

DOI: 10.16781/j.0258-879x.2018.09.1040

· 专题报道 ·

缺血性脑卒中神经保护治疗的研究进展

李 嵩^{1,2}, 骆 银¹, 杨鹏飞^{1*}, 刘建民^{1*}

1. 海军军医大学(第二军医大学)长海医院脑血管病中心, 上海 200433

2. 海军军医大学(第二军医大学)研究生院学员二大队, 上海 200433

[摘要] 脑卒中是一种严重影响人类生命和生活质量的中枢神经系统疾病, 全球死亡率排序位列第2位。目前缺血性脑卒中的临床治疗策略主要是静脉溶栓及机械取栓疗法, 然而, 这些治疗方法不能有效防止缺血引起的脑组织损伤与功能障碍, 需要寻找能够有效防止脑缺血损伤与脑缺血-再灌注损伤的神经保护疗法。本文回顾了近年防治缺血性脑卒中后神经功能损伤药物, 包括离子通道阻断剂、抗氧化剂、抗炎药物、凋亡抑制剂等的研究进展, 对这些药物的特点和优劣进行分析, 并总结了非药物神经保护疗法。

[关键词] 缺血性脑卒中; 神经保护; 再灌注损伤; 抗氧化剂

[中图分类号] R 743.3

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2018)09-1040-07

Advance in neuroprotective therapy for ischemic stroke

LI He^{1,2}, LUO Yin¹, YANG Peng-fei^{1*}, LIU Jian-min^{1*}

1. Stroke Center, Changhai Hospital, Navy Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

2. The Second Student Team, Graduate School, Navy Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

[Abstract] Stroke is a central nervous system disease that seriously affects the quality of life of the victims, with the second highest mortality among all the diseases in the world. At present, the main clinical treatment strategies for acute ischemic stroke are intravenous thrombolysis and mechanical thrombectomy, whereas these strategies do not protect patients from ischemia injury and functional disorder. Therefore, it is necessary to find neuroprotective methods to ameliorate ischemic injury and ischemic/reperfusion injury. This review summed up the current studies on the drugs which prevent and treat neurologic impairment after ischemic stroke, including ion channel blocker, antioxidant, anti-inflammatory agent, anti-apoptotic agent, analyzed the characteristics and advantages and disadvantages, and summarized several non-drug neuroprotective therapies.

[Key Words] ischemic stroke; neuroprotection; reperfusion injury; antioxidants

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2018, 39(9): 1040-1046]

脑血管病是一种高发病率、高死亡率的中枢神经系统疾病, 其中脑卒中现已成为全球第二大死亡原因^[1]。近年研究表明, 70%的脑卒中为缺血性脑卒中^[2]。虽然静脉溶栓及机械取栓疗法是目前早期治疗缺血性脑卒中的主要方法, 但其时间窗及适用范围较窄(静脉溶栓治疗适应证: 年龄≤80岁且发病时间≤4.5 h或年龄>80岁且发病时间≤3 h; 机械取栓治疗适应证: 发病时间≤6 h)^[3], 因此治疗效果不理想。研究表明, 缺血后神经保护治疗可以显著延长静脉溶栓治疗时

间窗^[4]。本文回顾了近年关于缺血性脑卒中神经保护药物的研究, 从兴奋性毒性、钙超载、自由基损伤、炎性反应以及神经元凋亡等多种缺血性脑卒中病理生理机制方面对这些药物进行了探讨, 并初步总结缺血性脑卒中的非药物性神经保护治疗方法。

1 离子通道阻断剂

发生缺血性脑卒中时脑组织处于能量剥夺状态, 引起细胞膜能量依赖性离子通道或离子泵失活, 从而导致膜电位发生去极化。突触前膜电压依

[收稿日期] 2018-07-22 **[接受日期]** 2018-08-19

[基金项目] 上海市卫生系统优秀人才培养计划(2017YQ034), 上海市浦江人才计划项目(16PJD003). Supported by Outstanding Talent Training Plan of Health System of Shanghai (2017YQ034) and Shanghai Pujiang Talent Program (16PJD003).

[作者简介] 李 嵩, 硕士生. E-mail: lihe2013155@126.com

*通信作者(Corresponding authors). Tel: 021-31161784, E-mail: 15921196312@163.com; Tel: 021-31161784, E-mail: chstroke@163.com

赖性钙离子通道被激活并释放兴奋性氨基酸如谷氨酸和天冬氨酸, 最终产生细胞兴奋性毒性作用, 使细胞内钙离子、钠离子和氯离子浓度以及水增加, 进一步加重神经元损伤。

钙离子通道阻断剂通过抑制钙离子内流不仅可以减少神经元突触前膜兴奋性氨基酸的释放和细胞内钙超载, 而且可使脑血管扩张、脑血流量增加, 在缺血性脑卒中的治疗中发挥重要作用。例如降压药物尼莫地平可以穿透血脑屏障, 并通过扩张脑血管、增加脑血流量而对缺血性脑卒中发挥神经保护作用^[5]。此外, 2015年有学者发现一种新型海洋真菌提取物 Xyloketal B, 可以改善氧糖剥夺导致的细胞死亡, 机制研究发现其是通过减少钙离子内流、抑制细胞凋亡而发挥作用的^[6]。

谷氨酸和天冬氨酸是中枢神经系统可调节快速兴奋性突触的神经递质, *N*-甲基-*D*-天冬氨酸 (*N*-methyl-*D*-aspartic acid, NMDA) 受体是兴奋性氨基酸的主要受体之一。地佐环平 (MK-801) 作为一种非竞争性 NMDA 受体拮抗剂可以阻断 NMDA 离子通道。动物实验研究发现, MK-801 可显著减少脑梗死体积; 然而, 将 MK-801 作为预防缺血性脑卒中保护性药物的临床试验由于其治疗时间窗较窄而失败, 马斯里酸与 MK-801 具有协同效应, 可将 MK-801 的治疗时间窗从 1 h 延长至 3 h^[7]。马斯里酸和 MK-801 联合应用可能是缺血性脑卒中的潜在治疗策略, 但仍有待进一步研究。

2 抗氧化剂

研究表明, 氧化应激与脑缺血的病理生理过程密切相关^[8]。活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 和自由基 (包括超氧阴离子、羟自由基和过氧亚硝基) 在发生缺血性脑卒中后大量产生, 并进一步导致炎症反应、细胞凋亡和组织损伤。正常情况下, 这些自由基可以被过氧化物酶清除; 但发生缺血性脑卒中时, 自由基产生和清除之间的平衡被破坏, 最终导致脑损伤。近年来, 研究者们对以缺血性脑卒中氧化应激的病理生理过程为靶点的神经保护药物进行了探索。

2.1 自由基清除剂 最近, Zang 等^[8]设计并合成了一系列吡喃酮 [3, 2-*a*] 卡唑生物碱, 这些生物碱是从黄皮果中提取的天然产物 Claulansine F 衍生而来。衍生物中的化合物 10a、7c 和 11a 在体外过氧化氢处理细胞模型和氧糖剥夺细胞模型中均表

现出细胞保护作用。其中, 化合物 7c 可以有效清除自由基, 且无论在体外细胞实验还是大脑中动脉闭塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 模型大鼠实验中均表现出很强的活性。此外, 与自由基清除剂依达拉奉比较该衍生物的抗氧化活性更强^[8]。可见, 自由基清除剂可以达到治疗缺血性脑卒中脑损伤的目的, 是未来神经保护药物研究的重要方向。

2.2 磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) /蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 通路激动剂 PI3K/Akt 通路与细胞增殖和存活密切相关, 其激活也参与了部分抗氧化剂的神经保护过程。含葡萄糖苷基团的小合成透明质酸二糖 (small synthetic hyaluronan disaccharides with glucopyranoside group; di4, 6S) 可以提高细胞内谷胱甘肽含量, 并提高体外和体内缺血模型细胞的存活率, 从而发挥抗氧化神经保护作用; 此外, di4, 6S 在产生治疗氧糖剥夺效应的同时, 可以增加脑组织中 p-Akt 的含量, 且这种作用能被 PI3K/Akt 通路抑制剂 LY294002 阻断^[9], 这说明 di4, 6S 的抗氧化神经保护效应与 PI3K/Akt 通路激活有关。Chen 等^[10]设计并合成的四甲基吡嗪衍生物可作为一种治疗缺血性脑卒中的新型神经保护剂, 其中, 化合物 22a 通过激活 PI3K/Akt 通路发挥强大的自由基清除效应, 从而缓解叔丁基过氧化氢 (tert-butyl hydroperoxide, t-BHP) 诱发的神经损伤, 并对 MCAO 模型大鼠有神经保护作用。

既往研究证明了 PI3K/Akt 通路激动剂芝麻酚具有抗氧化活性^[11], 但其由于在体内可被快速清除而限制了进一步应用与研究。芝麻酚联合纳米结构脂质载体 (sesamol-nanostructured lipid carrier, S-NLC) 这一给药方式能够减缓芝麻酚在体内的清除速率, 可更有效地发挥作用; 进一步研究表明, S-NLC 可通过激活 PI3K 途径改善缺血性脑卒中氧化应激^[12]。

因此, PI3K/Akt 通路是治疗缺血性脑卒中患者神经氧化损伤的重要通路, 也是未来缺血性脑卒中药物研发方向之一。目前需注意的是, PI3K/Akt 通路与细胞增殖和存活相关, PI3K/Akt 通路激动剂类药物可能存在潜在致癌性, 因此在将该类药物用于临床研究之前应注意排除其潜在的不良不良反应。此外, S-NLC 这一利用纳米结构脂质作为递药载体的方法可延长芝麻酚在体内的作用时间, 从而提高疗效, 值得进一步研究。

2.3 核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid-2-related factor 2, Nrf2) 激动剂 研究发现 Nrf2 可作为缺血性卒中中神经保护的药物靶点, 原儿茶醛 (protocatechualdehyde, PCA) 可以预防 MCAO 模型大鼠和氧糖剥夺细胞模型脑缺血-再灌注 (糖氧剥夺-恢复) 引起的氧化损伤, 其神经保护作用涉及 Nrf2/血红素加氧酶 1 (heme oxygenase 1, HO-1) 通路^[13]。Huang 等^[14] 研究发现, 作为抗氧化剂的去甲二氢愈创木酸 (nordihydroguaiaretic acid, NDGA) 类似物, 可通过直接清除 ROS 和 Kelch 样环氧丙烷相关蛋白 (Kelch-like epichlorohydrin-associated protein, Keap) /Nrf2/抗氧化反应元件 (anti-oxidant response element, ARE) 途径间接改善氧化应激。在这些类似物中, 化合物 3a 在体内和体外均对脑缺血-再灌注损伤有显著的保护作用, 可能是治疗缺血性卒中的一种前景广阔的化合物。

Nrf2 激动剂与 PI3K/Akt 通路激动剂相似, 具有抗氧化活性而发挥神经保护效应, 需注意的是其有一定致癌作用^[15]。研究表明, Nrf2 激动剂既有抑制肿瘤发生的抗氧化和抗炎作用, 也有促进肿瘤发生、发展的作用^[16], 因此对于以 Nrf2 为靶点的相关药物的临床研究也应慎重。

2.4 还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase, NOX) 抑制剂 NOX 在脑细胞中介导产生超氧化物, 并在脑卒中和脑卒中相关脑血管病的发展中起重要作用^[17]。抑制 NOX 对缺血性卒中中具有神经保护效应。Kim 等^[18]总结了 NOX 抑制剂对缺血性卒中的治疗效果, 抗氧化剂二苯基碘 (diphenylene iodonium, DPI)、夹竹桃麻素、和厚朴酚和白花丹素均可通过阻断 NOX 保护大脑免受脑卒中的影响。Wang 等^[19]设计合成了一系列包含四甲基吡嗪和肉碱亚结构的新型化合物, 并探讨了其在治疗脑卒中相关神经损伤中的潜力和机制。在这些化合物中, LR134 和 LR143 在大鼠脑缺血-再灌注损伤中表现出显著的神经保护作用; 进一步研究发现, 其神经保护作用与减轻炎症反应和 NOX 介导的氧化应激有关。因此, NOX 抑制剂也是研究治疗缺血性卒中的抗氧化神经保护药物的重要方向之一。

2.5 一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, NOS) 抑制剂 一氧化氮作为缺血性卒中病理生理过程中一种重要的自由基, 主要由诱导型一氧化氮

合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 催化产生。根据 Mahmood 等^[20]的最新研究, 丹酚酸 A 通过抑制内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 的表达和过氧亚硝基的形成对脑缺血-再灌注损伤发挥保护作用。普拉通宁是一种氰化光敏染料, 也是一种有效的抗氧化剂, 可抑制脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 刺激的巨噬细胞一氧化氮合成和 iNOS 表达, 减轻脑屏障损伤, 从而对缺血性卒中中发挥保护作用^[21]。此外, 前文所述的 di4, 6S 也可通过激活 PI3K/Akt 通路抑制 iNOS 表达和自由基产生, 从而发挥神经保护作用^[10]。可见, NOS 抑制剂, 尤其是 iNOS 抑制剂对脑缺血卒中氧化损伤有保护作用。

3 抗炎药物

炎症在脑缺血损伤过程中有重要作用。发生缺血性卒中后, 缺血局部脑组织白细胞聚集和小胶质细胞激活导致多种促炎细胞因子产生。小胶质细胞在大脑炎症中, 尤其是在缺血半暗带内起着重要作用。此外, 发生缺血损伤后内皮细胞、星形胶质细胞和神经元也会分泌促炎细胞因子。这些炎性细胞和促炎细胞因子共同作用导致神经元进一步损伤。因此, 抗炎药物也可能是治疗缺血损伤的重要方法之一。

3.1 促炎细胞因子抑制剂 如前文所述, 脑缺血损伤后小胶质细胞和其他炎性细胞激活并分泌促炎细胞因子, 加重脑损伤。在这一过程中, 核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 等转录因子将被激活, 导致炎性因子增加。研究发现, 雷公藤甲素以 NF- κ B 为靶点发挥抗凋亡活性, 它通过下调 iNOS、环氧合酶 2 (cyclooxygenase 2, COX-2)、胶质纤维酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein, GFAP) 和 NF- κ B 的表达, 对 MCAO 模型大鼠具有抗炎和神经保护作用^[22]。钙通道阻断剂 Xylometazolin B 也可通过抑制 ROS/Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) /NF- κ B 通路, 降低促炎细胞因子白细胞介素 (interleukin, IL) - 1β 、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、IL-6 和干扰素 γ (interferon γ , IFN- γ) 的 mRNA 表达水平, 从而缓解 MCAO 模型小鼠的神经功能缺损^[23]。既往认为, 与丹酚酸 A 相似, 丹酚酸 B 也是一种抗凋亡剂。但根据最近文献报道, 丹酚酸 B 也可通过 CD40/NF- κ B 途径对大鼠脑缺血损伤发挥神经保护作用, 且可剂量依赖性抑制促炎细胞因子细胞间

黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1)、IL-1、IL-6、IL-8 和膜辅助蛋白 1 (membrane cofactor protein 1, MCP-1) 的表达^[24]。Kim 等^[25]设计合成了 2-羟基-4-三氟甲基苯甲酸 (2-hydroxy-4-trifluoromethyl benzoic acid, HTB) 和丙酮酸的酯 {2-[(2-oxopropanoyl)oxy]-4-(trifluoromethyl)benzoic acid, OPTBA}。OPTBA 结合了 HTB 和丙酮酸两种骨架的结构, 在缺血性脑卒中后通过抑制 NF- κ B 激活而发挥神经保护作用, 且其神经保护效果远大于 HTB 和丙酮酸联合治疗效果。在缺血性脑卒中和 LPS 处理的皮质切片中, OPTBA 对小胶质细胞激活和促炎细胞因子表达的抑制效果比 HTB 和丙酮酸更强^[25]。此外, PI3K1 抑制剂 ZSTK474 可以调节小胶质细胞表型转变, 并可抑制小鼠脑缺血-再灌注损伤产生的炎性反应, 减少促炎细胞因子 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 表达, 并通过 PI3K/Akt/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物 1 (mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1) 通路增加抗炎细胞因子 IL-10、TGF- β 表达^[26]。

3.2 一磷酸腺苷活化蛋白激酶 (adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK) 激活剂 AMPK 激活剂可以显著减轻炎症反应, 并抑制各种脑缺血模型中的炎症损伤。最近的一项研究发现, 天然产物 (+)-balasubramide 的衍生物 3C 在体外表现出明显的抗神经炎症作用^[27]。细胞实验中, 它可以下调 LPS 刺激小鼠小胶质细胞 BV2 和原生小胶质细胞中促炎细胞因子的表达; 动物实验中, 它可以通过抗炎作用缓解 LPS 导致的小鼠抑郁样行为, 也可以缩小脑缺血后的梗死灶体积, 但这种抗炎作用可被 AMPK 的 siRNA 或 AMPK 上游 CaMKK β 的 siRNA 阻断。这项研究揭示了 AMPK 激活剂化合物 3C 可通过 AMPK 通路发挥抗炎作用, 也强调了 AMPK 在缓解神经炎症中的重要意义, 但是其作用尚未经临床确认。

3.3 趋化因子受体阻断剂 研究表明, 抑制 CXC 趋化因子受体 4/7 (chemokine CXC motif receptor 4/7, CXCR4/7) 通路能显著改善脑缺血后的神经功能, 并逆转免疫反应。文献报道, 一种新型 CXCR4 阻断剂 CX549 具有神经保护和神经营养效应, 可有效地减弱小胶质细胞的活化, 改善体外实验神经元损伤后的存活和行为功能, 抑制炎症细胞因子的表达; 此外, CX549 对 CXCR4 的亲合力比传统 CXCR4 阻断剂 AMD3100 的亲合力更强^[28]。

这项研究表明, CXCR4 可能是治疗缺血性脑卒中的潜在靶点之一。

4 凋亡抑制剂

脑缺血导致的细胞凋亡是导致神经元死亡的主要原因之一。缺血相关凋亡因子包括 B 细胞淋巴瘤/白血病 2 (B cell lymphoma/leukemia 2, Bcl-2) 蛋白家族和 caspase 蛋白酶家族, 以及 p53、NF- κ B、PI3K/Akt 和 AMPK。Bcl-2 家族和 caspase 家族在细胞凋亡调控中扮演着重要的角色, 二者平衡对凋亡起到关键性调控作用。

4.1 Caspase-3 抑制剂 研究表明, 细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK)、c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK)、p38 以及 caspase-3 活性的调节对神经元凋亡的进展有重要作用。异槲皮素通过抑制 TLR4、NF- κ B、caspase-1 激活, ERK1/2、JNK1/2、p38 MAPK 磷酸化和 TNF- α 、IL-1、IL-6 的分泌, 并调节 cAMP 应答元件结合蛋白 (cAMP response element binding protein, CREB)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2-associated X protein, Bax)、Bcl-2 和 caspase-3 的活性等在细胞和动物实验中发挥神经保护作用^[29]。穿心莲内酯也通过相似机制, 在体外和活体实验动物模型中发挥不同程度的神经保护作用^[30]。除了天然产物外, 许多人工合成和衍生物可通过抑制 caspase-3 活性表现出神经保护作用。Tideglusib 是一种糖原合成酶激酶 3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK-3 β) 抑制剂, 其具有预防或治疗新生儿缺血性脑损伤的潜力, 具体作用机制包括抑制 caspase-3 活性^[31]。因此, caspase-3 抑制剂是目前缺血性脑卒中抗凋亡治疗的主要研究方向之一。

4.2 Bcl-2 激动剂 异槲皮素、Xyloketal B 和 2, 4-二氨基-6-羟基-嘧啶 (2, 4-diamino-6-hydroxypyrimidine, DAHP) 可以通过调节 Bcl-2 和 caspase-3 活性发挥抗凋亡作用^[29]。临床中用于治疗大脑功能紊乱的神经生长因子, 如复方脑肽节苷脂注射液 (compound porcine cerebroside and ganglioside injection, CPCGI), 可以对 MCAO 模型大鼠起到抑制细胞凋亡的作用^[32]。与对照组相比, CPCGI 治疗可增加 MCAO 模型大鼠脑缺血-再灌注损伤后 14 d 缺血皮质中 Bcl-2/Bax 的比值。

4.3 血管紧张素 II 2 型受体 (angiotensin II type 2 receptor, AT2R) 抑制剂 动物实验研究发现

AT2R 激活具有神经保护效应,与野生型小鼠相比,AT2R 缺失小鼠脑缺血后脑梗死灶面积更大,说明 AT2R 的激活对缺血损伤的保护很重要^[33]。化合物 21 是第一个被发现的非肽类 AT2R 激动剂,其可以改善早期和晚期缺血性脑卒中的结局并减少缺血组织的细胞凋亡,参与的细胞因子包括脑源性神经营养因子 (brain derived neurotrophic factor, BDNF)、IL-10、eNOS、p-Akt 和 caspase-3^[34]。化合物 21 除了在青年小鼠缺血性脑卒中模型中早期应用有神经保护作用之外,在年大鼠缺血性脑卒中模型中也有远期神经保护效应^[35]。此外研究表明,化合物 21 通过鼻-脑 (nose-to-brain, N2B) 方式给药可成功地绕过血脑屏障,从而提高药物作用效率^[36]。

4.4 其他凋亡抑制剂 二甲双胍作为一种治疗糖尿病的药物,在脑缺血的情况下也可通过激活 AMPK 调节线粒体功能和凋亡细胞死亡通路^[37]。Apelin-13 可以通过促进 AMPK 磷酸化而减少脑缺血损伤凋亡细胞^[38]。最近研究发现,IMM-H004 对改善糖氧剥夺-恢复诱导的细胞凋亡和治疗短暂全脑缺血-再灌注造成的空间学习障碍有效;进一步机制研究发现,IMM-H004 增强了 PI3K/Akt 通路、促进了生存素-乙型肝炎病毒 X 蛋白相互作用蛋白 (hepatitis B virus X-interacting protein, HBXIP) 复合体的形成^[39]。黄芩苷在缺血缺血性脑病新生小鼠模型中表现出神经保护作用,但 PI3K/Akt 抑制剂 LY294002 可阻断黄芩苷的保护作用,揭示了黄芩苷可以通过调节 PI3K/Akt 通路保护缺血缺血性脑病新生小鼠模型的脑免于损伤^[40]。

5 其他非药物辅助治疗方法

增加脑组织氧供和减少脑组织氧需等缺血性脑卒中后缺血半暗带的抢救方法也是临床治疗的主要研究方向。

5.1 增加脑组织氧与能量供应 大量研究表明,高压氧对缺血性脑损伤具有保护效应。但小规模的前瞻性临床研究中,高压氧并没有表现出明显的保护效应^[41]。因此,学者们开始研究常压氧气治疗。动物实验研究发现,常压氧气处理可以增加实验动物体内氧分压 (PaO₂) 和血氧饱和度;同时,脑组织内氧分压 (PtO₂) 的增加几乎翻倍,且缺血半暗带的 PtO₂ 上升比梗死核心区更为显著,梗死灶体积较小^[42]。临床研究与动物实验的结果相符,均证明了常压氧气治疗缺血性脑卒中的有效性^[43]。

5.2 减少组织氧和能量需要 治疗性低体温疗法通过减少组织能量需要不仅可以对缺血性脑损伤起到保护作用,还对脑缺血-再灌注后的恶化现象有明显抑制作用,包括减轻内皮损伤、减轻血脑屏障破坏、防止白细胞进入脑组织以及减少自由基生成等。无论在基础研究还是临床研究中,低体温疗法均表现出了神经保护效应^[43]。但临床对缺血性脑卒中患者如何实施低体温疗法及其标准仍无定论。

除低体温疗法之外,目前还有一种无痛的非创伤性神经刺激疗法——短暂性直流电刺激法。这种方法通过在颅骨上放置微弱的直流电电极,降低皮质神经元的兴奋性,从而减少能量消耗。研究表明,这种方法可在一定程度上缩小梗死灶体积^[44]。由于其对大脑半球的效应比较广泛,并且无创便携,有很大的临床转化前景。

5.3 干细胞治疗 干细胞治疗在缺血性脑卒中的神经保护作用中具有很大潜力。最近文献报道,人类神经干细胞的细胞外囊泡经静脉注入脑缺血猪模型,可发挥神经保护作用^[45]。这一研究为缺血性脑卒中治疗提供了干细胞疗法的新方向。

6 思考和展望

目前对神经保护药物的临床研究仍值得进一步深入,神经保护药物对于动物和人体产生的作用不同,其原因包括以下几点:(1)人和实验动物大脑结构与功能不同;(2)治疗缺血性脑卒中药物的注射时间窗难以控制;(3)临床研究中,药物在缺血脑组织中很难达到有效的治疗浓度;(4)动物模型相对同质,但人体个体差异大,缺血程度和疾病的变化在临床研究中往往无法控制;(5)临床观察指标和系统敏感性不足以全面反映药物的临床疗效。面对这些问题,研究者们需做出更多的努力和探索:(1)可以用更近缘的灵长类动物评估药物的有效性,以解决人类大脑异质性的问题;(2)神经保护药物机制非常复杂,在临床试验前应在动物实验中充分考察神经保护药物的潜在不良反应;(3)考虑到缺血性脑卒中脑组织损伤的机制复杂,将多种神经保护方法与不同的病理机制相结合并辅以非药物辅助治疗以减少不良反应的发生,这可能是合理的研究思路,有望成为未来神经保护的研究方向。

[参考文献]

[1] GBD 2016 Causes of Death Collaborators. Global,

- regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016[J]. *Lancet*, 2017, 390: 1151-1210.
- [2] WANG W, JIANG B, SUN H, RU X, SUN D, WANG L, et al; NESS-China Investigators. Prevalence, incidence, and mortality of stroke in China: results from a nationwide population-based survey of 480 687 adults[J]. *Circulation*, 2017, 135: 759-771.
- [3] BERKHEMER O A, FRANSEN P S, BEUMER D, VAN DEN BERG L A, LINGSMA H F, YOO A J, et al. A randomized trial of intraarterial treatment for acute ischemic stroke[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372: 11-20.
- [4] MURATA Y, ROSELL A, SCANNEVIN R H, RHODES K J, WANG X, LO E H. Extension of the thrombolytic time window with minocycline in experimental stroke[J]. *Stroke*, 2008, 39: 3372-3377.
- [5] GODFRAIND T, MILLER R, WIBO M. Calcium antagonism and calcium entry blockade[J]. *Pharmacol Rev*, 1986, 38: 321-416.
- [6] XIAO A J, CHEN W, XU B, LIU R, TURLOVA E, BARSZCZYK A, et al. Marine compound Xyloketal B reduces neonatal hypoxic-ischemic brain injury[J]. *Mar Drugs*, 2015, 13: 29-47.
- [7] QIAN Y, TANG X, GUAN T, LI Y, SUN H. Neuroprotection by combined administration with maslinic acid, a natural product from *olea europaea*, and MK-801 in the cerebral ischemia model[J/OL]. *Molecules*, 2016, 21: E1093. doi: 10.3390/molecules21081093.
- [8] ZANG Y, SONG X, LI C, MA J, CHU S, LIU D, et al. Pyrano[3,2-*a*]carbazole alkaloids as effective agents against ischemic stroke *in vitro* and *in vivo*[J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 143: 438-448.
- [9] EGEA J, PARADA E, GÓMEZ-RANGEL V, BUENDIA I, NEGREDO P, MONTELL E, et al. Small synthetic hyaluronan disaccharides afford neuroprotection in brain ischemia-related models[J]. *Neuroscience*, 2014, 265: 313-322.
- [10] CHEN H, TAN G, CAO J, ZHANG G, YI P, YU P, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of novel tetramethylpyrazine derivatives as potential neuroprotective agents[J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2017, 65: 56-65.
- [11] KUMAR P, KALONIA H, KUMAR A. Protective effect of sesamol against 3-nitropropionic acid-induced cognitive dysfunction and altered glutathione redox balance in rats[J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2010, 107: 577-582.
- [12] HASSANZADEH P, ATYABI F, DINARVAND R, DEHPOUR A R, AZHDARZADEH M, DINARVAND M. Application of nanostructured lipid carriers: the prolonged protective effects for sesamol *in vitro* and *in vivo* models of ischemic stroke via activation of PI3K signalling pathway[J/OL]. *Daru*, 2017, 25: 25. doi: 10.1186/s40199-017-0191-z.
- [13] GUO C, WANG S, DUAN J, JIA N, ZHU Y, DING Y, et al. Protocatechualdehyde protects against cerebral ischemia-reperfusion-induced oxidative injury via protein kinase C ϵ /Nrf2/HO-1 pathway[J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54: 833-845.
- [14] HUANG L, WANG J, CHEN L, ZHU M, WU S, CHU S, et al. Design, synthesis, and evaluation of NDGA analogues as potential anti-ischemic stroke agents[J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 143: 1165-1173.
- [15] KITAMURA H, MOTOHASHI H. NRF2 addiction in cancer cells[J]. *Cancer Sci*, 2018, 109: 900-911.
- [16] 赵莹莹,付乐,陈敏,许菲菲,朱继刚,安艳. Nrf2 对肿瘤作用的两面性[J]. *中华地方病学杂志*, 2016, 35: 75-78.
- [17] HASSANZADEH P, ARBABI E, ATYABI F, DINARVAND R. Ferulic acid-loaded nanostructured lipid carriers: a promising nanoformulation against the ischemic neural injuries[J]. *Life Sci*, 2018, 193: 64-76.
- [18] KIM J Y, PARK J, LEE J E, YENARI M A. NOX inhibitors—a promising avenue for ischemic stroke[J]. *Exp Neurobiol*, 2017, 26: 195-205.
- [19] WANG Z, ZHOU Z, WEI X, WANG M, WANG B O, ZHANG Y, et al. Therapeutic potential of novel twin compounds containing tetramethylpyrazine and carnitine substructures in experimental ischemic stroke[J/OL]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 7191856. doi: 10.1155/2017/7191856.
- [20] MAHMOOD Q, WANG G F, WU G, WANG H, ZHOU C X, YANG H Y, et al. Salvianolic acid A inhibits calpain activation and eNOS uncoupling during focal cerebral ischemia in mice[J]. *Phytomedicine*, 2017, 25: 8-14.
- [21] SHEU J R, CHEN Z C, JAYAKUMAR T, CHOU D S, YEN T L, LEE H N, et al. A novel indication of platonin, a therapeutic immunomodulating medicine, on neuroprotection against ischemic stroke in mice[J/OL]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42277. doi: 10.1038/srep42277.
- [22] BAI S, HU Z, YANG Y, YIN Y, LI W, WU L, et al. Anti-inflammatory and neuroprotective effects of triptolide via the NF- κ B signaling pathway in a rat MCAO model[J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2016, 299: 256-266.
- [23] PAN N, LU L Y, LI M, WANG G H, SUN F Y, SUN H S, et al. Xyloketal B alleviates cerebral infarction and neurologic deficits in a mouse stroke model by suppressing the ROS/TLR4/NF- κ B inflammatory signaling pathway[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2017, 38: 1236-1247.
- [24] XU S, ZHONG A, MA H, LI D, HU Y, XU Y, et al. Neuroprotective effect of salvianolic acid B against cerebral ischemic injury in rats via the CD40/NF- κ B pathway associated with suppression of platelets activation and neuroinflammation[J]. *Brain Res*, 2017, 1661: 37-48.
- [25] KIM S W, LEE H K, KIM I D, LEE H, LUO L, PARK J Y, et al. Robust neuroprotective effects of 2-((2-oxopropanoyl)oxy)-4-(trifluoromethyl)benzoic acid (OPTBA), a HTB/pyruvate ester, in the postischemic

- rat brain[J/OL]. *Sci Rep*, 2016, 6: 31843. doi: 10.1038/srep31843.
- [26] WANG P, HE Y, LI D, HAN R, LIU G, KONG D, et al. Class I PI3K inhibitor ZSTK474 mediates a shift in microglial/macrophage phenotype and inhibits inflammatory response in mice with cerebral ischemia/reperfusion injury[J/OL]. *J Neuroinflammation*, 2016, 13: 192. doi: 10.1186/s12974-016-0660-1.
- [27] WANG Y, RUAN W, MI J, XU J, WANG H, CAO Z, et al. Balasubramide derivative 3C modulates microglia activation via CaMKK β -dependent AMPK/PGC-1 α pathway in neuroinflammatory conditions[J]. *Brain Behav Immun*, 2018, 67: 101-117.
- [28] WU K J, YU S J, SHIA K S, WU C H, SONG J S, KUANG H H, et al. A novel CXCR4 antagonist CX549 induces neuroprotection in stroke brain[J]. *Cell Transplant*, 2017, 26: 571-583.
- [29] WANG C P, SHI Y W, TANG M, ZHANG X C, GU Y, LIANG X M, et al. Isoquercetin ameliorates cerebral impairment in focal ischemia through anti-oxidative, anti-inflammatory, and anti-apoptotic effects in primary culture of rat hippocampal neurons and hippocampal CA1 region of rats[J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54: 2126-2142.
- [30] YANG C H, YEN T L, HSU C Y, THOMAS P A, SHEU J R, JAYAKUMAR T. Multi-targeting andrographolide, a novel NF- κ B inhibitor, as a potential therapeutic agent for stroke[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18: E1638. doi: 10.3390/ijms18081638.
- [31] WANG H, HUANG S, YAN K, FANG X, ABUSSAUD A, MARTINEZ A, et al. Tideglusib, a chemical inhibitor of GSK3 β , attenuates hypoxic-ischemic brain injury in neonatal mice[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1860: 2076-2085.
- [32] WANG M, ZHANG Y, FENG L, ZHENG J, FAN S, LIU J, et al. Compound porcine cerebroside and ganglioside injection attenuates cerebral ischemia-reperfusion injury in rats by targeting multiple cellular processes[J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2017, 13: 927-935.
- [33] IWAI M, LIU H W, CHEN R, IDE A, OKAMOTO S, HATA R, et al. Possible inhibition of focal cerebral ischemia by angiotensin II type 2 receptor stimulation[J]. *Circulation*, 2004, 110: 843-848.
- [34] FOU DA A Y, PILLAI B, DHANDAPANI K M, ERGUL A, FAGAN S C. Role of interleukin-10 in the neuroprotective effect of the angiotensin type 2 receptor agonist, compound 21, after ischemia/reperfusion injury[J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 799: 128-134.
- [35] BENNION D M, ISENBERG J D, HARMEL A T, DEMARS K, DANG A N, JONES C H, et al. Post-stroke angiotensin II type 2 receptor activation provides long-term neuroprotection in aged rats[J/OL]. *PLoS One*, 2017, 12: e0180738. doi: 10.1371/journal.pone.0180738.
- [36] BENNION D M, JONES C H, DANG A N, ISENBERG J, GRAHAM J T, LINDBLAD L, et al. Protective effects of the angiotensin II AT2 receptor agonist compound 21 in ischemic stroke: a nose-to-brain delivery approach[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2018, 132: 581-593.
- [37] ASHABI G, KHODAGHOLI F, KHALAJ L, GOUDARZVAND M, NASIRI M. Activation of AMP-activated protein kinase by metformin protects against global cerebral ischemia in male rats: interference of AMPK/PGC-1 α pathway[J]. *Metab Brain Dis*, 2014, 29: 47-58.
- [38] YANG Y, ZHANG X J, LI L T, CUI H Y, ZHANG C, ZHU C H, et al. Apelin-13 protects against apoptosis by activating AMP-activated protein kinase pathway in ischemia stroke[J]. *Peptides*, 2016, 75: 96-100.
- [39] CHU S F, ZHANG Z, ZHANG W, ZHANG M J, GAO Y, HAN N, et al. Upregulating the expression of survivin-HBXIP complex contributes to the protective role of IMM-H004 in transient global cerebral ischemia/reperfusion[J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54: 524-540.
- [40] ZHOU Z Q, LI Y L, AO Z B, WEN Z L, CHEN Q W, HUANG Z G, et al. Baicalin protects neonatal rat brains against hypoxic-ischemic injury by upregulating glutamate transporter 1 via the phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B signaling pathway[J]. *Neural Regen Res*, 2017, 12: 1625-1631.
- [41] BENNETT M H, WEIBEL S, WASIAK J, SCHNABEL A, FRENCH C, KRANKE P. Hyperbaric oxygen therapy for acute ischaemic stroke[J/CD]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2014 (11): CD004954. doi: 10.1002/14651858.
- [42] EJAZ S, EMMRICH J V, SITNIKOV S L, HONG Y T, SAWIAK S J, FRYER T D, et al. Normobaric hyperoxia markedly reduces brain damage and sensorimotor deficits following brief focal ischaemia[J]. *Brain*, 2016, 139 (Pt 3): 751-764.
- [43] BARON J C. Protecting the ischaemic penumbra as an adjunct to thrombectomy for acute stroke[J]. *Nat Rev Neurol*, 2018, 14: 325-337.
- [44] PERUZZOTTI-JAMETTI L, CAMBIAGHI M, BACIGALUPPI M, GALLIZIOLI M, GAUDE E, MARI S, et al. Safety and efficacy of transcranial direct current stimulation in acute experimental ischemic stroke[J]. *Stroke*, 2013, 44: 3166-3174.
- [45] WEBB R L, KAISER E E, JURGIELEWICZ B J, SPELLICY S, SCOVILLE S L, THOMPSON T A, et al. Human neural stem cell extracellular vesicles improve recovery in a porcine model of ischemic stroke[J]. *Stroke*, 2018, 49: 1248-1256.

[本文编辑] 杨亚红