

天然药物对脑缺血损伤级联反应和再灌注的作用*

廖维靖¹ 范 明² 杨万同¹

天然药物里对脑缺血损伤具有治疗作用的主要是活血化瘀药。中医对缺血性疾病的治疗理论是气血相关理论、活血化瘀理论,治则是活血生肌、行气通脉、补气活血。西医研究显示脑缺血损伤的级联反应分为 4 个阶段⁽¹⁾,治疗策略是恢复再灌注和保护脑组织。活血化瘀药在治疗缺血性卒中的临床和基础研究方面取得了可喜的进展,非活血化瘀药也可以作用于脑缺血损伤级联反应的某一阶段,保护缺血缺氧的神经细胞。活血化瘀治则与脑缺血损伤级联反应和恢复再灌注之间的联系如何,未见系统研究报道。本文根据脑缺血损伤级联反应和恢复再灌注的西医理论,将近年天然药物对脑缺血疾病治疗作用的机理作一介绍。

1 脑缺血损伤级联反应 脑缺血损伤级联反应分为 4 个阶段,即兴奋性毒性、梗死灶周围去极化、炎症和细胞程序性死亡,在缺血后不同的时间分别出现,各阶段互有重叠并非孤立存在⁽¹⁾。

1.1 兴奋性毒性阶段 能量衰竭引起兴奋性谷氨酸的释放,造成细胞的兴奋性毒性损伤。细胞膜上的谷氨酸受体是发生兴奋性毒性的门户,细胞内 Ca^{2+} 增加, N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体控制 Ca^{2+} 、 Na^+ 和 K^+ 通道,阻断 NMDA 受体可以保护脑组织。

1.2 梗死灶周围去极化阶段 紧接第 1 阶段的能量衰竭, K^+ 和谷氨酸释放而发生梗死灶周围去极化。在缺血的核心区,细胞发生缺氧去极化和神经的复极过程,在缺血半影区,细胞可以复极,但要消耗更多的能量,增加细胞外的谷氨酸和 K^+ 可使同一细胞再次去极化,随去极化的增加,梗死加重,减少去极化的药物可以减轻梗死灶大小。阻断 NMDA 和 α -氨基-3-羟基-5-甲基 4 异恶唑丙酸(AMPA)受体拮抗剂能阻断梗死灶周围去极化。

1.3 炎症阶段 来自血液和脑组织的细胞因子产生炎症免疫反应。与 Ca^{2+} 有关的细胞内第二信使的激活、氧自由基、一氧化氮(NO)的增加以及缺氧本身触发转录因子的合成,使炎症基因核因子-kB、干扰

素调节因子 1 大量表达,受损的脑细胞产生血小板活化因子(PAF)、肿瘤坏死因子(TNF)- α 和白细胞介素 1β (IL- 1β)等。继而,内皮细胞表面产生细胞间粘附分子-1(ICAM-1)和选择素。粘附分子与中性粒细胞的表面受体结合,中性粒细胞粘附于内皮细胞,通过血管壁进入脑实质。巨噬细胞和单核细胞也接着迁移到缺血的脑组织。受损的脑细胞产生 IL-8 和单核细胞化学吸附蛋白 1(monocyte chemoattractant protein 1)等化学因子,使血源的炎症细胞迁移到其作用的靶组织脑区,这一阶段的治疗是阻止中性粒细胞的浸润、抑制一氧化氮合酶和环氧合酶(cyclooxygenase2, COX2)。

1.4 细胞程序性死亡 在缺血早、晚期,缺血半影区中都有天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶(caspase)家族和抑制凋亡的基因(Bcl-2、Iap)或促进凋亡的基因[Bax、Trp53(以前称 p53)]的表达。Caspase 1 和 3 对缺血介导的凋亡起着关键作用。阻断 Caspase 或促进 Bcl-2 表达的药物可以增强半影区脑细胞对缺血的耐受。

2 阻断或抑制谷氨酸释放的天然药物 钙超载损害线粒体结构、功能,激活蛋白酶、蛋白激酶,引起血管收缩,促进兴奋性氨基酸的释放,促进自由基生成而导致神经元坏死。灯盏花素是灯盏花的有效成分,陈康宁等⁽²⁾报道注射灯盏花注射液可抑制蛋白激酶,防止钙超载,保护神经元。何英等⁽³⁾报道海风藤可降低细胞内钙含量,改善缺血后神经元超微结构的损害。韩恩吉等⁽⁴⁾报道绿茶通过降低细胞胞浆钙离子而抑制 PAF 对神经细胞的损害。吴俊芳等⁽⁵⁾报道小檗碱抑制缺血性损伤诱导的 $[Ca^{2+}]_i$ 异常升高,减少脂质过氧化生成,增加抗氧化物质的含量。徐琪等⁽⁶⁾报道红景天甙明显降低 NMDA 对神经细胞的损伤。

3 减轻炎症的天然药物

3.1 对自由基的作用 目前多数天然药物的研究集中在自由基这一环节。周兰兰等⁽⁷⁾报道了银杏叶提取物抗脂质过氧化、增强抗氧化酶活性及抑制 PGE₂ 的生成。徐琪等⁽⁸⁾报道对在体的脑缺血损伤,红景天可以提高 SOD 的活性及含量,改善脑细胞的能量代谢,提高 $Na^+ - K^+ - ATPase$ 活性,使 OFR 生成减少,清除加速, LPO 含量降低,减轻自由基引起的细胞膜结

* 国家自然科学基金资助项目(No. 39970935)和湖北省自然科学基金资助项目(No. 98J099)

1. 武汉大学中南医院(武汉 430071); 2. 军事医学科学院基础医学研究所

构和功能的损伤;作者还报道了在体和离体实验中观察到红景天抑制再灌注损伤引起的 NO 升高,降低内皮素的含量⁽⁶⁾。石晶等⁽⁹⁾报道姜黄素抑制自由基的生成和清除自由基。廖维靖等⁽¹⁰⁾报道当归的保护作用主要是抑制自由基的产生。陈志武等⁽¹¹⁾报道金丝桃甙减少脂质过氧化及 NO。五味子酚、丹酚酸 A 是红花、五味子和丹参的有效成分,李莉等⁽¹²⁾的研究提示两者对离体和在中枢神经细胞具有保护作用。李天威等^(13,14)报道人参皂甙和红景天甙对神经细胞的自由基损伤具有保护作用。

3.2 对炎性细胞浸润的作用 雷万龙等⁽¹⁵⁾报道川芎嗪对单核或巨噬细胞的浸润和血管内皮细胞 I-CAM-1 mRNA 和蛋白质的表达有明显的抑制作用。

3.3 对细胞因子的作用 姜科植物郁金香中提取的 β -榄香烯乳可以降低脑缺血区 TNF- α 的水平⁽¹⁶⁾。

4 抑制细胞凋亡的天然药物 李莉等⁽¹²⁾的研究提示五味子酚、丹酚酸 A 阻抑 H₂O₂、NMDA、“缺血/再灌”因素诱导的细胞凋亡。孟刚等⁽¹⁷⁾报道芸香苷减少神经元的凋亡数目。

5 天然药物的调节作用

5.1 调节星形胶质细胞 梅建勋等⁽¹⁸⁾报道人参、丹参、麦冬、黄连等成分的水煎剂灌服家兔,含中药的脑脊液可明显增加星形胶质细胞的数量、突起长度或数量。刘鸿宇等⁽¹⁹⁾报道补阳还五汤促进脑损伤后星形胶质细胞的增殖。

5.2 调节碱性成纤维细胞生长因子的表达 刘军等⁽²⁰⁾报道缺血再灌注侧皮层、海马、尾壳核可见碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)样免疫反应加强,丹参组缺血再灌注侧的 bFGF 样免疫阳性反应明显强于对照组,且神经元损伤较轻。

5.3 调节白细胞介素-1 β 转化酶(ICE)D1 的表达 张金涛等⁽²¹⁾报道丹参抑制沙土鼠脑缺血后 ICE 的表达,发挥神经保护作用。

5.4 介导神经肽 雷燕等⁽²²⁾报道复圣散(由人参、地龙、漏芦组成)对脑缺血再灌注后神经肽的含量有调节作用,部分改善缺血诱导的内皮素、神经肽 Y、生长抑素和降钙素基因相关肽的异常释放,缓解缺血缺氧所致的代谢紊乱,调节脑血流量,最大程度保留神经功能。

6 天然药物对再灌注(活血化瘀)的作用 有些中药不仅能影响级联反应中的某一阶段,同时还改善血液循环。马丽焱等⁽²³⁾报告葛根总黄酮、三七总皂甙、氧化苦参碱、小檗碱可增加脑局部血流量。对培养神经细胞,三七总皂甙能拮抗谷氨酸介导的兴奋性

毒性。三七总皂甙直接保护脑细胞、改善组织血液循环是其作用的基础。岑得意等⁽²⁴⁾报道川芎嗪对脑梗塞的保护作用可能与抑制血小板聚集及抗自由基有关。王洁等^(25,26)报道总丹酚酸(丹参的水提物成分)可缩小脑梗塞的面积,减轻水肿,降低脑缺血后 TXA₂ 的增高,改变 PGI₂/TXA₂ 的比值;抑制谷氨酸的释放。文献显示当归的活血化瘀作用⁽¹⁰⁾。活血化瘀类的中药其作用十分复杂,除改善血液循环外还作用在级联反应的多个阶段。

7 问题与治疗策略 尽管目前研究天然药物对脑缺血损伤的报道已逾百篇,仔细分析这百篇文献各位作者的研究,不难发现少数文献存在一些问题或不足。为了使研究规范化和系统化,在前人工作的基础上,我们提出几点看法,跟大家一起讨论。(1)部分研究因实验模型存在缺陷,结果令同行难以信服。笔者在国外实验室学习所见,对研究脑缺血的模型,体温(头颅温度、直肠温度)、血糖、动脉血气、动脉血压、脑血流量是不可缺少的指标。建立标准化、规范化的脑缺血动物模型,才能使研究结论达到真正意义上的严谨和可信⁽²⁷⁾。(2)投药时间超过时间窗,结果不能被接受。级联反应的 4 个阶段有其各自的时限,每种药物都有其作用的时间窗,对某一阶段而言,在时限后给药已不能对该阶段产生作用。在时间窗之后给药是否真有保护作用?通常情况下,动物可以自身恢复其部分功能。因此,少数报道不免被质疑。(3)部分研究使用复方药,难以明确复方中起作用的具体成分和机制,对阐明治疗机理尚有不足。(4)对级联反应第 2、4 阶段起作用的药物研究远远不够,尤其是影响第 2 阶段的药物未见报道。(5)星形胶质细胞的增殖并不等于神经营养作用,这已成定论。

脑缺血疾病的理想治疗是在时间窗期间尽快恢复灌注和脑保护两方面,活血化瘀是问题的一方面,更需要强调对脑组织的保护。了解损伤级联反应 4 个阶段的因果、相互影响及发生时间有助于选择用药。目前多数药物是选择性地作用于其中 1 个阶段,还未找到能作用于 4 个阶段的药物,事实上也难有这样的药物,即使是人工合成也难以进行设计。对第 3 个问题,我们并非否定复方药或复合成分,因为中药有多种成分,对损伤级联反应的研究,下列问题有待解决:(1)寻找更多的能在多环节起作用的中药;(2)在药物对级联反应干预方面已有良好影响的基础上,应着重观察其多环节的作用;(3)进一步明确药物作用的首要 and 主要靶点。

8 展望 损伤级联反应理论的提出,有助于加深

认识脑缺血损伤过程, 帮助理清脉络指导治疗, 是把握脑保护的主线。了解级联反应过程, 根据药物作用机理的不同, 可以选择不同的药物, 并设计能影响或阻断其中某一环节的药物, 而达到治疗目的。天然药物的长处是毒副反应小, 使用安全, 然而, 其作用的广泛性有时使其对各阶段的作用显得不突出。从天然药物中筛选影响级联反应的有效成分不失为一个研究方向, 具有活血和神经保护双重作用的药物无疑是理想的药物, 也是进行成分筛选的目的和方向。

参 考 文 献

1. 廖维靖, Frank Wiegand, Ulrich Dirnagl. 脑缺血损伤的病理生理机制——损伤级联反应. 国外医学脑血管疾病分册 1998;6(4):197—202.
2. 陈康宁, 董为伟. 灯盏花注射液对脑缺血损伤的防治作用. 中国中西医结合杂志 1998;18(11):684—686.
3. 何 英, 王东武, 邓志宽, 等. 海风藤对犬脑干缺血后细胞内钙含量和超微病理改变影响的研究. 中风与神经疾病杂志 1996;13(4):199—200.
4. 韩恩吉, 韩雪飞, Joseph Rajiv. 绿茶抑制血小板活化因子对神经细胞的损害. 中风与神经疾病杂志 1998;15(6):323—325.
5. 吴俊芳, 刘少林, 潘鑫鑫, 等. 小檗碱对培养大鼠神经细胞“缺血”性损伤的保护作用. 中国药理学通报 1999;15(3):243—246.
6. 徐 琪, 祝世功, 周家文, 等. 红景天保护缺血再灌注损伤鼠脑细胞的作用及机理研究. 中风与神经疾病杂志 1999;16(3):144—146.
7. 周兰兰, 明 亮, 江 勤, 等. 银杏叶提取物对反复脑缺血再灌注损伤的保护作用. 中国中西医结合杂志 2000;20(5):356—358.
8. 徐 琪, 郭中钰, 康劲松, 等. 红景天对大鼠脑缺血再灌注时自由基损伤保护作用的实验研究. 白求恩医科大学学报 1999;25(3):232—234.
9. 石 晶, 陶 沂, 胡晋红, 等. 姜黄素对缺血再灌注大鼠脑组织 SOD、MDA 和亚硝酸盐含量的影响. 第二军医大学学报 1999;20(6):386—387.
10. 廖维靖, Frank Wiegand, Ulrich Dirnagl, 等. 当归对大鼠脑缺血损伤保护作用的实验研究. 中草药 1999;30(4):273—275.
11. 陈志武, 章家胜, 马传庚. 金丝桃甙对大鼠脑梗塞的保护作用. 中国中药杂志 1998;23(10):626—628.
12. 李 莉. 五味子酚等三种抗氧化剂对氧化应激损伤中枢神经细胞的保护作用及其作用机理研究. 生理科学进展 1998;29(1):35—38.
13. 李天威, 孔乐凯, 熊 文, 等. 人参皂甙对培养大鼠皮层神经细胞 O_2 和 H_2O_2 损伤的保护作用. 白求恩医科大学学报 1998;24(2):130—132.
14. 李天威, 孔乐凯, 母敬郁, 等. 红景天甙对培养大鼠皮层神经细胞 O_2 和 H_2O_2 损伤的保护作用. 中风与神经疾病杂志 1997;14(3):143—144.
15. 雷万龙, 刘 勇, 袁群芳, 等. 川芎嗪对脑缺血保护作用的实验研究. 中华神经科杂志 2000;33(4):100.
16. 李 伟, 乔 健, 吕传真. 大鼠局灶性脑缺血再灌注模型纹状体内 IL-1 β 和 TNF- α 动态变化及药物干预. 中风与神经疾病杂志 1998;15(5):262—264.
17. 孟 刚, 陈志武, 马传庚. 芸香苷对小鼠急性脑缺血损伤的保护作用. 中国药理学通报 2000;16(3):305—307.
18. 梅建勋, 张伯礼, 陆 融. 中药脑脊液药理学研究方法的初建——对中药影响星形胶质细胞神经营养作用的观察. 中草药 2000;31(7):523—526.
19. 刘鸿宇, 张海鸿, 刘汉明, 等. 补阳还五汤对脑损伤鼠星形胶质细胞增殖的影响. 中风与神经疾病杂志 1997;14(2):95—96.
20. 刘 军, 吴卫平, 匡培根. 丹参对脑缺血再灌注的神经保护作用——成纤维细胞生长因子上调. 中国神经免疫学和神经病学杂志 1996;3(4):225—229.
21. 张金涛, 吴卫平, 匡培根. 丹参对脑缺血再灌注后白细胞介素-1 β 转化酶表达的影响. 中华老年心脑血管病杂志 2000;2(2):124—127.
22. 雷 燕, 黄启福, 王水炎. 中药复圣散对高脂血症大鼠脑缺血再灌注后脑内若干神经肽含量的影响. 中国中西医结合杂志 2000;20(5):356—358.
23. 马丽姝, 肖培根, 郭宝林, 等. 几种中药成分对脑组织的保护作用. 中国中药杂志 1999;24(4):238—239.
24. 岑得意, 陈志武, 宋必卫, 等. 川芎嗪对大鼠脑梗塞的保护作用. 中国药理学通报 1999;15(5):464—466.
25. 王 洁, 张均田. 总丹酚酸抗脑缺血与抗血栓的关系. 中国药理学通报 1999;15(3):237—239.
26. 王 洁, 张均田. 总丹酚酸的抗脑缺血和抑制谷氨酸释放作用. 中国药理学与毒理学杂志 1999;13(3):197—199.
27. 王 伟. 严格控制实验条件, 建立标准化脑缺血模型. 中华神经科杂志 1998;31(5):261—263.

(收稿:2001-05-20 修回:2002-04-08)