

· 综述 ·

损伤脑功能重建的基础研究进展

田 闪¹ 胡永善^{1,2}

自从 1930 年 Bethe 提出脑具有可塑性^[1],即中枢神经的结构和功能具有随着内外环境变化而不断修饰和重组的能力^[2],脑功能重建逐渐成为神经损伤康复研究的热点。脑的可塑性不仅体现在神经元自身修复及神经网络的重组上,更是微环境相关细胞、分子,甚至基因调节的综合结果。

1 康复技术促进神经元的可塑性

1.1 结构可塑性

1.1.1 神经发芽:2008 年,Saijilafu 等^[3]首次体内实验证明物理牵引有利于损伤神经的再生性发芽。他们将大鼠坐骨神经切除 10mm 后,其断端近侧外接牵引装置并在其上位 1mm 处与远侧重新缝合,牵引装置每天给予 1mm 的外向牵拉,20d 后与对侧正常坐骨神经相比,损伤处无神经瘤形成,有大量轴突再生。树突和短轴突常以再生性发芽、旁侧发芽、突触性发芽、终端发芽等形式再生^[4],c-fos、c-jun 等即刻早期基因触发神经元合成并加速微管相关蛋白 2、细胞周期蛋白 D1、突触囊泡蛋白等神经特异性蛋白的轴浆转运,源源不断地为神经发芽提供物质支持。较长轴突难以再生不仅在于胶质增生性瘢痕的机械阻碍,也可能在于神经失去对这些营养信号的敏感性。

1.1.2 突触结构重塑:刘罡等^[5]将经过和未经过 4 周跑台运动后的大脑中动脉闭塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO)大鼠断头取脑,用投射电镜观察发现运动组大鼠脑切片不仅胞膜完整,细胞核、线粒体等细胞器丰富,更为明显的是突触数量增加而且前后膜面积增大、致密物聚集、囊泡突触素表达增加、间隙保持正常;而对照组突触及囊泡数量均减少。因此,运动训练可能通过促进突触结构重塑而增加细胞活性。

1.1.3 神经元凋亡抑制:一般认为急性期神经元死亡以损伤中心区坏死为主,是线粒体功能障碍三磷酸腺苷(adenosine-triphosphate, ATP)产生停止导致的被动死亡;而后期多表现为周边半暗区的继发性主动凋亡,是氧自由基、钙超载、谷氨酸兴奋毒性、炎性因子等介导的级联反应。李红玲等^[6]将 120 只 SD 大鼠随机平分为 3 组:实验组(诱导尾状核出血后运动训练)、对照组(诱导出血不训练)和假手术组(无出血不训练)。在

运动训练 24h 后用 TUNEL 法检测周边半暗区凋亡细胞数,实验组与对照组无区别,均显著高于假手术组。而在之后 1 周、2 周、3 周、4 周时检测发现实验组凋亡明显低于对照组,这与部分学者推测运动对神经元的保护作用可能主要发生在后期凋亡阶段相一致。

1.1.4 神经干细胞 (neural stem cell, NSC) 再生:1992 年 Reynolds 和 Weiss 在成年脑纹状体内分离出能够自我更新分化的 NSC,否定了成体神经元不可再生的观念。损伤等刺激因素可以使 NSC 增生并向损伤部位迁移,选择性地分化为神经元或各种胶质细胞。Yang 等^[7]通过免疫荧光证实幼鼠缺血损伤的纹状体区钙结合蛋白阳性(CR⁺)的中间神经元是由附近脑室下区的神经干细胞增殖迁移而来,而且具有分化全能性。贾杰等^[8]将培养的 NSC 移植到 MCAO 大鼠的纹状体区,免疫荧光追踪观察发现移植后运动训练组大鼠其 NSC 存活、迁移分化情况、神经行为学改善程度均优于无运动训练组大鼠,但是运动是通过何种机制干预 NSC 的功能仍有待研究。

1.2 功能可塑性

1.2.1 兴奋性突触功能调节:突触是神经可塑性最敏感的部位,主要体现在突触保持长时间兴奋或抑制状态的长时程增强 (long-term potentiation, LTP) 和长时程压抑 (long-term depression, LTD),以及失去传入神经后突触后膜对特定神经递质反应敏感性增强的失神经过敏 (denervated supersensitivity, DS)^[9]。不同脑区由不同的神经递质和受体介导这一过程并具有不同的机制。

LTP 认为是学习记忆^[10]和药物成瘾^[11]等经验依赖性神经活动模式维持的基础,主要由谷氨酸/ N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDAR)介导。Gruart 等^[10]在声音引起小鼠瞬膜条件反射实验中,经多次训练声音引起小鼠眨眼的同时,海马区同步记录了突触后场电位的增强,LTP 可能是反复再学习强化疗法的主要机制。

Xu 等^[12]对急性分离的大鼠海马脑片进行电生理研究发现发育早期 γ -氨基丁酸(γ -Aminobutyric Acid, GABA)能突触可塑性不仅与递质和受体有关也是频率依赖性的:高频率神经元活动引起 LTP,而低频活动则引起 LTD,并且 GABA 受体在 LTP 中起着门控作用,能调制其频率依赖性。

1 复旦大学附属华山医院康复医学科,上海市,200040; 2 通讯作者
作者简介:田闪,女,在读硕士生; 收稿日期:2009-06-26

突触可塑性不只存在于神经元之间,2006年,Ge等^[12]首次发现 NG2 胶质细胞(少突胶质前体细胞)与海马神经元之间存在谷氨酸/ α -氨基-羟基甲基吧唑丙酸受体(AMPA)介导的快速突触传递也能产生 LTP,由于胶质细胞的突触较短,研究者认为其可能主要用于信息的局部处理。

1.2.2 沉默性突触变性:神经网络中只有突触结构而没有信息传递功能的沉默突触在一定条件下可以变性为有功能的兴奋性突触。一般认为沉默突触休眠是由于突触后膜只表达 NMDAR 而缺乏 AMPAR,无法感受到激活信号所致。如 Adesnik 等^[13]将培养细胞在突触形成前敲除 NMDAR 基因,结果兴奋性突触数量表达增加。而 Shen 等^[14]运用双膜片钳技术记录两个培养的海马神经元,发现突触沉默是由于突触前神经元不能释放谷氨酸递质所致。Balland 等^[15]认为谷氨酸递质由临近纤维或缓慢动态开放的融合孔损失对突触沉默也有一定作用。

2 康复技术促进神经网络的变通性

2.1 损伤通路恢复

残存功能恢复学说认为,发病早期大脑坏损部位仍有部分神经细胞发放冲动,早期康复介入有助于挽回残存的功能。这可能与康复训练利于减少细胞凋亡,促进 NSC 增殖分化,缩小病灶体积有关。Lee 等^[16]诱导高血糖大鼠纹状体出血并继之跑台训练,分别用 TUNEL 法和 BrdU 法检测细胞的凋亡和增殖水平,尼氏染色法观察病灶体积的大小。结果进行跑台训练 24h 后的实验组大鼠与非运动对照组相比,病灶体积较小,凋亡细胞数量较少,齿状回也检测到明显的 NSC 增殖。

2.2 潜在通路启用

潜在通路是正常情况下由于阈值高而处于休眠状态的通路储备,其激活机制目前主要着眼于沉默突触变性。在上述 Shen 等^[14]的实验中,电场刺激可诱导沉默突触前功能性囊泡增加和成熟、释放谷氨酸递质从而转化为功能性突触,这种转变需要突触前 BDNF/Cdc42 信号的参与。电镜实验进一步直接观察到电活动依赖性活性区囊泡的增加。本实验证明电刺激可能促进沉默突触功能抑制的解除。

2.3 平行通路替代

神经系统中相同或类似功能的通路称平行通路,当其中起主导作用的通路受损后其平行功能的二级通路往往功能增强起部分代偿作用。平行通路替代的基础是胼胝体、古旧皮质、锥体束等处神经纤维双侧支配的形态学特征以及神经网络间广泛的突触联系。

2.3.1 对侧或同侧周边代偿:即病灶周围或后方脑区、对侧对应位置及次级功能代表区激活,是最多见的替代形式。Shin 等^[17]应用肌电触发的神经肌肉电刺激治疗偏瘫患者手

功能障碍时,随着手功能的逐渐改善,功能性 fMRI 同步检测大脑皮质的主要激活区也由同侧转移到对侧。Luft 等^[18]对偏瘫步态异常患者进行 6 个月的平板运动后步态协调性和速度显著改善,功能性 fMRI 检查发现患者中 72%存在小脑后叶激活,而 28%中脑激活。

2.3.2 古旧脑的代偿:哺乳动物脑的最外层为新脑,损伤时可由内层的古旧脑承担部分功能,但动作较粗糙,认为只是对侧或同侧周边代偿的辅助方式。

2.3.3 感觉的替代:最经典的例子是盲人用触觉代替视觉做空间定位,其支配触觉的皮质远大于正常人而视觉区域缩小。

3 脑内微环境的调节

大脑微环境不仅是神经生存的空间,更时刻通过多种细胞、蛋白、基因“串话”,影响神经元和神经网络的功能活动。

3.1 细胞水平

胶质细胞参与神经营养修复、信息调控、免疫调节等过程以及髓鞘、血脑屏障的形成,但脑损伤后形成的胶质瘢痕严重阻碍神经的再生和重塑,Petcu 等^[19]发现老年大鼠脑梗死灶处未成熟小胶质细胞、星形胶质细胞的聚集和少突细胞的持续激活加速了神经元凋亡和胶质瘢痕的形成。

大分子免疫细胞在感染激活或血脑屏障受损时能通过血脑屏障进入脑组织引起炎症损伤,激活胶质细胞,同时释放 IFN- γ 、TNF- α 、IL-1 等直接损伤神经元。但近期 Ziv 等^[20]发现少量免疫细胞利于维持海马齿状回的神经再生能力,免疫功能的上调或下调都会影响神经元的数量。

血管内皮细胞不仅构成血-脑屏障、维持血管内外的物质交换、防止脑水肿、促进多种生长因子的表达^[21],还同时作为血流剪切力的感受器,介导内皮细胞凋亡等信号转导通路的启动,影响内皮细胞的生物学活性^[22]。

胶质细胞、免疫细胞、血管内皮细胞的作用利弊兼有,有待进一步研究。

3.2 蛋白水平

自从 1948 年 Bueker 发现神经生长因子 (nerve growth factor, NGF),直到现在各种神经因子等被认为是神经修复中最重要的调控因子。神经营养因子包括神经营养素家族 (NGF、脑源性神经营养因子 (brain derived neurotrophic factor, BDNF)等)、胶质细胞源性神经营养因子家族、睫状神经营养因子家族、趋化因子、表皮生长因子家族等^[23],可以增强神经细胞生存、分化、生长的能力。目前 NGF 等已经作为常规脑损伤用药,动物实验表明,早期给予神经营养因子可减少梗死区域的大小,而晚期给予不影响梗死区域的大小,却增强功能的恢复^[24]。神经抑制因子 (MAG、OMgp 和 Nogo 家族)抑制轴突过度生长^[25],利于消除错误分支保证轴突生长的

正确性。神经生长导向因子 (ephrins 家族、netrins 家族、semaphorins 家族和 slits 家族) 通过接触吸引和接触排斥、化学吸引和化学排斥四种机制为轴突投射和神经元生长迁移提供导向,保证轴突生长的方向性^[26]。神经细胞黏附分子介导细胞之间的黏附和识别,沟通细胞间的信号联系。

损伤血管内皮细胞的增殖有赖于血管生成素家族(Ang-1、2、3、4) 与血管内皮细胞生长因子 (vascular endothelial cell growth factor, VEGF)激活的 PI3K/AKT、MAPK/ERK 等信号转导通路。Ang-2 可在 VEGF 的协同下,直接作用于血管促进内皮细胞的增殖^[27]。而 Ang-1 则促进血管重塑和成熟,维持管腔的完整和稳定性,减轻渗漏^[28]。

上述蛋白因子在神经功能重建中发挥重要的协同作用,郑庆平等^[29]将 18 只 SD 大鼠随机分成运动组、非运动组、假手术组。运动组经 2 周跑台训练后 Ang-1、2 及受体 Tie-2 的表达显著高于非运动组与假手术组,同时脑梗死体积明显减小,神经行为学评分也较高。Ding 等^[30]发现预运动 3 周的 MCAO 大鼠对比非运动训练组大鼠神经功能缺陷较轻、梗死灶较小与运动促进皮质和纹状体表达 NGF、BDNF 以及微血管增生有关。近年来有学者指出神经网络与血管网络相关蛋白并没有严格的界限,如 Raab 等^[31]发现神经源性营养因子 NGF、BDNF 等的受体也表达于血管内皮细胞影响血管的再生,同样 VEGF 等血管源性生长因子也有神经营养作用。

3.3 基因水平

基因水平研究最多的是细胞的凋亡通道,bcl-2 基因家族、MAPK 家族、Caspase 家族、神经营养因子家族(NTS)、核转录因子 NF- κ B、P53 基因、Ras、c-myc、Fas、热休克蛋白基因等可以通过 PI-3K-Akt 途径、Ras-MAPK 途径以及减少钙超载的 PLC γ -PKC、Ca²⁺/CaM-CaMPK IV 信号途径抑制凋亡,而通过 JAK/STAT 通路、ATM/P53 通路、MAPK/JNK/P38 通路介导细胞凋亡。另外神经干细胞增殖分化以及神经形态和功能调节也受到多种基因的调控,如 NSC 增殖相关的 Rb、neclin 和 E2F 及其相关蛋白家族^[32-33],Olig 基因决定少突胶质细胞的分化^[34],Insc 基因调节干细胞的不对称分裂^[35];MicroRNA 提供基因转录后的调控,可能与神经生成、形态调控和非神经系统的 mRNAs 的沉默有关^[36];脑源性神经生长因子可以诱导基因 VGF 表达增加海马趾神经元的突触活性等^[37]。

4 小结

脑功能重建是一个多因素多影响的综合结果,虽然它的生物学机制及过程尚未完全弄清楚,但这一逐步完善的理论不仅为理解诸多极为复杂的神经康复提供了理论依据,亦为将来的临床治疗提供了可行的途径。

参考文献

[1] Bethe A. Studies on the plasticity of the nervous system. I.

Announcement. Arachnoids and crustaceans [J].Pflugers Archiv Fur Die Gesamte Physiologie Des Menschen Und Der Tiere, 1930,224:793—820.

- [2] 胡永善.新编康复医学[M].上海:复旦大学出版社,2005.40—44.
- [3] Saijilafu,Nishiura Y,Hara Y,et al. Gradual stretching of the proximal nerve stump induces the growth of regenerating sprouts in rats[J]. J Orthop Res,2008,26(7): 1012—1017.
- [4] 刘罡,吴毅,胡永善,等. 跑台训练对脑缺血大鼠脑组织超微结构及突触素表达的影响 [J]. 中国康复医学杂志,2008,23(10): 872—874.
- [5] 李红玲,曹慧芳,田苗,等. 运动训练对大鼠试验性脑出血后血肿周围组织细胞凋亡的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2008,23(2): 103—106.
- [6] Yang ZG,You Y, Levison SW. Neonatal hypoxic/ischemic brain injury induces production of calretinin-expressing interneurons in the striatum[J]. J Comp Neurol,2008,511(1): 19—33.
- [7] 贾杰,胡永善,吴毅,等. 跑台运动训练促进脑梗死大鼠外源性移植的神经干细胞迁移分化的实验研究[J]. 中国康复医学杂志, 2008,23(7):594—597.
- [8] Chen Y.Neuronal synaptic plasticity, learning and memory[J]. Progress in biochemistry and biophysics,2008, 35(6): 610—619.
- [9] Wolf ME,Sun X,Mangiavacchi S,et al. Psychomotor stimulants and neuronal plasticity [J]. Neuropsychopharmacology,2004,47 (suppl 1):61—79.
- [10] Gruart A, Munoz MD, Delgado-Garcia JM. Involvement of the CA3-CA1 synapse in the acquisition of associative learning in behaving mice [J]. J Neurosci,2006,26 (4): 1077—1087.
- [11] Xu C, Zhao MX, Poo MM, et al. GABA(B) receptor activation mediates frequency-dependent plasticity of developing GABAergic synapses[J].Nat Neurosci,2008,11(12): 1410—1418.
- [12] Ge WP,Yang XJ,Zhang ZJ, et al. Long-term potentiation of neuron-glia synapses mediated by Ca²⁺-permeable AMPA receptors[J].Science,2006, 312(5779): 1533—1537.
- [13] Adesnik H, Li GN, During MJ, et al. NMDA receptors inhibit synapse unsilencing during brain development [J].Proc Natl Acad Sci USA,2008,105 (14): 5597—5602.
- [14] Shen WH, Wu B, Zhang ZJ, et al. Activity-induced rapid synaptic maturation mediated by presynaptic cdc42 signaling [J].Neuron,2006,50 (3): 401—414.
- [15] Balland B, Lachamp P, Kessler JP, et al. Silent synapses in developing rat nucleus tractus solitarii have AMPA receptors [J]. J Neurosci,2008,28 (18): 4624—4634.
- [16] Lee HH, Shin MS, Kim YS, et al. Early treadmill exercise decreases intrastriatal hemorrhage-induced neuronal cell death and increases cell proliferation in the dentate gyrus of streptozotocin-induced hyperglycemic rats [J]. J Diabetes Complications,2005,19(6): 339—346.
- [17] Shin HK, Cho SH, Jeon HS, et al. Cortical effect and functional recovery by the electromyography-triggered neuromuscular stimulation in chronic stroke patients [J]. Neurosci Lett,2008,442 (3): 174—179.
- [18] Luft AR, Macko RF, Forrester LW, et al. Treadmill exercise activates subcortical neural networks and improves walking after stroke: a randomized controlled trial [J].Stroke,2008,39 (12): 3341—3350.
- [19] Petcu EB, Sfredel V, Platt D, et al. Cellular and molecular events underlying the dysregulated response of the aged brain to stroke: a mini-review [J].Gerontology,2008,54(1):6—17.
- [20] Ziv Y, Schwartz M. Immune-based regulation of adult neurogenesis: Implications for learning and memory [J]. Brain Behav Immun, 2008, 22 (2):167—176.
- [21] Passerini AG, Milsted A, Rittgers SE. Shear stress magnitude

- and directionality modulate growth factor gene expression in preconditioned vascular endothelial cells [J]. J Vasc Surg, 2003;37(1): 182—190.
- [22] Himburg HA, Friedman MH. Correspondence of low mean shear and high harmonic content in the porcine iliac arteries [J]. J Biomech Eng, 2006;128 (6): 852—856.
- [23] 孙凤艳. 医学神经生物学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2008.210—223.
- [24] Kawamata T, Speliotes EK, Finkelstein SP. The role of polypeptide growth factors in recovery from stroke [J]. Brain Plasticity, 1997;73: 377—382.
- [25] Giger RJ, Venkatesh K, Chivatakarn O, et al. Mechanisms of CNS myelin inhibition: evidence for distinct and neuronal cell type specific receptor systems [J]. Restor Neurol Neurosci, 2008;26 (2—3): 97—115.
- [26] Tanaka DH, Yamauchi K, Murakami F. Guidance mechanisms in neuronal and axonal migration [J]. Brain Nerve, 2008, 60 (4): 405—413.
- [27] Zhu YQ, Lee C, Shen FX, et al. Angiopoietin-2 facilitates vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis in the mature mouse brain [J]. Stroke, 2005;36(7): 1533—1537.
- [28] Valable S, Montaner J, Bellail A, et al. VEGF-induced BBB permeability is associated with an MMP-9 activity increase in cerebral ischemia: both effects decreased by Ang-1 [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2005;25 (11): 1491—1504.
- [29] 郑庆平, 胡永善, 白玉龙, 等. 康复训练对脑缺血损伤大鼠血管生成素的影响 [J]. 中国康复医学杂志, 2007, 22 (3): 193—196.
- [30] Ding Y, Li J, Luan X, et al. Exercise pre-conditioning reduces brain damage in ischemic rats that may be associated with regional angiogenesis and cellular overexpression of neurotrophin [J]. Neuroscience, 2004;124(3): 583—591.
- [31] Raab S, Plate KH. Different networks, common growth factors: shared growth factors and receptors of the vascular and the nervous system [J]. Acta Neuropathol, 2007;113(6): 607—626.
- [32] Drapeau E, Mayo W, Aurousseau C, et al. Spatial memory performances of aged rats in the water maze predict levels of hippocampal neurogenesis [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(24): 14385—14390.
- [33] Yoshikawa K. Cell cycle regulators in neural stem cells and postmitotic neurons [J]. Neurosci Res, 2000, 37(1): 1—14.
- [34] Ligon KL, Fancy SPJ, Franklin RJM, et al. Olig gene function in CNS development and disease [J]. Glia, 2006;54(1): 1—10.
- [35] Irion U, Leptin M, Siller K, et al. Abstrakt, a DEAD box protein, regulates lnc levels and asymmetric division of neural and mesodermal progenitors [J]. Curr Biol, 2004;14 (2): 138—144.
- [36] Erson AE, Petty EM. MicroRNAs show a wide diversity of expression profiles in the developing and mature central nervous system [J]. Clin Genet, 2008;74 (4): 296—306.
- [37] Bozdagi O, Rich E, Tronel S, et al. The neurotrophin-inducible gene VGF regulates hippocampal function and behavior through a brain-derived neurotrophic factor-dependent mechanism [J]. J Neurosci, 2008;28(39): 9857—9869.

·综述·

脑卒中患者认知障碍研究进展*

姜敏¹ 刘斌^{1,2}

脑卒中是神经系统常见病和多发病,不仅引起偏瘫和各种神经定位症状和体征,而且还可以导致记忆障碍、失语、失认、失用、视觉空间障碍等认知功能障碍,甚至发生痴呆^[1]。认知障碍与偏瘫等症状一样,对脑卒中患者的预后都有重要影响。本文就脑卒中患者认知障碍的发生情况、发生机制、危险因素和防治作一综述。

1 脑卒中中认知障碍的发生情况

文献报道脑卒中患者半数以上有认知功能障碍,近1/3发生痴呆,一次卒中会使痴呆发生的危险性增加4—12倍。不同类型的卒中发生痴呆的发生率相近。脑梗死导致的痴呆发生率约30.1%,而脑出血者痴呆发生率约为27.5%,如果考虑所有认知功能下降的患者,则认知功能障碍的发生率可达

50%—75%^[1]。卒中患者发生认知功能障碍的风险至少是未患卒中患者的6—9倍,尤其是卒中后12个月内发生认知功能障碍的风险更大,而且可能持续到数年之后^[2]。王延江等^[3]对321例首次发生脑卒中的患者调查后,发现首次卒中3个月后认知障碍的发生率为29.6%,我们的研究发现急性脑卒中患者发生认知障碍者达41.5%^[4]。

2 脑卒中中认知障碍的发生机制

脑卒中导致认知障碍的发生机制复杂,目前尚不完全清楚,可能与多种发病机制有关。①病理机制:脑梗死时脑动脉狭窄或闭塞,致使脑组织灌注量减少,神经细胞兴奋性降低,导致脑代谢率下降,引起思维过程缓慢、认知功能下降。血管性认知功能障碍(vascular cognitive impairment, VCI)最常见

* 基金项目:河北省医学科学研究重点课题(08410); 1 华北煤炭医学院附属医院神经内一科,河北省唐山市,063000; 2 通讯作者
作者简介:姜敏,女,硕士研究生; 收稿日期:2009-04-26