

·综述·

高压氧对脑出血后血管新生影响的研究进展

童晓轩¹ 肖平田¹ 吴何凤¹

脑血管疾病是神经系统常见病和多发病,最新的流行病学资料表明,我国的脑血管疾病在人群死因中高居第二位,仅次于恶性肿瘤,且在不少城市中已占首位。而脑出血是脑血管病中的危重类型,至今尚无特别有效的治疗方法,其以较高的发病率、致残率和病死率严重地威胁人类的健康。脑出血的预后受多种因素影响,其中在缺血半暗带诱导新生血管形成,及时恢复受累脑组织的再灌注和供氧,减少神经元凋亡和坏死,是影响脑出血预后的关键因素^[1]。高压氧可增加脑出血缺血半暗带氧供,改善微循环,修复脑组织,促进脑损伤的康复,是目前治疗和康复脑出血的重要方法之一。本文就高压氧与脑出血后脑内血管新生的进展作如下综述。

1 脑出血及其继发性损害

脑出血后,血液经由破裂的血管进入脑实质,通过机械性破坏及缺血、炎症、水肿、细胞毒性等造成的继发性损害使神经元发生一系列的病理变化,其最重要的病理改变是血肿形成、扩大及其周围脑组织的缺血缺氧和水肿^[2]。近几年来人们注意到大约有1/3的脑出血患者在发病后一段时间内仍出现进行性中枢神经功能恶化,提示除血肿引起的急性神经组织损害外,还存在有血肿周边组织的继发性损害^[3]。这些损害常为可逆的,是临床治疗有效的前提。已有研究表明,脑出血后血肿周围存在一个组织损伤和水肿形成进行性加重的区域称为血肿周边半暗区或半暗带^[4]。现在许多学者认为,广义的半暗带是通过治疗干预仍有可能被挽救的。局部脑血流(regional cerebral blood flow, rCBF)是描述脑组织缺血的重要指标,在考虑缺血组织是否可挽救时,必须考虑rCBF和持续时间两个方面。脑出血后局部脑血流下降的机制可能与下列因素有关:①血肿占位压迫造成微循环障碍:动物模型显示,脑出血后rCBF下降和脑缺血性损伤即刻发生、血肿的机械压迫作用造成的即刻脑血流下降在程度和时间上均达到导致脑出血性损伤的水平^[5],同时血肿占位效应还激活脑血流-容积自动调整系统,导致rCBF下降^[6];②血液成分及活性物质释放的影响:有研究发现,人脑出血后中性粒细胞在5—72h浸润明显,能阻塞微血管加重缺血性脑损伤;脑出血部位具有收缩血管的活性物质释放和吸收,比

如血小板源因子、5-HT、ET-1等可收缩脑血管使脑血流下降^[6];③脑血流自动调节障碍:颅内压增高、脑水肿等原因可造成脑血管自动调节功能障碍;④再灌注期的无再流现象^[7]:缺血性改变使血浆水分子和离子移入血管周围细胞,致血管腔狭窄或闭塞,致“不再流”现象;⑤神经传导纤维的破坏致血管的调节功能障碍:研究表明,不同部位出血引起局部脑血流下降的程度不同,丘脑、内囊或其他部位出血波及丘脑和(或)内囊者,rCBF下降的程度重且范围广^[8]。

2 脑出血与脑血管新生

新生血管形成是指内皮细胞从原有血管中萌出并逐渐形成新生血管的过程。它在胚胎发育、组织修复和肿瘤等生理或病理过程中起重要作用^[11]。新生血管形成有助于恢复组织供血和供氧,对抗缺氧缺血损伤和促进组织修复,从而挽救濒死的神经元、神经胶质细胞和神经内皮细胞,在治疗脑出血中起重要作用^[9]。因此,研究脑出血后促进脑血管新生的因素有非常重要的意义。

2.1 脑出血与血管内皮生长因子

新血管的生成来源于先前存在的血管内皮细胞的增殖,而血管的增殖有赖于为数众多的血管生成生长因子的表达和相互协同,在众多的AGF中,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、成纤维生长因子、基肽释放酶-基肽系统、胰岛素样生长因子、血小板源性生长因子等都可促进缺血组织的新生血管增生^[9]。其中,VEGF被认为是最重要的成血管因子。VEGF在血管生成的各环节中均具有主要的调控作用,包括内皮细胞的增殖、迁移,细胞间黏附,血管基底膜及细胞外基质的降解等。VEGF与其受体结合,经过一系列生化反应促进内皮细胞的分裂、迁移和增殖^[10]。

VEGF是近年来发现高度特异性促血管内皮细胞生长的因子,在缺血缺氧、胚胎发育、伤口炎症及肿瘤等多种生理病理过程发挥重要作用,并参与脑损伤的发生、发展过程^[11]。脑出血血肿周围组织缺血缺氧后VEGF及其受体的表达上调,其保护作用主要有^[12]:①血管新生。②神经保护作用。Jin^[13]等指出在血管形成之前,VEGF对神经系统起着直接保护作用,这有助于延长细胞的存活时间,直到新血管形成。

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2011.04.027

1 湖南工伤康复中心,410329

作者简介:童晓轩,男,硕士; 收稿日期:2010-02-03

关于 VEGF 介导的神经保护作用机制, Jin^[14] 还报道 VEGF 与其酪氨酸受体结合, 激活 PI-3K/Akt 通路, 激活的 PI-3K/Akt 通路再激活抗凋亡蛋白如 NF- κ B, 抑制凋亡蛋白 caspase-9, 从而延迟神经元因缺血所致的死亡。③神经再生。有研究表明 VEGF 涉及增强成年大鼠神经元再生^[15], 而 Sun^[16] 最近指出 VEGF 的这三种作用贯穿脑出血的全过程, 在急性期, 直接的神经保护作用可以减轻缺血性损害, 而神经再生和血管生成则有利于脑损伤的长期修复。VEGF 通过促进内皮细胞增生, 在缺血缺氧区诱导大量新生血管形成^[17], 改善微循环, 增加受累组织再灌注及供氧量, 从而有利于减轻脑水肿, 促进受损脑组织修复, 加强神经元的营养和神经元功能的恢复, 从而改善缺血、缺氧症状^[10]。Cheung^[18] 等发现在大鼠缺血 60min 后缺血区同侧血管密度明显增加且伴随血管生长相关基因表达增加。脑出血血肿周围半暗带的缺血缺氧是促进 VEGF 表达的强效诱发因素, Gu W 等^[19] 研究发现脑出血 24h 后新生内皮细胞出现的同时, 半暗带 VEGF 及受体表达增加, 约 48—72h 达到高峰, 持续 7—28d。

许多动物和临床试验表明^[20-22], 脑出血早期(24h 内), 因缺氧导致的 HIF-1 α 及其靶基因如 VEGF 的表达增高, 是导致脑神经元凋亡和血脑屏障功能受损的原因之一。但脑出血恢复期, VEGF 通过促进内皮细胞增生, 在缺血区诱导大量新生血管形成, 改善微循环, 增加受累组织再灌注及供氧量, 从而有利于减轻脑水肿, 促进受损脑组织修复, 加强神经元的营养和神经元功能的恢复, 从而改善缺血、缺氧症状^[9, 17]。

2.2 脑出血与缺氧诱导因子-1

缺氧诱导因子-1 (hypoxia inducible factor, HIF-1) 是一种由缺氧诱导产生的、可以激活缺氧反应基因转录的 DNA 结合蛋白, 是机体缺氧反应信号转导的共同通路, 由 α 和 β 两个亚基组成, 分别称为 HIF-1 α 和 HIF-1 β , 前者在缺氧时上调, 后者为结构性表达^[23]。研究证实, 在任何氧浓度降低的情况下, 如全身缺氧、脑动脉阻塞等都可能诱导 HIF-1 α 的大量表达^[24]。有作者认为^[25], HIF-1 α 表达后能介导一系列基因的表达调控, 通过作用于靶基因的缺氧反应元件, 并引起一系列效应, 主要有参与上调血管内皮生长因子表达以促进血管生成, 诱导糖酵解基因表达以促进无氧代谢等。在常氧状态下, HIF-1 α 易受蛋白水解酶的降解, 在正常脑组织中不表达或低水平表达^[26]。细胞内氧浓度对 HIF-1 α 的表达进行着精细的调节。在常氧条件下, 细胞浆内 HIF-1 α 的表达水平很低, 主要存在于细胞质中。但在低氧条件下, HIF-1 α 却大量集聚并转移至细胞核中, 此过程称作核转位。在缺氧条件下, 抑制了 HIF-1 α 的泛素降解途径, 使其降解速度减慢, HIF-1 α 在体内大量集聚。研究证实, 在任何氧浓度降低的情况下, 如全身缺氧、脑动脉阻塞等都可能诱导 HIF-1 α 的大量表达^[27]。缺血缺氧组织中上调的

HIF-1 α 通过作用于靶基因的缺氧反应元件调控 VEGF、葡萄糖载体蛋白-1 等靶基因的表达, 其转录和增加可促进新生血管形成, 增加局部缺氧的血流量, 增加氧气供应, 加速受损组织修复, 在缺氧缺血性脑损伤后的血管生成、能量代谢等方面发挥作用^[28]。刘庆新等^[29] 在脑出血血肿周围灶也发现 HIF-1 α 的表达大量增加, 为脑出血血肿周围半暗带存在不同程度的缺血缺氧这一病理变化提供了新的理论依据。杨华等^[30] 人研究表明脑出血灶周围 HIF-1 α 表达明显增加, 并随出血量增加, 表达随之升高明显。

同时, 脑出血时 HIF-1 的含量也会增加, 脑出血半暗带低氧条件下, HIF-1 的降解过程被阻断, 导致 HIF-1 大量堆积。HIF-1 α 的调控基因涉及细胞能量代谢、离子状态、儿茶酚胺代谢、血管发生、细胞凋亡等诸多方面。Halterman 等^[31] 研究证实, 在缺氧诱导的神经细胞凋亡过程中, HIF-1 α 能与 P53 结合形成低氧复合物并使其稳定, 引起应答基因表达, 两者协同诱导凋亡的发生。

3 高压氧与脑出血脑内血管新生

高压氧(hyperbaric oxygen, HBO)是指机体处于高压气环境中所呼吸的与环境等压的纯氧, 而利用吸入高压氧治疗疾病的方法称为高压氧疗法。大量临床和实验研究证实^[32] 高压氧可提高脑组织的氧含量及氧储量, 减少脑细胞因缺氧而变性坏死; 高压氧可收缩脑血管, 减轻脑水肿, 降低颅内压; 高压氧可提高超氧化物歧化酶的含量, 加强清除自由基和抗氧化能力, 减少再灌注对脑组织的损伤; 高压氧可增加脑组织血流量, 恢复“缺血半影区”功能, 促进神经细胞的恢复与再生^[33]。远期和近期的临床和实验均表明, 高压氧对脑出血疾病的急性症状和后遗的运动、感觉、语言、智力和记忆障碍有较好的疗效^[34]。

3.1 高压氧与血管新生

大量实验与临床研究证实^[35], 高压氧可改善损伤组织氧供, 减少无氧糖代谢, 降低损伤组织乳酸盐浓度, 纠正酸中毒, 改善微循环, 促进损伤组织血管新生和血管再生, 加速侧枝循环建立, 从而有利于损伤组织的修复和伤口愈合。Sheikh AY 等^[36] 发现高压氧能促进创伤模型鼠伤口血管发生, 增加伤口床的血液灌注, 加速伤口的愈合。

3.2 高压氧与血管生成生长因子

大量实验证明高压氧能影响血管生成生长因子的表达。在脑缺氧早期高压氧能下调缺氧诱导的 VEGF 的表达从而减少神经元损伤, 改善脑血流灌注情况和神经功能。Ostrowski RP 等^[20], 在 SD 大鼠发生蛛网膜下腔出血(subarachnoid hemorrhage, SAH) 1h 时用高压氧处理, 24h 处死大鼠, 与对照组相比, 发现高压氧能在 SAH 的早期减少 HIF-1 α , 和它的靶基因 VEGF 的表达, 而减少凋亡、保护

血脑屏障的功能、减少神经元损伤、改善脑血流量和神经功能。戴轶等^[37]对脑缺血及高压氧治疗中血管内皮生长因子 mRNA 表达的变化进行研究发现,高压氧治疗后 VEGF164mRNA 的表达 48h 前均低于相同时间点的缺血再灌注组($P<0.05$)。

而高压氧在恢复期能诱导 VEGF 的产生,促进脑血管新生。戴轶等^[37]在脑缺血及高压氧治疗中血管内皮生长因子 mRNA 表达的变化研究还发现,高压氧治疗后 VEGF164mRNA 的 72h 表达较缺血再灌注组升高($P<0.05$)。本研究表明,VEGF 的表达与高压氧的过程有关,其原因可能是,初期主要是由缺氧诱导大量 VEGF 的产生,吸入高于标准大气压的纯氧反而导致 VEGF 的表达减少。而在高压氧治疗的后期是由于高压氧诱导多种细胞因子、NO、ATP 等产生,介导了 VEGF 的表达,从而使 VEGF 的表达增加。

高压氧还能直接作用于细胞,诱导其 VEGF 的表达。Lee CC 等^[38]发现高压氧能上调脐静脉内皮细胞中 VEGF 蛋白和 mRNA 的表达,而且与高压氧治疗的时间和剂量呈正相关,他认为高压氧诱导 VEGF 表达,可能是通过激活 c-Jun/AP-1 和激活细胞外信号调节激酶(ERK)和 c-Jun 氨基端激酶(JNK)途径起作用。

3.3 高压氧与缺氧诱导因子-1

高压氧对 HIF-1 在脑内血管新生中起着非常重要作用。在脑急性缺氧早期,HIF-1 α 的上调与细胞凋亡的产生有关。高压氧能抑制脑缺氧早期的 HIF-1 表达上调,保护神经元细胞。Calvert 等^[39]在新生小鼠的脑缺血缺氧模型中发现,脑缺血缺氧发作 24h 时 HIF-1 α 及其去磷酸型明显增多,p53 水平也增高。而高压氧处理能明显减低 HIF-1 α 及其去磷酸型的增高,抑制 p53 的高表达,从而起到神经保护的作用。

高压氧预处理能使 HIF-1 α 表达增高,调节其下游基因 VEGF 的表达,促进新生血管形成,增强缺氧耐受能力。低氧预适应对脑缺血有保护作用。彭兆云等^[40]对小鼠高压氧预处理后发现小鼠对低氧的耐受能力提高,小鼠脑组织中 HIF-1 α 蛋白水平表达上调,而 HIF-1 α 蛋白水平上调可增加 HIF-1 的蛋白含量及 DNA 的结合活性,从而可能通过这一途径增强其下游基因的表达,使机体对低氧的耐受能力提高,促进新生血管形成。

参考文献

- [1] Mayer SA, Lignelli A, Fink ME, et al. Perilesional blood flow and edema formation in acute intracerebral hemorrhage: A SPECT study[J]. Stroke, 1998, 29: 1791.
- [2] 李玲, 陈康宁. 脑出血后继发脑损伤机制的研究进展[J]. 第三军医大学学报, 2005, 27(19): 1992—1994.
- [3] Xue M, Del Bigio MR. Intracortical hemorrhage injury in rats: relationship between blood fractions and brain cell death

- [J].Stroke, 2000, 31(7): 1721—1727.
- [4] Peeling J, Yan HJ, Corbett D, et al. Effect of FK-206 on inflammation and behavioral outcome following intracerebral hemorrhage in rat[J]. Exp Neurol, 2001, 167(2): 341—347.
- [5] Lee KR, Kawai N, Kim S, et al. Mechanisms of edema formation after intracerebral hemorrhage: effects of thrombin on cerebral blood flow, blood-brain barrier permeability, and cell survival in a rat model[J]. J Neurosurg, 1997, 86(2): 272—278.
- [6] Heiss WD, Kracht LW, Thiel A, et al. Penumbra probability threshold of cortical flumazenil binding and blood flow predicting tissue outcome in patients with cerebral ischaemia [J]. Brain, 2001, 124: 20—29.
- [7] Mendelow AD. Mechanisms of ischemia brain damage with intracerebral hemorrhage[J]. Stroke, 1993, 24: 1115.
- [8] Risau W. Mechanisms of angiogenesis[J]. Nature, 1997, 386: 671—674.
- [9] Emanuelli C, Madeddu P. Angiogenesis gene therapy to rescue ischaemic tissues: achievements and future directions[J]. Br J Pharmacol, 2001,133:951—958.
- [10] Jin KL, Mao XO, Greenberg DA, et al. Vascular endothelial growth factor: direct neuroprotective effect in vitro ischemia[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2000,97:10242—10247.
- [11] 李海燕,张祥建.血管内皮生长因子与中枢神经系统疾病[J].国外医学·脑血管疾病分册, 2004,12(7): 235—238.
- [12] Marti HJ, Bernaudin M, Bellail A, et al.Hypoxia-induced vascular endothelial growth factor expression precedes neovascularization after cerebral ischemia[J].American Journal of pathology,2000,156:965—976.
- [13] Jin KL,Mao XO,Greenberg DA.Vascular endothelial growth factor: direct neuroprotective effect in in vitro ischemia[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2000,97:10242—10247.
- [14] Jin KL, Mao XO, Nagayama T, et al.Induction of vascular endothelial growth factor receptors and phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt signaling by global cerebral ischemia in the rat[J].Neuroscience,2000,100(4):713—717.
- [15] Svensson B, Peters M, Konig HG, et al.Vascular endothelial growth factor protects cultured rat hippocampal neurons against hypoxia injury via an antiexcitotoxic, caspase-independent mechanism[J].J Cereb Blood Flow Metab,2002,22:1170—1175.
- [16] Sun Y, Jin K, Xie L, et al.VEGF-induced neuroprotection, neurogenesis,and angiogenesis after focal cerebral ischemia[J]. J Clin Invest,2003,111(12):1843—1851.
- [17] Krum JM, Khaibullina A. Inhibition of endogenous VEGF impedes revascularization and astroglial proliferation: roles for VEGF in brain repair[J]. Exp Neurol, 2003, 181:241—257.
- [18] Cheung WM, Chen SF, Nian GM, et al. Induction of angiogenesis related genes in the contralateral cortex with a rat three-vessel occlusion model[J]. Chin J Physiol,2000,43: 119—124.
- [19] Gu W, Brannstrom T, Jiang W, et al. Vascular endothelial growth factor-A and -C protein up-regulation and early angiogenesis in a rat photothrombotic ring stroke model with spontaneous reperfusion[J]. Acta Neuropathol,2001,102(3):216—

- 226.
- [20] Ostrowski RP, Colohan AR, Zhang JH. Mechanisms of hyperbaric oxygen-induced neuroprotection in a rat model of subarachnoid hemorrhage[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2005, 5(5):554—571.
- [21] Miao G, Ostrowski RP, Mace J, et al. Dynamic production of hypoxia-inducible factor-1 α in early transplanted islets [J]. *Am J Transplant*, 2006, 6(11):2636—2643.
- [22] Li Y, Zhou C, Calvert JW, et al. Multiple effects of hyperbaric oxygen on the expression of HIF-1 α and apoptotic genes in a global ischemia-hypotension rat model [J]. *Exp Neurol*, 2005, 191(1):198—210.
- [23] Lee JW, Bae SH, Jeong JW, et al. Hypoxia inducible factor (HIF-1) α : its protein stability and biological functions [J]. *Exp Mol Med*, 2004, 36 (1) : 1—12.
- [24] Palmer LA, Semenza GL, Stoler MH, et al. Hypoxia induces type II NOS gene expression in pulmonary artery endothelial cells via HIF-1[J]. *Am J Physiol*, 1998, 274: 212—216.
- [25] Marti HJ, Bernaudin M, Bellail A, et al. Hypoxia-induced vascular endothelial growth factor expression precedes neovascularization after cerebral ischemia[J]. *Am J Pathol*, 2006, 156:965.
- [26] Zhong H, De Marzo AM, Laughner E, et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1 α in common human cancers and their metastases[J]. *Cancer Res*, 1999, 59:5830—5835.
- [27] Palmer LA, Semenza GL, Stoler MH, et al. Hypoxia induces type II NOS gene expression in pulmonary artery endothelial cells via HIF-1[J]. *Am J Physiol*, 1998, 274:212—216.
- [28] Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1: master regulator of O₂ homeostasis[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 1998, 8: 588—594.
- [29] 刘庆新, 张合亮, 张苏明. 高血压脑出血血肿周围脑组织缺氧诱导因子-1 α 的表达及意义[J]. *中华神经科杂志*, 2006, 39 (1): 24—26.
- [30] 杨华, 夏章勇, 苗滢, 等. 缺氧诱导因子-1 α 和血清促红细胞生成素在脑出血患者中的表达及意义[J]. *中风与神经疾病杂志*, 2008, 25(1):30—32.
- [31] Halterman MW, Federoff HJ. HIF-1 α and p53 promote hypoxia-induced delayed neuronal death in models of CNS ischemia[J]. *Exp Neurol*, 1999, 159:65—72.
- [32] Schabitz WR, Schade H, Heiland S, et al. Neuroprotection by hyperbaric oxygenation after experimental focal cerebral ischemia monitored by MRI[J]. *Stroke*, 2004, 35:1175—1179.
- [33] Klemetti E, Rico-Vargas S, Mojon P. Short duration hyperbaric oxygen treatment effects blood flow in rats pilot observations[J]. *Lab Anim*, 2005, 39(1):116—121.
- [34] Ostrowski RP, Tang J, Zhang JH. Hyperbaric oxygen suppresses NADPH oxidase in a rat subarachnoid hemorrhage model[J]. *Stroke*, 2006, 37: 1314—1318.
- [35] Asano T, Kaneko E, Shinozaki S, et al. Hyperbaric oxygen induces basic fibroblast growth factor and hepatocyte growth factor expression and enhances blood perfusion and muscle regeneration in mouse ischemic hind limbs[J]. *Circ J*, 2007, 71: 405—411.
- [36] Sheikh AY, Rollins MD, Hopf HW, et al. Hyperoxia improves microvascular perfusion in a murine wound model [J]. *Wound Repair Regen*, 2005, 13(3): 303—308.
- [37] 戴轶, 高春锦, 王国忠. 脑缺血及高压氧治疗中血管内皮生长因子 mRNA 表达的研究[J]. *北京医学*, 2006, 28(10): 602—604.
- [38] Lee CC, Chen SC, Tsai SC, et al. Hyperbaric oxygen induces VEGF expression through ERK, JNK and c-Jun/AP-1 activation in human umbilical vein endothelial cells[J]. *J Biomed Sci*, 2006, 13(1):143—156.
- [39] Calvert JW, Cahill J, Yamaguchi-Okada M, et al. Oxygen treatment after experimental hypoxia-ischemia in neonatal rats alters the expression of HIF-1 α and its downstream target genes[J]. *J Appl Physiol*, 2006, 101(3):853—865.
- [40] 彭兆云, 杜晶, 陈萧莹, 等. 缺氧诱导因子-1 α 的研究进展 [J]. *中国职业医学*, 2005, 1: 53—55.

2011年江苏省物理医学与康复医学学术会议

2011年江苏省物理医学与康复医学学术大会将于苏北重镇—徐州召开。大会邀请国内外著名康复医学、康复工程、康复管理和相关学科的专家讲学和高层对话,将展示进步和成绩,交流实践经验,研讨热点问题,形成专家共识。江苏省首次康复治疗师职业技能大赛和首届全国康复设备科研转化研讨会也将同期举办。此外还将举办PT/OT教育国际化进程研讨会。欢迎全省及全国的专家和同道参加本次大会。会议时间:2011年7月22—24日。会议地点:徐州市开元名都大酒店(五星)。会议网址:www.jsprm.org。投稿方式:电子邮件投递,地址:jarm@carm.org.cn;截止日期:2011年5月31日。联系人:高秋野;电话:025-83318752。