参考文献：

[1] Yan L, Lin B, Gao L, *et al*. Lewis (y) Antigen Overexpression Increases the Expression of MMP-2 and MMP-9 and Invasion of Human Ovarian Cancer Cells[J]. Int J Mol Sci, 2010, 11(11): 4441 - 4452.

[2] Chen N H, Liu J W, Zhong J J. Ganoderic acid T inhibits tumor invasion *in vitro* and *in vivo* through inhibition of MMP expression[J]. Pharmacol Rep, 2010, 62(1): 150 - 163.

[3] Li M Y, Leung J, Kong A W, *et al*. Anticancer efficacy of 5F in NNK-induced lung cancer development of A/J mice and human lung cancer cells[J]. J Mol Med, 2010, 88(12): 1265 - 1276.

[4] Dass K, Ahmad A, Azmi A S, *et al*. Evolving role of uPA/uPAR system in human cancers[J]. Cancer Treat Rev, 2008, 34(2): 122 - 136.

[5] Ulisse S, Baldini E, Sorrenti S, *et al*. The urokinase plasminogen activator system: a target for anti-cancer therapy[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2009, 9(1): 32 - 71.

[6] 潘海邦, 王波, 杨爱军, 等. 胃癌组织中 CEACAM6、MMP-9 的表达及其与临床病理的关系[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(24): 2632 - 2635.

[7] Xu D, McKee C M, Cao Y, *et al*. Matrix metalloproteinase-9 regulates tumor cell invasion through cleavage of protease nexin-1[J]. Cancer Res, 2010, 70(17): 6988 - 6998.

[8] Huang G J, Yang C M, Chang Y S, *et al*. Hispolon suppresses SK-Hep1 human hepatoma cell metastasis by inhibiting matrix metalloproteinase-2/9 and urokinase-plasminogen activator through the PI3K/Akt and ERK signaling pathways[J]. J Agric Food Chem, 2010 58(17): 9468 - 9475.

（**收稿**：2011-09-14；**修回**：2011-10-14）
（编辑 张 维）

文章编号：1000-5404(2012)04-0363-04

短篇论著

不同强度经颅直流电刺激对帕金森大鼠旋转行为学的影响

李一言，田学隆，蒋巍巍，钱 龙，俞雪鸿 （400030 重庆，重庆大学生物工程学院生物医学信息检测实验室）

［**摘要**］ **目的** 研究不同强度阳极经颅直流电刺激(transcranial direct current stimulation, tDCS)对帕金森病(Parkinson's disease，PD)大鼠旋转行为学的影响。**方法** 根据完全随机原则，将成功造模的 32 例 PD 大鼠分成 3 个刺激组和 1 个假刺激组，每组 8 只。给予 3 个刺激组的左侧初级运动皮层(M1)区直流电刺激分别为 20、80、200 μA 的阳极刺激，刺激时间为 30 min；给予假刺激组 30 s 的假刺激。tDCS 后，对 PD 大鼠腹腔注射阿朴吗啡(apomorphine，APO)，记录 PD 大鼠旋转的潜伏期、持续时间和平均转速(30 min 内)。**结果** 刺激后，80 μA 刺激组、200 μA 刺激组均与假刺激组的平均转速组间存在显著差异（$P<0.05$）；80 μA 刺激组和 200 μA 刺激组的平均转速间差异无显著性（$P>0.05$）；各组潜伏期和持续时间组间差异无显著性（$P>0.05$）。**结论** 适当强度的 tDCS 对 PD 大鼠的旋转运动功能具有显著的改善作用。考虑到安全性，最佳的刺激强度为 80 μA。

［**关键词**］ 经颅直流电刺激；帕金森病；旋转行为；大鼠
［**中图法分类号**］ R-332；R742.5；R338.8 ［**文献标志码**］ A

帕金森病是一种常见的神经退行性疾病，主要病理改变是位于中脑的黑质多巴胺能神经元变性或缺失，使得合成的多巴胺减少，抑制乙酰胆碱的功能降低，乙酰胆碱的兴奋作用相对增强。两者失衡的结果便导致患者出现相应的症状。

经颅直流电刺激(transcranial direct current stimulation，tDCS)作为一种无创、无痛的皮层刺激方式，通过在左侧初级运动皮层施加一定强度的弱电流，从而极化局部大脑区域，刺激多巴胺的合成，引起皮层兴奋性可逆的改变，调节大脑皮层的兴奋性[1]；同时还调节皮层神经康复活动，缓解视觉病患者的疲劳和不适[2]；另外还有辅助治疗厌食症的功能[3]。尽管 tDCS 对帕金森病具有改善作用，但目前关于 tDCS 对帕金森病(Parkinson's disease，PD)大鼠行为学影响的研究甚少。本实验试图探究不同强度 tDCS 对 PD 大鼠旋转行为学的影响，以期为临床应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物及材料

健康雌性 Sprague-Dawley(SD)大鼠，体质量 180 ~ 260 g，鼠龄为 60 ~ 80 d，第三军医大学实验动物中心提供；6-羟基多巴胺(6-hydroxydopamine，6-OHDA)购自美国 Sigma 公司；阿朴吗啡(apomorphine，APO)购自美国 Sigma 公司；大鼠脑立体定位仪购自成都仪器厂；牙科钻购自南京立德磨具厂；抗坏血酸购自美国 Sigma 公司。

1.2 方法

实验采用单侧注射 6-OHDA 制备 PD 大鼠模型。术前给大鼠注射 APO 确认其无旋转行为，腹腔注射 APO 的目的是诱发 PD 大鼠的旋转行为。参照大鼠脑立体定向图谱[4]，采用黑质致密部(SNC)和腹侧被盖区(VTA)两点注射法[5]：对 PD 大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛(0.5 ml/100 g)麻醉。头颅水平位固定在大鼠脑立体定位仪上，保证前囟和后囟处于同一水平面。

［**基金项目**］ 第四届国家大学生创新性实验课题(101061138)
［**通信作者**］ 田学隆，E-mail：xltian@cqu.edu.cn

剃除大鼠头部毛发,手术区消毒3次,于颅中部正中切开头皮和筋膜,切口长度1.5 cm左右,剥离骨膜,使前囟充分暴露,确定左侧SNC、VTA三维坐标位置。左侧SNC区坐标:前囟后5.6 mm,中线左侧1.7 mm,硬膜下7.8 mm;左侧VTA区坐标:前囟后5.0 mm,中线左侧0.9 mm,硬膜下7.8 mm。标记坐标后使用牙科钻钻透颅骨,用微量注射器抽取2 μg/μl的6-OHDA溶液(含0.2% 维生素C的生理盐水)每点注射4 μl。注射进针速度为1 μl/min,注射完毕停针10 min。按1.0 mm/min速度缓慢拔针,最后缝合皮肤、筋膜。

1.3 旋转行为学检测

术后4周进行行为学检测,应用腹腔注射阿朴吗啡(0.5 mg/kg),观察记录其旋转行为变化。若大鼠旋转时,首尾相接并恒定转向右侧,且旋转圈数大于210 r/30 min,则视为成功PD大鼠模型。

1.4 动物分组

将造模成功的32只帕金森大鼠完全随机分为4组:假刺激组、20 μA刺激组、80 μA刺激组和200 μA刺激组,每组8只。

1.5 经颅直流电刺激

采用底面直径为2 mm的圆柱形塑料小管,管内填充0.9%生理盐水浸泡的海绵制作成刺激电极(接触面积为3.14 mm^2),电极上方留有小孔,用于在刺激过程中滴加生理盐水以保证较小的接触阻抗。手术后精确找到PD大鼠左侧初级运动皮层(M1)区,使用牙科水泥将电极固定在颅骨表面。参考电极的接触面积为10 cm^2,通过1件由橡胶制成的紧身衣固定于胸腹部。见图1。



图1 电极在PD大鼠身上固定示意图

依次给予20、80、200 μA刺激组20、80、200 μA的直流电刺激;在相同环境下,给予假刺激组30 s的直流电刺激后便不再给予经颅直流电刺激。刺激时保证大鼠处于自由清醒状态。

1.6 刺激后旋转行为检测

刺激结束后,对PD大鼠腹腔注射APO,记录大鼠潜伏期、持续时间和平均转速(30 min内),观察大鼠旋转过程中行为学的变化。

1.7 组织切片与HE染色

取得洁净的大鼠大脑,使用50 ml的10%甲醛固定大鼠大脑24 h,然后用30%的蔗糖溶液浸泡直至沉底,先后置于30%、50%、70%、80%、90%、95%、100%的乙醇溶液各3 min,使用1∶1的二甲苯无水乙醇过度10 min,再使用1∶1的二甲苯石蜡过度10 min,在不高于56 ℃的石蜡液体中浸泡4次,每次30 min,包埋后,使用石蜡切片机片,切片厚度为5 μm。之后裱片,烘干。之后采用常规HE染色,观察组织形态学变化。

1.8 统计学分析

结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 17.0统计软件,对于tDCS刺激前后的旋转参数,利用单因素方差分析处理实验数据,置信区间为0.95。

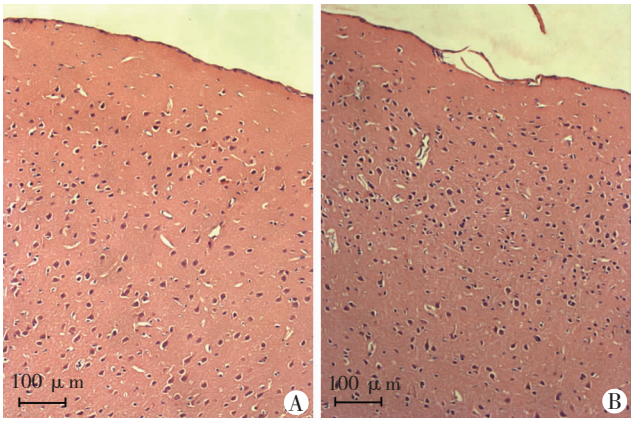
2 结果

2.1 经颅直流电刺激前后大鼠旋转行为学的变化

假刺激组、20、80、200 μA刺激组刺激前后的潜伏期、转速均存在显著性差异($P<0.05$)。不同强度刺激后,4组组间潜伏期、持续时间差异不显著($P>0.05$);刺激后20 μA刺激组和假刺激组转速不存在显著性差异($P>0.05$);80、200 μA刺激组与假刺激组之间的转速存在显著性差异($P<0.05$);200、80 μA刺激组转速差异无显著性($P>0.05$)。见表1。

2.2 刺激前后帕金森大鼠M1区的病理观察

为了观察tDCS形成的极化电场对PD大鼠运动皮层的影响,取假刺激组和200 μA刺激组的PD大鼠大脑分别染色制片,观察M1区的变化。未见诸如水肿、坏死、血肿和核破裂(图2)。



A:假刺激组;B:200 μA刺激组

图2 刺激后帕金森大鼠M1区的病理观察(HE)

表1 不同强度tDCS作用下各组大鼠旋转行为的比较

组别	潜伏期(min)		持续时间(min)		转速(r/min)	
	刺激前	刺激后	刺激前	刺激后	刺激前	刺激后
假刺激组	3.50±0.42	4.66±0.54[a]	58.72±6.44	55.72±4.83	9.63±1.53	9.48±1.32[a]
20 μA刺激组	3.82±0.74	5.14±0.81[a]	57.96±4.16	51.66±3.17	10.12±1.54	8.38±1.44[a]
80 μA刺激组	3.62±0.58	5.02±0.62[a]	57.95±5.22	54.02±8.38	9.62±1.58	7.03±1.20[ab]
200 μA刺激组	3.64±0.82	4.82±0.73[a]	54.20±4.92	53.10±4.32	10.07±1.48	6.28±0.86[ab]

a:$P<0.05$,与刺激前比较;b:$P<0.05$,与假刺激组比较

3 讨论

3.1 tDCS的机制以及不同强度tDCS对PD大鼠旋转行为学的影响

根据本实验结果可知,在左侧M1的适当强度tDCS对PD大鼠的旋转运动功能具有显著的改善作用。其中,80 μA和200 μA的tDCS能够减小大鼠的转速,增加潜伏期和旋转持续时间。不同强度tDCS后的作用效果会有所差异,对平均转速的影响最显著。80 μA刺激组、200 μA刺激组与假刺激组之间存在显著性差异($P<0.05$);然而200 μA组与80 μA刺激组无显著性差异($P>0.05$)。考虑到未来重复tDCS的应用以及安全性,所以最佳刺激强度为80 μA左右。

对tDCS作用机制的探索是近年来的热点。利用神经元纤维膜的钠,钙阻断剂分析tDCS作用机制的研究证实[6-7],在30 min甚至1 h的tDCS后,大脑皮层的极化电场改变了N-甲基-D-天门冬氨酸(N-methyl-D-aspartate, NMDA)受体活性[8],同时也改变了神经元的静息膜电位[9];同时也有实验[10]证实,tDCS后直接刺激脊髓在下肢检测运动诱发电位(motor evoked potentials, MEP),并不能检测到MEP的升高。因此,tDCS对MEP的调节主要归结于对皮层神经元兴奋性的调制。

另一种机制认为tDCS通过一种分布式的皮层间和皮层下的神经网络广泛地作用于基底神经节细胞,从而引起相应的运动功能改善。一项结合正电子发射断层成像(PET)的tDCS实验尝试证实该机制的存在。该实验发现刺激M1的阳极tDCS会引起丘脑核腹后外侧神经元的兴奋,进一步导致某些特异的神经传导物质的释放。而另一种机制则基于PD主要是因为基底神经节异常所引起的皮层功能紊乱所导致的,提出了对皮层靶位置的刺激能够调控皮层的异常,达到缓解病症的目的。无论是上述中任一种的机制,PD患者中皮层神经通路的改变都表征了对基底神经节功能紊乱的补偿,而tDCS能够促进这种补偿机制,因而改善运动功能。

3.2 实验的安全性

tDCS的安全性,目前广泛认为取决于刺激电流密度和刺激时间。本研究将刺激电极固定在颅骨表面,电极内填充0.9%生理盐水浸泡的导电棉花,电极面积为3.14 mm^2;参考电极的接触面积为10 cm^2,通过1件由橡胶制成的紧身衣固定于胸腹部。实验时最大刺激电流密度为63.70 A/m^2,远远小于Liebetanz等[11]使用阴极直流电刺激大鼠探究安全性时发现的电流密度安全阈值142.9 A/m^2。实验的整个过程中,PD大鼠表现得非常安静。综合最后对刺激后帕金森大鼠M1区的病理观察并无损伤证实了实验的安全。

3.3 tDCS的后效影响机制以及对帕金森病的治疗前景

直流电刺激改变了神经元纤维的静息膜电位。尽管tDCS对PD患者的运动功能具有康复作用,但是目前关于tDCS在PD大鼠上的实验少见报道,tDCS的作用机制也尚不完全清楚。

tDCS用于治疗帕金森病的现状如下:一是帕金森病患者样本量小,Boggio[12]和Fregni等[13]的受试者分别只有18例和17例;二是无法在自由活动的动物上固定好电极。因此,建立PD大鼠的tDCS模型可以用来探索tDCS对大脑皮层和皮质脊髓通路的影响机制。

虽然tDCS可能具有头痛、头晕、恶心的副作用和瘙痒感以及对皮肤的刺痛感,但tDCS相比于TMS提供了可靠的假刺激的条件,而且可能会得到更持久的调节作用。结合药物治疗的同时并易于管理和执行。然而对于临床适应性,tDCS还需要更稳定的实验模式。即使现在仍处于实验研究阶段,但是随着tDCS在动物身上的实验进度加快、研究的更进一步,未来tDCS必定造福于人类。

志谢 感谢第三军医大学基础医学部神经生物学教研室温惠中对实验的支持

参考文献:

[1] Hummel F C, Cohen L G. Non-invasive brain stimulation: a new strategy to improve neurorehabilitation after stroke? [J]. Lancet Neurol, 2006, 5(8): 708-712.

[2] Gandiga P-C, Hummel F C, Cohen L G. Transcranial DC stimulation (tDCS): a tool for double-blind sham-controlled clinical studies in brain stimulation[J]. Clin Neurophysiol, 2006, 117(4): 845-850.

[3] Hecht D. Transcranial direct current stimulation in the treatment of anorexia[J]. Med Hypotheses, 2010, 74(6): 1044-1047.

[4] Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates[M]. Sydney: Academia Press, 1985: 87-92.

[5] 周厚广, 陆建明, 鲍远程, 等. 6-羟基多巴胺帕金森病大鼠模型的建立与评价[J]. 中国行为医学科学, 2002, 11(1): 4-7.

[6] Liebetanz D, Nitsche M A, Tergau F, *et al*. Pharmacological approach to the mechanisms of transcranial DC-stimulation-induced after-effects of human motor cortex excitability[J]. Brain, 2002, 125(Pt 10): 2238-2247.

[7] Nitsche M A, Fricke K, Henschke U, *et al*. Pharmacological modulation of cortical excitability shifts induced by transcranial direct current stimulation in humans[J]. J Physiol, 2003, 553(Pt 1): 293-301.

[8] Nitsche M A, Lampe C, Antal A, *et al*. Dopaminergic modulation of long-lasting direct current-induced cortical excitability changes in the human motor cortex[J]. Eur J Neurosci, 2006, 23(6): 1651-1657.

[9] Purpura D P, McMurtry J G. Intracellular activities and evoked potential changes during polarization of motor cortex[J]. J Neurophysiol, 1965, 28: 166-185.

[10] Cambiaghi M, Velikova S, Gonzalez-Rosa J J, *et al*. Brain transcra-

nial direct current stimulation modulates motor excitability in mice[J]. Eur J Neurosci, 2010, 31(4): 704-709.
[11] Liebetanz D, Koch R, Mayenfels S, *et al*. Safety limits of cathodal transcranial direct current stimulation in rats[J]. Clin Neurophysiol, 2009, 120(6): 1161-1167.
[12] Boggio P S, Ferrucci R, Rigonatti S P, *et al*. Effects of transcranial direct current stimulation on working memory in patients with Parkinson's disease[J]. J Neurol Sci, 2006, 249(1): 31-38.
[13] Fregni F, Boggio P S, Santos M C, *et al*. Noninvasive cortical stimulation with transcranial direct current stimulation in Parkinson's disease[J]. Mov Disord, 2006, 21(10): 1693-1702.

(**收稿**:2011-08-20;**修回**:2011-11-23)
(编辑 王小寒)

短篇论著

文章编号:1000-5404(2012)04-0366-03

阴茎异常勃起的29例诊治体会

王 瑞,赵亚兵,张卫星,李 锐,张天标 (450052 郑州,郑州大学第一附属医院泌尿外科)

[**摘要**] **目的** 区分低流量型和高流量型阴茎异常勃起,提高阴茎异常勃起的诊治水平。**方法** 回顾性分析我院29例阴茎异常勃起患者的治疗情况。其中低血流量型(静脉型)26例,高流量型(动脉型)3例,分别采用保守治疗、阴茎冲洗、介入栓塞、分流手术治疗。**结果** 无手术死亡病例。8例经观察保守治疗后自愈,5例采用阴茎冲洗有效,13例分别采用分流术(阴茎尿道海绵体分流术和阴茎头阴茎海绵体分流术)治疗有效,介入治疗1例有效,2例阴茎肿瘤患者分别行阴茎全切和耻骨上膀胱造瘘+会阴区脓肿切开引流术。随访10~63个月。8例出现勃起功能障碍(ED),1例尿道狭窄,3例死亡,无复发病例。**结论** 通过病史、阴茎海绵体血气分析、彩色多普勒检查等明确诊断,分清类型。静脉型可采用逐步递进的方法,手术注意预防并发症的发生;动脉型可暂观察保守治疗,必要时可行超选择性动脉栓塞术。

[**关键词**] 阴茎异常勃起;诊断;治疗
[**中图法分类号**] R697.14 [**文献标志码**] A

阴茎异常勃起(priapism,PP)是正常调节机制的血液流入或流出阴茎的机制被打破,导致阴茎异常的持续勃起,需明确诊断并及时治疗,否则将导致海绵体纤维化和勃起功能障碍(erectile dysfunction, ED)。可发生于任何年龄段,但好发于5~10岁和20~25岁[1]。我院2005年1月至2010年9月共收治29例PP患者,现回顾分析报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

本组29例,平均年龄39.8(15~76)岁,勃起角度平均135°(110°~170°),伴尿线细、排尿困难3例,平均住院9.8 d。会阴部外伤后出现3例,阴茎海绵体注射罂粟碱2例,慢性粒细胞性白血病2例,结肠癌转移1例,阴茎癌2例,阴茎血管瘤患者1例,应用降压药、藻酸双酯钠等药物后5例,饮酒后出现2例,性生活后出现4例,无明确病因7例。有阴茎异常勃起病史者3例,合并高血压病6例,糖尿病3例,高脂血症2例,同时合并高血压病、糖尿病、高脂血症1例,长期抽烟者8例。

1.2 诊断与治疗

入院后完善检查,查血常规、血气分析及彩超,询问病史明确诊断。29例中除2例白血病患者WBC异常高外,10例血常规WBC升高。22例行血气分析,3例外伤后pH值分别为7.35、7.33、7.36,血二氧化碳分压[$p(CO_2)$]分别为37.7、40.1、39.7 mmHg,血氧分压[$p(O_2)$]分别为62.2、70.5、74.1 mmHg,诊断为高血流量型(动脉型);其余血气分析均显示$p(O_2)$<30 mmHg、$p(CO_2)$>60 mmHg、pH值<7.25,15例行海绵体动脉血流彩色多普勒检查(12例动脉血流无显示),诊断为低血流量型(静脉型,共26例)。

低血流量者给予局部冷敷、镇静、挤压按摩,效果不佳者行海绵体血管活性药物新福林1 ml加生理盐水500 ml,每次注射阴茎海绵体10~15 ml,观察患者生命体征变化,或采用海绵体穿刺冲洗术[阴茎头、阴茎海绵体根部各置16号针头,以尿激酶(10×10^4 IU)1支加500 ml生理盐水]重复多次对冲,效果仍不佳者给予阴茎尿道海绵体分流术或者阴茎头海绵体分流术。1例勃起时间已持续近2个月,发现龟头坏死10 d,在外院行阴茎海绵体穿刺冲洗效果不佳后来我院行阴茎全切+双睾丸切除术,1例阴茎癌患者行阴茎海绵体与阴茎头分流术效果不佳后行耻骨上膀胱造瘘+会阴区脓肿切开引流术。2例白血病患者及结肠癌转移患者保守治疗后转入血液科行进一步治疗。3例高血流量型患者均有会阴部外伤史,其中1例在会阴部外伤后4 d因饮酒出现PP,在外院行骶丛麻醉、阴茎海绵体穿刺减压术及阴茎海绵体切开术+阴茎尿道海绵体分流术,效果均不佳后,来我院行双侧阴部内动脉造影并行右侧阴茎背动脉动脉栓塞。另2例行保守治疗,每天复查彩超,了解阴茎血流变化情况。

2 结果

随访10~63个月。1例阴茎癌患者行阴茎全切,患者病理

[**通信作者**] 张卫星,E-mail:icqcolin@163.com