DOI: 10.16016/j.1000-5404.1999.11.012

文章编号: 1000-5404(1999)11-0805-04

大鼠慢性脑血流灌注不足脑的病理组织学和超微结构变化

李露斯[1],刘之荣[1],肖 桃元[2] (第三军医大学:[1]附属西南医院神经内科;[2]基础医学部中心实验室电镜室,重庆 400038)

【提要】 目的:研究慢性脑血流灌注不足脑皮层、海马和皮层下白质的病理变化,以探讨脑认知功能下降的病理基础。方法:采用老年大鼠持久双侧颈总动脉结扎造成慢性脑血流灌注不足动物模型,以环胞素 A在缺血前后胃灌治疗。分为对照组、缺血 2个月、缺血 4个月组和治疗组,预定时间取脑,切片,进行光、电镜观察。结果:缺血组皮层海马的神经细胞以变性、固缩和退化为主;皮层下白质有神经纤维和髓鞘溃变;普遍存在胶质细胞增生,形成胶质小结;突触小泡积聚,突触后膜增厚等。4月组较 2月组更重。经环胞素 A治疗以上变化明显减轻。结论:慢性脑血流灌注不足所致脑的退行改变是认知功能下降的基础。免疫抑制剂环胞素 A有一定治疗作用。

关键词 大鼠;慢性脑灌注不足;病理变化

中图法分类号 R743.3 文献标识码 A

临床上多见的隐匿起病、进行性发展的多发性脑梗塞和皮层下动脉硬化性脑病常见的病因是慢性脑灌注不足,其突出的临床特点是学习记忆等认识功能下降,有/无神经缺损的症状和体征,称为"血管性痴呆"。其发病率占老年人痴呆的 20%左右。目前对慢性脑血流灌注不足所致脑损害的特点、机制和防治了解不够。本文旨在通过老年大鼠持久双侧颈总动脉结扎的慢性脑血流灌注不足的动物模型,研究脑皮层、海马和皮层下白质的病理变化,以了解认知功能下降的病理基础。

1 材料与方法

选用老龄 Wistar大鼠(月龄≥ 12个月,雌雄不限)共 27只,体重 300~ 400 g,随机分为对照组(n= 3)、缺血 2月组(n= 3)、缺血 4月组(n= 3)和治疗组(n= 3)。参照 Ohta等制作慢性脑灌注不足的动物模型[1]。大鼠术前 12 h禁食,4 h禁水。用 20%乌拉坦按 800~ 1 000 mg/kg腹腔麻醉,保证手术操作期间大鼠有自主呼吸。仰卧固定,颈前部去毛消毒后沿颈正中切开,分离出双侧颈总动脉,双重丝线结扎。术中大鼠肛温保持在 36.5℃~ 37.5℃,手术后动物被送至通风和有空调的动物房饲养。治疗组动物采用环孢素 A(Cyclosporin A, CsA)胃灌(10 mg/kg)术前 1d 术前各 1次;术后 1周 1次/d;术后 2周 1次/2 d;术后 3周 1次/3 d。电镜观察另增加 3只急性缺血大鼠,双侧颈总动脉结扎 20 min即断头取脑。对照组仅切开颈前,不结扎颈总动脉。

组织学观察取颈总动脉结扎 2月、4月、假手术组和治疗组各 3只大鼠,乌拉坦深麻醉,生理盐水 250 ml经心脏灌注去除血细胞,用 4℃ 4%多聚甲醛 250 ml灌注固定后分离出大脑,去除脑干和小脑,经 4%多聚甲醛后固定 24~ 48 h,石腊包埋后切片,片厚约 5 mm,行 HE染色,光镜观察。电镜取材在上述经左心室 4%多聚甲醛灌注后分别取 1 mm^3大小组织放入 3%磷酸缓冲的戊二醛中,固定,1%锇酸后固定,常规脱水浸透,环氧树脂 618包埋,制成超薄切片,于 JEM-2 000电镜 60 KV下观察。

2 结果

2.1 光镜观察

2.1.1 对照组 无明显病理变化。

2.1.2 缺血 2个月组 缺血半球内囊区、海马区白质出现较大软化灶,有胶质细胞和小血管增生。其余白质内有散在胶质细胞增生小结。灰质内有单个或多个神经元出现缺血性改变。胞体呈三角形,胞浆致密,周围出现空壳区,见图 1。

2.1.3 缺血 4个月组 缺血半球皮质出现大软化灶,见图 2。组织溶解,漂浮少量单核巨噬细胞,周围泡沫样小胶质细胞增生,神经细胞变性及被吞噬。内囊区白质见较大软化灶,并有胶质细胞增生,灰质和白质均有散在增生的胶质小结,海马神经元部分显固缩。

2.1.4 治疗组 缺血半球皮层内偶见小软化灶。散在小胶质结节,其它无明显病变。

2.2 电镜观察

2.2.1 急性缺血组 小血管周围胶质膜肿胀,间质水肿,有吞噬细胞渗出。神经细胞周围、神经毡内间质水肿。胶质突起及神经突起肿胀,以胶质突起为甚。神经细胞粗面内质网、高尔基体扩张。线粒体嵴断裂和紊乱,有的嵴减少,空化。

2.2.2 缺血 2个月组 皮层和海马部分神经元(单个或几个)显固缩-核膜皱折,异染色质增多,核仁消失或变小,胞浆电子密度增高,见图 3。粗面内质网、高尔基体扩张,线粒体有嵴紊

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39770273)

作者简介:李露斯,女,53岁,主任医师,教授

收稿日期:1999-04-15;修回日期:1999-08-13

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

乱和空化。部分神经元则表现为核常染色质增多(电子密度低),有的核膜出现大的皱折甚至分叶,核仁增大和靠边,胞浆游离核糖体增多。粗面内质网轻度扩张。线粒体增大、畸形,有的嵴肿,有的嵴紊乱减少,出现包含物。散在灶性神经纤维及髓鞘溃变。突触小泡减少,突触后膜肿胀。散在小血管周围胶质膜肿胀。

2.2.3 缺血 4个月组 皮层和海马神经元固缩退化较 2月组更为明显,胞浆出现变性细胞器和脂褐素增多。神经毡内出现点状软化灶,组织肿胀溶解,胶质细胞和吞噬细胞增生。突触小泡积聚,突触后膜肿胀,突触间隙模糊增厚。胶质细胞肿胀,血管周仍能见到肿胀的胶质膜,血管腔受压,有的管腔内见到血小板积聚,见图 4 有的小血管显内皮细胞增生及周细胞增生。

2.2.4 治疗组 个别神经细胞显固缩。有的出现核仁增大、靠边现象。细胞毡内散在空化点(小软化灶),白质内散在神经纤维溃变和胶质细胞增生灶。散在小血管周胶质膜肿胀,胶质细胞及血管周细胞增生,也可见吞噬细胞。

2.2.5 对照组 无明显病理改变。

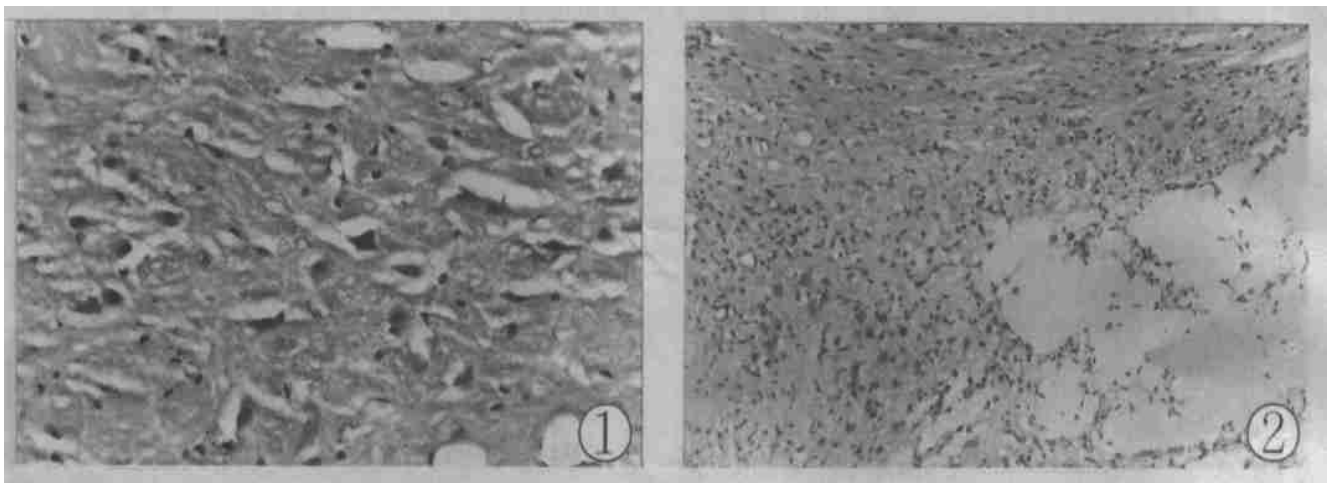


图 1 缺血 2个月组: 神经细胞固缩,呈三角形,核、浆变深,周围空晕 (HE× 400)

Fig 1 The neurons pyknotic and triang ular in shape, colour of nuclei and plasmogen darkened, 2 months after ischemia (HE× 400)

图 2 缺血 4个月组: 皮层大软化灶 (HE× 400)

Fig 2 Large softened focus in the cortex 4 months after ischemia (HE× 200)

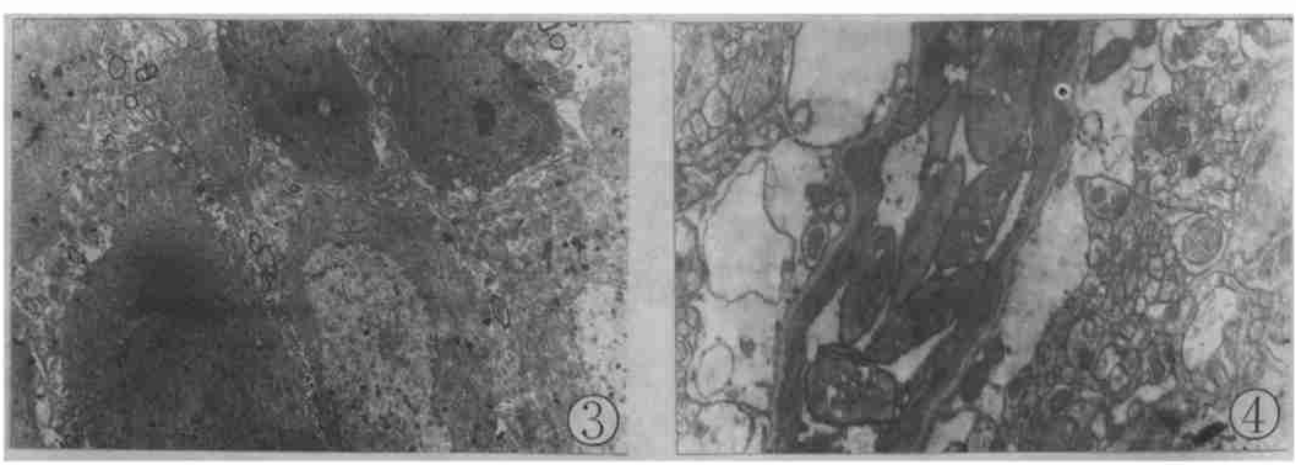


图 3 缺血 2个月组皮层三个神经细胞显固缩 (TEM× 4 000)

Fig 3 Three pyknotic neurons in the cortex 2 months after ischemia (TEM× 4 000)

图 4 缺血 4月组皮层小血管周胶质足肿胀,管腔内血小板聚集 (TEM× 10 000)

Fig 4 Swelling of the glial feet, around the minor blood vessels in the cortex 4 months after ischemia (TEM× 10 000)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3 讨论

缺血性脑损伤严重程度、损伤类型和范围取决于脑缺血的形式、持续时间和程度。已发现脑血流量急剧降低至对照组的 50%~ 60%以上能使脑组织处于离子泵衰竭,生物膜破坏,电活动抑制甚至细胞死亡。而慢性脑缺血脑血流减少低于 25%~ 50%就可能出现神经元功能降低。推测急、慢性脑缺血引起的脑损伤的机制和病变类型可能不同。目前,国内外学者对慢性脑缺血的研究相对薄弱[2]。

国外(如日本、加拿大等)学者已采用大鼠持久双侧颈总动脉结扎 7 d~ 4个月作为慢性脑灌注不足的动物模型,并报道持久双侧颈总动脉结扎 0~ 21 d大脑顶叶皮层血流量减少至 47%,结扎 7 d后脑白质血流量减少 18%~ 28%。可见此模型造成的慢性轻度脑血流灌注不足的结果是确切的[3]。

急性脑缺血组脑表现为急性缺血改变。以组织水肿、渗出和细胞器损伤为主。本组资料结果清楚地证实了持久的双侧颈总动脉结扎能引起进行性脑损伤。从组织学上可看出分为两种类型:由手术造成的急性缺血反应和主要由慢性缺血引起的损伤。

慢性脑缺血 2~ 4个月组脑病理改变以神经元变性,神经纤维变性,髓鞘溃变为主。其中缺血 2个月组,神经元呈缺血改变:胞体呈三角形,胞浆致密,周围出现空壳区。超微结构示核膜皱缩,异染色质增多,核仁消失或变小,胞浆致密。除神经元变性外,还出现增生、修复、功能增强改变。如有的核膜出现大的皱缩甚至分叶,核仁增大和靠边,胞浆内游离核糖体增多,内质网轻度扩张,线粒体增大、畸形,嵴肿胀、嵴紊乱,出现包含物。缺血 4个月组皮层和海马神经元固缩退化较 2月组更明显。皮层出现大的软化灶,组织溶解,胶质细胞增生,神经细胞变性及被吞噬,胞浆出现变性细胞器和脂褐素增多。同时,血管周能见到肿胀的胶质膜,血管腔受压,小血管萎缩、闭塞,有的管腔内见到血小板积聚。

以往的观念是白质不如灰质对缺血缺氧敏感。原因是缺血情况下白质细胞外兴奋性氨基酸的升高较灰质低而且慢。新近有人提出脑白质对缺血有很高的敏感性,特别是少突胶质细胞和有髓鞘的轴突的改变早且不依赖神经元的损害[4]。本组资料发现在缺血两个月组内囊等白质区就出现较大软化灶,有胶质细胞和小血管增生。散在胶质细胞增生小结。神经纤维及髓鞘溃变。缺血 4个月组,神经毡内出现组织肿胀溶解,点状软化灶。突触小泡积聚,突触后膜肿胀,突触间隙模糊增厚。

在慢性脑血流灌注不足过程中,另一特点是明显的胶质细胞增生、肿胀和形成胶质小结。有学者认为慢性脑血流灌注不足可诱导小胶质细胞活动。小胶质细胞是脑内的免疫效应细胞,在细胞因子网络中起着中枢的作用,能产生多种细胞因子,释放细胞毒素,参与脑内特别脑白质内的免疫功能变化,造成一定的脑损伤[5]。

本文所描述的慢性灌注不足皮层和海马神经细胞固缩、退化,皮层下白质中神经纤维变性、髓鞘溃变,突触的变化,普遍存在的免疫效应细胞胶质细胞的增生,可能是脑的认知功能下降的病理基础。

免疫炎性反应作为缺血性脑损害的重要一环已为人们所关注。研究发现脑缺血的病理过程有免疫应答的参与。国外有报道免疫抑制剂环胞素 A能预防和治疗慢性脑灌注不足引起的神经胶质细胞增生和白质损伤[3]。本组动物在手术前后用环胞菌素 A治疗组在缺血 2个月时脑内的病理变化较未治疗组有明显不同。缺血半球皮质内偶见小软化灶,散在小胶质结节。个别神经细胞固缩,白质内散在神经纤维溃变和胶质细胞增生灶。提示环胞素 A可防止由免疫细胞活动而诱发的脑损害,对脑有保护作用,从而提高大鼠的认知能力,为脑缺血的治疗开辟一途径。

参考文献

[1] Ni J W, Ohta H, Matsumoto K. Progressive cognitive impairment following chronic cerebral hypoperfusion induced by permanent occlusion of bilateral carotid arteries in rats[J]. Brain Res, 1994, 653(1): 231- 236.

[2] Sekhon L H, Spence I, Morgan M K. Chronic cerebral hypoperfusion in the rat: temporal delineation of effects and the in vitro ischemic threshold[J]. Brain Res, 1995, 704(1): 107- 111.

[3] Hideaki W, Hidekazu T, Ichiro A. Protective effect of cyclosporin A on white matter changes in the rat brain after chronic cerebral hypoperfusion[J]. Stroke, 1995, 26(6): 1415- 1422.

[4] Leonardo P, Julio H G, Jorge A G. Cerebral white matter is highly vulnerable to ischemia[J]. Stroke, 1996, 27(9): 1641- 1647.

[5] John S, Strven P. Immunophilins mediate the neuroprotective effects of FK506 in focal cerebral ischemia[J]. Nature, 1994, 371(22): 326- 339.

(编辑　刘　鹏)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

Study of the pathological changes of chronically hypoperfused brain in rats

LI Lu-shi, XIAO Tao-yuan, LIU Zhi-rong (Department of Neurology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038)

Abstract Objective: To study the histopathological and ultrastructural changes of the chronically hypoperfused brain in the rats. Methods: The rat model of chronically hypoperfused brain was established by the ligation of both the carotid arteries. The histopathological and ultrastructural changes of the brain were observed with optical microscopy and electron microscopy respectively. Results: After chronical hypoperfusion of the brain, there was denaturation, pyknosis and degeneration of the neurons in the hippocampus. Damages of the nerve fibers and myelin sheath were found in the white matter under the cortical layer. The proliferation of gliacytes generally existed to form glial nodes. There was accumulation of vesicles in the dendrites and thickening of the postdendritic membrane. The changes mentioned above became more sever along with the elapse of time and were ameliorated after the administration of cyclosporin A. Conclusion: The degenerative changes resulting from chronic hypoperfusion of the brain are the pathological basis of the lowering of the recognition function. Immunosuppression agent cyclosporin A exerts definite therapeutic effects on this disorder.

Key words hypoperfusion; brain; pathological change; rat

Foundation item: National Natural Science Foundation of China(39770273)

文章编号: 1000-5404(1999)11-0808-01

肺原发性混合癌 7例临床病理分析

Clinical pathologic analysis of pulmonary primary mixed carcinoma in 7 cases

张 海,叶明福,高广正 (第三军医大学附属新桥医院病理科,重庆 400037)

肺原发性混合癌(Pulmonary primary mixed carcinoma, PPMC)较少见,现收集 7例报告如下。

1 材料与方法

本组 7例 PPMC均经胸外手术切除,10%福尔马林液固定,在肿瘤的不同部位取材,常规石蜡切片、HE染色,光镜观察,分析结果。每例切片数 7~10片,经两位病理医师观察后诊断。并依据日本肺癌组织分类标准进行[1]。

2 结果

临床资料:男 5例,女 2例;年龄 29~64岁,平均 49.57岁。最短病程 20 d,最长达 1年,平均 3.5个月,多为 1~2个月之间。每例均有刺激性干咳、咳痰及痰中带血等,部分患者伴胸痛及胸背部胀痛。7例均经胸片及 CT等检查以"肺部恶性肿瘤"收入院。肿瘤位于左肺者 4例、右肺者 3例。

肉眼观察:肿瘤呈灰白色,边界较清楚;切面灰白色,间有灰褐色区,部分有坏死;质地细嫩、质中或质稍硬。瘤体大小为 3.5 cm×2.8 cm×2.6 cm~6.5 cm×5.5 cm×5.5 cm。7例中有 5例共 12枚支气管旁及肺门的淋巴结有癌转移,另有肺门旁转移性癌结节 1枚。

组织学观察:① 肺泡细胞癌合并鳞癌者 3例。镜检发现每例癌组织均呈双重混合性排列或分布,有的区域二者间相互混杂。肺泡细胞癌区的癌细胞呈高柱状、低柱状或立方状,沿肺泡壁单层或多层排列,胞浆嗜酸性,核异型性明显,核分裂像可见,肺泡腔内可见有坏死的癌细胞及粉染的粘液。鳞癌区之癌细胞呈典型的巢团状排列,2例癌细胞异型性明显,间桥消失,核分裂像较多见,且癌巢内无明显角化珠;1例癌巢中可见癌珠及角化不全的癌细胞。② 鳞癌合并小细胞癌 1例:此例双重混合癌中,小细胞癌及鳞癌组织均很明确,两种癌成份混杂排列,且易于识别。部分区域两种细胞似有移行或过渡。鳞癌细胞区呈巢状排列,癌巢中亦可见不全角化的癌细胞,癌细胞胞浆丰

作者简介:张 海,29岁,住院医师,现在解放军 370中心医院病理科,襄樊 441021

收稿日期:1998-12-08;修回日期:1999-09-15

(下转 812页)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net