

· 实验研究 ·

高血压鼠与正常鼠局部脑梗死后微循环结构改变的区别^①

方燕南^② 黄如训 苏镇培 陈颖贤 陈燕奎

(中山医科大学附属第一医院神经科,广州,510080)

提 要 本文用透射电镜动态观察肾血管性高血压鼠(RHR)和正常鼠(SDR)在单侧大脑中动脉闭塞(MCAO)后2h~7d的梗死灶边缘区脑微循环结构的改变,结果显示MCAO后RHR的微循环结构损害比SDR的更严重($P < 0.05$),说明持续性高血压在其中起着重要的作用,微血管本身结构的改变是微血管狭窄的主要原因,而RHR的内皮损害和微血栓形成的特征性改变,提示临床预防高血压病有其积极的意义。

主题词 微循环/病理学; 脑梗死/病理学; 高血压, 肾血管/病理学; 大鼠

中图分类号 R743.3

高血压性脑血管损害是发生脑卒中的病理生理基础,我们选择双肾动脉双夹型肾血管性高血压大鼠(RHR)以其持续高血压和动脉硬化为基础复制大鼠大脑中动脉闭塞(MCAO)模型,与正常大鼠(SDR)对比,重点观察MCAO后脑梗死边缘区微循环结构的改变,旨在探讨高血压鼠与正常鼠局部脑梗死后微血管病理改变的特点。

1 材料与方 法

1.1 RHR 模型复制

先用纯种健康雄性SD大白鼠70只(由广东省医用实验动物中心提供),体重90~130克,鼠龄2~3个月,按已定方法^[1],随机分实验组40只,自行复制RHR模型。对照组(正常SDR)30只。

1.2 MCAO 模型制备方法

选择RHR复制MCAO模型的条件:①双肾动脉狭窄术后高血压持续10周以上;②血压达24kPa或以上(鼠尾动脉收缩压);③

从未出现脑卒中神经系统症状者。SDR与RHR同一批生长,同一条件饲养。本文采用Graham的MCAO法加以改良^[2],在无菌下开颅暴露大脑中动脉(MCA)后,以双极电凝器凝闭距嗅束水平上下各2mm的MCA两点,即可见MCA主干供血中断。未行MCA主干凝闭者为MCAO假手术者。

1.3 电镜标本的制作

将上述RHR实验组织和SDR对照组(符合复制MCAO模型条件的大鼠)。又随机配对分MCAO假手术组,MCAO后2、6、12h、1、2、3、5、7d组;备用组;共10对小组,每组3只。按不同时间用1%多聚甲醛与1.25%戊二醛混合固定液经左心室常规灌注固定后,开颅取脑,取苍白区周边顶叶大脑皮质,1mm³大小3~4块,磷酸缓冲液冲洗3次,1%饿酸液固定2h,经各级丙酮连续脱水,Epon812包埋,半薄切片(1 μ m)定位,LKB超薄切片,H600电镜观察,剩余脑标本行TTC组化染色和光镜检查。

1.4 统计学处理

① 本课题获“八·五”国家科技基金资助;

② 第一作者,1957年出生,女,硕士,讲师

两组间计数资料的比较用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 有显著性意义。

2 结 果

2.1 模型复制

本文复制的 RHR, 于术后 14d 血压全部高于 20.0kPa。持续 10 周后, 选择符合上述条件的 RHR 和对照组 SDR 各 30 只, 其余不符合条件的删除, 电凝 MCA 主干者经 TTC 染色证实 100% 出现梗死灶。电镜取材后剩余脑标本石蜡包埋, HE 染色, 光镜检查 RHR 均有脑小动脉玻璃样变和胶原纤维环状增生改变。

2.2 电镜观察

2.2.1 RHR 假手术组 微血管内皮和基底膜完整。内皮细胞可见 3~5 个吞饮泡, 内皮细胞核染色质稍深。

2.2.2 SDR 假手术组 内皮可见 1~2 个吞饮泡, 基膜完整。

2.2.3 RHR 与 SDR 在 MCAO 后各时间组电镜检查 电镜结果评价标准参照 Tagami 等人的实验方法^[3]制定, RHR 在 MCAO 后 1~7d 均有微血管内血小板聚集和微血栓形成(插图 1、插图 2), MCAO 后 3~5d 内皮细胞溶酶体增多, 而 SDR 微血管未见此改变, 此外超微结构也见损害(表 1)。损害分级: ①内皮细胞损害程度: +, 饮泡增多超过 5 个/内皮; ++, 内皮微绒毛增多; +++, 内皮凹凸不平, 撕裂。②星形细胞足突水肿程度: +, 仅见星形细胞足突水肿; ++, 星形细胞高度肿大, 线粒体呈空泡状; +++, 微血管与星形细胞分离。③神经细胞核损害程度: +, 胞核肿大; ++, 核变形浓染; +++, 核染色质固缩坏死。

表 2 显示 RHR 与 SDR 在 MCAO 后不同缺血时间梗死灶边缘区微血管狭窄数目。该表以 2 000 倍数为一个电镜视野, 每只鼠数 10 个不同视野, 每个时间组各有 3 只, 故每个时间组有 30 个不同视野 ($n=30$)。各时间组微血管狭窄数进行 Yate's 连续性校正

χ^2 检验。

表 1 MCAO 后 RHR 与 SDR 超微结构损害比较

时 间	内皮损害		星形细胞 足突水肿		神经细胞 核损害	
	RHR	SDR	RHR	SDR	RHR	SDR
2h	+	-	-	-	+	-
6h	++	-	+	+	++	+
12h	+++	+	++	+	++	+
1d	+++	++	++	++	++	++
3d	+++	++	+++	+++	+++	+++
5d	+++	+	+++	++	+++	+
7d	+++	-	+	-	++	+

表 2 RHR 与 SDR 不同缺血时间微血管狭窄数比较 ($n=30$)

MCAO 后	6h	12h	1d	3d	5d	7d
RHR	11	21	22	29	27	18
SDR	3	7	9	18	12	2
χ^2	4.56	11.31	9.61	9.82	14.35	8.10
$P <$	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005

3 讨 论

局部脑缺血后微循环障碍和水肿的发生是密切相关的。本文结果显示微循环障碍程度是随着脑水肿的发展而加重的。RHR 在 MCAO 后 6h~7d 微血管狭窄数均比 SDR 多, 统计学有显著差异, 说明持续的高血压对微血管的缺血损害是有影响的。尽管 Cole 等发现血管源性脑水肿降低局部脑血流 (CBF) 的同时, 高血压可以增加 CBF, 减轻血管源性脑水肿^[5]。但进一步的实验表明只有短期间歇 (15min/次) 的高血压可增加 CBF 减轻脑水肿, 而持续性高血压则不行^[6]。本结果证明微血管狭窄的程度随着缺血时间的延长而

增多,并未因高血压的存在而减少,与Greenwood等人认为高血压可致使脑微血管变形,从而加重缺血性脑水肿的意见一致^[7],提示临床应重视脑卒中病人的高血压治疗。

作者认为微血管本身结构的改变是导致管腔狭窄的主要因素。RHR的微血管狭窄以内皮微绒毛增多或凹凸不平突入管腔的改变为主,并出现血小板聚集,微血栓形成导致血管闭塞。而SDR的微血管始终未见管腔内有血小板凝集或微血栓形成,其内皮改变也较光滑,说明高血压对脑梗死后微血管结构的影响是不容忽视的。Tagami等人发现已发生脑梗死的自发性高血压鼠(SHRSP),电镜显示内皮紧密连接开放和内皮损害处可见大量的溶酶体,其与血管结构破坏有关^[3]。我们结果表明RHR在MCAO后3d~5d内皮溶酶体明显增多,此时正是微血管结构破坏最严重时期,而SDR的这种改变较轻。说明高血压不但是内皮损害的直接因素,还是导致溶酶体增高进一步破坏微血管结构的间接因素。RHR微血管各种超微结构的病理改变在导致微循环障碍中具有决定性作用。

从现代微循环概念出发,微血管、星形细胞和神经细胞三者脑缺血病灶中是一个统一整体。表1、表2结果表明三者的损害过程是相似的。RHR和SDR的微血管狭窄数是与星形细胞足突水肿和神经细胞核损害程度均成正比,但是RHR损害均比SDR的严重,SDR则主要是各细胞线粒体球形肿胀和嵴结构消失,这与文献报道是一致的^[8]。我们的RHR在MCAO后的微血管内皮损害比MCAO假手术组严重,且随着缺血时间延长损害愈来愈严重,自然发生内皮血小板聚集和微血栓形成。脑梗死病人尸解发现脑神经细胞,在有长期高血压病史者以核的改变为明显,无高血压者则以线粒体改变为明显^[4],与本文结果一致,说明高血压动脉硬化在MCAO后脑超微结构的改变是有其特异性的。

血小板与血管内皮之间的关系是目前血管生物学研究的热点^[9],有人认为假如高血压与血管内皮和血小板的改变有关,将可解释缺血性脑梗死的病理生理机制^[10]。Keel等人的新近实验表明SHRSP在脑中风前与SDR相比,血小板的凝集活性是相似的,并不为SHRSP所特有,故导致脑中风的因素不单只是血小板。血小板仅起一个中介作用,与白细胞和粒细胞相互作用(这些细胞在SRHSP血中增多),SRHSP的血管内皮损害严重增加了SRHSP脑中风的危险性^[11]。本文结果表明RHR在MCAO前未发现微血管内血小板聚集,于MCAO后才有,说明高血压性脑梗死的微循环障碍与微血管内皮损害密切相关,目前临床使用抗凝药预防和治疗缺血性脑中风常无效或出现脑出血^[12],可能与微血管内皮损害有关,其机制如何有待进一步探讨。

(本文图见插页1)

参 考 文 献

- 1 黄如训,曾进胜,苏镇培,等. 易卒中型肾血管性高血压大鼠模型. 中国神经精神疾病杂志, 1991,17(5): 257
- 2 Graham DI. Focal cerebral infarction. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1988, 8(6): 769
- 3 Tagami M, Nara Y, Kubota A, et al. Increased transendothelial channel transport of cerebral capillary endothelium in Stroke-Prone SHR. *Stroke*, 1983, 14: 4
- 4 蔡德亨,葛茂振主编. 脑血管解剖与疾病. 哈尔滨:黑龙江人民出版社, 1986, 161
- 5 Cole DJ, Drummond JC, Matsumura JS, et al. Hemodilution and hypertension during temporary middle cerebral ischemia in rats: the effect on blood-brain barrier permeability. *Can J Neurol Sci*, 1990, 17: 372
- 6 Cole DJ, Matsumura JS, Drummond JC, et al. Focal cerebral ischemia in rats: effects of induced hypertension, during reperfusion, on CBF. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1992, 12: 64

- 7 Greenwood J, Luthert PJ, Pratt OE, et al. Hyperosmolar opening of the blood-brain barrier in the Energy-Depleted rat brain. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1988, 8 : 9
- 8 Memezawa H, Katayama Y, Sugimoto S, et al. Arachidonic acid-induced brain ischemia. *J Hypertens*, 1986, 4(3) : 421
- 9 Ware JA, Heistad DD. Platelet-endothelial interactions. *N Engl J Med*. 1993, 328 : 628
- 10 Heistad DD, Baumbach GL. Cerebral vascular changes During chronic hypertension: good guys and bad guys. *J Hypertens*. 1992, 10 : 71
- 11 Klee A, Vater S, Schmid-Schonbein GW, et al. Evidence from comparative investigations that impaired platelet activation is not specific for Stroke-Prone spontaneously hypertensive rats, 1993, 24(10) : 1528
- 12 Antiplatelet Trialists Collaboration. Secondary prevention of vascular disease by prolonged antiplatelet treatment. *Br Med J*, 1988, 296 : 320

(1994-05-05 收稿 1995-04-06 修回)

THE DIFFERENTIATION OF MICROCIRCULAR STRUCTURE CHANGES BETWEEN RENOVASCULAR HYPERTENSIVE RATS AND NORMAL RATS AFTER OCCLUSION OF THE MIDDLE CEREBRAL ARTERY

Fang Yannan Huang Ruxun Su Zhenpei Chen Yinxian Chen Yankui

(Neurology Department, First Affiliated Hospital, Sun Yat-Sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510080)

In the present study, the authors sequentially observed the ultrastructural changes of cerebral microvessels in different period (2h-7d) following occlusion of the middle cerebral artery (MCAO) in renovascular hypertensive rats (RHR) and healthy Sprague-Dawley rats (SDR) by electron microscopy. The data indicated that the damage of microvascular structure in RHR were more severe than that in SDR. It indicated that chronic hypertension should play an important part in the process. RHR showed the character of the endothelial damage and microvascular thrombosis. The effects of hypertension for stroke, therefore, should not be neglected.

Subject headings microcirculation/pathology; cerebral infarction/pathology; hypertension, renal/pathology; rats