

- [11] Huang MJ, Xie H, Wan Q, et al. Serotype-specific Identification of Dengue virus by silicon nanowire array biosensor[J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2013, 13(6):3810-3817.
- [12] Cui Y, Wei Q, Park H, et al. Nanowire nanosensors for highly sensitive and selective detection of biological and chemical species [J]. *Science*, 2001, 293(5533):1289-1292.
- [13] Heitzinger C, Klimeck G. Computational aspects of the three-dimensional feature-scale simulation of silicon-nanowire field-effect sensors for DNA detection[J]. *J Com Electron*, 2007, 6(3):387-390.
- [14] Kim A, Ah CS, Park CW, et al. Direct label-free electrical immunodetection in human serum using a flow-through-apparatus approach with integrated field-effect transistors[J]. *Biosens Bioelectron*, 2010, 25(7):1767-1773.
- [15] Ah CS, Park CW, Yang JH, et al. Detection of uncharged or feebly charged small molecules by field-effect transistor biosensors[J]. *Biosens Bioelectron*, 2012, 33(1): 233-240.
- [16] Chang KS, Chen CC, Sheu JT, et al. Detection of an uncharged steroid with a silicon nanowire field-effect transistor[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2009, 138(1):148-153.
- [17] Etzioni R, Urban N, Ramsey S, et al. The case for early detection [J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(4):243-252.
- [18] Campagnolo C, Meyers KJ, Ryan T, et al. Real-Time, label-free monitoring of tumor antigen and serum antibody interactions[J]. *J Biochem Biophys Methods*, 2004, 61(3):283-298.
- [19] Haes AJ, Hall WP, Chang L, et al. A localized surface plasmon resonance biosensor: first steps toward an assay for Alzheimer's disease[J]. *Nano Letters*, 2004, 4(6):1029-1034.
- [20] Huang YW, Wu CS, Chuang CK, et al. Real-time and label-free detection of the prostate-specific antigen in human serum by a polycrystalline silicon nanowire field-effect transistor biosensor [J]. *Analytical chemistry*, 2013, 85(16):7912-7918.
- [21] Lee MH, Lee KN, Jung SW, et al. Quantitative measurements of C-reactive protein using silicon nanowire arrays[J]. *Int J Nanomedicine*, 2008, 3(1):117-124.
- [22] Ivanov YD, Pleshakova TO, Kozlov AF, et al. SOI nanowire for the high-sensitive detection of HBsAg and  $\alpha$ -fetoprotein[J]. *Lab on a Chip*, 2012, 12(23):5104-5111.
- [23] Thomas DJ, Azmi MAM, Tehrani Z. Fabrication of an Integrated 3-Dimensional Printed Polymer Silicon Nanowire-Based Microfluidic Point-of-Care System for Detecting 8-OHDG Cancer Biomarker[J]. *Point of Care*, 2014, 13(2): 54-65.
- [24] Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2008, 105(30):10513-10518.
- [25] Cho W. MicroRNAs: potential biomarkers for cancer diagnosis, prognosis and targets for therapy[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010, 42(8):1273-1281.
- [26] Müller-Bardorff M, Hallermayer K, Schröder A, et al. Improved troponin T ELISA specific for cardiac troponin T isoform; assay development and analytical and clinical validation[J]. *Clin Chem*, 1997, 43(3):458-466.
- [27] Shen F, Wang J, Xu Z, et al. Rapid flu diagnosis using silicon nanowire sensor[J]. *Nano Lett*, 2012, 12(7):3722-3730.
- [28] Zhang GJ, Zhang L, Huang MJ, et al. Silicon nanowire biosensor for highly sensitive and rapid detection of Dengue virus[J]. *Sensors and Actuator B: Chemical*, 2010, 146(1):138-144.
- [29] Lin CH, Hung CH, Hsiao CY, et al. Poly-silicon nanowire field-effect transistor for ultrasensitive and label-free detection of pathogenic avian influenza DNA [J]. *Biosens Bioelectron*, 2009, 24(10):3019-3024.
- [30] Chang KS, Sun CJ, Chiang PL, et al. Monitoring extracellular K<sup>+</sup> flux with a valinomycin-coated silicon nanowire field-effect transistor[J]. *Biosens Bioelectron*, 2012, 31(1): 137-143.
- [31] Lin CH, Hsiao CY, Hung CH, et al. Ultrasensitive detection of dopamine using a polysilicon nanowire field-effect transistor[J]. *Chem Commun*, 2008, 15 (44):5749-5751.

(收稿日期:2014-10-15)

## · 综述 ·

# 脑创伤半暗带和脑水肿与水通道蛋白-4 关系的研究进展\*

任欢欢 综述, 鲁 宏<sup>△</sup> 审校

(中南大学湘雅医学院附属海口医院/海口市人民医院放射科, 海南海口 570208)

关键词: 脑创伤; 半暗带; 水通道蛋白-4; 脑水肿

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.06.041

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2015)06-0813-03

近年来由于脑创伤频发, 随之继发颅内高压导致脑疝等严重并发症, 降低了患者的存活率。研究者已经发现脑缺血后早期, 缺血中心坏死区已无逆转可能, 而其周围的半暗带组织若及时治疗, 对患者的预后有决定性作用。脑创伤后是否也存在一个类似的“创伤半暗带”, 如何运用影像学技术界定该区域, 该区域水肿情况如何, 以及与水通道蛋白-4(AQP4)表达有何关系。本文将针对以上问题查阅相关文献并加以综述。

## 1 背景资料

随着交通业和建筑业的迅猛发展, 随之而来的脑创伤发生

率与日俱增。脑挫伤常伴有不同程度的脑水肿, 可致神经元以及胶质细胞的功能障碍, 同时因脑组织肿胀所致颅内高压及脑疝, 这是导致患者死亡的重要原因。脑创伤病情变化迅速、病理改变复杂、临幊上很难准确把握病程并予以及时针对性治疗, 往往会导致患者高致残率、高病死率<sup>[1]</sup>。脑损伤后坏死的核心区脑组织属不可逆损伤, 失去了临床研究价值, 但创伤周边仍存在可逆性脑组织即“创伤半暗带”, 它可以向恶化及好转两方面发展, 如能及时正确干预使其最大限度地逆转, 已成为当今医学研究的热点。

\* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81160181)。 作者简介: 任欢欢, 女, 医师, 主要从事中枢神经系统影像诊断工作研究。 △ 通讯作者, E-mail: cqluh@sohu.com。

## 2 缺血半暗带与创伤半暗带

**2.1 缺血半暗带** 早在 20 世纪 90 年代,缺血半暗带被定义为缺血中心灶周围的正常突触传递被抑制或者被完全阻断、电活动异常,但组织结构完整,处于低灌注,但能量代谢尚存的可逆性脑组织。鲁宏等通过在大鼠栓塞/再灌注动物模型研究显示细胞内(毒性)水肿是缺血半暗带的主要病理改变,同时伴有细胞器肿胀,但细胞膜完整,及时实施再灌注后细胞形态及功能可以恢复正常<sup>[2]</sup>。

**2.2 创伤半暗带** 猫脑挫伤实验显示:MRI(PWI)显示挫裂伤中心灶周围脑组织呈低灌注表现,这种低灌注区在电镜下可见神经元、星形胶质细胞、血脑屏障不同程度破坏,结果表明脑挫裂伤中心灶周围确实存在创伤半暗带。有研究发现人在创伤性脑损伤后也存在创伤半暗带,其处于低灌注状态且可以因及时干预治疗而恢复。研究证实,除损伤核心区之外的创伤灶周围存在继发性损伤区域,这一区域的脑组织具有类似于脑梗死时“缺血半暗带”的特性—可逆性,故这部分脑组织称之为“创伤半暗带”<sup>[3]</sup>。有研究显示缺血是创伤性脑损伤(TBI)的一个重要的病理因素,并且其病理改变与典型的缺血性改变很相似。事实上,创伤半暗带的病理变化远非缺血低灌注这么简单,因为它不仅要受脑血流、脑水肿、血脑屏障(BBB)、低氧微环境及细胞凋亡等诸多生化因素影响,还受到直接外力等物理因素的损伤。迄今为止,有限的资料显示损伤后脑血流低灌注是创伤半暗带的病理基础<sup>[4]</sup>。还有研究发现创伤周围脑组织的氧糖比(OGR)持续低于正常值,也显示该区域处于无氧代谢的状态<sup>[5]</sup>。创伤半暗带病理改变主要是因原发脑创伤而引起的局部脑组织水肿、出血、体积变大、颅压增高导致脑血流量(CBF)异常,进而造成细胞膜上的离子泵功能异常,最终导致细胞坏死或者凋亡。另有实验表明脑损伤后不仅 CBF 的降低参与创伤周围的这些继发损伤,可能另有其他不明因素参与。由此可见,“创伤性半暗带”的病理生理机制远比“缺血性半暗带”更为复杂。

**2.3 不同的影像界定方法** 有研究认为用 CT 灌注成像(CTP)的方法可以确定缺血半暗带,其中缺血核心区脑组织的血容量(CBV)比半暗带区的平均通过时间(MTT)更准确,更有价值<sup>[6]</sup>。有研究者提出把“CBV<2 mL/100 g, MTT 大于正常值的 150%,且脑血容量大于 2 mL/100 g”作为定义缺血半暗带的标准。研究者们界定缺血半暗带 CBF 的最佳阈值的波动范围很大,从每分钟 14.1 mL/100 g~35.0 mL/100 g。用灌注加权成像(PWI)和扩散加权成像(DWI)定义缺血后可恢复区,认为 PWI 和 DWI 的不匹配区域即缺血半暗带<sup>[7]</sup>。鲁宏等<sup>[8]</sup>对大鼠脑缺血模型进行研究显示:在超早期脑缺血(小于 1 h)时,病理改变主要为细胞内水肿,表观弥散系数(ADC)值下降,DWI 信号强度和面积升高,DWI 与 T2WI 结构像的不匹配提示缺血半暗带。在大白鼠早期脑梗死模型中的 DWI 高信号区及 MTT/DWI 异常信号不匹配区均可见细胞毒性水肿,并且在再灌注后 60 min 时发现细胞形态基本恢复正常,这从再灌注的角度证明在早期脑梗死的 DWI 高信号区也存在缺血半暗带组织,因此,之前认为 DWI 与 PWI 的不匹配区的观点有待进一步研究。有研究显示正电子发射型计算机断层显像(PET)也可以用来确定缺血半暗带。也有研究者提出用 DWI 和磁共振波谱成像(MRS)界定超急性期缺血半暗带,即缺血半暗带区 ADC 值轻度降低(<22%),乳酸(Lac)升高且 N-乙酰天门冬氨酸(NAA)正常或轻度下降(<14%),两者联合应用可发现超急性脑梗死,并预测缺血半暗带。对缺血半暗带的研究较多,而对创伤半暗带的研究尚处于探索阶段。研究

证实猫局灶性创伤灶周围可能存在半暗带组织,MR 结构像(T2WI)与功能像的不匹配可能提示创伤半暗带。也有研究者认为可以应用 PWI 与 DWI 的不匹配区(mis-match)代表创伤半暗带。用 Newcombe 等<sup>[3]</sup>的标准确定“创伤性半暗带”时,脑挫裂伤核心区域以及损伤周围的低密度区的大部分都在缺血核心内,创伤性半暗带仅局限于周围一个很窄的环状区域内,这是因为这两种损伤的病理生理变化存在差异,判断缺血半暗带的标准并不适用于确定创伤半暗带。研究显示损伤周边的 ADC 值降低区所反映的细胞毒性水肿可能代表“创伤半暗带”。功能磁共振成像(fMRI)进行大鼠脑创伤模型实验,显示在创伤后脑血流量降低<sup>[9]</sup>。通过 PET 检测脑创伤后脑组织的物质代谢情况,重新确定创伤性半暗带。也有研究提出联合应用 CT 和单光子发射计算机断层成像术(SPECT)推测创伤后脑损伤的范围和严重性,并能够评估损伤中心、水肿及损伤周围脑组织的活性。另外,由于 DWI 的高 b 值能够清晰显示血管源性水肿的特征,同时能够提供关于水分子的生化数据,来辨别水肿类型,而且用 DWI 可以预测抗水肿治疗的效果,推测可能用来区分损伤中心和周围半暗带<sup>[10]</sup>。

## 3 脑水肿与创伤半暗带

创伤性脑损伤(TBI)在全世界范围内都是致死、致残的重要原因,创伤性脑水肿是 TBI 最严重的并发症之一,它是颅脑创伤后最常见也是最严重的继发性损伤,尽管以往有许多研究,但人们对其发生机制尚不清楚。目前国内外多数学者主张将脑水肿分为血管源性、细胞毒性、渗透压性和脑积水性(间质性)四类。一般认为,由 TBI 引起的创伤性脑水肿主要有两种类型:即细胞内(毒性)水肿和血管源性水肿<sup>[11]</sup>。细胞毒性脑水肿:即 BBB 破坏的细胞内水量积聚、增加,细胞体积增大、肿胀,细胞间隙变窄<sup>[12]</sup>。血管源性脑水肿:在血管源性脑水肿中,由于血管内皮细胞损伤,紧密连接破坏,使得血脑屏障 BBB 通透性增加,血液外渗引起周围脑组织水肿。

近几年来资料报道在创伤性脑水肿中占主导作用的是细胞毒性脑水肿,而不是血管源性脑水肿<sup>[13]</sup>。但是也有研究认为脑创伤早期首先出现的是因血脑屏障破坏导致的原发血管源性水肿,之后才出现细胞毒性水肿,而血管源性水肿主要居于损伤核心,随后的细胞毒性水肿相对广泛且占主导地位。病理生理角度认为,由于血小板的激活和随后微循环中血栓的形成导致“创伤半暗带”脑组织血流低灌注和局部细胞毒性水肿<sup>[14]</sup>。猫局灶性脑创伤试验证实挫裂伤周围区域主要是细胞毒性水肿,也提示了创伤半暗带的存在。有试验显示脑损伤后细胞毒性水肿不是很明显,但是在损伤周围区域可见血管源性水肿,并认为脑损伤后的水肿形式不止一种。损伤中心和周围半暗带区域脑组织均可见水肿且在损伤的对侧半球也发现组织水肿<sup>[15]</sup>,研究者在大鼠脑撞击试验中也发现损伤对侧脑水肿,但与损伤侧的水肿类型不一致,损伤侧先出现血管源性水肿,而对侧水肿在时间上较晚且首先出现的是细胞毒性水肿。有研究说明创伤后在创伤区和半暗带区可发现细胞毒性水肿。在病理上,研究发现去极化现象是 TBI 后很常见的病理反应<sup>[16]</sup>,半暗带区的去极化引起血管收缩和损伤灶扩大。播散性抑制增加 BBB 的通透性并且导致血管源性水肿和细胞毒性水肿。

## 4 水通道蛋白(AQP4)与创伤半暗带

AQPs 是一种膜蛋白家族,其中 AQP4 在脑创伤、脑肿瘤及脑缺血引起的脑水肿的过程中起到了关键性的作用。AQP4 的结构:在分子内部由 6 条跨膜结构相互靠拢,形成了一个亲水通道,允许水分子通过,即水通道蛋白的“沙漏模型”

样三维结构。AQP4 的分布: AQP4 广泛分布于中枢神经系统, 表达最为丰富的是在血管周围、和与蛛网膜、软脑膜相邻的星形胶质细胞及其终足上, 即极性分布, 是 AQP4 在中枢神经系统分布最显著的特点。AQP4 的功能: 在中枢神经系统, AQP4 有 3 个主要的生理功能。(1) 参与脑水肿的形成与发展。在脑水肿的形成与消除过程中, AQP4 表现为双重作用<sup>[17-18]</sup>。试验证明 AQP4 在早期脑水肿的形成中起促进作用, 而在晚期则又可以促进水从脑组织进入脑血管中, 清除损伤组织中多余的水分<sup>[19]</sup>;(2) 参与易化星形胶质细胞的迁移<sup>[20]</sup>;(3) 改变神经系统的兴奋性。有研究者运用体内电刺激的方法, 记录 AQP4 基因敲除小鼠的脑电活动, 结果显示诱发癫痫的阈值和对癫痫的耐受能力明显升高。

近年来研究表明 AQP4 在创伤后脑水肿的形成与发展过程中起到了关键的作用。大鼠脑创伤模型显示早期在损伤核心首先出现血管源性水肿, 随后出现细胞毒性水肿, 而 AQP4 表达则出现先下调后升高的变化趋势。也有人认为脑创伤早期是细胞毒性水肿, 随之才是血管源性水肿。但是有人持不同观点, 认为脑创伤后 AQP4 抑制剂并不能减轻脑水肿。关于脑创伤后创伤半暗带的 AQP4 的表达有何变化, 也有截然不同的结论。有研究认为在创伤中心区域 AQP4 的表达是下降的, 而周围半暗带区 AQP4 的表达是上升的<sup>[21]</sup>。Badaut 等<sup>[22]</sup>认为人脑外伤后挫裂伤中心区脑组织 AQP4 表达明显增多, 并随着时间点和脑组织的部位不同而有改变, 在挫裂伤远隔部位正常脑组织 AQP4 表达较低。在穿透性脑损伤模型中发现, 脑损伤后损伤中心 AQP4 表达明显增加, 而在损伤灶周围的星形胶质细胞上 AQP4 表达变化不明显<sup>[23]</sup>。Sun 等<sup>[24]</sup>研究大鼠自由落体脑创伤模型发现损伤中心区域脑水肿程度最为明显, 且该区域星形胶质细胞明显肿胀, 为细胞毒性水肿, 并可以测得该细胞上 AQP4 表达明显上调, 在周边邻近区 AQP4 表达下调, 但是在远处无明显变化, 这表明损伤中心区域和损伤周围的半暗带组织表现为不同的病理改变。

综上所述, 相比之下缺血半暗带的病理基础与 AQP4 表达的相关研究比较深入, 也得出了比较公认的结论, 但对创伤性半暗带的病理改变, 是血管源性水肿抑或细胞水肿, 准确的影像学界定方法以及 AQP4 的表达水平等研究尚处探索阶段, 仍无定论, 有待进一步研究。

## 参考文献

- [1] Fukuda AM, Adami A, Pop V, et al. Post traumatic reduction of edema with aquaporin-4 RNA interference improves acute and chronic functional recovery[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2013, 33(7): 1621-1632.
- [2] Lu H, Hu H, He ZP. Reperfusion of the rat brain tissues following acute ischemia: the correlation among diffusion-weighted imaging, histopathology, and aquaporin-4 expression[J]. *Chin Med J*, 2011, 124(19): 3148-3153.
- [3] Newcombe VF, Williams GB, Outtrim JG, et al. Microstructural basis of contusion expansion in traumatic brain injury: insights from diffusion tensor imaging[J]. *J Cerebral Blood Flow Metab*, 2013, 33(6): 855-862.
- [4] 王凯, 马军. 脑创伤周围半暗带的研究进展[J]. 中国医学影像技术, 2012, 28(3): 596-599.
- [5] Wu HM, Huang SC, Vespa P, et al. Redefining the pericontusional penumbra following traumatic brain injury: evidence of deteriorating metabolic derangements based on positron emission tomography[J]. *J Neurotrauma*, 2013, 30(3): 352-360.
- [6] Alves JE, Carneiro Â, Xavier J. Reliability of CT perfusion in the evaluation of the ischaemic penumbra[J]. *Neuroradiol J*, 2014, 27(1): 91-95.
- [7] Heiss WD. The concept of the penumbra: can it be translated to stroke management[J]. *Int J Stroke*, 2010, 5(4): 290-295.
- [8] Lu H, Hu H, He ZP, et al. Therapeutic imaging window of cerebral infarction revealed by multisequence magnetic resonance imaging: an animal and clinical study[J]. *Neural Regen Res*, 2012, 7(31): 2446-2455.
- [9] Niskanen JP, Airaksinen AM, Sierra A, et al. Monitoring functional impairment and recovery after traumatic brain injury in rats by fMRI[J]. *J Neurotrauma*, 2013, 30(7): 546-556.
- [10] Schwarcz A, Ursprung Z, Berente Z, et al. In vivo brain edema classification: new insight offered by large b-value diffusion-weighted MR imaging[J]. *J Magn Reson Imaging*, 2007, 25(1): 26-31.
- [11] 谭殿辉, 赖润龙, 喻小萍, 等. 大鼠去骨瓣减压术后水孔蛋白-4 表达变化的实验研究[J]. 中国医学创新, 2013, (28): 22-24.
- [12] Badaut J, Ashwal S, Obenaus A. Aquaporins in cerebrovascular disease: a target for treatment of brain edema[J]. *Cerebrovasc Dis*, 2011, 31(6): 521-531.
- [13] Taya K, Marmarou CR, Okuno K, et al. Effect of secondary insults upon aquaporin-4 water channels following experimental cortical contusion in rats[J]. *J Neurotrauma*, 2010, 27(6): 229-239.
- [14] Schwarzmaier SM, Kim SW, Trabold R, et al. Temporal profile of thrombogenesis in the cerebral microcirculation after traumatic brain injury in mice[J]. *J Neurotrauma*, 2010, 27(1): 121-130.
- [15] Matthew TH, Carter TS, Ravi SR, et al. Regional Differences in cerebral edema after traumatic brain injury identified by impedance analysis[J]. *J Surg Res*, 2010, 159(1): 557-564.
- [16] Hartings JA, Strong AJ, Fabricius M, et al. Spreading depolarizations and late secondary insults after traumatic brain injury[J]. *J Neurotrauma*, 2009, 26(11): 1857-1866.
- [17] Saadoun S, Papadopoulos MC. Aquaporin-4 in brain and spinal cord oedema[J]. *Neuroscience*, 2010, 168(4): 1036-1046.
- [18] 李启明, 沙杜鹃, 张均. 水通道蛋白-4 与脑水肿[J]. 国际脑血管病杂志, 2010, 18(8): 624-631.
- [19] Nagelhus EA, Ottersen OP. Physiological roles of aquaporin-4 in brain[J]. *Physiol Rev*, 2013, 93(4): 1543-1562.
- [20] Papadopoulos MC, Verkman AS. Aquaporin water channels in the nervous system[J]. *Nature Rev Neurosci*, 2013, 14(4): 265-277.
- [21] Finnie JW, Blumbergs PC, Manavis J. Aquaporin-4 expression after experimental contusional injury in an ovine impact-acceleration head injury model[J]. *J Clin Neurosci*, 2011, 18(7): 947-950.
- [22] Badaut J, Fukuda AM, Jullienne A, et al. Aquaporin and brain diseases[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1840(5): 1554-1565.
- [23] Kleffner I, Bungaroth M, Schiffbauer H, et al. The role of aquaporin-4 polymorphisms in the development of brain edema after middle cerebral artery occlusion[J]. *Stroke*, 2008, 39(4): 1333-1335.
- [24] Sun MC, Honey CR, Berk C, et al. Regulation of aquaporin-4 in a traumatic brain injury model in rats[J]. *J Neurosurg*, 2003, 98(3): 565-569.