DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.17.022
第25卷第17期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 17
1552 2003年9月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Sep. 2003

论著

文章编号:1000-5404(2003)17-1552-04

前肢功能训练对大鼠脊髓损伤后可塑性变化功能恢复和运动诱发电位的作用

宗兆文,廖维宏,伍亚民,张正丰,龙在云,杨恒文,李应玉,曾 琳 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所第三研究室,重庆 400042)

提 要:目的 观察前肢功能训练对大鼠脊髓损伤(Spinal cord injury, SCI)后可塑性变化、功能恢复和运动诱发电位的作用。方法 在立体定位仪的引导下,致伤大鼠双侧红核和皮质脊髓背侧束(dCST)后,对大鼠行前肢功能训练8周。改进后的大鼠前肢食物小球抓取动作评分标准评定大鼠前肢功能,生物素化葡聚糖胺示踪皮质脊髓腹侧束(vCST)的出芽情况,同时行运动诱发电位(MEP)检测。结果 大鼠前肢功能训练可诱导vCST出芽增加,同时伴有大鼠前肢运动功能和MEPP1、N1波波幅的恢复。结论 大鼠前肢功能训练可增强SCI后的可塑性变化,并促进运动功能的恢复。

关键词:脊髓损伤;可塑性;功能训练
中图法分类号:R493; R651.2 文献标识码:A

Effects of forelimb training on plasticity, function recovery and motor-evoked potential after spinal cord injury in rats

ZONG Zhao-wen, LIAO Wei-hong, WU Ya-min, ZHANG Zheng-feng, LONG Zai-yun, YANG Heng-wen, LI Ying-yu, ZENG Lin (Department 3, Research Institute of Field Surgery, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To observe the effects of forelimb training on plasticity, function recovery and motor-evoked potential (MEP) after spinal cord injury (SCI) in rats. Methods Red nuclei and cervical dorsal corticospinal tract (dCST) in rats were injured using a stereotaxic apparatus. Then rats accepted forelimb training for successive 8 weeks. Biotin dextran amine was employed to trace the sprouting of ventral corticospinal tract (vCST). The forelimb performance was evaluated by the modified forelimb food pellet retrieval task. MEP in rats was also monitored. Results Forelimb training after SCI can enhance the sprouting of uninjured vCST, the recovery of forelimb function and the amplitude of N1 and P1 in MEP monitoring in rats. Conclusion Forelimb training after SCI can enhance the plasticity and function recovery after SCI in rats.

Key words: spinal cord injury; plasticity; forelimb training

中枢神经系统(Central nervous system, CNS)的可塑性是指在一定的条件下,如内外环境变化或受到伤害时,CNS具有结构与功能相应变化的能力[1]。近年来,对脊髓损伤(SCI),特别是不完全性脊髓损伤(Incomplete spinal cord injury, iSCI)后的可塑性变化的研究日益增多,以期给SCI的治疗提供一个新的方向。横断大鼠或猫等低等动物的低位胸髓后,它们可自发地部分恢复其行走功能,而且踏步训练可大幅地促进其功能恢复[2]。这一作用被认为与存在于腰髓中的"中枢型式发生器"(Central pattern generator, CPG)的可塑性变化有关[2]。颈段脊髓损伤后,功能训练是否能促进肢体功能,特别是前肢精细运动功能的恢复,是值得探讨的问题,因为对于SCI患者而言,上肢精细运动功能的恢复对提高其生活质量的意义更为重大。目前尚未见相关文献报道。本研究拟观察颈段SCI后,前肢功能训练对可塑性变化(本研究主要观察未损伤轴突侧枝出芽这种形式的可塑性变化)、功能恢复和MEP的作用。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与设备

生物素化葡聚糖胺(Biotin dextran amine, BDA);奎宁酸;免疫组化试剂盒;电生理记录仪(Powerlab adi-instrument, America);PCR扩增仪;立体定位仪;微电极推进器;自制大鼠前肢食物小球抓取动作试验箱。

1.2 试验动物与分组

成年Wistar大鼠40只,附属大坪医院野战外科研究所动物

作者简介:宗兆文(1975—),男,江苏省铜山县人,博士,医师,主要从事脊髓损伤和修复方面的研究。电话:13330261382

收稿日期:2003-06-24;修回日期:2003-08-10

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

室提供, 雌雄不拘, 体质量 200～250 g, 分为正常对照组(Normal, N, 4只), 损伤对照组(Injury, I), 功能训练组(Training, T)。设 1、2、4、8 周四个时相点, 除 8 周设 6 只大鼠外, 其余时相点设 4 只大鼠。

1.3　方法

1.3.1　动物手术过程　动物模型采用大鼠红核和皮质脊髓背仙束(dorsal corticospinal tract dCST)联合损伤模型: 在立体定位仪的引导下, 将自制不锈钢细丝置于脊髓中线旁侧 0.6 mm, 深度 1.1 mm, 向上提拉, 精确损伤 dCST; 将奎宁酸注入双侧红核, 从而致伤红核。

1.3.2　大鼠前肢功能训练和功能评定　功能评分采用改进后的大鼠前肢食物小球抓取动作评分标准[3]。术前及术后各时相点进行评分。

功能训练: 联合致伤红核和颈 3 dCST 前, 对大鼠进行前肢抓取食物动作的训练。一般情况下, 约训练 2 周后, 大鼠前肢抓取动作熟练, 评分稳定。此时, 对大鼠的前肢抓取动作进行评分, 且进行致伤。伤后, 给予大鼠休息 2 d 后进行食物抓取实验。如果大鼠因损伤严重影响了前肢功能, 不能完成抓取动作, 则将大鼠置于训练用有机玻璃盒子中。待大鼠逐渐恢复其前肢功能时, 再进行训练。但从实验过程的观察发现, 即使功能严重受损, 大鼠在接受功能训练的时候, 至少仍有伸前肢抓取食物的意图(Attempt)。T 组大鼠除术后 1～2 d 内外, 每天进行 1 次训练。I 组只是在各时相点进行测试评分。实验过程中没有发现大鼠遗忘抓取动作的现象。

1.3.3　MEP 检测　致伤后即刻和各时相点进行 MEP 检测。常规显露颅骨, 在大鼠前肢皮层代表区对应颅骨处钻孔约 2.5 mm×2.5 mm, 左、右各一。前肢皮层代表区定位: RL=2.0 mm, AP=+1.5 mm。刺激电极置于钻孔处硬膜上, 参考电极置于大鼠硬腭下, 双极银针记录电极插入大鼠前肢肌肉中, 间距 2 cm。刺激参数: 强度 6 mA, 频率 4 Hz, 波宽 0.2 ms, 单方波电脉冲。

1.3.4　常规病理切片, HE 染色或甲苯胺蓝染色, 观察红核和 dCST 致伤情况。

1.3.5　BDA 示踪和显色　动物致死前 2 周, 在立体定位仪的引导下, 将 10% BDA 注射入大鼠前肢皮层运动支配区, 每侧 4 个点, 每点 0.1 μl。定位同上。2 周后取损伤处脊髓, 冠状面冰冻切片, 用二氨基联苯胺(DAB)显色后, 计数皮层脊髓腹侧束(ventral corticospinal tract, vCST)的出芽数量。

1.4　统计学分析

结果用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 采用 SPSS 统计软件进行。组间差异和组内差异用单因素方差分析。

2　结果

2.1　精确致伤双侧红核和 dCST

大鼠的 CST 主要分包括 dCST 和 vCST。dCST 沿脊髓背中间下降, 含有 95% CST 纤维; vCST 沿脊髓腹中间侧下降, 约含有小于 5% CST 纤维。在立体定位仪的引导下, 使用自制不锈钢细丝可精确损伤 dCST。当然, 也可能损伤了部分薄束和楔束。

奎宁酸致伤的优点是, 以损伤灰质为主, 很少波及白质。在立体定位仪的引导下, 将 2 μl 2% 奎宁酸注入双侧红核, 可精确致伤双侧红核。

2.2　损伤前及伤后各时相点大鼠前肢功能评分情况

伤前及伤后各时相点各组大鼠前肢功能评分如表 1 示: ①伤前各组大鼠功能评分无显著差异($P>0.05$); ②伤后 1 周, 各组大鼠功能严重受损($P<0.01$); ③伤后 2 周, T 组大鼠功能评分与 I 组相比, 有非常显著的恢复($P<0.01$)。伤后 4、8 周时保持稳定; ④直至伤后 8 周, I 组大鼠前肢功能未见明显恢复($P>0.05$)。

表 1　伤前及伤后各时相点各组大鼠前肢功能评分情况

Tab 1　Scoring of the forelimb performance of the rat at different phases before and after injury

Group	Before injury	1 week after injury	2 weeks after injury	4 weeks after injury	8 weeks after injury
N	2.75±0.96	——	——	——	——
I	2.50±0.58	15.5±1.29 **	15.75±1.71 **	14.75±1.71 **	15.00±1.83 **
T	2.75±0.96	15.25±1.50 **	12.00±0.82 **	10.25±1.26 **△#	9.75±0.96 **△#

**: $P<0.01$ *vs* N; △: $P<0.05$ *vs* I; #: $P<0.05$ *vs* 2 weeks after injury

2.3　各时相点大鼠 MEP 变化情况

表 2 示各组大鼠在不同时相点的 MEP 变化情况。大鼠正常 MEP 早期成分呈"M"型波。P1、N1 的潜伏时分别为: (6.70±0.24) ms 和(8.00±0.18) ms; 波幅分别为: (49.72±2.03) μV 和(50.21±2.24) μV。致伤后, P1、N1 波幅明显降低($P<0.01$), 为(6.68±0.76) μV 和(4.57±0.43) μV。潜伏时较正常组变化不明显($P>0.05$)。

伤后 1 周, T 组大鼠 P1、N1 波幅恢复不明显($P>0.05$)。伤后 2 周, P1、N1 波幅恢复, 与伤后即刻和 I 组之间相差显著($P<0.05$)。伤后 4 周和 8 周, P1、N1 波幅进一步恢复, 与伤后即刻和 I 组之间相差非常显著($P<0.01$)。直至伤后 8 周, I 组大鼠 P1 和 N1 波幅未见明显恢复($P>0.05$)。

2.4　各时相点大鼠 vCST 出芽情况

由于示踪剂 BDA 从大脑皮层到达颈段脊髓约需要 2 周时间, 所以观察大鼠 vCST 出芽情况最早的时相点是 2 周。各时相点大鼠 vCST 出芽情况如表 3 示。图 1 显示的是伤后 2 周各组大鼠 vCST 出芽情况。从表 3 和图 1 中, 我们可以看出, 伤后 2 周和 4 周时, T 组大鼠 vCST 出芽量多于 I 组和 N 组, 但没有统计学意义($P>0.05$); 伤后 8 周, vCST 出芽量多于 I 组和 N 组, 相差显著($P<0.05$)。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表2 伤后各时相点各组大鼠 MEP 检测结果($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 MEP results at different phases after injury($\bar{x}\pm s$)

Group	Immediately after injury	1 weeks after injury	2 weeks after injury	4 weeks after injury	8 weeks after injury
Group N					
P1 Am(μV)	49.72±2.03	——	——	——	——
P1 LT(ms)	6.70±0.24				
N1 Am(μV)	50.21±2.24				
N1 LT(ms)	8.00±0.18				
Group I					
P1 Am(μV)	6.68±0.76 **	5.70±0.72 **	6.20±1.61 **	6.50±1.86 **	6.37±2.12 **
P1 LT(ms)	6.95±0.39	6.65±0.43	6.64±0.52	6.25±0.47	6.33±0.41
N1 Am(μV)	4.57±0.43 **	5.63±0.83 **	5.93±1.01 **	6.05±0.96 **	5.38±2.54 **
N1 LT(ms)	8.30±0.55	8.25±0.72	8.30±0.65	8.10±0.42	8.20±0.34
Group T					
P1 Am(μV)	6.15±0.34 **	8.13±1.28 **	17.83±1.93 **△△▽▽	37.24±3.56 *△△▽▽	38.34±4.02 *△△▽▽
P1 LT(ms)	6.53±0.73	6.62±0.81	6.50±0.52	6.37±0.48	6.35±0.43
N1 Am(μV)	4.67±0.70 **	5.25±1.86 **	11.06±1.23 **△▽▽	19.8±2.41 **△△▽▽	20.12±2.23 **△△▽▽
N1 LT(ms)	7.93±0.52	8.12±0.27	8.25±0.31	8.38±0.35	8.12±0.43

Am: amplitude, LT: latent time. *: $P<0.05$ **: $P<0.01$ *vs* N; △: $P<0.05$ △△: $P<0.01$ *vs* I; ▽: $P<0.05$ ▽: $P<0.01$ *vs* immediately after injury

表3 伤后各时相点各组大鼠 vCST 出芽数量

Tab 3 Number of vCST spranting at different phases after injury

Group	2 weeks after injury	4 weeks after injury	8 weeks after injury
N	2.75±0.96	——	——
I	2.50±0.58	2.50±1.29	2.75±0.50
T	3.00±0.82	4.00±0.82	4.25±0.82 *△

*: $P<0.05$ **: $P<0.01$ *vs* N; △: $P<0.05$ △△: $P<0.01$ *vs* I and B; ▽: $P<0.05$ ▽▽: $P<0.01$ *vs* 2w after injury

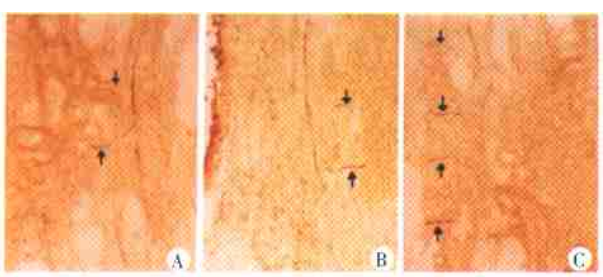


图1 伤后2周各组大鼠 vCST 出芽情况 (SABC×100)

Fig 1 Sprouting of vCST 2 weeks after injury in groups N(A), I(B) and T(C). Ventral CST is labeled by BDA injected to the representative cortex of the rat limb (SABC ×100)

I组大鼠 vCST 出芽量在伤后2、4、8周无明显变化,同 N 组无明显差异($P>0.05$)。

3 讨论

脊髓损伤的救治一直是医学领域的难点之一,除了挽救受损神经元,促进损伤轴突再生,修复损伤髓鞘外[1],如何促进未受损传导束的侧枝出芽和突触的传导功能,增强SCI后的可塑性变化来促进功能恢复,引起了越来越多的重视[1]。横断大鼠或猫等低等动物的低位胸髓后,它们可自发地部分恢复其行走功能,而且踏步训练可大幅地促进其功能恢复。这一作用被认为与存在于腰髓中的"中枢型式发生器"(Central pattern generator, CPG)的可塑性变化有关[2]。目前,这一试验结果被应用于临床上脊髓损伤患者的治疗,且被证实十分有效[4]。

颈段脊髓损伤后,SCI 患者四肢功能均受损,而上肢的运动功能,特别是精细动作的损伤,对 SCI 患者生活影响尤为严重。因而,如何促进颈脊髓损伤患者上肢运动功能的恢复,有着非常重要的意义。实验中,我们观察了联合致伤大鼠红核和颈段脊髓损伤后,大鼠前肢功能训练是否能促进其前肢精细运动功能的恢复。实验显示,伤后行功能训练1周内大鼠前肢功能恢复不明显。训练2周后大鼠前肢功能开始缓慢恢复,持续至8周,明显好于损伤对照组($P<0.05$)。MEP 检测发现,伤后2周,P1波和 N1 波波幅逐渐恢复,虽没有恢复至正常对照水平,但与伤后即刻和损伤对照组相比,相差非常显著($P<0.01$)。结果表明,联合致伤大鼠红核和 dCST 后,前肢功能训练可促进大鼠前肢精细运动功能的恢复。

BDA 示踪结果显示,伤后2周和4周,T 组大鼠 vCST 出芽量与正常对照组和单纯损伤组大鼠无显著差异。伤后8周,vCST 出芽量明显增加,明显高于正常对照组和单纯损伤组。说明功能训练能促进 iSCI 后 vCST 出芽,伴有运动功能的恢复。但其具体机制尚不清楚。推测可能是反复的功能训练刺激 SCI 局部 NTs 的表达上调,增强 SCI 后的可塑性变化,诱导 vCST 出芽,促进功能恢复[5,6]。我们将在以后的实验中,对其机制进行进一步的探讨。

参考文献:

[1] Schwab M E. Repairing the injured spinal cord[J]. Science, 2002, 295

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

(5557): 1029－1031.
[2] Cote M P, Menard A, Gossard J P. Spinal cats on the treadmill: changes in load pathways[J]. J Neurosci, 2003, 23(7): 2789－2796.
[3] Weidner N, Ner A, Salimi N, *et al*. Spontaneous corticospinal axonal plasticity and functional recovery after adult central nervous system injury [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(6): 3513－3518.
[4] Field-Fote E C. Combined use of body weight support, functional electric stimulation, and treadmill training to improve walking ability in individuals with chronic incomplete spinal cord injury[J]. Arch Phys Med Rehabil, 2001, 82(6): 818－824.
[5] Dwornik A, Macias M, *et al*. Long-term locomotor training up－regulates TrkB (FL) receptor-like proteins, brain-derived neurotrophic factor, and neurotrophin 4 with different topographies of expression in oligodendroglia and neurons in the spinal cord[J]. Exp Neurol, 2002, 176(2): 289－307.
[6] Gomez-Pinilla F, Ying Z, Roy R R, *et al*. Voluntary exercise induces a BDNF-mediated mechanism that promotes neuroplasticity[J]. J Neurophysiol, 2002, 88(5): 2187－2195.

(编辑 刘洪娥)

文章编号: 1000-5404(2003)17-1555-01

个案与短篇

胆囊切除术后黄疸的诊断与治疗

Diagnosis and treatment of jaundice following-cholecystectomy

李军尧, 陈忠庆, 刘非凡 (广州军区武汉总医院急诊科, 武汉 430070)

1 临床资料

1997 年 1 月至 2003 年 1 月因胆囊结石或急性胆囊炎行胆囊切除术共 1 872 例, 术后出现黄疸 34 例, 其中男 23 例, 女 11 例, 年龄 31～75 岁, 平均 51.4 岁。术后黄疸的临床症状为食欲减退、右上腹胀痛、发热、黄疸进行性加深。肝功能生化指标多项异常, 其中阻塞性黄疸除 ALT 外, TB、ALP、GGT 均比非阻塞性黄疸明显升高。并根据临床表现和肝功能生化指标判断可能为阻塞性黄疸均采用 ERCP 检查了解胆道情况并行相应的治疗。在 34 例中, 非阻塞性黄疸 9 例, 胆道残余结石 12 例, 胆道损伤狭窄 4 例, 壶腹部肿瘤 3 例, 放置引流 5, 其它 1 例。另外, 本组病例中术前有肝炎或肝损害者 12 例, 其中乙型肝炎 8 例; 丙肝 3 例; 戊肝 1 例。

2 结果

非梗阻性黄疸 9 例均给予抗炎、护肝及支持治疗后痊愈。阻塞性黄疸 25 例中, 3 例行早期胆道镜经 T 管取石术; 4 例肝外胆管损伤狭窄行内置支架扩张术; 3 例壶腹部肿瘤确诊后行胰十二指肠切除术; 5 例放置引流引起黄疸者适时更换引流物或去除引流; 1 例误扎致胆总管完全阻塞而行 Roux-en-Y 胆肠重建; 其余 9 例行 ERCP 十二指肠乳头切口取石及引流。术后, 腹痛、黄疸迅速消退, 平均住院(8.0±1.4) d 后出院, 术后均无复发。

3 讨论

黄疸发生于胆囊切除术后, 尤其要区分其是梗阻性, 还是非梗阻性。黄疸有无梗阻应结合病史、临床表现、实验室检查和影像学检查如 B 超、ERCP、MRCP 等加以综合分析[1]。本组资料显示胆囊切除术后黄疸中以阻塞性多见, 34 例中占 25 例, 而术后非阻塞性黄疸只占 9 例且多为肝细胞黄疸和溶血性黄疸。本组病例中, 所有非阻塞性黄疸均为肝细胞性黄疸。胆囊切除术后出现黄疸, 要密切注意临床表现, 既不能急于再次手术, 又不能坐视病情进一步恶化。因此对手术后黄疸持续不退或反而加重者, 首先考虑梗阻的可能, 应立即行 B 超检查, 必要时可行 ERCP、MRCP 检查, 进一步了解胆道情况, 以明确诊断[2,3]。黄疸出现时间的早晚以及持续时间的长短, ALT、ALP、GGT 及 TC 等生化指标对黄疸的鉴别有较大帮助。此外采用 RECP 对胆囊术后黄疸的诊治有较大帮助, 本组 9 例病人采用 ERCP 不仅起到了定性和定位诊断效果, 而且起到一定的治疗作用, 避免了再次手术的创伤。

关键词: 胆囊切除术; 术后黄疸; 诊断; 治疗
中图法分类号: R442.4; R657.4 文献标识码: B

参考文献:

[1] 何振平, 李智华, 马宽生. 肝癌侵犯肝外胆管引起阻塞性黄疸[J]. 第三军医大学学报, 1995, 17(5): 452－454.
[2] 龚建平, 周永碧, 韩本立. 腹腔镜胆囊切除术胆管损伤的诊断与治疗[J]. 第三军医大学学报, 1999, 21(8): 574－578.
[3] 陶霖玉, 冯 铎. 胆道手术后非损伤性黄疸的原因分析[J]. 中国现代医学杂志, 2001, 11(12): 64.

(编辑 陈聪连)

作者简介: 李军尧(1963－), 男, 湖北省天门市人, 主治医师, 主要从事急诊外科方面的研究。电话: (027)87879797－7811

收稿日期: 2003-06-09; 修回日期: 2003-07-01

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net