

·基础研究·

运动训练对急性脑梗死大鼠行为学及 bFGF、TGF 的影响*

秦颖¹ 马丽媛¹ 倪金霞³ 唐强³ 朱文增³ 王德生²

摘要 目的:观察运动训练对急性脑梗死大鼠脑功能恢复及碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、转化生长因子(TGF)的影响。方法:采用抽签法将30只大鼠随机分为3组,A组(假手术组)、B组(造模组)、C组(运动训练组),采用血管内栓线法制备脑缺血动物模型,术后24h、3d、7d分别进行Bederson神经功能评分、平衡木、转棒、网屏测评及bFGF、TGF的测定。结果:与A组比较,B、C组的Bederson评分各时间点均有极显著性差异($P<0.01$),随着时间的延长,A组的各项指标很快恢复,B、C组功能改善远不及A组,差异有显著意义($P<0.01$);C组平衡木评分在术后3d即与B组差异具有显著性($P<0.05$);术后7d除Bederson评分外,C组与B组比较差异具有显著性意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$);A组与B组术后7d皮质及海马部位均有少量的bFGF及TGF表达,两组间比较无显著性差异($P>0.05$),C组的bFGF及TGF表达明显升高($P<0.01$)。结论:运动训练能提高脑梗死大鼠平衡、行走及抓握能力,增加患肢的肌力,诱导缺血周边区bFGF及TGF的表达。

关键词 脑梗死;碱性成纤维细胞生长因子;转化生长因子;康复

中图分类号:R493.R743 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2006)-12-1072-03

The rehabilitative effects and the expression of bFGF and TGF in rats after acute cerebral infarction/QIN Ying, MA Liyuan, NI Jinxia, et al//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2006, 21(12):1072-1074

Abstract Objective: To observe the effects of rehabilitation training on behavior and expression of bFGF, TGF in rats after acute cerebral infarction. **Method:** Thirty male Wistar rats were randomly divided into 3 groups, group A (sham operation), group B (model) and group C (rehabilitation). Animal model were made through middle cerebral artery obstruction (MCAO), Bederson neural function was scored and balancing wood, rotating bar, and net screen were tested at 24 hours, 3rd and 7th day after operation. The expression of bFGF and TGF of each group were also tested at 7th day after operation. **Result:** Compared with group A, Bederson neural function scores of group B and C indicated significant differences at each time ($P<0.01$). The handicapped ability of grasping, walking and coordinating of all groups happened at 24 hours after operation. However as time went on, every function of group A restored and that of group B or C improved partly, but showed significant differences compared with group A ($P<0.01$). Three days after operation, balancing wood test of group C was better than that of group B ($P<0.05$). Seven days after operation, besides Bederson neural function score, there were significant differences between group C and B ($P<0.01$ or $P<0.05$). Seven days after operation, there were a few bFGF and TGF expressions in hippocampus and cortex areas of group A and B, and there was no difference between this two groups ($P>0.05$), while those of group C greatly increased, compared with group A and B ($P<0.01$). **Conclusion:** The rehabilitation therapy can improve the MCAO rats' ability of balancing, grasping, walking and strengthen the myodynamics, as well as induce the expression of bFGF and TGF in cortex and hippocampus.

Author's address The Second Inpatient Department, The First Clinical Hospital of Harbin Medical University, Harbin, 150001

Key words cerebral infarction; middle cerebral artery obstruction; basic fibroblast growth factor; transforming growth factor; rehabilitation

1 材料与方

1.1 实验材料

健康雄性 Wistar 大鼠(黑龙江中医药大学动物实验中心提供),清洁级,体重在 250—300g。SXP-1B 手术显微镜;显微外科手术器械;强力钓鱼线(直径 0.20—0.25mm);CH-2 型光学显微镜;CH 型摄影

* 基金项目:中国博士后基金课题(中博基[2000]23 号)

1 哈尔滨医科大学第一临床医学院第二住院部,黑龙江省哈尔滨市南岗区邮政街 23 号 150001

2 哈尔滨医科大学第一临床医学院神经内科

3 黑龙江中医药大学附属二院康复科

作者简介:秦颖,女,硕士,主治医师

收稿日期:2006-03-28

显微镜; 免疫组化试剂盒 (武汉博士得生物工程公司); 氨基甲酸乙酯; 4%多聚甲醛。自制滚筒式网状训练器、平衡木、转棒及网屏^[1]。

1.2 实验方法

将大鼠随机分为3组, 假手术组(A组)10例, 造模组(B组)10例, 运动训练组(C组)10例。在室温22℃条件下, 大鼠称重后, 用20%氨基甲酸乙酯腹腔麻醉(1—1.2g/kg BW), 参考Zea-Longa^[2]及廖维靖^[3]方法, 制备急性脑梗死动物模型, 颈部备皮、常规消毒后, 行正中切口, 暴露右侧颈总动脉(common carotid artery, CCA)和迷走神经。钝性分离CCA、颈内动脉(internal carotid artery, ICA)及颈外动脉(external carotid artery, ECA), 结扎ECA及CCA近心端, 并于CCA远心端备线, ICA远心端用微动脉夹夹闭, 于CCA近分叉处切口, 插入与体重相应直径的栓线, 收紧备线, 打开动脉夹, 栓线进入ICA, 插入方向稍向外侧, 以防进入翼腭动脉(pterygopalatine artery, PPA), 当栓线进入17—21mm时, 可感到手下有阻力感, 证明栓线头端已达大脑中动脉处, 进线至大脑前动脉近端, 阻断大脑中动脉的所有血液来源, 扎紧备线, 缝合, 切口局部撒消炎粉, 术后动物注意保温。假手术组只分离动脉, 不结扎、插线。模型成功的标志是大鼠苏醒后出现右眼Horner氏征及右侧肢体偏瘫, 造模组及运动训练组在术后24h内分别有3及4只大鼠因失血过多死亡, 随机补充符合模型要求的动物, 进入观察阶段的动物无死亡, 进入结

果分析数30只。

假手术组大鼠术后置于普通笼中饲养。造模组大鼠术后另置普通笼中饲养, 不予任何治疗。运动训练组大鼠每天置于滚筒式网状训练器内进行转动训练、平衡木上行走训练、转棒上转动训练及网屏抓握训练, 共40min/d。

各组大鼠在术后24h、3d、7d分别按Berderson等制定的评分标准进行神经功能评估, 平衡木测评、转棒测评及网屏测评按照各自的评分标准进行^[1]。

各组大鼠在术后7d均开胸暴露心脏, 用0.85%生理盐水及10%福尔马林溶液各100ml进行心脏灌注, 然后断头取脑, 将脑组织放入福尔马林溶液中固定, 以备免疫组化测定。免疫组化染色程序严格按照试剂盒标注进行, 采用OLYMPUS光学显微镜下观察, 每组选取5张切片, 每张切片在显微镜的目镜下选3个视野, 观察阳性细胞数目(棕黄色样染色)。

1.3 统计学分析

数据采用均数±标准差表示, 组间均数差异的比较用两个独立样本的t检验分析。P<0.05为差异有显著性意义。

2 结果

各组感觉、运动及神经功能评估比较, 见表1。皮质、海马部位梗死周边区可见多个神经元成棕黄色样染色, 各组大鼠脑组织不同部位bFGF及TGF阳性细胞数目比较见表2。

表1 术后不同时间各组大鼠感觉、运动及神经功能评估比较 (n=10, $\bar{x}\pm s$)

项目	假手术组(n=10)			造模组(n=10)			运动训练组(n=10)		
	24h	3d	7d	24h	3d	7d	24h	3d	7d
Bederson评分	0	0	0	2.9±0.4 ^②	2.4±0.5 ^②	2.0±0.5 ^②	2.9±0.4 ^②	2.0±0.5 ^②	1.8±0.5 ^②
平衡木测评	4.8±0.5	2.0±0.5	0.1±0.4	5.0±0	4.0±0.5 ^②	3.5±0.5 ^②	5.0±0	3.3±0.7 ^{②③}	2.9±0.4 ^{②③}
转棒测评	2.5±0.8	1.1±0.4	0.1±0.4	2.8±0.5	2.1±0.4 ^②	2.0±0.5 ^①	2.8±0.5	2.1±0.4 ^②	1.4±0.5 ^{②③}
网屏测评	2.8±0.5	0.4±0.5	0	2.8±0.5	0.4±0.5	0	2.9±0.4	2.1±0.4 ^②	1.2±0.5 ^{②④}

与假手术组同时时间比较①P<0.05, ②P<0.01; 与造模组同时时间比较③P<0.05, ④P<0.01

表2 各组大鼠脑组织不同部位bFGF、TGF阳性数目比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	切片数	皮质区		海马区	
		bFGF	TGF	bFGF	TGF
假手术组	5	1.30±0.96	1.80±0.58	1.50±0.58	1.70±0.50
造模组	5	2.00±0.82	2.70±1.71	1.80±0.96	2.50±1.28
运动训练组	5	23.00±9.58 ^{①②}	22.30±10.21 ^{①②}	23.40±14.25 ^{①②}	14.60±3.24 ^{①②}

①与假手术组比较P<0.01; ②与造模组比较P<0.01

3 讨论

从实验结果可以看出, 各组大鼠术后24h均出现抓握、行走及协调能力障碍, 组间两两比较, 无显著性差异(P>0.05)。对于A组出现的各种功能障碍, 估计与术中对血管较多的操作及对气管、神经的牵

拉有关, 而B、C组出现的神经功能评估缺损说明大鼠大脑中动脉阻塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)后, B、C组大鼠均有一定程度的皮质缺血, 造模比较理想。随着时间的延长, A组的各项指标恢复得很快, B、C组也有一定程度的改善, 但远不及A组, 差异显著(P<0.01), 而且这种差异一直持续到7d, 说明副损伤造成的各种功能缺损是暂时的, 而脑缺血后所致的各种功能缺损因神经元缺血性改变而恢复较慢。与B组比较, 缺血后3天, C组平衡木试验差异显著(P<0.05), 缺血后7d, 除Berderson评分外, 均有显著性差异, 说明运动训练疗法具有改善急性脑梗死大鼠各项行为功能的作用。

近年研究发现碱性成纤维细胞生长因子(basic

fibroblast growth factor, bFGF)是一种强有力的神经生长因子,在神经元死亡和损伤修复反应中起到很重要作用^[4]。在原代培养的大脑星形胶质细胞损伤模型和颅脑损伤模型,内源性 bFGF 表达上调是神经损伤后的早期反应,损伤越重,反应越早;应用 bFGF 能促进培养的胚胎中脑细胞增生,减少海马神经元因轴突损伤引起的变性坏死^[5]。转化生长因子(transforming growth factor, TGF- β)是一种主要来源于小胶质细胞和吞噬细胞的活性多肽,对多种类型的细胞,包括小胶质细胞、星形胶质细胞和神经元都有生物学作用,其作用涉及细胞生长、分化、炎症和组织修复、抗氧化、防止细胞凋亡等。在 MCAO 大鼠模型中, TGF- β 的表达有两种模式,即早期的普遍表达和后期的与损伤有关的表达^[6]。脑缺血后 TGF- β 表达明显增加,其抵御缺血性脑损伤的机制可能与其稳定细胞内钙浓度、拮抗兴奋性氨基酸的神经毒性、抗氧化、抗细胞凋亡和促血管增生等方面有关^[7]。本实验结果表明,假手术组与造模组 7d 后皮质及海马部位均有少量的 bFGF 及 TGF 表达,两组间比较经 *t* 检验无显著性差异($P>0.05$)。而运动训练组在皮质、海马部位梗死周边区可见多个神经元成棕黄色样染色,胞浆内亦可见阳性免疫反应,与造模组比较有极显著性差异($P<0.01$),说明运动训练能诱导 MCAO 大鼠 bFGF 及 TGF 的表达。

运动训练作为一种新的治疗脑卒中的方法,已被普遍应用于临床,越来越多的研究表明,适量运

动训练能减少脑卒中的发病率和病死率^[8]。有研究表明运动训练后 14—60d 突触素活性明显增强,轴突、树突芽形成新的突触连接,功能静止突触活化^[9]。该技术能改善患者的运动功能和日常生活能力,部分改善脑梗死患者的神经功能缺损程度及平衡功能,其机制可能是运动训练可以增加大脑皮质的厚度和营养,加速脑侧支循环的建立,促进了病灶周围组织脑细胞重组和代偿,并改善神经系统的兴奋性和反应性。

参考文献

- [1] 徐莉,李玲,陈景藻,等.康复训练对大鼠脑梗死功能恢复的影响[J].中华物理医学与康复医学杂志,2000,22(2):86—88.
- [2] Zea-Longa E, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. Stroke, 1989,20(1):84—91.
- [3] 廖维靖,刘淑红,范明,等.线栓阻断大鼠大脑中动脉制作缺血性脑损伤模型的改良[J].中华物理医学与康复医学杂志,2002,24(6):349—352.
- [4] 王静娥,张朝东. bFGF 在神经元死亡和损伤修复中的反应[J].中国临床康复,2003,7(7):1070—1071.
- [5] Himmelseher S, Pfenninger E, Georgieff M. Effect of basic fibroblast growth factor on hippocampal neurons after axonal injury[J]. J Trauma, 1997,42:659—664.
- [6] 刘士民,郭玉璞.大鼠局灶性脑缺血再灌注模型 TGF- β 的表达[J].基础医学与临床,2000,20(1):70—73.
- [7] 胡治平.转化生长因子 β 与缺血性脑损伤[J].国外医学·神经病学神经外科学分册,2000,27(2):57—59.
- [8] Greenlund KJ, Giles WH, Keenan NL, et al. Physician advice, patient actions, and health-related quality of life in secondary prevention of stroke through diet and exercise[J]. Stroke, 2002,33(2):565—571.
- [9] Johansson BB. Brain plasticity and stroke rehabilitation: the Willis lecture [J]. Stroke, 2000,31(1):223—230.

2007年“中国康复医学会第九届运动疗法全国学术会议”(中国·西安) 征文通知

经研究决定并报中国康复医学会批准,2007年“中国康复医学会第九届运动疗法全国学术会议”将于2007年9月在陕西西安召开,本次会议由中国人民解放军第四军医大学附属西京医院承办。会议主题:增强自主创新能力,促进学科可持续发展。

征文范围:神经系统伤病康复;脑卒中、脑外伤、脊髓损伤、脑瘫、周围神经损伤等;运动系统伤病康复;截肢、骨折脱位后、颈椎病、下腰痛、肩周炎、关节炎、关节置换术后、运动创伤等;内科疾病康复;高血压病、冠心病、心肌梗死、慢性阻塞性肺部疾病、糖尿病、肥胖症等;其他:康复医学工程、传统康复治疗技术、康复护理等。

征文要求:论文须突出体现本学科的专业内涵和特色,具有较强的科学性、实用性和临床指导意义,鼓励具有自主创新意义的研究成果和探索,未在公开发行的刊物或全国性会议上发表或交流,文责自负。论文摘要格式按照科技期刊的要求(题目、作者、单位、邮编;目的、方法、结果、结论、关键词),字数在1000字以内,5号宋体字。附个人简历(100字以内,包括姓名、职称、单位、通信地址和E-mail等)

投稿方式:尽量采用电子邮件投稿,如为纸质稿件,请在信封上注明“康复会议征文”字样,并附寄文摘的软盘。电子邮件: ydlfxa2007@yahoo.com.cn, 邮寄地址:上海市乌鲁木齐中路12号,复旦大学附属华山医院康复医学科 白玉龙,邮编:200040。截稿日期:2007年6月30日。

如无论文但愿意参加会议者,可于2007年6月30日前通过电子邮件发送或邮寄参会回执,组委会将邀请参加。

会议将进行优秀论文评选,如参加优秀论文评选,同时寄送论文全文。

欢迎与康复医学、运动医学和群众性健身锻炼有关的医药、医疗器械厂商参展。