

·短篇论著·

## 康复训练对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠运动功能恢复及Nogo-A、NgR表达的影响

蒋天伟<sup>1,3</sup> 李立<sup>2</sup> 陈顺强<sup>3,4</sup>

促进脑缺血再灌注损伤患者肢体功能恢复,提高生存质量已成为目前脑梗死康复治疗热点;近年来研究显示,康复训练可改善患者机体功能恢复,推测可能与促进神经系统神经再生及抑制脱髓鞘的神经纤维数目有关,但机制并不十分明确<sup>[1-2]</sup>。中枢神经系统存在神经再生抑制因子,如Nogo-A蛋白及Nogo受体(NgR)蛋白,通过抑制轴突再生而维持中枢内环境稳定<sup>[3]</sup>,因此减少其蛋白及受体表达可能是改善脑缺血再灌注损伤后神经功能的有效因素<sup>[4]</sup>。本实验观察康复训练对局灶性脑缺血再灌注损伤后大鼠运动功能及Nogo-A、NgR表达的影响,并探讨其可能存在的机制,为临床康复治疗提供理论依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验动物

清洁级Wistar大鼠,雄性,共60只,体重300±35g,由郑州大学医学院实验动物中心提供(合格证号:20110007)。自由光照条件下,室温22℃,自由饮食,固定喂饲。

#### 1.2 试剂和仪器

试剂:兔抗Nogo-A IgG,兔抗NgR,SABC试剂盒,DAB显色试剂盒均由武汉博士德生物工程有限公司提供。仪器:滚筒网状训练仪、平衡木训练仪、转棒训练仪均为自制。

#### 1.3 模型制备及分组

参照Longa等方法建立大鼠中动脉阻塞模型<sup>[5]</sup>。10%水合氯醛3.5ml/kg腹腔注射麻醉大鼠后,沿颈部正中切开皮肤,钝性分离右侧颈总动脉、颈内动脉及颈外动脉;用丝线结扎右颈总及颈外动脉,在颈内动脉处预先打一松结;在右颈总动脉分叉处剪一个V形缺口,将阻塞线由切口插入并轻推至颈内动脉处,结扎预置的松结;随后碘伏消毒,缝合皮肤。缺血2h后,大鼠再次麻醉后,将阻塞线退出至颈内动脉颈段以实现缺血后再灌注,消毒及缝合皮肤。假手术组只分离动脉,不结扎不插线。术后实验动物出现左侧眼睑下垂、眼球凹陷、不能完全伸展左侧前肢、行走时向左侧倾倒或转圈等症状,以符合上述表现且存活24h者作为实验对象。将成功

造模的60只大鼠随机分为模型组和康复组,康复组又分为术后10d、17d、24d等3个亚组,每亚组10只。

#### 1.4 康复训练

康复组于造模成功后72h进行康复训练,具体训练方法参考介绍<sup>[6-7]</sup>。滚筒训练:采用自制滚筒式网状训练器,长55cm,直径45cm,底座用固定架固定,手摇柄转动滚筒,6r/min,20min/次,2次/d,进行大鼠抓握、旋转、行走等运动训练;平衡木训练:以食物诱导大鼠在长170cm、宽2cm、距离地7cm的平衡木上爬行,20min/次,2次/d,训练其平衡能力;转棒训练:转棒长150cm,直径4.5cm,手摇柄转动滚筒,3r/min(顺时及逆时针交替进行),20min/次,2次/d,训练大鼠前爪抓握能力。

#### 1.5 神经功能和运动功能评定

按照Longa神经功能缺损评分法<sup>[5,8]</sup>:0分,无神经损伤症状;1分,不能完全伸展对侧前爪;2分,向对侧转圈;3分,向对侧倾倒;4分,不能自发行走,意识丧失。平衡木训练测评<sup>[9]</sup>:1分,能保持平衡且四肢均置木条表面;2分,有一侧爪子握住木条或在木条上摇晃;3分,有一或两个肢体滑下木条;4分,三个肢体滑下木条;5分,平衡木上试图保持平衡但滑下;6分,试图保持平衡失败悬吊在木条上然后跌落;7分,直接从木条上跌落而无试图保持平衡。转棒训练测评:0分,转动过程中,鼠可在棒上面行走;1分,在转动过程中,鼠不会掉下来,时间60s以上;2分,转动开始后鼠从棒上掉下来;3分,转动开始前,鼠就从棒上掉下来。

#### 1.6 免疫组化测定Nogo-A及NgR表达

康复组大鼠康复训练第10d、17d、24d分别评分并取材,每亚组10只,在右侧大脑半球中间冠状切取脑组织。多聚甲醛固定、梯度乙醇脱水、石蜡包埋,缺血区切取脑片(厚度约5μm)。行SABC免疫组化染色,按试剂盒说明书进行免疫组化染色,切片经乙醇脱水干燥、中性树脂封固后观察;模型组切片用正常血清和磷酸盐缓冲(PBS)液替代上述蛋白和抗体,染色方法及步骤同上。每张切片分别随机选取5个不重复高倍镜视野(×400),利用图像分析系统(Image-Pro

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2013.08.020

1 河南省镇平县人民医院脑外科,河南镇平,474250; 2 河南省人民医院介入科; 3 河南省人民医院中心导管室; 4 通讯作者  
作者简介:蒋天伟,男,副主任医师; 收稿日期:2013-03-26

Plus6.0)测定免疫表达物阳性反应物IOD的SUM值,每只大鼠取5张相同部位脑片,计算其平均值。

### 1.7 统计学分析

采用SPSS17.0统计软件进行统计学分析,所有数值结果用均数±标准差表示,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为有显著性意义。

## 2 结果

### 2.1 神经功能学与运动功能评分

与模型组比较,康复组术后第10d神经功能学评分,平衡木评分及转棒行走评分无显著性差异( $P > 0.05$ ),而第17d、第24d各项评分均明显降低( $P < 0.05$ ),见表1。

### 2.2 康复训练对大鼠脑组织Nogo-A、NgR蛋白表达的影响

康复组术后第10d Nogo-A、NgR蛋白表达均较模型组

明显降低( $P < 0.05$ ),而第17d、第24d蛋白表达较模型组呈现显著性下降( $P < 0.01$ ),见表2。

表1 大鼠不同时间点神经功能学评分、平衡木评分、转棒行走评分 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别             | 鼠数 | 第10d      | 第17d                   | 第24d                   |
|----------------|----|-----------|------------------------|------------------------|
| <b>神经功能学评分</b> |    |           |                        |                        |
| 模型组            | 10 | 2.12±0.28 | 1.87±0.31              | 1.59±0.27              |
| 康复组            | 10 | 2.03±0.31 | 1.36±0.19 <sup>①</sup> | 1.05±0.12 <sup>①</sup> |
| <b>平衡木评分</b>   |    |           |                        |                        |
| 模型组            | 10 | 3.52±0.31 | 2.95±0.25              | 2.08±0.34              |
| 康复组            | 10 | 3.25±0.21 | 2.23±0.16 <sup>①</sup> | 1.44±0.13 <sup>①</sup> |
| <b>转棒行走评分</b>  |    |           |                        |                        |
| 模型组            | 10 | 2.10±0.14 | 1.94±0.11              | 1.51±0.09              |
| 康复组            | 10 | 1.90±0.15 | 1.41±0.07 <sup>①</sup> | 1.05±0.12 <sup>①</sup> |

与模型组比较:① $P < 0.05$

表2 康复训练后大鼠脑组织Nogo-A、NgR的表达 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别               | 鼠数 | 第10d                          | 第17d                          | 第24d                          |
|------------------|----|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| <b>Nogo-A 表达</b> |    |                               |                               |                               |
| 模型组              | 10 | 48874.11±2914.05              | 45485.67±2381.54              | 42050.67±1887.01              |
| 康复组              | 10 | 39607.25±2750.17 <sup>①</sup> | 27010.28±2673.91 <sup>②</sup> | 24933.41±2546.24 <sup>②</sup> |
| <b>NgR 表达</b>    |    |                               |                               |                               |
| 模型组              | 10 | 57243.45±3016.21              | 54349.32±3819.85              | 53125.28±32850.21             |
| 康复组              | 10 | 43007.68±3260.34 <sup>①</sup> | 36098.52±3625.88 <sup>②</sup> | 39207.43±3697.13 <sup>②</sup> |

与模型组比较:① $P < 0.05$ ,② $P < 0.01$

## 3 讨论

研究表明,脑功能在缺血一定时间恢复血液供应后其功能不但未恢复,反而出现了更加严重的功能障碍,称之为脑缺血再灌注损伤(cerebral ischemia reperfusion injury, CIR),而CIR后出现机体功能障碍与神经系统的损伤有关<sup>[10]</sup>。中枢神经系统神经纤维髓鞘的存在可加速神经冲动信息的传导速度,已有研究表明,缺血性再灌注大鼠脑神经纤维束髓鞘脱失明显,而强制训练可募集患侧存在功能的神经纤维,降低其脱髓鞘的神经传导束的数目<sup>[11]</sup>。大鼠髓鞘抑制因子Nogo-A存在于中枢神经元及少突胶质细胞内,通过与神经元细胞膜表面的NgR结合,抑制轴突生长<sup>[12-13]</sup>。因此下调Nogo-A及NgR表达,抑制神经纤维脱髓鞘、促进神经再生从而改善神经系统功能,可作为恢复脑缺血再灌注损伤患者机体功能障碍的评价指标之一。

康复训练是临床脑缺血再灌注损伤后康复治疗的一种有效手段,具有增加脑血流量、增加梗死区残留神经元百分比、减轻脑肿胀、及诱导血管内皮生长因子表达等多种生物学效应,对促进肢体运动功能恢复发挥着重要作用<sup>[14-15]</sup>。本研究通过对康复组大鼠进行被动康复训练,促进CIR区域的脑部及肢体血液循环,训练其抓握、平衡及爬行能力,观察康复训练对大鼠神经功能评分及运动功能的影响。结果显示康复训练一段时间后神经功能学评分、平衡木训练评分及转

棒行走评分逐渐降低,尤其康复训练17d及以后,各项评分均较模型组显著性下降,提示康复训练可促进CIR大鼠运动功能的恢复;同时在未经康复训练而常规饲养的模型组大鼠,术后其各项运动功能评分也逐渐降低,提示急性CIR后大鼠的运动功能存在自然恢复的趋势;本研究中,康复训练17d、24d后大鼠的各项运动功能评分均优于模型组,显示康复训练可进一步增强CIR后的运动功能恢复或促进了CIR后的自然恢复过程。

中枢神经系统内神经元的生存受到各种生长促进性和抑制性因子的相互影响,而神经生长抑制因子Nogo-A蛋白及其受体蛋白NgR在轴突再生和突触可塑性的调控中发挥重要作用<sup>[16]</sup>。本研究中,康复训练后各时段大鼠神经系统内Nogo-A、NgR蛋白表达均出现下降,其中康复训练24d表达对比模型组呈现显著性下降,提示康复训练对下调Nogo-A、NgR表达存在促进作用。前期研究表明,使用Nogo-A及NgR抗体治疗CIR大鼠,可观察到从未受损皮质到皮质下区域形成新的轴突联接,增强运动皮质的可塑性,并促进瘫痪前爪运动功能的恢复<sup>[17-18]</sup>。因此,阻止或下调Nogo-A和NgR蛋白的表达,促进了神经元的再生或神经元轴突的修复,行为学表现为神经功能评分的降低及瘫痪肢体运动功能的改善。

综上所述,康复训练可促进CIR大鼠神经功能和运动功

能的恢复,其作用机制可能与下调髓鞘抑制因子Nogo-A及NgR蛋白表达有关,而长期康复训练是否具有更强的恢复神经系统功能及改善肢体运动功能的能力仍需进一步探讨。

#### 参考文献

- [1] Teskey GC, Flynn C, Goertzen CD, et al. Cortical stimulation improves skilled forelimb use following a focal ischemic infarct in the rat[J]. *Neurol Res*, 2003, 25(8):794—800.
- [2] Komitova M, Johansson BB, Eriksson PS. On neural plasticity, new neurons and the postischemic milieu: an integrated view on experimental rehabilitation[J]. *Exp Neurol*, 2006, 199(1):42—55.
- [3] 朱庄臣,倪斌,倪斌.以Nogo蛋白及其受体为靶点促进神经再生的研究进展[J].*第二军医大学学报*, 2010, 31(6):670—673.
- [4] 陈杰,谭峰.髓鞘相关生长抑制因子与脑梗死远隔损害[J].*中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(11):274—279.
- [5] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. *Stroke*, 1989, 20(1):84—91.
- [6] 李红玲,刘春辉,葛艳萍,等.运动训练对脑出血大鼠神经功能恢复的影响[J].*中华物理医学与康复杂志*, 2006, 28:649—652.
- [7] Mátéffyová A, Otáhal J, Tsenov G, et al. Intrahippocampal injection of endothelin-1 in immature rats results in neuronal death, development of epilepsy and behavioral abnormalities later in life[J]. *Eur J Neurosci*, 2006, 24(2):351—3360.
- [8] Machado LS, Sazonova IY, Kozak A, et al. Minocycline and tissue-type plasminogen activator for stroke: assessment of interaction potential[J]. *Stroke*, 2009, 40(9):3028—3033.
- [9] Hua Y, Schallert T, Keep RF, et al. Behavioral tests after intrace-

- rebral hemorrhage in the rat[J]. *Stroke*, 2002, 33(10):2478—2484.
- [10] 李涵,陈萌,孔祥玉,等.脑缺血再灌注损伤后神经元损伤机制的研究进展[J].*承德医学院学报*, 2007, 24(4):413—415.
- [11] 赵春禹,张通,钮竹,等.强迫性上肢训练对缺血性卒中大鼠神经传导束的影响[J].*中国康复理论与实践*, 2007, 13(5):404—406.
- [12] Wang H, Yao Y, Jiang X, et al. Expression of Nogo-A and NgR in the developing rat brain after hypoxia-ischemia[J]. *Brain Res*, 2006, 1114(1):212—220.
- [13] 朱薇薇,赵红洋,温天莲,等.缺氧缺血性脑损伤新生大鼠Nogo受体水平及NEP1-40的神经保护作用[J].*中华儿科杂志*, 2010, 48(2):138—142.
- [14] 郑海清,胡昔权,潘三强,等.康复训练对脑梗死大鼠功能恢复及皮质梗死边缘区神经细胞超微结构的影响[J].*中国康复医学杂志*, 2008, 23(7):605—608.
- [15] 李雨峰,吴莹,程明,等.康复训练对脑梗死大鼠认知功能、海马内突触素和神经颗粒素表达的影响[J].*中国康复理论与实践*, 2012, 18(1):15—18.
- [16] Llorens F, Gil V, del Río JA. Emerging functions of myelin-associated proteins during development, neuronal plasticity, and neurodegeneration[J]. *FASEB J*, 2011, 25(2):463—475.
- [17] Wang X, Baughman KW, Basso DM, et al. Delayed Nogo receptor therapy improves recovery from spinal cord contusion[J]. *Ann Neurol*, 2006, 60(5):540—549.
- [18] Wang X, Duffy P, McGee AW, et al. Recovery from chronic spinal cord contusion after Nogo receptor intervention[J]. *Ann Neurol*, 2011, 70(5):805—821.

#### ·短篇论著·

## 运动训练联合心理治疗对脑卒中患者康复的影响\*

吴婉霞<sup>1</sup> 徐武华<sup>1</sup> 钟思琳<sup>1</sup> 沈雁<sup>2</sup> 刘文权<sup>1</sup> 庞兆烽<sup>1</sup>

脑卒中后患者抑郁与肢体功能及认知功能的损害常同时发生,互为因果;抑郁是脑卒中后的一种常见并发症,其发生率多数报道约为20%—50%,一定程度上影响了脑卒中患者神经功能、认知等各方面的恢复<sup>[1]</sup>。抑郁的不良情绪持续时间过长,可使躯体疾病恶化或加重,在脑卒中后的不同时期其危险因素各不相同,但心理社会因素始终是一个重要的影响因素<sup>[2]</sup>,目前这方面国内外均以药物治疗研究为主<sup>[3—4]</sup>,以

及同时开展康复治疗及针灸介入等<sup>[5]</sup>。国内有研究显示,开展心理干预介入治疗,尤其是认知行为心理治疗和支持性心理治疗能明显改善患者抑郁状态,有助于促进患者康复<sup>[6—8]</sup>,但这些都是独立由心理科协助治疗,在康复科同时开展早期心理-康复干预尚未重视。有鉴于此,我科在常规康复治疗小组的基础上,介入心理治疗,结果发现患者的肢体功能和认知功能有明显提高。

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2013.08.021

\*基金项目:广东省科技厅2010年社会发展项目研究基金资助项目(2010B031500004)

1 暨南大学医学院第四附属医院(广州市红十字会医院)康复医学科,广州市同福中路396号,510220;2 广州市创伤研究所

作者简介:吴婉霞,女,副主任医师;收稿日期:2013-01-15