可能为某些抗兴奋毒性作用，包括抑制缺血引起的突触前谷氨酸释放，减少突触后谷氨酸引起的Ca^+内流，调节神经元对NMDA受体刺激的反应，抑制多巴胺能神经递质释放及防止皮层扩散抑制等[9]。最近证实，PPBP通过减少缺血时NO产生提供神经保护，但对缺血纹状体多巴胺流出无改变。由此得出σ-1受体配体可能在未来脑缺血的神经保护方面起主要作用。

总之，全脑缺血时引起能量储备快速消耗，触发一系列复杂的细胞反应如细胞去极化和Ca^{2+}内流，导致兴奋毒性细胞死亡。脑损伤的决定因素是缺血损伤的严重性和持续时间以及早期CBF的恢复，CA后引入的低温治疗是唯一策略，已在前瞻性随机临床试验中证实能改善临床结果。虽然神经保护药

物令人失望,并在试验动物模型中有很大变异,需要进一步研究的是针对这些制剂与低温联合证实其效果,尽管脑缺血和再灌注时信号转导通路和细胞内分子机制复杂,但在未来研究中应掌握其潜在的神经保护治疗策略。

参 考 文 献

[1] Bhardwaj A,Alkayed NJ,Kirsch JR,et al. Mechanisms of ischemic brain damage[J]. Curr Cardiol Rep,2003;5:160-167.

[2] Nussmeier NA.Review of risk factors for adverse neurologic outcome after cardiac surgery[J].J Extra Corpor Technol,2002;34:4-10.

[3] Nishijima MK,Koehler RC,Hurn PD,et al. Postischemic recovery rate of cerebral ATP,phosphocreatine,pH,and evoked potentials [J]. Am J Physiol,1989;257:H1860-1870.

[4] Sugawara T,Fujimura M,Noshita N,et al. Neuronal death/survival signaling pathways in cerebral ischemia[J]. Neuro Rx, 2004;1:17-25.

[5] Han HS,Yenari MA. Cellular targets of brain inflammation in stroke[J].Curr Opin Investig Drug,2003;4:522-529.

[6] Danton GH,Dietrich WD.Inflammation mechanisms after ischemia and stroke[J].J Neuropathol Exp Neurol,2003;62:127-136.

[7] Ding C,He Q,Li PA. Activation of cell death pathway after a brief period of global ischemia in diabetic and nondiabetic animals [J]. Exp Neurol,2004;188:421-429.

[8] Weigl M,Tenze G,Steinlecchner B,et al. A systematic review of currently available pharmacological neuroprotective agents as s sole intervention before anticipated or induced cardiac arrest[J]. Resuscitation, 2005;65:21-39

[9] Goyagi T,Bhardwaj A,Koehler RC,et al. Potent sigma 1-receptor ligand 4-phenyl-1-piperidine provides ischemic neuroprotection without altering dopamine accumulation in vivo in rats[J]. Anesth Analg, 2003;96:532-538

(上接第 86 页)

著,与文献报道中采用其他方法检测的结果相近[6],说明中枢神经系统感染时BBB功能有不同程度的损伤。结核性脑膜炎急性期C_{Alb}指数在25~71以上,BBB为重度损害,病毒性脑膜炎C_{Alb}指数在9~29,BBB为轻、中度损害,表明细菌感染时BBB损伤更加明显。因此测定C_{Alb}、C_{Alb}指数对结核性脑膜炎和病毒性脑膜炎的诊断、鉴别诊断及估计BBB损伤程度都具有重要意义。本研究还显示,结核性脑膜炎急性期C_{Alb}、C_{Alb}指数明显高于恢复期与对照组,同样具有差异性,说明结核性脑膜炎时病情越重,C_{Alb}、C_{Alb}指数水平越高,随着病情的缓解,C_{Alb}、C_{Alb}指数逐渐恢复正常,因此动态观察C_{Alb}、C_{Alb}指数水平对分析病情及判断预后有一定帮助,并可用来评估疗效果。

综上所述,C_{Alb}、C_{Alb}指数检测是反映中枢神经系统感染患者BBB有无实质性损害的一个较好的生化指标,其水平高低能在一定程度上帮助临床医生了解患者的病情和预后,具体应用时应结合病人的临床表现,病程等进行判断。

参 考 文 献

[1] Kieseier BC,Paul R,Koedel U,et al. Differential expression of matrix metalloproteniases in bacterial meningitis[J]. Brain,1999;122(8): 1579-1587.

[2] 罗春丽.临床检验基础[M]. 北京:人民卫生出版社,1997.192.

[3] 王 羽.全国临床检验操作规程[M].东南大学出版社,2006.342.

[4] Tibbling G,Link H,Ohman S. Principles of albumin and IgG analyses in neurological disorders. I. Establishment of reference values[J]. Scand J Lab Invest,1997;37(5):385-390.

[5] 顾可梁.脑脊液检查的几个新问题[J]. 临床检验杂志,1998;16(3):187.

[6] 瞿琼香,林晓源,李增清,等.中枢神经系统感染患儿脑脊液白蛋白,α-巨球蛋白,免疫球蛋白测定及其临床意义[J].广东医学,1997;18(12):813.

(上接第 88 页)

病例数太少,只有待今后再深入研究。

参 考 文 献

[1] Dormandy J,Reid H. Controlled defibrination in the treatment of peripheral vascular diseases[J]. Angiology,1978;29:80-88.

[2] Bell WR,Ptney WP,Goodwin JE,et al. Therapeutic defibrination in the treatment of thrombotic disease[J].Lancet,1968;1:490-493.

[3] Hossmann V,Heiss WD,Bewermeyer H,et al. Controlled trial of ancrod in ischemic stroke[J]. Arch Neurol,1983;40:803-808.

[4] 崔建国,解龙昌,魏利华.降纤酶对脑梗死病人血液流变学及脑循环动力学指标的影响[J].中西医结合心脑血管病杂志,2007;5:590-592.

[5] 邱丽君,顾 青,汪维乐,等.急性脑梗死患者用药前后血浆生物分子的变化[J].上海交通大学学报(医学版),2007;27:333-335.

[7] Cole CW. Controlling acute ellevation of plasma fibrinogen with ancrod[J]. Cerebrovase Dis,1998;8(s1):29-34.

[8] The Ancrod Stroke Study Investigators. Ancrod for the treatment of acute ischemic brain infarction[J]. Stroke,1994;25:1755-1759.

[9] Sherman DG,Atkinson RP,Chippendale T,et al. Intravenous ancrod for treatment of acute ischemic stroke[J]. JAMA,2000;283(18): 2395-2403.