

• 综述 •

七叶皂苷对高原低氧暴露下血脑屏障的保护作用及抗渗漏机制

周 波(综述), 周其全(审校)

(第三军医大学高原军事医学系高原病学教研室, 国家教育部高原医学重点实验室

和全军高原生理与高原病研究重点实验室, 重庆 400038)

【关键词】 高原暴露; 血脑屏障; 血管渗漏; 脑水肿; 七叶皂苷

中图分类号: R242 文献标识码: A DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2010.02.027

高原脑水肿起病急, 病程进展快, 危害大, 病死率高。但针对高原脑水肿血脑屏障通透性增高的治疗措施不多, 在很大程度上严重影响了救治效果。因此, 寻找有效改善高原缺氧环境下血脑屏障通透性增高的措施不仅具有重要的理论意义, 而且具有非常重要的应用价值。近年来研究显示, 七叶皂苷可能对血脑屏障具有良好的保护作用, 提示可能对高原脑水肿的防治具有重要的应用价值, 对此深入研究有其重要意义。

1 七叶皂苷的来源与药用价值

七叶皂苷主要是从七叶树科欧马栗或中药娑罗子干燥果实中提取的主要活性成分, 属于三萜皂苷类药物, 含 α 和 β 两种异构体, 两种异构体理化性质有较大差别, 其中 β -七叶皂苷是主要的活性异构体, 是一种较新的抗渗出药, 主要以钠盐形式用于临床。我国于 20 世纪 80 年代从中药娑罗子之一的天师栗中制得皂苷, 经研究证实, 其组成和药用价值与七叶皂苷完全相同, 可以作为提取七叶皂苷的原料, 为七叶皂苷的获取扩大了资源。

临床研究证实, 七叶皂苷具有强烈的抗炎、抗水肿、抗氧化、清除氧自由基的作用, 有提高静脉张力, 恢复毛细血管正常通透性, 控制炎症和改善循环等功能^[1-3]。七叶皂苷的抗炎作用为氢化可的松的 7~8 倍, 其抗炎、抗水肿作用可能是通过促肾上腺皮质激素的分泌来提高血浆促肾上腺皮质激素 (ACTH) 和皮质酮的浓度, 影响前列腺素代谢而发挥作用的。在体和离体实验发现, 七叶皂苷还

可以抑制磷脂酶 A_2 , 减少炎症介质前体的释放, 减轻组织的炎症反应, 并可以提高组织中前列腺素水平, 尤其是前列环素 E_2 (PGE_2), 维持血管张力而减少渗出^[4]。扫描电镜观察发现, 七叶皂苷可以明显减少缺血、缺氧状态下的中性粒细胞黏附和渗出, 并能减少组织中活性氧和蛋白酶的释放, 从而产生抗炎、抗水肿功能; 这种保护作用在七叶皂苷 100~750 $\mu\text{g/L}$ 时存在明显量效关系, 七叶皂苷的抗炎作用主要与该提取物中含亚麻酸等环氧合酶的抑制剂有关^[5-6]。陈俊等^[7]研究发现, 七叶皂苷还具有显著减低脑含水量, 减轻复苏后脑水肿, 调节水通道蛋白 4 (AQP4) mRNA 表达的作用。因此目前被广泛用于创伤性脑水肿和出血性脑水肿的治疗, 但未见用于治疗高原脑水肿的研究报道。

2 七叶皂苷对常氧状态下血脑屏障的保护作用

在平原常氧状态下, 七叶皂苷能显著抑制脑损伤后的基质金属蛋白酶-9 (MMP-9) 和血管内皮生长因子 (VEGF) 引起的血脑屏障通透性增高, 恢复毛细血管的正常通透性, 维持血脑屏障的稳定性。实验表明, 在胶原酶诱导的大鼠脑出血模型上, 七叶皂苷能明显抑制大鼠脑出血早期诱导血肿周围脑组织中 MMP-2/9 和 VEGF 表达上调^[8]。在大鼠局灶性脑缺血/再灌注 (I/R) 损伤模型中, 七叶皂苷能减小脑梗死面积, 减轻脑水肿, 改善神经功能, 提高脑内 ATP 酶、超氧化物歧化酶 (SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 的活性, 降低丙二醛 (MDA) 含量, 减轻脂质过氧化损伤^[9]; 并能上调 Bcl-2 表达, 下调天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3 (caspase-3) 的表达, 减少神经细胞凋亡, 从而对 I/R 损伤脑组织起保护作用^[10]。进一步利用电子自旋共振法 (ESR) 等研究发现, 七叶皂苷能显著抑制神经细胞的凋亡, 减轻神

经细胞坏死程度及神经细胞和树突细胞的水肿程度, 故具有明显的神经保护作用^[11]。在创伤性脑损伤模型中, 七叶皂苷能明显抑制核转录因子- κB (NF- κB) 活化, 下调肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 的蛋白表达, 从而减轻脑水肿, 提高康复率^[12]。Mingrino 等^[13]还发现七叶皂苷可显著降低患者颅内压, 效果可长达 3 d。在放射性脑水肿治疗上, 单用七叶皂苷即可取得显著疗效, 对中至重度放射性脑水肿, 七叶皂苷与甘露醇合用可明显增强疗效, 其作用较单独使用甘露醇或地塞米松的效果明显^[14]。三七总皂苷和银杏叶提取物与七叶皂苷有相似活性成分, 研究发现三七总皂苷能显著降低血管外肺水含量, 增加肺顺应性^[15]; 而银杏叶提取物能通过抑制血管中 NF- κB 活性、减轻过度炎症反应而发挥保护内皮细胞的作用^[16]。由此可见, 七叶皂苷具有维持常氧状态下血脑屏障稳定性, 减轻脑水肿, 降低颅内压的作用, 对创伤性和放射性脑水肿具有较好的治疗作用, 但对高原低氧环境暴露下血脑屏障通透性的保护作用迄今未见报道, 需进一步研究证实。

3 高原低氧环境暴露下血脑屏障通透性的改变

Basnyat 等^[17]调查显示, 在 4 000 m 以上的高原地区, 高原脑水肿的发病率为 31%; 如救治不及时, 病死率可高达 37%, 严重威胁进入高原地区人员的健康和生命安全。但高原脑水肿发病机制至今不清, 过去一直认为主要是细胞毒性脑水肿, 但越来越多的证据表明高原脑水肿是血管源性脑水肿^[18], 血脑屏障通透性增高在其发病中起了关键的作用。血脑屏障是由脑毛细血管内皮细胞、基膜及足突构成。血脑屏障的通透性主要取决于内皮细胞间的紧密连接。紧密连接不仅是细胞间屏障, 而且是控制细胞信号转导的膜蛋白结构, 是由多种跨

基金项目: 军队“十一五”攻关课题 (08G093, 06G030)

通信作者: 周其全, Email: zhouQQ9918@yahoo.com.cn

作者简介: 周 波 (1980-), 男 (汉族), 陕西省人, 医师, 现在解放军第二五医院检验科工作。

膜蛋白与膜相关蛋白等构成的复合体,其中咬合蛋白(occludin)是组成血脑屏障最重要的跨膜蛋白。occludin 在脑血管内皮细胞中的表达量很高,在细胞紧密连接中呈连续分布,这是脑血管内皮屏障作用显著高于其他组织的重要原因,也是脑血管内皮通透性较低的分子基础^[19],且 occludin 的表达量受多种因素影响,凡可引起 occludin 表达量降低的因素均可使血脑屏障通透性增高^[20]。脑血管内皮通透性除与 occludin 蛋白表达量有关外,还受膜相关蛋白 ZO-1 和 ZO-2 表达量及功能状态的调节。有研究发现,除了中枢神经系统的炎症疾病可引起血脑屏障破坏外,缺氧也可以引起脑血管内皮细胞紧密连接蛋白的表达异常,使血脑屏障通透性增高^[21]。Song 和 Pachter^[22]研究证实,在中枢神经系统炎症状态下,单核细胞化学诱导蛋白-1(MCP-1)能引起 ZO-1 的表达降低,进而引起血脑屏障通透性增高。Yamagata 等^[23]研究发现,低氧暴露能够引起脑血管内皮细胞通透性明显增高和跨内皮电阻(TER)显著降低,而这种改变与 occludin 和肌动蛋白(actin)的表达异常有关。Park 等^[24]实验证实,低氧刺激可引起 occludin 分布异常、表达减少或消失,从而导致紧密连接结构和功能异常,使内皮单层通透性得以增高。Witt 等^[25]研究认为,低氧/复氧引起的紧密连接蛋白重组和再分布,可使内皮细胞间隙增大。最近 Brown 和 Davis^[26]实验证明,低氧可影响 occludin 和 actin 在脑血管内皮细胞上的表达,而钙通道阻滞剂(SKf-96365)能保护低氧状态下的膜通透性。

血脑屏障的完整性不仅依赖于内皮细胞间紧密连接蛋白的结构与功能,还取决于毛细血管基底膜和细胞外基质的完整性,细胞外基质也是保证内皮细胞功能完整的重要因素。近年来研究发现,脑缺血后 MMPs 被激活可以破坏血脑屏障,引起血脑屏障损伤^[27]。脑缺氧或复氧后也可以激活 MMPs 引起血脑屏障破坏^[28]。血脑屏障损伤使通透性增高,导致液体外渗是血管源性脑水肿形成的重要机制。而脑内水的平衡在很大程度上依赖于脑内 AQP 的跨膜转运,研究发现 AQP4 和 AQP9 在各种因素所致的脑水肿形成中起了关键作用。近来发现不仅脑缺血可以使 AQP4 表达

迅速降低^[29],且脑的缺氧性损伤也能使 AQP4 表达降低,促使脑水肿形成^[30]。

严重缺氧还可使单核/巨噬细胞系统被激活,产生多种细胞因子和促炎介质,如 TNF- α 、白细胞介素-1 β (IL-1 β)等,这些细胞因子又可激活多形核白细胞(PMN),被激活的 PMN 在趋化因子作用下与血管内皮细胞黏附、聚集,不仅可阻塞毛细血管,造成无复流现象,影响脑组织的血供,而且可释放大炎症介质和蛋白水解酶(主要是弹性蛋白酶),袭击完整的细胞,导致血脑屏障破坏,引起血脑屏障通透性增高^[31]。进入组织中的 PMN 还可以通过“呼吸爆发”和脱颗粒释放氧自由基及多种蛋白水解酶,溶解弹性蛋白,引起血管外基质和脑组织的破坏,成为脑损伤的重要原因。现已证实,PMN 及炎症细胞因子触发的血管炎症反应是 I/R 脑损伤的重要原因^[32],使用弹性蛋白酶抑制剂可减轻这种炎症反应所致脑损伤程度^[33];七叶皂苷预处理也可以降低这种炎症反应^[34]。本课题组前期的研究也发现,PMN 的过度激活可能是高原缺氧性脑损伤的一个重要原因^[35-36];并且 PMN 越高,脑损伤越重,脑水肿越重,高原脑水肿与 PMN 过度激活有直接的关系,表明 PMN 释放的蛋白水解酶在低氧暴露下血脑屏障通透性增高中可能具有重要作用。由此可见,严重的缺血、缺氧、创伤和炎症都可以使血脑屏障通透性增高,导致脑水肿形成。

4 七叶皂苷治疗脑水肿的中医基础

七叶皂苷主要是从七叶树科植物天师粟的干燥成熟种子,即娑罗子中提取。《中华本草》记载:娑罗子味甘,性温,归肝、胃二经,能疏肝、理气,宽中、止痛。传统中医主要用于胸腹疼痛、妇女乳腺胀痛等的治疗,用于治疗头痛则罕见。目前发现用娑罗子提取物七叶皂苷治疗急性(创伤、出血性)脑水肿有较好疗效^[37]。急性脑水肿属中医“头痛”、“呕吐”等范畴,多认为是痰湿阻滞脑络所致。中医认为“治痰先治气,气行则痰消”,通过疏理气机,停滞之津液重新进入循环,消除了相应的脑细胞水肿。痰湿阻滞气机,肝气不疏,横犯脾胃,导致呕吐,通过疏肝理气,则不犯脾胃,呕吐也可减轻。从娑罗子的角度看,用于治疗急性脑水肿,主要是通过疏理气机达到消除水湿而发挥治疗作用。这种疏理气机是否是通过调节血脑屏障通透性和 AQP 等的功能而实

现,目前尚不明确。

高原脑水肿患者为初入高原人群,由于高原清气不足,致使脾、脾、肾三脏俱虚,导致脾失健运,水饮停聚,加之高原瘴热湿毒和风寒湿邪侵袭,使饮浊泛滥,水饮凌心,心阳欲脱,且心悸气促,神疲;心阳虚弱,饮浊阻滞,心阳不升,清阳受遏,故头痛如劈,心阳虚弱,阳气不能达于四肢,充于肌表,故四肢厥冷;水饮上凌,阴寒凝重,心阳欲脱,故烦躁不安,甚或嗜睡;心主血主汗,心阳欲脱,血汗随之外溢,故咯吐粉红色血痰,汗出而肢厥肤冷;水饮不化,上凌心肺,则胸胁胀满,心悸气短,咳嗽;水饮不化,湿困中焦则肢困,恶心、呕吐;饮邪内阻,阳虚而不得伸发,故头目眩晕。因此治疗宜回阳救逆,温肺逐饮,温中化饮。娑罗子味甘,性温,归肝、胃二经,能疏肝理气,宽中止痛,用其性味甘温以补气益阳、回阳救逆,用其疏理气机、消除脑水肿,以降低颅内压,用其疏理气机以达到活血化痰、消浊除湿、治疗高原脑水肿的目的。因此,可利用娑罗子的疏肝、理气、宽中、止痛作用来疏理气机,使停滞之津液重新进入循环,消除脑细胞水肿具有可行性。而七叶皂苷为娑罗子的提取物,具有降低创伤和缺血后血管通透性,维持血脑屏障的稳定性,降低颅内压,减轻血管炎症反应,促进水的转运等作用,推测用来治疗高原脑水肿是可行的,因此值得进一步研究,找出七叶皂苷改善高原低氧环境暴露下血脑屏障通透性的作用靶点,阐明七叶皂苷的作用机制,为七叶皂苷在急性高原病防治上的应用提供可靠的理论依据。

参考文献

- [1] Ogawa S, Kimura H, Niimi A, et al. Fractionation and structural characterization of polyphenolic antioxidants from seed shells of Japanese horse chestnut (*Aesculus turbinata* Blume). J Agric Food Chem, 2008, 56 (24): 12046-12051.
- [2] Kimura H, Ogawa S, Jisaka M, et al. Identification of novel saponins from edible seeds of Japanese horse chestnut (*Aesculus turbinata* Blume) after treatment with wooden ashes and their nutraceutical activity. J Pharm Biomed Anal, 2006, 41 (5): 1657-1665.
- [3] Sato I, Suzuki T, Kobayashi H, et al. Antioxidative and antigenotoxic effects of Japanese horse chestnut (*Aesculus turbinata*) seeds. J Vet Med Sci, 2005, 67 (7): 731-734.

- [4] Arnould T, Michiels C, Janssens D, et al. Effect of Ginkor Fort on hypoxia-induced neutrophil adherence to human saphenous vein endothelium. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1998, 31(3): 456-463.
- [5] Sato I, Kofujita H, Tsuda S. Identification of COX inhibitors in the hexane extract of Japanese horse chestnut (*Aesculus turbinata*) seeds. *J Vet Med Sci*, 2007, 69(7): 709-712.
- [6] Sato I, Kofujita H, Suzuki T, et al. Anti-inflammatory effect of Japanese horse chestnut (*Aesculus turbinata*) seeds. *J Vet Med Sci*, 2006, 68(5): 487-489.
- [7] 陈俊, 陈寿权, 李章平, 等. 七叶皂苷对心肺复苏后大鼠脑水肿期脑水通道蛋白 4 mRNA 变化的作用. *中国中西医结合急救杂志*, 2007, 14(4): 245-249.
- [8] 许宏伟, 杨期东, 肖波, 等. 七叶皂苷钠对实验性大鼠脑出血后 MMP-2/9 表达的影响. *中风与神经疾病杂志*, 2006, 23(2): 158-160.
- [9] 胡霞敏, 曾繁典. β -七叶皂苷钠对大鼠缺血-再灌注损伤的保护作用. *药学报*, 2004, 39(6): 419-423.
- [10] 范学军, 郭科, 肖波, 等. 七叶皂苷钠对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠 Bcl-2 和 Caspase-3 表达及细胞凋亡的影响. *中南大学学报(医学版)*, 2005, 30(3): 261-265, 275.
- [11] 崔丽, 郑惠民, 倪灿荣, 等. 七叶皂苷钠对大鼠脑缺血损伤中神经细胞凋亡的影响. *药学服务与研究*, 2002, 2(1): 34-36.
- [12] 胡霞敏, 曾繁典. β -七叶皂苷钠对大鼠脑缺血再灌注损伤时炎症反应的抑制作用. *中国药理学与毒理学杂志*, 2005, 19(1): 1-6.
- [13] Mingrino S, Scanarini M, d'Avella D. Treatment of benign intracranial hypertension. *Acta Neurochir (Wien)*, 1980, 51(3-4): 187-192.
- [14] 陈立华, 刘运生, 马建荣, 等. β -七叶皂苷钠和甘露醇及地塞米松治疗放射性脑水肿的比较. *中国神经精神疾病杂志*, 1999, 25(3): 150-152.
- [15] 陈宇清, 荣令, 周新. 三七总皂苷对急性肺损伤犬血管外肺水及呼吸力学的影响. *中国中西医结合急救杂志*, 2008, 15(6): 350-352.
- [16] 廖新学, 李欣, 马中富, 等. 银杏叶提取物对血管内皮细胞的保护作用. *中国中西医结合急救杂志*, 2008, 15(3): 152-154.
- [17] Basnyat B, Subedi D, Sleggs J, et al. Disoriented and ataxic pilgrims: an epidemiological study of acute mountain sickness and high-altitude cerebral edema at a sacred lake at 4 300 m in the Nepal Himalayas. *Wilderness Environ Med*, 2000, 11(2): 89-93.
- [18] Hackett PH, Roach RC. High altitude cerebral edema. *High Alt Med Biol*, 2004, 5(2): 136-146.
- [19] Dobrogowska DH, Vorbrodt AW. Immunogold localization of tight junctional proteins in normal and osmotically-affected rat blood-brain barrier. *J Mol Histol*, 2004, 35(5): 529-539.
- [20] Kago T, Takagi N, Date I, et al. Cerebral ischemia enhances tyrosine phosphorylation of occludin in brain capillaries. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 339(4): 1197-1203.
- [21] Fischer S, Wiesnet M, Marti HH, et al. Simultaneous activation of several second messengers in hypoxia-induced hyperpermeability of brain derived endothelial cells. *J Cell Physiol*, 2004, 198(3): 359-369.
- [22] Song L, Pachter JS. Monocyte chemoattractant protein-1 alters expression of tight junction-associated proteins in brain microvascular endothelial cells. *Microvasc Res*, 2004, 67(1): 78-89.
- [23] Yamagata K, Tagami M, Takenaga F, et al. Hypoxia-induced changes in tight junction permeability of brain capillary endothelial cells are associated with IL-1 beta and nitric oxide. *Neurobiol Dis*, 2004, 17(3): 491-499.
- [24] Park JH, Okayama N, Gute D, et al. Hypoxia/aglycemia increases endothelial permeability: role of second messengers and cytoskeleton. *Am J Physiol*, 1999, 277 (6 Pt 1): C1066-1074.
- [25] Witt KA, Mark KS, Hom S, et al. Effects of hypoxia-reoxygenation on rat blood-brain barrier permeability and tight junctional protein expression. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003, 285(6): H2820-2831.
- [26] Brown RC, Davis TP. Hypoxia/aglycemia alters expression of occludin and actin in brain endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 327(4): 1114-1123.
- [27] Ding YH, Li J, Rafols JA, et al. Reduced brain edema and matrix metalloproteinase (MMP) expression by pre-reperfusion infusion into ischemic territory in rat. *Neurosci Lett*, 2004, 372(1-2): 35-39.
- [28] Lee SR, Lo EH. Induction of caspase-mediated cell death by matrix metalloproteinases in cerebral endothelial cells after hypoxia-reoxygenation. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2004, 24(7): 720-727.
- [29] Lo AC, Chen AY, Hung VK, et al. Endothelin-1 overexpression leads to further water accumulation and brain edema after middle cerebral artery occlusion via aquaporin 4 expression in astrocytic end-feet. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2005, 25(8): 998-1011.
- [30] Meng S, Qiao M, Lin L, et al. Correspondence of AQP4 expression and hypoxic-ischaemic brain oedema monitored by magnetic resonance imaging in the immature and juvenile rat. *Eur J Neurosci*, 2004, 19(8): 2261-2269.
- [31] Hoffman WH, Stamatovic SM, Andjelkovic AV. Inflammatory mediators and blood brain barrier disruption in fatal brain edema of diabetic ketoacidosis. *Brain Res*, 2009, 1254: 138-148.
- [32] Takei M, Kobayashi M, Herndon DN, et al. Glycyrrhizin inhibits the manifestations of anti-inflammatory responses that appear in association with systemic inflammatory response syndrome (SIRS)-like reactions. *Cytokine*, 2006, 35(5-6): 295-301.
- [33] Okayama N, Kakihana Y, Setoguchi D, et al. Clinical effects of a neutrophil elastase inhibitor, sivelestat, in patients with acute respiratory distress syndrome. *J Anesth*, 2006, 20(1): 6-10.
- [34] Montopoli M, Froldi G, Comelli MC, et al. Aescin protection of human vascular endothelial cells exposed to cobalt chloride mimicked hypoxia and inflammatory stimuli. *Planta Med*, 2007, 73(3): 285-288.
- [35] 周其全, 刘福玉, 郑必海, 等. 3 184 例重型急性高原病患者并发多器官功能障碍综合征的结果分析. *中国危重病急救医学*, 2007, 19(1): 36-40.
- [36] 周其全, 刘福玉, 郑必海, 等. 白细胞与白细胞介素增高在急性高原病并发多器官功能障碍中的作用及临床意义. *中国危重病急救医学*, 2007, 19(10): 588-592.
- [37] 谢晓利, 刘云会, 薛一雪. 七叶皂苷钠抗大鼠脑出血后脑水肿作用及其机制. *中国药理学通报*, 2007, 23(2): 173-177.

(收稿日期: 2009-12-19)

(本文编辑: 李银平)

欢迎订阅 2010 年《中国危重病急救医学》杂志

中文核心期刊 中国科技论文统计源期刊

中华医学会主办, 全国各地邮局订阅, 邮发代号: 6-58

2010 年以前的刊物可在本刊社邮购部购买, 电话: 022-23042150