

不同强度的游泳训练对脑缺血再灌注大鼠蛋白激酶 A 表达的影响

王玉阳 王佩佩 张振燕 王强

【摘要】 目的 探讨强化游泳训练对脑缺血再灌注大鼠神经功能及蛋白激酶 A (PKA) 表达的影响。**方法** 采用线栓法建立左侧大脑中动脉阻塞 (MCAO) 2 h 再灌注动物模型。120 只造模成功的雄性 SD 大鼠按随机数字表法分为训练 1 组、训练 2 组、训练 3 组和 MCAO 对照组, 每组 30 只。训练 1 组大鼠每日游泳 5 min, 训练 2 组大鼠每日游泳 10 min, 训练 3 组大鼠每日游泳 20 min; MCAO 对照组大鼠不给予任何训练。另选 30 只大鼠为假手术组, 不阻塞大脑中动脉血流, 不给予任何训练。以上 5 组大鼠又分别随机分为术后 3、7 和 14 d 三个时间点亚组, 每个时间点 10 只大鼠。分别于术后 3、7 和 14 d 三个时间点, 采用 Menzies 神经行为评分和前肢放置试验评价各亚组大鼠神经功能缺损情况, 采用免疫组织化学方法测定各亚组大鼠脑缺血再灌注后脑内 PKA 阳性细胞的表达率, 采用 RT-PCR 的方法测定各亚组大鼠脑缺血侧大脑皮质 PKA 的 mRNA 表达量, 并进行统计学分析比较。**结果** 假手术组神经功能正常。MCAO 对照组各时间点的神经功能评分与假手术组同时时间点比较, 组间差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 各训练组分别在训练 3、7 和 14 d 后的神经功能改善情况优于同时时间点 MCAO 对照组; 训练 3 组训练 14 d 后受损神经功能改善最明显 ($P < 0.05$), 其训练 3、7 和 14 d 后的 Menzies 评分分别为 (1.40 ± 0.55) 、 (1.00 ± 0.71) 和 (0.80 ± 0.45) 分, 前肢放置试验评分分别为 (5.20 ± 0.84) 、 (3.80 ± 1.30) 和 (2.40 ± 1.14) 分。训练 1、2 和 3 组各时间点的 PKA 阳性细胞表达率及其 mRNA 表达量高于同时时间点 MCAO 对照组; 且训练 3 组训练 14 d 后的 PKA 阳性细胞表达率及其 mRNA 表达量增加较其它各训练组更为明显 ($P < 0.05$), 其训练 3、7 和 14 d 后的 PKA 阳性细胞表达率分别为 $(32.84 \pm 1.66)\%$ 、 $(35.05 \pm 1.33)\%$ 和 $(45.92 \pm 2.03)\%$, PKA mRNA 表达量分别为 $(32.18 \pm 0.86)\%$ 、 $(37.44 \pm 1.27)\%$ 和 $(42.77 \pm 0.81)\%$ 。**结论** 强化游泳训练可以增加脑缺血再灌注大鼠 PKA 阳性细胞表达率及其 mRNA 表达量, 改善受损神经功能, 促进感觉和运动功能恢复。

【关键词】 强化训练; 脑缺血; 再灌注; 蛋白激酶类; 神经再生

Effects of different intensities of swimming training on the expressions of protein kinase A after cerebral ischemia-reperfusion in rats WANG Yu-yang, WANG Pei-pei, ZHANG Zhen-yan, WANG Qiang. Department of Rehabilitation Medicine, the Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, Qingdao 266005, China

Corresponding author: WANG Qiang, Email: sakulawangqiang@hotmail.com

【Abstract】 Objective To observe the effects of intensive-swimming training at different intensities on the neurological function and the expressions of protein kinase A after cerebral ischemia-reperfusion in rats, and to explore the possible neuroprotection mechanism of intensive-swimming training after cerebral ischemia-reperfusion in rats. **Methods** The animal model of cerebral ischemia-reperfusion was established in rats by using the intraluminal thread method to cause left middle cerebral artery occlusion (MCAO) for 2 h and then reperfusion. A total of 120 male model Sprague-Dawley rats were randomly divided into training group 1 (swimming for 5 min once a day), training group 2 (swimming for 10 min once a day), training group 3 (swimming for 20 min once a day) and control group (no training), with 30 rats in each group. Another 30 rats who were assigned to the sham-operation group were subject to no MCAO and no training. At the 3rd, 7th and 14th day post operation, 10 rats randomly selected from each group were examined for their neurological function by Menzies neurobehavioral test and forelimb placing test. Expressions of protein kinase A were detected by immunohistochemistry method. Expressions of PKA-mRNA were detected by using RT-PCR. **Results** The neurological function in sham-operation group was normal. The differences between sham-operation group and control group with regard to

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2013.07.001

基金项目:山东省教育厅科研发展计划(J09LF22)

作者单位:266021 青岛,山东青岛大学医学院附属医院康复医学科

通信作者:王强,Email:sakulawangqiang@hotmail.com

Menzies test and forelimb placing test scores were statistically significant at all the time points ($P < 0.05$). The improvement of neurological function in all training groups, were significantly better than those in controls at the 3rd, 7th and 14th d after swimming training, especially in training group 3 on the 14th day post-operation ($P < 0.05$). At 3rd, 7th, and 14th days post-operation, the Menzies scores were (1.40 ± 0.55) , (1.00 ± 0.71) and (0.80 ± 0.45) , respectively, and the forelimb placing scores were (5.20 ± 0.84) , (3.80 ± 1.30) and (2.40 ± 1.14) , respectively, in the training group 3. The number of positive cells and the expressions of protein kinase A mRNA were significantly higher in all training groups than those in the controls at the 3rd, 7th and 14th days after swimming training, and the increase of positive cells and mRNA of PKA in the training group 3 was significantly more obvious at 14th day compared with other training groups ($P < 0.05$). **Conclusions** Exercise training can increase the expression of positive cells and mRNA of PKA in rats after cerebral ischemia-reperfusion, hence, it improved the injured neurological function and promote the recover of sensory and motor function, and the more intensive the training, the better the effects.

【Key words】 Intensive training; Cerebral ischemia; Reperfusion; Protein kinases; Nerve regeneration

高致残性是脑卒中除高发病率、高病死率外的又一大特点,使患者不同程度地丧失了运动、感觉功能及高级神经功能,严重影响患者的日常生活能力和生活质量^[1-2]。运动训练能够促进患者受损肢体的功能恢复^[3-6],但目前其具体神经生物学机制尚未明确。蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 是细胞信号转导过程中的重要激酶,对神经元的存活和生长、轴突的生长和诱导起着重要的正向调节作用^[7-9]。本研究采用线栓法建立大鼠中动脉缺血再灌注大鼠模型,观察不同强度的游泳训练对大鼠神经功能及 PKA 表达的影响,旨在探讨强化训练对脑缺血再灌注大鼠神经功能的保护机制。

材料与方 法

一、脑缺血再灌注大鼠模型制备

成年健康雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 294 只,体重 240 ~ 260 g,清洁级,由山东济宁鲁抗大鼠饲养中心提供(合格证号 SLXK2008002),参照 Longa 法^[10]经颈外动脉线栓法制备左侧大脑中动脉阻塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 2 h 再灌注模型。造模成功的标志:大鼠苏醒后出现左侧 Honer 征,提尾悬空时右前肢屈曲、内收,爬行时向右侧转圈。按照 Menzies 等^[11]神经行为评分法,将麻醉清醒后评分 1 ~ 4 分的大鼠纳入研究。假手术组造模方法同上,但不阻塞大脑中动脉血流。

二、随机分组与训练方法

所有大鼠均饲养于 48 cm × 35 cm × 20 cm 的标准笼中,每 5 只一笼,室温 22 ~ 26 °C,以标准饲料和自来水喂养。参照王强等^[12]采用的大鼠游泳训练量,将纳入研究的大鼠按随机数字表法分为训练 1 组、训练 2 组、训练 3 组、MCAO 对照组和假手术组五组,每组 30 只;以上 5 组大鼠又随机分为术后 3、7 和 14 d 三个时

间点亚组,每个时间点 10 只大鼠。训练 1、2、3 组大鼠均于缺血再灌注 24 h 后开始进行游泳训练;训练 1 组每日游泳 5 min;训练 2 组每日游泳 10 min;训练 3 组每日游泳 20 min。每只大鼠单独放于水深 0.6 m、长 0.8 m、宽 0.8 m 的长方体透明玻璃容器中,水温 29 ~ 31 °C,水面距容器上沿 0.4 m,以使大鼠不能抓到容器边缘。MCAO 对照组和假手术组大鼠不做任何训练。

三、Menzies 评分

采用 Menzies 等^[11]评分法评定大鼠神经功能缺损情况:0 分,无神经功能缺损症状;1 分,提尾时对侧前肢屈曲;2 分,提尾时对侧前肢的抓力下降;3 分,可向各个方向自发运动并且仅在提尾时对侧转圈;4 分,自发向对侧转圈。

四、前肢放置试验

参照 Kawamata 等介绍的前肢放置试验^[13]方法进行大鼠行为测试,该试验包括如下三个亚试验 (subtest): (1) 视觉亚试验:①前方刺激——桌子位于动物前方,动物握于实验者手中,前爪悬空,自桌面上方 10 cm 向桌面缓慢倾斜靠近,正常反应为鼠前肢即刻抓向桌面 (0 分);损伤鼠肢体反应延迟,不超过 2 s (1 分);超过 2 s (2 分);②侧方刺激——桌子位于动物侧方,其余试验方法及评分标准同前方刺激。(2) 触觉亚试验:动物放在实验者手中桶状凹陷的实验器内,前爪悬空,使其既看不到也不能用胡须触到桌面,以前爪背面轻触桌面,刺激深度达皮肤和毛发,动物反应及评分同视觉亚试验,触觉刺激同样分前方和侧方刺激。(3) 本体觉亚试验:操作及评分同触觉亚试验,仅刺激深度不同,本体觉亚试验给予较重的压觉,刺激深度达肌肉和关节;该亚试验只有前方刺激。前肢放置试验得分 0 ~ 10 分,得分越高,功能损伤越重。本试验评测由 3 人完成,将其评分取平均值,记录并进行统计学分析。

五、免疫组织化学测定 PKA 阳性细胞的表达

于第 3、7 和 14 天时间点, 各组大鼠分别取 5 只, 用生理盐水 200 ml 心脏灌注直到流出液体清亮, 然后用 4% 多聚甲醛 200 ml 固定 30 min, 断头取脑。冠状面切取视交叉后约 5 mm 厚的脑组织, 浸泡于 4% 多聚甲醛溶液中固定 24 h。将大鼠脑组织常规梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋, 切片, 厚度为 5 μ m。采用 PV6001 通用二步免疫组化法检测 PKA (Santa Cruz Co Ltd, USA) 的表达。严格按试剂盒操作说明进行, DAB 显色, 苏木精轻度复染, 以细胞浆染成黄褐色为阳性表达。阴性对照用 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 代替一抗, 其余步骤相同, 未出现阳性表达。

光学显微镜下观察脑梗死同侧梗死灶周围皮质区, 每只大鼠取 5 张不连续切片, 每张切片在 400 倍视野下, 于同侧梗死灶周围皮质区, 随机选 5 个不重叠视野, 采用 Image Plus 图像分析仪计数 PKA 的阳性细胞数和总细胞数, 计算阳性细胞率 = (阳性细胞数/总细胞数) \times 100%。

六、RT-PCR 测定 PKA 的 mRNA 表达量

于第 3、7 和 14 天时间点, 各组大鼠分别取 5 只, 严格按照无菌条件分离出左侧大脑皮质, -80°C 保存。取出 -80°C 保存的大脑皮质, 用 Trizol RNA 提取试剂盒提取组织总 RNA, K5500 测定总 RNA 的纯度和浓度, -80°C 保存总 RNA。cDNA 第一链合成后 42°C 反转录 30 min, 95°C 5 min 灭活反转录酶, 4°C 5 min 冷却降温, -20°C 保存 cDNA。以反转录的 cDNA 作为 PCR 模板, 扩增。PKA 上游引物为 5'-AAGTGGTTT-GCCACAACACTGAC-3', 下游引物为 5'-AACTCCTTGC-CACATTTCTCA-3', 其目的片段长度为 158 bp, PKA 基因扩增条件: 94°C 预变性 5 min, 然后 94°C 30 s, 61°C 30 s, 72°C 30 s 循环 33 周期, 之后 72°C 延伸 5 min。GAPDH 上游引物为 5'-CACCCGCGAGTACAACCTTC-3', 下游引物为 5'-CCCATACCCACCATCACACC-3', 其目的片段长度为 207 bp, GAPDH 基因扩增条件: 94°C 预变性 5 min, 然后 94°C 30 s, 58°C 30 s, 72°C 30 s 循环 30 周期, 之后 72°C 延伸 5 min。制备 2% 琼脂糖凝胶, 取 RT-PCR 产物 4 μ l, 加上样缓冲液 (6 \times loading buffer) 1 μ l, 120 V 电压下电泳 30 min, 用 UVP 凝胶图像成像系统拍摄并储存图像, 用 Image J 图像分析系统分析图像并记录结果。

七、统计学分析

采用 SPSS 17.0 版统计软件对数据进行统计分析, 所有实验数据均以 ($\bar{x} \pm s$) 表示。采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

结 果

一、Menzies 评分

假手术组无神经功能缺损, 记为 0 分。MCAO 对照组在训练各时间点的行为评分均明显高于同时时间点的假手术组; 经游泳训练后, 各训练组的行为评分较同时时间点 MCAO 对照组均减低, 以训练 3 组评分明显降低 ($P < 0.05$), 且该组在训练 14 d 后评分降低最为明显 ($P < 0.05$)。详见表 1。

表 1 各组脑缺血再灌注大鼠不同训练时间点 Menzies 评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 例数 | 训练第 3 天 | 训练第 7 天 | 训练第 14 天 |
|----------|----|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 假手术组 | 5 | 0.00 \pm 0.00 | 0.00 \pm 0.00 | 0.00 \pm 0.00 |
| MCAO 对照组 | 5 | 4.00 \pm 0.00 ^a | 3.60 \pm 0.55 ^a | 2.80 \pm 0.45 ^a |
| 训练 1 组 | 5 | 3.20 \pm 0.84 ^{ab} | 2.80 \pm 0.45 ^{ab} | 2.20 \pm 0.45 ^a |
| 训练 2 组 | 5 | 2.40 \pm 0.89 ^b | 1.80 \pm 0.84 ^b | 1.60 \pm 0.55 ^b |
| 训练 3 组 | 5 | 1.40 \pm 0.55 ^{bc} | 1.00 \pm 0.71 ^{bcd} | 0.80 \pm 0.45 ^{bde} |

注: 与假手术组同时时间点比较, ^a $P < 0.05$; 与 MCAO 对照组同时时间点比较, ^b $P < 0.05$; 与训练 1 组同时时间点比较, ^c $P < 0.05$; 与组内训练第 3 天比较, ^d $P < 0.05$; 与组内训练第 7 天比较, ^e $P < 0.05$

二、前肢放置试验

假手术组行为测试评分正常。MCAO 对照组各时间点的行为评分均高于同时时间点假手术组 ($P < 0.05$); 各训练组的行为评分低于同时时间点 MCAO 对照组, 以训练 3 组评分明显降低 ($P < 0.05$), 且该组在训练 14 d 后评分降低最为明显 ($P < 0.05$)。详见表 2。

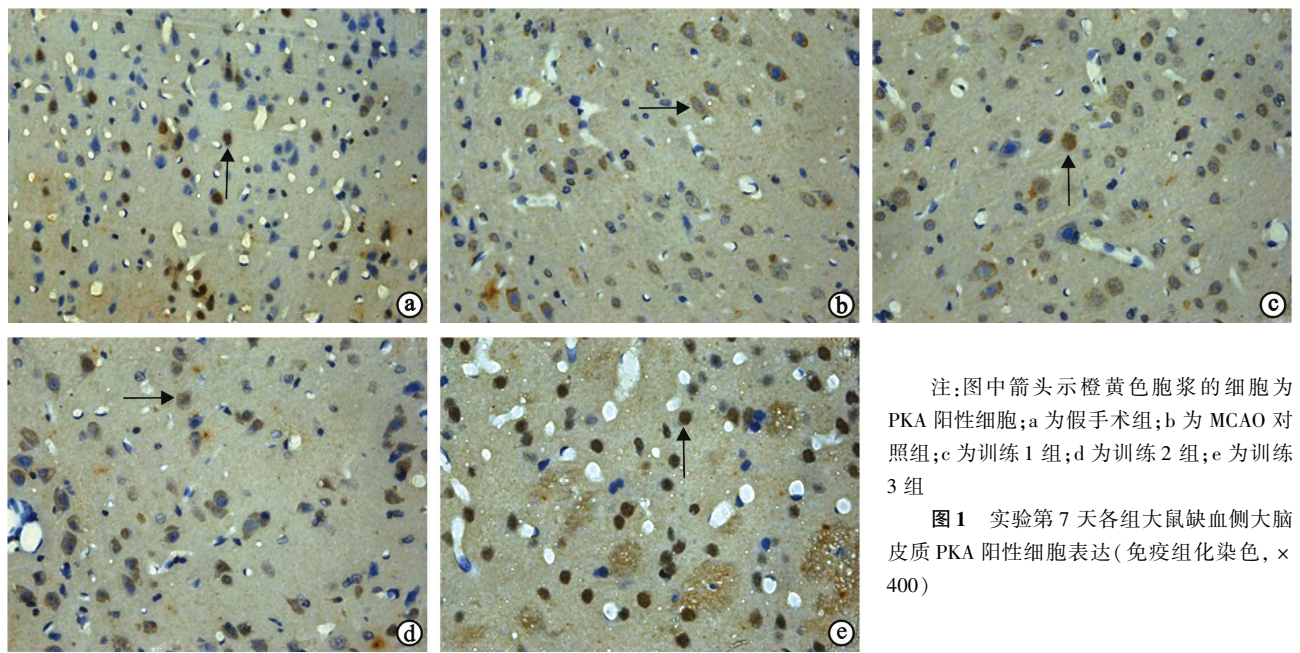
表 2 各组脑缺血再灌注大鼠不同训练时间点行为学评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 例数 | 训练第 3 天 | 训练第 7 天 | 训练第 14 天 |
|----------|----|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 假手术组 | 5 | 0.00 \pm 0.00 | 0.00 \pm 0.00 | 0.00 \pm 0.00 |
| MCAO 对照组 | 5 | 8.80 \pm 0.84 ^a | 8.00 \pm 1.00 ^a | 6.80 \pm 0.84 ^a |
| 训练 1 组 | 5 | 7.80 \pm 0.84 ^{ab} | 6.80 \pm 0.84 ^{ab} | 5.60 \pm 1.14 ^a |
| 训练 2 组 | 5 | 6.60 \pm 1.34 ^b | 5.20 \pm 0.84 ^b | 4.20 \pm 0.84 ^b |
| 训练 3 组 | 5 | 5.20 \pm 0.84 ^{bc} | 3.80 \pm 1.30 ^{bcd} | 2.40 \pm 1.14 ^{bde} |

注: 与假手术组同时时间点比较, ^a $P < 0.05$; 与 MCAO 对照组同时时间点比较, ^b $P < 0.05$; 与训练 1 组同时时间点比较, ^c $P < 0.05$; 与组内训练第 3 天比较, ^d $P < 0.05$; 与组内训练第 7 天比较, ^e $P < 0.05$

三、梗死灶周围 PKA 的表达

PKA 阳性细胞主要表达于梗死灶周边区的神经元中, 胞浆橙黄色 (图 1)。训练组、MCAO 对照组大鼠梗死灶周围均可见 PKA 阳性细胞表达, 而假手术组 PKA 阳性细胞最少; 各训练组大鼠梗死灶周围 PKA 表达明显高于 MCAO 对照组, 以训练 3 组的效果最明显 ($P < 0.05$), 且该组在训练第 14 天后 PKA 表达增多最为明显 ($P < 0.05$)。详见表 3。



注:图中箭头示橙黄色胞浆的细胞为 PKA 阳性细胞;a 为假手术组;b 为 MCAO 对照组;c 为训练 1 组;d 为训练 2 组;e 为训练 3 组

图 1 实验第 7 天各组大鼠缺血侧大脑皮质 PKA 阳性细胞表达(免疫组化染色, × 400)

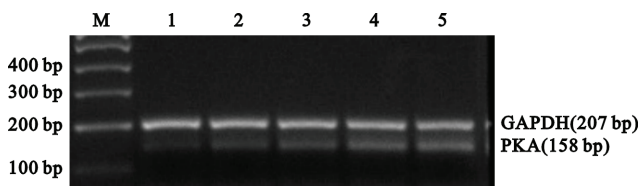
表 3 各组大鼠不同训练时间点脑组织梗死灶周围区 PKA 阳性细胞率比较(%, $\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 例数 | 训练第 3 天 | 训练第 7 天 | 训练第 14 天 |
|----------|----|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| 假手术组 | 5 | 17.00 ± 1.13 | 17.07 ± 1.35 | 17.13 ± 1.21 |
| MCAO 对照组 | 5 | 19.40 ± 1.72 ^a | 21.93 ± 1.10 ^a | 23.51 ± 1.12 ^a |
| 训练 1 组 | 5 | 22.59 ± 1.04 ^a | 24.16 ± 0.96 ^a | 26.23 ± 1.31 ^a |
| 训练 2 组 | 5 | 27.72 ± 1.66 ^b | 30.31 ± 1.77 ^b | 33.46 ± 1.23 ^b |
| 训练 3 组 | 5 | 32.84 ± 1.66 ^{bc} | 35.05 ± 1.33 ^{bcd} | 45.92 ± 2.03 ^{bcde} |

注:与假手术组同时时间点比较,^a $P < 0.05$;与 MCAO 对照组同时时间点比较,^b $P < 0.05$;与训练 1 组同时时间点比较,^c $P < 0.05$;与组内训练第 3 天比较,^d $P < 0.05$;与组内训练第 7 天比较,^e $P < 0.05$

四、缺血侧大脑皮质 PKA 的 mRNA 表达

根据 PKA mRNA 引物确定其表达条带位置,并观察其在缺血侧大脑皮质的表达量。本研究 PKA 引物大小为 158 bp,其电泳条带就在 158 bp,条带越亮,表达量越多(图 2)。各组大鼠大脑皮质均有 PKA 的表达,而假手术组 PKA 表达量最少,各训练组大鼠缺血侧皮质 PKA 表达量高于 MCAO 对照组,以训练 3 组 PKA 表达量明显增加($P < 0.05$),且该组训练 14 d 后 PKA mRNA 表达增多最为明显($P < 0.05$)。详见表 4。



注:图中 M 为 Mark,1 为假手术组,2 为 MCAO 对照组,3 为训练 1 组,4 为训练 2 组,5 为训练 3 组

图 2 实验第 14 天各组大鼠大脑皮质的 PKA 与 GAPDH 的 RT-PCR 产物电泳图

表 4 各组大鼠不同训练时间点大脑皮质 PKA mRNA 表达水平比较(%, $\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 例数 | 训练第 3 天 | 训练第 7 天 | 训练第 14 天 |
|----------|----|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| 假手术组 | 5 | 21.67 ± 0.47 | 21.90 ± 0.23 | 22.04 ± 0.81 |
| MCAO 对照组 | 5 | 22.69 ± 0.61 ^a | 24.28 ± 0.58 ^a | 27.31 ± 1.07 ^a |
| 训练 1 组 | 5 | 25.19 ± 0.91 ^a | 27.34 ± 0.65 ^a | 30.62 ± 1.43 ^a |
| 训练 2 组 | 5 | 27.60 ± 0.60 ^b | 31.63 ± 1.61 ^b | 34.84 ± 1.18 ^b |
| 训练 3 组 | 5 | 32.18 ± 0.86 ^{bc} | 37.44 ± 1.27 ^{bcd} | 42.77 ± 0.81 ^{bcde} |

注:与假手术组同时时间点比较,^a $P < 0.05$;与 MCAO 对照组同时时间点比较,^b $P < 0.05$;与训练 1 组同时时间点比较,^c $P < 0.05$;与组内训练第 3 天比较,^d $P < 0.05$;与组内训练第 7 天比较,^e $P < 0.05$

讨 论

一、强化训练对脑缺血再灌注大鼠受损神经功能恢复的影响

国内外大量研究证实,运动训练能够促进缺血梗死后受损神经功能的恢复。London 等^[14]认为,康复训练能够诱导新生血管生成,促进脑梗死灶内血管支架重建,从而促进受损功能恢复。Griesbach 等^[15]提出,运动训练可以增加梗死边缘区突触可塑性,其改善可能与新神经发芽、新突触形成相关,且运动时间窗取决于脑损伤程度。王佩佩等^[16]研究发现,运动训练能够促使 GFAP 及 bFGF 表达上调,提高星形胶质细胞对损伤的应答,从而促进中枢神经系统损伤后的功能恢复。本研究对脑缺血再灌注大鼠进行不同强度的游泳训练,采用 Menzies 评分和前肢放置试验观察大鼠受损神经功能改善情况。Menzies 评分和前肢放置试验结果显示,MCAO 对照组各时间点的评分均明显高于各时间点假手术组,脑梗死后大鼠运动和感觉功能严重受

损;各游泳训练组训练 3、7 和 14 d 后的评分低于同时点 MCAO 对照组,这可能与运动训练改善受损功能相关;而评分随每天训练时间的延长和总天数的增加而降低,以游泳训练 3 组评分明显降低,且该组训练 14 d 后评分降低最为明显,进一步表明了强化训练能够促使取得更好的功能恢复。本实验结果从行为学上证实了游泳训练能够促进受损神经功能的恢复,且强化训练能够促使其达到更好的效果,与上述国内外文献报道一致。

二、强化训练对脑缺血再灌注大鼠梗死灶周围 PKA 表达的影响

PKA 能够提高神经元的生长与存活能力,对轴突再生起着非常重要的正向调节作用^[17-18]。在神经元内,PKA 广泛表达,它由 2 个催化亚基和 2 个调节亚基构成,每个调节亚基上有 2 个环磷酸腺苷(cyclic adenosine mono phosphate, cAMP)结合位点。当 cAMP 与其结合位点结合后,释放出催化亚基,进入细胞核内,磷酸化反式作用因子 cAMP 反应元件结合蛋白(cAMP-response element binding protein, CREB)中特定的丝氨酸和(或)苏氨酸残基。磷酸化的 CREB(phosphorylated cAMP-response element binding protein, pCREB)形成同源二聚体,并与 DNA 上的 cAMP 应答元件蛋白(cAMP response element binding protein, CREB protein)结合,启动下游基因(bFGF、GFAP、BDNF 等)的转录,调节轴突的修复与再生^[19]。Yang 等^[20]体外实验研究表明神经生长因子(nerve growth factor, NGF)可以激活 cAMP-PKA 通路实现神经修复与再生作用。杨杰等^[21]研究指出,cAMP-PKA 通路在轴突的诱导和生长过程中起重要调节作用。Xu 等^[22]提出,PKA 能够促进耳蜗螺旋神经节外周纤维和中枢纤维再生;且与 PKA 浓度相关,高浓度促进再生,低浓度抑制再生。本实验研究结果显示,各组脑缺血再灌注大鼠 PKA 阳性细胞率及 mRNA 表达量较 MCAO 对照组均增加,这可能与脑梗死促使 PKA 表达增多、参与神经元存活和生长相关;游泳训练各组大鼠 PKA 阳性细胞率及 mRNA 表达量明显高于 MCAO 对照组,其中训练 3 组表达增加最明显,与上述行为学评分结果一致,表明运动训练促进受损功能恢复可能与其提高 PKA 表达相关。随着时间的推移,游泳训练 14 d 的各组大鼠 PKA 阳性细胞率及 mRNA 表达量较训练 3 和 7 d 的各组大鼠显著增加;训练 3 组的大鼠经过 14 d 的强化游泳训练后,PKA 的阳性细胞率及 mRNA 表达量均明显高于其它各组大鼠;表明运动训练促进受损功能恢复与其提高 PKA 表达相关,且强化训练能够取得更好的效果。尽管强化训练显著增加 PKA 表达的具体机制尚未明确,但本实验结果提示脑梗死大鼠神经功能的恢复极可能

与强化训练促使 PKA 表达上调、大量 PKA 参与神经修复和再生相关,缺血损伤后 PKA 表达的增加可能是神经功能缺损恢复的潜在神经生物学机制之一。

本实验研究发现,游泳训练能够促进脑缺血再灌注大鼠 PKA 表达上调,从而改善受损神经功能、促进感觉和运动功能恢复;并且强化游泳训练组大鼠 PKA 表达上调更明显,神经功能恢复尤为显著。上述实验结果表明,强化训练促使 PKA 表达上调,激活 cAMP-PKA 通路,调节轴突的生长和延伸过程,促进神经的修复与再生,从而促使受损中枢神经系统功能的恢复。

参 考 文 献

- [1] Mayo NE, Wood-Dauphinee S, Durcan L, et al. Activity, participation, and quality of life 6 months poststroke. *Arch Phys Med Rehabil*, 2002, 83:1035-1042.
- [2] Crozier S, Santoli F, Outin H, et al. Severe stroke: prognosis, intensive care admission and withhold and withdrawal treatment decisions. *Rev Neurol*, 2011, 167:468-473.
- [3] Toledano-Zarhi A, Tanne D, Katz-Leurer M, et al. Feasibility, safety and efficacy of an early aerobic rehabilitation program for patients after minor ischemic stroke: a pilot randomized controlled trial. *NeuroRehabilitation*, 2011, 28:85-90.
- [4] Enzinger C, Dawes H, Wade D, et al. Brain activity changes associated with treadmill training after stroke. *Stroke*, 2009, 40:2460-2467.
- [5] 韩超, 王强, 蔡明珠. 强化运动治疗对脑卒中偏瘫患者上肢功能恢复的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2011, 33:377-379.
- [6] 陆敏, 肖少华, 陈勇, 等. 运动训练时间和患者的治疗参与性对脑卒中患者运动功能预后的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2008, 30:92-95.
- [7] Oliverira RF, Kim M, Blackwell KT. Subcellular location of PKA controls striatal plasticity: stochastic simulations in spiny dendrites. *PLoS Comput Biol*, 2012, 8:e1002383.
- [8] Zhang Y, Smolen P, Cleary LJ, et al. Computational design of enhanced learning protocols. *Nat Neurosci*, 2011, 15:294-297.
- [9] 牛陵川, 李长清. cAMP-PKA 信号通路轴突再生. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2007, 34: 290-293.
- [10] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*, 1989, 20: 84-91.
- [11] Menzies SA, Hoff JT, Betz AL, et al. Middle cerebral artery occlusion in rats: a neurological and pathological evaluation of a reproducible model. *Neurosurgery*, 1992, 31:100-106.
- [12] 王强, 王佩佩, 岳寿伟, 等. 强化训练对脑缺血再灌注大鼠臂板蛋白 3A 及神经纤毛蛋白-1 表达的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2012, 34:2-7.
- [13] Kawamata T, Alexis NE, Dietrich WD, et al. Intracisternal basic fibroblast growth factor (bFGF) enhances behavioral recovery following focal cerebral infarction in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1996, 16:542-547.
- [14] London NR, Whitehead KJ, Li DY. Endogenous endothelial cell signaling systems maintain vascular stability. *Angiogenesis*, 2009, 12: 149-158.
- [15] Griesbach GS, Gómez-Pinilla F, Hovda DA. Time window for voluntary

exercise-induced increase in hippocampal neuroplasticity molecules after traumatic brain injury is severity dependent. *J Neurotrauma*, 2007, 24: 1161-1171.

[16] 王佩佩, 吴艺玲, 王强. 不同游泳训练强度对脑缺血再灌注大鼠胶质纤维酸性蛋白及碱性成纤维细胞生长因子表达的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2012, 34: 334-339.

[17] Peace AG, Shewan DA. New perspectives in cyclic AMP-mediated axon growth and guidance: the emerging epoch of Epac. *Brain Res Bull*, 2011, 84: 280-288.

[18] Teng FY, Tang BL. Axonal regeneration in adult CNS neurons—signaling molecules and pathways. *J Neurochem*, 2006, 96: 1501-1508.

[19] 黄国付, 黄晓琳. 电针结合重复经颅磁刺激对局灶性脑缺血大鼠蛋

白激酶表达的影响. *中国康复医学杂志*, 2010, 25: 401-404.

[20] Yang YJ, Lee HJ, Choi DH, et al. Effect of acoparone on neurite outgrowth in PC12 cells. *Neurosci Lett*, 2008, 440: 14-18.

[21] 杨杰, 周芝文, 杨期东, 等. 二苯乙烯苷对脑缺血再灌注大鼠神经保护的作用机制. *中南大学学报(医学版)*, 2010, 35: 321-328.

[22] Xu N, Engbers J, Khaja S, et al. Influence of cAMP and protein kinase A on neurite length from spiral ganglion neurons. *Hear Res*, 2012, 283: 33-34.

(修回日期: 2013-06-28)
(本文编辑: 汪 玲)

· 个案报道 ·

胸椎背伸肌群软组织损伤引发恶心呕吐暖气 1 例报道

聂克勤 张忠文 罗刚 王全峰

一、临床资料

患者, 女, 67 岁, 因“反复恶心呕吐暖气 5 d”于 2011 年 2 月 16 日入院。入院时查体: 体温 36.2 °C, 脉搏 78 次 / 分, 呼吸 19 次 / 分, 血压 130 / 85 mmHg, 神志清楚, 皮肤巩膜无黄染, 浅表淋巴结无肿大, 未见皮疹或出血点。双肺呼吸音低, 未闻及干湿性啰音。心率 78 次 / 分, 率齐, 无杂音。腹软, 无压痛、反跳痛, 肝脾肋下未触及, Murphy 征阴性, 双肾区无叩痛, 双下肢无水肿, 四肢活动无异常。患者肾功能正常, 血钾浓度为 3.47 mmol / L, 血常规及肝功能正常, 尿常规示尿胆原 (+), B 超示肝胆脾胰未见异常; 心电图检查正常, 上消化道钡餐检查示胃下垂伴胃炎; 腹部平片未见明显异常。头颅 CT 检查示患者有脑萎缩。患者初步诊断结果: 慢性胃炎、食管炎及脑萎缩。

二、诊治过程

入院后给予抑酸护胃、促进胃动力、改善脑循环等对症支持治疗。经 14 d 治疗后, 患者症状未见明显好转, 即使喝水也容易引发恶心呕吐, 卧床时症状略减轻, 起床后症状加重。经我科会诊, 发现患者颈椎生理曲度变浅, 项枕部无明显压痛, T₄₋₇ 棘突及其两侧背伸肌群脊柱附着处压痛敏感。我科提出初步诊断意见为胸椎背伸肌群软组织损伤导致恶心呕吐暖气。经患者同意, 于 2011 年 3 月 4 日上午对其左侧 T₄₋₇ 棘突旁压痛点进行银质针刺刺, 布针两行, 棘突内侧 5 枚, 外侧 4 枚^[1]。次日患者早餐可食 3 个馒头, 临床症状缓解。于 2011 年 3 月 6 日对患者右侧 T₄₋₇ 棘突旁压痛点行银质针刺治疗(针刺方法同上)。次日发现患者症状基本消失。在患者要求下, 于 2011 年 3 月 9 日及 3 月 11 日重复针刺上述部位。2011 年 3 月 14 日患者症状全部消失随即出院。出院后随访 1 年未见复发。

三、讨论

临床上胸椎背伸肌群软组织损伤较常见, 但引起恶心呕吐暖气症状者极为少见。软组织外科学认为: 胸椎棘突旁背伸肌群附着处软组织损伤性疼痛通常会沿所属肋骨向前胸传导, 在其肋软骨处形成高度敏感压痛点, 常误诊为肋软骨炎; 另外疼痛向前胸传导, 还容易形成胸痛、胸闷、呼吸不畅等诸种征象^[1]。对于软组织损伤引起的各种内脏系统症状, 有学者提出同根神经反射现象^[2]予以解释。所谓同根神经反射现象即某一子神经长期受到特定刺激后, 可通过母神经影响另一子神经, 出现相应的神经刺激症状。胸椎棘突旁背伸肌群软组织附着处属于胸脊神经后内侧支支配区域, 此区域软组织损伤可通过交通支反射性引起胸交感神经刺激现象, 从而诱发胸腹部一系列临床症状。

本研究患者无胸背部疼痛症状, 给予内科常规治疗无明显疗效; 同时该患者项枕部无压痛点, 仅 T₄₋₇ 棘突及其两侧背伸肌群附着处有敏感压痛点。根据软组织外科学原理, 当某一部位软组织出现明显无菌性炎性损伤时, 该部位常有敏感的压痛点存在, 故我科提出“胸椎背伸肌群软组织损伤性恶心呕吐暖气”即是根据上述软组织外科学的基本原理推理而来, 从治疗效果分析, 支持该诊断结果, 这提示我们在日常临床工作中应高度重视压痛点检查的重要性, 从而帮助医师及时正确诊断和治疗。

参 考 文 献

[1] 宣蛰人. 宣蛰人软组织外科学. 上海: 文汇出版社, 2002: 327, 419-433.

[2] 章瑛, 周锦财, 周江南. 颈腰痛杂志, 2002, 1: 6-8.

(修回日期: 2013-06-06)
(本文编辑: 易 浩)