

- 15 Schwartz AF, McMillan TM. Assessment of everyday memory after severe head injury. *Cortex*, 1989, 25: 665-671.
- 16 Boake C, Freeland JC, Ringholz GM, et al. Awareness of memory loss after severe closed-head injury. *Brain Inj*, 1995, 9: 273-283.
- 17 Kinsella G, Murtagh D, Landry A, et al. Everyday memory following traumatic brain injury. *Brain Inj*, 1996, 10: 499-508.
- 18 Ownsworth TL, McFarland K. Memory remediation in long-term acquired brain injury: two approaches in diary training. *Brain Inj*, 1999, 13: 605-626.
- 19 Hannon R, Adams P, Harrington S, et al. Effects of brain injury and age on prospective memory self-rating and performance. *Rehabil Psychol*, 1995, 40: 289-298.
- 20 Raskin SA, Buckheit CA. Memory for Intentions Screening Test. *J Int Neuropsychol Soc*, 2004, 10: 110.
- 21 Wilson BA, Emslie H, Quirk K, et al. A randomized control trial to evaluate a paging system for people with traumatic brain injury. *Brain Inj*, 2005, 19: 891-894.
- 22 Mills V, Kixmiller JS, Gillespie A, et al. The correspondence between The Rivermead Behavioral Memory Test and ecological prospective memory. *Brain Cognit*, 1997, 35: 322-325.
- 23 Makatura TJ, Lam CS, Leahy BJ, et al. Standardised memory tests and the appraisal of everyday memory. *Brain Inj*, 1999, 13: 355-367.
- 24 Wills P, Clare L, Shiel A, et al. Assessing subtle memory impairment in the everyday memory performance of brain injured people: Exploring the potential of the Extended Rivermead Behavioural Memory Test. *Brain Inj*, 2000, 14: 693-704.
- 25 Fleming JM, Shum D, Strong J, et al. Prospective memory rehabilitation for adults with traumatic brain injury: A compensatory training programme. *Brain Inj*, 2005, 19: 1-10.
- 26 Titov N, Knight NG. A procedure for testing prospective remembering in persons with neurological impairment. *Brain Inj*, 2000, 14: 877-886.
- 27 Cockburn J. Failure of prospective memory after acquired brain damage: preliminary investigation and suggestions for future directions. *J Clin Exp Neuropsychol*, 1996, 18: 308-309.
- 28 卓大宏, 主编. 中国康复医学. 第 2 版. 北京: 华夏出版社, 2003. 837.
- 29 Raskin SA, Sohlberg MM. The efficacy of prospective memory training in two adults with brain injury. *J Head Trauma Rehabil*, 1996, 11: 32-51.
- 30 Drette DK, Hinojosa J, Carnevale GJ. Comparison of remedial and compensatory interventions for adults with acquired brain injuries. *J Head Trauma Rehabil*, 1999, 14: 595-601.
- 31 Broake VMD, Dowdes J, Johnson Z, et al. Evaluation on an electronic memory aid in the neuro-psychological rehabilitation of prospective memory deficits. *Brain Inj*, 2000, 14: 455-462.
- 32 Wilson BA, Emslie HC, Quirk K, et al. Reducing everyday memory and planning problems by means of a paging system: a randomised control crossover study. *Journal of Neurology. Neurosurg Psych*, 2001, 70: 477-482.
- 33 Dou ZL, Man DWK, Tam SF, et al. Community-based cognitive rehabilitation service for population with traumatic brain injury in China. *Int J Rehabil Res*, 2004, 27: 81-84.

(修回日期: 2006-11-10)

(本文编辑: 阮仕衡)

· 基础研究 ·

高压氧对大鼠局灶性脑缺血再灌注神经细胞 caspase-3 表达的影响

蒋杞英 霍本良

【摘要】目的 探讨高压氧对大鼠局灶性脑缺血再灌注神经细胞 caspase-3 表达的影响。**方法** 选取健康雄性 Wistar 大鼠 60 只, 随机分为假手术组、模型组及 HBO 组, 采用栓线法阻断大脑中动脉 3 h 建立大鼠局灶性脑缺血-再灌注损伤模型。应用免疫组织化学方法检测再灌注 6 h、24 h、48 h、72 h 和 120 h 各时间点大鼠脑组织神经细胞 caspase-3 的表达。**结果** 假手术组无 caspase-3 表达。模型组和 HBO 组再灌注各时间点 caspase-3 的表达均增高, HBO 组大鼠再灌注 6 h、24 h 和 48 h 各时间点 caspase-3 的表达均明显低于模型组 ($P < 0.05$)。**结论** 脑缺血再灌注后 caspase-3 表达增强, 高压氧治疗可抑制大鼠脑神经细胞 caspase-3 的活性, 减少脑神经细胞凋亡, 具有脑神经保护作用。

【关键词】 高压氧; 脑缺血; 凋亡; caspase-3; 大鼠

高压氧 (hyperbaric oxygen, HBO) 用于治疗脑缺血再灌注疾病已有报道^[1,2], 但对 HBO 治疗缺血性脑血管病的作用机制尚存在不少争议。神经元凋亡受到一系列基因的调控, 而缺血性脑损伤则是诱导基因表达最强烈的刺激之一。目前认

为, 在神经系统中, caspase-3 不仅可促进脑发育时期神经元的凋亡, 还可促进各种因素诱导的成熟神经元的凋亡, 提示 caspase-3 可能是缺血神经元凋亡的重要效应分子^[3-5]。有研究报道^[6,7], 脑缺血后, caspase-3 是 caspase 级联“瀑布”下游最关键的凋亡执行蛋白酶, 在各种因素启动的凋亡程序中起着最后枢纽的作用。关于 HBO 对大鼠局灶性脑缺血后 caspase-3 表达的影响, 国内报道较少。本研究采用雄性 Wistar

作者单位: 475004 开封, 河南大学医学院神经生物学研究所 (蒋杞英); 河南省开封市第二人民医院 (霍本良)

大鼠制作局灶性脑缺血再灌注模型,观察 HBO 对缺血后神经细胞 caspase-3 表达的影响,以探讨 HBO 在缺血性脑损伤中可能的作用机制。

材料与方法

一、实验动物及分组

健康雄性 Wistar 大鼠 60 只,体重 200 ~ 250 g(购自郑州大学实验动物中心,合格证号 4104034),分为假手术组 10 只、缺血再灌注对照组(简称模型组)25 只、HBO 治疗组(简称 HBO 组)25 只。模型组和 HBO 组根据缺血 3 h 后再灌注时间点分为再灌注 6 h、24 h、48 h、72 h 和 120 h 组,每亚组 5 只。所有动物均给予自然光照并自由饲养,实验前禁食 12 h,不禁水。

二、动物模型的制备

采用 10% 水合氯醛以 300 mg/kg 体重腹腔注射麻醉大鼠后,根据 Yin 等^[8]报道的颈外动脉栓线法制备局灶性脑缺血再灌注模型。假手术组也插入尼龙线,深度小于 1.0 cm,不阻断大脑中动脉,不至于造成脑梗死。待缺血大鼠苏醒后,将大脑中动脉阻断侧出现霍纳征,对侧前肢屈曲、内收,向对侧转圈或向对侧倾倒者列为研究对象。

三、HBO 处理

大鼠于手术后 3 h 进舱,先用纯氧充分洗舱 10 min,使舱内氧浓度 > 95%,再以 0.012 5 MPa/min 的速率加压至 0.2 MPa,在高压下停留 60 min,其间用纯氧通风 10 min。停留毕,匀速减压至常压。假手术组大鼠亦置于高压氧舱内,模拟除压力、氧浓度以外的其他过程和环境条件。HBO 处理后立即断头取脑,石蜡包埋,连续切片。

四、caspase-3 免疫组化染色

Caspase-3 多克隆抗体购自福州迈新生物有限公司。免疫组化染色方法采用 SP 法,DAB 显色。具体操作步骤按说明书的要求进行。阴性对照用磷酸盐缓冲液代替一抗,余步骤相同。阳性结果的判断:神经元的细胞质及细胞核中有棕黄色颗粒者为 caspase-3 免疫组化染色阳性。取每张切片梗死灶区域相互不重叠的 4 个高倍视野($\times 400$),计数 caspase-3 免疫组化阳性细胞。

五、统计学分析

实验数据以($\bar{x} \pm s$)表示,应用 SPSS 12.0 版统计软件处理,采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

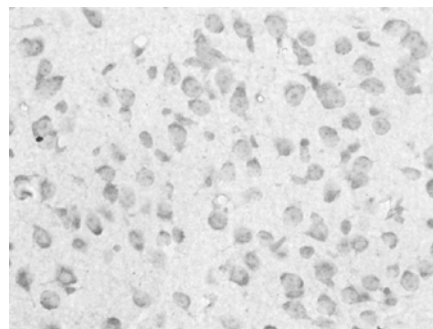
结 果

Caspase-3 免疫组化染色结果显示:caspase-3 阳性细胞主要位于缺血梗死灶边缘,梗死灶中心区和远离梗死灶的区域未见 caspase-3 染色阳性细胞(图 1,2)。假手术组未见 caspase-3 阳性细胞表达。模型组再灌注 6 h 在缺血区边缘可见少数 caspase-3 阳性细胞,24 h 阳性细胞数达到最大值,48 h、72 h 仍处于高水平,至 120 h caspase-3 阳性细胞明显减少。HBO 组与模型组比较,再灌注 6 h、24 h 和 48 h 时 caspase-3 阳性细胞数量明显减少,差异有统计学意义($P < 0.05$);再灌注 72 h 和 120 h 时 caspase-3 阳性细胞数差异无统计学意义($P > 0.05$)。具体数据见表 1。

表 1 模型组与 HBO 组 caspase-3 阳性细胞数的变化
(个, $\bar{x} \pm s$)

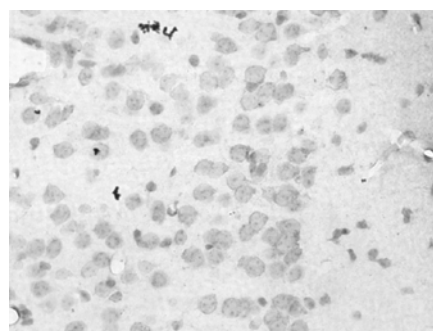
组 别	再灌注时间				
	6 h	24 h	48 h	72 h	120 h
模型组	28 ± 9	58 ± 11	53 ± 4	38 ± 10	14 ± 4
HBO 组	16 ± 5 *	38 ± 12 *	36 ± 13 *	23 ± 12 #	13 ± 5 #

注:与模型组相应时间点比较,* $P < 0.05$,# $P > 0.05$



注:可见大量 caspase-3 阳性细胞

图 1 模型组再灌注 48h 缺血皮层区(免疫组化染色, $\times 400$)



注:可见 caspase-3 阳性细胞,数量比模型组少

图 2 HBO 组再灌注 48 h 缺血皮层区(免疫组化染色, $\times 400$)

讨 论

组织缺氧是局灶性脑缺血造成细胞损伤的一个主要原因。由于缺氧在缺血性细胞死亡中的重要作用,脑缺血后恢复足够的氧供成为脑组织恢复的一个关键因素。HBO 在脑缺血再灌注损伤中的脑神经保护作用机制十分广泛,涉及多个环节,包括提高血氧分压与血氧含量、改善微循环、降低血脑屏障通透性^[9]、抑制兴奋性氨基酸毒性作用^[10]、抑制海马 iNOS mRNA 的表达^[11]以及减少神经元凋亡等^[8]。

目前,caspases 家族调控细胞凋亡的作用机理尚未完全清楚,可能与以下三条途径有关^[3]:(1)内源性途径,细胞色素 C 从线粒体释放到胞浆后与凋亡蛋白酶激活因子结合成复合物,激活 caspase-9,caspase-9 切割后激活 caspase-3,caspase-3 被认为是凋亡的最终执行蛋白;(2)外源性途径,fas 膜受体系统激活 caspase-8,caspase-8 直接激活 caspase-3;(3)caspase 非依赖性途径,凋亡诱导因子从线粒体释放到胞浆后进入核内,失去其线粒体定位序列结构域,表达凋亡效应。

近年来,caspase-3 的活性及其在脑缺血再灌注中表达的研究显示,在大鼠缺血再灌注模型中,缺血 20 min 再灌注和缺血

2 h再灌注组的 caspase-3 表达无明显差异,均于再灌注 24 ~ 72 h增加,并于 24 h 时达到峰值^[12]。本研究结果也显示,在大鼠局灶性脑缺血再灌注过程中,激活了 caspase-3 蛋白的表达,并且于 24 ~ 48 h 达峰值,与文献报道一致。研究结果还显示,HBO 治疗可下调脑缺血再灌注 6 h、24 h 和 48 h 梗死灶周围神经细胞 caspase-3 的表达,从而抑制神经细胞的凋亡,发挥脑神经保护作用。因此,我们认为 HBO 对脑缺血再灌注损伤具有神经保护作用,可为 HBO 治疗脑梗死提供实验依据。

参 考 文 献

- 1 Krakovsky M, Rogatsky G, Zarchin N, et al. Effect of hyperbaric oxygen therapy on survival after global cerebral ischemia in rats. *Surg Neurol*, 1998, 49:412-416.
- 2 Heo JH, Lucero J, Abumiya T, et al. Matrix metalloproteinases increase very early during experimental focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1999, 19:624-633.
- 3 Ferrer I, Friguls B, Dalfo E, et al. Caspase-dependent and caspase-independent signalling of apoptosis in the penumbra following middle cerebral artery occlusion in the adult rat. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2003, 29:472-481.
- 4 Mizushima H, Zhou CJ, Dohi K, et al. Reduced postischemic apoptosis in the hippocampus of mice deficient in interleukin-1. *J Comp Neurol*, 2002, 448:203-216.
- 5 Lossi L, Tamagno I, Merighi A. Molecular morphology of neuronal apoptosis: analysis of caspase-3 activation during postnatal development of mouse cerebellar cortex. *J Mol Histol*, 2004, 35:621-629.
- 6 Muller CJ, Stadelmann C, Bastholm L, et al. Ischemia leads to apoptosis and necrosis-like neuron death in the ischemic rat hippocampus. *Brain Pathol*, 2004, 14:415-424.
- 7 Zhu C, Wang X, Xu F, et al. The influence of age on apoptotic and other mechanisms of cell death after cerebral hypoxia-ischemia. *Cell Death Differ*, 2005, 12:162-176.
- 8 Yin D, Zhou C, Kusaka I, et al. Inhibition of apoptosis by hyperbaric oxygen in a rat focal cerebral ischemic model. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2003, 23:855-864.
- 9 赵红, 卢晓梅, 陈学新, 等. 高压氧对脑缺血再灌注小鼠抗氧化酶类及血脑屏障通透性的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2004, 26:196-199.
- 10 Yang ZJ, Camporesi C, Yang X, et al. Hyperbaric oxygenation mitigates focal cerebral injury and reduces striatal dopamine release in a rat model of transient middle cerebral artery occlusion. *Eur J Appl Physiol*, 2002, 87:101-107.
- 11 王国忠, 赵立明, 高春锦, 等. 高压氧对脑缺血再灌注大鼠的海马诱导型一氧化氮合酶 mRNA 表达的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2004, 26:193-195.
- 12 Lee SH, Kim M, Kim YJ, et al. Ischemic intensity influences the distribution of delayed infarction and apoptotic cell death following transient focal cerebral ischemia in rats. *Brain Res*, 2002, 956:14-23.

(修回日期:2006-10-11)

(本文编辑:吴 倩)

· 短篇论著 ·

牵引、手法整复配合中频电治疗腰椎间盘突出症的疗效观察

彭和平 李强 张光年 谢京力

腰椎间盘突出症是临床常见、多发病,其治疗方法很多,包括手术治疗、微创治疗和非手术治疗。我院康复科于 2004 至 2006 年采用牵引、手法整复配合中频电治疗 96 例腰椎间盘突出症患者,取得了满意疗效,报道如下。

一、资料与方法

(一) 临床资料

176 例腰椎间盘突出症患者均有明显的腰椎旁压痛和下肢放射痛,直腿抬高试验、屈颈试验均为阳性,并经 CT 检查证实腰椎间盘突出所压迫的神经根部位与其症状和体征相符。将所有患者随机分为观察组和对照组。观察组 96 例,其中男 55 例,女 41 例;年龄 28 ~ 71 岁,平均 43.2 岁;病程最短 10 d,最长 11 年,平均 4.1 年;腰部有外伤史者 26 例,有受风、寒史者 7 例,其余患者无明显诱因;L_{4~5} 突出者 41 例, L₅ ~ S₁ 突出者 34 例, L_{3~4}、L_{4~5} 2 个椎间盘突出者 19 例, L_{3~4}、L_{4~5} 和 L₅ ~ S₁ 3 个椎间盘突出者 2 例。对照组 80 例,其中男 47 例,女 33 例;年龄 29 ~ 62 岁,平均 40.5 岁;病程最短 5 d,最长 8 年,平均 4.4 年;腰部有外伤史者 8 例,有感受风、寒史者 5 例;L_{4~5} 突出者 36

例, L₅ ~ S₁ 突出者 30 例, L₄ ~ S₁ 2 个椎间盘突出者 14 例。两组患者临床资料经统计学分析,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)

(二) 治疗方法

2 组均采用牵引和手法整复治疗,观察组同时给予中频电疗。

(1) 牵引:应用黄石产 SKQ-IV 型电脑多功能三维牵引床,患者仰卧床上,术者用绑带固定患者腰部,根据患者的年龄、性别、体重和身体状况选择牵引治疗处方。牵引力一般为体重的 50% ~ 65%,最大不超过 50 kg,牵引时间 15 ~ 20 min,每日 1 次,10 次为 1 个疗程。

(2) 手法整复治疗:牵引结束后患者仰卧休息 10 ~ 15 min 后,嘱其俯卧于治疗床上,行手法整复治疗。①松解按摩点穴法:术者先行推、拿、揉、弹、拨手法松解腰背肌、臀肌及双下肢肌群;再点按阿是、肾俞、环跳、风市、委中和承山等穴。②左、右斜扳法:患者侧卧位,上腿屈曲、下腿伸直,术者立于患者背后,一手扶患者肩前部,另一手扶髂部做反向推扳,左、右斜扳各 1 次,听到“喀啞”声为斜扳成功。③颤腰法:患者俯卧位,术者双手掌重叠于椎旁压痛点,用力均匀地颤动性按压 1 ~ 2 min,以推、揉、滚放松手法结束。上述手法整复约需 10 ~