



论文

血管舒张因子 NO 在神经-血管偶联过程中扩散动力学的仿真建模

杨勇^{①②}, 王明来^①, 范影乐^①, 郑筱祥^{②*}^① 杭州电子科技大学, 生物医学工程系, 杭州 310018;^② 浙江大学, 生物医学工程与仪器科学学院, 杭州 310028

* 联系人, E-mail: zxx@mail.bme.zju.edu.cn

收稿日期: 2010-01-26; 接受日期: 2010-02-25

国家自然科学基金(批准号: 30770685)资助项目

摘要 神经-血管偶联机制至今还没有完全被阐明. 对脑微循环的研究表明, 位于皮层内的微动脉的舒张代表着神经-血管偶联过程中的最初血流响应机制. 一氧化氮(NO)被认为是介导微动脉舒张的最重要因子之一, 为了探讨 NO 在微动脉舒张过程中作为关键因子的作用, 本文开展了基于大脑功能柱水平, 由功能刺激产生的 NO 在神经-血管偶联过程中扩散动力学的时空模式的仿真建模研究. 在大脑功能柱形态分析的基础上, 建立 NO 扩散数学模型. 应用该模型, 清晰地阐述了由功能刺激产生的 NO 在时间维度和空间维度的扩散过程. 计算机仿真结果表明, 由功能刺激产生的 NO, 其扩散主要被限制在功能柱内. 因此, NO 作用的影响区域也就被限制在功能柱内. 在时间维度上, NO 信号大约维持 1 s 左右. 本研究从四维时空角度探讨由功能刺激产生的血管舒张因子的响应模式, 为最终阐明神经-血管偶联机制提供了一种新的途径.

关键词一氧化氮
时空动力学
功能柱
神经血管偶联
动脉舒张

神经-血管偶联(neurovascular coupling)即由神经活动导致该局部区域脑血流量增加, 其机制目前还未被完全阐明. 从动力学的角度分析, 神经-血管偶联的血流响应过程是一个具有空间扩散项的时空过程, 此响应过程是由被刺激神经元产生的介导因子诱发而产生. 因此, 要充分理解神经-血管偶联机制, 必须探讨介导因子的时空动力学. 到目前所研究过的介导因子当中, 一氧化氮(nitric oxide, NO)已被认为是介导微动脉舒张的最重要因子之一^[1], 其介导作用已得到不同实验的支持, 如不同脑区中的神经型一氧化氮合酶(neuronal nitric oxide synthase, nNOS)的免疫组化研究^[2]一氧化氮合酶抑制剂抑制脑血流

的药理学研究^[3]及在小脑局部脑区血流灌注的功能成像研究等^[4]. 然而, 由于方法和技术的限制, 目前仍难以对神经-血管偶联过程中 NO 扩散的时空动力学进行在体实验动物研究.

对于像神经-血管偶联这种复杂现象, 应用计算机进行仿真模拟是有效的方法之一. 目前已有一些有关在神经系统中 NO 如何进行扩散的理论建模研究^[5~9]. 在最近的仿真建模研究中, Philippides 等人^[10]探讨了由神经丛(plexus)产生的 NO 作为合作信号(cooperative signaling)扩散的时空动力学过程. 神经丛存在脊椎动物及无脊椎动物中, 是由神经纤维组成的蘑菇体状结构. 根据仿真结果, 他们推测神经丛

英文版见: Yang Y, Wang M L, Fan Y L, et al. Modeling columnar spatiotemporal dynamics of nitric oxide as a primary controlling element of arterioles dilation during neurovascular coupling. *Sci China Life Sci*, 2010, doi: 10.1007/s11427-010-0064-x

这种大脑皮层形态的功能意义可能是参与脑血流的调节. 然而, 脑解剖研究表明, 大脑皮层神经纤维不与微动脉直接接触^[11]. 因此, 神经丛结构的功能是否是血流量调节的一种形态学上的适应需进一步探讨.

实际上对哺乳动物而言, 大脑皮层结构更基本的特点是功能柱结构^[12,13]. 大脑功能柱不仅在形态上, 而且在构成上也不同于神经丛结构. 如神经丛主要由直径小于 1 μm 的神经纤维构成, 而大脑功能柱构成非常复杂, 包括神经胶质细胞和神经元(通常神经元在水平方向按层分布)及血管网络(一般于大脑表面垂直分布). 对脑微循环的研究表明, 调节进入毛细血管网血流量的基本功能单位是微动脉. 因此, 位于皮层内的微动脉的舒张代表着神经-血管偶联过程中的最初血流响应机制. 由于微动脉的分布和功能柱密切相关, 因此, 研究神经-血管偶联机制, 必须直接在功能柱水平进行研究.

本文为研究 NO 在功能柱水平的扩散动力学过程, 首先建造了一个基于大脑功能柱形态的 NO 扩散物理模型. 并作基本假设: 当功能柱被功能性刺激激活后, 在柱内将产生一个 NO 脉冲; 产生的 NO 扩散作用于周围动脉; 一旦 NO 浓度达到阈值(NO 使动脉平滑肌细胞舒张的最低浓度), 在功能柱内或者附近的动脉将有效地舒张平滑肌细胞, 并随后扩张动脉以增加血液流量. 应用该模型, 从仿真角度清晰地阐述了由功能刺激产生的 NO 在时间维度和空间维度扩散的过程.

1 材料与方法

1.1 模型的生理与解剖学基础

激活的大脑皮质功能柱的几何结构被作为一种物理模型来模拟.

(1) 功能柱的几何学. 解剖学上, 皮质功能柱的直径大小在 300~600 μm 不等. 基于 Hubel 与 Wiesel^[12], Paxinos 与 Watson^[14]的观察, 功能柱在视觉皮层区域组成更大的结构单位, 称为超柱(hypercolumns). 在大鼠脑皮层, 一个典型的超柱有一个长方体, 其底面是边长约 1000 μm 的正方形, 深度约为 1800 μm . 基于大鼠视觉超柱的解剖学分析, 构建了一个典型超柱的几何图形(图 1(A)).

(2) 氮能神经元(nitergic neurons)在功能柱内的扩散. 氮能神经元是含神经型一氧化氮合酶的神经元, 氮能神经元在刺激状态下产生 NO. 因此, 功能柱的几何结构被确定后, 另一个必须确定的先决条件是 NO 在柱内的浓度分布如何? 这取决于氮能神经元在功能柱内的分布情况. nNOS 的免疫细胞学研究表明, 含有 NOS 的神经元稀疏地分布在大脑皮层, 比例约为 2%^[11]. 目前尚不清楚稀疏的氮能神经元是否均匀地分布在柱内. 但近期的一项关于 NO 在大鼠大脑不同皮层分布的研究指出, 产生 NO 的皮层间差异只存在于产后早期阶段, 在成熟的大脑没有皮层间差异^[15]. 因此, 认为整个矩形超柱有着均匀 NOS 分布是合理的.

(3) NO 作为神经-血管偶联中动脉扩张的一个主要控制因子. 大脑由血管网络供给养分和氧气. 软脑膜表面动脉在大脑表面水平分布, 皮质动脉(由软膜动脉分枝产生)从大脑表面垂直进入皮质柱并分支成许多小动脉、微动脉和前毛细血管小动脉, 最后形成一个高度吻合的大脑毛细血管网^[16]. 据 Woolsey 等人^[17]的研究, 一个功能柱内至少有几个皮质动脉. 因此, 解剖学上, 神经元和柱内的动脉是相互联系的. 一旦产生 NO, 将迅速扩散作用于动脉中的平滑肌细胞, 使平滑肌能够舒张. 因此, 认为 NO 是神经-血管偶联中动脉扩张的一个主要控制因子. 神经元和动脉在功能柱内的分布见图 1(B).

1.2 NO 扩散的控制方程

在激活状态下, 功能柱内进行 NO 的生物合成, 并在柱内外自由地扩散. 为描述扩散的动态过程, 使用以下修改过的扩散方程^[18]:

$$\frac{\partial C(\vec{r}, t)}{\partial t} - D \left(\frac{\partial^2 C(\vec{r}, t)}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 C(\vec{r}, t)}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 C(\vec{r}, t)}{\partial z^2} \right) = -\text{Sink}(\vec{r}_x) g C(\vec{r}_x, t) + S(\vec{r}_x, t),$$

在该方程中, $C(\vec{x}, t)$ 是点 $\vec{x}$ 在时刻 t 的浓度, D 是扩散系数^[7,9]. 函数 $S(\vec{x}, t)$ 代表神经元被激活时柱内 NO 合成的强度, 定义为每秒产生的 NO 浓度(单位: $\text{mol} \cdot \text{单位体积}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$). 在仿真过程中, 假设神经元均匀分布在柱内, 从而 $S(\vec{x}, t)$ 与特定的结构和位置无关. 因此, $S(\vec{x}, t) = S(t)$.

式子 $Sink(\bar{x})gC(\bar{x},t)$ 是一个失活的函数, 用于表征各种氧化反应和结合血红素过程中损失的 NO. 由于认定神经元是均匀分布在柱内的, 故可以假设 $Sink(\bar{x})=k$.

假设 NO 的衰减是一级反应, 从而得到:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad equ.2,$$

$t_{1/2}$ 被定义为 NO 的半衰期.

1.3 计算方法

使用有限元法进行仿真模拟, 该方法已在数值

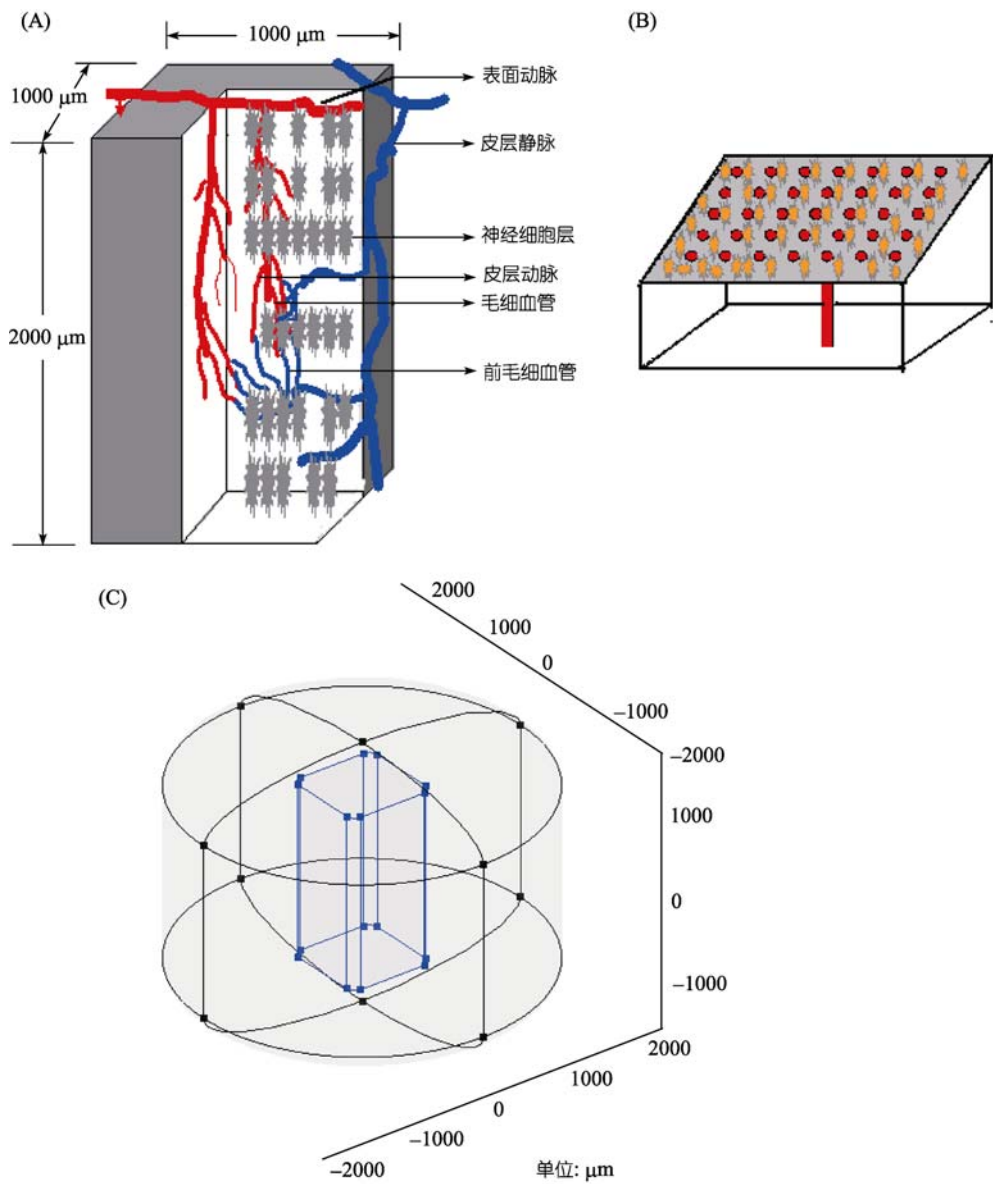


图 1 物理模型的描述

(A) 皮层超柱的几何结构和血管层次分布. 灰色矩形块代表超柱结构(白色为其剖面). 加粗的不同的红色和蓝色线条代表了各种动脉和静脉分支, 其中分别包括软膜动脉、皮质动脉、皮质微动脉、皮质静脉、前毛细血管和毛细血管区带. 灰色星点代表在超柱状体内神经元的层分布; (B) 神经元和动脉分布的功能柱的一部分; (C) 物理模型结构

计算的说明中介绍^[19].

在计算过程中, 包括网格和数值分化与整合, 在以相对精度为 1% 的偏微分方程处使用执行 Comsol Femlab(www.comsol.com)来完成.

初始和边界条件设定如下:

(1) 物理模型的结构显示在图 1(C).

(2) NO 初始浓度. NO 初始浓度(或 NO 阈值)计算机模拟必须考虑的重要参数. 但是, NO 在体内的浓度从 1 $\mu\text{mol/L}$ 到 1 nmol/L 在已报道的文献中一直具有争议^[20,21]. 本模型关注激活状态和稳定状态中不同 NO 浓度数量级的变化. 例如, 假设在激活状态 NO 的浓度是稳定状态的 2~3 个数量级(如果假定 NO 在稳定状态是 1 nmol/L , 其值在激活状态可能是 100~1000 nmol/L). 由于在浓度的数量级是独立的, 所以, NO 的浓度无论是在纳摩尔级别或是在微摩尔级别都不会影响建模. 近期研究表明, NO 可能在纳摩尔级^[22]. 假设 NO 在脑组织中的阈值(最低浓度)为 1 nmol/L .

(3) 当刺激产生, 假设 NO 只在功能柱内合成, 不会在柱外合成. 如上所述, 在实际的生理条件下, 柱内存在的 NO 的浓度是稳定的, 但这个浓度比激活状态下的浓度要低得多(如上所述低 2~3 个数量级), 因此, 可以忽略柱外产生的 NO. 此外, 柱内的血管内皮细胞也产生 NO, 同样认为这些 NO 的浓度与激活状态下产生的浓度要低很多, 因此忽略血管和神经元 NO 的对流运输.

(4) 边界条件. $g(\text{dc}/\text{dx}, \text{dc}/\text{dy}, \text{dc}/\text{dz})=f(x, y, z)$.

(5) NO 增加过程用方波来模拟.

(6) 整个大脑被假设为有足够大的空间使 NO 扩散, 因此可以被看作是无限的空间.

1.4 设置 NO 的源强度

由一般的扩散方程可知, 影响 NO 传播的主要因素是源强度(NO 的产生速度)和 NO 的固有参数(如扩散系数 D 和 NO 的半衰期)等. 仿真过程可将扩散系数 D 和 NO 的半衰期($t_{1/2}$)设为正常值, 然后改变其他参数, 以详细讨论不同参数改变对 NO 在功能柱内扩散的影响.

S 值(每秒产生 NO 的浓度)可通过实验计算得出. 然而, 各种 S 值在文献中已有报道^[23,24]. 这些差异可能反映了不同 NO 产生速率和/或不同的 NO 测量方法. 本模型关注由整个功能柱产生的浓度. 这个浓度

取决于特定皮层柱的激活程度, 因不同程度的激活而不同. Buerk 等人^[25]已经计算出对大鼠后爪进行电子刺激后大脑皮层产生的 NO 的生成速率. 在考虑文献和本实验测量 NO 实验的基础上, 设置 S 的常值为 5000 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$, 这意味着一串电刺激下功能柱内 NO 浓度达到的峰值为 100 ms 内 250 nmol/L . 不同 S 值的设定决定于它们对 NO 扩散的影响.

2 结果

2.1 单个柱内单个 NO 脉冲产生时 NO 的扩散

首先模拟最简单的 NO 扩散情况, 也就是在单个功能柱内, 一个 NO 脉冲产生时 NO 的扩散情况(参数设置见图 2). 图 2 显示单个串刺激下产生一个 NO 脉冲的情况. 图 2(A)显示了在超柱状体中 NO 扩散的一个横截面, 二维扩散见图 2(B)(图中伪色彩表明 NO 的扩散浓度). 由图可见, 在中心点 NO 浓度高于参考点(功能柱外的一点), 表明功能刺激下产生的 NO 主要集中在激活区域的中心. 此属性使得 NO 作用具有局部的特性.

关于 NO 在时间维度的扩散, 图 2(C)显示了 NO 在功能柱的中心点和参考点(功能柱外的一点, 为一个功能柱的距离)浓度剖面. 除了在参考点和中心点不同程度的 NO 浓度, 还可以从此图观察到, NO 浓度的持续高于某一给定的阈值(如图虚线所示)的时间, 在参考点和中心点分别是 0.4 和 0.6 s. 两种刺激 NO 反应时间均小于 1 s.

2.2 不同刺激强度对 NO 扩散的影响

刺激强度对 NO 扩散是最重要的影响因素. 接下来研究单个被激活的皮质功能柱内刺激强度(S 值)变化对 NO 扩散的影响. 为清楚阐明 NO 扩散的时空动力学, 定义了 2 个特征值来表征 NO 扩散的动态过程, 即“影响时间”和“影响半径”. “影响时间”是在给定区域 NO 浓度在阈值浓度以上的持续时间, “影响半径”被定义为在一定时间内 NO 浓度高于阈值浓度的范围. 这 2 个特征值的生理学意义是动脉将在“影响时间”和“影响半径”的范围内进行舒张, 血流动响应过程可用其描述.

在仿真过程中, 设置了不同的 S 值, 而参数 $t_{1/2}$ 和系数 D 是不变的. 结果表明, “影响半径”随着 S 值的增强而变大(图 3). S 值在 1000~5000 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ 范

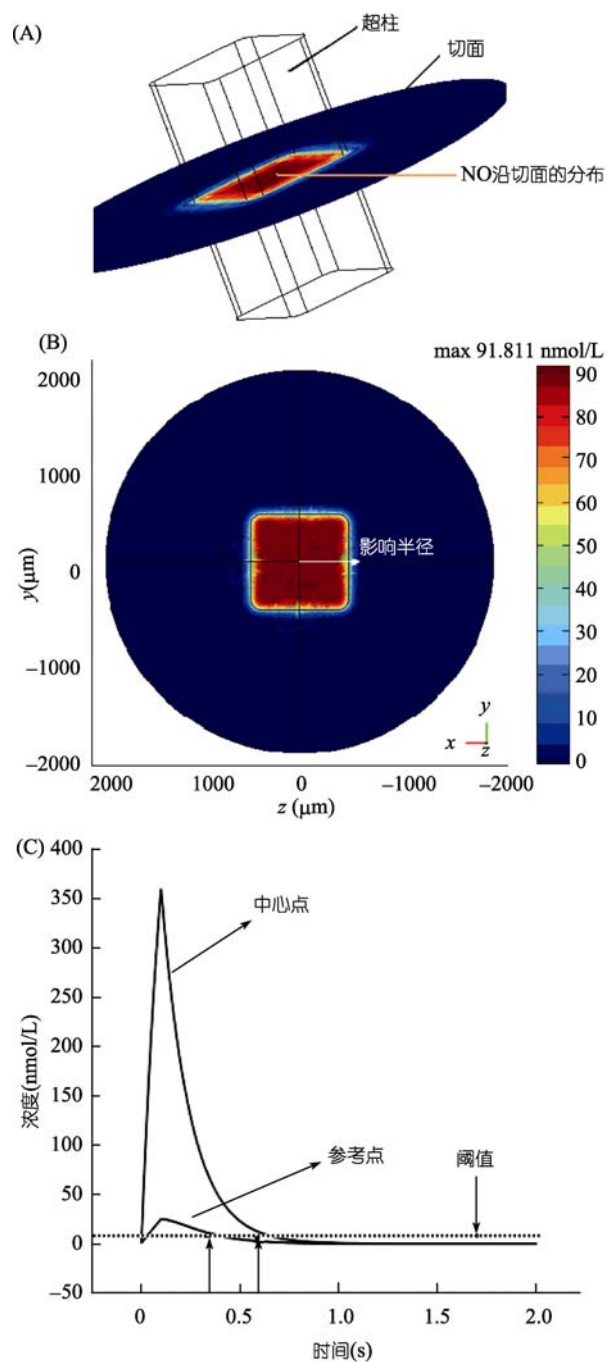


图2 在给定的激活超柱中 NO 扩散浓度的剖面图

(A) 显示了在超柱中 NO 扩散的横截面; (B) 显示了 NO 的二维扩散(伪色彩表明 NO 扩散浓度: 红色表明饱和 NO 浓度, 黄色和绿色以递减顺序表明较低的浓度); (C) 显示了在功能柱的中心点和参考点 NO 浓度变化的时间过程。虚线表示 NO 的阈值。虚线箭头表示在中心点和参考点 NO 浓度的持续时间持续高于阈值。此处使 $t_{1/2}=100$ ms, NO 源生物合成时长为 100 ms, $D=3300 \mu\text{m}^2/\text{s}$, $S=5000 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$, 峰值浓度为 361.21 nmol/L

围内对“影响半径”的影响最大。当 S 值大于 $5000 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ 时影响变弱, 如当 S 值从 5000 增强至 $25000 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ 时, “影响半径”只从 $837 \mu\text{m}$ 增大到 $857 \mu\text{m}$, 即脉冲强度增加了 5 倍, 而净“影响半径”($857 \mu\text{m}-837 \mu\text{m}=20 \mu\text{m}$)增加很少。该结果表明, NO 只对一个激活的功能柱内部或附近的动脉产生作用, 即 NO 的扩散范围是有限的、局部的, 最大“影响半径”小于 $900 \mu\text{m}$ 。因为功能柱半径为 $500 \mu\text{m}$, 可以计算出最大的净“影响半径”为 $400 \mu\text{m}$ ($900 \mu\text{m}-500 \mu\text{m}$)表明, “影响半径”不会超越另一功能柱(这里为 $500 \mu\text{m}$), 即使功能柱受到最强的刺激。

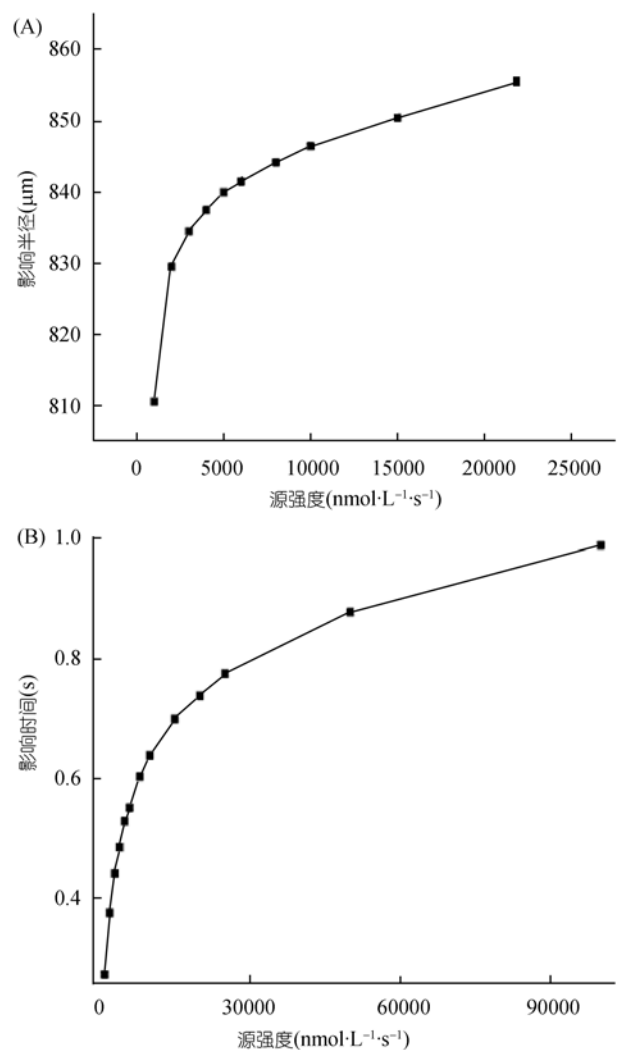


图3 刺激强度变化对 NO 扩散的影响

(A) S 值改变对“影响半径”的影响; (B) S 值改变对“影响时间”的影响。 $t_{1/2}=100$ ms, $D=3300 \mu\text{m}^2/\text{s}$, 极限值: 1 nmol/L

“影响时间”随着 S 值的增强而增加(图 3(B)). S 值在 $1000 \sim 3000 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 范围内的变化导致的“影响时间”增加要比 S 值在 $3000 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 以上范围大的多. “影响时间”将在 S 值为 $9000 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 时达到最大并基本保持不变. 可以从曲线发现, “影响时间”的上限约为或小于 1 s . 结果表明, NO 引起的皮质功能柱内的血流动力学反应的持续时间小于 1 s .

2.3 不同占空比对 NO 扩散的影响

在生理学条件下, 刺激通常是系列串刺激而不是一个单个的刺激. 为验证一个功能柱中系列串刺激和单个刺激对 NO 的扩散行为是否有差异, 因此研究系列串刺激对 NO 扩散的影响. 这里, 占空比这一概念用于描述系列串刺激的过程. 刺激长度(NO 产生的方波)与整个持续时长的比例被称作占空比(脉冲串长度/脉冲长度, 如 200 ms 刺激时长/ 500 ms 脉冲持续时长, 占空比=0.4). 研究占空比的变化对 NO 扩散的影响. 图 4(B)显示在中心点和参考点 NO 浓度随占空比的增加而增加, 但是在中心点的增加程度远大于参考点. 再一次表明, 在连续刺激下, NO 的作用也是局部的.

图 4(C)给出当 $t=500 \text{ ms}$ 时, 不同占空比情况下, NO 浓度分布剖面图(沿着过中心点的一条线). 浓度分布图清楚地表明, 串刺激下 NO 浓度和“影响半径”都大于单个刺激. 如当占空比为 0.1 时, 中心点的 NO 浓度约为 13 nmol/L , “影响半径”约为 $580 \mu\text{m}$; 而当占空比为 0.2 时, 相应的值分别为 25 nmol/L 和 $680 \mu\text{m}$. 结果表明, 连续刺激导致 NO 的浓度大大增加. 如果比较这两种刺激方法产生的“影响半径”增加程度(改变源强和改变占空比的方法), 可以发现, 改变占空比导致的“影响半径”增加远高于改变源强度导致的“影响半径”增加. 如当占空比从 0.1 增加至 0.2 时, “影响半径”的净增值约为 $100 \mu\text{m}$ ($680-580$), 而当源强从 5000 增加到 $25000 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 时, 这个值仅为 $50 \mu\text{m}$. 据此可以推断, 生理学上, 增加刺激频率较增加刺激强度可能更有效.

2.4 激活区域范围变化对 NO 横向扩散的影响

上述结果是只有一个功能柱被激活时的情况. 在实际生理情况下, 通常是多个功能柱被激活. 接下来研究当多个功能柱被激活后 NO 的扩散. 基于图 5 中对几何结构的定义, 受激活皮层区的大小按几何阵列排列为 1×1 , 2×2 , 3×3 , 4×4 和 5×5 , 分别代表一个

区域为 1, 4, 9, 16, 25 的功能柱. 不同的阵列边长分别为 $1000, 2000, 3000, 4000$ 和 $5000 \mu\text{m}$. 这些边长代表被激活脑区的大小. 这里假设在功能柱内氮能神经元是均匀分布并且在功能柱内没有对流存在.

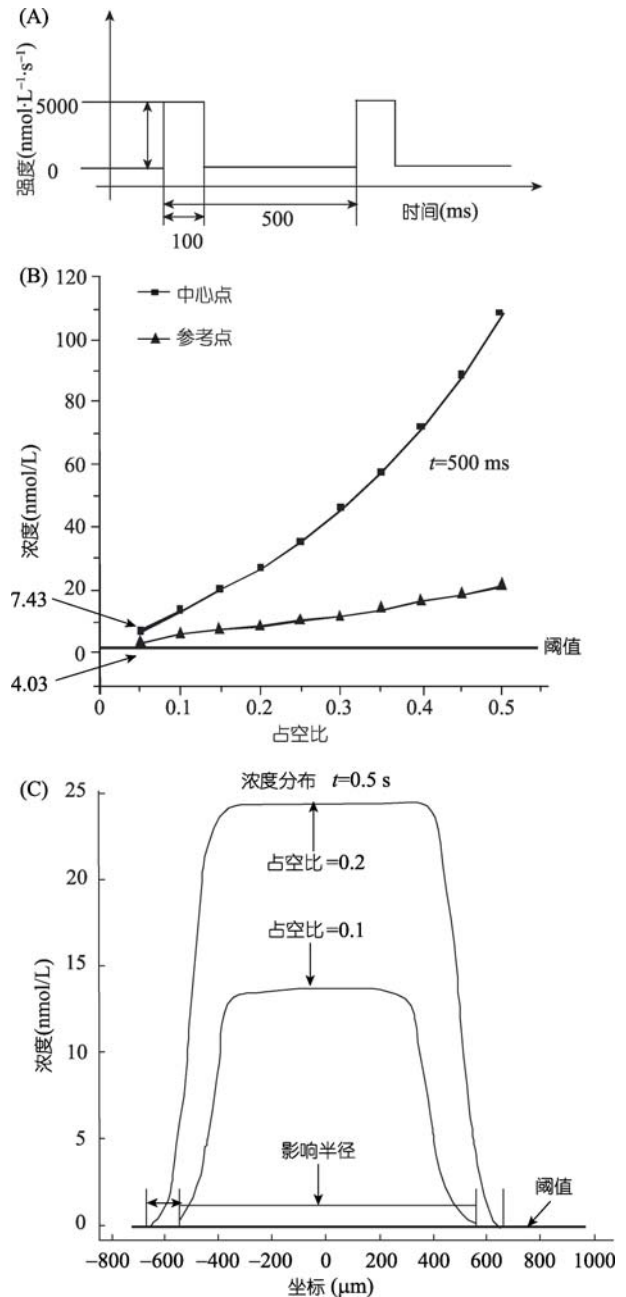


图 4 连续刺激下 NO 的扩散

(A) 占空比定义示意图; (B) 占空比在中心点和参考点对 NO 最高浓度($t=500 \text{ ms}$ 时在单个脉冲的末尾)的影响; (C) 在 $t=500 \text{ ms}$ 时, 不同占空比情况下, 沿着过中心点的一条线的 NO 浓度分布的剖面图. $t_{1/2}=100 \text{ ms}$, $D=3300 \mu\text{m}^2/\text{s}$, 阈值: 1 nmol/L

图 5 显示了激活区域大小与“影响半径”的关系。“影响半径”将随着边长增大而增大。如边长为 $1000\ \mu\text{m} \times 1000\ \mu\text{m}$ 时,“影响半径”约为 $650\ \mu\text{m}$, 边长为 $2000\ \mu\text{m} \times 2000\ \mu\text{m}$ 时, 约 $1200\ \mu\text{m}$ 。显然比较绝对值的大小意义不大, 不如比较不同的阵列下“影响半径”的净增加更有意义。因此定义一个特征参数为“延伸区”: 对于一个给定的被激活的功能柱, 有效的“影响半径”减去功能柱边长。比较结果如图 5(B)所示。发现, 对于受到一个刺激的功能柱, “延伸区”约为 $150\ \mu\text{m}$ ($650\ \mu\text{m} - 500\ \mu\text{m}$), 然而当其为 $2000\ \mu\text{m} \times 2000\ \mu\text{m}$ 时, “延伸区”为 $200\ \mu\text{m}$ (在一定刺激下)。显然, “延伸区”会随着被激活脑区的扩大而增大。

为进一步比较, 定义另一个称为“延伸比”的参数(这里定义为对于一给定的被激活区域, 2 倍的延伸区半径除以激活区边长)时, 可以发现“延伸比”将随着边长的增加而减小(图 5(C))。如当大小为 $1000\ \mu\text{m} \times 1000\ \mu\text{m}$ 时, “延伸比”约为 0.6, 当大小为 $2000\ \mu\text{m} \times 2000\ \mu\text{m}$ 时, 约为 0.55。结果表明, 被激活区域的大小变化对 NO 扩散有影响, 但是影响有限。

2.5 不同 NO 参数对 NO 扩散的影响

Philippides 等人^[10]在模拟实验中深入研究了基于神经丛形态的里 NO 半衰期 $t_{1/2}$ 和 NO 扩散系数 D 对 NO 扩散的影响。这里, 将专一地探讨在一个明确形态的功能柱内这些参数变化对 NO 扩散行为的影响。NO 扩散系数 D , 在盐水溶液和类脂中约为 $3300\ \mu\text{m}^2/\text{s}$ 。然而, 一些研究表明, NO 并不像预期的像在盐水溶液或血脂中那样几乎自由地在体内扩散。因此, 从 2~0.1 倍的标准值改变 D ($3300\ \mu\text{m}^2/\text{s}$)。结果表明, 扩散系数 D 没有影响“影响半径”(数据未显示), 但是影响“影响时间”。同时发现, 扩散系数 D 不仅影响参照点, 而且其在功能柱内的影响是不变的(图 6(A))。系数 D 对“影响时间”最大的影响在 $330 \sim 3300\ \mu\text{m}^2/\text{s}$ 范围内。如上所述, $3300\ \mu\text{m}^2/\text{s}$ 是在盐水的基础上得到的。系数 D 在脑内的实际作用尚未被阐明, 但是由于脑组织的高黏度性, 其值必定小于 $3300\ \mu\text{m}^2/\text{s}$ 。

NO 的半衰期($t_{1/2}$), 由文献[26,27]可知, NO 在体内的半衰期值是不确定的, 取决于周围的反应物。因此, 设定从 5 s 到 0.1 ms 不同的 $t_{1/2}$ 值, 并观察在一个被激活功能柱内 NO 扩散的结果。对“影响时间”和“影响半径”的影响分别见图 6(B)和(C)。结果表明,

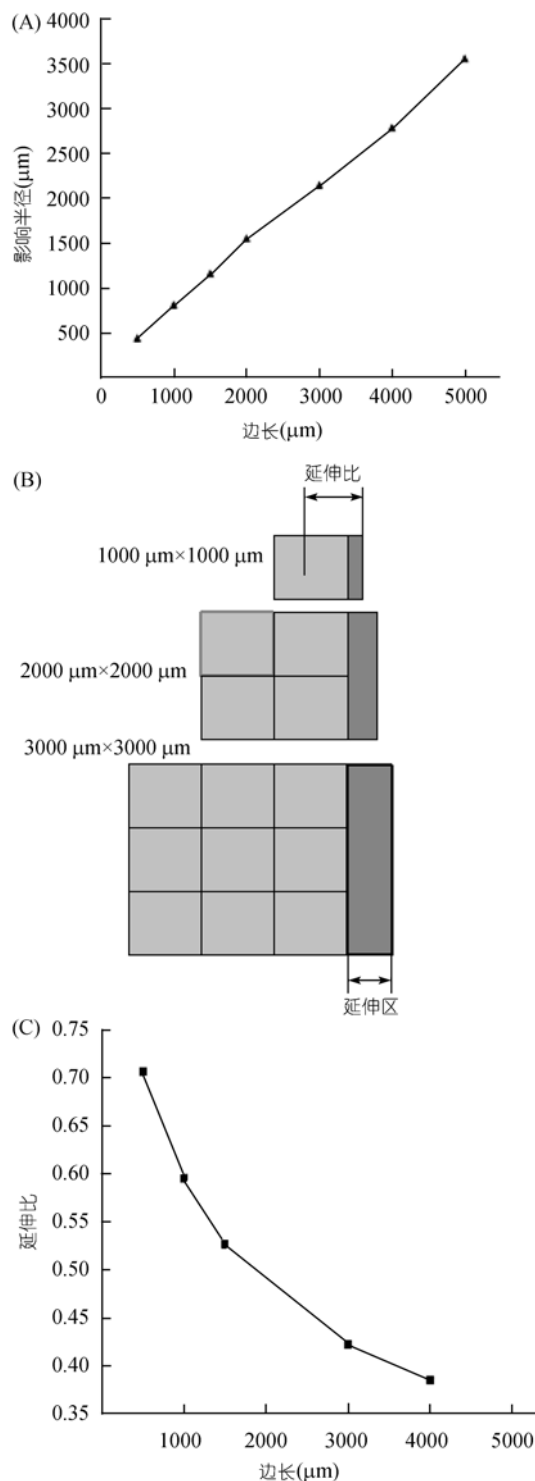


图 5 激活区域大小变化对 NO 横向扩散的影响

(A) “影响半径”随着被激活区域的增大而增大; (B) 表明“延伸区”也随着被激活区域的增大而增大; (C) 表明了“延伸比”随着被激活区域的增大而减小

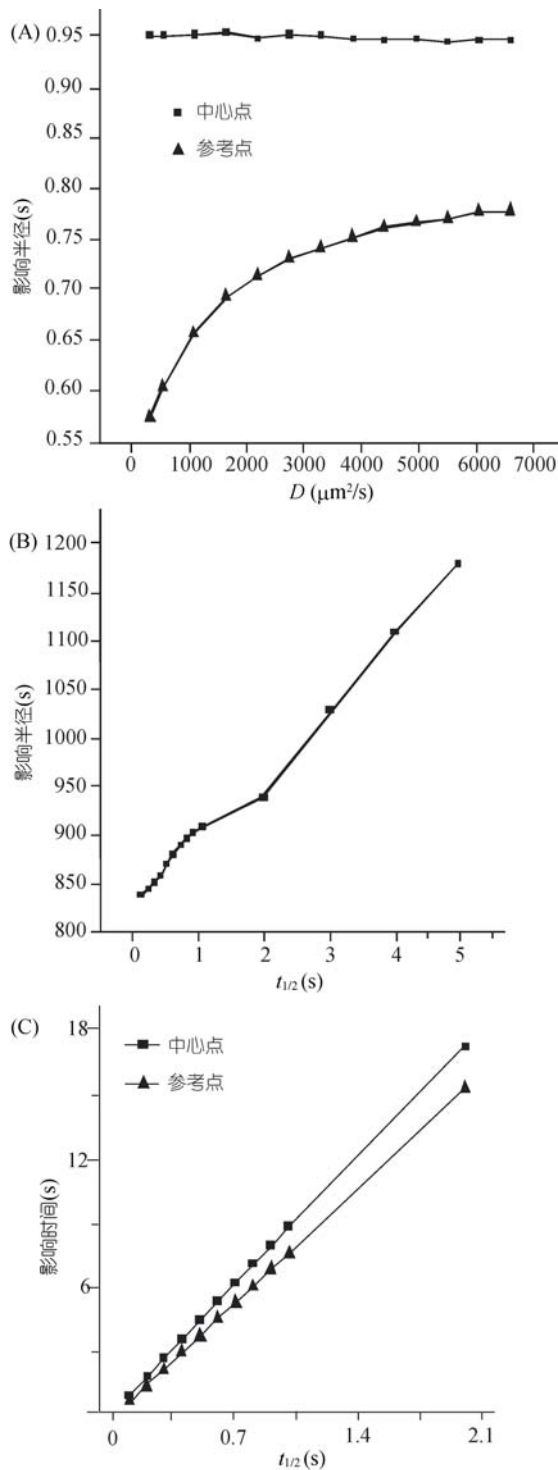


图6 在被激活的功能柱内改变NO参量对NO扩散的影响
(A) 系数 D 对NO扩散的影响($t_{1/2}=100$ ms, $S=5000$ nmol·L⁻¹·s⁻¹); (B) 和(C) 分别表示半衰期($t_{1/2}$)对NO扩散(“影响时间”和“影响半径”)的影响

$t_{1/2}$ 对“影响时间”和“影响半径”的影响很大. 在研究范围内发现了一个“影响时间”、“影响半径”和 $t_{1/2}$ 的大致线性关系. NO 在脑组织中扩散时 $t_{1/2}$ 值是确定.

3 讨论

最近, 已经有一些研究团队运用成像技术在大脑功能柱层面探讨神经-血管机制, 如啮齿类的感觉运动皮层功能柱、人的眼优势柱、猫的方向柱等^[28-30]. 本研究重点探讨了 NO 在功能柱水平扩散的时空动态过程, 深入分析了在神经-血管偶联下动脉扩张中作为主要控制因子 NO 的作用. 计算机模拟的结论是: 当脑区, 如功能柱被激活后, 功能性刺激产生的 NO 主要集中在功能柱中, 这一特性使 NO 在空间中的传递是有限的. 因此, 在神经-血管偶联中的调节脑血流过程中, NO 的作用具有局部性.

Phillipiddes 等人^[10]也具体讨论了由脑神经丛产生的 NO 在调节脑血流量中的可能性, 因而, 由此而引出的问题是在脑血流调节中哪个形态(神经丛或功能柱)是更适合的作为脑血流调节的一种形态? 解剖学研究表明, 大脑皮层的神经纤维通常不与动脉相联^[11], 而在大脑功能柱内外分布着许多小动脉, 因此, 从解剖学角度来看, 功能柱的形态更为合适. 此外, 考虑在刺激区域中由 2 个不同形态(神经丛或功能柱)产生的 NO 浓度, 由于在神经元细胞体和树突中 nNOS 合酶分布的不同, 大脑功能柱产生的 NO 浓度可能比神经丛产生的要高^[31]. NO 浓度越高使得 NO 作用的距离越远、越有效. 综合考虑以上这两个方面, 同时考虑突触后产生的 NO 参与各种突触可塑性^[8,32], 推测被激活的功能柱产生的 NO 可能被作为神经-血管偶联过程中的介导因子, 由神经丛产生的 NO 可能在突触可塑性中扮演神经递质的角色.

对于在功能激活中 NO 信号作用的时间维度, 本模拟结果表明, NO 的有效浓度(阈值以上浓度)保持在不到 1 s 非常短的时间内. 然而, 激光多普勒研究表明, 在神经-血管过程中血流响应的峰值会保持几秒. 怎样解释仿真模拟结果和激光多普勒测量结果在时间维度上的不一致性? 推测有两个主要原因导致这种不一致性. 第一是在皮层表面的血流响应和功能柱内的血流响应存在差异. 功能柱内的血流响应是初级血流响应, 而大脑表面的血流响应是次级血流响应. 由激光多普勒检测到的血流量变化可能

同时反映大脑表面和功能柱深层的终动脉的血流响应信号。在血液动力反应中初级和次级血流响应之间可能有一次延迟或反应不一致。另一个原因可能是在 NO 之后存在其他血管活性因素或信号通路延长血液动力反应。这些因素或信号通路包括前列腺素^[33], 其在神经-血管偶联过程中的作用最近被关注^[34]。这些不同的中介因素可能在神经-血管偶联的时间窗中

依次导致血流响应。如 NO 可能在第一阶段直接产生作用, 持续时间约为 1 s; 脑血流短暂的增强不能满足大脑营养和氧气的需求, 因此, 需要一个可以继续调制的激励阶段; 前列腺素和星形胶质细胞可能在这个阶段发挥作用。这样一种假设需要更进一步的研究去证实这些中介因素在神经-血管偶联中是否产生顺序作用。

参考文献

- 1 Iadecola C. Regulation of the cerebral microcirculation during neural activity: is nitric oxide the missing link? *Trends Neurosci*, 1993, 16: 206—214
- 2 Knowles R G, Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J*, 1994, 298: 249—258
- 3 Iadecola C, Pelligrino D A, Moskowitz M A, et al. Nitric oxide synthase inhibition and cerebrovascular regulation. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1994, 14: 175—192
- 4 Hayashi T, Katsumi Y, Inoue M, et al. The role of neuronal nitric oxide in the regional neurovascular coupling-Voxel-based comparison between perfusion and metabolic PET images. *International Congress Series*, 2002, 1235: 197—204
- 5 Gally J A, Montague P R, Jr Reeke G N. The NO hypothesis: possible effects of a short-lived, rapidly diffusible signal in the development and function of the nervous system. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 87: 3547—3551
- 6 Montague P R, Gally J A, Edelman G M. Spatial signaling in the development and function of neural connections. *Cereb Cortex*, 1991, 1: 199—220
- 7 Wood J, Garthwaite J. Models of the diffusional spread of nitric oxide: implications for neural nitric oxide signaling and its pharmacological properties. *Neuropharmacology*, 1994, 33: 1235—1244
- 8 Garthwaite J, Boulton C L. Nitric oxide signaling in the central nervous system. *Annu Rev Physiol*, 1995, 57: 683—706
- 9 Philippides A, Husbands P, O'Shea M. Four-dimensional neuronal signaling by nitric oxide: a computational analysis. *J Neurosci*, 2000, 20: 1199—1207
- 10 Philippides A, Ott S R, Husbands P A, et al. Modeling cooperative volume signaling in a plexus of nitric oxide synthase-expressing neurons. *J neurosci*, 2005, 25: 6520—6532
- 11 Estrada C, DeFelipe J. Nitric oxide-producing neurons in the neocortex: morphological and functional relationship with intraparenchymal microvasculature. *Cereb Cortex*, 1998, 8: 193—203
- 12 Hubel D H, Wiesel T N. Sequence regularity and geometry of orientation columns in the monkey striate cortex. *J Comp Neurol*, 1974, 158: 267—293
- 13 Mountcastle V B. The columnar organization of the neocortex. *Brain*, 1997, 120: 701—722
- 14 Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. San Diego: Academic Press, 1998
- 15 Imura T, Kanatani S, Fukuta S. Layer-specific production of nitric oxide during cortical circuit formation in postnatal mouse brain. *Cereb Cortex*, 2005, 15: 332—340
- 16 Duvernoy H M, Delon S, Vannson J L. Cortical blood vessels of the human brain. *Brain Res Bull*, 1981, 7: 519—579
- 17 Woolsey T A, Rovainen C M, Cox S B. Neuronal units linked to microvascular modules in cerebral cortex: response elements for imaging the brain. *Cereb Cortex*, 1996, 6: 647—660
- 18 Crank J. *The Mathematics of Diffusion*. New York: Oxford University Press, 1980
- 19 Tirupathi R, Chandrupatla, Ashok D, et al. *Introduction to Finite Elements in Engineering*, 3rd ed. New York: McGraw-Hill Publishing Co. 1998
- 20 Artz J D, Toader V, Zavorin S I. *In vitro* activation of soluble guanylyl cyclase and nitric oxide release: comparison of NO donors and NO mimetics. *Biochemistry*, 2001, 40: 9256—9264
- 21 Mo E, Amin H, Bianco I H, et al. Kinetics of a cellular nitric oxide/cGMP/phosphodiesterase-5 pathway. *J Biol Chem*, 2004, 279: 26149—26158
- 22 Griffiths C, Yamina B, Hall C. Nitric oxide inactivation in brain by a novel O₂-dependent mechanism resulting in the formation of nitrate

- ions. *Biochem J*, 2002, 362: 459—464
- 23 Malinski T, Bailey F, Zhang Z G. Nitric oxide measured by a porphyrinic microsensor in rat brain after transient middle cerebral artery occlusion. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1993, 13: 355—358
- 24 Shibuki K. An electrochemical microprobe for detecting nitric oxide release in brain tissue. *Neurosci Res*, 1990, 9: 69—76
- 25 Buerk D G, Ances B M, Greenberg J H. Temporal dynamics of brain tissue nitric oxide during functional forepaw stimulation in rats. *NeuroImage*, 2003, 18: 1—9
- 26 Griffiths C, Garthwaite J. The shaping of nitric oxide signals by a cellular sink. *J Physiol*, 2001, 536: 855—862
- 27 Thomas D T, Liu X, Kantrow S P, et al. The biological lifetime of nitric oxide: implications for the perivascular dynamics of NO and O₂. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 355—360
- 28 Devor A, Ulbert I, Dunn A K, et al. Coupling of the cortical hemodynamic response to cortical and thalamic neuronal activity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 3822—3827
- 29 Cheng K, Waggoner R A, Tanaka K. Human ocular dominance columns as revealed by high-field functional magnetic resonance imaging. *Neuron*, 2001, 32: 359—374
- 30 Duong T Q, Kim D S, Ugurbil K, et al. Localized cerebral blood flow response at submillimeter columnar resolution. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 10904—10909
- 31 Yong Y, Ning G, Kutor J, et al. Nitric oxide spatial distribution in single cultured hippocampus neuron: investigation by projection of reconstructed 3-D image and visualization technique. *Cell Biol Int*, 2004, 28: 577—583
- 32 Hawkins R D, Son H, Arancio O. Nitric oxide as a retrograde messenger during long-term potentiation in hippocampus. *Prog Brain Res*, 1998, 118: 155—172
- 33 Niwa K, Araki E, Scott G, et al. Cyclooxygenase-2 contributes to functional hyperemia in whisker-barrel cortex. *J Neurosci*, 2000, 20: 763—770
- 34 Koehler R C, Gebremedhin, Harder D R. Role of astrocytes in cerebrovascular regulation. *J Appl Physiol*, 2006, 100: 307—317