维普资讯 http://www.cqvip.com

脑缺血，一氧化氮，毒性，

第22卷 第4期 重庆医科大学学报 Vol.22 No.4

1997 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1997

376-378

35

一氧化氮(NO)在脑缺血中的作用

生化药理研究室 王中峰* 综述 薛春生 审校

R743.310.2

中图分类号 R363.13

1 NO的一般生物学特性

作为机体活性因子的NO最初是以血管内皮舒张因子而被发现的，它是在其合酶(NO合酶，NOS)的作用下，由L－精氨酸生成：

$$L-精氨酸+O_2 \xrightarrow{NOS} NO+胍氨酸$$

其结构简单，易扩散但极不稳定，生成后很快被氧自由基、血红蛋白等灭活，半衰期仅5秒左右。因此，对其测定十分困难，对其生物效应的研究常依赖于对NOS的研究，以及应用L－精氨酸类似物，如N－亚硝基－左旋精氨酸甲酯 (L－NAME)、L－硝基精氨酸等作为此酶的相对特异的抑制剂来研究。

NOS在功能上可分为固有型(钙依赖型)和诱导型(钙非依赖型)。固有型又称生理型，在基础条件下无需外界刺激因子刺激即具有活性，但可随细胞内钙增多而进一步增加；诱导型在基础条件下不起作用，但在脂多糖和某些其它细胞因子作用下几小时内可表达，且由此产生的NO比固有型产生者更多。因为高浓度的NO具细胞毒性，故称"病理型"[1]。

NO在体内合成后，凭借其强脂溶性的特点在邻近细胞间迅速扩散，并与鸟苷酸环化酶(GC)的血红素基团结合，形成NO－Heme－GC复合物。此即GC的活化形式，可使胞内cGMP大量产生[2]，从而产生生理作用。NO的主要作用是作为信号传递物使血管扩张，并抑制血小板聚集等。此外，还可作为神经元间的信号传递物[3]，介导谷氨酸的细胞毒性作用[4]。高浓度的NO对细胞产生直接的毒性作用[5]。

2 NO与脑血流

NO在脑血流调节中起重要作用。在中枢神经系统中，可能合成NO的部位有血管内皮细胞、神经元和神经胶质细胞。其中以血管内皮细胞为主。NOS抑制剂L－NAME和L－甲基精氨酸(L－NMMA)静脉注射可致大鼠各脑区血流量明显降低[6,7]，而L－精氨酸则使血流量增加，抵消L－NMMA的作用，表明L－NAME和L－NMMA可通过抑制NO产生而起作用[8]。另有一些实验也证明，NO可调节基底动脉，使之处于舒张状态[9]，这些均说明：NO参与局部脑血流的调节。

3 NO与脑缺血的关系

脑内NO浓度的变化与脑缺血密切相关。Sato等用电偏磁共振(EPR)技术测定NO发现，NO含量与脑缺血损伤的严重程度成正相关[10]。Malinski等也发现，阻断大脑中动脉(MCAO)，5－10分钟后NO开始增加，30分钟达高峰，以后渐降低，再灌流后又增加。缺血早期NO增加的机制，有人认为是由于缺血时，局部兴奋性氨基酸增多，激活NMDA受体，产生钙内流，从而使NOS活性增加，NO相应增高[11]。但随后由于缺血所致NO生成所需的O_2减少，以及生成的NO很快分解而使NO降低。再灌流时，由于又增加了O_2的供应而使NO再次增加[12]。Sato也证实，局灶缺血5分钟后，NO增高，持续到60分钟，再灌流时，NO也增加。但当缺血时间短于15分钟时，再灌流时NO则不再增加；而缺血60分钟，再灌流15分钟后，NO反而降低。一般认为：在缺血期NO的产生是增加脑血流的生理反应，而再灌流期NO的产生与细胞损伤有关[2,13,14,15]。Tominaga等用EPR技术测得，双侧颈总动脉阻断(BCAO)和降低血压(50mmHg)15分钟，脑皮层NO增加[16]。MCAO2小时和再灌流1小时，皮层NO浓度在缺血和再灌流时增加。缺血前用L－NAME可明显降低NO释放，再灌流时完全抑制NO的释放。用L－NAME后再用L－精氨酸，可恢复缺血所致NO释放，然而L－精氨酸不能拮抗L－NAME对平均动脉压的作用，说明缺血脑可致脑NO释放增加，NO替代物或NO拮抗剂可调节NO水平[17]。

研究发现，动物脑缺血时，小脑、脑干、纹状体、皮层和海马等处NOS活性增加。于手术后30分钟，6、24、48小时腹腔注射NG－硝基－L－精氨酸可翻转所有脑区NOS活性的增加。手术后96小时，海马CA1区神经元广泛死亡，而NG－硝基－L－精氨酸组动物则得到明显保护[18]。Huang等用

* 博士研究生

维普资讯 http://www.cqvip.com

缺乏神经性NOS活性的转基因小鼠证实，MCAO后24小时、72小时，梗塞面积明显低于正常缺血小鼠。但应用内皮性NOS抑制剂L－硝基精氨酸后，梗塞面积明显增大。说明神经性NO加重脑损害，而血管性NO起保护作用[19]。含有NOS的神经元被认为对神经变性和神经毒有抵抗力。持续MCAO后一周，观测神经元NOSmRNA和NADPH－黄递酶活性发现，MCAO后15分钟即见同侧纹状体NOS－ImRNA增加，1小时后在皮层和纹状体达高峰，同侧皮层和海马含有NOS－I的神经元数目在2－48小时也比对侧明显增多，其峰值在4小时。1－4小时，神经元表现为收缩或肿胀，24－48h HE染色切片上缺血神经元出现嗜酸性或阴影样改变，而NOS－I免疫化学切片上，部分神经元仍保持其结构完整，溃散的神经元表达NOS－I和NADPH－黄递酶。缺血区NOS－I和其mRNA快速上调查说明NOS－I参与了局灶缺血损伤。由神经元表达NOS－I说明含有NOS－I的神经元对缺血有抵抗力。也证明了NOS－I免疫活性和NADPH－黄递酶活性之间的关系[20]。

4 NO的神经细胞毒性作用

在缺血过程中，NO具有潜在的有益作用和有害作用。前者包括维持脑血流，抑制血小板或白细胞聚集和粘附；但高浓度的NO则可有细胞毒性作用。Buisson等[21]发现，L－NAME能明显缩小MCAO后大鼠皮层和基底节的缺血区范围。而且，L－NAME可保护MCAO所致神经元损伤，降低由NMDA引起的兴奋毒损伤，降低由$^{[K]}$+和缺血诱导的谷氨酸释放。因此认为，由NMDA受体过度刺激所诱导的NO合成是神经损伤的重要因素。其机制可能是NO可易化缺血所致的谷氨酸过量释放。Nagafuji等[22]在MCAO后腹腔注射NOS抑制N－ω－硝基－L－精氨酸（L－NNA）可明显减轻缺血性脑水肿和MCAO后的梗塞面积，证明NO形成至少部分参与了缺血水肿的病理机制和后续的脑梗塞；而且L－NNA可减轻海马CA1区10'缺血后的神经元坏死，也说明NOS参与了脑缺血后的选择性神经元死亡的病理机制[23]。Nishikawa等也发现L－NAME可降低尾核短暂局灶缺血损伤的体积，且在再灌流期给药有效，证明再灌流期产生的NO对尾核损伤起作用[14]。另外NG－硝基－L－精氨酸可反转BCAO5分钟各脑区NOS活性的增加，保护CA1区神经元[12]。

在脑缺血－再灌流时，兴奋性氨基酸的毒性可能由内源性NO调制。BCAO后，谷氨酸在缺血－再灌流时增加10倍，再灌流30分钟后恢复到正常水平，缺血前30分钟腹腔注射L－NAME，缺血时谷氨酸增高，但再灌流时仍保持增高。再灌流时由L－NAME引起的谷氨酸增高可被L－精氨酸阻断，L－NAME和L－精氨酸同时应用可降低缺血时胞外谷氨酸浓度。

Iadecola等证明[24]，在自发性高血压大鼠，持续MCAO所致的诱导型NOS在缺血后1－2天后增加，与之相反，固有型NOS则明显下降，NO产生的脑损害有时间依赖性，早期，NO产生的血管扩张是有益的。因此，在60分钟内应用NO供体可提高脑血流，减小脑梗塞面积[25,26,27]，2小时后用药则不影响脑血流，也不减小梗塞面积。因为神经和内皮固有型NOS在激动剂所致的胞内钙增加时仅短暂增加，而诱导型NOS产生的NO则是持久的[26]。因此，固有型NOS所致的短暂NO增加，主要参于NO的信号传递功能，而且非神经细胞产生的诱导型NOS持久增加所产生的NO则参与细胞毒性，导致组织损伤[10]。也有人认为•NO的氧化－还原状态可能决定其作用，氧化状态有保护作用，而还原状态则有细胞毒性[29]。

NO除了易化缺血脑区释放谷氨酸加重脑损伤外，还可影响脑多巴胺代谢。Kahn等证实，L－NAME可降低BCOA15分钟纹状体内多巴胺浓度的60%。缺血后恢复期，DOPAC和HVA浓度增加。L－NAME也可降低HVA浓度。说明缺血多巴胺释放可由NO介导，也证明了NO的神经毒作用[30]。Strasser等发现硝基－L－精氨酸可延迟缺血－再灌流蒙古沙土鼠脑血流恢复，改变多巴胺代谢，说明NO参与了缺血后脑血流恢复。由于硝基－L－精氨酸降低了脑血流，从而调节了多巴胺代谢[31]。因此NO可能通过谷氨酸能和多巴胺能神经元之间的关系易化多巴胺释放，从而参与脑缺血性损伤[32]。

维普资讯 http://www.cqvip.com

但也有人提出了相反的结论，因为NOS抑制剂L－NAME不能阻止15分钟BCAO和低血压缺血过程中海马谷氨酸释放，而且还可使再灌流期谷氨酸释放增加[33]。缺血时，脑血流降低，再灌流时增加到对照水平的4倍，L－NAME对此无影响，脑缺血增加血－脑屏障的通透性，L－NAME可抑制之，说明NOS抑制不能阻止缺血时胞外谷氨酸的增高，而且增加再灌流时的谷氨酸浓度，所以缺血－再灌流时胞外谷氨酸的增高不是脑血流降低的反应，也不是由于血－脑屏障通透性增加的结果，这些结果证明：缺血－再灌流期间，NO的产生可能拮抗突触兴奋性氨基酸聚集和毒性作用[34]。

总之，在脑缺血－再灌流时，脑内NO合成增加，它参与了缺血性脑损害，其机制是多方面的，对其机制的深入研究，必将对脑缺血所致脑细胞损伤机制有更多的了解，从而有利于寻找有效的临床救治方法。

参 考 文 献

1.Marletta MA. J Biol Chem 1993;268:12231
2.Kader A, et al. Stroke 1993;24:1709
3.Snyder SH, et al. Trans Pharmacol Sci 1992;12:125
4.Dawson VL, et al. Proc Natl Acad Sci USA 1991;88:6368
5.McCall Y, et al. Trands Pharmacol Sci 1992;13
6.Tanaka K, et al. Neurosci Lett 1991;127:129
7.Irikurn K, et al. J Cerebral Blood Flow Metab 1994;14:45
8.Morikawa E, et al. Stroke 1994;25:429
9.Faraci FM. Am J Physiol 1990;259:H1216
10.Sato S, et al. Biochim Biophys Acta 1993;1181:195
11.Buisson A, et al. J Neurochem 1993;61(2):690
12.Malinski T, et al. J Cereb Blood Flow Metab 1993;13:355
13.Sato S, et al. Brain Res 1994;647:91
14.Nishikawa T, et al. Stroke 1994;25:877
15.Sato S, et al. Ann N Y Acad USA 1994;738:369
16.Tominaga T, et al. J Cereb Blood Flow Metab 1994;14:715
17.Zhang ZG, et al. J Neuro Sci 1995;128:22
18.Caldwell M, et al. Eur J Pharmacol 1994;260:191
19.Huang Z, et al. Science 1994;265:1883
20.Zhang ZG, et al. Brain Res 1994;654:85
21.Buisson A, et al. J Neurochem 1993;61:690
22.Nagafuji T, et al. Neurosci Lett 1992:147:159
23.Nagafuji T, et al. Eur J Pharmacol 1993;248:325
24.Iadecola C, et al. J Cereb Blood Flow Metab 1995;15:52
25.Zhang F, et al. Neuroreport 1993;4:559
26.Zhang F, et al. J Cereb Blood Flow Metab 1994;14:574
27.Zhang F, et al. J Cereb Blood Flow Metab 1994;14:217
28.Nathan C. FASEB J 1992;6:3051
29.Faraci FM, et al. Stroke 1994;25:692
30.Kahn RA, et al. Anesth Analg 1995;80:1116
31.Strasser A, et al. Brain Res 1994;664:197
32.Nakahara K, et al. No To Shinkei 1994;46:1147
33.Zhang J, et al. Neurosci Lett 1993;157:179
34.Zhang J, et al. Stroke 1995;26:298

(收稿日期 1996－12－18)