

自发性蛛网膜下腔出血的致病机制研究进展

刘 耀 赵文洋 高 成

摘 要 自发性蛛网膜下腔出血(subarachnoid hemorrhage, SAH)是一种常见的神经外科急症,严重威胁人类健康和生命。神经血管单元(the neurovascular unit, NVU)是内皮细胞、周细胞、血管平滑肌细胞、神经胶质和神经元所构成的结构单元,它控制血-脑脊液屏障通透性、脑血流量并维持神经系统环境,而神经系统环境是维持神经元正常功能的必要条件。最近的证据表明血-脑脊液屏障功能障碍与脑实质的血管毒性及神经毒性、血脑流量降低及缺氧的联合作用有关。本文主要聚焦蛛网膜下腔出血导致的神经血管功能障碍的机制,特别是蛛网膜下腔出血后早期脑损伤的血-脑脊液屏障破坏的相关机制及其进展,此外探讨相关血管神经损伤治疗机会。

关键词 神经血管单元 蛛网膜下腔出血 血-脑脊液屏障 机制

中图分类号 R3 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.04.043

神经外科学疾病会发生神经血管的病理变化,其中的病理生理变化的典型特征包括组织缺氧、炎性改变和血管原的激活,并引发神经血管单元的细胞成分和非细胞成分的相互作用,这些因素结合到一起可导致血-脑脊液屏障通透性的增加、脑水肿、神经血管解偶联和神经功能障碍及损伤。蛛网膜下腔出血导致大脑功能障碍与脑水肿、颅内压增高、脑血流量降低及大脑代谢紊乱相关,而这些病理变化与蛛网膜下腔出血后神经血管单元内部构成成分相互作用的变化,特别是血-脑脊液屏障破坏的相关机制存在着非常密切的关系。

一、神经血管单元的构成及作用

神经血管单元是由血管细胞(内皮细胞、周细胞、血管平滑肌细胞)、神经胶质(星形胶质细胞、小神经胶质细胞、少突胶质细胞)和神经元构成的结构单元^[1]。蛛网膜下腔中的脑膜动脉发出小动脉穿过脑实质。成纤维细胞样细胞和星形细胞之间的胶质界膜将小动脉与脑实质分开,这层胶质界膜形成血管周 Virchow-Robin 间隙的外侧壁。这些动脉进一步延伸成为毛细血管前小动脉和大脑毛细血管,这些血管并没有胶质界膜。在脑膜动脉及小动脉水平,血管平滑肌细胞构成血管壁。在大脑毛细血管水平,血管内皮细胞及周细胞与基膜相接。周细胞构成大部分血管壁,它们通过延伸出的突触样连接与内皮细胞沟通。

血管周围的小胶质细胞具有感知神经损伤的作用^[2]。星形细胞位于神经元胞体与微血管之间伸出的终足包裹毛细血管和毛细血管前小动脉。神经元能够与脑实质中的血管成分(小动脉的内皮细胞和血管平滑肌细胞)相互作用,神经元对血管的作用可通过直接的神经接触,也可通过星形细胞对血管进行间接调节^[3]。

二、血-脑脊液屏障的转运机制及其相关作用

在神经血管单元中,内皮细胞围绕血管形成一层细胞膜。这层细胞膜是血-脑脊液屏障的结构基础,具有限制血浆成分、红细胞及白细胞进入大脑的作用。血-脑脊液屏障调节维持正常神经元和突触功能所需的能量代谢物及必要营养进入中枢神经系统的运输,同时非神经元细胞及神经元在控制血-脑脊液屏障通透性及脑血流量方面起协同作用。这对维持间质液化学成分的动态平衡起重要作用。血-脑脊液屏障和血脊髓屏障与周细胞一起阻止血液中潜在的高分子神经毒性和血管毒性物质进入中枢神经系统,并促进从中清除^[4]。

小的亲脂分子药物、氧气及二氧化碳能自由透过血-脑脊液屏障,这主要通过扩散作用实现。内皮细胞内含有大量的线粒体,表明维持活动性 ATP 依赖通路对内皮细胞的重要性。离子转运需要 ATP 依赖的转运体,如钠钾 ATP 酶。钠钾 ATP 酶控制血-脑脊液屏障钠离子的内向转运和钾离子的外向转运。钠钾离子水平可影响神经元的增殖活动,进而影响神经和血管功能^[5]。营养物质的转运体包括葡萄糖转运蛋白 1、乳酸转运蛋白、单羧酸转运蛋白 1 及 L1 和 y⁺ 转运蛋白。肽类及蛋白类的转运体包括活性蛋白

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31372268)

作者单位:150001 哈尔滨医科大学

通讯作者:高成,教授,主任医师,电子信箱:13604888921@163.

com

C(APC)的内皮细胞C受体(EPCR)、胰岛素受体(IRs)、与小窝蛋白1(CAV1)相关的转铁蛋白受体(TFRs)、 β 淀粉样蛋白的低密度脂蛋白受体相关蛋白1(LRP1)、脑啡肽的肽类转运系统1(PTS1)、肽类转运系统2和肽类转运系统4、精氨酸神经垂体V1a受体(V1AR)等^[6]。

三、蛛网膜下腔出血后脑损伤机制研究进展

动脉瘤的早期手术要求神经外科医生对其破裂引起的蛛网膜下腔出血(SAH)的发病机制有深入的了解。大量临床及实验研究表明,蛛网膜下腔出血导致大脑功能障碍与脑水肿、颅内压增高、脑血流量降低及大脑代谢紊乱相关。其机制与神经血管单元细胞间的复杂关系发生的变化有关。在SAH的病理生理变化中,对神经血管之间的联系产生重大影响,从而导致大脑的缺血。血管痉挛相关的迟发性脑缺血(DCI)是蛛网膜下腔出血后患者发病及死亡的主要因素。研究表明血-脑脊液屏障通透性增加与DCI的进展相关。其机制与构成血-脑脊液屏障的细胞完整性受损有关^[7]。

1. 蛛网膜下腔出血与神经血管单元:到目前为止的临床及实验研究表明蛛网膜下腔出血导致大脑功能障碍与脑水肿、颅内压增高、脑血流量降低及大脑代谢紊乱相关。在动脉瘤破裂后血液释放到蛛网膜下腔中导致颅内压增高,可造成短暂的整体性脑缺血。这个过程主要发生在SAH后的早期脑损伤期间^[8]。整体性脑缺血是指各种因素导致的大脑广泛的脑血流下降,从而影响大脑功能。可造成包括从轻度的意识障碍到脑死亡等一系列神经系统症状。SAH是其中主要病因之一。整体性脑缺血涉及到多种机制,其中包括神经递质(如谷氨酸盐)毒性、皮质扩散性抑制、炎症及细胞凋亡等^[9]。整体脑缺血同样对神经血管偶联产生影响^[10]。已有研究表明整体性脑缺血与钾离子选择性离子通道及TRPV4非选择性阳离子通道的表达变化有关^[11,12]。

功能磁共振的相关研究表明,在大脑神经活动增强的部位脑血流量增加,其中涉及到功能性脑充血及神经血管偶联的变化^[13]。这种功能性的充血与大脑相应的活动及代谢需求相适应,这其中涉及神经血管单元构成成分(神经元、星形细胞及颅内小动脉)之间的相互作用。星形细胞是神经血管应答过程中的关键媒介,其通过突触样的结构(星形细胞终足)与神经元紧密接触,终足可将在脑实质中的小动脉完全包裹^[14]。Masayo等^[15]将SAH大鼠的大脑皮质切片

用多质子共聚焦成像与红外线微差干涉对比(IR-DIC)显微镜技术相结合的技术同时测量星形细胞终足钙离子浓度和脑实质中小动脉的直径。通过电场刺激(EFS)神经元并观察神经血管应答。在对照组和假手术组的脑皮质切片中星形细胞终足的钙离子浓度增加且血管舒张。这种血管舒张作用可通过paxilline(一种 Ca^{2+} 激活 K^{+} 通道——BK通道的阻滞剂)使之明显减弱。在SAH大鼠中神经活性与前两组相同,而终足的钙离子水平上升,并导致血管相对明显收缩。这种由SAH导致的神经血管偶联的改变导致了血管收缩状态的改变。他们进一步研究表明SAH后神经血管偶联的变化与星形细胞终足的BK通道激活有关,同时与周细胞终足与脑实质小动脉的平滑肌之间的钾离子浓度增高有关。EFS还可导致星形细胞终足的钙离子增加,导致血管周围钾离子浓度增加激活整流钾离子通道使血管平滑肌细胞膜超极化及血管舒张。这种神经血管偶联的变化也是造成SAH后扩散性脑缺血的病理基础。

2. 蛛网膜下腔出血与血-脑脊液屏障:关于SAH的大量研究表明,血-脑脊液屏障的功能性破坏可使血管内的物质外渗而进入脑实质。损伤可以通过伊文斯蓝染色显示,其他可用的物质还有荧光素5-异硫氰酸盐(FITC)、IgG及牛血清白蛋白等。血-脑脊液屏障破坏在SAH后10min即可出现,在24h后达到高峰,并一直持续到SAH后的7天。血管内的血小板在SAH后10min即开始渗出进入脑实质。许多因素会影响血-脑脊液屏障的通透性,包括脑实质内小动脉基膜的胶原IV的降解、紧密连接蛋白及闭锁蛋白的减少、内皮细胞之间的间隙增宽、内皮细胞的炎性反应和凋亡,还有星形细胞的凋亡等^[16-18]。Zhan等^[19]在大鼠SAH动物的研究中发现PDGF的直接作用和c-*Src*诱导的受体反式激活间接作用激活PDGFR- α 在SAH后血-脑脊液屏障破坏中起着重要作用。另外促细胞分裂蛋白激酶(MAPKs)是PDGFR信号通路的下游中的一个关键靶点,其中包括c-Jun N端激酶(JNK)。Chen等^[20]的研究表明JNK的激活与SAH后血-脑脊液屏障紧密连接的蛋白相关,如claudin-5与ZO-1。血管内皮生长因子(VEGF)是血-脑脊液屏障功能障碍中的一个重要因素,研究显示脑脊液中在SAH后脑脊液和脑组织中VEGF水平增加,通过调节VEGF水平可增加血-脑脊液屏障通透性。除此之外,研究表明在大脑动脉中VEGF的磷酸化增加,在SAH后的大

脑皮质是与促分裂活化蛋白激酶 (MAPK) 的增长是同步的, 导致血 - 脑脊液屏障通透性增加、脑水肿、颅内压增高, 导致神经功能障碍甚至死亡。基质金属蛋白酶 (MMPs) 是对于 SAH 后血 - 脑脊液屏障紊乱重要的一组分子。大量的研究表明在局部脑缺血后血 - 脑脊液屏障的破坏是由 MMPs 的表达和激活引起的。特别是 MMP-9 的水平与脑卒中的严重性和出血的变化有关。除此之外, MMP-9 缺陷的小鼠在局部的缺血性脑卒中后梗死灶较小, 血 - 脑脊液屏障破坏程度也降低。1 项近期的研究显示, 小鼠的 SAH 模型中, 海马中的 MMP-9 水平上调。MMPs 的激活通过多种途径对血 - 脑脊液屏障紊乱起作用, MMP 的激活导致基膜成分的蛋白酶水解, 从而使血管通透性增加。除此之外, MMP-9 可以上调紧密连接蛋白闭锁小带-1、紧密连接-5 和闭锁蛋白, 这可能使紧密连接不稳定, 从而增加血 - 脑脊液屏障通透性。另有研究表明 MMPs 对于血 - 脑脊液屏障的不利影响可能是通过促进白细胞从毛细血管后静脉渗出实现的。

五、展 望

蛛网膜下腔出血后神经血管单元及血 - 脑脊液屏障变化的机制比较复杂, 深入探讨神经血管单元变化, 尤其是血 - 脑脊液屏障损伤的机制, 针对不同环节研发药物, 可能成为治疗 SAH 的重要措施。(1) 随着 SAH 病理机制的研究更加深入, 发现疾病的发生及进展并不是单一因素导致, 与发病后中枢神经系统的各种成分相互作用有着密切的关系。针对这方面的研究可能会对 SAH 的治疗提供新的更加有效的治疗策略。(2) 紧密连接在维持血 - 脑脊液屏障通透性方面起着关键作用。诱导紧密连接蛋白的表达或抑制 SAH 后紧密连接损伤的相关因素以加速血 - 脑脊液屏障的重建可能会改善 SAH 后症状及预后, 已有证据表明参与紧密连接形成过程及对其调节的信号通路存在于神经血管相互作用的网络中。参与促进紧密连接重新恢复对于 SAH 中血 - 脑脊液屏障的治疗可能就会起到相对理想的效果。另外, 通过干预内皮细胞的凋亡过程也可能对血 - 脑脊液屏障起到保护作用。(3) 在治疗过程中, 高分子物质 (如抗体、肽类及药物) 穿过血 - 脑脊液屏障的过程受到限制从而影响治疗效果。对血 - 脑脊液屏障形成机制认识可使调节血 - 脑脊液屏障开放的工具得到发展, 这将改善药物向大脑内传递的过程。总之, 深入了解 SAH 后神经血管单元相关变化及血 - 脑脊液屏障损伤的机制有重要意义。

参考文献

- 1 Stanimirovic DB, Friedman A. Pathophysiology of the neurovascular unit: disease cause or consequence? [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2012, 32(7): 1207 - 1221
- 2 Zlokovic BV. Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer's disease and other disorders[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2011, 12(12): 723 - 738
- 3 Hawkins BT, Davis TP. The blood - brain barrier/neurovascular unit in health and disease[J]. *Pharmacol Rev*, 2005, 57(2): 173 - 185
- 4 Daneman R, Zhou L, Kebede AA, *et al*. Pericytes are required for blood - brain barrier integrity during embryogenesis [J]. *Nature*, 2010, 468(7323): 562 - 566
- 5 O'kane RL, Martinez - Lopez I, DeJoseph MR, *et al*. Na⁺ - dependent glutamate transporters (EAAT1, EAAT2, and EAAT3) of the blood - brain barrier. A mechanism for glutamate removal[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(45): 31891 - 31895
- 6 Elali A, Hermann DM. ATP - binding cassette transporters and their roles in protecting the brain[J]. *Neuroscientist*, 2011, 17(4): 423 - 436
- 7 Caner B, Hou J, Altay O, *et al*. Transition of research focus from vasospasm to early brain injury after subarachnoid hemorrhage[J]. *J Neurochem*, 2012, 123(Suppl 2): 12 - 21
- 8 Sehba FA, Hou J, Pluta RM, *et al*. The importance of early brain injury after subarachnoid hemorrhage[J]. *Prog Neurobiol*, 2012, 97(1): 14 - 37
- 9 Harukuni I, Bhardwaj A. Mechanisms of brain injury after global cerebral ischemia[J]. *Neurol Clin*, 2006, 24(1): 1 - 21
- 10 Koide M, Sukhotinsky I, Ayata C, *et al*. Subarachnoid hemorrhage, spreading depolarizations and impaired neurovascular coupling[J]. *Stroke Res Treat*, 2013, 2013: 819340
- 11 Butenko O, Dzamba D, Benesova J, *et al*. The increased activity of TRPV4 channel in the astrocytes of the adult rat hippocampus after cerebral hypoxia/ischemia[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e39959
- 12 Pivonkova H, Benesova J, Butenko O, *et al*. Impact of global cerebral ischemia on K⁺ channel expression and membrane properties of glial cells in the rat hippocampus [J]. *Neurochem Int*, 2010, 57(7): 783 - 794
- 13 Pike GB. Quantitative functional MRI: concepts, issues and future challenges[J]. *Neuroimage*, 2012, 62(2): 1234 - 1240
- 14 Attwell D, Buchan AM, Charpak S, *et al*. Glial and neuronal control of brain blood flow[J]. *Nature*, 2010, 468(7321): 232 - 243
- 15 Koide M, Bonev AD, Nelson MT, *et al*. Inversion of neurovascular coupling by subarachnoid blood depends on large - conductance Ca²⁺ - activated K⁺ (BK) channels[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(21): E1387 - 395
- 16 Zhou N, Xu T, Bai Y, *et al*. Protective effects of urinary trypsin inhibitor on vascular permeability following subarachnoid hemorrhage in a rat model[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2013, 19(9): 659 - 666
- 17 Friedrich V, Flores R, Muller A, *et al*. Reduction of neutrophil activity decreases early microvascular injury after subarachnoid haemorrhage[J]. *J Neuroinflammation*, 2011, 8: 103
- 18 Tso MK, Macdonald RL. Subarachnoid hemorrhage: a review of experimental studies on the microcirculation and the neurovascular unit [J]. *Transl Stroke Res*, 2014, 5(2): 174 - 189
- 19 Zhan Y, Krafft PR, Lekic T, *et al*. Imatinib preserves blood - brain barrier integrity following experimental subarachnoid hemorrhage in rats[J]. *J Neurosci Res*, 2015, 93(1): 94 - 103
- 20 Chen D, Wei XT, Guan JH, *et al*. Inhibition of c - Jun N - terminal kinase prevents blood - brain barrier disruption and normalizes the expression of tight junction proteins claudin - 5 and ZO - 1 in a rat model of subarachnoid hemorrhage [J]. *Acta Neurochir: Wien*, 2012, 154(8): 1469 - 1476; discussion 1476

(收稿日期: 2015 - 08 - 07)

(修回日期: 2015 - 10 - 11)