

• 基础研究 •

颅脑手术中机械性脑血管痉挛后大脑中动脉内皮细胞的凋亡

潘颖¹, 张绍东², 罗芳³, 张淑珍³, 朱玄¹

[摘要] 目的 观察猫大脑中动脉(MCA)受机械性刺激痉挛后早期(2 h内),血管壁和内皮细胞超微结构的变化。方法 6只猫,眶后入路,暴露右侧 MCA,机械刺激 MCA 30 min,应用显微目镜的显微尺测量 MCA 直径的改变。激光多普勒仪纪录皮层脑血流灌注指数。电子显微镜观察刺激后 2 h MCA 血管壁和内皮细胞超微结构的变化。结果 机械性刺激 MCA 后,MCA 直径缩小,为刺激前的 68.77%。脑组织灌注指数下降到刺激前的 42.59%。刺激结束后 2 h,MCA 直径恢复正常。脑组织灌注量恢复到刺激前的 61.87%。电镜结果发现,MCA 经急性机械性刺激后早期(2 h)内皮细胞染色质边集,凝聚成新月形小体。线粒体嵴模糊不清。结论 机械性刺激猫脑 MCA 可致血管壁痉挛。刺激后早期(2 h)即出现内皮细胞超微结构的变化,显示内皮细胞的凋亡现象。提示颅脑手术或动物实验中对脑血管的机械性刺激应尽可能的轻微,尽量减少对脑血管的机械性刺激,避免急性脑血管痉挛的发生,以减少副反应或假阳性实验反应。

[关键词] 脑;血管痉挛;内皮细胞;凋亡;颅脑手术;猫

Observation in Apoptosis Structures of Middle Cerebral Artery Endotheliocyte at the Early Stage after Acute Mechanical Cerebral Vasospasm during the Craniocerebral Operation PAN Ying, ZHANG Shao-dong, LUO Fang, et al. Department of Biochemical and Molecular Biology, Capital University of Medical Sciences, Beijing 100069, China

[Abstract] Objective To observe the ultrastructures of vessel and endotheliocyte in the early stage (2 h after stimulation finished) after acute mechanical middle cerebral artery (MCA) vasospasm in cats. Methods The right MCA of 6 cats were mechanically stimulated using a small smooth stainless steel nail in the field acrossing the olfactory tract for 30 min. The diameter of MCA was recorded by metrical ocular of microscope. The changes of the perfusion index of brain tissue were observed through the Laser Doppler flowmetry monitor fixed on the skull. The ultrastructure of vessel and endotheliocyte were investigated through the electron microscope. Results The diameter of MCA decreased to 68.78% of normal. 2 h later, the diameter of MCA recovered. The perfusion index of the cortex surface decreased to 42.59% of normal and up to 61.87% 2 h later. The chromatin of endotheliocyte congregated to the side and formed the lunular body. The heaves of mitochondria (MIT) are blurry 2 hours after the mechanical stimulation. Conclusion The persistent mechanical stimulation can cause acute cerebral vasospasm, which may involve the apoptosis of endotheliocyte of MCA. It is important to reduce the mechanical stimulus to the cerebral vessel in order to avoid acute cerebral vasospasm during clinical and basic craniotomy.

[Key words] cerebrum; vasospasm; endotheliocyte; apoptosis; craniotomy; cat

中图分类号:R651.1 文献标识码:A 文章编号:1006-9771(2006)03-0210-03

[本文著录格式] 潘颖,张绍东,罗芳,等.颅脑手术中机械性脑血管痉挛后大脑中动脉内皮细胞的凋亡[J].中国康复理论与实践,2006,12(3):210-212.

某些颅脑手术和脑部动物实验中会不可避免地产生对脑血管进行牵拉、夹闭等机械性刺激,导致急性机械性脑血管的痉挛发生^[1]。本研究探讨急性机械性脑血管痉挛(cerebral vasospasm)早期血管壁和内皮细胞(endotheliocyte)超微结构究竟经历了何种的病理过程。

1 材料和方法

1.1 实验动物 6只成年、健康的杂种猫(北京市神经外科研究所动物室提供)雌雄不限,体重 2.5~3.5 kg。术前 1 周饲养于实验环境中,术前 1 d 禁食,自由进水。常规 20%水合氯醛 2 ml/kg 腹腔注射麻醉。切开气管,插管接呼吸机。维持正常的呼气末 P_{CO_2} 。股动

脉插管,监测血压,持续监测心电图、脉搏与血氧饱和度。通过保温装置,保持体温于 37℃。

1.2 实验动物模型制备 猫取俯卧位,正中切开头皮,于前囟后 1.5 cm,旁开 1.5 cm 开 8×10 mm 方形骨窗,挑破硬脑膜,选择无血管或少血管的脑表面固定激光多普勒血流计(Feriflux system5000,Perimed)的微细探头。再使动物侧卧位,利用手术显微镜(SXP-1B)通过眶下入路,暴露右侧大脑中动脉(middle cerebral artery, MCA)。选择 MCA 跨越嗅束前部位,利用钝性器械重复刺激 MCA,频率为 100/min,持续 30 min。

1.3 检测方法 应用测微目镜的显微尺测量刺激前后的 MCA 直径变化;采用激光多普勒血流计的微细探头监测刺激前后的颞叶皮层脑组织灌注指数的变化;用电子显微镜检查 MCA 血管壁和内皮细胞超微结构的改变。

1.4 统计学方法 数据以($\bar{x} \pm s$)表示,用 SPSS 10.0

基金项目:北京市自然科学基金资助项目(7992021)。

作者单位:1.首都医科大学生物化学暨分子生物学系,北京市 100069;2.北京市神经外科研究所,北京市 100050;3.北京天坛医院麻醉科,北京市 100050。作者简介:潘颖(1946-),男,河北琢县人,副教授,主要研究方向:神经的损伤与保护。

软件进行 t 检验。

2 结果

2.1 生理参数 实验动物的各项生理参数术中基本稳定,见表 1。机械性刺激 MCA 后,MCA 直径缩小,为刺激前的 68.87%;脑组织灌流指数下降到刺激前的 42.59%。刺激结束后 2 h,MCA 直径恢复正常;脑组织灌流量恢复到刺激前的 61.87%。见表 2。

表 1 手术期间生理参数

时间	平均动脉压 (mm Hg)	pH	Pco ₂ (mm Hg)	PO ₂ (mm Hg)	体温 (℃)
术前	135.4±5.8	7.20±0.02	36.7±1.9	104.8±11.7	37.8±0.2
刺激结束	136.7±5.4	7.21±0.09	34.0±1.7	103.2±7.7	37.8±0.2
刺激结束后 30 min	134.9±6.2	7.15±0.03	37.2±2.1	104.3±11.6	37.7±0.2
刺激结束后 60 min	134.5±7.2	7.12±0.08	39.0±2.2	100.4±8.6	37.6±0.1
刺激结束后 90 min	134.0±6.1	7.11±0.07	38.0±1.6	100.8±9.6	37.6±0.1
刺激结束后 120 min	128.0±7.9	7.08±0.06	38.2±2.1	97.3±6.9	37.6±0.1

表 2 猫 MCA 直径和颞叶脑组织血液灌流指数变化

时间	直径(mm)	%	灌流指数	%
术前	0.897±0.066	100.00	159.20±23.50	100.00
刺激结束	0.617±0.129 ^a	68.78	67.80±18.50	42.59
刺激结束后 30 min	0.723±0.082 ^a	80.60	82.50±17.50 ^a	51.82
刺激结束后 60 min	0.840±0.084 ^b	93.65	89.80±24.00 ^a	56.41
刺激结束后 90 min	0.880±0.072	98.10	94.00±22.20 ^a	50.05
刺激结束后 120 min	0.890±0.070	99.22	98.50±21.00 ^a	61.87

注:与术前比较,a: $P<0.01$;b: $P<0.05$ 。

2.2 右侧颞叶皮层结构的变化 MCA 痉挛后 2 小时,右侧颞叶皮层 HE 染色,光镜观察可见右侧颞叶皮层神经元固缩,周围水肿,神经元坏死;细胞核不清楚;血管周围水肿,管腔闭塞;星形细胞水肿。见封三彩图 3.1。

2.3 MCA 超微结构的变化 MCA 痉挛后,内皮细胞染色质聚集;痉挛后 2 h,内皮细胞线粒体嵴消失,模糊不清。见图 1~图 3。

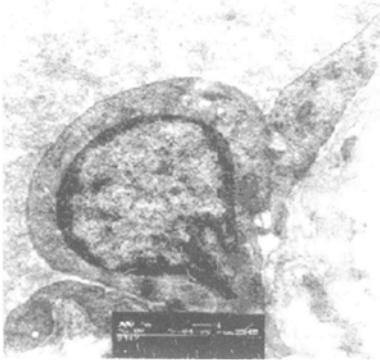


图 1 正常 MCA 内皮细胞(16999×)



图 2 痉挛后(13000×)



图 3 痉挛后 2 h(20000×)

3 讨论

颅脑外科手术中机械性刺激可致急性机械性血管壁痉挛。早期(2 h)猫脑 MCA 即出现血管内皮细胞超微结构的变化,显示内皮细胞的凋亡(apoptosis)现象。

猫的神经系统发达,为脑回动物,在血管分布、血流及代谢等方面,比猴更接近于人。因此在神经外科研究脑代谢、血流变化、神经保护的影像学研究中,多以猫为对象^[2]。Roy 等用氢清除率法阻断 MCA 后发现,颞叶脑缺血最显著^[3]。因此我们选择猫脑颞叶作为实验观察的靶点。机械性刺激 MCA 导致猫脑发生脑血管痉挛后颞叶脑组织病理表现不同于阻断 MCA 后脑缺血,也不同于急性重复性脑缺氧^[4]。我们在各项生理参数稳定的条件下,观察急性机械性脑血管痉

挛早期血管壁和内皮细胞超微结构的变化,结果表明,MCA 痉挛未造成 MCA 完全阻断;血液灌流量虽明显降低,但始终保留了部分血液供应。在以往的研究中,常忽略了对急性机械性脑血管痉挛特殊性的观察。本文模拟颅脑手术中发生的对脑血管的机械性刺激,在显微镜下发现,MCA 经急性机械性刺激后,可出现可视的血管直径狭窄。虽在 2 h 后 MCA 直径逐步恢复,但是颞叶脑组织血液灌流量并未完全恢复,光镜下,MCA 血液供应区血管周围水肿,管腔直径闭塞;神经元固缩,细胞核不清楚,星形细胞水肿。提示机械性刺激 MCA 可以使脑血管痉挛,最终导致供血区神经组织的缺血、缺氧和神经组织细胞的损伤。

电镜显示,MCA 血管内皮细胞染色质边集,凝聚

成新月形小体,线粒体嵴模糊不清,提示机械性脑血管痉挛早期(2 h)内皮细胞超微结构发生变化。血管内皮细胞的结构和功能完整,是保证神经细胞生存的前提条件。Dragunow 等用 21 d 龄 BALB/C 大鼠 1 侧脑缺氧、缺血损伤模型进行的研究表明,缺血 15 min 即可产生迟发性神经元凋亡^[5]。本研究进一步显示,脑血管内皮细胞在急性机械性脑血管痉挛早期也会有凋亡现象发生。但是病理表现形式和症状发生时间比较有较大不同。急性机械性脑血管痉挛早期,血管壁和内皮细胞超微结构的变化究竟经历了何种的病理刺激,确切机制还有待进一步探讨。

研究表明,一氧化氮(NO)和一氧化碳(CO)具有调节血管张力的作用^[6]。NO 和 CO 含量的升高,导致线粒体损伤,呼吸链抑制,诱导凋亡蛋白的发生^[7]。急性机械性脑血管痉挛早期血管壁和内皮细胞超微结构的变化与 NO 和 CO 气体信号分子的产生和血管内皮细胞对信息物质应答引起的生物学效应的关系还在进一步研究中。

神经保护应针对引起神经损伤的各个环节。实验表明,应该重视颅脑手术和动物实验的急性机械性脑

血管痉挛。目前临床常采用高血容量、血液稀释、局部应用罂粟碱浸泡等方法预防或治疗脑血管痉挛的损伤,显然是缺乏针对性的。手术中的血管刺激可导致脑血管内皮细胞的凋亡,促进神经元细胞的损伤加剧。因此应尽可能减少和减轻这一刺激。实验结果还提示,颅脑手术中,脑神经保护和治疗的“时间窗”控制在 2 h 内可能是重要的。

[参考文献]

- [1] 王忠诚. 脑血管病及其外科治疗[M]. 北京: 北京出版社, 1994: 110 - 111.
- [2] Sutherland GR, Perron JT, Kozlowski P, et al. AR-R15896 AR reduces cerebral infarction volumes after focal ischemia in cats[J]. Neurosurgery, 2000, 46(3): 710 - 719.
- [3] Roy MW, Dempsey RJ, Meyer L, et al. Effects of verapamil and diltiazem on acute stroke in cats[J]. J Neurosurg, 1985, 63(6): 929 - 936.
- [4] 潘颖, 于培兰, 史小琴, 等. 间隔低氧适应与神经细胞过氧化损伤[J]. 首都医科大学学报, 2003, 24(3): 259.
- [5] 汤新之, 崔乃杰. 临床生化[J]. 天津: 天津科技出版社, 1999: 894.
- [6] 宋惠萍. 细胞信息传导[M]//周爱儒. 生物化学. 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 331 - 348.
- [7] Sims NR, Anderson MF. Mitochondria contributions to tissue damage in strokes[J]. Neurochem Int, 2002, 40(6): 511 - 526.

(收稿日期: 2005-12-08)



图 2.3 制动 7d 梗死侧 DG 区 NGF 的表达 (ABC, 400 ×)

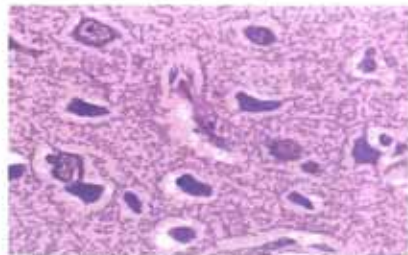


图 3.1 MCA 梗死后 2 h 右侧颞叶皮层 (HE 染色)

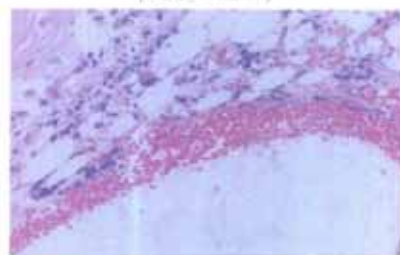


图 4.1 对照组小鼠股骨血管增生 (400 ×)