

亚低温对大鼠全脑缺血再灌注后海马 CA1 区星形胶质细胞胶质纤维酸性蛋白表达及超微结构改变的影响

韩立秀 王兰琴 董瑞国

【摘要】 目的 研究大鼠全脑缺血再灌注后不同时间点海马 CA1 区星形胶质细胞胶质纤维酸性蛋白(GFAP)表达,观察超微结构变化,了解亚低温对其保护作用及影响。方法 制作大鼠全脑缺血模型,将 96 只大鼠分为常温组、亚低温组和假手术组,每组 32 只。根据缺血时间不同,每组再分为缺血 6 h、12 h、24 h、4 d 4 个亚组,每个亚组 8 只。苏木精-伊红(HE)染色观察海马 CA1 区细胞形态学改变,免疫组织化学方法检测胶质纤维酸性蛋白(GFAP)表达,原位氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记(TUNEL 检测)及免疫组化双标染色观察海马 CA1 区星形胶质细胞的死亡方式,投射电镜观察星形胶质细胞超微结构改变,综合以上结果了解亚低温干预的效果。结果 大鼠全脑缺血再灌注后,GFAP 表达随时间增加逐渐增强,亚低温组较常温组 GFAP 表达明显减少,4 d 时间点电镜下可见海马 CA1 区部分星形胶质细胞以胀亡形式死亡。结论 亚低温能明显减少 GFAP 的表达,对神经元有保护作用,全脑缺血再灌注后星形胶质细胞存在胀亡的死亡方式。

【关键词】 全脑缺血再灌注; 亚低温; 星形胶质细胞; 胶质纤维酸性蛋白; 胀亡

Effects of mild hypothermia on the expression of glial fibrillary acidic protein and ultrastructural changes in astrocytes in the hippocampal CA1 subfield following global cerebral ischemia and reperfusion HAN Lixiu*, WANG Lan-qin, DONG Rui-guo. *Shandong Zaozhuang Municipal Hospital, Zaozhuang 277100, China

【Abstract】 Objective To observe the expression of glial fibrillary acidic protein (GFAP), and the pathological and ultrastructural changes of astrocytes in the CA1 subfield of the hippocampus following global cerebral ischemia and reperfusion, and to explore the neuroprotective mechanism of mild hypothermia. **Methods** Global cerebral ischemia was established in rats by a modified version of Pulsinelli's method. Ninety-six rats were divided into three groups including a sham-operated group, a normothermic ischemic reperfusion (IR) group and a hypothermic ischemic reperfusion (HIR) group. Each group had four subgroups which were sacrificed for 6, 12 or 24 hours, or 4 days after reperfusion (for each subgroup $n=8$). Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe morphological changes in neurons in the CA1 subfield of the hippocampus. TUNEL methods were used to detect apoptosis among those neurons. Immunohistochemical staining was used to detect the expression of GFAP in the CA1 subfield and the mechanism of astrocyte pathology. GFAP TUNEL double-labeled immunohistochemistry was used with both the sham-operated and experimental groups. Electron microscopy was also used to evaluate morphological changes in astrocytes 24 hours and 4 days after ischemia and reperfusion. **Results** Compared with the sham-operated group, expression of GFAP immunoreactive positive cells increased gradually in the CA1 subfield of the IR group rats. Compared with the IR group, expression of GFAP immunoreactive positive cells was significantly lower in the HIR group at all time points. Microscopic observation at the 4th day showed that some astrocytes in the CA1 subfield had died through oncosis. **Conclusions** Mild hypothermia can significantly decrease the expression of GFAP immunoreactive positive cells and the number of apoptotic neurons in the CA1 subfield of the hippocampus, minimize cell oedema and provide protection for neurons. Oncosis kills astrocytes following global cerebral ischemia and reperfusion.

【Key words】 Global cerebral ischemia and reperfusion; Mild hypothermia; Astrocytes; Glial fibrillary acidic protein; Oncosis

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2010.11.007

作者单位:277100 枣庄,山东枣庄市立医院感染科(韩立秀);徐州医学院附属第二医院神经内科(王兰琴);徐州医学院附属第一医院神经内科(董瑞国)

缺血性脑血管病是严重影响人类健康的一类疾病,对其进行积极有效的防治一直受到医学界的重视。近年来,有研究者提出了神经血管单元(neurovascular unit)的概念,认为在神经保护治疗的同时必须兼顾对

神经胶质细胞和血管内皮的保护^[1]。神经血管单元包括血管内皮细胞、胶质细胞和神经元,由于神经元占脑组织的比例不足 5%,所以更应当关注神经胶质细胞及微血管损害对神经功能的影响。

星形胶质细胞(astrocyte, AS)是脑中数量最多的细胞,胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)是 AS 的特异标志蛋白,细胞免疫法证明 GFAP 仅存在于 AS 的胞体中,因此可利用 GFAP 的特异性抗体来检测 AS^[2]。研究发现,脑缺血后 AS 被激活并发挥双重作用,即它们能缓冲神经元释放的毒性物质,通过合成多种蛋白质、细胞因子和神经营养因子等对神经元起保护作用,也释放出毒性细胞因子,加重神经元损害。由此可见,AS 对缺血性脑损伤的发展和转归具有重要意义。有关 AS 在脑缺血后的活性(GFAP 的表达)是如何变化,电镜下各个时间点的超微结构的改变以及又是通过何种途径死亡等,近年来的文献少见报道。

1987 年 Busto 首次提出了亚低温(32~33℃)脑保护概念。研究发现,亚低温是目前存在的对试验性脑缺血损害最有效的治疗方法之一^[3],但其机制仍有许多不明之处。

本研究旨在通过观察大鼠全脑缺血再灌注、亚低温干预后,海马 CA1 区 GFAP 表达、AS 超微结构改变,了解亚低温干预的效果。

材料与方法

一、实验动物与分组

健康雄性大鼠 96 只,由徐州医学院动物中心提供,鼠龄 50~60 d,体重 250~280 g,将 96 只大鼠分为假手术组、常温缺血再灌注组(常温组)、亚低温缺血再灌注组(亚低温组),每组 32 只。根据缺血时间不同,每组再分为缺血 6 h、12 h、24 h、4 d 4 个亚组,每个亚组 8 只。

二、主要试剂与仪器

TUNEL 试剂盒、兔抗 GFAP(一抗)均购自武汉博士德公司;免疫组化双染试剂盒及生物素化山羊抗兔 IgG(二抗)试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术公司;日立 H-600A-2 型投射电子显微镜,由徐州医学院神经生物实验室提供。

三、方法

1. 动物模型制备:所有动物均采用改进的 Pulsinelli 4 血管阻断 15 min 的全脑缺血再灌注模型^[3]。常温组无任何干预;亚低温组再灌注时即刻开始降温,采用冰袋降温的方法^[4],10 min 内将肛温降至 31.5~32.5℃,维持 3 h 后和常温组同样处理。假手术组除不电凝椎动脉和夹闭颈总动脉,其余同常温组。

2. 标本制备:常规灌注固定,断头取脑,在视交叉后 1 mm 及 4 mm 处冠状切面切开,取中间块,固定后石蜡包埋。在海马齿状回互包平面连续冠状切片,片厚 5 μm。

3. 苏木精-伊红(hemaloxilin-eosin, HE)染色:光镜下观察大鼠海马 CA1 区细胞形态学变化。

4. 采用 TUNEL 法原位检测凋亡细胞:显示细胞核染为紫蓝色为阳性细胞,即凋亡细胞。

5. 免疫组织化学双标染色:取 TUNEL 显色后的片子用磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)在 37℃洗 2 min × 3 次,泡于 PBS 中 10 min,再浸于 0.3% 双氧水甲醇中 30 min, PBS 充分清洗;0.1% 胰酶消化组织切片 30 min, PBS 充分清洗;滴加双染增强剂后 37℃孵育 30 min, PBS 充分清洗;用血清封闭液 37℃封闭 20 min,免洗加 1:100 稀释 GFAP 一抗,4℃过夜。取出片子, PBS 充分清洗,滴加通用型生物素化二抗,37℃孵育 15 min, PBS 充分清洗;滴加过氧化物酶标记链酶卵白素 37℃孵育 15 min, PBS 充分清洗;应用过氧化物酶的底物-色素混合液显色, PBS 充分清洗后水溶性封片剂封片。

GFAP 免疫组织化学染色:采用免疫组化染色(SABC 法),步骤同说明书。二氨基联苯胺(DAB)显色,光镜下胞浆染为红色为阳性细胞,苏木素核复染,封片。观察指标:免疫组化结果半定量,采用灰度分析,测量时每个区域取 4 个相同位置的测量点测量平均灰度值,然后减去此片背景平均灰度值作为海马 CA1 区的最终灰度值。

6. 投射电镜检查:取常温组(24 h、4 d 时间点)和亚低温组(24 h、4 d 时间点)各 2 只大鼠,常规灌注固定后,断头取脑,在视交叉后 1 mm 及 4 mm 处冠状切面切开,取中间块,体积分数 2% 戊二醛固定液固定后体积分数 1% 锇酸再固定,充分脱水后环氧树脂包埋。超薄切片,醋酸双氧铀和柠檬酸铅染色,投射电子显微镜下观察海马 CA1 区星形胶质细胞超微结构的改变。

四、统计学分析

所有数据均以($\bar{x} \pm s$)表示,应用 SPSS 11.0 版统计软件对数据进行分析。组间比较应用单因素方差分析,各实验组间的两两比较采用 q 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、大鼠海马 CA1 区 HE 染色结果比较

常温组和亚低温组于全脑缺血再灌注后 6 h, CA1 区细胞 HE 染色均未见明显改变;再灌注 12 h 后, CA1 区细胞出现轻微改变,再灌注 24 h 后损伤开始加重,出现细胞数目减少,细胞胞体缩小、胞核固缩深染,再

灌注 4 d 时损伤最严重,细胞排列紊乱,核膜不清,核仁消失。而亚低温组海马存活的锥体细胞数较常温组 12 h、24 h、4 d 时间点均明显增加 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠再灌注不同时间点海马 CA1 区存活神经元计数(个/视野, $\bar{x} \pm s$)

| 组 别 | 只数 | 6 h | 12 h | 24 h | 4 d |
|------|----|--------|--------|----------------------|----------------------|
| 假手术组 | 8 | 63 ± 1 | 61 ± 2 | 62 ± 2 | 60 ± 2 |
| 常温组 | 8 | 60 ± 2 | 55 ± 3 | 32 ± 3 ^a | 25 ± 2 ^a |
| 亚低温组 | 8 | 60 ± 3 | 58 ± 1 | 45 ± 2 ^{ab} | 40 ± 2 ^{ac} |

注:与假手术组比较,^a $P < 0.05$;与常温组比较,^b $P < 0.05$,^c $P < 0.01$

二、大鼠海马 CA1 区 TUNEL 阳性神经元数比较

假手术组各个时间点未发现阳性细胞。在海马 CA1 区,常温组于再灌注 6 h 后出现阳性细胞,24 h 后阳性细胞数最多,再灌注 4 d 后阳性细胞数减少。而亚低温组在 6 h 点仅有少量表达,于 24 h 点阳性细胞数增多,该两个时间点阳性细胞数均较常温组少 ($P < 0.01$),再灌注 4 d 后阳性细胞数最多且高于常温组 ($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 各组大鼠再灌注不同时间点海马 CA1 区 TUNEL 阳性神经元数比较(个/视野, $\bar{x} \pm s$)

| 组 别 | 只数 | 6 h | 12 h | 24 h | 4 d |
|------|----|------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 假手术组 | 8 | 0 | 0.75 ± 0.7 | 0.75 ± 0.5 | 1.12 ± 0.6 |
| 常温组 | 8 | 5.88 ± 0.3 | 16.12 ± 1.5 ^a | 30.75 ± 2.3 ^a | 15.37 ± 1.8 ^a |
| 亚低温组 | 8 | 1.87 ± 0.8 | 5.87 ± 1.2 ^{ab} | 10.25 ± 1.8 ^{ab} | 19.25 ± 1.7 ^{ab} |

注:与假手术组比较,^a $P < 0.05$;与常温组比较,^b $P < 0.05$

三、免疫组化结果

TUNEL 及 GFAP 双标染色各个时间点未发现胞核及胞浆均为免疫反应阳性的细胞。测量海马 CA1 区 1 mm 范围内 GFAP 阳性细胞胞浆免疫强度灰度值。常温组于缺血再灌注 6 h 后出现免疫反应增强,随着再灌注时间的延长,GFAP 表达逐渐增高,于 4 d 时达到高峰;亚低温组与假手术组比较,于缺血再灌注 6 h 时间点无明显免疫反应改变,12 h 时间点出现免疫表达增强 ($P < 0.05$),但与常温组比较,GFAP 的免疫表达明显降低 ($P < 0.05$),再灌注 4 d 时其表达较常温组明显降低 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 各组大鼠再灌注不同时间点海马 CA1 区 GFAP 免疫强度灰度值($\bar{x} \pm s$)

| 组 别 | 只数 | 6 h | 12 h | 24 h | 4 d |
|------|----|--------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 假手术组 | 8 | 28.33 ± 1.48 | 28.18 ± 1.43 | 29.79 ± 1.68 | 30.29 ± 1.29 |
| 常温组 | 8 | 39.34 ± 1.35 | 45.27 ± 1.42 ^a | 52.17 ± 0.89 ^a | 60.85 ± 1.38 ^a |
| 亚低温组 | 8 | 30.35 ± 1.31 | 31.16 ± 1.58 ^b | 44.01 ± 1.41 ^{ab} | 52.12 ± 1.08 ^{ab} |

注:与假手术组比较,^a $P < 0.05$;与常温组比较,^b $P < 0.05$

四、电镜结果

电镜下 AS 终足围绕着毛细血管,突起细长,分支较少,胞质内含大量胶质丝。缺血再灌注 24 h 后,常温组电镜下可见大量反应性星形胶质细胞出现,形态上呈星状,体积增大,胞膜轮廓不清,胞浆浑浊肿胀,空泡样疏松化,线粒体嵴模糊、消失。亚低温组电镜下 AS 细胞胞膜轮廓尚清,细胞有轻度水肿,周围组织肿胀较轻。缺血再灌注 4 d 后,常温组电镜下可见大量 AS 细胞核染色质溶解,线粒体、粗面内质网等膜结构大多肿胀破裂,水肿严重的细胞胞膜及核膜均有破裂现象(图 1,2),符合胀亡的电镜下表现。亚低温组电镜下 AS 细胞有轻度水肿,线粒体、粗面内质网囊泡少许肿胀和扩张(图 3,4),胀亡数较常温组明显减少。

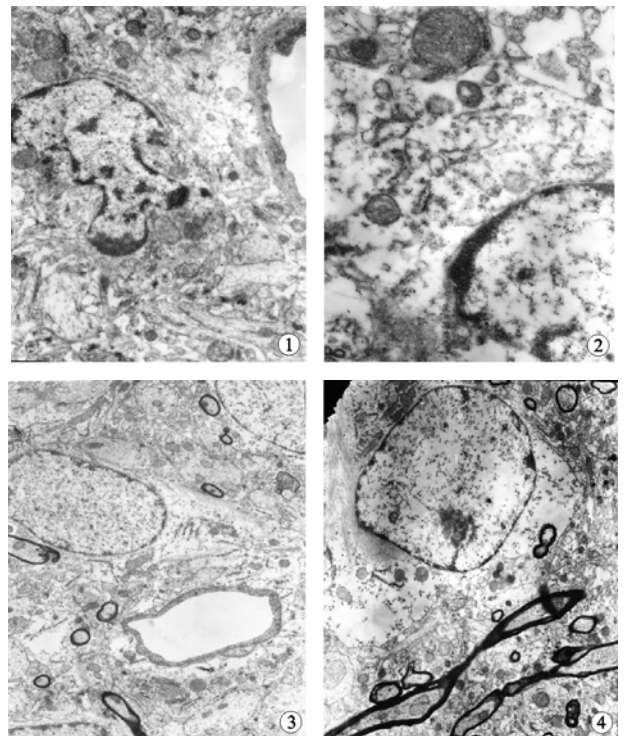


图 1 常温组 4 d 时间点电镜下 AS(醋酸双氧铀和柠檬酸铅染色, ×6000),可见水肿严重的细胞胞膜及核膜均有破裂现象; **图 2** 常温组 4 d 时间点电镜下 AS(醋酸双氧铀和柠檬酸铅染色, ×20000),可见细胞核染色质溶解,线粒体、粗面内质网等膜结构大多肿胀破裂; **图 3** 亚低温组 4 d 时间点电镜下 AS(醋酸双氧铀和柠檬酸铅染色, ×6000),可见细胞有轻度水肿,线粒体、粗面内质网囊泡少许肿胀和扩张; **图 4** 亚低温组 4 d 时间点电镜下 AS(醋酸双氧铀和柠檬酸铅染色, ×6000),核膜完整,粗面内质网囊泡少许肿胀和扩张

讨 论

一、脑缺血后 GFAP 表达的变化

目前有学者认为,GFAP 表达升高代表 AS 的增生和活化(反应性胶质化),但并不一定形成胶质瘢痕,是否形成瘢痕除与 GFAP 含量增加有关外,尚与 GFAP

的磷酸化程度有关,即与 AS 中间纤维的组装和去组装有关^[5]。Conway 等^[6]通过 4 血管闭塞诱导大鼠全脑缺血 10 min 后再灌注,原位杂交法检测发现,海马 CA1 区 GFAP mRNA 的表达呈双升高峰,第 1 峰出现在再灌注的第 4 天,然后开始下降,第 8 天时只有高峰的 43%,之后又逐渐升高,第 16~20 天时出现第 2 个高峰。本实验结果提示,脑缺血再灌注后 GFAP 持续升高,4 d 到达高峰,与此吻合。反应性 AS 通过物质交换、分泌生长因子、细胞因子、识别分子等修复损伤的神经元,促进轴突的再生及诱导再生神经元的迁移,起到恢复神经系统正常功能的作用。所以在一定时期 GFAP 表达升高对脑缺血后神经保护及功能恢复具有重要意义。但 GFAP 过度表达的同时,若其磷酸化比例过低,将导致胶质瘢痕形成,对轴突的再生具有阻碍作用。因此,如能在脑缺血后的不同时期对 GFAP 的表达进行干预,对 GFAP 的磷酸化进行调节,则对缺血性神经系统损伤的恢复具有重要影响^[5]。

二、脑缺血后 AS 的超微结构变化

Winkelmann 等^[7]研究发现,大鼠全脑缺血 10 min 或 20 min 后,观察再灌注 2 d、4 d 和 10 d 3 个时间点,海马 CA1 区锥体细胞表现为肿胀样死亡,电镜下神经细胞可观察到断裂的细胞膜、细胞质内大小不一的低电子密度空泡以及肿胀的线粒体和内质网,同时在研究中发现海马 CA1 区的星形胶质细胞有明显增生和肿胀。本实验观察到任何时间点都未见 TUNEL 和 GFAP 双重染色的细胞,电镜下常温组 AS 在脑缺血后 24 h 体积增大,胞膜轮廓不清,胞浆浑浊肿胀,空泡样疏松化,线粒体嵴模糊、消失,再灌注 4 d 后,常温组可见大量 AS 核染色质溶解,线粒体、粗面内质网等膜结构大多肿胀破裂,水肿严重的细胞胞膜及核膜均有破裂现象,以上电镜下的超微结构改变都提示 AS 的死亡为胀亡。

胀亡细胞形态学的改变首先被人们认识到,并且是最容易被发现的。主要表现为:细胞体积变大,肿胀;胞膜局部向外膨隆,甚至形成泡状,但内无亚细胞器,胞膜完整性可被破坏;胞质空泡化;内质网肿胀,早期出现颗粒的脱落、减少,晚期内质网崩解,颗粒消失;线粒体、高尔基复合体亦肿胀或形成较多小气球样囊体;核膜起泡,膜下可聚集有团块状的染色质,分布在核仁周围或核膜下,最终细胞呈现溶解性坏死外观,并引起周围炎症反应^[8-9]。综上所述,胀亡细胞形态学改变的主要特点是细胞浆肿胀、胞膜完整性破坏和核溶解性死亡。

对于胀亡发生的机制现有的文献阐述较少,近年来的研究更倾向于胀亡是一个程序性的死亡方式,如抗 Porimin 的单抗可以引起 Jurkat 细胞的胀亡^[10];有

研究提示,胀亡可能有与凋亡不同的死亡机制^[11]。目前认为,线粒体在细胞死亡中扮演着核心角色,脑缺血后,由于活性氧簇的产生和抗氧化能力的平衡打破,产生了氧化应激等,各种原因导致膜的成分、结构和功能障碍,膜通透性严重缺陷及膜上离子泵功能衰竭,引起细胞内的水、钠滞留和 Ca^{2+} 大量内流,导致线粒体肿胀、破坏和能量代谢障碍,可能是胀亡的启动因子^[7];随后肿胀的细胞膜出现物理性缺陷(小洞)发生破裂而引起胀亡^[12]。

三、亚低温治疗

本实验采用 HE 染色对海马 CA1 区神经元进行染色,结果发现,亚低温可明显减轻脑缺血对大鼠海马 CA1 区神经元的损伤,在脑缺血中发挥一定的保护作用。

以往认为,低温的作用机制在于降低代谢率,近年的研究表明并非完全如此。随着分子生物学的研究进展,发现亚低温脑保护还有更复杂的机制:抑制兴奋性氨基酸递质释放,抑制具有细胞毒性的一氧化氮和白三烯的生成和释放,维持血脑屏障的稳定性,减轻脑水肿,抑制缺血后脑组织的炎症反应,减少脑缺血引起的自由基的产生,抑制缺血再灌注后迟发性神经元死亡等^[13]。

本实验结果显示,亚低温能显著减少 GFAP 的表达,即抑制星形细胞反应,可能是亚低温神经保护作用的机制之一。亚低温可能通过减少缺血后兴奋性氨基酸和氧自由基的释放,抑制缺血后小胶质细胞及其它炎症细胞的激活,减少其细胞因子的释放^[14]。由于所有以上激活 AS 的因子减少,使星形细胞反应受到抑制,最终阻断星形细胞激活所造成的恶性循环,来抑制 AS 的有害作用,发挥胶质细胞的神经保护作用。另外,低温可通过抑制电子传递链酶的活性而保护线粒体功能^[15]。

以往对神经保护的研究主要集中在神经元本身,认为只要阻断导致神经元坏死和凋亡机制中的一个或几个环节,便可减轻神经元的进一步损伤。近年的研究发现,任何导致神经元损伤的原因都可能同时损伤胶质细胞和血管内皮细胞,后者的病理变化会加剧神经元的进一步损伤。因而提出神经血管单元的概念,认为在神经保护治疗的同时必须兼顾对神经胶质细胞和血管内皮的保护^[1],而神经血管单元重点强调血脑屏障在脑缺血中的重要性^[16]。

脑缺血后血脑屏障损伤与其固有细胞上的跨膜蛋白转运体、基质金属蛋白酶、炎症黏附因子、水通道蛋白及一氧化氮合酶等多种因素相互作用^[17]有关,但是各因素间又不是独立的,而是相互联系共同作用于血脑屏障某个受体部位或分子靶点。亚低温在对抗脑缺

血损伤的多个环节上起作用,可以保护血脑屏障,减轻脑水肿^[18],在缺血再灌注各个阶段对神经血管单元的各组分实施多途径、全面的保护,来进一步改善缺血性卒中的预后。

本研究对实施亚低温脑保护后 GFAP 的表达及星形胶质细胞的超微结构变化及死亡方式进行初步探讨,全脑缺血再灌注后,有关星形胶质细胞为什么以胀亡的方式死亡,脑缺血的动物模型不能排除神经元和血管因素的干扰,离体的细胞培养下缺血的 AS 死亡方式、死亡方式和缺血的时间有无关系以及具体机制等,尚需进一步的研究探讨。

参 考 文 献

- [1] Han HS, Suk K. The function and integrity of the neurovascular unit rests upon the integration of the vascular and inflammatory cell systems. *Curr Neurovasc Res*, 2005, 2:409-423.
- [2] Gomes FC, Paulin D, Moura Neto V, et al. Glial fibrillary acidic protein (GFAP): modulation by growth factors and its implication in astrocyte differentiation. *Braz J Med Biol Res*, 1999, 32: 619-631.
- [3] 傅震,赵君,周建平.大鼠全脑缺血再灌注模型方法的改进及其在热休克蛋白 70 方面的应用. *中华实验外科杂志*, 2004, 21: 108-109.
- [4] 王德生,张守信.亚低温脑保护.北京:科学出版社,2002:10.
- [5] 于挺敏,李自如,张春英.脑缺血后胶质纤维酸性蛋白表达的变化. *中国老年学杂志*, 2004, 9: 869-871.
- [6] Conway EL, Gundlaoal A, Craven JA. Temporal changes in glial fibrillary acidic protein messenger RNA and [3H]PK 11195 binding in relation to imidazoline-12-receptor and alpha 2-adrenoceptor binding in the hippocampus following transient global forbrain ischemia in the rat. *Neuroscience*, 1998, 82: 805-817.
- [7] Winkelmann ER, Charcansky A, Faccioni-Heuser MC, et al. An ultrastructural analysis of cellular death in the CA1 field in the rat hippocampus after transient forebrain ischemia followed by 2, 4 and 10 days of reperfusion. *Anat Embryol (Berl)*, 2006, 211: 423-434.
- [8] Davidson WF, Haudenschild C, Kwon J, et al. T cell receptor ligation triggers novel nonapoptotic cell death pathways that are Fas-independent or Fas-dependent. *J Immunol*, 2002, 169: 6218-6230.
- [9] Hein S, Elsasser A, Kostin S, et al. Functional disturbances due to structural remodeling in the failing human heart. *Arch Mal Coeur Vaiss*, 2002, 95: 815-820.
- [10] Zhang C, Xu Y, Gu J, et al. A cell surface receptor defined by a mAb mediates a unique type of cell death similar to oncosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 6290-6295.
- [11] Mills EM, Xu D, Fergusson MM, et al. Regulation of cellular oncosis by uncoupling protein 2. *J Biol Chem*, 2002, 277: 27385-27392.
- [12] Barros LF, Stutzin A, Calixto A, et al. Nonselective cation channels as effectors of free radical-induced rat liver cell necrosis. *Hepatology*, 2001, 33: 114-122.
- [13] 阎蕾,董瑞国.诱导性低温治疗急性卒中. *国外医学·脑血管疾病分册*, 2004, 12: 904-906.
- [14] Kumar K, Evans AT. Effect of hypothermia on microglial reaction in ischemic brain. *Neuroreport*, 1997, 8: 947-950.
- [15] Wang JG. 低温对脑缺血再灌注所致线粒体功能损伤的影响. *国外医学·麻醉学与复苏分册*, 2000, 21: 242-245.
- [16] 陈萍,陈立云,王拥军.缺血性卒中的神经血管单元保护研究进展. *中国卒中杂志*, 2007, 12: 1003-1008.
- [17] 李金辉,万海同.脑缺血血脑屏障损伤分子机制及中医药防治研究近况. *浙江中医药大学学报*, 2008, 32: 127-128.
- [18] MacLellan CL, Davies LM, Fingas MS, et al. The influence of hypothermia on outcome after intracerebral hemorrhage in rats. *Stroke*, 2006, 37: 1266-1270.

(修回日期:2010-03-26)

(本文编辑:松 明)

· 短篇论著 ·

温热式低周波联合推拿手法治疗肌纤维织炎的疗效观察

张德清 王刚 何建永 杨翊 王魁 李东冬 陈本启 陆兆双 刘经星

我院于 2006 年 6 月至 2009 年 2 月间采用温热式低周波及推拿手法治疗肩背部肌纤维织炎患者,取得满意疗效。现报道如下。

一、资料与方法

共选取在我院门诊及住院治疗的肩背部肌纤维织炎患者 220 例,采用随机数字表法将其分为治疗组及对照组,每组 110 例。治疗组男 81 例,女 29 例;年龄 26~56 岁,平均 41 岁;左侧患病 46 例,右侧患病 64 例;病程 10~260 d 不等,其中 > 90 d

者 12 例,90~61 d 者 20 例,60~30 d 者 30 例, < 30 d 者 48 例。对照组男 79 例,女 31 例;年龄 28~57 岁,平均 42.5 岁;左侧患病 42 例,右侧患病 68 例;病程 15~240 d 不等,其中 > 90 d 者 17 例,90~61 d 者 19 例,60~30 d 者 28 例, < 30 d 者 46 例。2 组患者一般资料及病情经统计学比较,发现组间差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),具有可比性。

治疗组治疗方法包括:①温热式低周波治疗,采用日本产 HL-III 型温热式低周波治疗仪,治疗频率 1~1000 Hz,治疗温度设置为 30~38℃,将正极导子置于患者大椎穴或命门穴,2 个负极导子分别置于肌肉酸胀、疼痛最剧烈处,治疗强度调至 60%~80% 水平,每天治疗 1 次,每次 15~20 min,治疗 10 次为 1 个疗程,每疗程间休息 2 d;②推拿手法治疗,患者取坐位或俯