

扶正法治疗缺血性脑卒中的理论支持

俞邠¹, 魏江磊^{1,2}

(1. 上海中医药大学附属曙光医院, 上海 201203; 2. 上海中医药研究院特色诊疗技术研究所, 上海 201203)

1992 年在荷兰召开了“脑的十年”国际会议, 会议强调了神经科学和分子生物学的交叉, 使全世界对脑的研究进入新的高潮。随着人口老龄化, 脑病尤其是脑血管疾病已经逐渐成为我国第一位死亡原因。它具有高发病率、高病死率、高致残率、高复发率的特点, 且具有一定的季节性。毕淑珍等^[1]对某一地区脑卒中发病与气温关系的研究发现, 气温降低缺血性脑卒中的发病率会升高, 这与我们临床观察到的脑卒中集中在秋冬季节的现象相吻合。目前对于急性缺血性卒中的治疗新进展有组织型纤溶酶原激活物(t-PA)、乙酰水杨酸、神经保护药等, 中医药在脑血管病的诊治上取得了一定的成效, 并提出了相关的理论^[2]。本研究就“扶正护脑法”之“扶正药”干预缺血性卒中(中风)进行如下阐述。

1 中风“治其本”的理论思考

1.1 中风病的发生与演变: 中风是以突然昏仆、不省人事、口眼喎斜、半身不遂、语言謇涩, 或无昏仆而仅以喎斜不遂为主症的病症, 多见于中老年人, 其发病、复发、致残、病死率均较高, 已成为人类健康的头号杀手。

历代中医学认为中风发生和演变过程的病机主线是以真元亏虚、阴液耗伤为主要内涵。在此基础上, 忧思恼怒、恣食肥甘、劳累过度, 使正气愈虚, 阴亏竭于下, 阳暴涨于上, 内风旋动, 气血升降逆乱, 挟邪上蒙清窍, 下壅经络, 败坏脏腑。清窍乃静谧之所, 邪扰则不宁而昏聩, 经脉为正气流行之所, 邪气壅塞不通而瘖痲。

1.2 中风病证候学调查的启示: 魏江磊等^[3]进行前瞻性队列研究, 对中风病的复杂病因病理、症状特征、病机嬗变的深层面进行探索, 获得了对中风病“治其本”立法有意义的启示。经过大样本病例分析, 发现以下特征: ①年龄: 增龄与正气强弱关系已得到公认, 中风的发病年龄普遍存在正气不足, 元气亏损, 属中医《素问·上古天真论》之女子“七七”、男子“八八”的敏感时期。②病程: 发病患者均表现为正虚邪盛, 随着病情的发展, 正虚渐重, 邪盛渐轻。③速度: 正气虚损程度突然、迅速, 3 min 内正虚由轻度转为中度的病例约 90%。④空间: 具有波及面宽、疾病空间广泛的特点, 三焦均可受累, 由表及里, 由腑及脏, 甚至损耗真阴真阳, 病情危重。⑤气血瘀滞与毒的产生: 正气之偏差的标志是脏腑气血的功能紊乱, 此时, 精微物质不能化为营血, 而异化为邪毒。中风病前瞻性队列研究的结果为“治其本”治则的确立提供了强有力的依据。

1.3 立法思维: 张景岳溯《内经》、《难经》、越人、仲景、承河间、丹溪、东垣等诸家学说, 继承和创新性地提出了中风病发

病“积损正衰”说, 其治亦相应体现“治其本”。

《景岳全书·诸风》谓:“考元《内经》所载, 诸风皆指外动为言, 故并无神魂昏愤, 直视僵仆, 口眼歪斜, 牙关紧闭, 语言謇涩, 失音烦乱, 摇头吐唾, 痰涎壅盛, 半身不遂, 瘫痪软弱, 筋脉拘挛, 抽搐瘖痲, 遗尿失禁等说。可见此等证候原非外感风邪, 总由内伤气血也。”“属于风者, 木也……内伤里证也。”强调今之中风乃内伤气血所致。

河间的“中风主火”说指出:“凡将息失宜、五志过极, 本所劳伤证也。……大伤于阴者, 水虚; 伤于阳者, 火也, 以虚作火, 鲜不危矣。”

东垣“年逾四旬气衰”说指出: 此病多在四旬以外, “正以其渐伤渐败而致此, 始见其非外感, 而总由内伤可知矣”。

丹溪“中风主痰”说指出:“痰之为物, 总由湿动, 然脾旺则无, 脾弱则有, 而脾败则甚。”

最后, 张景岳明确提出此证(中风)多卒倒, 卒倒多由昏愤, 本皆因积损颓败而然, 原非外感风寒所致。在治疗上则“有邪者, 邪必乘虚而入, 故当先扶正气, 但通经逐邪之品, 不得不用以为佐。无邪者, 标本不暇, 尚可再为杂用以伤及正气乎。”中风病“治本”思想已经被确立无疑矣。故遵古训, 服从实践, 当立“扶正培元”法, 以还元方治之。

2 缺血预适应(IPC)及其干预

2.1 IPC 与热休克蛋白(HSP): 缺血保护一直是脑血管病研究领域的热点, 20 世纪 80 年代以来, 细胞保护(即增强细胞对缺血、缺氧损伤的耐受性, 以防细胞向不可逆损伤发展, 从而提高细胞存活率)逐渐成为研究焦点。近二三十年来, 人们开始质疑以往认为反复短暂缺血刺激会产生累加性损伤, 最终导致细胞死亡。

1990 年 Kitagawa 等^[4]制备了沙鼠前脑缺血模型实验, 发现: ①如果将双侧颈动脉血流阻断 5 min, 即可引起海马 CA1 区神经元坏死; ②如果提前 2 d 给予短暂的缺血处理, 可能对 1~71 d 后损伤性脑缺血产生部分的保护作用; ③如果间隔 1 d 给予 2 次 2 min 的短暂性缺血处理, 则可产生几乎完全的保护作用。这种短暂性脑缺血预处理可诱导机体抵抗后发生的较为严重甚至致死性的脑缺血事件, 减轻脑缺血病变, 对神经细胞具有保护作用的现象称为缺血耐受(IT)。提前给予的短暂脑缺血预处理, 称为 IPC。后人通过各方面对 IPC 作用进行研究, 证实 IPC 可以增加海马 CA1 区神经元的缺氧耐受性, 亦可增加大脑皮质神经元对局灶性脑缺血的耐受性等, 达到缺血保护的作用^[5]。总之, 脑组织通过 IPC 增加神经元对缺血的耐受性, 使人们联想到, 短暂性脑缺血发作(TIA)可能不仅是中风的先兆, 也是脑组织损伤前期自我保护的信号, 可能具有重大的临床意义。

近年来, 生命体在缺血缺氧等不良环境因素作用下产生

doi: 10.3969/j.issn.1008-9691.2013.05.013

基金项目: 上海市科研计划项目(10DZ1973400)

通信作者: 魏江磊, Email: weijianglei1426@163.com

的机体重要保护因子 HSP 已引起广泛关注。热休克 (HS) 现象是 Ritossa 在观察果蝇幼虫唾液腺细胞染色体在过热的环境中形态变化时首先发现的^[6]。当环境温度高于正常生理温度 4~6 °C 时,染色体上会出现特殊的膨突,这一膨突后经证实与细胞内一类特殊的蛋白质合成有关,这类蛋白质经外界环境刺激后就会快速表达,被称为 HSP^[7]。

生物体受外界因素刺激产生的 HSP 组分较复杂,不仅能产生分子质量十分接近的 HSP,也能产生分子质量相差很大的 HSP。HSP70 几乎在所有生物的应激细胞中都经常高度地被诱导产生,被认为人类最重要的 HSP 之一,哺乳动物以 HSP70 家族为主,在 HSP 基因转录中,有规律的 DNA 顺序,现已参照为热休克元素 (HSE)。

任惠民和周兆年^[8]研究认为热休克转录因子 (HSTF) 均位于欲转录的 HSP 上游。HSTF 经外界因素诱导被激活后,其结构会发生某些特异变化。从而结合到了 HSE 顺序上, HSP 基因在 RNA 聚合酶的作用下转录。因而使 HSTF 在 HSP 基因转录中的活化介入被认为是必要条件。缺血或氧自由基等刺激因素可对细胞内蛋白造成损伤或产生由 76 个氨基酸组成的蛋白“泛激素”系统降解所产生的异常蛋白。他们在研究诱导 HSP 产生的机制时依据 Monro 和 Pelham 推测 HSTF 可能与泛激素以某种方式结合,游离的泛激素在导致异常蛋白积累的应激状态时水平下降,与 HSTF 的结合迅速降低,使游离的 HSTF 与 HSE 结合,激活 HSP 基因转录,当细胞受到损伤时,几乎都伴随 HSP 含量的增加。因而认为 HSP 的功能主要是在于稳定细胞结构,维护细胞的生理功能。其机制为, HSP70 首先在与变性或异常蛋白的亲水表面上紧密结合后在 ATP 水解驱动下被释放经历构型改变,使其结合的蛋白产生形变并成为可溶性的细胞蛋白,此类蛋白可通过相应的结构改变,重新还原到热休克之前的状态,构成正确的细胞结构。上述变化过程中,泛激素起着至关重要的作用。

Rordorf 等^[9]研究显示,在大脑中动脉闭塞 (MCAO) 30 min 时整个大脑中动脉 (MCA) 供应区域大脑皮质神经元表达 HSP70,也诱导神经元 HSP70 mRNA,而长期缺血导致梗死时,梗死区神经元则不诱导 HSP70 或 HSP70 mRNA。近年来各种研究的迹象表明, HSP70 具有脑保护作用,不但增加神经元细胞对缺血的耐受性,还抑制基因凋亡导致神经元细胞进一步死亡。

郇姗姗等^[10]利用自我构建的对神经元细胞缺血、缺氧性损伤具有保护作用的携带 HSP70 编码基因的重组腺病毒表达载体,通过动物实验验证其相关的保护机制,结果发现注射重组腺病毒 vAd-HSP70,目的基因可有效转录; HSP70 阳性表达率以 48 h 最为明显。提示我们脑神经元细胞在受到缺血、缺氧刺激后,由于 48 h 内受损脑组织的应激和抗损伤能力较强,在其细胞结构和功能被破坏的情况下,仍产生 HSP70 进行抗损伤和修复。随脑缺血缺氧时间延长,脑细胞能够产生 HSP70 的能力受到损伤程度的影响而大大下降。

扶正中药为主的组方能明显干预 IPC 过程中 HSP70 的表达,其中以 24 h 效应最强。由于 HSP70 表达增强,使其对缺氧神经元的保护效应显露,从而获得较好的治疗作用,超

微组织结构形态学的观察也获得了相似结论。

2.2 IPC 与内源性保护介质:与 IPC 有关的内源性保护介质是指在 IPC 后长期 I/R 过程中升高并发挥保护作用的物质^[11],主要包括一氧化氮 (NO)、腺苷等。

NO 是一种能广泛参与和调节体内多种生理和病理活动的新的细胞间和细胞内信息传递分子^[12],它在脑缺血机制中的作用是近年来脑研究的新领域,其在脑缺血损伤中可能具有复杂的双重作用^[13]。一方面 NO 可通过扩张血管和抑制血小板聚集,改善脑组织灌注来减轻缺血性损伤,或引起 N-甲基-D-门冬氨酸 (N-MDA) 受体下调,对缺血区边缘脑组织起直接保护;另一方面 NO 可形成自由基或通过其他途径产生神经毒,促使缺血边缘脑组织向梗死发展。

NO 由其前体物质 L-精氨酸 (L-Arg) 在 NO 合酶 (NOS) 催化下生成。NOS 可分为原生型 NOS (cNOS)、诱导型 NOS (iNOS) 及神经结构型 NOS (ncNOS) 3 种类型。cNOS 具备钙依赖特征,脑缺血时,病灶周围兴奋性氨基酸 (EAA) 主要是谷氨酸 (Glu),能促进神经末梢内 Glu 递质释放,同时清除机制障碍 (胶质细胞和神经终末重摄取受阻)。

细胞外组织液中 Glu 堆积,持续作用于 N-MDA 和 N-NMDA 受体,造成对受体的过刺激^[14],由受体调控的 Ca²⁺ 通道开放,正常情况下发生的脑内 Ca²⁺ 增加现象异常扩大。胞内 Ca²⁺ 增高,一方面激活脂酶和蛋白酶,脑内脂质和蛋白质水解,造成形态学损伤;另一方面激活 cNOS,并在其催化下, L-Arg 与 O₂ 作用产生 NO,引起血管平滑肌松弛^[15];并活化可溶性鸟苷酸环化酶,使血小板处于低水平的活化状态,抑制血小板聚集和在血管内皮的黏附。如何减少 NO 含量起到延缓脑梗死的发展有以下几方面的可能:① cNOS、NO 反馈性抑制;②在动脉硬化、缺血状态中,血管内皮细胞 (VEC) 功能障碍, NO 合成和释放不能持续进行;③缺血状态中, NO 进入血中,与非氧合血红蛋白结合形成稳定的亚硝基血红蛋白^[16],并缓慢地从尿液中排出体外,失去生物活性。

VEC、血管平滑肌细胞和免疫系统的重要细胞如巨噬细胞及中性粒细胞存在着非 Ca²⁺ 依赖性的 iNOS,它不依赖 Ca²⁺ 调节蛋白,而需要内毒素的细胞因子的诱导,通过宿主反应和防御反应,持续释放大量 NO。单位时间内, iNOS 合成的 NO 比在 VEC 内合成的大 1 000 倍。可以使靶细胞内释放游离 Ca²⁺、Fe²⁺ 和具有高毒性的羟自由基,造成对靶细胞的致死性氧化损伤。同时,高浓度的 NO 到达周围组织后,与靶细胞内几种重要的小分子如三羧酸结合,使细胞发生能量不足而导致功能障碍。小神经胶质细胞就是脑内的巨噬细胞,其产生的 NO 可引起神经元死亡^[17]。

本课题组前期研究发现:脑缺血/再灌注 (I/R) 后 6 h 血清 NO 浓度显著降低,并呈时间依赖性,曲线的谷底在 I/R 后 24 h;经 IPC 处理后,血清 NO 下降幅度趋缓,24 h 后 IPC 组的血清 NO 浓度显著高于 I/R;以扶正药物组成的方剂能使两组 NO 浓度明显提高。提示:IPC 对后延长缺血状态中 NO 的产生有良性干预效应,扶正中药通过强化或模拟 IPC,干预 NO,从而起到对缺血组织的保护作用。与此同时,本研究亦观察了 I/R 及 IPC 后脑组织血浆 NO 浓度,结果显

示, I/R 后 NO 浓度升高, 而经 IPC 处理后, 可有效控制 NO 的生成量; 在此基础上加用扶正中药效果更佳。提示在 I/R 过程中, 脑组织的破坏导致了后续的免疫应激反应, 相关细胞在免疫刺激物的诱导下合成 iNOS, 产生大量 NO, 损伤局部组织, 而经 IPC 处理后, 启动了机体内源性保护机制, 并可能通过细胞离子通道干预离子流, 从而影响膜的超极化水平, 起到保护效应。扶正中药干预的位点是多水平的, 既可能对 iNOS 产生效应, 亦可能对离子通道产生效应。

参考文献

[1] 毕淑珍, 陈锦华, 原福胜. 长治地区脑卒中发病与气温关系的研究. 中国危重病急救医学, 2012, 24 (9): 556-557.
 [2] 王永利, 祝兆林. 急性缺血性卒中的治疗进展. 中国中西医结合急救杂志, 2003, 10 (4): 255-256.
 [3] 魏江磊, 宋红普, 石敏, 等. 正气论——急危重症中的正气价值. 中国中医药现代远程教育, 2010, 7 (18): 197-200.
 [4] Kitagawa K, Matsumoto M, Tagaya M, et al. 'Ischemic tolerance' phenomenon found in the brain. Brain Res, 1990, 528 (1): 21-24.
 [5] 李江, 吕国蔚. 急性重复低氧小鼠脑皮质神经元的超微结构研究. 华北煤炭医学院学报, 2002, 4 (5): 548-549.
 [6] 刘爱华, 魏江磊. 脑宁康颗粒对脑缺血适应大鼠 HSP70 表达影响的实验研究. 时珍国医国药, 2008, 19 (10): 2505-2506.
 [7] 张杰, 田波. 热休克蛋白及其生物学功能. 国外医学外科学分册, 2003, 30 (5): 265-268.

[8] 任惠民, 周兆年. 稳定细胞结构的分子基础: 热休克蛋白. 生理科学进展, 1994, 25 (1): 11-16.
 [9] Rordorf G, Koroshetz WJ, Bonventre JV. Heat shock protects cultured neurons from glutamate toxicity. Neuron, 1991, 7 (6): 1043-1051.
 [10] 郁姗姗, 宋晓聪, 胡丹, 等. 腺病毒介导的热休克蛋白 70 对脑缺血缺氧大鼠保护作用的研究. 中国危重病急救医学, 2011, 23 (6): 365-367.
 [11] 刘秀华, 苏静怡. 缺血预处理的研究现状. 生理科学进展, 2001, 32 (1): 83-87.
 [12] 陈念航. 脑内一氧化氮与脑缺血损伤. 国外医学生理病理科学与临床分册, 1995, 15 (4): 244-247.
 [13] 王键, 许冠荪, 李静, 等. 脑络通激活 L-arg-NO 通路时对缺血性脑损伤保护作用. 安徽中医学院学报, 1998, 17 (3): 41-43.
 [14] 姚志彬, 陈以慈. 脑研究前沿. 广州: 广东科技出版社, 1995.
 [15] 罗小星, 陈镜合. 一氧化氮对人体的作用及其在中医药研究中的意义. 广州中医药大学学报, 1998, 15 (2): 152-155.
 [16] Wennmalm A, Benthin G, Petersson AS. Dependence of the metabolism of nitric oxide (NO) in healthy human whole blood on the oxygenation of its red cell haemoglobin. Br J Pharmacol, 1992, 106 (3): 507-508.
 [17] Boje KM, Arora PK. Microglial-produced nitric oxide and reactive nitrogen oxides mediate neuronal cell death. Brain Res, 1992, 587 (2): 250-256

(收稿日期: 2013-08-05)

(本文编辑: 李银平)

• 读者 • 作者 • 编者 •

本刊常用的不需要标注中文的缩略语

重症监护病房 (ICU)	视黄醇结合蛋白 (KBP)	美国心脏病学会 / 美国心脏协会
C- 反应蛋白 (CRP)	髓过氧化物酶 (MPO)	(ACC/AHA)
超敏 C- 反应蛋白 (hs-CRP)	丝裂素活化蛋白激酶 (MAPK)	急性肺损伤 (ALI)
白细胞计数 (WBC)	细胞间黏附分子 -1 (ICAM-1)	急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)
血红蛋白 (Hb)	血管内皮细胞黏附分子 -1 (VCAM-1)	肺表面活性物质 (PS)
红细胞计数 (RBC)	血管内皮细胞生长因子 (VEGF)	肺顺应性 (Cst)
血小板计数 (PLT)	转化生长因子 -β 1 (TGF-β 1)	动脉血二氧化碳分压 (PaCO ₂)
红细胞沉降率 (ESR)	表皮生长因子 (EGF)	动脉血氧分压 (PaO ₂)
活化部分凝血活酶时间 (APTT)	血管内皮细胞 (VEC)	动脉血氧饱和度 (SaO ₂)
天冬氨酸转氨酶 (AST)	热休克蛋白 (HSP)	机械通气相关性肺损伤 (VALI)
丙氨酸转氨酶 (ALT)	诱导型一氧化氮合酶 (iNOS)	体外膜肺氧合 (ECMO)
碱性磷酸酶 (AKP)	纤维蛋白原 (Fib)	呼气末正压 (PEEP)
γ-谷氨酰转氨酶 (GGT)	核转录因子 -κB (NF-κB)	平均动脉压 (MAP)
超氧化物歧化酶 (SOD)	肿瘤坏死因子 -α (TNF-α)	重症社区获得性肺炎 (SCAP)
肌酸激酶 (CK)	B 型钠尿肽 (BNP)	重症医院获得性肺炎 (SHAP)
血肌酐 (Scr)	急性有机磷农药中毒 (AOPP)	溃疡性结肠炎 (UC)
肌酸激酶同工酶 (CK-MB)	血液灌流 (HP)	充血性心力衰竭 (CHF)
促红细胞生成素 (EPO)	多器官功能障碍综合征 (MODS)	缺血预适应 (IPC)
丙二醛 (MDA)	抗菌药物相关性腹泻 (AAD)	短暂性脑缺血发作 (TIA)
乙醇脱氢酶 (ADH)	粪菌移植 (FMT)	缺血 / 再灌注 (I/R)
乙醛脱氢酶 (ALDH)	急性冠脉综合征 (ACS)	大脑中动脉闭塞 (MCAO)
前列环素 I ₂ (PGI ₂)	急性心肌梗死 (AMI)	血管紧张素转换酶抑制剂 (ACEI)
β ₂ -微球蛋白 (β ₂ -MG)	心肌肌钙蛋白 I (cTnI)	血管紧张素 II 受体拮抗剂 (ARB)
6-酮-前列腺素 F _{1α} (6-keto-PGF _{1α})	N-甲基-D 门冬氨酸 (N-MDA)	急性生理学及慢性健康状况评分系统 II
血清胱抑素 C (Cys-C)	世界卫生组织 (WHO)	(APACHE II)