

·基础研究·

电针对骶上脊髓损伤后神经源性膀胱大鼠脊髓组织中神经生长因子和酪氨酸激酶受体 A 表达的影响*

艾 坤¹ 张 泓^{1,3} 匡静之¹ 张雨辰² 李景兴¹ 鲍秋影¹

摘要

目的:观察电针对骶上脊髓损伤后神经源性膀胱大鼠脊髓组织内神经生长因子(NGF)及其酪氨酸激酶受体 A (TrkA)表达的影响,以探讨电针治疗该病的可能机制。

方法:SD 雌性大鼠 40 只,随机抽取 10 只为空白组,其余造模后随机分为模型组、电针穴位组和电针对照点组,每组 10 只。术后第 15 天起按组电针大鼠“次髎”、“中极”、“三阴交”三穴,分别施以 7 次治疗,治疗结束后取脊髓组织行 Western blot 检测 NGF 及其受体 TrkA 在脊髓组织中的表达。

结果:电针治疗 7 天后,脊髓组织中 NGF 及受体 TrkA 的表达均提高,而且针刺穴位组效果明显优于针刺对照点组。

结论:电针骶上脊髓损伤后神经源性膀胱大鼠“次髎”、“中极”、“三阴交”三穴可显著提高脊髓组织中 NGF 及受体 TrkA 的表达,并可能通过提高 NGF 及受体 TrkA 的表达而达到抑制膀胱逼尿肌亢进,恢复膀胱功能活动的目的。

关键词 电针;骶上脊髓损伤;神经源性膀胱;神经生长因子;酪氨酸激酶受体 A

中图分类号:R651.2,R493 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-1242(2014)-10-0948-03

骶上脊髓损伤(spinal cord injury,SCI)后引起的神经源性膀胱(neurogenic bladder, NB)严重影响了患者的生存质量。骶上 SCI 后引起的逼尿肌反射亢进是由于破坏了能对骶髓排尿中枢产生抑制作用的神经中枢或传导纤维,形成了新的骶髓反射弧^[1-4]。电针治疗有促进损伤脊髓修复的作用,但电针是否可通过调节脊髓的神经生长因子(NGF)及其酪氨酸激酶受体 A (TrkA)的变化,从而治疗骶上 SCI 后引起的神经源性膀胱,临床研究报道较少。本文观察电针对骶上 SCI 后神经源性膀胱大鼠脊髓组织内 NGF 及其受体 TrkA 表达的影响,了解电针治疗骶上 SCI 后神经源性膀胱的机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物和分组

40 只雌性 SD 大鼠,体重 250—280g,由湖南中医药大学实验动物中心提供,随机挑选 10 只作为空白组,其余 30 只大鼠进行骶上脊髓损伤的手术造模,14d 后确定神经源性膀胱模型成功后再用随机数字表法分为:模型组、针刺穴位组与针刺对照点组,每组 10 只。

1.2 模型制备

除空白组外,其余三组参照 Hassan Shaker^[5]脊髓横断法并加以改良,制作骶上脊髓损伤模型。具体操作方法如下:术前 2h 腹腔注射青霉素钠 20 万 U 以抗感染。用 10%的水合

氯醛按 30mg/kg 进行腹腔注射麻醉,将大鼠以俯卧位固定于鼠板上,以其浮肋连接 T13 处作为骨性标志来定位,本次实验脊髓损伤节段统一在 T10 以下,确定部位后备皮、消毒,沿背部正中线以 T10—T11 为中心做长约 2—3cm 的纵向切口,向两侧分离皮肤及皮下组织,暴露 T10、T11 棘突以及与之相邻的椎弓。用显微咬骨器从尾侧向头侧咬除 T10 椎板直至两侧椎弓根,直至脊髓暴露。然后用牙科弯钩将椎间隙中的脊髓勾出,手术刀尖快速切断,可反复几次以确保脊髓完全横断。术后观察大鼠的心跳和呼吸无异常后,缝合肌肉、皮肤。以双下肢瘫痪作为 SCI 造模成功的标志。大鼠术后均单笼饲养,每天腹腔注射青霉素钠进行抗感染处理,连续 7d,脊髓休克期膀胱处于尿潴留状态每天手法辅助排尿 2—3 次,术后第 12—14 天均渡过脊髓休克期,膀胱出现无抑制性收缩,膀胱最大容量明显下降,说明骶上 SCI 后神经源性膀胱模型造模成功,第 15 天开始治疗。

1.3 治疗方法

空白组和模型组只捆绑不针刺,针刺穴位组和针刺对照点组选取直径 0.3mm×25mm 的毫针进行针刺,针刺穴位组选取“次髎”、“中极”、“三阴交”三穴,针刺对照点组选取上述三穴的对照点,具体定位及操作如下:“次髎”^[6](第 2 骶后孔处),直刺 15mm;“中极”^[7](神阙穴^[7]与耻骨联合上缘连线的上 4/5 与下 1/5 的交点),直刺 5mm;“三阴交”^[8](后肢内踝尖直上

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2014.10.011

*基金项目:湖南省中医药科研计划项目(201109);湖南省自然科学基金项目(13JJ3098);湖南省教育厅科研项目(12C0264)

1 湖南中医药大学针灸推拿学院,湖南长沙,410007; 2 湖南中医药大学第二附属医院; 3 通讯作者

作者简介:艾坤,男,讲师; 收稿日期:2013-08-19

方1cm处),直刺5mm;“次髂对照点”(次髂外侧旁开0.3cm处取穴),直刺15mm;“中极对照点”(中极左侧旁开0.3cm处取穴),直刺5mm;“三阴交对照点”(三阴交向后旁开0.3cm处取穴),直刺5mm。针刺后接用SDZ-V型华佗牌电针治疗仪,中极与三阴交一组(三阴交左右两穴隔日交替进行),左右两次髂穴一组。电针刺刺激参数:疏密波,密波频率50Hz,疏波频率10Hz,密波工作9s,疏波工作5s,强度以肢体轻颤并耐受为度。治疗时间20min,每隔24h治疗1次,共7次。

1.4 观察指标、样本采集及检测方法

1.4.1 观察指标:大鼠一般情况的观察:反应、进食、活动、爬行、膀胱充盈度及是否需要手法辅助排尿。

1.4.2 样本采集及检测方法:4组大鼠经过7次治疗后进行一次膀胱最大容量的观察并记录,然后以10%的水合氯醛腹腔注射麻醉。在全麻状态下迅速剥离大鼠背部皮肤、筋膜、肌肉等充分暴露T11—S4的脊椎,平整切除T13—S2脊椎用冰生理盐水冲洗后放入冻存管中,存放于-80℃低温冰箱,以备用于Western blot检测。

2 结果

2.1 一般情况观察

造模前,各组大鼠均反应灵活、活动自如、有自主排尿能力。实验期间,空白组大鼠如前,模型组、针刺穴位组、针刺对照点组大鼠造模术后分为两个时期:①脊髓休克期:三组大鼠后肢没有参与行走,只在前肢行走时处于拖动状态,膀胱胀大明显,出现尿潴留,每天需手法辅助排尿2次。②脊髓休克期过后:大鼠后肢仍不能参与行走,膀胱胀大不明显,无需手法辅助排尿,下腹部及笼内垫料潮湿。且经治疗后针刺穴位组和针刺对照点组与模型组比较,膀胱比较充盈。

术后并发症主要有刀口和肺部及泌尿系感染、血尿、压疮、自残。正式实验过程中,出现感染和血尿4例,出现自残2例,出现压疮3例,整个实验结束时3组大鼠的存活情况:模型组7只,针刺穴位组8只,针刺对照点组7只。

2.2 脊髓组织中神经生长因子及受体TrkA表达量的观察

见表1,所有大鼠治疗结束后,空白组的神经生长因子(nerve growth factor, NGF)及受体TrkA的表达明显高于模型组、针刺穴位组、针刺对照点组,针刺穴位组、针刺对照点组的NGF及受体TrkA的表达明显高于模型组,差异有显著

表1 各组大鼠脊髓NGF、TrkA灰度值的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	NGF	TrkA
空白组	10	0.51340±0.08525	0.82980±0.09611
模型组	7	0.11686±0.03402 ^①	0.33571±0.17521 ^①
针刺穴位组	8	0.41862±0.08393 ^{②③⑤}	0.66362±0.08728 ^{③⑤}
针刺对照点组	7	0.24943±0.08753 ^{②③}	0.49043±0.09959 ^{④⑤}

注:与空白组相比:① $P < 0.01$,② $P < 0.05$;与模型组相比:③ $P < 0.01$,④ $P < 0.05$;与针刺对照点组相比,⑤ $P < 0.01$ 。

性意义,其中针刺穴位组明显高于针刺对照点组,差异具有显著性意义。

3 讨论

脊髓损伤后神经源性膀胱促进膀胱功能恢复是目前临床面临的主要问题,某些生长因子在促膀胱功能的恢复中起重要作用,而NGF是其中最为重要的一类。NGF是最早被人们发现和确定的神经营养因子,并且只有与特异性高亲和力受体TrkA结合才能对神经细胞的存活和再生发挥正性营养作用。NGF对神经源性膀胱功能的修复机制可能与减少脊髓损伤局部神经细胞凋亡有关。这一作用的过程可能是NGF与TrkA结合后,激活PI3-K-Akt通路,从而抑制脊髓损伤局部神经细胞凋亡,在急性损伤期,保护脊髓损伤局部神经细胞。

大量研究已经证明^[8-10],NGF对SCI后的组织修复和功能重建具有重要作用。NGF不仅对脊髓中的感觉、交感神经元和前角部分运动神经元都有修复作用,而且在防止SCI继发性损伤的病理过程中也起着重要作用^[11]。实验还发现^[12],脊髓损伤局部NGF的增加,有利于损伤轴突的生长,对中枢和周围神经元有着重要的调控作用。提示需要一种治疗手段来提高脊髓组织中内源性NGF及受体TrkA的含量,使残存的神经元觉醒并恢复其兴奋性,电针就是治疗SCI的重要手段之一。

本实验显示,骶上SCI后的神经源性膀胱模型大鼠脊髓中的NGF会出现显著降低,而电针刺刺激可使模型大鼠脊髓中的NGF及受体TrkA表达量有一定程度的升高且针刺穴位组优于针刺对照点组,说明穴位与非经穴比较具有相对特异性。实验结果表明电针次髂、中极、三阴交三穴可通过提高脊髓中NGF及受体TrkA的表达,使其相互结合发挥生物学效应,从而促进骶上脊髓损伤后脊髓功能的重塑,达到抑制逼尿肌亢进、调节膀胱功能的目的。

参考文献

- [1] 瞿创予,任吉忠,闵志廉.膀胱过度活动症研究进展[J].中华泌尿外科杂志,2002,23(6):381.
- [2] 金锡御,吴雄飞.尿道外科学[M].北京人民卫生出版社,2004.395—426.
- [3] De Seze M,Wiart L,de Seze MP,et al.Intravesical capsaicin versus resiniferatoxin for the treatment of detrusor hyperreflexia in spinal cord injured patients:a double-blind,randomized,controlled study[J].J Urol,2004,171(1):251—255.
- [4] Kim JH,Rivas DA.Intravesical resiniferatoxin for refractory detrusor hyperreflexia:a multicenter,blinded,randomized,placebo-controlled trial[J].J Spinal Cord Med,2003,26(4):358—363.
- [5] Hassan Shaker, Mourad MS, Elbially MH,et al.Urinary bladder hyperreflexia:a rat animal model[J].Neurourology and Urodynamics,2003,22:693—698.
- [6] 于金娜,刘金顺,马晓晶,等.大鼠“次髂”穴的定位和解剖结构

- [J].针刺研究,2007,32(5):334.
- [7] 刘密,常小荣,严洁,等.艾灸预处理对大鼠应激性胃黏膜损伤增殖修复相关因子的影响[J].世界华人消化杂志,2012,20(1):53—59.
- [8] Grill RJ, Blesch A, Tuszynski MH. Robust growth of chronically injured spinal cord axons induced by grafts of genetically modified NGF-secreting cells[J]. Exp Neurol, 1997, 148: 444—452.
- [9] Tuszynski MH, Gabriel K, Gage FH, et al. Nerve growth factor delivery by gene transfer induces differential outgrowth of sensory, motor, and noradrenergic neurites after adult spinal cord injury[J]. Exp Neurol, 1996, 137: 157—173.
- [10] Unger JW, Kitzsch T, Reiter R. Nerve growth factor (NGF) and diabetic neuropathy in the rat: Morphological investigations of the sural nerve, dorsal root ganglion, and spinal cord[J]. Exp Neurol, 1998, 153: 23—34.
- [11] 黄纯海,王廷华,李群. 脊髓全横断大鼠神经生长因子和脑源性神经营养因子表达及三七皂苷的干预效应[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(41): 8276—8279.
- [12] Fumagalli F, Madaschi L, Brenna P, et al. Single exposure to erythropoietin modulates nerve growth factor expression in the spinal cord following traumatic injury: comparison with methylprednisolone[J]. Eur J Pharmacol, 2008, 578(1): 19—27.

·临床研究·

老年髌部骨折股骨近端髓内钉-螺旋刀片固定与关节置换术后平衡能力的比较

吴博¹ 张雷¹ 庞文君¹ 张鸣生^{1,2}

摘要

目的:通过比较老年髌部骨折患者骨近端髓内钉-螺旋刀片(PFNA)固定与关节置换术后平衡能力的差异,探讨两种手术方式对患者平衡功能恢复的影响。

方法:21例患者,分成PFNA内固定组(PFNA, n=11)和关节置换术组(置换组, n=10)。在术后约43周采用Pro-Kine line 254 P(PK 254P)平衡反馈训练仪评定两组患者的平衡能力,通过软件静态稳定性模块直接得到压力中心(COP)相关参数结果。

结果:睁眼及闭眼状态下PFNA及置换组的前后标准差有明显差异($P<0.05$),PFNA组优于置换组,而其他各指标差异不显著($P>0.05$)。睁眼状态下PFNA与关节置换组压力中心偏向分布不同,PFNA治疗的患者的负重侧偏向于手术患侧,而关节置换术治疗的患者的负重侧偏向于非手术侧。闭眼状态下PFNA与关节置换组压力中心偏向分布情况基本相同。

结论:PFNA术后患者前后方向平衡能力优于关节置换术。

关键词 股骨近端髓内钉-螺旋刀片;关节置换术;平衡能力

中图分类号:R685, R493 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-1242(2014)-10-0950-03

髌部骨折是老年人多发病,其中以股骨粗隆间骨折和股骨颈骨折最为常见。老年人发生股骨颈骨折后进行髌关节置换术是公认的有效治疗方法之一。股骨粗隆间骨折的老年患者也往往采用手术治疗,以减少卧床引起的并发症和尽早进行功能锻炼以促进功能恢复,股骨粗隆间骨折常采用的手术方式主要有近端髓内钉固定术(dynamic hip screw, DHS)、近端股骨髁螺钉内固定术(dynamic condylar screw, DCS)、股骨近端髓内钉固定术(proximal femoral nail, PFN)

等,但对于有骨质疏松的老年患者,尤以改进型的股骨近端髓内钉-螺旋刀片(proximal femoral nail antirotation, PFNA)内固定最为推崇、应用也最广,可以让髌部骨折后的老年患者尽早进行功能锻炼,减少了住院天数,以及卧床引起的并发症等。大量的临床试验比较PFNA与关节置换手术的不同,然而,比较PFNA与关节置换术后患者平衡能力的研究极少。本研究通过比较老年髌部骨折患者PFNA固定与关节置换术后平衡能力的差异,探讨不同手术方式对髌关节

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2014.10.012

1 广东省人民医院,广东省医学科学院,广东省老年医学研究所,510080; 2 通讯作者
作者简介:吴博,男,主管治疗师; 收稿日期:2013-11-05