

- therapeutic aspects in management of pediatric moyamoya disease. *NipponRinsho* ,2010 ,68 (1) :45-52.
- [31] Goda M ,Isono M ,Ishii K , et al. Long-term effects of indirect bypass surgery on collateral vessel formation in pediatric moyamoya disease. *J Neurosurg Spine* ,2004 ,100 (2 Suppl Pediatrics) :156-162.
- [32] Kim CY ,Wang KC ,Kim SK ,et al. Encephaloduroarteriosynangiosis with bifrontal encephalogaleo (periosteal) synangiosis in the pediatric moyamoya disease : the surgical technique and its outcomes. *Childs Nerv Syst* ,2003 ,19 (5-6) :316-324.
- [33] 宋国红,卜凡儒,王登芹,等. 综合术式治疗成年烟雾病的临床作用. *中华神经外科疾病研究杂志* ,2012 ,11 (3) :204-207.
- [34] Kuroda S ,Houkin K ,et al. Determinants of intellectual outcome after surgical revascularization in pediatric moyamoya disease : a multivariate analysis. *Childs Nerv Syst* ,2004 ,20 (5) :302-308.
- [35] Suzuki J ,Takaku A. Cerebrovascular “ moyamoya ” disease : disease showing abnormal net-like vessels in base of brain. *Arch Neurol* ,1969 ,20 (3) :288-299.
- [36] Wu Z , Jiang H , Zhang L , et al. Molecular analysis of RNF213 gene for moyamoya disease in the Chinese Han population. *PLoS One* ,2012 ,7 (10) :e48179.
- [37] 于嵩林,王成伟. 烟雾病的治疗进展. *国际神经病学神经外科学杂志* ,2010 ,37 (1) :42-45.

胆红素氧化代谢产物在蛛网膜下腔出血后脑血管痉挛的研究进展

张思彬 宋玉文 综述 刘晓谦 审校

哈尔滨医科大学附属第四医院神经外科 黑龙江 哈尔滨 150001

摘 要: 脑血管痉挛 (cerebral vasospasm ,CVS) 是蛛网膜下腔出血 (subarachnoid hemorrhage ,SAH) 后最危险的并发症,是患者致死和致残的重要原因。近年来越来越多的研究表明胆红素氧化代谢产物 (bilirubin oxidation products ,BOXes) 在 CVS 病理生理变化过程中发挥着重要作用,其机制主要为,改变细胞内环境;影响血管平滑肌活性;抑制离子通道来使血管发生变性,导致痉挛。本文就胆红素氧化代谢产物在脑血管痉挛发生中的作用机制的研究进展进行综述。

关键词: 胆红素氧化代谢产物;蛛网膜下腔出血;脑血管痉挛

SAH 是出血性脑血管病的一个类型,分原发性和继发性两种。脑实质或脑室出血、外伤性硬膜下或硬膜外出血流入蛛网膜下腔为继发性 SAH。原发性蛛网膜下腔出血是由于脑表面和脑底的血管破裂出血,血液直接流入蛛网膜下腔所致。又称自发性 SAH。原发性蛛网膜下腔出血最常见的病因是先天性颅内动脉瘤和血管畸形,其次为高血压脑动脉粥样硬化、血液病、颅底异常血管网症。CVS 的发生率高达 30% ~ 90% ,是导致 SAH 预后不良的主要原因,SAH 患者中 30% ~ 70% 血管造影提示颅内动脉收缩,动脉供应区域的脑血流量减少,出现迟发性缺血性神经功能障碍 (delayed ischemic neurologic deficits ,DIND) ,甚至脑梗死^[1]。越来越多的研究表明 BOXes 在 CVS 病理变化过程中

发挥着重要作用。大量的资料已证实其参与并导致 CVS 的发病机制^[2]。本文将对 BOXes 在 CVS 中的作用进行综述。

1 胆红素氧化代谢产物 (BOXes)

1.1 BOXes 的生成

当患者出现 SAH 后,血液直接流入蛛网膜下腔,而后产生无菌性脑膜炎,导致红细胞溶解,释放血红蛋白,使血管周围积聚大量的巨噬细胞和小胶质细胞,同时血红蛋白被氧化分解为亚铁血红素及铁离子,大部分亚铁血红素被转移到附近的巨噬细胞、小胶质细胞及血管平滑肌细胞中,诱导血红素加氧酶 (HO) 基因转录表达,生成 HO,亚铁血红素在 HO、NADPH 及 H⁺ 离子的共同作用下首先生成胆绿素、铁离子及一氧化碳,其中一氧化碳具有血

收稿日期:2014-06-16;修回日期:2014-08-18

作者简介:张思彬(1984-)男,在读硕士研究生,研究方向:脑血管痉挛的基础与临床研究。

通讯作者:刘晓谦,研究方向:脑血管疾病的临床诊治与基础研究。

管收缩活性,而铁离子在氧化应激反应下参与形成对机体有害的自由基,例如超氧阴离子(O_2^-)、羟基自由基(OH^-),而后胆绿素在胆绿素还原酶及 NADPH 和 H^+ 离子共同作用下生成胆红素最后一部分胆绿素及全部胆红素在自由基的氧化下生成 BOXes,BOXes 扩散到血管平滑肌细胞导致血管痉挛,同时也破坏平滑肌细胞的收缩机制使血管病变^[3]。

1.2 BOXes 的结构和分布

细胞内产生的胆红素,在 O_2^- 、 OH^- 等起氧化作用的自由基的作用下,对胆红素化学结构中环装结构进行氧化,产生不同的氧化代谢产物:4-甲基-5-氧-3-乙炔基乙酰胺 (BOX A)、3-甲基-5-氧-4-乙炔基乙酰胺 (BOX B),二者是在胆红素分子两端裂解的派生产物,是胆红素分子中中间连个吡咯环与酰胺残基的裂解,这也是 BOXes 在化学结构上的两种甲基乙炔基的位置上的化学异构体。目前为止,两种代谢产物在同等摩尔质量的前提下,二者的生物活性并无显著差异。在体外用高性能色谱分析 SAH 患者的脑脊液时,可发现胆红素或胆绿素的氧化产物主要分为三个孤立的峰值,其中的一个峰值显示为 4 甲基 3 乙炔基马来酰亚胺 (MVM),另外两个峰值显示为 BOX A、BOX B,实验证实 BOX A、BOX B 在体内体外均有活性,均能作用于血管平滑肌导致血管痉挛^[4]。

2 BOXes 导致 CVS 的作用机制

体外模拟试验和体内试验证实 BOXes 均具有收缩血管的作用。脑脊液中 BOXes 的浓度与临床上 SAH 后脑血管痉挛的发生率有关。最新的研究资料显示 BOXes 生成后,有脑血管痉挛增强剂的作用,且作用强于引起脑血管痉挛的起始因素^[5]。

2.1 BOXes 使线粒体功能变性及改变细胞组织环境导致 CVS

SAH 后会使得大脑血管浸泡在充满了 BOXes 的脑脊液中,使血管壁和平滑肌变性,消耗大量 ATP 并使线粒体发生解耦联功能障碍,使细胞组织缺氧。同时 BOXes 产生的收缩蛋白与 α -平滑肌肌动蛋白染色形态学重组,血管平滑肌有收缩组织,通常是梭形平行细丝弥补其细胞结构,主要由肌动蛋白和 α -平滑肌肌动蛋白构成。通常情况下, α -平滑肌肌动蛋白在一定程度上是平行排列的,当血管平滑肌细胞暴露于 BOXes 时,会使 α -平滑肌肌动蛋白发生重组变性。这种不正常的细胞结构将抑

制细胞的收缩,会损害血管功能^[6]。数据表明,BOXes 可使肌动蛋白的结构改变,增加乳酸脱氢酶的释放和激活 ATP 酶如肌球蛋白 ATP 酶刺激呼吸,增加氧的消耗,是细胞无氧酵解,产生大量乳酸在体内,导致血管周围的脑脊液环境发生变化,可引起脑组织的无菌性炎症反应及坏死,这些都会导致血管痉挛、管腔狭窄^[7]。

2.2 BOXes 激活蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 及 Rho 导致 CVS

PKC 是一种 Ca^{2+} 激活的磷脂依赖性蛋白激酶。在动脉平滑肌 PKC 为 Ca^{2+} 收缩装置的增敏剂。单纯的 PKC 激活不引起动脉血管的收缩,但它可以加强现有的收缩信号,有信息放大的功能,导致动脉血管收缩。Rho 激酶即 Ras homologue, Ras 同源物, Ras 为一种分子量为 20—30KD 的小分子鸟苷酸结合蛋白, Rho 激酶属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是 Rho 的下游靶效应分子,在人体内广泛表达。可介导的肌球蛋白轻链的磷酸酶抑制作用而导致血管平滑的持续收缩。

当发生 SAH 时,BOXes 的产生导致组织缺血缺氧,细胞膜变性及细胞膜的通透性变大,对 PKC 及 Rho 有启动激活作用,并促进其转位,转移到细胞膜内,并造成血管内皮舒张因子 NO-CGMP 系统与 PKC 及 Rho 系统的动态平衡被破坏。PKC 的激活能使细胞外大量 Ca^{2+} 内流,激活钙调蛋白结合,并导致收缩蛋白如 Calponin 和 Caldesmon 磷酸化,使血管平滑肌分子间形成弓式横桥 (Latch Crossbridge) 产生持续的病理状态的痉挛、收缩^[8]。

同时 PKC 也作用于 Rho 途径,二者有协同作用,当 Rho 激活后产生 Rho 激酶,后者可直接磷酸化肌球蛋白轻链 (MLC),MLC 同时激活内在肌球蛋白 ATP 酶的活性,产生平滑肌收缩效应,同时还能抑制肌球蛋白轻链脱磷酸化酶 (MLCP),使其不能产生血管平滑肌舒张信号,无法使 MLC 脱磷酸化而松弛,这种双重作用,必然造成负责血供的中、小动脉血管发生持续痉挛、狭窄及更严重的后果^[9-10]。同时 Rho 激酶的激活还需要通过血栓素 2 (TXA2) 及血管内膜的 TXA2 受体来激活,实验证明当 SAH 时脑脊液中 BOXes 的含量与 TXA2 的含量呈正相关,BOXes 促进 TXA2 的产生,因此 BOXes 增加 TXA2 来激活 Rho 导致 CVS^[11]。

2.3 BOXes 抑制钾离子通道导致 CVS

血管平滑肌张力的适当调节与大电导 Ca^{2+} 和

电压依赖性 K^+ Slo1 通道有关 (slo1 BK 通道)。大电导 Ca^{2+} 激活钾离子通道的 BK 通道,促进血管的舒张。当 SAH 发生后,大量的 BOXes 将改变离子传导通道的构象,并改变 slo1 BK 通道的电生理和分子生物学特征,显著减少通道的开放率。并且氨基酸的化学修饰和分子变构的结果一起表明,在连接跨膜离子渗透领域的大电导钙激活钾通道的羧基的胞质域的结构元件的两个特定的赖氨酸残基在识别 BOXes 的灵敏度是至关重要的。最终导致 K^+ 通道受到抑制,后 K^+ 外流减少,膜电位减低,导致细胞膜去极化及血管收缩,并使电压依赖型钙通道开放,钙离子内流增加,细胞内超载可引起脑血管痉挛。因此,BOXes 对 Slo1 BK 通道的抑制减少开放率将促进 SAH 后的 CVS 的产生^[12-13]。

3 针对 BOXes 引起 CVS 的治疗进展

由于 CVS 是机体多种因素参与的复杂的病理生理过程,虽然对许多方案进行了大量的研究,但迄今为止 SAH 后 CVS 及痉挛后导致的脑组织损伤仍无有效的防治方法。目前针对 BOXes 的方法有针对 BOXes 下游通路的方案,以及减少 BOXes 的生成;平滑肌收缩信号的抑制等。预防 CVS 的关键在于早期处理。

3.1 针对 BOXes 的治疗

针对胆红素氧化产物在 SAH 后脑血管痉挛中作用的治疗,包括了防止胆红素的生成,促使胆红素的失活。BOXes 生成的限速酶是血红素加氧酶,通过血红素加氧酶抑制剂可以降低前胆红素水平与降低胆红素氧化终产物的浓度,在 CVS 出现前预防胆红素的生成,灭活胆红素,起到预防 CVS 的发生。虽然血红素加氧酶抑制剂可能会减少胆红素及 BOXes 的形成,但这尚未被证实。替拉扎特等自由基清除剂对 SAH 无效,但一些特异的新型抗氧化剂可能会减轻 CVS 中 BOXes 的作用^[5]。

当发生 SAH 后 BOXes 导致钾离子通道受到抑制,导致细胞膜去极化及血管收缩^[14]。研究表明,给予钾离子通道兴奋剂色满卡琳 (cromakalim) 能促进血管舒张缓解 CVS^[15]。虽然目前这些治疗方法尚在实验和研究阶段,但对 CVS 的治疗领域中找到新的突破。

3.2 早期清除蛛网膜下腔血凝块

对于动脉瘤破裂患者,脑血管周围持续存在血凝块是 BOXes 生成的重要启动原因,也是迟发性 CVS 的根本原因,因此尽快清除蛛网膜下腔血凝块

是防止 CVS 的重要措施。对于采取手术夹闭动脉瘤的患者,在手术夹闭破裂动脉瘤后,可用吸引器尽可能吸除脑池内血凝块,用罂粟碱冲洗,尽量减少红细胞溶解所产生的 BOXes。

3.3 脑脊液引流

SAH 后,出血可随脑脊液弥散至整个蛛网膜下腔,对此,可考虑行脑脊液引流。脑脊液引流可清除蛛网膜下腔的血性脑脊液及已生成的自由基,并通过预防脑积水和降低颅内压,同时可减少 BOXes 的生成。常用的脑脊液引流方法有:① 反复腰穿抽取血性脑脊液,此方法应严格掌握适应证,警惕反复刺激导致的动脉瘤再次破裂出血;② 脑池或脑室内持续引流;③ 腰穿置管持续引流;④ 枕大池置管持续引流。

3.4 平滑肌收缩信号传导的治疗

BOXes 导致 CVS 的机制之一就是通过激活、增强血管平滑肌收缩信号引起血管收缩。钙通道阻滞剂可通过抑制平滑肌收缩信号的传导来预防 CVS。其作用机制是部分阻断 Ca^{2+} 内流,避免 Ca^{2+} 超载导致的脑血管平滑肌收缩,减轻脑缺血后的神经症状。目前,常用且效果较好的药物为尼莫地平,能改善所有级别 SAH 伴发 CVS 患者的预后^[16]。法舒地尔是治疗 CVS 的另一种强效血管扩张药。它能双重抑制磷酸化,可同时作用于几个诱发脑血管痉挛的蛋白激酶的关键单位,包括:① 肌浆球蛋白氢链激酶:为引起血管平滑肌收缩的最后的共同通路;② 蛋白激酶 C:通过磷酸化使血管平滑肌收缩,同时使自由基增多;③ Rho 激酶:抑制肌浆球蛋白磷酸激酶激活肌浆蛋白氢链的去磷酸化过程,抑制钙敏化效应,介导血管平滑肌舒张,可以拮抗多种物质诱导的血管收缩,有效扩张血管;④ 抑制炎症细胞的迁徙和浸润,减少炎症递质的产生,减轻炎症反应。

另外,法舒地尔通过拮抗 Rho 激酶和其他蛋白激酶,可以减少炎症递质的产生,从而减轻炎症反应,发挥组织保护作用。盐酸法舒地尔可以通过抑制 Rho 激酶系统而达到解除血管痉挛的目的,并且还能在无钙离子的情况下,抑制肾上腺素能受体激活产生的血管痉挛。有研究表明,急症蛛网膜下腔出血经 CT、DSA 确诊有动脉瘤,根据病情行手术夹闭或介入治疗后,静脉滴注法舒地尔 30 mg,能明显减少蛛网膜下腔出血迟发性脑血管痉挛的症状^[17-19]。

4 展望

对于 SAH 患者, CVS 的治疗仍是一个难题, 其发病机制复杂且可能为多因素综合作用结果。近些年来由 BOXes 导致的 CVS 越来越被重视, 其核心的发病机制为增加细胞氧的消耗, 改变内环境, 无菌性炎症反应; 激活 PKC 及 Rho 的活性导致血管收缩; 通过抑制钾离子通道使其失活导致 CVS 的发生; 而且这些可能的发病机制可能相互影响、相互联系。但目前的治疗方案中仍没有有效治疗 CVS 的方法, 随着研究的深入, 对 BOXes 引起 CVS 的发生机制会有更清晰的认识。

参 考 文 献

- [1] 张翔圣, 张鑫审. 蛛网膜下腔出血后脑血管痉挛内皮细胞功能障碍研究进展. 医学研究生学报, 2012, 25 (9): 989-992.
- [2] 赵旭东, 史继新. 蛛网膜下腔出血后脑血管痉挛发病机制及治疗的研究进展. 医学研究生学报, 2010, 23 (2): 218-222.
- [3] Clark J, Sharp F. Bilirubin oxidation products (BOXes) and their role in cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. J Cereb Blood Flow Metabol, 2006, 26 (10): 1223-1233.
- [4] Wurster WL, Pyne-Geithman GJ, Peat IR, et al. Bilirubin oxidation products (BOXes): synthesis, stability and chemical characteristics. Acta Neurochir Suppl, 2008, 104:43-50.
- [5] 范议方, 韩如泉. 蛛网膜下腔出血后脑血管痉挛的研究进展. 国际麻醉学与复苏学杂志, 2010, 31 (4): 338-342.
- [6] Lyons MA, Shukla R, Zhang K, et al. Increase of metabolic activity and disruption of normal contractile protein distribution by bilirubin oxidation products in vascular smooth-muscle cells. J Neurosurg, 2004, 100 (3): 505-511.
- [7] Frykholm P, Andersson JL, Langstrom B, et al. Haemodynamic and metabolic disturbances in the acute stage of subarachnoid haemorrhage demonstrated by PET. Acta Neurol Scand, 2004, 109 (1): 25-32.
- [8] Pyne-Geithman GJ, Nair SG, Caudell DN, et al. PKC and Rho in vascular smooth muscle: Activation by BOXes and SAH CSF. Front Biosci, 2008, 13: 1526-1534.
- [9] Massett MP, Ungvari Z, Csiszar A, et al. Different roles of PKC and MAP kinases in arteriolar constrictions to pressure and agonists. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2002, 283 (6): 2282-2287.
- [10] 梁鹏, 潘亚文. 脑血管痉挛发生机制研究进展. 国际神经病学神经外科学杂志, 2008, 35 (2): 175-178.
- [11] Ito K, Shimomura E, Iwanaga T, et al. Essential role of Rho kinase in the Ca^{2+} sensitization of prostaglandin $f2\alpha$ -induced contraction of rabbit aortae. J Physiol, 2003, 546 (3): 823-836.
- [12] Hou S, Xu R, Clark JF, et al. Bilirubin oxidation end products directly alter K^+ channels important in the regulation of vascular tone. J Cereb Blood Flow Metab, 2011, 31 (1): 102-112.
- [13] Horrigan FT, Heinemann SH, Hoshi T. Heme regulates allosteric activation of the Slo1 BK channel. J Gen Physiol, 2005, 126 (1): 7-21.
- [14] Provencio JJ, Vora N. Subarachnoid hemorrhage and inflammation: bench to bedside and back. Semin Neurol, 2005, 25 (4): 435-444.
- [15] Kwan AL, Lin CL, Wu CS, et al. Delayed administration of the K^+ channel activator cromakalim attenuates cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage. Acta Neurochir (Wien), 2000, 142 (2): 193-197.
- [16] 罗伟坚, 陈东. 蛛网膜下腔出血脑血管痉挛机制与治疗. 实用药物与临床, 2012, 15 (5): 307-309.
- [17] 刘安民, 毕桂南. 蛛网膜下腔出血后脑血管痉挛的机制和防治. 国际脑血管病杂志, 2012, 20 (1): 69-73.
- [18] 张雪琼, 张永鹤. Rho 激酶与疼痛及其抑制剂的临床应用. 中国药理学通报, 2014, 30 (4): 448-451.
- [19] 刘国超. 盐酸法舒地尔治疗急性脑梗死的临床疗效观察. 中国医学创新, 2010, 7 (32): 51-52.