

内源性脑保护的诱生:从缺血预处理到缺血后处理

时芳芳 任传成 章军建

【关键词】 脑缺血; 缺血预处理; 综述文献

DOI:10.3969/j.issn.1672-6731.2011.02.009

脑血管病具有高发病率、高病残率的特点,目前对缺血性脑血管病可以选择的有效治疗方法尚较少,已经获得临床证据的方法只有重组组织型纤溶酶原激活物(rt-PA)溶栓、卒中单元和抗血小板治疗^[1-2]。而脑保护治疗,虽然基础研究证实有效但临床应用并未获得理想的效果^[3-4],其中一个重要的原因是外源性脑保护药物常常只能作用于单一靶点,而脑缺血损害的病理生理过程涉及多个环节。2001年7月,美国国立神经病学与卒中研究院(NINDS)建议在21世纪前10年重点进行脑卒中基础与临床研究,并强调研究内皮细胞、血管平滑肌细胞、星形胶质细胞和小胶质细胞、神经元及相关组织基质酶的动态相关性——即神经血管单元在脑卒中病理生理学中的重要性,以所有细胞和基质而不仅是由神经元或血管构成的神经血管单元作为密切相关的组织,在脑卒中组织损伤中发挥十分重要的作用,且神经血管单元可能也与脑血管病相关的其他脑部疾病有关,例如血管性痴呆、偏头痛、颅脑创伤、多发性硬化,甚至脑的老化过程等^[5]。内源性脑保护可通过多靶点、多途径调动机体自身的保护机制,这是目前脑保护研究的重要手段之一,受到国外同行的高度关注。而国内对这方面的认识尚有待加强,甚至存在一些误区。笔者拟就内源性脑保护的研究进展进行概述。

一、缺血预处理现象的发现

缺血预处理或缺血预适应(ischemic preconditioning)最早报道于1986年。Murry等^[6]在犬的胸外科实验中,于常规40 min心肌缺血前尝试

给予4个循环(每一循环缺血5 min-再灌注5 min)的处理。理论上认为,这组经历了60 min缺血的动物心肌梗死面积应较为广泛,而令他们吃惊的是,这些动物的心肌梗死面积仅为单纯缺血组的1/4,且这种保护作用与血流量无关,他们称此为“ischemic preconditioning”。这一现象的发现开辟了一个全新的研究领域,迄今为止该文的被引用次数已超过3200次。更为重要的是,与以往缺血保护药物重复性欠佳的研究不同,预处理的重复性十分稳定,并在鼠、兔、猪等多种动物及肾、肝、脑等多种脏器实验中得到证实^[7-8]。Marber等^[9]和Kitagawa等^[10]发现,预处理存在两个时间窗,一个于缺血诱导后即刻出现,持续2~3 h消失,即快速相(rapid preconditioning);另一为延迟相(delayed preconditioning)则在缺血诱导后24 h左右出现,约3 d达到高峰,持续1~2周。显然这两个时相的诱导机制不完全相同,从时间上推测,快速相涉及蛋白质的翻译后修饰,而延迟相则与新的蛋白质合成有关。以快速相对梗死面积的保护作用更强,但对梗死后远期神经功能的影响有限;而延迟相虽然保护作用稍弱一些,但其可同时减少梗死面积并保护远期神经功能。以上这些研究结果被称为经典的缺血预处理(classical preconditioning)。此后的研究发现多种与脑保护相关的药物或有害刺激,例如:G蛋白耦联受体(GPCRs,如腺苷A₁、A₃),缓激肽B₂等的激动剂,一氧化氮供体,磷酸二酯酶抑制剂和各种有害刺激(如内毒素、各种细胞因子、活性氧超家族)等,均可模仿缺血预处理诱导产生保护作用,称药物预处理(pharmacological preconditioning)^[8,11]。相对于预处理需通过脏器缺血来诱导保护而言,后者更易被伦理观念所接受,具有更潜在的临床应用前景。与以往的单纯药物保护动物实验有效而临床无效不同,预处理的保护现象已经临床实践所证

基金项目:国家自然科学基金资助项目(项目编号:81071061);上海市自然科学基金资助项目(项目编号:10411968900)

作者单位:200240 复旦大学附属上海市第五人民医院神经内科(时芳芳,任传成);武汉大学中南医院神经内科(章军建)

通信作者:任传成(Email:rcensf@gmail.com)

实:自 1993 年 Yellon 等^[12]首次于患者心脏旁路术中证实预处理可以应用于临床至今,已有多项临床试验均获得类似结果,涉及的手术方式包括心脏移植、先天性心脏病修补术、主动脉瘤修补术等^[13]。

二、缺血预处理脑保护现象的证实

Kirino^[14]发现,阻断蒙古沙土鼠的双侧颈动脉 5 min 可以引起海马神经元损害。1990 年,Kitagawa 等^[15]应用此模型证实 2 min 的缺血可引起 ATP 耗竭及蛋白质合成障碍,但不会引起神经元死亡;相反,这种短暂性缺血可以对 1 或 2 d 后的 5 min 致死性缺血产生保护作用,较相隔 1 d 的两次 2 min 缺血诱导产生的保护作用更强。该项实验首次证实了预处理同样可以诱导缺血性脑保护。此后,许多研究小组均验证了这一缺血性脑保护现象^[16-18]。之后,Dowden 和 Corbett^[19]在 18~20 周龄沙土鼠实验中进一步证实了这种脑保护作用对高龄鼠同样有效,从基础研究上证实了预处理运用于高龄脑血管病患者的有效性和可行性。氧糖剥夺(OGD)离体神经元缺血模型亦发现了这一缺血诱导脑保护现象的广泛存在^[20-21]。除了缺血预处理外,此后还发展了其他预处理脑保护模型,如高温诱导脑保护预处理模型^[22]、脂多糖(LPS)诱导脑保护模型^[23-24]、吸入性麻醉药预处理脑保护模型^[25-26]等。最近的研究还证实,体育锻炼同样也可以诱导产生缺血脑保护^[27]。这些结果进一步证实内源性脑保护现象是广泛存在的,但需要适当的诱导条件进行激发。

三、远隔预处理现象的发现及概念的演变

Przyklenk 等^[28]给予心脏环动脉 5 min 的缺血和复流,1 h 后行前降支缺血,同样可产生保护作用,这种预处理保护远隔组织的现象被称为“inter preconditioning”。其后的研究证实,这种“inter preconditioning”可存在于不同的器官之间(inter organ)。1996 年,Gho 等^[29]首次报告肠系膜动脉缺血预处理同样可以保护心肌缺血,这种一个器官的非致死性缺血诱导保护远隔器官致死性缺血的现象被称为“remote preconditioning”,暂译为“远隔预处理”。之后,这一现象也被其他研究小组的实验结果所证实:Li 等^[30]运用下肢动脉缺血同样诱导产生对心肌缺血的保护作用;Gustafsson 等^[31]建立了肝脏缺血的诱导保护模型;Gurcun 等^[32]运用左侧肾动脉缺血诱导对脊髓缺血的保护作用;Brzozowski 等^[33]则通过心肌缺血或肝动脉缺血实验诱导了对胃黏膜的保护作用。上述一系列不同动物、不同组

织器官研究均证实远隔预处理为一广泛存在的现象。与经典的缺血预处理采用同一器官小缺血保护其严重缺血(如心脏小缺血保护心脏、脑小缺血保护脑)不同,远隔预处理可采用非生命关键器官来保护生命器官如下肢缺血保护心肌缺血或脑缺血,其更具有潜在的临床应用前景。

关于远隔预处理诱导保护的机制尚不十分清楚,目前共有 3 种理论^[34-35]:第 1 种理论为神经源性保护学说,缺血诱导器官释放的内源性物质如腺苷、激肽等刺激局部传入神经,通过神经通路作用于被保护器官;第 2 种理论为内分泌学说,缺血诱导器官产生的物质如腺苷、激肽等分泌进入血液,通过血液循环转运至受保护器官,这些物质直接刺激靶细胞信号转导通路诱导产生保护作用;第 3 种理论为抗炎学说,该学说认为,短暂性远隔器官的非致死性缺血可以产生全身性抗炎性反应作用,进而诱导保护作用。当然更可能的是以上 3 种情况同时存在并相互影响^[36],究竟哪一种机制起主要作用尚待更多研究加以证实。

四、远隔预处理脑保护现象的证实

随着远隔预处理现象在其他器官相继被证实,远隔预处理能否诱导脑保护成为神经科学工作者的一项重要研究课题。直至 2004 年才陆续出现远隔预处理脑缺血保护模型建立的报道^[37-38],这些研究均采用四血管 8 min 全脑缺血模型或心脏骤停模型,主要观察海马等缺血易损结构。由于模型稳定性等原因导致重复性较差,从而影响了后续的研究。因此,建立一种稳定的远隔预处理脑缺血保护模型即显得十分迫切,虽然目前有多个研究小组都试图建立这样一种脑保护模型,但均未能取得实质性进展。在美国神经科学 2007 年年会(SFN-2007,美国加利福尼亚州圣地亚哥市)上,笔者所在的美国斯坦福大学 Zhao 实验室率先报告了在远端大脑中动脉闭塞(dMCAO)模型上建立远隔预处理局灶性脑缺血模型的方法,并于 2008 年在 *Neuroscience* 上详细报道了该项研究成果^[39]。采用单侧下肢股动脉作为缺血诱导器官,以利于日后的临床转化,根据下肢缺血诱导时间、再灌注时间、缺血-再灌注循环和远隔预处理与脑缺血模型间隔的不同,共实验了数十种远隔预处理模式,并证实部分文献报道的全脑缺血或线栓模型远隔预处理条件并不能在远隔大脑中动脉闭塞模型基础上诱导脑保护作用,而 100 余只动物的系列化预实验研究(包括多小组

双盲重复)亦使我们找到了其诱导脑保护的可能规律和最强保护条件。此外,60 d 的行为学测验(behavior test)及 Nissl 染色已经证实,远隔预处理对脑缺血既有短期保护作用亦有长期保护作用;进一步研究还发现,远隔预处理可以减轻血-脑脊液屏障的破坏、减轻缺血后脑水肿。我们还通过对传入神经抑制剂、传出神经抑制剂、mRNA 合成抑制剂和蛋白质合成抑制剂的研究发现,远隔预处理诱导脑保护的机制既涉及神经通路,也涉及新的蛋白质合成机制(尚未发表);同时还与细胞外信号调节激酶(ERK)、C-Jun 氨基末端激酶(JNK)、蛋白激酶 C(PKC)和蛋白激酶 B[也称丝氨酸/苏氨酸激酶(Akt)]等的变化有关。当然其详细诱导机制尚待进一步更深入的研究。

五、从缺血预处理到缺血后处理的研究延伸

与预处理研究仅有 20 余年的历史相比,观察到缺血后处理(postconditioning)的现象要早的多,虽然其概念的提出晚于预处理。早在 1955 年, Sewell 等^[40]即观察到心脏缺血后迅速复流会导致致死性心室颤动(即现在概念上的再灌注损伤),受此启发,他们于再灌注后易发生心室颤动的早期数秒至 20 秒内进行间断灌注,可消除迅速复流导致的心室颤动。这一现象同样在患者身上得到证实^[41]。1996 年, Na 等^[42]在猫心肌缺血实验中证实再灌注早期进行复流干预可以防止心室颤动,并首次应用“postconditioning”这一术语描述这一心肌保护现象。由于这三篇文章均观察心室颤动这一电生理学指标,而未用梗死面积来定量,因此目前公认这三篇文章是缺血后处理研究的先驱。直至 2003 年, Zhao 等^[43]的研究结果公开发表后,缺血后处理研究才得到足够的重视并开展了大规模研究, Zhao 等^[43]在心肌梗死模型上发现缺血后处理可减少 44% 梗死面积这一心肌保护现象,在不同动物种系如大鼠^[44]、小鼠^[45]、兔^[46]、猪^[47]等心肌梗死模型上逐一得到验证,同时还建立了体外研究模型^[48]并进行了小型临床试验^[49]。

2006 年, Zhao 等^[50]最先报告缺血后处理诱导脑保护现象。他们发现缺血后处理可使远隔大脑中动脉闭塞 15、30 和 60 min 组动物脑梗死面积分别减少 80%、51% 和 17%; 长期(30 d)行为学观察亦证实,缺血后处理不仅能够减少缺血早期脑梗死面积,对神经功能还具有长期保护作用。进一步的研究还发现,不同干预时间、干预循环可产生不同程

度的脑保护作用,其中以 10 个循环(每一循环缺血 10 s-再灌注 10 s)所诱导的脑保护作用最强;与缺血预处理快速相可以持续 3 h 不同,缺血后处理的时间窗要窄得多,若缺血-再灌注 3 min 后再行缺血后处理,这种保护作用已经消失^[51]。此后, Pignataro 等^[52]发现了更强的诱导条件,他们在大脑中动脉缺血 100 min 模型上进行诱导保护研究,发现 3 个循环,每一循环缺血 5 min-再灌注 5 min 可减少 38% 梗死面积。Lee 等^[53]采用吸入性麻醉药异氟烷也可诱导产生脑保护现象,提示缺血后处理诱导脑保护是一广泛存在的现象。由于缺血后处理仅在再灌注后数分钟内施行有效,如经皮冠状动脉介入术(PCI)后、各种体外循环术后等,对于临床上广泛存在的缺血性脑血管病而言,在这么短的时间窗内进行干预显然是不现实的。因此,像预处理一样证实缺血后处理的延迟相并建立相应的动物模型至关重要。我与我的同事经过艰苦的探索,历经 40 余种实验条件幸运地在远隔大脑中动脉闭塞局灶性脑缺血模型上找到了缺血后处理延迟相的时间点及诱导条件,并首先进行了报道^[54]。我们的实验发现:在缺血后 6 h 给予长时间的部分灌注-全灌注后,经 TTC 检测证实延迟相缺血后处理组与单纯缺血组相比,梗死灶面积仅为后者的 37%; 微磁共振成像(microMRI)检查证实,缺血模型制备后 5 h 两组动物缺血灶大小无差异,其中一组于缺血后 6 h 行延迟相缺血后处理,当 24 h 复查 microMRI 时两组动物梗死灶面积有显著差异,从活体上证实了延迟相缺血后处理的保护作用;¹⁸F-脱氧葡萄糖微正电子发射体层摄影术(¹⁸F-FDG microPET)检测脑代谢证实,延迟相缺血后处理能够增加缺血半暗带区脑组织对¹⁸F-FDG 的吸收,减少缺血面积;而且对血-脑脊液屏障、脑水肿、60 d 行为学观察等的研究也证实了缺血后处理延迟相的存在。全脑缺血研究也发现,延迟相缺血后处理可减少海马区损伤,诱导脑保护作用^[55],此外,红细胞生长素(EPO)^[56]、选择性乙酰胆碱酯酶抑制剂 Huperzine A^[57]等在缺血 6 h 后注射同样可以减少脑梗死面积,这些均提示缺血后处理确有延迟相,当然其保护的是缺血半暗带区而非梗死核心区。与预处理研究中所发现的远隔预处理现象一样,我们也希望能够建立远隔后处理模型并在此基础上进行更深入的研究。我们将远隔预处理的诱导条件在缺血后进行重复,发现远隔器官的缺血同样可以诱导对另一器官的缺血后保护,相关

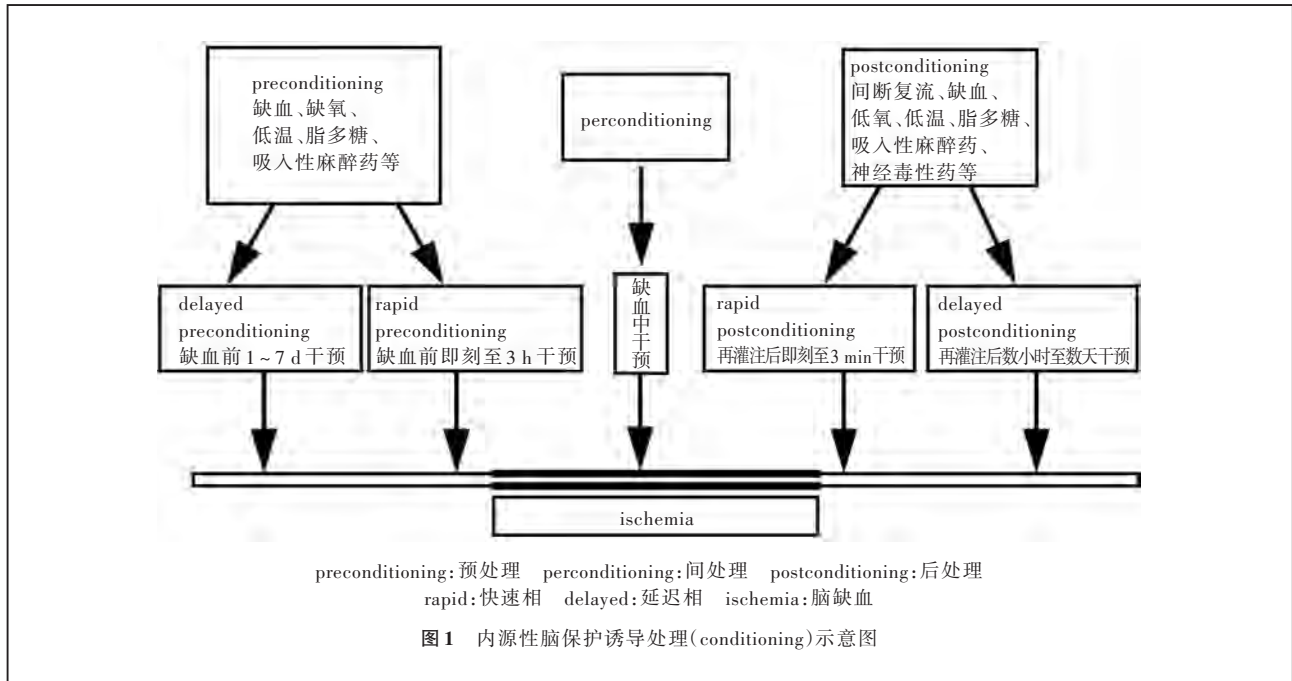


表 1 缺血预处理与缺血后处理的机制研究

| 机制 | 缺血预处理 | 缺血后处理 |
|------------------------------|-------|-------|
| 抗凋亡 | + | + |
| 抗脑水肿 | + | + |
| 减轻血管损害 | + | + |
| 内皮细胞保护 | + | + |
| 改善血流 | + | + |
| 减轻中性粒细胞损害 | + | + |
| 减轻活性氧损害 | + | + |
| 激活 ATP 敏感的 K ⁺ 通道 | + | + |
| 降低 mPTP 阈值 | + | + |
| 细胞因子 | + | + |
| NMDA 受体 | + | + |
| MAPK | ± | ± |
| PI ₃ K-Akt | ± | ± |
| PKC | ± | ± |
| CREB | + | ? |
| 分子伴侣如 HSP | + | ± |
| 神经营养因子如 BDNF | + | ± |
| STAT | + | + |

注: mPTP, 线粒体通透转运孔; NMDA, N-甲基-D-天冬氨酸; MAPK, 丝裂原活化蛋白激酶; PI₃K-Akt, 磷脂酰肌醇 3 激酶-丝氨酸/苏氨酸激酶; PKC, 蛋白激酶 C; CREB, cAMP 反应元件结合蛋白; HSP, 热休克蛋白; BDNF, 脑源性神经营养因子; STAT, 信号转导和转录激活因子。+, 已有研究证实参与脑保护作用; ±, 研究结果不一致; ?, 无相关研究

在前文所述内容中,我们对缺血预处理、缺血后处理及远隔预处理、远隔后处理进行了梳理,从诱导保护与致死性缺血的发生时间关系上分析,conditioning 可以分为 3 种:缺血前先行 conditioning 诱导,称为 preconditioning(预处理);缺血时进行 conditioning,即为 perconditioning(间处理);缺血后进行 conditioning,则为 postconditioning(后处理)。依据诱导器官与靶器官的不同,分为经典的缺血预和(或)后处理(诱导器官与受保护靶器官相同)和远隔缺血预和(或)后处理,其相互关系及诱导因素归纳见图 1。

六、内源性脑保护机制的研究

无论上述哪一种处理都是通过诱导内源性脑保护机制而发挥作用,当然不同诱导条件所诱导的保护途径不完全一样,建立上述模型更重要的意义在于找出内源性脑保护的关键环节,以利于今后更深入地研究。对于内源性脑保护产生的可能机制已有许多报道,涉及 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体^[59],活性氧(ROS)^[60],信号转导通路如丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)^[61]、细胞内磷脂酰肌醇 3 激酶(PI₃K)-Akt^[50]、蛋白激酶 C^[62]、cAMP 反应元件结合蛋白(CREB)^[63],分子伴侣如热休克蛋白(HSP)^[64],神经营养因子如脑源性神经营养因子(BDNF)^[65],抗凋亡^[66]等。表 1 初步归纳了目前有关内源性脑保护机制方面的研究,由于篇幅所限,更多机制方面的研究文章请参阅相关文献。

研究结果发表于 2009 年的 *Brain Research*, 这是国际上最先报道的远隔后处理脑保护现象^[58]。

七、展望

以缺血预处理、缺血后处理研究为代表的内源性脑保护研究方兴未艾,已有的研究成果令人对脑保护药物的开发充满了新的期待。然而,建立缺血预处理和(或)后处理脑保护模型的过程说明,诱导条件仅能在某些情况下有效,虽然有心脏手术成功的临床干预经验,但若将现有用于动物身上的诱导条件直接复制到缺血性脑血管病患者身上是不现实的,也是十分危险的。内源性脑保护机制的研究文章浩如烟海、莫衷一是,也说明我们距离解开这一现象的本质还有很多路要走,需要开展更深入、更广泛的研究。

参 考 文 献

- [1] Adams HP Jr, Adams RJ, Brott T, et al. Guidelines for the early management of patients with ischemic stroke: a scientific statement from the Stroke Council of the American Stroke Association. *Stroke*, 2003, 34:1056-1083.
- [2] 中华医学会神经病学分会脑血管病学组急性缺血性脑卒中诊治指南撰写组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2010. *中华神经科杂志*, 2010, 43:146-153.
- [3] Hoyte L, Kaur J, Buchan AM. Lost in translation: taking neuroprotection from animal models to clinical trials. *Exp Neurol*, 2004, 188:200-204.
- [4] Macdonald S. The evidence for cerebral protection: an analysis and summary of the literature. *Eur J Radiol*, 2006, 60:20-25.
- [5] Lo EH, Dalkara T, Moskowitz MA. Mechanisms, challenges and opportunities in stroke. *Nat Rev Neurosci*, 2003, 4:399-415.
- [6] Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*, 1986, 74:1124-1136.
- [7] Hausenloy DJ, Yellon DM. Preconditioning and postconditioning: underlying mechanisms and clinical application. *Atherosclerosis*, 2009, 204:334-341.
- [8] Yellon DM, Downey JM. Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology. *Physiol Rev*, 2003, 83: 1113-1151.
- [9] Marber MS, Latchman DS, Walker JM, et al. Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction. *Circulation*, 1993, 88:1264-1272.
- [10] Kitagawa K, Matsumoto M, Ohtsuki T, et al. Extended neuronal protection induced after sublethal ischemia adjacent to the area with delayed neuronal death. *Neuroscience*, 2000, 96:141-146.
- [11] Bolli R. The late phase of preconditioning. *Circ Res*, 2000, 87: 972-983.
- [12] Yellon DM, Alkhulaifi AM, Pugsley WB. Preconditioning the human myocardium. *Lancet*, 1993, 342:276-277.
- [13] Crisostomo PR, Wairiuko GM, Wang M, et al. Preconditioning versus postconditioning: mechanisms and therapeutic potentials. *J Am Coll Surg*, 2006, 202:797-812.
- [14] Kirino T. Delayed neuronal death in the gerbil hippocampus following ischemia. *Brain Res*, 1982, 239:57-69.
- [15] Kitagawa K, Matsumoto M, Tagaya M, et al. 'Ischemic tolerance' phenomenon found in the brain. *Brain Res*, 1990, 528:21-24.
- [16] Kato H, Liu Y, Araki T, et al. MK-801, but not anisomycin, inhibits the induction of tolerance to ischemia in the gerbil hippocampus. *Neurosci Lett*, 1992, 139:118-121.
- [17] Miyashita K, Abe H, Nakajima T, et al. Induction of ischaemic tolerance in gerbil hippocampus by pretreatment with focal ischaemia. *Neuroreport*, 1994, 6:46-48.
- [18] Glazier SS, O'Rourke DM, Graham DI, et al. Induction of ischemic tolerance following brief focal ischemia in rat brain. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1994, 14:545-553.
- [19] Dowden J, Corbett D. Ischemic preconditioning in 18- to 20-month-old gerbils: long-term survival with functional outcome measures. *Stroke*, 1999, 30:1240-1246.
- [20] Goldberg MP, Choi DW. Combined oxygen and glucose deprivation in cortical cell culture: calcium dependent and calcium-independent mechanisms of neuronal injury. *J Neurosci*, 1993, 13:3510-3524.
- [21] Grabb MC, Choi DW. Ischemic tolerance in murine cortical cell culture: critical role for NMDA receptors. *J Neurosci*, 1999, 19: 1657-1662.
- [22] Arieli Y, Eynan M, Gancz H, et al. Heat acclimation prolongs the time to central nervous system oxygen toxicity in the rat: possible involvement of HSP72. *Brain Res*, 2003, 962(1/2):15-20.
- [23] Rosenzweig HL, Lessov NS, Henshall DC, et al. Endotoxin preconditioning prevents cellular inflammatory response during ischemic neuroprotection in mice. *Stroke*, 2004, 35:2576-2581.
- [24] Rosenzweig HL, Minami M, Lessov NS, et al. Endotoxin preconditioning protects against the cytotoxic effects of TNFalpha after stroke: a novel role for TNFalpha in LPS-ischemic tolerance. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2007, 27:1663-1674.
- [25] Clarkson AN. Anesthetic-mediated protection/preconditioning during cerebral ischemia. *Life Sci*, 2007, 80:1157-1175.
- [26] Kitano H, Kirsch JR, Hurn PD, et al. Inhalational anesthetics as neuroprotectants or chemical preconditioning agents in ischemic brain. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2007, 27:1108-1128.
- [27] Ding YH, Mrizek M, Lai Q, et al. Exercise preconditioning reduces brain damage and inhibits TNF-alpha receptor expression after hypoxia/reoxygenation: an in vivo and in vitro study. *Curr Neurovasc Res*, 2006, 3:263-271.
- [28] Przyklenk K, Bauer B, Ovize M, et al. Regional ischemic 'preconditioning' protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation*, 1993, 87: 893-899.
- [29] Gho BC, Shoemaker RG, van den Doel MA, et al. Myocardial protection by brief ischemia in noncardiac tissue. *Circulation*, 1996, 94:2193-2200.
- [30] Li CM, Zhang XH, Ma XJ, et al. Limb ischemic postconditioning protects myocardium from ischemia-reperfusion injury. *Scand Cardiovasc J*, 2006, 40:312-317.
- [31] Gustafsson BI, Friman S, Wallin M, et al. Effect of remote preconditioning on mild or severe ischemia-reperfusion injury to rat liver. *Transplantation Proc*, 2006, 38:2708-2709.
- [32] Gurcun U, Discigil B, Boga M, et al. Is remote preconditioning as effective as direct ischemic preconditioning in preventing spinal cord ischemic injury? *J Surg Res*, 2006, 135:385-393.
- [33] Brzozowski T, Konturek PC, Pajdo R, et al. Importance of brain-gut axis in the gastroprotection induced by gastric and remote preconditioning. *J Physiol Pharmacol*, 2004, 55(1 Pt 2):165-177.
- [34] Hausenloy DJ, Yellon DM. Remote ischaemic preconditioning: underlying mechanisms and clinical application. *Cardiovasc Res*, 2008, 79:377-386.

- [35] Walsh SR, Tang TY, Sadat U, et al. Remote ischemic preconditioning in major vascular surgery. *J Vasc Surg*, 2008, 49:240-243.
- [36] Granfeldt A, Lefer DJ, Vinten-Johansen J. Protective ischaemia in patients: preconditioning and postconditioning. *Cardiovasc Res*, 2009, 83:234-246.
- [37] Vlasov TD, Korzhevskii DE, Polyakova EA. Ischemic preconditioning of the rat brain as a method of endothelial protection from ischemic/reperfusion injury. *Neurosci Behav Physiol*, 2005, 35:567-572.
- [38] Dave KR, Saul I, Prado R, et al. Remote organ ischemic preconditioning protect brain from ischemic damage following asphyxial cardiac arrest. *Neurosci Lett*, 2006, 404(1/2):170-175.
- [39] Ren C, Gao X, Steinberg GK, et al. Limb remote - preconditioning protects against focal ischemia in rats and contradicts the dogma of therapeutic time windows for preconditioning. *Neuroscience*, 2008, 151:1099-1103.
- [40] Sewell WH, Koth DR, Huggins CE. Ventricular fibrillation in dogs after sudden return of flow to the coronary artery. *Surgery*, 1955, 38:1050-1053.
- [41] Grech ED, Ramsdale DR. Termination of reperfusion arrhythmia by coronary artery occlusion. *Br Heart J*, 1994, 72:94-95.
- [42] Na HS, Kim YI, Yoon YW, et al. Ventricular premature beat-driven intermittent restoration of coronary blood flow reduces the incidence of reperfusion-induced ventricular fibrillation in a cat model of regional ischemia. *Am Heart J*, 1996, 132:78-83.
- [43] Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003, 285:H579-588.
- [44] Obal D, Dettwiler S, Favocchia C, et al. The influence of mitochondrial KATP - channels in the cardioprotection of preconditioning and postconditioning by sevoflurane in the rat in vivo. *Anesth Analg*, 2005, 101:1252-1260.
- [45] Kin H, Zatta AJ, Lofye MT, et al. Postconditioning reduces infarct size via adenosine receptor activation by endogenous adenosine. *Cardiovasc Res*, 2005, 67:124-133.
- [46] Krolkowski JG, Weihrauch D, Bienengraeber M, et al. Role of Erk1/2, p70s6K, and eNOS in isoflurane - induced cardioprotection during early reperfusion in vivo. *Can J Anaesth*, 2006, 53:174-182.
- [47] Iliodromitis EK, Georgiadis M, Cohen MV, et al. Protection from post-conditioning depends on the number of short ischemic insults in anesthetized pigs. *Basic Res Cardiol*, 2006, 101:502-507.
- [48] Dosenko VE, Nagibin VS, Tumanovskaya LV, et al. Proteasome inhibitors eliminate protective effect of postconditioning in cultured neonatal cardiomyocytes. *Fiziol Zh*, 2006, 52:15-24.
- [49] Staat P, Rioufol G, Piot C, et al. Postconditioning the human heart. *Circulation*, 2005, 112:2143-2148.
- [50] Zhao H, Sapolsky RM, Steinberg GK. Interrupting reperfusion as a stroke therapy: ischemic postconditioning reduces infarct size after focal ischemia in rats. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2006, 26:1114-1121.
- [51] Gao X, Ren C, Zhao H. Protective effects of ischemic postconditioning compared with gradual reperfusion or preconditioning. *J Neurosci Res*, 2008, 86:2505-2511.
- [52] Pignataro G, Meller R, Inoue K, et al. In vivo and in vitro characterization of a novel neuroprotective strategy for stroke: ischemic postconditioning. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2008, 28: 232-241.
- [53] Lee JJ, Li L, Jung HH, et al. Postconditioning with isoflurane reduced ischemia-induced brain injury in rats. *Anesthesiology*, 2008, 108:1055-1062.
- [54] Ren C, Gao X, Niu G, et al. Delayed postconditioning protects against focal ischemic brain injury in rats. *PLoS One*, 2008, 3: E3851.
- [55] Nemethova M, Danielisova V, Gottlieb M, et al. Post - conditioning exacerbates the MnSOD immune - reactivity after experimental cerebral global ischemia and reperfusion in the rat brain hippocampus. *Cell Biol Int*, 2008, 32:128-135.
- [56] Wang Y, Zhang ZG, Rhodes K, et al. Post-ischemic treatment with erythropoietin or carbamylated erythropoietin reduces infarction and improves neurological outcome in a rat model of focal cerebral ischemia. *Br J Pharmacol*, 2007, 151:1377-1384.
- [57] Wang ZF, Wang J, Zhang HY, et al. Huperzine A exhibits anti-inflammatory and neuroprotective effects in a rat model of transient focal cerebral ischemia. *J Neurochem*, 2008, 106:1594-1603.
- [58] Ren C, Yan Z, Wei D, et al. Limb remote ischemic postconditioning protects against focal ischemia in rats. *Brain Res*, 2009, 1288:88-94.
- [59] Lin CH, Chen PS, Gean PW. Glutamate preconditioning prevents neuronal death induced by combined oxygen - glucose deprivation in cultured cortical neurons. *Eur J Pharmacol*, 2008, 589(1/3):85-93.
- [60] Busija DW, Gaspar T, Domoki F, et al. Mitochondrial-mediated suppression of ROS production upon exposure of neurons to lethal stress: mitochondrial targeted preconditioning. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60(13/14):1471-1477.
- [61] Gonzalez - Zulueta M, Feldman AB, Klesse LJ, et al. Requirement for nitric oxide activation of p21(ras)/extracellular regulated kinase in neuronal ischemic preconditioning. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97:436-441.
- [62] Gao X, Zhang H, Takahashi T, et al. The Akt signaling pathway contributes to postconditioning's protection against stroke, the protection is associated with the MAPK and PKC pathways. *J Neurochem*, 2008, 105:943-955.
- [63] Lee HT, Chang YC, Wang LY, et al. cAMP response element-binding protein activation in ligation preconditioning in neonatal brain. *Ann Neurol*, 2004, 56:611-623.
- [64] Stenzel - Poore MP, Stevens SL, Xiong Z, et al. Effect of ischaemic preconditioning on genomic response to cerebral ischaemia: similarity to neuroprotective strategies in hibernation and hypoxia-tolerant states. *Lancet*, 2003, 362:1028-1037.
- [65] Beck T, Lindholm D, Castren E, et al. Brain - derived neurotrophic factor protects against ischemic cell damage in rat hippocampus. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1994, 14:689-692.
- [66] Dhodda VK, Sailor KA, Bowen KK, et al. Putative endogenous mediators of preconditioning-induced ischemic tolerance in rat brain identified by genomic and proteomic analysis. *J Neurochem*, 2004, 89:73-89.

(收稿日期:2011-02-18)