维普资讯 http://www.cqvip.com

5-7

2

局解手术学杂志 1996 年第 5 卷第 1 期总第 17 期

脑缺血后再灌流下神经元与神经胶质和毛细血管改变相互关系的实验研究

沈阳医学院 富成志 刘芬兰

中国医科大学 王铁民

(辽宁沈阳，邮政编码 110031)

R 743.3

[提要] 夹闭沙土鼠双侧颈总动脉 30min 后恢复血流制作脑缺血再灌流模型。采用透射电镜观察额叶皮质超微结构。表明在神经元发生进行性破坏改变的同时，伴随着神经胶质细胞反应性增加、肥大、水肿、变性、坏死和解体等一系列改变。启示其可能参与神经元在缺血条件下代谢的调整。其后神经胶质细胞本身的进行性改变促进了神经元的不可逆性损伤。毛细血管壁的损伤和血管周围水肿可能是引起再灌流障碍的主要原因之一。

[关键词] 缺血；神经元；神经胶质；毛细血管；关系。

脑缺血

神经胶质细胞和脑微循环在保证神经元的营养、代谢和防御等方面起重要作用。在脑缺血后再灌流条件下，神经元损伤的同时，伴随着神经胶质和毛细血管一系列的改变。深入研究这些变化，特别是探讨其间关系，对揭示缺血性脑损伤的病理机制，寻求减轻损伤的有效办法提供依据。目前国内、外尚缺乏这方面系统的形态学研究。本文采用夹闭沙土鼠双侧颈总动脉，造成沙土鼠大脑额叶皮质缺血，观察其神经元、神经胶质和毛细血管超微结构的改变，探讨缺血性脑损伤发病规律。

材料与方法

采用沙土鼠 (gerbil) 12 只 (体重 60～80g)。用 0.5% 异戊巴比妥腹腔麻醉，颈正中切口，暴露并分离二侧颈总动脉。用动脉夹同时夹闭两侧颈总动脉 30min 后松开，恢复血流。术后动物分三组，分别存活 3h、24h 和 4d。多数动物断头处死，迅速取脑置于 4℃2% 多聚甲醛 2.5% 戊二醛磷酸缓冲液固定 24h。少数动物心脏灌注固定。先用加肝素 0.9% 生理盐水冲洗后用上述固定液灌注固定，取脑后置 4℃ 固定液后固定 24h。切取大脑额叶皮质，1% 酸固定，梯度酒精和乙醇脱水，Epon 812 包埋，超薄切片，染色后用日应 600 透射电镜观察。

结 果

夹闭两侧颈总动脉后，沙土鼠立即出现骚动，呼吸紧迫，数分钟后平稳。数后头二天运动正常，第三天开始运动减少。

1. 神经元改变：术后存活 3h 沙土鼠额叶皮质神经元部分线立体肿胀、嵴不完整，内膜脱离。但可见部分线粒体形态正常。粗面内质网排列紊乱、网池扩张。滑面内质网向周边靠拢、池扩张，呈大弯曲。存活 24h，神经元周边胞浆内细胞器明显减少发亮，出现大量小颗粒和纤维样物质 (图 1)。术后 4d 沙土鼠额叶皮质大部分神经元出现明显的破坏性表现，细胞皱缩，电子密度增高发暗，核内充满小颗粒物质，核膜周围形成扩张的亮的缝隙 (图 2)。胞浆布满空泡，尚见许多溶酶体和脂质包涵物，部分皱缩的神经元核碎裂呈均质状 (图 3)。

2. 神经胶质细胞改变：存活 3h 组即可见神经胶质细胞与神经元接触长度增加。星形胶质细胞增多，直径增大。术后 24h 星形胶质细胞进一步肿胀，胞浆空泡增多、突起扩张，核仁增大、核染色质增多。少突胶质细胞电子密度增高，细胞器增多，特别是核糖体堆积，内质网增多，线粒体肿胀成空泡状。存活 4 天沙土鼠额叶星形胶质细胞更加肿胀，扩张的胞体和突起形成大大小小的囊包围着变性皱缩的浓染的神经元，有的突起伸入神经元内 (图 4)。少突胶质细胞进一步肿张，胞浆布满空泡，核质和胞浆电子密度进一步增高。有

维普资讯 http://www.cqvip.com

的少突胶质细胞与变性神经元紧密融合，形成所谓“影子细胞”（图 4）。胶质细胞内出现大量溶酶体和脂质包涵物。此外可见小胶质细胞增多，其内饱含众多的脂质和膜性包涵物（图 5）。

3. 毛细血管改变　靠近毛细血管的星形胶质细胞数量增加，扩张的突起形成大囊，使毛细血管与周围神经组织之间形成明显的电子透明带（图 6）。该处星形胶质细胞肿胀明显大于神经毡的星形胶质细胞。毛细血管内皮细胞呈现不同程度的损伤，核增生，核质增多，胞浆细胞器减少，出现许多空泡，电子密度增大。基膜纤维分离或断裂（图 7）。毛细血管内膜厚度不均，由于内膜增生，肿胀，形成皱襞向管腔内突出，少数血管呈现缩窄（图 6）。

讨　论

沙土鼠大脑动脉环不完整，没有建立起足够的大脑额叶皮质血供代尝机制。本研究夹闭两侧颈总动脉 30min 后恢复血流，4 天后大脑额叶皮质 80％神经元破坏性表现。固此本课题采用的方法可得到满意的大脑额叶皮质缺血再灌流损伤模型。

实验结果表明，在缺血后再灌流条件下神经元中与氧化代谢和蛋白质合成代谢密切相关的细胞器早期即发生一系列规律性改变。有人证实在缺血后 5min 神经元即出现氧化酶活性降低，虽然此时并未见形态学改变。而缺血 2h 细胞色素氧化酶和单胺氧伦酶活性明显下降[1]。我们的研究表明，神经元早期的改变随着存活时间的延长，破坏性过程继续发展，4 天后大部分神经元显示不可逆性破坏改变。但是在缺血再灌流条件下，神经元也表现出某些活化表现，如核质增加，核仁增大，个别神经元内可见许多新生线粒体堆积等。实际上，脑缺血再灌流时，整个神经组织首先表现为一系列代尝反应，神经元和神经胶质均反应性增生肥大，核质和细胞器增加。胶质细胞与神经元，毛细血管与神经元，胶质细胞与毛细血管之间的直接接触加大。如上改变表明胶质细胞在缺血再灌流的早期参与神经元代谢障碍的调整的代尝功能。但后来胶质细胞贮存的能量耗尽了，其调节代尝能力丧失了。此后不仅神经元表现出进展性损伤，而且胶质细胞本身也呈现退行性改变[2]。而正是由于胶质细胞的损伤，促使神经元营养的进行性恶化，导至神经元损伤成为不可逆性。

脑水肿是缺血性脑损伤的重要病理表现。我们在实验中看到，神经元自始至终没有出现明显的细胞内水肿。而胶质细胞，特别是星形胶质细胞早期即出现细胞内水肿，并逐渐加剧。表明脑水肿主要的形态学基础是星形胶质细胞增生及水肿。胶质细胞水肿即是缓解神经元水肿的结果，也是其本身内环境改变所致。当神经元的改变成为不可逆时，神经胶质细胞又开始执行清出废物的功能。星形胶质细胞突伸入变性坏死神经元，将其分解。三种胶质细胞均会有许多溶酶体、吞噬体和脂质包涵物，表明他们将神经元的残骸吞噬清除作用。因此，胶质细胞的状态与神经元生命悠关。早期，有效地保护和调动胶质细胞的调节代尝功能是避免或减轻神经元损伤向不可逆方向发展的重要环节。

脑微循环障碍在缺血后再灌流脑组织病理改变中具有非常重要的作用。毛细血管的病理改变引起微循环机能障碍，从而引起脑组织缺血。而缺血本身又引起脑血管超微结构的损伤。这两个过程同时发生，互相促进[2]。恢复血流后毛细血管的状态在脑损伤病理致病因素上起重要作用。资料指出，较长时间脑缺血后再灌流时，常发生脑血流量进行性下降，即“迟发性低灌流”，引起继发性脑缺血和脑水肿。其发生机制十分复杂，可能与自由基等活性物质使脑血管持续痉挛，并且进一步损伤毛细血管和神经细胞膜，引起细胞毒性脑水肿和血管性脑水肿[1]。神经组织缺血后再灌流时，其内严生大量超氧自由基（O_2^-），从而起动自由基链锁反应，使生物膜中多价不饱和脂肪酸过氧化，导至生物膜结构损伤，引起通透性改变，造成脑组织细胞内、外水、电解质平衡失调，从而引起神经元和神经胶质本身代谢障碍，出现如上一系列反应[3]。

引起再灌流障碍的因素比较复杂，从形态上看，毛细血管周围胶质细胞肿胀，特别是星形胶质细胞肿胀，向内挤压管腔造成狭窄可能是原因之一；其二，毛细血管内皮细胞增生肥大，内膜形成皱裂突入管腔造成阻塞；其三，血液粘性增高，微血栓形成。我们的实验主要表现为前二者，即毛细血管周围水肿和内膜损伤。因此，早期用血管舒张剂，积极调整内环境，减轻脑水肿，外源性地应用自由基清除剂，减轻或抑制脑组织脂质过氧化反

维普资讯 http://www.cqvip.com

应可改善缺血后再灌流障碍和减轻脑损伤[4-5]。

参考文献

1. Yoshida S, et al. Influence of transint ischemia on Lipid—soluble antioxidants, free Fatty acids and energy Metabalites in Rat Brain Brain Res. 1988; 245: 307—316.

2. Б. И. Богоявлов, книга《Ультрасмрукура мозганри гипоксии》1979.

3. 姜明辉，等．自由基与缺血性脑损伤，中风与神经疾病杂志 1988; 5 (1): 58.

4. 鲁纯馨，等．阿糖胞苷对羟自由基的清除作用．药学学报 1987; 22 (7): 533.

5. 冯亦璞，等．小鼠脑缺血后的能量代谢改变和药物作用．药学学报 1989; 21 (2): 89.

6. 冯立明，等．青心酮的抗氧化作用．药学学报 1987; 22 (4): 211.

(收稿日期：1994—06—02)

图片说明：

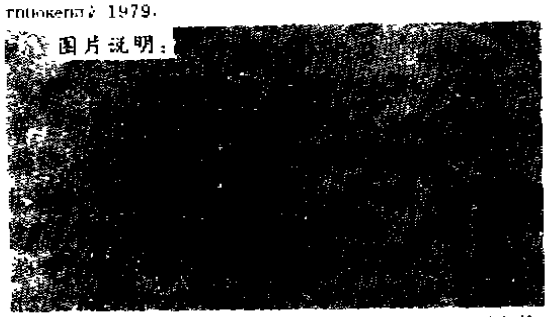


图 1. 术后 12h，额叶皮质神经元线粒体肿胀，嵴不完整，粗面网池扩张，细胞器减少，胞浆布满小颗粒状和纤维样物质，核质增加，在核膜下堆积．X8000



图 3. 术后 4 天，神经元明显皱缩变暗，周围有星形胶质细胞突伸入。核膜不完整，神经元呈均质状．X8000



图 5. 术后 4 天，小胶质细胞内布满脂质和膜性包涵物，神经组织严重破坏溶解．X16000



图 2. 术后 4 天，神经元电质密度明显增高，核膜周围形成扩张的缝隙，胞浆布满空泡．旁边有一少突胶质细胞与之紧密相贴．其内细胞增多，并含有许多溶酶酚和脂质包涵物．X8000



图 4 术后 4 天，皱缩的神经元浓染，周围被星形胶质细胞突包围，旁边有一少突胶质细胞与之紧密融合，形成“影子细胞”X8000



图 6. 毛细血管腔无血液，内皮增生肥厚形成破裂突入管腔。基膜局部分离，血管周围星形胶质细胞突高度水肿扩张呈囊．X10000