

·文献综述·

中药复方防治脑梗死机制研究进展

季梦漂¹,李鑫¹,周德生²,李杰¹,吴涛¹,李琳¹,胡志希^{1*}

(1.湖南中医药大学,湖南长沙 410208;2.湖南中医药大学第一附属医院,湖南长沙 410007)

〔摘要〕 脑梗死是临床常见性、多发性脑血管病,现代医学多以超早期溶栓、神经细胞保护、介入和外科手术等治疗为主,虽然近期疗效显著,但无法避免的副作用及严格的治疗准入条件使其临床应用大受限制。中医学整体审察、辨证论治的诊疗观以及复方多靶点、多环节、多途径、网络整合调节的治疗特点,在脑梗死防治方面有着不可或缺的优势。基于此,本文拟从抗氧自由基损伤、抑制凋亡基因激活、促进血管内皮生长及神经再生等方面系统综述中药复方治疗脑梗死的作用原理,以期为中医药防治缺血性脑血管疾病提供部分科学循证依据。

〔关键词〕 脑梗死;中药复方;抗氧化损伤;抑制兴奋氨基酸与钙超载;凋亡细胞;血管内皮生长;神经再生功能

〔中图分类号〕 R285;R743

〔文献标识码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2016.10.024

Research Progress of the Mechanism of Chinese Herbal Compound in Treatment of Cerebral Infarction

Ji Mengpiao¹, Li Xin¹, ZHOU Desheng², Li Jie¹, WU Tao¹, LI Lin¹, HU Zhixi^{1*}

(1.Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China;

2. The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China)

〔Abstract〕 Cerebral infarction is a common clinical and multiple ischemic cerebrovascular disease, which treatment methods of modern medicine are mainly including early thrombolytic therapy, nerve cell protection therapy, interventional therapy, surgical therapy and so on. Eventhough recent therapeutic efficacy of theses methods is significant, their clinical application is limited due to the unavoided side effects and strict treatment access conditions. Chinese medicine has an indispensable advantage in treatment of cerebral infarction for the concept of wholism of diagnosis and syndrome differentiation. Chinese herbal formulation has multi-targets, multi-link, multi-way and network overall adjustment advantage. In this article, we will systematically review the principle of action of Chinese herbal formulation in treatment with cerebral infarction from anti-oxidative damage, inhibition of excitability amino acid and overload of calcium, inhibition of apoptotic cell activation and promotion of vessel endothelial growth factor nerve regeneration. That is to provide the scientific evidence for prevention and treatment of ischemic cerebrovascular disease by Chinese medicine.

〔Keywords〕 cerebral infarction; Chinese herbal compound; mechanism of action; anti-oxidative damage; inhibition of excitability amino acid and overload of calcium; inhibition of apoptotic cell activation; promote vessel endothelial growth factor; nerve regeneration

脑梗死(Cerebral infarction,CI)是各种原因导致脑部血液供应障碍,引起局部脑组织缺血缺氧性坏死及相应神经功能缺损的一类临床综合征^[1]。流行病学研究显示,脑血管病死亡率居世界第二,而脑梗死占据总的60-80%^[2]。其局部组织损伤机制主要是缺血和血液再灌注引起的复杂级联反应,尤其是缺血早期和再灌注继发加重损伤,因此在治疗和预防上都非常困难^[3]。现代医学主要以超早期溶栓、抗血小板聚集、抗凝、神经细胞保护、介入和外科手术等治疗为主,虽然近期疗效显著,但无法避免的

副作用及严格的治疗准入条件使其临床应用大受限制。

根据其临床特征,脑梗死应属缺血性"中风"范畴。中医学整体审察、辨证论治、病证结合的诊疗观,及中药复方多靶点、多环节、多途径、网络整合调节的治疗观,在脑梗死防治方面有着现代医学无法比拟的优势与特色。近来,国内外研究者从抗氧自由基损伤、抑制凋亡基因激活、促进神经再生等多角度探讨了中药复方治疗脑梗死的作用原理。基于此,本文拟从上述等方面对中药复方治疗脑梗死

〔收稿日期〕2015-10-23

〔基金项目〕国家自然科学基金资助项目(81373550,81202647)。

〔作者简介〕季梦漂,女,硕士研究生,研究方向:心脑血管疾病中医证治规律研究。

〔通讯作者〕* 胡志希,男,教授,博士研究生导师,E-mail:5471313@sohu.com。

新进展进行系统综述,以期为中医药防治缺血性脑血管病提供科学循证依据。

1 中药治疗脑梗死作用机制研究

脑缺血再灌注损伤(Cerebral ischemia-reperfusion injury, CIRI) 是一个复杂的病理变化过程,包括自由基的生成、兴奋性氨基酸的毒性作用、炎症反应、细胞内钙失稳态、凋亡基因激活、能量障碍、细胞酸中毒等多途径^[4]。这些环节互为因果,彼此重叠,又相互联系,形成恶性循环最终导致脑细胞凋亡或坏死。针对这种多环节联系致病因素,中药的多效性和多靶点作用可能会成为治疗的最佳选择^[5],同时它能从根本调节人体机能,提高抗病能力以及推动疾病后期恢复的这些特点,是目前西药所难以满足的。

1.1 抗氧化损伤

局灶性脑缺血发生后,大量生成的氧自由基(ROS)破坏细胞结构中的蛋白成分,攻击细胞膜不饱和脂肪酸,引起脂质过氧化,生成大量代谢产物丙二醛(MDA),测定 MDA 含量能间接反映组织脂质过氧化程度^[6]。超氧化物歧化酶(SOD)是体内最重要的自由基清除剂,它通过抑制 O₂ 的氧化修饰影响动脉粥样硬化的形成^[7]。以往常以测定 MDA、SOD 含量变化反映体内抗氧化的能力。近来相对于氧自由基系统,研究者更倾向于对其他抗氧化系统的探究,如谷胱甘肽抗氧化系统,包括还原型谷胱甘肽(GSH)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)等。

胡文等^[8]研究发现麝香醒脑滴丸(麝香、川芎、冰片等)可以清除自由基,抑制 MDA 含量,提高脑组织 SOD 和乳酸脱氢酶活性,减轻血管源性脑水肿及皮质神经元损伤,对大鼠 CIRI 有明显保护作用。余颜等^[9]以补阳还五汤精简方(黄芪、川芎、地龙)为研究对象,发现其能通过调控脑缺血后 GSH、GSH-Px 及 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶的表达发挥抗氧化作用。任弋等^[10]的实验也证实脑脉利颗粒(益母草、三七、黄芪等)能显著减轻 MCAO 大鼠神经功能学损伤,增加脑组织 GSH 含量,提高 GSH-Px、SOD 酶活力,修复脑缺血损伤。

1.2 抑制兴奋氨基酸释放与钙超载

谷氨酸(Glu)首先被发现对神经元有很强的兴奋毒性作用,随后天门冬氨酸(Asp)、甘氨酸(Gly)、同型半胱氨酸(Hcy)、苯丙氨酸(Phe)等多种氨基酸也被证明具有相同作用。脑缺血后血液及脑脊液中兴奋性氨基酸的大量释放及重摄取受阻,导致突触后神经元过度兴奋、溃变、死亡,产生“兴奋性毒性”,引起神经

细胞急性渗透性肿胀和迟发性神经元坏死^[11]。同时大量谷氨酸刺激 N-甲基-D-天门冬氨酸受体引起细胞膜钙通道异常开放, Ca²⁺大量内流^[12],造成神经细胞蛋白质代谢受阻,氧和能量供应停止产生局灶性脑损伤。

王军玲等^[13]发现益气解毒方人参总皂苷、盐酸小檗碱和栀子苷联合给药组脑缺血损伤大鼠的神经行为学评分明显降低,同时 Glu、Asp、Met、Hcy 和 Phe 5 种氨基酸水平也显著下调。张思为等^[14]研究显示芪棱汤(黄芪、三棱、水蛭等)能明显降低脑缺血再灌注损伤大鼠血液中 Hcy 浓度。徐丽娟等^[15]通过研究化浊解毒、活血通络方(当归、丹参、石菖蒲等),发现其能明显提高 CIRI 小鼠脑组织 Ca²⁺-ATP 酶及 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性,显著降低 Glu 水平,抑制细胞内钙超载及脑水肿的发生。

1.3 抑制凋亡基因激活

神经元凋亡是缺血再灌注损伤细胞死亡的主要形式之一,它能促进缺血性损伤的扩大,并最终决定梗死面积。目前认为 Bcl-2 基因是与缺血神经元凋亡关系最密切的内源性凋亡抑制基因;Caspases 则是细胞凋亡过程中最重要的蛋白酶。脑缺血后神经细胞凋亡的最后实施是通过 Caspase“瀑布式”级联反应来实现的,而 Caspase-3 是 Caspases 级联反应中下行最关键的凋亡执行蛋白酶。此外,近来发现生长抑制 DNA 损伤基因 153(GADD153/CHOP)激活引起的内质网应激也参与了 CIRI 神经细胞凋亡的发生。

林羽等^[16-17]分别以栝楼桂枝颗粒(天花粉、白芍、桂枝等)、七十味珍珠丸(羚羊角、珍珠、红花等)为研究对象,发现两者均能通过调节 Caspase-3、Bax 及 Bcl-2 的表达,抑制神经元凋亡,从而防治脑缺血神经损伤。张琳琳等^[18]对急性脑梗死大鼠溶栓后神经细胞凋亡途径进行研究,结果显示化痰通络方(天麻、地龙、川芎等)可降低 GADD153/CHOP 与 c-Jun 氨基末端激酶-1 的基因表达,部分抑制神经细胞凋亡,从而防止脑梗死溶栓后缺血再灌注的发生与发展。

1.4 促进血管内皮生长

脑组织血管内皮生长因子(VEGF)是血管新生最关键的因子^[19],可促进血管内皮细胞分裂、增殖、生长和转移,参与脑缺血后局部组织的病理修复过程。脑缺血后水肿的形成先于血管的生成,VEGF 在脑组织内表达增加,通过调节毛细血管通透性和血管生成的作用参与消除水肿和脑保护,使内皮细胞不致发生程序性死亡,减少神经功能缺失。

宋祯彦等^[20]的实验显示中药脑泰方(黄芪、川芎、地龙等)能通过提高 VEGF、血管生成素 Ang-2,降低 Ang-1 含量的变化,协同促进脑梗死后的血管生成。田军彪等^[21]发现化浊解毒活血通络方(石菖蒲、茯苓、川芎等)能明显减小脑梗死体积,促进 VEGF 表达,加速血管新生,增加微血管密度,提示该方治疗脑梗死的机制可能与增加脑内 VEGF 表达,促进侧枝循环建立有关。姜薇等^[22]也发现龙蛭汤(黄芪、地龙、水蛭等)同样能通过作用于 VEGF 和其受体 Flk-1 基因以促进脑梗死灶周围组织的血管新生,从而加快脑梗死的康复进程。

1.5 神经再生作用

脑源性神经营养因子(BDNF)是神经营养素家族成员之一,它能保护缺血半暗带神经元,抑制退变性神经元坏死,从而缓解和修复脑缺血后的神经元损伤^[23]。碱性成纤维细胞生长因子(b-FGF)是广谱促神经生长因子和促神经细胞分裂因子,它通过特异性促细胞分裂、增殖和血管新生,抑制神经元凋亡,减少再灌注损伤。而神经生长因子(NGF)是神经元自身支配靶组织产生的特异蛋白分子,具有激活细胞代谢与生长的作用。NGF 在脑内的含量虽少,但对神经细胞的发育、成熟和存活起着极为重要的作用。

胡国恒等^[24]的研究显示肾脑复元汤(熟地黄、山茱萸、地龙等)能够通过上调 BDNF 和 b-FGF 的表达,促进神经细胞增殖和血管新生,从而发挥脑保护作用。李幼玲等^[25]通过实验发现经回春偏瘫方(龟板胶、三七、熟地黄等)治疗后,脑梗死大鼠 NGF、BDNF 表达显著增强,表明其在脑神经修复过程中具有促进神经营养因子分泌,加速神经再生的作用。王丽晔等^[26]也发现络瘀通胶囊(地龙、水蛭、全蝎等)能上调 MCAO 大鼠脑组织 BDNF 和 b-FGF 的表达,提示其能通过促进神经元存活及再生保护脑缺血损伤。

1.6 其他

近来除抗氧化、抗炎、神经保护机制的进一步探究和致力于相同机制不同通路的再发现之外,神经递质(特别是单胺类递质等)在脑梗死发生发展的作用原理及脑组织自身结构对脑缺血的影响方面也渐为研究热点。

急性脑梗死后缺血再灌注损伤刺激神经细胞,引起单胺类递质贮存和摄取功能减弱或丧失,造成大量释放并向周围及脑脊液扩散。过量释放的单胺类递质引起脑血管痉挛,脑血流量减少,微血管通透性增加及组织坏死,加重缺血后继发性脑损害^[27]。何玲等^[28]以 MCAO 大鼠为研究对象,采用脑络欣通(黄

芪、川芎、红花等)每日灌胃给药,结果显示该方能增加大鼠脑血流量,降低脑梗死体积,提高纹状体组织中 5-HTmRNA、DAmRNA、NE mRNA、5-HIAAmRNA 单胺类递质的表达,从而抑制缺血后再灌注对大脑纹状体的损伤。

血脑屏障(BBB)结构和功能的改变是 CIRI 早期的重要病理过程,其通透性增加将加重缺血脑组织的损伤^[29]。脑毛细血管内皮细胞及其间的紧密连接(TJ)是 BBB 的主要物质结构基础,而跨膜蛋白 Occludin, claudin-1 和胞质附着蛋白 ZO-1 是构成 TJ 的主要蛋白,它的表达可有效反映溶栓后和再灌注损伤时 BBB 的损伤程度。张玉莲等^[30]以化痰通络方联合 rt-PA 溶栓,发现其能通过调控 Occludin, claudin-1, ZO-1 基因的表达保护血脑屏障完整性,从而防止脑缺血再灌注损伤的发展。

2 讨论

近来,国内外学者广泛开展中药复方治疗脑梗死的作用原理和科学内涵研究,取得了实质性进展。研究发现,脑缺血再灌注损伤是一个多环节、多途径、多因素损伤的酶促级联反应^[31],中药复方治疗脑梗死可能与其抗氧自由基损伤、抑制兴奋氨基酸释放、维持细胞内钙平衡、抑制凋亡基因激活、促进血管内皮生长和神经再生等多种作用有关。

在对机制的研究利用方面也有较大突破,如刘芳等^[32]发现补阳还五汤精简方在抗脑缺血损伤方面疗效显著,且药效不亚于原方,通过相同机制下复方不同组分的对比研究可筛选出简方或药对,在保证药效的前提下将大幅度节约中药资源;蒋宝平等^[33]将“瘀热证”以 IL-1 β 、IL-6 炎症因子反映“热”的指标,以血液流变学异常反映“瘀”的表现,这种将检测指标与中医证候相对应,通过实验探讨复杂中医辨证背景下的药物疗效也实属有益之举。

然而,当前的研究大多仍沿袭“还原论”的理论指导,局限于离体或在体水平的单一信号通路、单一研究技术与手段,少数分子信号蛋白的“正向验证性”、“割裂式”研究模式,难以系统、全面阐释“整体观念”指导下的中药复方作用机制。在研究对象的选择上,也多聚焦于单纯疾病动物或细胞模型,忽略了中医药诊疗疾病的“辨证论治”特色,亦难以发挥中药复方防治疾病的真正内涵。在今后的研究中,应该多以中医药“整体观念”为指导,采用具有中医学“辨证论治”特色的病证结合实验动物模型,集成多种现代生命科学研究技术与手段,采用单纯的正向验证与信号通路阻断反向研究相结合的研究策略,全面、

系统探究中药复方治疗脑梗死的多靶整合、网络调节作用,为防治脑梗死提供新的思路,并以所探究的疾病分支信号网络为载体,开展防治脑梗死的创新中药的筛选和研发。

参考文献:

- [1] 贾建平.神经病学[M].北京:人民卫生出版社,2013.
- [2] Consoli D, Paciaroni M, Aguggia M, et al. Prevalence of patent foramen ovale in ischemic stroke in Italy: the SISIFO study[J]. *Neurological sciences*, 2014, 35(6):867-873.
- [3] Kawabori M, Hokari M, Zheng Z, et al. Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-2Correlates to Hypothermic Neuroprotection in Ischemic Stroke [J].*Ther Hypothermia Temp Manag*, 2013, 3(4): 189-198.
- [4] Zhang J, Fang X, Zhou Y, et al. The Possible Damaged Mechanism and the Preventive Effect of Monosialotetrahexosylganglioside in a Rat Model of Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury [J]. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases: the official journal of National Stroke Association*, 2015, 24(7): 1471-1478.
- [5] Dhiraj DK, Chrysanthou E, Mallucci GR, et al. miRNAs-19b, -29b-2* and -339-5p show an early and sustained up regulation ischemic models of strokes[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): 369-375.
- [6] 何勇,李战宁,耿希刚,等.依达拉奉对缺氧/复氧损伤诱导心肌细胞凋亡的影响[J].*西安交通大学学报(医学版)*,2013,34(4):490-494.
- [7] 刘俊慧,丁立东,闫爱斌,等.血清超氧化物歧化酶、同型半胱氨酸、缺血修饰蛋白对预测脑梗死的价值分析[J].*实用临床医药杂志*, 2014,18(23):211-212.
- [8] 胡文,尹艳艳,王玉娟,等.麝香醒脑滴丸对脑缺血再灌注损伤的保护作用[J].*安徽医药*,2015,(1):39-42.
- [9] 余颜,易健,邵乐,等.补阳还五汤精简方对局灶性脑缺血大鼠脑谷胱甘肽抗氧化系统的影响 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2015,22(1):58-61.
- [10] 任弋,苏梅,郑静,等.脑脉利颗粒对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用及其机制[J].*中国药科大学学报*,2015,46(1):100-104.
- [11] Chen X, Li H, Huang M, et al. Effect of Gua Lou Gui Zhi decoction on focal cerebral ischemia-reperfusion injury through regulating the expression of excitatory amino acids and their receptors[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2014, 10(1): 248-254.
- [12] Racay P, Tatarikova Z, Chomova M, et al. Mitochondrial calcium transport and mitochondrial dysfunction after global brain ischemia in rat hippocampus[J]. *Neurochemical Research*, 2009, 34(8):1469-1478.
- [13] 王军玲,杨阳,高健,等.基于氨基酸代谢的抗脑缺血益气解毒配伍中药协同作用研究[J].*中国药理学通报*,2014,30(5):725-731.
- [14] 张思为,蒋红玉,邓世芳,等.芪椴汤对脑缺血再灌注大鼠血液中同型半胱氨酸含量及神经缺损评分的影响[J].*中医学报*,2013,28(8):1170-1172.
- [15] 徐丽娟.化浊解毒、活血通络方对脑缺血再灌注损伤小鼠钙超载相关机制的影响[D].河北医科大学,2013.
- [16] 林羽,徐伟,张玉琴,等.栝楼桂枝颗粒抗缺血性脑卒中大鼠神经元及原代海马神经元凋亡研究[J].*康复学报*,2015,25(1):38-43.
- [17] 朱敏侠,刘晓丽,戎浩,等.七十味珍珠丸对大鼠脑缺血再灌注损伤的抗凋亡作用[J].*天津医药*,2015,43(2):150-153.
- [18] 张琳琳,周震,张玉莲,等.化痰通络方对急性脑梗死大鼠 rt-PA 溶栓后神经细胞凋亡途径中内质网应激相关基因 GADD153/CHOP 与 JNK1 表达的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*,2015,21(23):117-121.
- [19] Zeng Z, Huang WD, Gao Q, et al. Arnebin-1 promotes angiogenesis by inducing eNOS, VEGF and HIF-1 α ; expression through the PI3K-dependent pathway [J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2015, 36(3): 685-697.
- [20] 宋祯彦,周瑜,王珊珊,等.中药脑泰方对大鼠脑缺血后 VEGF 和 Angiopoietins 表达的实验研究 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2016,36(1):19-22.
- [21] 田军彪,赵层闪,高晶晶,等.化浊解毒活血通络方对脑缺血再灌注损伤大鼠血管内皮生长因子表达的影响[J].*中华中医药杂志*, 2015,30(9):3341-3343.
- [22] 姜薇,李若林,陈永斌.龙蛭汤对大鼠脑梗死模型梗死灶周围组织 VEGF 及 Flk-1 mRNA 表达的影响 [J]. *广西医科大学学报*, 2014,31(2):192-196.
- [23] Kuric E, Wieloch T, Ruscher K. Dopamine receptor activation increases glial cell line-derived neurotrophic factor in experimental stroke[J]. *Experimental Neurology*, 2013, 247: 202-208.
- [24] 胡国恒,李映辰,程齐来,等.肾脑复元汤对脑缺血大鼠 BDNF 及 bFGF 表达的影响[J].*中成药*,2015,37(10):2274-2278.
- [25] 李幼玲,任培清.回春偏瘫方对缺血再灌注大鼠脑神经生长因子及脑源性神经营养因子表达的影响[J].*四川中医*,2012,30(6):40-42.
- [26] 王丽晔,赵海苹,王荣亮,等.络瘀通胶囊对大鼠脑缺血-再灌注损伤的作用[J].*中国脑血管病杂志*,2014,11(12):650-655.
- [27] Otsuka R, Adachi N, Hamami G, et al. Blockade of central histaminergic H2 receptors facilitates catecholaminergic metabolism and aggravates ischemic brain damage in the rat telencephalon [J]. *Brain Res*, 2003, 974: 117-126.
- [28] 何玲,温安徽,严郑元,等.脑络欣通方对大鼠脑缺血后纹状体中 5-HT、DA、NE、5-HIAA 的影响 [J]. *北京中医药大学学报*, 2015,38(11):740-746.
- [29] Yang Y, Rosenberg GA. Blood-brain barrier breakdown in acute and chronic cerebrovascular disease [J]. *Stroke*, 2011, 42(11) : 3323.
- [30] 张玉莲,周震,刘爽,等.化痰通络方对急性脑梗死大鼠溶栓后脑微血管内皮细胞构成蛋白基因表达的影响[J].*中国实验方剂学杂志*,2014,20(2):157-162.
- [31] Tao Z, Zhao H, Wang R, et al. Neuroprotective effect of microRNA-99a against focal cerebral ischemia-reperfusion injury in mice [J]. *Journal of the Neurological Sciences*, 2015, 355(1/2): 113-119.
- [32] 刘芳,刘青萍,王宇红,等.补阳还五汤及其精简方抗脑缺血损伤功效比较[J].*中国中医药信息杂志*,2014,21(9):46-49.
- [33] 蒋宝平,田磊,李申,等.凉血通瘀方对实验性瘀热证脑缺血大鼠的治疗作用[J].*中药新药与临床药理*,2014,25(1):10-14.