

综述

促红细胞生成素与缺血性脑血管病

杨 慧综述,刘瑞珍审校

(山西医科大学第二临床医学院,山西 太原 030001)

缺血性脑血管病具有发病率高、病死率高、复发率高等特点,且有发病率逐年增加的趋势。脑血管病是老年人三大主要死因之一,其中缺血性脑血管病占65%。防治缺血性脑血管病的研究已成为社会和医学界关注的重要课题,其中研究最多的是神经保护。较多的体内实验和体外实验发现并证实,促红细胞生成素(EPO)具有神经保护作用,外源性EPO对多种脑损伤模型有脑保护作用^[1]。因此,EPO的脑保护作用倍受关注。本文结合近年来的文献,就EPO的分子结构、作用机制、临床应用前景等作一综述。

1 EPO及其受体EPO-R的结构与分布

EPO是一种含唾液酸的酸性糖蛋白,主要由165个氨基酸组成,胚胎早期由肝生成,出生后逐渐向肾转移,由肾小管间质细胞分泌入循环,促进晚期红系祖细胞的增殖、分化和以后的逐渐成熟。人类EPO基因定位于7q11-12。1994年MASUDA等^[2]首先在体外培养的鼠胚胎脑细胞中发现了细胞自身分泌的EPO,且其糖基化水平与循环中EPO不同,但所含唾液酸较少,分子更小,而作用却更强。

EPO必须通过EPO-R才能发挥其功能。EPO-R基因定位于19p13.3,属细胞因子受体超家族中造血生长因子受体家族成员,是一种含508个氨基酸的单链跨膜糖蛋白。

原代培养显示星形胶质细胞和神经元均能产生EPO。在低氧的环境下,胶质细胞EPOmRNA表达增加100倍以上,同时蛋白的水平也明显增加^[2],提示星形胶质细胞是脑组织中EPO的主要来源。对人脑发育过程中EPO在神经元基因表达研究发现,受孕20周后主要在丘脑、海马、皮层及脊髓的神经元胞浆^[3]。SAKANAKA等^[4]用抗EPO-R免疫化学染色显示:在鼠的海马及脑皮层区域,同时在原代培养的海马及皮质神经元有EPO-R的表达。

SIREN等^[5]运用免疫组织化学方法观察到,人脑组织缺血缺氧时也可见EPO和EPO-R表达,结果提示脑缺血后EPO发挥神经保护作用^[5]。

2 EPO生成的调节

EPO的生成主要受携氧能力的调节,TAN等^[6]发现,在正常大鼠的脑组织中检测到mRNA的表达,在缺氧的刺激

下表达明显增加。MASUDA在胎鼠的没有EPO的神经培养细胞中,用酶联免疫法检测发现低氧可促进培养细胞EPO的产生,除缺氧能刺激脑EPO生成外,代谢障碍如低血糖、自由基的生成等通过缺氧诱导因子21刺激EPO的生成。在星形胶质细胞培养中,胰岛素样生长因子能刺激EPO的生成并且成剂量依赖。给小鼠腹腔注射CoCl₂ 60 mg/kg和去铁敏(DFX)200 mg/kg也能诱导新皮层EPOmRNA表达。

3 EPO的神经保护作用

3.1 抗凋亡

正常大脑中内源性EPO被可溶性EPO-R结合后导致神经元退行性变和学习障碍。在多种脑损伤动物模型中,EPO能减轻损伤后脑结构破坏并改善脑功能。局部脑缺血的动物模型在中动脉结扎前24h脑室内注射0.4 μg/kg的重组EPO(rHuEPO),脑梗死体积比对照组减少47%^[7]。在双侧颈总动脉结扎的全脑缺血模型中,侧脑室输注EPO能解救海马CA1区神经元缺血引起的损伤,增加缺血区完整突触的数量^[5]。SIREN等^[8]对大鼠脑梗死组织切片进行末端脱氧核糖核苷酸转移酶介导的脱氧尿苷三磷酸尾标记(TUNEL)发现,EPO使局部缺血半影区内的阳性标记凋亡神经元明显减少,甚至消失。GELIK等^[9]报道,正常脊髓前角运动神经元大量表达EPO-R,静脉注射rHuEPO可使缺血诱导的运动神经元凋亡减少,神经功能丧失减轻。对照组(生理盐水)脊髓前角运动神经元可见TUNEL标记,而rHuEPO处理组则否,表明EPO可以阻止缺血诱导的神经元凋亡。体外实验也证明EPO具有抗凋亡作用^[8]。

3.2 抗氧化作用

SIREN等^[5]报道EPO能增强脑中超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化酶等抗氧化酶的活性^[5],增加肠谷胱甘肽过氧化酶活性。上述研究表明EPO通过上调抗氧化酶的表达及下调氧自由基产生发挥其抗氧化作用。

3.3 促血管生成作用

MARTINE-ESTRADA等^[10]研究表明EPO能促进血管内皮细胞的增生和增加基质金属蛋白酶22的生成,从而介导早期血管生成以及促进细胞分化介导晚期血管生成,而

且 EPO 在促进毛细血管生成的同时并不削弱内皮细胞之间的紧密连接,因而不会增加渗出。

3.4 抗炎作用

VILLA 等^[11]报道 EPO 能显著减少脑梗死区内的致炎因子如干扰素 2 γ 、TNF-2 α 、IL-26 等的释放,减轻炎性细胞的浸润。

以上是研究较多的保护作用,EPO 还有其他作用,如神经营养因子的作用、调节神经细胞的生成等。

4 EPO 对神经系统的可能保护机制

实验证明神经细胞可产生内源性 EPO,以旁分泌的方式发挥保护作用。EPO 通过与 EPO-R 结合启动信号传导通路。实验研究提出几种可能的受体后保护机制。

4.1 激活酪氨酸激酶 Janus 激酶 2(Jak2)

Jak2 在 EPO 的信号传导中起着关键的作用。目前认为 EPO 先与 EPO-R 结合,结合后造成 EPO-R 二聚化,导致 Jak2 与 EPO-R 的结合亲和力提高,自身激活位点被磷酸化而自我激活。激活的 Jak2 引发了酪氨酸磷酸化瀑布,使 EPO-R 的酪氨酸残基和胞浆内多个蛋白磷酸化而相继被激活,产生一系列效应。

4.2 抗谷氨酸兴奋毒性

谷氨酸受体过度激活是造成神经元死亡的主要因素,造成细胞急性坏死,同时也启动细胞凋亡。一些实验证实,EPO 可阻止谷氨酸兴奋毒性作用。MORISHITA 等^[12]报道,体外培养胚胎鼠大脑皮质和海马神经元细胞,将这些细胞暴露于谷氨酸处理 15 min。结果发现,用 EPO 预处理可预防谷氨酸介导的细胞死亡。

4.3 EPO 抑制 NO 的合成

CALAPAI 等^[13]用蒙古沙土鼠脑缺血模型发现,缺血后海马区 NO 合成增加,而用 EPO 处理后却有所减少。SAKANAKA 等^[4]对沙土鼠脑缺血模型的研究也发现,EPO 可减少 NO 介导的神经元死亡。AKIMOTO 等^[14]通过对鼠血管平滑肌的研究发现,rhuEPO 可抑制平滑肌细胞上诱导型 NOS(iNOS)mRNA 和蛋白的表达,从而抑制 IL-21 β 诱导 NO 的生成。这些实验均提示,EPO 可通过减少 NO 的过量产生而发挥保护作用。

4.4 EPO 增加神经细胞中胆碱乙酰转移酶的活性

研究发现在脑缺血再灌注模型中能提高定向力、学习能力和记忆力^[5]。SAKANAKA 等^[4]对缺血沙土鼠侧脑室注射 EPO 7 d 后进行传统的跳台试验测定学习功能,结果发现 EPO 能够抢救海马 CA1 区神经元而防止了学习功能受损。Morris 水迷宫测试显示注射 EPO 可减轻梗死引起的地点认知缺损及减轻缺血引起的继发性丘脑损害^[8]。目前认为,

EPO 可以增加神经细胞中胆碱乙酰转移酶的活性,对胆碱神经有营养作用。

4.5 调节钙离子活动

KAWAKARNI 等^[15]研究表明 EPO 可通过调节 Ca²⁺ 内流发挥作用,当 EPO 与 EPO-R 结合后,EPO-R 即被激活并直接作用于 Ca²⁺ 通道,通过去极化抑制 Ca²⁺ 内流,从而减少了突触小泡释放的谷氨酸盐对神经细胞的损伤,以及下调 caspase23 发挥抗凋亡的作用。

EPO 除上述主要的保护机制外,还具有以下保护机制:可以调节神经细胞的生成,培养的大脑皮层神经元用 EPO 预处理后,然后经过中度缺氧后,神经元的数量增加 2~3 倍,且上述作用能被 EPO 的抗体所中和,提示 EPO 调节神经细胞的生成;另外,EPO 能诱导脑内皮细胞增生和刺激体内新生血管的形成,新形成的血管能运输更多的红细胞,能增加缺氧组织氧的供应。

5 EPO 可以通过血脑屏障

BRINES 等^[1]报道,用生物素标记的 rhEPO 给小鼠腹腔单次注射 5 000 U/kg,5 h 后去脑进行免疫组化检查发现,生物素标记的 rhuEPO 在脑组织中出现,并且主要分布在血管周围,提示 EPO 能通过血脑屏障。传统观念认为大分子物质不能通过血脑屏障,但对缺氧性脑损伤的患者给予重组 EPO 治疗后,脑脊液(CSF)和血浆中 EPO 的浓度均明显升高,而且两者是高度相关的,新近研究发现急性脑缺血时脑毛细血管内皮细胞表达大量 EPOR,EPO 与其结合后再通过胞饮的形式进入脑内。

综上所述,人的中枢神经系统(CNS)内有 EPO 表达,在脑内起着旁分泌的作用,通过与 EPO-R 结合发挥作用。EPO 可以被缺氧诱导,在脑缺血缺氧时有保护神经细胞、改善神经功能的作用,为脑缺血性损伤的临床治疗开辟了一条新的途径。虽然 EPO 对脑缺血损伤的保护作用还有待于进一步研究,但随着研究的不断深入,相信对 EPO 在 CNS 中的保护作用会有更全面的认识,而研究结果一旦能应用于临床,无疑将造福于人类。

参考文献:

- [1] BRINES M L, GHEZZI P, KEENAN S, et al. Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain injury[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(19): 230-251.
- [2] MASUDA S, OKANO M, YAMAGISHI K, et al. A novel site of erythropoietin production. Oxygen-dependent production in cultured rat astrocytes[J]. J Biol Chem, 1994, 269: 19 488-19 493.
- [3] MARTI H H, GASSMANN M, WENGER R H. Detection of erythropoietin in human liquor intrinsic erythropoietin production in the brain [J]. Kidney

- Int, 1997, 51: 416-418.
- [4] SAKANAKA M, WEN T C, MATSUDA S, et al. In vivo evidence that erythropoietin protects neurons from ischemic damage[J]. Proc Natl Acad Sci, 1998, 95(8): 4 635.
- [5] SIREN A L, KNERLICH F, POSER W, et al. Erythropoietin and erythropoietin receptor in human ischemic/hypoxic brain[J]. Acta Neuropathol (Berl), 2001, 101: 271-276.
- [6] TAN C C, ECKARDT K U, FIRTH J D, et al. Feedback modulation of renal and hepatic erythropoietin mRNA in response to graded anemia and hypoxia[J]. Am J Physiol, 1992, 263: 482-500.
- [7] SADAMOTO Y, IGASE K, SAKANAKA M, et al. Erythropoietin prevents place navigation disability and cortical infarction in rats with permanent occlusion of the middle cerebral artery[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1998, 253(1): 26 232.
- [8] SIREN A L, FRATELLI M, BRINES M, et al. Erythropoietin prevents neuronal apoptosis after cerebral ischemia and metabolic stress[J]. Natl Acad Sci USA, 2001, 98(7): 4 044-4 049.
- [9] GELIK M, GOKMEN N, ERBAYRAKTAR S, et al. Erythropoietin prevents motor neuron apoptosis and neurologic disability in experimental spinalcord ischemic injury[J]. Natl Acad Sci USA, 2002, 99: 2 258-2 263.
- [10] MARTINEZ-ESTRADA O M, RODRIGUEZ-MILLAN E, GONZALEZ-DEVICENTE E, et al. Erythropoietin protects the in vitro blood-brain barrier against VEGF-induced permeability[J]. Eur J Neurosci, 2003, 18: 2 538.
- [11] VILLA P, BIGINI P, MENNINI T, et al. Erythropoietin selectively attenuates cytokine production and inflammation in cerebral ischemia by targeting neuronal apoptosis[J]. Exp Neurol, 2003, 198: 971.
- [12] MORISHITA E, MASUDA S, NAGAO M, et al. Erythropoietin receptor is expressed in rat hippocampal and cerebral cortical neurons, and erythropoietin prevents in vitro glutamate-induced neuronal death[J]. Neurosci, 1997, 76: 105-116.
- [13] CALAPAI G, MARCIANO M C, CORICA F, et al. Erythropoietin protects against brain ischemic injury by inhibition of nitric oxide formation[J]. Eur J Pharmacol, 2000, 401: 349-356.
- [14] AKIMOTO T, KUSANO E, MUTO S, et al. The effect of erythropoietin on interleukin-1beta mediated increase in nitric oxide synthesis in vascular smooth muscle cells[J]. J Hypertens, 1999, 17: 1 249-1 256.
- [15] KAWAKRNI M, LWASAKI S, SATO K, et al. Erythropoietin inhibits calcium-induced neurotransmitter release from clonal neuronal cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 279: 293.

收稿日期: 2006-12-17

作者简介: 杨 慧(1980—), 女, 山西省平遥县人, 硕士学位。

土豆片贴敷治疗颅脑术后眼睑水肿的疗效观察

姜玉荣, 李学新, 薄其美, 王洪岩

(滨州医学院附属医院, 山东 滨州 256603)

2005年9月—2006年3月用土豆片贴敷治疗颅脑术后眼睑水肿38例, 取得满意效果。报告如下:

1 资料与方法

1.1 一般资料

本组38例, 男26例, 女12例, 年龄20~76岁。脑膜瘤术后12例, 胶质瘤术后18例, 硬膜外及硬膜下血肿术后8例。其中双眼睑水肿16例, 单眼睑水肿22例。水肿程度: 眼睑周围皮肤张力较高, 睁眼困难15例, 不能睁眼23例。

1.2 方法

新鲜土豆洗净, 冰箱冷藏备用。土豆去皮, 根据需要贴敷治疗的部位、范围确定土豆片大小。切片宜薄, 约0.1 cm, 光线下透明为原则。将土豆片均匀不留缝隙贴于肿胀的眼睑周围, 2~3 h更换1次, 水肿较严重者可缩短更换时间, 1~2 h

更换1次。使用过程中随时观察局部水肿改善情况。

2 结 果

颅脑术后眼睑水肿完全消退约需3~4 d。土豆片贴敷治疗, 应用1~2次眼睑周围皮肤张力即降低, 微睁眼。应用4~5次后水肿明显消退, 睁眼自如。24~40 h眼睑水肿完全消退, 明显缩短了水肿消退时间, 减轻了患者的痛苦。

本组38例患者, 36例效果明显, 24 h水肿完全消退, 占94.7%; 2例40 h水肿消退, 占5.3%。

3 讨 论

神经外科颅脑术后, 眼睑水肿发生率较高, 一直无有效的对症治疗。应用土豆片贴敷治疗眼睑水肿, 疗效显著, 患者无痛苦。此方法操作简单、方便, 不受条件限制, 护士易于掌握。

收稿日期: 2006-12-16

作者简介: 姜玉荣(1968—), 女, 山东省东营市人, 学士学位, 主管护师, 主要从事护理工作。