

· 基础研究 ·

参芎葡萄糖注射液对大鼠脊髓损伤后神经功能恢复和水通道蛋白-4 的影响

吴银侠 袁小燕 陈新胜 王淑媛 黄承芳

【摘要】 目的 观察参芎葡萄糖注射液对大鼠脊髓损伤(SCI)后神经功能恢复和水通道蛋白-4(AQP-4)的影响,探讨参芎葡萄糖注射液治疗急性SCI的可能机制。方法 选取正常成年SD大鼠90只,按照随机数字表法将其分为假手术组、SCI组、药物组,每组30只。SCI组和药物组采用改良Allen's打击法建立大鼠SCI模型,假手术组只行椎板切除术,不打击脊髓,药物组术后经腹腔注射参芎葡萄糖30 ml/kg,每日1次,假手术组和SCI组术后给予等量生理盐水。术后1 d、3 d、7 d、14 d、21 d,分别取6只大鼠进行Tarlov评分,观察大鼠的神经功能恢复情况。采用苏木精-伊红(HE)染色观察大鼠SCI后病理改变,应用免疫荧光染色及免疫印迹法观察SCI后不同时段AQP-4的表达情况。结果 假手术组大鼠术后各时间点Tarlov评分变化不明显($P > 0.05$),SCI组和药物组术后Tarlov评分明显下降。随着时间延长,SCI组和药物组大鼠后肢神经功能均有不同程度的恢复,且药物组术后3 d、7 d、14 d、21 d Tarlov评分较SCI组显著改善($P < 0.05$)。术后21 d,药物组大鼠病理改变较轻,残留神经元较SCI组多,尚可见核仁。与假手术组同时时间点比较,SCI组、药物组各时间点AQP-4表达水平均较高,差异有统计学意义($P < 0.05$),与SCI组同时时间点比较,药物组各时间点AQP-4表达水平较低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。大鼠Tarlov评分与AQP-4蛋白表达水平在术后3 d($r = -0.523, P = 0.003$)、7 d($r = -0.437, P = 0.016$)、14 d($r = -0.417, P = 0.022$)、21 d($r = -0.377, P = 0.040$)呈负相关。结论 参芎葡萄糖注射液能有效促进SCI后大鼠的运动功能恢复,其机制可能是通过抑制SCI区AQP-4表达,阻止脊髓水肿发展,进而减轻继发性SCI症状。

【关键词】 参芎葡萄糖注射液; 脊髓损伤; AQP-4; Tarlov评分

Effect of the shenxiang glucose injection on the recovery of neural function and the expression of AQP-4 in rats after spinal cord injury Wu Yinxia*, Yuan Xiaoyan, Chen Xinsheng, Wang Shuyuan, Huang Chengfang.

*Clinical College, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430064, China

Corresponding author: Huang Chengfang, Email: pikaqiuhuang@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To explore the action mechanism of shenxiang glucose injection in treatment of acute spinal cord injury (SCI) through observing its effects on the recovery of motor function and the expression of aquaporin-4 (AQP-4) in SCI rats. **Methods** Totally 90 healthy, adult, Sprague-Dawley rats were randomly divided into a sham operation group ($n = 30$), a SCI group ($n = 30$) and a drug group ($n = 30$). The SCI rat models in both the SCI group and the drug group were established according to the modified Allen's method, while the sham operation group was only given laminectomy. After the operation, the drug group was given intraperitoneal shenxiang glucose injection of 30 ml/kg a day, while the other two groups were injected in the same way with normal saline. The neural function recovery, the pathological changes after SCI and the expressions of AQP-4 were observed 1, 3, 7, 14 and 21 d after the operation using the Tarlov score, the hematoxylin and eosin staining, as well as immunofluorescence techniques and Western blotting. And the correlation of Tarlov scores with AQP-4 expressions was analyzed. **Results** No significant changes in Tarlov scores were observed in the sham operation group ($P > 0.05$), while in the SCI group and the drug group, postoperative Tarlov scores decreased significantly. The hindlimb nerve function recovered to some degree with time in the SCI group and drug group. At 3, 7, 14 and 21 days after the operation, the Tarlov scores in the drug group were significantly higher than the SCI group ($P < 0.05$). The drug group showed less severe pathological changes, with more residual neurons still visible of nucleoli than the SCI group 21 days after the operation. Compared with the sham operation group, the expression levels of AQP-4 were significantly higher in the SCI group and drug group at all the time points ($P < 0.05$). However, the expression levels of AQP-4 in the drug group

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2014.012.003

作者单位:430064 武汉,武汉科技大学临床学院(吴银侠、袁小燕、陈新胜、黄承芳);湖北省襄阳市中心医院神经内科(王淑媛)

通信作者:黄承芳,Email: pikaqiuhuang@yahoo.com.cn

were significantly lower than the SCI group accordingly ($P < 0.05$). The Tarlov scores were found to be significantly and negatively related to the AQP-4 protein expression levels 3 days ($r = -0.523, P = 0.003$), 7 days ($r = -0.437, P = 0.016$), 14 days ($r = -0.417, P = 0.022$) and 21 days ($r = -0.377, P = 0.040$) after the operation. **Conclusion** Injecting shenxiang with glucose can effectively promote the recovery of motor function after SCI, at least in rats. And its mechanism may be that the development of spinal cord edema is prevented and the secondary spinal cord injury alleviated by restraining the expressions of AQP-4 in the injured areas.

【Key words】 Shenxiang glucose injection; Spinal cord injury; AQP-4; Tarlov score

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)包括原发性损伤和继发性损伤,致残率较高,是临床上常见的严重中枢神经系统疾病之一。原发性损伤是指机械性损害直接导致局部神经组织被压迫、牵拉、撞击或切割性破坏,继发性损伤是指原发性损伤后立即发生的进行性病理生理变化,主要包括脊髓出血、水肿、微循环障碍等。原发性损伤具有不可逆性,继发性损伤可在原发性损伤基础上进一步加重创伤所致的组织损害和功能丧失,故目前有关 SCI 的研究主要集中在预防和逆转脊髓内继发性病理损伤^[1-2]。水通道蛋白-4(aquaporin-4, AQP-4)是一种与水通透性有关的细胞膜转运蛋白,在急性 SCI 脊髓水肿的形成与消退中起重要作用^[3]。参芎葡萄糖注射液的主要成分为盐酸川芎嗪和丹参素,其药理作用丰富,有扩张血管、抑制血小板聚集、降低血液黏度、改善微循环、减轻组织缺氧性损害等作用。临床上,参芎葡萄糖注射液对急慢性缺血性神经系统疾病有确切疗效,但有关其治疗 SCI 的研究报道尚少^[4]。本研究通过观察参芎葡萄糖注射液对大鼠 SCI 后神经功能恢复和 AQP-4 表达的影响,探讨其治疗急性 SCI 的可能机制,为 SCI 的药物治疗拓展新思路。

材料和方法

一、主要实验动物及材料

选取 6 月龄健康成年 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 90 只,雌雄不限,体重(220 ± 20)g,由武汉科技大学实验动物中心提供,动物使用许可证号:SYXK(鄂)2008-0045。主要实验材料包括参芎葡萄糖注射液(贵州景峰公司)、兔抗大鼠 AQP-4 抗体(武汉博士德公司)、DyLight 488 绿色羊抗兔二抗(英国 ABCAM 公司)、苏木素(北京赛驰公司)、 β -actin 抗体(美国 Abcam 公司)、4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)染液(碧云天公司)。

二、分组及模型制备

按照随机数字表法将大鼠分为假手术组、SCI 组、药物组,每组 30 只。用 3% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉(1 ml/kg)大鼠,常规脱毛、消毒、铺巾,以 T₁₂ 椎体棘突为中心,行背正中切口,分离皮肤及肌肉,显露 T₁₁ ~ L₁ 棘突及椎板,SCI 组和药物组采用改良 Allen's 打击法建立大

鼠 SCI 模型,假手术组只行椎板切除术,不打击脊髓^[5]。

三、干预措施及神经功能评价方法

药物组术后经腹腔注射参芎葡萄糖 30 ml/kg(首次给药在术后 15 min),每日 1 次,假手术组和 SCI 组术后给予等量生理盐水,给药时间、剂量同药物组。术后 1 d、3 d、7 d、14 d、21 d,分别取 6 只大鼠进行后肢神经功能评分。改良 Tarlov 评分标准^[6]:完全性瘫痪,0 分;有肌肉自发性收缩,1 分;关节活动好、但不能站立,2 分;能站立、无法行走,3 分;可行走,但晃摆,4 分;正常,5 分。

四、取材与标本制备

术后 1 d、3 d、7 d、14 d、21 d,对各组大鼠进行神经功能评价后取材。采用戊巴比妥钠腹腔注射麻醉(1 ml/kg)大鼠,剖胸暴露心脏,先用 200 ml 生理盐水经左心室主动脉插管灌注冲洗血液,后用 4% 多聚甲醛灌注固定至大鼠肢体僵硬,剖开椎管,取出以损伤段脊髓为中心长约 1 cm 的脊髓组织,一部分置于液氮中保存,供免疫印迹检测使用,另一部分用多聚甲醛固定,常规石蜡包埋,连续切片,切片厚度约 7 μ m,部分切片按常规方法进行苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色,部分切片行免疫荧光检测。

五、组织形态学观察

从脊髓组织连续切片中隔 4 张抽取 1 张,在光学显微镜下观察 SCI 后各时间点脊髓组织的形态结构变化。

六、免疫荧光检测 AQP-4 蛋白表达水平

术后 1 d、3 d、7 d、14 d、21 d,从各组选取制备好的脊髓组织切片 3 张,脱蜡,置于 98 $^{\circ}$ C 枸橼酸缓冲盐溶液修复抗原,加入 0.4% Triton X-100 处理后,用 5% 山羊血清封闭,加入兔抗大鼠 AQP-4 一抗(1:500),4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,阴性对照用磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution, PBS)代替一抗, PBS 冲洗 3 次,加入 DyLight 488 绿色羊抗兔二抗(1:500),37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h, PBS 清洗 2 次,加入 DAPI 复染,甘油封片,在荧光显微镜下观察并拍摄照片,在每张切片损伤中心区域随机选取 5 个不重复视野,计算 3 张切片共计 15 个高倍视野($\times 200$)的平均阳性细胞数,并进行统计学分析。

七、免疫印迹法检测 AQP-4 蛋白表达水平

取脊髓组织 50 mg,于冰上裂解、匀浆、离心、提取蛋白质,按照 Bradford 法测定蛋白浓度,制备蛋白样

品,等量蛋白(40 μg)样品上样,经 12% 十二烷基磺酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)-聚丙烯酰胺凝胶电泳(polyacrylamide gelelectrophoresis, PAGE)后转移至聚偏二氟乙烯膜(polyvinylidene fluoride, PVDF)上,置于 5% 脱脂奶粉中室温封闭 1 h,加入一抗兔抗大鼠 AQP-4 抗体和 β -actin, 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,洗膜,加入二抗辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 抗体,室温孵育 1 h,洗膜后加入二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)显色液,反应 1 min,暗室曝光显影后冲洗胶片,于凝胶成像分析系统上摄像分析扫描。以 β -actin 为内参,测定各泳道 AQP-4 蛋白条带光密度,以 AQP-4 与内参 β -actin 的比值作为 AQP-4 蛋白相对含量。

八、统计学分析

采用 SPSS 17.0 版统计学软件对实验数据进行统计分析,所有数据均采用($\bar{x} \pm s$)形式表示,组间比较采用单因素方差分析,方差齐时用最小显著差异法(least significant difference, LSD),SCI 组、药物组 Tarlov 评分与 AQP-4 蛋白相对灰度值间的关系采用 Pearson 分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

一、3 组大鼠不同时间点运动神经功能评分比较

假手术组大鼠术后各时间点 Tarlov 评分变化不明显,差异无统计学意义($P > 0.05$)。与组内术后 1 d 比较,SCI 组仅术后 7 d、14 d、21 d 时的 Tarlov 评分显著较高($P < 0.05$)。药物组术后 3 d、7 d、14 d、21 d 的 Tarlov 评分逐渐增高,与组内术后 1 d 比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与组内术后 3 d 比较,SCI 组、药物组术后 7 d、14 d、21 d 时的 Tarlov 评分较高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与组内术后 7 d、14 d 比较,仅药物组术后 21 d 时的 Tarlov 评分显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与假手术组同时点比较,SCI 组、药物组各时

间点的 Tarlov 评分显著较低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与 SCI 组同时点比较,药物组除术后 1 d 外,其余各时间点的 Tarlov 评分均显著高于 SCI 组,差异有统计学意义($P < 0.05$),详见表 1。

二、3 组大鼠脊髓组织的病理学变化

术后 21 d,镜下观察假手术组脊髓形态未见明显异常,神经纤维排列有序,神经元大小形态正常,无空洞形成。SCI 组可见脊髓灰质组织疏松,神经纤维排列紊乱,神经元数量显著减少,形态异常,残留神经元部分空泡变性、核仁消失、神经纤维溶解,损伤区大量空洞形成。药物组上述改变明显较轻,残留神经元较 SCI 组多,尚可见核仁,提示参芎葡萄糖注射液对受损脊髓的组织形态学有改善作用,详见图 1。

三、3 组大鼠不同时间点脊髓组织 AQP-4 的免疫荧光检测情况

不同时间点,3 组大鼠脊髓组织均有一定量的 AQP-4 表达,主要分布在神经胶质细胞、室管膜细胞、神经元细胞等处。假手术组虽有一定程度的表达,但一直处于相对稳定的较低水平。与组内术后 1 d 比较,SCI 组术后 3 d、7 d 的 AQP-4 表达水平较高($P < 0.05$),术后 21 d 的 AQP-4 表达水平较低($P < 0.05$)。药物组术后 3 d、7 d、14 d 的 AQP-4 表达水平较组内术后 1 d 高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与组内术后 3 d 比较,SCI 组、药物组术后 7 d、14 d、21 d 的 AQP-4 表达水平较低($P < 0.05$)。与组内术后 7 d 比较,SCI 组、药物组术后 14 d、21 d 的 AQP-4 表达水平较低($P < 0.05$)。与组内术后 14 d 比较,SCI 组、药物组术后 21 d 的 AQP-4 表达水平较低($P < 0.05$)。与假手术组同时点比较,SCI 组、药物组各时间点 AQP-4 表达水平均较高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与 SCI 组同时点比较,药物组各时间点 AQP-4 表达水平均较低,差异有统计学意义($P < 0.05$),详见表 2、图 2。

表 1 3 组大鼠不同时间点后肢运动功能 Tarlov 评分(分, $\bar{x} \pm s$)

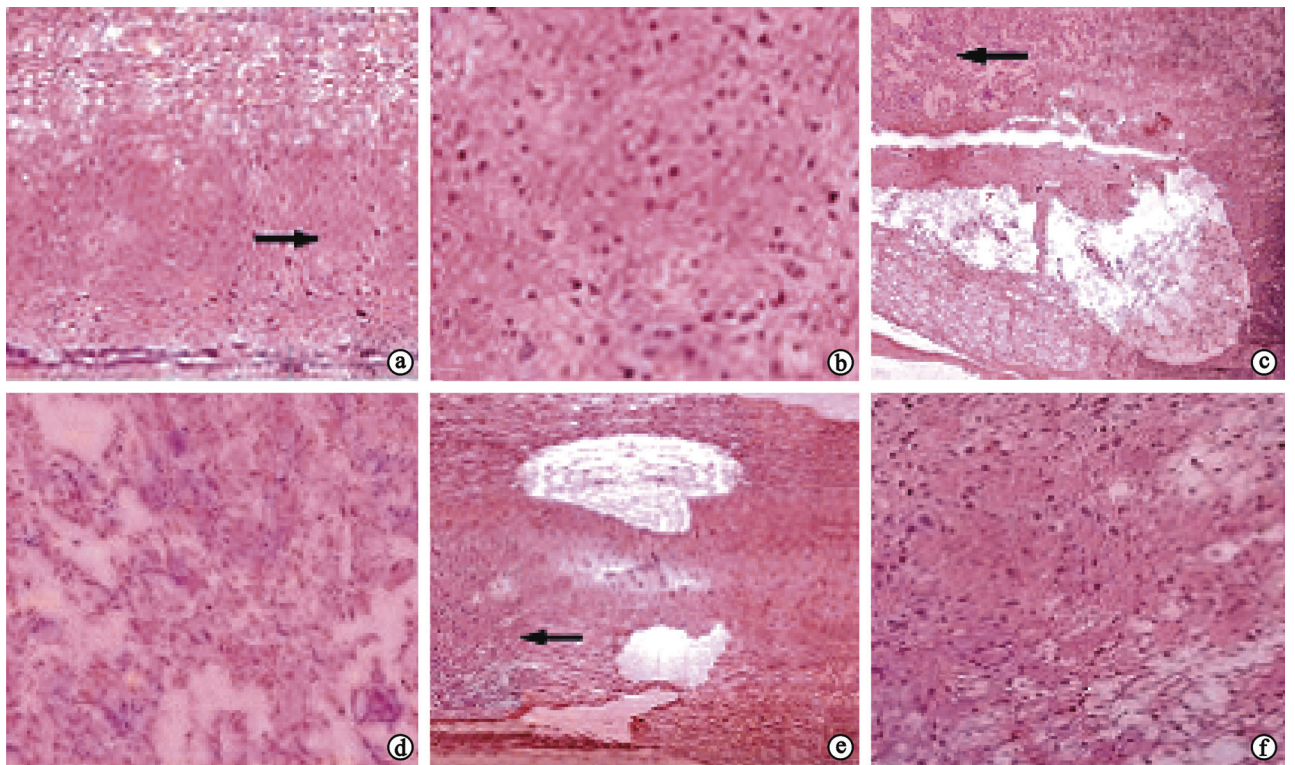
组别	只数	术后 1 d	术后 3 d	术后 7 d	术后 14 d	术后 21 d
假手术组	30	4.67 \pm 0.52	4.83 \pm 0.41	4.83 \pm 0.41	5.00 \pm 0.00	5.00 \pm 0.00
SCI 组	30	0.17 \pm 0.38 ^e	0.50 \pm 0.52 ^e	1.16 \pm 0.38 ^{abc}	1.33 \pm 0.49 ^{abc}	1.50 \pm 0.48 ^{abc}
药物组	30	0.33 \pm 0.48 ^e	1.17 \pm 0.39 ^{abef}	1.67 \pm 0.49 ^{abef}	1.83 \pm 0.71 ^{abef}	2.50 \pm 0.51 ^{abdef}

注:与组内术后 1 d 比较,^a $P < 0.05$;与组内术后 3 d 比较,^b $P < 0.05$;与术后 7 d 比较,^c $P < 0.05$;与组内术后 14 d 比较,^d $P < 0.05$;与假手术组同时点比较,^e $P < 0.05$;与 SCI 组同时点比较,^f $P < 0.05$

表 2 3 组大鼠不同时间点的 AQP-4 表达情况(个/每高倍镜视野, $\bar{x} \pm s$)

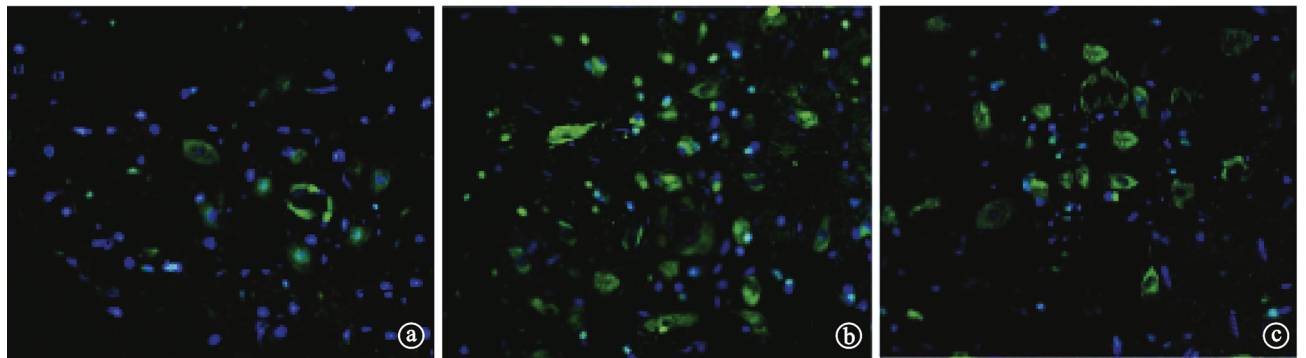
组别	只数	术后 1 d	术后 3 d	术后 7 d	术后 14 d	术后 21 d
假手术组	30	9.17 \pm 2.86	10.33 \pm 2.16	10.67 \pm 2.66	9.67 \pm 2.06	9.50 \pm 2.34
SCI 组	30	22.67 \pm 3.60 ^e	38.67 \pm 4.21 ^{ae}	29.33 \pm 3.75 ^{abc}	22.83 \pm 3.32 ^{bce}	15.38 \pm 2.92 ^{abcde}
药物组	30	15.17 \pm 3.33 ^{ef}	25.50 \pm 3.69 ^{abef}	21.89 \pm 3.39 ^{abef}	17.33 \pm 2.35 ^{abcef}	12.33 \pm 2.63 ^{abdef}

注:与组内术后 1 d 比较,^a $P < 0.05$;与组内术后 3 d 比较,^b $P < 0.05$;与术后 7 d 比较,^c $P < 0.05$;与组内术后 14 d 比较,^d $P < 0.05$;与假手术组同时点比较,^e $P < 0.05$;与 SCI 组同时点比较,^f $P < 0.05$



注:a,b 为假手术组术后 21 d 脊髓组织形态镜下观(a 图 $\times 40$, b 图 $\times 200$), 其中 b 图为 a 图中箭头所示位的放大图;c,d 为 SCI 组术后 21 d 脊髓组织形态镜下观(c 图 $\times 40$, d 图 $\times 200$), 其中 d 图为 c 图中箭头所示位的放大图;e,f 为药物组术后 21 d 脊髓组织形态镜下观(e 图 $\times 40$, f 图 $\times 200$), 其中 f 图为 e 图中箭头所示位的放大图

图 1 3 组大鼠术后 21 d 脊髓组织形态镜下观(HE 染色)



注:a 为假手术组术后 3 d 脊髓组织 AQP-4 免疫荧光染色图($\times 200$); b 为 SCI 组术后 3 d 脊髓组织 AQP-4 免疫荧光染色图($\times 200$); c 为药物组术后 3 d 脊髓组织 AQP-4 免疫荧光染色图($\times 200$)

图 2 3 组大鼠术后 3 d 脊髓组织 AQP-4 免疫荧光染色图(免疫荧光染色, $\times 200$)

四、3 组大鼠不同时间点脊髓组织 AQP-4 与 β -actin 的光密度相对值比较

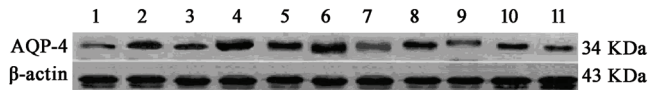
假手术组各时间点 AQP-4 与 β -actin 的光密度相对值无显著变化, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。与组内术后 1 d 比较, SCI 组术后 3 d、7 d AQP-4 与 β -actin 的光密度相对值较高($P < 0.05$), 术后 14 d、21 d AQP-4 与 β -actin 的光密度相对值较低($P < 0.05$)。药物组术后 3 d、7 d AQP-4 与 β -actin 的光密度相对值较高($P < 0.05$), 术后 14 d AQP-4 与 β -actin 的光密度相对值较低($P < 0.05$)。与组内术后 3 d 比较, SCI 组术后 7 d AQP-4 与 β -actin 的光密度相对值较高($P <$

0.05), 术后 14 d、21 d AQP-4 与 β -actin 的光密度相对值较低($P < 0.05$)。药物组术后 7 d AQP-4 与 β -actin 的光密度相对值较高($P < 0.05$), 术后 14 d AQP-4 与 β -actin 的光密度相对值较低($P < 0.05$)。与组内术后 14 d 比较, SCI 组术后 21 d AQP-4 与 β -actin 的光密度相对值较低($P < 0.05$)。与假手术组同时间点比较, SCI 组、药物组各时间点 AQP-4 与 β -actin 的光密度相对值均较高, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。与 SCI 组同时间点比较, 药物组各时间点 AQP-4 与 β -actin 的光密度相对值均较低, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 详见表 3、图 3。

表 3 3 组大鼠不同时间点 AQP-4 与 β -actin 的光密度相对值($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	术后 1 d	术后 3 d	术后 7 d	术后 14 d	术后 21 d
假手术组	30	0.347 \pm 0.021	0.338 \pm 0.020	0.343 \pm 0.021	0.336 \pm 0.020	0.350 \pm 0.022
SCI 组	30	0.877 \pm 0.027 ^e	1.243 \pm 0.057 ^{ae}	1.022 \pm 0.037 ^{abe}	0.787 \pm 0.027 ^{abce}	0.546 \pm 0.026 ^{abcde}
药物组	30	0.528 \pm 0.024 ^{ef}	0.852 \pm 0.026 ^{def}	0.648 \pm 0.025 ^{abef}	0.492 \pm 0.023 ^{abcef}	0.382 \pm 0.022 ^{bcedf}

注:与组内术后 1 d 比较,^a $P < 0.05$;与组内术后 3 d 比较,^b $P < 0.05$;与术后 7 d 比较,^c $P < 0.05$;与组内术后 14 d 比较,^d $P < 0.05$;与假手术组同时时间点比较,^e $P < 0.05$;与 SCI 组同时时间点比较,^f $P < 0.05$



注:1 表示假手术组的 AQP-4 表达水平;2,4,6,8,10 分别表示 SCI 组术后 1 d,3 d,7 d,14 d,21 d 的 AQP-4 表达水平;3,5,7,9,11 分别表示药物组术后 1 d,3 d,7 d,14 d,21 d 的 AQP-4 表达水平

图 3 3 组大鼠不同时间点脊髓组织中 AQP-4 的表达水平

五、Tarlov 评分与 AQP-4 蛋白间的相关性分析

大鼠 Tarlov 评分与 AQP-4 蛋白表达水平在术后 3 d ($r = -0.523, P = 0.003$)、7 d ($r = -0.437, P = 0.016$)、14 d ($r = -0.417, P = 0.022$)、21 d ($r = -0.377, P = 0.040$) 呈负相关,提示大鼠 SCI 后的运动功能恢复与 AQP-4 蛋白表达之间存在密切关系,低表达水平的 AQP-4 有利于脊髓运动功能恢复。

讨 论

Tarlov 评分是评定 SCI 后神经功能恢复的常用方法之一^[6]。本研究结果显示,SCI 组、药物组不同时间点 Tarlov 评分显著低于假手术组 ($P < 0.05$),SCI 组与药物组术后 1 d 时的 Tarlov 评分比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),剩余时间点药物组 Tarlov 评分均优于 SCI 组 ($P < 0.05$)。脊髓切片 HE 染色发现,药物组术后 21 d 时的脊髓病理改变较 SCI 组有所改善,表明参芎葡萄糖注射液可显著改善 SCI 大鼠的运动功能,减轻 SCI 病理损害,促进脊髓运动功能快速恢复。

脊髓水肿是继发性 SCI 的重要病理变化之一,其发生、发展会加重神经元缺血、缺氧,甚至死亡,脊髓水肿的严重程度与后期运动功能障碍密切相关^[7-8]。水肿的形成和消退与水通道蛋白(aquaporin, AQP)有关,后者主要影响水的跨膜转运和细胞内外环境的平衡调节。有研究报道,目前已知的人类 AQP 家族共 11 个,其中有 6 个分布于中枢神经系统,AQP-4 是中枢神经系统中最重要的蛋白之一,在中枢神经的水调节代谢中起关键作用^[9]。AQP-4 表达水平升高会导致中枢神经系统星形胶质细胞水肿及血脑屏障破坏,其表达水平下调及缺失会减轻脑、脊髓的水肿程度、保护神经元细胞^[10]。正常大鼠脊髓的 AQP-4 主要分布于脊髓中央管的室管膜上皮细胞、脊髓白质内的胶质细胞和脊髓表面的软脊膜上皮细胞,脊髓灰质

神经元内也有少量分布。大量研究发现,大鼠 SCI 后早期即出现水肿,但较为局限,随后呈离心性逐渐向邻近脊髓节段扩散,3 d 时达到水肿高峰,分布于脊髓各部的 AQP-4 水平也明显增加,在时相上与脊髓水肿保持一致^[8]。本研究免疫荧光染色结果显示,假手术组 AQP-4 阳性细胞表达水平较为稳定,SCI 组和药物组 AQP-4 阳性细胞表达水平均较高,3 d 时达到高峰,与 SCI 组比较,药物组同时时间点 AQP-4 阳性细胞表达水平较低 ($P < 0.05$)。Western blot 检测结果与免疫荧光染色保持一致,假手术组脊髓组织 AQP-4 蛋白表达水平较低,SCI 组、药物组表达水平较高,药物组较 SCI 组表达水平低,大鼠 Tarlov 评分与 AQP-4 蛋白表达水平在术后 3 d、7 d、14 d、21 d 呈负相关 ($P < 0.05$),提示参芎葡萄糖注射液可促进脊髓运动功能恢复,其机制可能与抑制 AQP-4 表达水平有关。

参芎葡萄糖注射液为传统的活血化瘀药物之一。有研究表明,参芎葡萄糖注射液具有上调血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达水平、抑制炎症反应相关因子表达水平的作用^[11-12]。另有研究报道,白细胞介素 1 β (interleukin 1beta, IL-1 β)可诱导 AQP-4 表达,其诱导效应具有浓度和时间依赖性^[13]。由此推测,参芎葡萄糖注射液可抑制 IL-1 β 的表达水平,下调 AQP-4 表达水平,减轻脊髓水肿程度,促进神经功能恢复,其确切机制尚有待于进一步研究。

综上所述,参芎葡萄糖注射液能有效促进 SCI 后大鼠的运动功能恢复,其机制可能是通过抑制 SCI 区 AQP-4 的表达,阻止脊髓水肿发展,进而减轻继发性 SCI 症状,这一研究结论为 SCI 康复提供了新思路、新方向。

参 考 文 献

- [1] 陈辉强,黄怀,古菁,等. 高压氧预处理对脊髓损伤大鼠神经元线粒体凋亡通路的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2014, 35(2):82-85.
- [2] 焦杰君,蒋建农,都斌,等. 银杏叶提取物 EGB761 对大鼠脊髓损伤后的神经保护作用[J]. 安徽医药, 2010, 14(10):1138-1140.
- [3] Tait MJ, Saadoun S, Bell BA, et al. Water movements in the brain: role of aquaporins[J]. Trends Neurosci, 2008, 31(1):37-43.
- [4] 陈科,吕小华. 参芎葡萄糖注射液对大鼠急性脊髓损伤后肢功

- 能及 NF- κ B 表达的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2008, 17(19):2939-2940.
- [5] 黄霖,唐勇,杨睿,等. 通用型脊髓打击器的研制与脊髓损伤动物模型的建立[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2008, 18(9):688-693.
- [6] 王红星,徐冬晨,姚莉,等. 脊髓损伤大鼠运动及神经功能自然恢复规律的探讨[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2008, 30(7):433-436.
- [7] 范仲凯,曹阳,张哲,等. 氨基胍对大鼠急性脊髓损伤后脊髓水肿的作用机制研究[J]. 中国修复重建外科杂志, 2012, 26(8):984-988.
- [8] 吴碧莲,贾小力,陈少强. 静脉注射骨髓间充质干细胞可抑制大鼠损伤脊髓水通道蛋白-4 的表达[J]. 解剖学杂志, 2008, 31(5):691-693.
- [9] Studer J, Bartsch C, Haas C. Aquaporin-4 polymorphisms and brain/body weight ratio in sudden infant death syndrome (SIDS)[J]. *Pediatr Res*, 2014, 76(1):41-45.
- [10] Saadoun S, Bell BA, Verkman AS, et al. Greatly improved neurological outcome after spinal cord compression injury in AQP4-deficient mice [J]. *Brain*, 2008, 131(4):1087-1098.
- [11] 毛焯,刘丽,王冬雪. 参芎注射液对脑缺血再灌注损伤大鼠 Fas、FasL 蛋白表达的影响[J]. 黑龙江医学, 2008, 32(8):580-581.
- [12] 陈孝东,刘春风,曹勇军等. 参芎注射液对脑缺血再灌注大鼠炎症因子变化的影响[J]. 中国实用内科杂志 2007, 27(13):1017-1019.
- [13] Ito H, Yamamoto N, Arima H, et al. Interleukin-1 β induces the expression of aquaporin-4 through a nuclear factor-kappaB pathway in rat astrocytes[J]. *J Neurochem*, 2006, 99(1):107-118.

(修回日期:2014-10-15)

(本文编辑:凌 琛)

· 外刊撷英 ·

Total knee replacement in young active patients

BACKGROUND AND OBJECTIVE As total knee arthroplasty (TKA) is more frequently being performed in younger patients it is important to understand the long-term outcomes of these patients. This study followed a cohort of 88 patients, with an average age of 51 years, each of whom underwent arthroplasty between 1977 and 1992.

METHODS All 114 TKAs in 88 patients, originally reviewed in a paper published in 1997, were assessed at long-term follow-up. At the time of the initial review, six TKAs in six patients had been revised, and two patients had died without revision. For the remaining 80 patients, clinical data were obtained, including, when possible, a physical examination. For those unable to visit a physician, telephone interviews were conducted. Patients were assessed with the Tegner and Lysholm activity scores, a Hospital for Specialty Surgery (HSS) score and a Knee Society Score (KSS).

RESULTS Follow-up data were obtained for 107 of the 113 TKAs, with the latest follow-up at 25.1 years. The average HSS scores for those available for follow-up were 57.9 at the preoperative examination, 92 in 1997 and 85.3 at the long-term follow-up. The KSSs were 94.9 in 1997 and 87.4 at long-term follow-up. There were significant improvements in the activity scores both in 1997 ($P < 0.0001$) and at long-term follow-up ($P < 0.0001$), as compared to preoperative scores. At the most recent follow-up, 27.8% reported the same activity levels as they did preoperatively, and 72.2% had improved activity levels.

CONCLUSION This follow-up of middle-aged individuals undergoing total knee arthroplasty found continued improved activity and function scores 25 years post-surgery.

【摘自:Long WJ, Bryce CD, Hollenbeak CS, et al. Total knee replacement in young, active patients: long-term follow-up and functional outcome. *J Bone Joint Surg*, 2014, 96(18):159(1-7).】

Total joint replacement complications and anticoagulant therapy bridging

BACKGROUND AND OBJECTIVE To reduce the risk of perioperative bleeding, oral anti-coagulation is often interrupted prior to major surgery. In 2012, the American College of Chest Physicians (ACCP) updated practice guidelines to include suggestions for bridging therapy of patients undergoing elective surgery. This study was designed to determine whether bleeding complication rates are higher among patients requiring bridging prior to total hip arthroplasty (THA) or total knee arthroplasty (TKA).

METHODS Patients receiving primary unilateral THA or TKA between 2011 and 2012 were included, who required bridging therapy according to the protocol based on the ACCP guidelines. Bleeding complications in this group were compared with a previously performed cohort study undergoing surgery by the same group of surgeons.

RESULTS Major surgical bleeding occurred in 12 of the 13 bridged patients. Of those, nine developed a hematoma, leading to prolonged immobilization. Bleeding complications resulted in intervention in nine patients, with seven (54%) receiving blood transfusions, compared to 0.3% in the total group ($P < 0.05$). The mean lengths of stay were 14.2 days in the bridging group and 5.3 days in the control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION This study demonstrates a high rate of complications among patients undergoing hip or knee replacement surgery who received low molecular weight heparin bridging therapy prior to surgery.

【摘自:Leijtens B, Kremers van de Hei K, Jansen J, et al. High complication rate after total knee and hip replacement due to perioperative bridging of anticoagulant therapy based on the 2012 accp guideline. *Arch Orthop Trauma Surg*, 2014, 134(9):1335-1341.】