

远端缺血后适应在缺血性脑卒中的研究进展

周丽枝 胡云 周礼鑫 童理 杨剑文

摘要 急性缺血性脑卒中是世界范围人口死亡和功能障碍的重要原因之一,严重威胁人类的健康和正常生活。大量研究表明,远端缺血后适应对脑缺血/再灌注损伤有保护意义,主要的作用有抑制炎症反应、保护血-脑脊液屏障、改善脑循环、减少脑梗死体积等。本文主要介绍远端缺血后适应在急性缺血性脑卒中的潜在作用和神经保护机制,旨在为远端缺血后适应临床应用提供理论依据。

关键词 远端缺血后适应 急性缺血性脑卒中 神经保护机制 临床应用

中图分类号 R74

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2022.07.040

急性缺血性脑卒中(acute ischemic stroke, AIS)是世界范围人口死亡和功能障碍的重要原因之一,严重威胁人类的健康和正常生活。目前最主要的治疗方式是静脉溶栓治疗,但由于治疗时间窗的限制(< 4.5h),只有部分患者符合治疗适应症,且溶栓治疗会增加脑出血的风险^[1]。另外,有研究表明,脑缺血/再灌注损伤会导致脑组织损伤的进一步加重^[2]。因此,寻找创新的方法来减少脑组织的缺血/再灌注损伤和改善临床预后十分重要。

远端缺血后适应(remote ischemic postconditioning, RPostC)是指通过远端的组织或器官实施非致死性的缺血/再灌注干预,从而减轻重要器官的缺血/再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)损伤。大量研究表明,RPostC有抑制炎症反应、保护血-脑脊液屏障、改善脑循环、减少脑梗死体积等神经保护作用^[3,4]。因此,深入探讨远端缺血后适应在急性缺血性脑卒中的潜在作用和神经保护机制,可为急性缺血性脑卒中的治疗提供新的依据及策略。

一、远端缺血后适应概念的发展与演变

1986年,Murry等^[5]提出缺血预处理的概念,缺血预处理(ischemic preconditioning, IP)指在组织或器官发生缺血损伤前,予以短周期的缺血/再灌注干预,从而保护减轻组织或器官的I/R损伤。在犬的缺血模型中,他们证实缺血预处理启动心脏保护作用,并使心肌对缺血损伤具有抵抗性。但由于难以预测缺

血事件的发生时间,这使得缺血预处理的临床意义受限。2003年,Zhao等^[6]提出缺血后适应(ischemic postconditioning, IPostC),指组织或器官发生缺血后,予以短周期的缺血/再灌注处理,从而减轻组织或器官的I/R损伤。而后,在2006年Zhao等^[7]将缺血后适应进行脑保护研究,并证实IPostC通过减少细胞凋亡和自由基产物实现神经保护作用。但由于IPostC触发脑保护的前提条件是引发脑组织的另一次缺血事件,这可能对缺血、缺氧敏感的脑组织造成不可逆的损害,因此IPostC临床应用的可行性及安全性较低。

RIPostC是指通过远端的组织或器官实施非致死性的缺血/再灌注干预,以此减轻重要器官的I/R损伤^[8]。2005年Kerendi^[9]等在鼠心肌缺血模型中,通过对肾动脉予以反复的缺血/再灌注干预,证明RIPostC对I/R损伤的保护意义。在后续的研究中,Zong等^[10]研究发现,RIPostC通过抑制HIF-1的过表达来抑制炎症反应,从而减少脑I/R损伤。Li等^[11]研究证明,RIPostC通过抑制细胞凋亡实现神经保护作用。Landman等^[12]对AIS患者予以RIPostC干预,通过观察梗死面积和临床预后,证实RIPostC临床应用的有效性及其安全性。

二、远端缺血后适应的分类

RIPostC可根据干预的时间分为快速远端缺血后适应和延迟远端缺血后适应。快速远端缺血后适应在I/R后几秒钟至几分钟进行干预,而延迟远端缺血后适应在I/R后几小时或2天后开始干预^[13]。

2009年Ren等^[14]在永久性大脑中动脉闭塞和30min双侧颈总动脉闭塞模型中,对左股动脉即刻行RIPostC干预,证实快速RIPostC对AIS具有明确的

基金项目:湖南省卫生健康委员会基金资助项目(202203072442)

作者单位:410005 长沙,湖南省人民医院(湖南师范大学附属第一医院)

通信作者:杨剑文,主任医师,电子信箱:yangjw941168@sina.com

保护意义。2012年 Sun 等^[15]在实验中,以大鼠大脑中动脉闭塞 90min,再灌注 72h 为模型,在再灌注 3h 和 6h 对双侧股动脉行延迟性 RIPostC 处理,结果显示,再灌注后 6h 的延迟性 RIPostC 比在 3h 有更好的神经保护作用。目前远端缺血后适应并无统一的实施方案。因此,标准化远隔缺血后适应的干预方式(包括周期数、每个周期的缺血和再灌注持续时间、缺血间隔时间),可能是将其从临床前研究转化为临床应用的关键点。

三、远端缺血后适应的机制假说

1. 体液假说:在心血管方面的研究中,笔者发现存在保护性因子从条件部位通过血管传递并转运至目标器官,从而引起心脏内源性保护作用^[16]。而后在 RIPostC 与 AIS 的研究中体液因素也得到证实,其中 NO 合酶(NOS)是重要的介导物质。Pignataro 等^[17]研究证实,RIPostC 可上调大鼠中枢神经系统神经元 NOS 的表达,当抑制神经元 NOS 的表达或阻断神经节的传递都可阻止 RIPostC 诱导的神经保护,这表明体液机制与神经机制都参与其中。另外,Hess 等^[18]研究发现,RIPostC 可诱导亚硝酸盐增多,然后亚硝酸盐可通过血液循环由外周转运至大脑,并在 I/R 损伤区域还原为 NO,最终 NO 介导缺氧性血管舒张从而改善脑血流量。

2. 神经假说:2009年,Ren 等^[14]在缺血性脑卒中模型中,通过注射辣椒素(一种传入神经阻滞剂)消除肢体 RIPostC 的保护作用,证实 RIPostC 是通过调节神经活动来阻断 I/R 损伤。2012年,Sun 等^[19]研究发现,迷走神经局部电刺激(electric stimulation, ES)可减少大鼠脑梗死体积。以此为基础,2015年 Xiao 等^[20]通过神经切除术阻断 ES 的保护作用,证实 ES 作用中有传入神经的信号传递机制。然后将 RIPostC 联合 ES 的组和各自单独组进行比较,发现联合组并不能增强神经保护作用,这说明 RIPostC 和 ES 一样都可通过神经传导机制介导脑保护作用。进一步的研究中,Wang 等^[21]通过蛋白质印迹和免疫荧光

染色的方式评估神经突触发生,结果显示 SYN1、PSD95 和 GAP43 表达增加,这说明 RIPostC 可能通过促进突触形成实现神经保护意义。

3. 免疫假说:2009年,Hug 等^[22]研究发现,AIS 可诱导的外周免疫抑制综合征的发生,包括淋巴细胞减少,T 辅助细胞损伤和单核细胞功能障碍。后来,Liu 等^[23]在局灶性缺血小鼠模型中,通过分析免疫细胞群以及炎性细胞因子,结果表明 RIPostC 显著抑制脾脏和淋巴结的 CD4⁺T 细胞、血液和淋巴结的 CD8⁺T 细胞以及脾脏中自然杀伤性 T 细胞的降低,并抑制梗死脑组织 IL-4 水平的升高,这证实 RIPostC 可通过调节中枢及外周免疫实现脑保护作用。

4. 最终途径:2012年,Sun 等^[15]在局灶性脑 I/R 损伤大鼠模型中,实验发现使用开放剂二氮嗪可以保护脑组织 I/R 损伤,而使用 ATP 敏感的钾离子(KATP)阻滞剂 5-羟基羧酸可以逆转 RIPostC 的神经保护作用,这表明 RIPostC 可通过打开 KATP 通道减少 I/R 损伤。Huang 等^[24]在大鼠心跳骤停模型中,证实 RIPostC 通过 PINK1/Parkin 信号通路抑制线粒体过度激活,从而实现对模型大鼠神经功能的保护。因此笔者推测,RIPostC 对脑的保护机制中可能存在一种最终途径。其中,RIPostC 可开放 KATP 通道,阻止线粒体通透性转换孔的打开,维持正常线粒体功能,从而减少 I/R 损伤。

总的来说,目前关于远端缺血后适应在 AIS 中的神经保护机制是尚不明确的。因其复杂性、多因素性以及多种机制联合作用的缘故,需要更加完善的探索与研究。

四、远端缺血后适应的临床应用

基于临床前研究的理论依据,目前在临床研究中有许多关于 RIPostC 的报道,其中肢体短暂缺血-再灌注处理是最常用的干预方法。关于远端缺血后适应在急性缺血性脑卒中患者中的临床研究表明,RIPostC 在 AIS 治疗中临床可行性强,安全性高,且具有神经保护作用(表 1)。

表 1 RIPostC 在 AIS 患者中的临床研究

第一作者	发表年份(年)	纳入患者数(n)	临床结果
Zhao ^[25]	2018	20	RIPostC 对急性前循环大血管闭塞并接受 ET 治疗的 AIS 患者具有可行性和安全性
李海霞 ^[26]	2018	133	RIPostC 可改善老年 AIS 患者的神经功能恢复,促进脑血流恢复,但对短期预后无显著影响
Feng ^[27]	2019	104	RIPostC 可改善 AIS 患者的认知功能,例如视觉空间、执行功能以及注意力
Che ^[28]	2019	30	RIPostC 对静脉注射阿替普酶溶栓治疗的 AIS 患者具有可行性和安全性
An ^[29]	2020	68	重复的 RIPostC 联合静脉溶栓治疗可明显促进 AIS 患者神经功能的恢复,并改善其临床预后
Wei ^[30]	2020	106	RIPostC 可以通过增强总的自主神经活动和迷走神经活动来改善 AIS 患者的自主神经功能

ET. 血管内治疗

其中 Zhao 等^[25] 在一项 I 期研究中,对急性前循环大血管闭塞并接受急性血管内治疗 (endovascular treatment, ET) 的患者实施 RPostC 干预,结果显示,所纳入的 10 例患者没有出现严重不良事件,并且绝大部分的患者均完成干预周期。另外,统计分析颅内压、脑灌注压、平均动脉压、心率等指数在干预前、中、后均无明显变化。这说明 RPostC 对急性前循环大血管闭塞并接受 ET 治疗的 AIS 患者临床可行性强、安全性高。An 等^[29] 对 64 例接受静脉溶栓的 AIS 患者进行前瞻性、单中心、随机对照实验,符合纳入标准的患者被随机分为 RIPC 组 ($n = 34$) 和对照组 ($n = 34$),RIPC 组患者在静脉溶栓后 3h 内开始首次干预,予以 5 轮 RIPC 干预周期,包括袖带自动充气 (至 180mmHg 持续 5min) 和放气 (持续 3min),此后住院期间每日 2 次干预周期,而对照组无上述干预。结果显示,在 90 天 RIPC 组患者良好恢复率 (mRS 0 ~ 1 分) 优于对照组。这说明重复的 RPostC 联合阿替普酶静脉溶栓治疗可明显促进 AIS 患者神经功能的恢复,并改善其临床预后。

综上所述,远端缺血后适应作为 AIS 的一种潜在治疗方式,其可行性、安全性及疗效性在临床前和临床实验中均已证实。目前 RPostC 具体的分子机制尚不明确,另外关于干预方法、时间窗的研究也有所欠缺。未来的研究应多角度分析 RPostC 的治疗作用,重点关注实施方案、机制等方面,从而实现远端缺血后适应的临床转化。

参考文献

- 1 Zhang L, Zhang ZG, Chopp M. The neurovascular unit and combination treatment strategies for stroke[J]. Trends Pharmacol Sci, 2012, 33: 415 - 422
- 2 Lin L, Wang X, Yu Z. Ischemia - reperfusion injury in the brain: mechanisms and potential therapeutic strategies [J]. Biochem Pharmacol (Los Angel), 2016, 5(4): 213
- 3 Qi WQ, Zhou FF, Li S, et al. Remote ischemic postconditioning protects ischemic brain from injury in rats with focal cerebral ischemia/reperfusion associated with suppression of TLR4 and NF - κ B expression [J]. Neuroreport, 2016, 27: 469 - 475
- 4 Li J, Hu XS, Zhou FF, et al. Limb remote ischemic postconditioning protects integrity of the blood - brain barrier after stroke[J]. Neural Regen Res, 2018, 13(9): 1585 - 1593
- 5 Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium[J]. Circulation, 1986, 74(5): 1124 - 1136
- 6 Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, 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): H579 - H588
- 7 Zhao Heng, Sapolsky Robert M, Steinberg Gary 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: 1114 - 1121
- 8 Li Zhixing, Chen Hanlin, Lv Jinglei, et al. The application and neuroprotective mechanisms of cerebral ischemic post - conditioning: a review [J]. Brain Res Bull, 2017, 131: 39 - 46
- 9 Kerendi F, Kin H, Halkos ME, et al. Remote postconditioning. Brief renal ischemia and reperfusion applied before coronary artery reperfusion reduces myocardial infarct size via endogenous activation of adenosine receptors[J]. Basic Res Cardiol, 2005, 100(5): 404 - 412
- 10 Zong Y, Jiang L, Zhang M, et al. Limb remote ischemic postconditioning protects cerebral ischemia from injury associated with expression of HIF - 1 α in rats[J]. BMC Neurosci, 2015, 16: 97
- 11 Li H, Zhou S, Wu L, et al. The role of p38MAPK signal pathway in the neuroprotective mechanism of limb postconditioning against rat cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. J Neurol Sci, 2015, 357(1 - 2): 270 - 275
- 12 Landman T, Schoon Y, Warlé M, et al. The effect of repeated remote ischemic postconditioning on infarct size in patients with an ischemic stroke (REPOST): study protocol for a randomized clinical trial[J]. Trials, 2019, 20(1): 167
- 13 麦尔哈巴·奥布力, 李红燕. 远隔缺血后适应在脑卒中中的应用的研究进展[J]. 中国临床神经科学, 2019, 27(4): 472 - 478
- 14 Ren C, Yan Z, Wei D, et al. Limb remote ischemic postconditioning protects against focal ischemia in rats[J]. Brain Res, 2009, 1288: 88 - 94
- 15 Sun J, Tong L, Luan Q, 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
- 16 Donato M, Evelson P, Gelpi RJ. Protecting the heart from ischemia/reperfusion injury: an update on remote ischemic preconditioning and postconditioning[J]. Curr Opin Cardiol, 2017, 32(6): 784 - 790
- 17 Pignataro G, Esposito E, Sirabella R, et al. nNOS and p - ERK involvement in the neuroprotection exerted by remote postconditioning in rats subjected to transient middle cerebral artery occlusion[J]. Neurobiol Dis, 2013, 54: 105 - 114
- 18 Hess DC, Hoda MN, Khan MB. Humoral mediators of remote ischemic conditioning: important role of eNOS/NO/Nitrite[J]. Acta Neurochir Suppl, 2016, 121: 45 - 48
- 19 Sun Z, Baker W, Hiraki T, et al. The effect of right vagus nerve stimulation on focal cerebral ischemia: an experimental study in the rat[J]. Brain Stimul, 2012, 5(1): 1 - 10
- 20 Xiao Y, Hafeez A, Zhang Y, et al. Neuroprotection by peripheral nerve electrical stimulation and remote postconditioning against acute experimental ischaemic stroke [J]. Neurol Res, 2015, 37(5): 447 - 453

(下转第 183 页)

- factor - kappa B signaling in neonatal mice [J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2020, 40: 320 - 330
- 13 Madanchi H, Shoushtari M, Kashani HH, *et al.* Antimicrobial peptides of the vaginal innate immunity and their role in the fight against sexually transmitted diseases [J]. *New Microbes New Infect*, 2020, 34: 100627
 - 14 Kheir S, Villeret B, Garcia - Verdugo I, *et al.* IL - 6 - elafin genetically modified macrophages as a lung immunotherapeutic strategy against *Pseudomonas aeruginosa* infections [J]. *Mol Ther*, 2022, 30(1): 355 - 369
 - 15 Thomassen JC, Trojan T, Walz M, *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* Reduced neutrophil elastase inhibitor elafin and elevated transforming growth factor - β are linked to inflammatory response in sputum of cystic fibrosis patients with [J]. *ERJ Open Res*, 2021: 7
 - 16 Caruso JA, Akli S, Pagon L, *et al.* The serine protease inhibitor elafin maintains normal growth control by opposing the mitogenic effects of neutrophil elastase [J]. *Oncogene*, 2015, 34: 3556 - 3567
 - 17 Wang CW, Liao YD, He W, *et al.* Elafin promotes tumour metastasis and attenuates the anti - metastatic effects of erlotinib via binding to EGFR in hepatocellular carcinoma [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40: 113
 - 18 Azkargorta M, Bregón - Villahoz M, Escobes Z, *et al.* In - depth proteomics and natural peptidomics analyses reveal antibacterial peptides in human endometrial fluid [J]. *J Proteomics*, 2020, 216: 103652
 - 19 Draper DL, Landers DV, Krohn MA, *et al.* Levels of vaginal secretory leukocyte protease inhibitor are decreased in women with lower reproductive tract infections [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2000, 183: 1243 - 1248
 - 20 King AE, Wheelhouse N, Cameron S, *et al.* Expression of secretory leukocyte protease inhibitor and elafin in human fallopian tube and in an in - vitro model of *Chlamydia trachomatis* infection [J]. *Hum Reprod*, 2009, 24: 679 - 686
 - 21 Mukura LR, Hickey DK, Rodriguez GM, *et al.* *Chlamydia trachom-*
- atis regulates innate immune barrier integrity and mediates cytokine and antimicrobial responses in human uterine ECC - 1 epithelial cells [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2017, 78: undefined
 - 22 Sallenave JM. Secretory leukocyte protease inhibitor and elafin/trappin - 2: versatile mucosal antimicrobials and regulators of immunity [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2010, 42: 635 - 643
 - 23 Hezelgrave NL, Seed PT, Chin - Smith EC, *et al.* Cervicovaginal natural antimicrobial expression in pregnancy and association with spontaneous preterm birth [J]. *Sci Rep*, 2020, 10: 12018
 - 24 赵曰霞, 邓莉. 中性粒细胞弹性蛋白酶及与疾病的关系研究进展 [J]. *河北医药*, 2020, 42(11): 1729 - 1733
 - 25 King AE, Critchley HOD, Sallenave JM, *et al.* Elafin in human endometrium: an antiprotease and antimicrobial molecule expressed during menstruation [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88: 4426 - 4431
 - 26 Guedes Neto Ede P, Edelweiss MI, de Moraes GS, *et al.* The influence of hydrosalpinx on endometrial elafin expression [J]. *Fertil Steril*, 2011, 95: 2673 - 2675
 - 27 Neto EP, Fuhrich DG, Carson DD, *et al.* Elafin expression in mucosa of fallopian tubes is altered by hydrosalpinx [J]. *Reprod Sci*, 2014, 21: 401 - 407
 - 28 Allaey I, Ribeiro de Vargas F, Bourgoin SG, *et al.* Human inflammatory neutrophils express genes encoding peptidase inhibitors: production of elafin mediated by NF - κ B and CCAAT/enhancer - binding protein β [J]. *J Immunol*, 2021, 206: 1943 - 1956
 - 29 Grudzinski M, Fuhrich DG, Savaris RF. Expression of elafin in fallopian tubes of ectopic pregnancies is reduced [J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2015, 23: 349 - 354
 - 30 Zakizadeh F, Mahmoudzadeh - Sagheb H, Asemi RA, *et al.* Upregulation of elafin expression in the fallopian tube of ectopic tubal pregnancies compared to the normal tubes [J]. *J Reprod Immunol*, 2020, 141: 103136

(收稿日期: 2021 - 12 - 23)

(修回日期: 2021 - 12 - 27)

(上接第 179 页)

- 21 Wang Y, Zhang Z, Zhang L, *et al.* RLIPPostC protects against cerebral ischemia through improved synaptogenesis in rats [J]. *Brain Inj*, 2018, 32(11): 1429 - 1436
- 22 Hug A, Dalpke A, Wiczorek N, *et al.* Infarct volume is a major determinant of post - stroke immune cell function and susceptibility to infection [J]. *Stroke*, 2009, 40(10): 3226 - 3232
- 23 Liu C, Yang J, Zhang C, *et al.* The changes of systemic immune responses during the neuroprotection induced by remote ischemic postconditioning against focal cerebral ischemia in mice [J]. *Neurol Res*, 2019, 41(1): 26 - 36
- 24 Huang Y, Gao X, Zhou X, *et al.* Remote ischemic postconditioning inhibited mitophagy to achieve neuroprotective effects in the rat model of cardiac arrest [J]. *Neurochem Res*, 2021, 46(3): 573 - 583
- 25 Zhao W, Che R, Li S, *et al.* Remote ischemic conditioning for acute stroke patients treated with thrombectomy [J]. *Ann Clin Transl Neurol*, 2018, 5(7): 850 - 856
- 26 李海霞, 郭倩, 沈月贞, 等. 远隔缺血后适应对老年急性脑梗死患者预后的影响 [J]. *中华老年医学杂志*, 2018, 37(11): 1218 - 1222
- 27 Feng X, Huang L, Wang Z, *et al.* Efficacy of remote limb ischemic conditioning on poststroke cognitive impairment [J]. *J Integr Neurosci*, 2019, 18(4): 377 - 385
- 28 Che R, Zhao W, Ma Q, *et al.* rt - PA with remote ischemic postconditioning for acute ischemic stroke [J]. *Ann Clin Transl Neurol*, 2019, 16, 6(2): 364 - 372
- 29 An JQ, Cheng YW, Guo YC, *et al.* Safety and efficacy of remote ischemic postconditioning after thrombolysis in patients with stroke [J]. *Neurology*, 2020, 95(24): e3355 - e3363
- 30 Wei L, Liang H, Mo M, *et al.* The effect of remote ischemic postconditioning on autonomic function in patients with acute ischemic stroke: a randomized controlled trial [J]. *Complement Ther Med*, 2020, 54: 102541

(收稿日期: 2022 - 02 - 24)

(修回日期: 2022 - 02 - 28)