

[文章编号] 1007-3949(2004)12-06-0651-05

• 实验研究 •

# 大脑皮层微血管内皮细胞可能是脑内血液缘流保护性屏障

庄明华<sup>1</sup>, 白晔<sup>2</sup>, 黄集前<sup>3</sup>, 张尔强<sup>3</sup>, 常立功<sup>3</sup>, 姜树学<sup>3</sup>, 杨国瑞<sup>3</sup>, 宋今丹<sup>3</sup>, 李吉<sup>3</sup>

(汕头大学医学院附属第二医院 1. 神经外科, 2. 针灸科, 广东省汕头市 515041; 3. 中国医科大学, 辽宁省沈阳市 110001)

[关键词] 病理学与病理生理学; 内皮形态; 假说, 血液缘流保护性屏障; 微血管构筑; 微循环, 大脑皮层

[摘要] 因发现儿童大脑皮层内的微血管内皮是粗糙的, 象树皮样, 故提出血液缘流保护性屏障假说。为验证这一假说, 在 18 例经 1:6 福尔马林与碳素墨水混合液灌注的儿童尸头的大脑半球光学切片上观察了大脑皮层微血管的形态特征, 发现大脑皮层内存在着 4 种微血管: 大脑皮层浅动脉、中动脉、深动脉和皮质髓质动脉。在扫描电镜下观察了 10 例经甲基丙烯酸甲酯灌注的儿童尸头的大脑皮层微血管构筑腐蚀筑型, 发现儿童大脑皮层内的微血管内皮是粗糙的, 形态就象树皮。激光扫描共聚焦显微镜下观察家兔大脑皮层内微循环, 血浆被用荧光素标记后, 镜下可无损动态观察大脑皮层下 300 μm 的大脑皮层内微循环。在给予川芎嗪和去甲基肾上腺素引起大脑皮层内血管口径变化的血管内的血液轴流和缘流的荧光灰度被图象分析系统采取, 并绘出荧光灰度曲线。在正常状态下, 显示口径为 121.56 μm 大脑皮层内血管在舒缩运动时血液缘流的厚度没有减少 ( $P > 0.05$ ); 口径为 60.00 μm 大脑皮层内血管在舒缩运动时血液缘流的厚度没有减少 ( $P > 0.05$ ); 在休克状态下口径为 60.15 μm 大脑皮层内血管在舒缩运动时血液缘流的厚度没有减少 ( $P > 0.05$ ); 口径为 48.84 μm 大脑皮层内血管在舒缩运动时血液缘流的厚度没有减少 ( $P > 0.05$ )。大脑皮层内血管运动的微血管内存在着稳定的血液缘流对血管内皮有保护性屏障作用, 这一血液缘流保护性屏障能够覆盖大脑皮层内血管的内皮, 使血管内皮不受损伤, 避免了脑血管疾病的发生。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## The Endothelium of Vessel and Protected Barrier from Edge-blood Flow in the Cerebral Cortex

ZHUANG Ming-Hua<sup>1</sup>, BAI Ye<sup>2</sup>, HUANG Ji-Qian<sup>3</sup>, ZHANG Er-Qiang<sup>3</sup>, CHANG Li-Gong<sup>3</sup>, JIANG Shu-Xue<sup>3</sup>, YANG Guo-Rui<sup>3</sup>, SONG Jin-Dan<sup>3</sup>, and LI Ji<sup>3</sup>

(1. Department of Neurosurgery, 2. Department of Acupuncture, The Second Affiliated Hospital of Medical College, Shantou University, Shantou 515041, China. 3. China Medical University, Shenyang 110001 China)

[KEY WORDS] Shape of Endothelium; Hypothesis on the Protective Barrier Formed by the Edge-flowing Blood in Vessels; Microvasculature; Microcirculation, Cerebral Cortex

[ABSTRACT] **Aim** To furnish evidence of the protective barrier formed by the edge-flowing blood in vessels within cerebral cortex. **Methods** The corrosion casts of the microvasculature of cerebral cortex were studied by scanning electron microscopy on ten dead China children's heads perfused with methylmethacrylate to discover the shape of endothelium of the microvessel within cerebral cortex. The characteristics of microvessel cerebral cortex were studied with microscope on 18 sides children's cerebral hemisphere perfused with the mixture liquid of formaldehyde (formalin) and carbon black ink, the proportion was 1:6. Confocal laser scanning microscopy was used in a rabbit opening cranial window preparation in order to study optical section on the microcirculation within the cerebral cortex *in vivo*. The plasma was labeled by fluorescein in capillaries was visualized up to 300 μm beneath the rabbit brain surface in noninvasive optical sections. The diameter of capillaries and the thickness of edge-flowing blood in vessels were measured. The gray scale display of axial blood flow and edge-blood flow in varying vessels was measured by image analytical system, and drew a curve of gray scale display. The normal microcirculation within cerebral cortex of rabbit, the microcirculation within cerebral cortex of normal rabbit treated with the Ligustrazine (or Tetramethylpyrazine) for moving the vessel, the microcirculation within cerebral cortex of shock rabbit treated with the Ligustrazine for moving the vessel was studied by Confocal laser scanning microscopy in vivid. **Results** There are four kinds of microvessel within the cerebral cortex, including the superficial, middle, deep cortical artery and cortical-medullary artery. The shape of endothelium of the microvessel within the cerebral cortex in children is crude, and it's morphology is similar to the bark of poplar or willow and pine tree. The endothelium of blood vessels within cerebral cortex in human change from roughness to smoothness as the internal

[收稿日期] 2003-11-19 [修回日期] 2004-10-19

[基金项目] 广东省重点科技项目基金(2000-44)资助

[作者简介] 庄明华, 医学博士, 神经外科博士后, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事神经外科临床、教学及科研工作, 研究方向为脑血管疾病的发病机理、颅内肿瘤的微创手术、小儿脑瘫的针灸治疗, 联系电话 0754-8915601, E-mail 为 mhzhuang@stu.edu.cn。白晔, 针灸学硕士, 副主任医师, 主要从事针灸临床、教学及科研工作, 研究方向为针灸治疗脑瘫、急性神经系统损伤。黄集前, 医学博士, 副教授, 主要从事分子生物学教学及科研工作, 研究方向为共聚焦激光扫描显微镜的应用。

diameter of the blood vessels change from large to small. Under the normal state in vivid, the edge-flowing blood in vessels within cerebral cortex was stable when the diameter of capillaries was 121.56  $\mu\text{m}$  ( $P=0.0262$ ) and 60.00  $\mu\text{m}$  ( $P=0.0539$ ) respectively under the shock state, the edge-flowing blood was stable when the diameter was 60.15  $\mu\text{m}$  ( $P=0.9358$ ) and 48.84  $\mu\text{m}$  ( $P=0.0053$ ) respectively. **Conclusions** There is a protective barrier formed by the edge-flowing blood in vessels within cerebral cortex, which can cover and protect the endothelium of vessels within cerebral cortex, and avoid the cerebrovascular disease.

脑血管疾病的研究在医学上是一个很重要的课题,我们都知道许多脑血管疾病的发生是和大脑皮层内微循环功能障碍有关系。在作者研究大脑皮层微血管构筑的过程中发现,儿童大脑皮层内微血管的内皮形态是粗糙的,形态就象杨树皮、柳树皮和松树皮。按照常识,大脑皮层内微血管的内皮形态应该是光滑的,事实上,我们的研究提供了相反的证据。但是为什么并不是在儿童和所有的老人都发生脑血管疾病?一定有一个结构在脑血管疾病的发生过程扮演了重要的角色。作者提出血液缘流保护性屏障假说,该假说认为:在大脑皮层内血管内存在着一个血液缘流形成的保护性屏障<sup>[1,2]</sup>,该屏障能够覆盖大脑皮层内微血管粗糙的内皮并保护内皮不受损害,脑血管疾病就不会发生。为了提供这一假说存在的证据,作者用共聚焦激光扫描显微镜(MRC600)在开放颅窗的家兔动物模型上活体观察了正常和休克状态下的家兔动物模型给予川芎嗪、去甲基肾上腺素以引起大脑皮层内血管运动时的血液轴流和缘流的荧光灰度,并描绘出血液轴流和缘流的荧光灰度曲线以分析血液流态<sup>[3]</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 童尸大脑皮层微血管形态观察

1.1.1 童尸来源 童尸头来自于非中枢神经系统疾病死亡的家庭捐献,一般在死亡后7h内灌注。

1.1.2 童尸大脑皮层微血管形态的光学显微镜观察 18例经1:6福尔马林与碳素墨水混合液经颈总动脉灌注的儿童尸头,连续灌注3次,开颅取脑,各叶取材,石蜡或火棉胶包埋,切片厚150  $\mu\text{m}$ ,伊红染色,OlympusCH显微镜下观察血管形态<sup>[4]</sup>。

1.1.3 童尸大脑皮层微血管内皮形态的扫描电子显微镜观察 将10例经甲基丙烯酸甲酯颈总动脉灌注的童尸头开颅取材,盐酸腐蚀筑型,在解剖镜下修剪,用导电胶粘贴于标本台上,离子镀膜,在扫描电镜下观察大脑皮层内微血管内皮形态<sup>[5]</sup>。

### 1.2 家兔大脑皮层内的微循环观察<sup>[6]</sup>

1.2.1 家兔分组 成年雄性大耳白兔30只,体重2.0~3.0 kg,随机分为血压正常或休克状态下的对照组、川芎嗪1组、川芎嗪2组、去甲基肾上腺素(noradrenaline, NA)1组和NA2组共10组,每组3只。

川芎嗪1组川芎嗪的用量为8 mg/kg,2组为16 mg/kg;NA1组NA的用量为1 mg/kg,2组为2 mg/kg。

1.2.3 开颅术及颅内血管暴露术 家兔经25%乌拉坦腹腔注射麻醉,颈总动脉插管及气管插管后,俯卧位固定在脑定位仪上行开颅窗手术:切开并剥离头皮,暴露手术野,钻孔,咬骨钳咬去一侧顶骨,用镊子夹起硬脑膜并剪开,暴露大脑皮层,悬吊硬脑膜。将共聚焦激光扫描显微镜对准手术野,调整焦距,准备观察。观测过程中用人工脑脊液<sup>[7]</sup>覆盖于皮质表面,以与大气隔离。人工脑脊液配方如下:KCl 0.220 g, MgCl<sub>2</sub> 0.132 g, CaCl<sub>2</sub> 0.221 g, NaCl 7.710 g, NaHCO<sub>3</sub> 1.600 g, 尿素 0.402 g, 葡萄糖 0.665 g, 上述试剂溶入1000 mL蒸馏水中,并通入6% CO<sub>2</sub>、6% O<sub>2</sub>和88% N<sub>2</sub>混和气体2 h,测pH值为7.28 $\pm$ 0.02, CO<sub>2</sub>分压为40.3 $\pm$ 3.0 mm Hg, O<sub>2</sub>分压为77 $\pm$ 1.7 mm Hg,使用时保温于37 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.2.4 颅内血流的荧光标记 经股静脉插管注入荧光素(Fluorescein)标记血浆或诺丹明6G(Rhodamine 6G)标记白细胞,其中荧光素溶于蒸馏水中;诺丹明6G溶于生理盐水中。

1.2.5 血压和呼吸监测 将颈总动脉插管的三通开关连通四导生理记录仪换能器监测血压,气管插管监测呼吸变化。

1.2.6 家兔休克模型复制 股静脉放血,当血压 $\leq$ 6.67 kPa时停止,以复制成失血性休克模型。

1.2.7 皮层微循环的扫描观察<sup>[6,8,9]</sup> 根据共聚焦激光断层扫描显微镜的成像原理及激光可无伤害性深入皮质内约250~300  $\mu\text{m}$ ,并激发荧光标记物发光的原理,对大脑皮层内微血管构筑及微循环进行观测。观测时可进行连续断层扫描,层厚2  $\mu\text{m}$ ;或在同一层面进行连续定位扫描监测。所摄取图像经监视器及计算机摄入并存储待分析,用图像分析系统进行观测血管口径、血流速度、血液流态、白细胞、红细胞运动等微循环指标,也可用标准Bio-Rad thru-view软件三维重建,观察各种血管形态。

1.2.8 给药以观测药物对微血管的影响 从颈总动脉插管注射给药。给药种类及用药剂量见1.2.1家兔分组。

1.2.9 数据的统计处理 所得数据全部建立数据库,用SAS软件进行处理,用荧光辉度曲线监测血

液缘流厚度的变化,用四分位法描图观测血管的舒缩运动,用 Q 检验观测血液缘流厚度的变化。

## 2 结果

### 2.1 童尸大脑皮层微血管构筑和内皮形态

在童尸大脑皮层内发现 4 种微血管(图 1, Figure

1): 皮质浅动脉、中动脉、深动脉和皮质髓质动脉。这些微血管内皮形态粗糙,外观象柳树皮(图 2A, Figure 2A) 或松树皮(图 2B, Figure 2B) 样。还发现随着血管内径变细,内皮形态从粗糙变光滑(图 3, Figure 3)。软脑膜血管内皮是光滑的,但当血管进入到皮质内时内皮变粗糙了(图 4, Figure 4)。

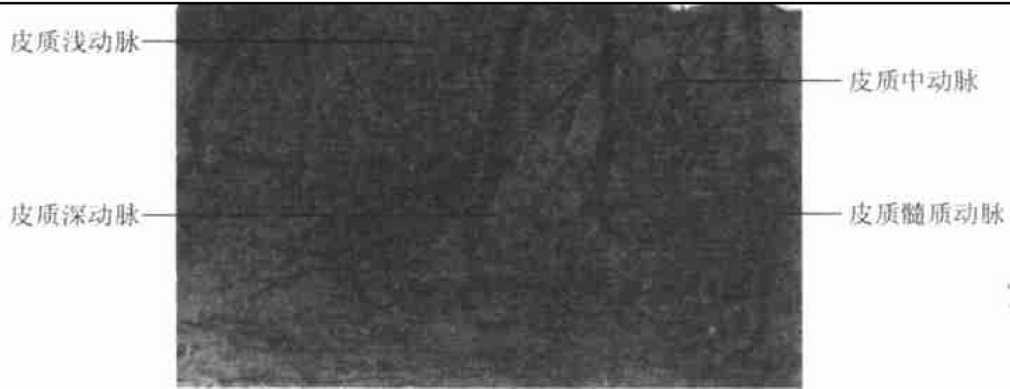


图 1. 大脑皮层微血管构筑(HE 染色, × 10)

Figure 1. The Microvasculature of cerebral cortex

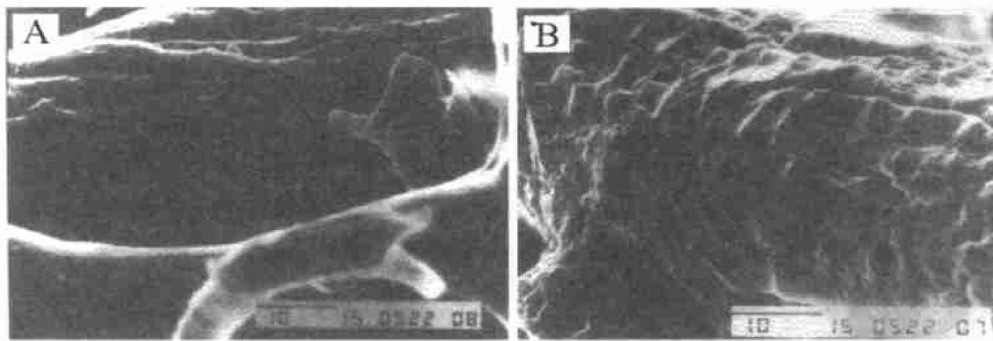


图 2. 皮质深部动脉血管内皮形态 A 象柳树皮样, B 象松树皮样。

Figure 2. The shape of endothelium of deep cortical artery

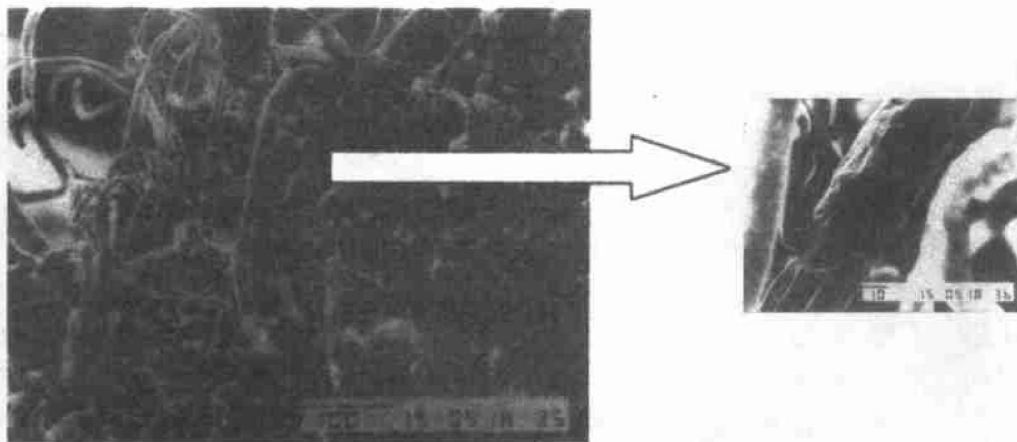


图 3. 皮质血管内皮形态与血管内径的变化

Figure 3. Change of the endothelium shape and the internal diameter of blood vessels within cerebral cortex

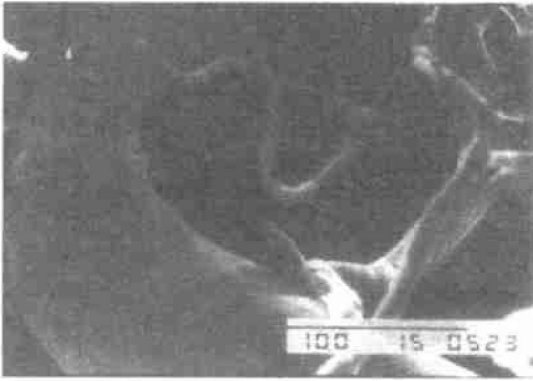


图 4. 软脑膜动脉的内皮形态  
Figure 4. The shape of endothelium of pia mater encephala

2.2 家兔大脑皮层微循环血液轴流和缘流的荧光灰度

用共聚焦激光扫描显微镜(MRC600)在家兔大脑皮层上观察了微血管内的血液轴流和缘流的荧光灰度,并描绘出血液轴流和缘流的荧光灰度曲线(图5, Figure 5)以分析血液流态。从图中可见曲线象梯形,梯形的平台区是血液轴流的荧光灰度曲线,而梯形的斜边曲线是血液缘流的荧光灰度曲线。这是因为血液缘流的流速从血管壁到轴流区之间是逐渐增加的并形成了梯形的斜边。

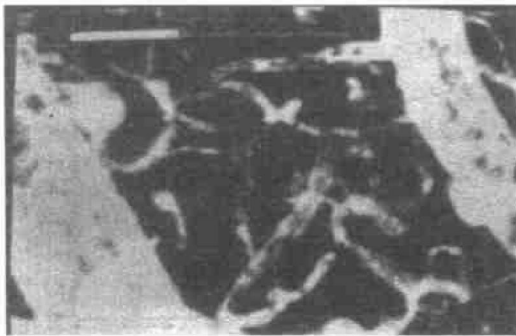


图 5. 家兔大脑皮层血液轴流和缘流的荧光灰度曲线  
Figure 5. The curve of gray scale display of axial and edge flowing blood in cerebral cortex of rabbit

2.3 药物对家兔大脑皮层微循环的影响

2.3.1 血压正常状态下的影响 在血压正常状态下,给予川芎嗪和 NA 以引起皮质内口径为 121.56 μm 和 60.00 μm 的血管运动时,观察到血液缘流照常存在,厚度不变(表 1, Table 1)。

2.3.2 休克状态下的影响 在休克状态下,给予川芎嗪和 NA 以引起皮质内口径为 60.15 μm 和 48.84 μm 的血管运动时,观察到血液缘流照常存在,厚度没有减小(表 2, Table 2)。

表 1. 生理状态下大脑皮层内动脉血管运动时血液缘流厚度的变化( $\bar{x} \pm s$ )

**Table 1. Change of edge-flowing blood thickness during**

分 组	口径为 121.56 μm 的血管		口径为 60.00 μm 的血管	
	n	血液缘流厚度值 (μm)	n	血液缘流厚度值 (μm)
对照组	29	16.26 ± 4.02	18	11.44 ± 4.86
NA1 组	28	19.75 ± 5.72	19	13.58 ± 5.00
NA2 组	30	19.56 ± 6.52	14	11.29 ± 2.90
川芎嗪 1 组	29	17.05 ± 3.70	18	10.86 ± 4.49
川芎嗪 2 组	29	18.42 ± 3.70	19	14.69 ± 5.41

Q 检验, P > 0.05

表 2. 休克状态下大脑皮层内动脉血管运动时血液缘流厚度的变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

**Table 2. Change of edge-flowing blood thickness during**

分 组	口径为 60.15 μm 的血管		口径为 48.84 μm 的血管	
	n	血液缘流厚度值 (μm)	n	血液缘流厚度值 (μm)
对照组	17	10.47 ± 4.54	18	7.03 ± 2.05
NA1 组	20	9.58 ± 2.64	19	6.29 ± 2.42
NA2 组	18	9.68 ± 2.78	10	10.46 ± 3.64
川芎嗪 1 组	19	9.98 ± 2.53	20	7.98 ± 2.99
川芎嗪 2 组	19	9.89 ± 3.49	10	7.82 ± 3.10

Q 检验 P > 0.05; P < 0.01

3 讨论

按照常识,我们知道大脑皮层内的微血管内皮形态应该是光滑的,但事实上,我们的研究提供了相反的证据。作者发现儿童的大脑皮层内的微血管内皮形态是粗糙不平的,其形态象“松树皮样”和“柳树皮样”。但是为什么并不是所有的老年人和儿童都得脑血管疾病呢?是有什么重要的结构在脑血管疾病发病过程中扮演了重要角色吗?作者提出血液缘流保护性屏障假说,该假说认为:在大脑皮层内血管内存在着一个血液缘流形成的保护性屏障<sup>[1,2]</sup>,该屏障能够覆盖大脑皮层内微血管粗糙的内皮并保护内皮不受损害,脑血管疾病就不会发生。怎样为这一假说提供存在的证据呢?作者用共聚焦激光扫描显微镜(MRC600)在开放颅窗的家兔动物模型上活体观察了大脑皮层内微血管内的血液轴流和缘流的荧光灰度,并描绘出血液轴流和缘流的荧光灰度曲线以分析血液流态,同时我们在活体的正常和休克状态下的家兔动物模型给予川芎嗪、去甲基肾上腺素以引起大脑皮层内血管运动<sup>[3]</sup>。作者认为如果在大脑皮层内血管内存在着一个血液缘流形成的保护性

屏障,那么给予川芎嗪、去甲基肾上腺素引起大脑皮层内血管运动(收缩和舒张)时,血液缘流的厚度应该不会减少,本研究结果证实了这一点。

“血液缘流保护性屏障”假说的建立<sup>[1,2]</sup>:传统的理论都认为血管内皮是光滑的,而脑血管疾病的发病机理也是基于此种理论之上建立起来的。本文观察到的大脑皮层内血管,除皮层浅动脉和毛细血管外,内皮都不光滑。尤其是大脑皮层深动脉、皮层髓质动脉内皮形态凸凹不平如“树皮”样。作者认为这是脑血管疾病产生的形态学基础之一,如阑尾的存在,是产生阑尾炎的形态学基础;那为什么并不是所有的人都产生脑血管疾病呢?是不是所有的人都有产生脑血管疾病的可能呢?回答是肯定的:所有的人生来就可能产生脑血管疾病,但并不是所有的人都会发生脑血管疾病。究其原因,就是在正常人体内血管内存在着“血液缘流保护性屏障”。在正常情况下,血液在血管内呈“层流”状态。由于血液和血管壁发生摩擦,越靠近血管壁的血液流速越慢,与血管壁紧贴的一层血液流速为0,在血流轴心处的血流速度最快,这种方式在生理学中称之为层流状态<sup>[8]</sup>。生理学中称轴心处的血流为轴流。为了描述方便,笔者将靠近血管壁的处的血流称为缘流。在共聚焦激光断层扫描显微镜下,静脉内给予荧光素后,血浆和红细胞可以被同时看到。在口径变化的血管内连续对血液轴流和缘流的荧光灰度用图象分析系统采取,并绘出荧光灰度曲线。发现血液轴流和缘流的荧光灰度曲线象梯形,梯形的平台区是血液轴流的荧光灰度曲线,而梯形的斜边曲线是血液缘流的荧光灰度曲线。这是因为血液缘流的流速从血管壁到轴流区之间是逐渐增加的并形成了梯形的斜边,而血液的轴流和缘流之间因为血液流速的巨大差异,造成在较大口径的血管内轴流和缘流之间有明显的分界线,形成梯形曲线的上边和斜边的关系。因为血液轴流的流速快,缘流的流速慢,缘流在血管内皮表面形成一层保护性屏障,把凸凹不平的血管内皮掩盖起来,使血管内皮不受损害,也使血管内皮表面形成了一种“生理性光滑状态”维持血液流动的生理状态,我们称之为“血液缘流保护性屏障”,

一旦血液自身的血液流变性质改变(血液粘滞度加大,成分改变)将会引起血液循环障碍,其中尤其以血液粘滞度最为重要<sup>[9]</sup>导致层流状态破坏,血液缘流保护性屏障消失,凸凹不平的血管内皮暴露出来,致使血流产生湍流或涡流,使血管壁所受的切应力加大,内皮易受损伤,血管壁易硬化,最终导致脑血栓或脑出血。

血液缘流屏障的保护作用:血液缘流厚度在生理状态下由去甲肾上腺素、川芎嗪引发的血管运动时血液缘流的厚度无明显变化,在休克状态下在血管被引发舒缩运动时,血液缘流厚度未见明显变化甚或增加,这一方面可说明在生理状态下血管运动时,血液缘流厚度保持不变,在休克状态下,这两种传统的抗休克药物是通过引发血管运动并保持血液缘流厚度不变或增厚的机制来完成抗休克作用的,这说明了血液缘流保护性屏障作用在抗休克过程中的重要性。

综上所述,作者认为在大脑皮层内血管内存在着一个血液缘流形成的保护性屏障,该屏障能够覆盖大脑皮层内微血管粗糙的内皮并保护内皮不受损害,只要血液流变学性质没有改变,脑血管疾病就不会发生。

#### [参考文献]

- [1] 庄明华,姜树学. 儿童颞叶大脑皮层微血管内皮形态的扫描电镜观察. 中国医科大学学报, 1993, 22 (1): 5
- [2] 庄明华,姜树学,李吉. 儿童大脑皮层血管筑型的扫描电镜观察. 解剖学杂志, 1996, 19 (3): 243-246
- [3] 庄明华,黄集前,姜树学,常立功,杨国端,宋今丹. 脑血管内皮形态与血液缘流保护性屏障. 微循环学杂志, 1996, 6 (1): 10-12
- [4] 庄明华,姜树学. 儿童颞叶皮层扫描电镜观察. 中国医科大学学报, 1991, 20 (4): 245
- [5] 庄明华,姜树学,庄玉斌. 儿童颞叶大脑皮层微血管构筑及形态计量学研究. 中国医科大学学报, 1994, 23 (2): 93-95
- [6] Dimagl U, Villringer A, Einhaupl KM. In vivo confocal scanning Laser microscopy of the cerebral microcirculation. *J Microscopy*, 1992, 165 (Pt1): 147-157
- [7] Sadoshima S, Thames M, Heistad D. Cerebral blood flow during elevation of intracranial pressure: role of sympathetic nerves. *Am J Physiol*, 1981, 241: H78-84
- [8] 吴再彬. 血流动力学. 见:吴再彬(主编). 西宁:青海人民出版社, 1981; 234
- [9] 翁维良,廖福龙,吴云鹏,等. 血液流变学研究方法及其应用. 北京:科学出版社, 1989; 2

(此文编辑 胡必利)