

· 基础研究 ·

强化训练对脑缺血再灌注大鼠骨骼肌 p-Akt 蛋白表达的影响

石浩 张海娜 高晶晶 蔡丽晓 周磊 李铁山

【摘要】目的 观察不同强度跑台训练对脑缺血再灌注损伤大鼠骨骼肌中磷酸化蛋白激酶 B(p-Akt) 的表达及运动功能的影响。**方法** 选取符合纳入标准的 120 只大鼠,按随机数字法分为假手术组、模型组、普通训练组和强化训练组,每组 30 只。通过线栓法建立大鼠左侧大脑缺血再灌注(MCAO)损伤模型,假手术组不阻断大脑中动脉,不给予跑台训练;模型组大鼠 MCAO 造模成功后,未给予跑台训练;普通训练组大鼠 MCAO 造模成功后,每日给予 30 min 的跑台训练(普通训练);强化训练组大鼠 MCAO 造模成功后给予每日早晚各 1 次的 30 min 跑台训练(强化训练)。分别于训练第 1、3、7 和 14 天,采用 Zausinger 六分法评分检测各组大鼠的神经功能情况并加以比较。于实验第 3、7 和 14 天三个时间点,每组各取 5 只大鼠灌注后分别取两侧腓肠肌行苏木素-伊红(HE)染色,镜下观察各组大鼠腓肠肌纤维横截面形态,镜下每个视野取 10 个轮廓较为完整的肌纤维,计算每根肌纤维平均横截面积及其横截面积维持率。将各组实验第 3、7 和 14 天三个时间点剩余的大鼠取患侧腓肠肌,采用 Western Blotting 法检测分析其 p-Akt 蛋白的表达情况。**结果** ①给予跑台训练第 1、3 和 7 天后,普通训练组和强化训练组的 Zausinger 行为学评分差异无统计学意义($P > 0.05$);但跑台训练第 14 天后,强化训练组行为学评分明显高于普通训练组($P < 0.05$)。②跑台训练第 3 天,各组大鼠腓肠肌横截面积维持率两两比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);而在跑台训练第 7 天和第 14 天时,假手术组大鼠腓肠肌横截面积维持率 $[(96.67 \pm 2.76)\% \text{ 和 } (94.34 \pm 6.17)\%]$ 均明显高于同时间点模型组 $[(70.35 \pm 2.21)\% \text{ 和 } (64.89 \pm 2.45)\%]$ 、普通训练组 $[(78.68 \pm 3.46)\% \text{ 和 } (71.39 \pm 5.72)\%]$ 和强化训练组 $[(83.31 \pm 2.89)\% \text{ 和 } (78.78 \pm 3.67)\%]$,且组间差异均有统计学意义($P < 0.05$);而且强化训练组大鼠腓肠肌横截面积维持率均明显大于同时时间点的普通训练组($P < 0.05$)。③跑台训练第 7 天和第 14 天,强化训练组 p-Akt 蛋白表达水平 $[(0.749 \pm 0.042) \text{ 和 } (0.689 \pm 0.064)]$ 明显高于普通训练组 $[(0.578 \pm 0.072) \text{ 和 } (0.433 \pm 0.106)]$,且组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 跑台训练可促进 p-Akt 蛋白的表达;强化训练比普通训练更加有利于 p-Akt 蛋白的表达,更能防止肌肉萎缩和改善患侧肢体功能。

【关键词】 脑缺血; 再灌注; 肌萎缩; 蛋白激酶 B; 跑台训练

Effects of intensive training on the expression of p-Akt in skeletal muscles after cerebral ischemia and reperfusion Shi Hao*, Zhang Haina, Gao Jingjing, Cai Lixiao, Zhou Lei, Li Tieshan. * Department of Rehabilitation Medicine, The Affiliated Hospital of the Medical College Qingdao University, Qingdao 266021, China
Corresponding author: Li Tieshan, Email: tieshanl@126.com

【Abstract】 Objective To observe the effects of treadmill training at different intensities on the expression of p-AKT in rats' gastrocnemius muscles after focal cerebral ischemia, and to investigate whether intensive training is beneficial for the recovery of motor function. **Methods** Left middle cerebral artery occlusion (MCAO) was induced in 120 male Wistar rats using the intraluminal thread method, and they were divided into an MCAO group (no training), a normal training group (treadmill training once a day for 30 min) and an intensive training group (treadmill training twice a day for 60 min), each of 30 rats. There was also a sham control group with 30 members not given MCAO or training. The four groups were further divided into 3 day, 7 day and 14 day subgroups. Five rats randomly selected from each subgroup were sacrificed for hematoxylin-eosin staining after 4% paraformaldehyde treatment. Neurological function was evaluated using Zausinger scores, and the expression of p-Akt was detected by western blotting. **Results** No significant differences in Zausinger scores were observed between the intensive training group and the normal training group after 1, 3 or 7 days of training. However the average Zausinger score in the intensive training group was significantly higher than in the normal training group after 14 d of treadmill training. After 7 d and 14 d

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2015.04.001

作者单位:266021 青岛,青岛大学医学院附属医院康复二科(石浩、蔡丽晓、李铁山),青岛大学医学院附属医院康复一科(高晶晶),青岛市市立医院病理科(周磊);河南省新乡市新乡医学院第一附属医院康复科(张海娜)

通信作者:李铁山,Email:tieshanl@126.com

of treadmill training the average cross-sectional area of the gastrocnemius muscles in the sham group was significantly higher than in the other three groups. The average area of the intensive training group was significantly larger than that of the normal training group. The expression of p-Akt in the gastrocnemius was significantly increased in the intensive training group compared with the normal training group in the 7 day and 14 day subgroups. **Conclusion** Treadmill training can improve the expression of p-Akt in atrophied gastrocnemius muscles caused by MCAO. Intensive training is more effective for the recovery of muscle function.

【Key words】 Brain ischemia; Reperfusion; Muscular atrophy; Protein kinase B; Treadmill training

脑卒中所造成的上运动神经元损伤综合征包括阳性、阴性症状和继发性改变,继发性改变是指骨骼肌的肌肉僵硬增加和肌肉的萎缩或短缩,这会对重获运动功能造成严重的负面影响^[1-2]。研究表明,脑卒中后肌肉因为失神经性支配或长时间的制动容易产生肌肉的萎缩^[3-4],约 60% 脑血管病患者的患侧都伴有肌肉的萎缩和不同程度的功能减弱^[5]。脑血管疾病后的肌肉萎缩可严重减弱患者的运动功能,增加患者骨折的风险^[6]。脑卒中患者早期就表现出肌肉萎缩的症状,如不进行有效的康复干预,后期运动功能恢复的难度就会增加。

大量动物实验表明,早期跑台训练可以明显改善脑缺血再灌注后大鼠神经功能^[7-8],其机制被认为是促进了脑卒中后中枢神经的可塑性^[9]。但目前关于运动跑台训练能否改善脑缺血大鼠骨骼肌的代偿性改变方面的研究尚少见报道。本研究旨在观察不同强度跑台训练对脑缺血再灌注(middle cerebral artery occlusion, MCAO)大鼠骨骼肌形态学改变的影响,并探讨其作用机制。

材料与方法

一、实验动物及试剂和仪器

成年健康雄性 Wistar 大鼠 120 只,体重 260 ~ 280 g,清洁级由山东青岛市药检所饲养中心提供。常规适应性饲养 1 周,自由进食、饮水,自然光照,术前 12 h 禁食。磷酸化蛋白激酶 B (phospho-protein kinase B, p-Akt)、总蛋白激酶 (total-Akt, t-Akt) 抗体 (#9271, #9272) 购于美国 CST (Cell Signaling Technology) 公司,HRP 标记羊抗兔 IgG 二抗 (ab97051) 购于美国 Abcam 公司。低温高速离心机 (德国),动物实验跑台机,实验用线栓 (北京),奥林巴斯倒置显微镜 (日本),UVP 凝胶成像分析系统 (美国 UVP 公司)。

二、脑缺血再灌注大鼠模型制备

参照 Longa 法^[10]对需造模大鼠进行颈外动脉线栓法制备左侧大脑中动脉阻塞 (middle cerebral artery occlusion) 2 h 再灌注模型。造模成功的标志:大鼠苏醒后出现左侧 Horner 征,提尾悬空时右前肢屈曲、内收,爬行时向右侧转圈。按照 Zausinger 等^[11]神经行为学评分法,将麻醉清醒后评分 1 ~ 4 分的大鼠纳入本

实验。假手术组造模方法同上,但不进行大脑中动脉阻塞。Zausinger 评分标准^[11]如下:0 分,不能自发行走;1 分,自由走动状态下向病变对侧旋转;2 分,抓住鼠尾,大鼠向病变对侧旋转;3 分,对于施向病变对侧的侧压力抵抗力下降者;4 分,不能伸直病变对侧前爪,甚至全身向对侧屈曲;5 分,无神经功能缺损。

三、动物分组及跑台训练方法

将纳入实验的 120 只大鼠按随机数字分组法分成假手术组、模型组、普通训练组和强化训练组,每组 30 只。假手术组大鼠不给予跑台训练;模型组大鼠 MCAO 造模成功后,未给予跑台训练。普通训练组和强化训练组造模成功后,分别进行不同强度的大鼠跑台训练,普通训练组每日训练 1 次,强化训练组每日训练 2 次。

跑台训练方法:通过改良 Jia 等^[12]和 Jarvinen 等^[13]的运动方法,设置跑台的运动参数,开启电刺激和光刺激;适应性训练 3 d,开始跑台训练,训练强度分别为第 1 天 5 m/min, 15 min;第 2 天 8 m/min, 20 min;第 3 天 12 m/min, 30 min,之后维持第 3 天的跑台训练运动量。共训练 14 d。

四、观察指标

1. 行为学评分:分别于训练前和训练第 1、3、7 和 14 天,对大鼠进行 Zausinger 行为学评分^[11],并比较各组大鼠的神经功能情况。

2. 组织学观察:每组在实验第 3、7 和 14 天三个时间点分别各取 5 只大鼠行 8% 水合氯醛腹腔内麻醉,经左心室插管至主动脉,剪开右心耳,用微量泵灌入 4 ℃ 生理盐水约 200 ml,待流出液清亮后再灌注 4 ℃ 的 4% 多聚甲醛 250 ml,取双侧腓肠肌再置于 4 ℃ 的 4% 多聚甲醛溶液后固定 24 h,石蜡包埋脱水后进行切片,片厚 6 ~ 8 μm,行苏木素-伊红 (hematoxylin and eosin, HE) 染色。封片后通过显微镜观察照相,应用 ImageJ 1.36 版软件进行图像分析。

每只大鼠选取双侧腓肠肌行 HE 染色切片各 3 张,镜下每张切片随机选 4 个视野,每个视野取 10 个轮廓较为完整的肌纤维,计算每根肌纤维横截面积,以 4 × 10 根肌纤维横截面积的平均值为该标本的平均肌纤维横截面积,按公式 (1) 计算骨骼肌纤维平均横截面积维持率^[14]:

$$\text{平均横截面积维持率(\%)} = \frac{\text{右侧骨骼肌平均肌纤维横截面积}}{\text{左侧骨骼肌平均肌纤维横截面积}} \times 100\% \quad (1)$$

五、Western blotting 检测

将各组实验第 3、7 和 14 天三个时间点剩余的 5 只大鼠麻醉后,取所需肌肉组织剪碎后移入含有蛋白酶抑制剂的裂解液中,用匀浆机打匀,离心后取上清。加样缓冲液 (loading buffer) 配制样品,沸水浴 95 ℃ 5 min 使蛋白变性获得蛋白样品。经 7.5% 的聚丙烯酰胺凝胶,电压 110 V,电泳 1.5 ~ 2.0 h。用湿转法将蛋白从十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 胶上转移到聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜上,转膜 2 h。转移后的 PVDF 膜浸入 5% 脱脂奶粉封闭液中,室温摇床 45 min。兔抗鼠 p-Akt 抗体 (1:1000) 4 ℃ 轻微振摇过夜。含吐温 20 三羟甲基氨基甲烷的缓冲盐溶液 (tris-buffered-saline with tween, TBST) 洗膜 3 次,每次 5 min,加入 HRP 标记的羊抗兔 IgG 抗体 (1:10 000),室温振荡 2 h, TBST 洗膜。经凝胶成像系统显影,通过 ImageJ 1.36 版软件分析条带灰度值得出实验数据。

六、统计学方法

使用 SPSS 19.0 版统计软件进行数据录入及统计学分析处理。计量资料用 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用单因素方差分析,多样本均数的两两比较采用 LSD-t 检验统计分析;神经功能评分由于多时间点而采用多因素方差分析。 $P < 0.05$ 则认为差异有统计学意义。

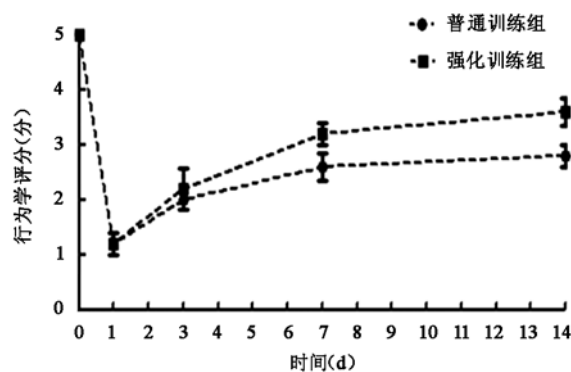
结 果

一、各组大鼠神经功能评分比较

造模前各组大鼠 Zausinger 行为学评分均正常,跑台训练前假手术组、模型组、普通训练组和强化训练组大鼠的行为学评分分别为 (5.00 ± 0.00)、(1.00 ± 0.70)、(1.20 ± 0.45) 和 (1.40 ± 0.55) 分。跑台训练第 1、3 和 7 天,普通训练组和强化训练组的行为学评分虽有所提高,但组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$);跑台训练第 14 天,强化训练组的行为学评分明显高于普通训练组 (图 1),且差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

二、各组大鼠腓肠肌纤维横截面形态及横截面积维持率比较

各组大鼠实验第 14 天腓肠肌横截面 HE 染色显微镜下可见模型组大鼠腓肠肌细胞间隙明显增大,形状多不规则;模型组大鼠腓肠肌发生明显萎缩,而 2 个训练组的肌萎缩程度较轻,其中强化训练组明显优于普通训练组 (图 2)。



注:训练 14 d 后组间比较, $P < 0.05$

图 1 跑台训练大鼠不同时间点神经功能评分比较

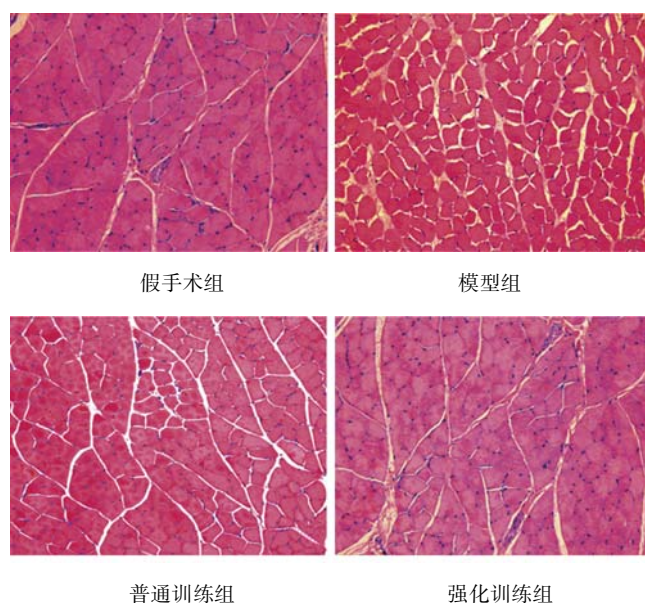


图 2 各组大鼠实验第 14 天腓肠肌横截面镜下观 (HE 染色, $\times 100$)

各组大鼠各观察时间点腓肠肌横截面积维持率数据详见表 1。表中数据显示,实验第 3 天,各组大鼠腓肠肌横截面积维持率未见明显变化;实验第 7 天和第 14 天,除假手术组外,其它三组大鼠肌横截面积维持率较组内第 3 天逐渐降低 ($P < 0.05$),假手术组大鼠腓肠肌横截面积维持率均明显大于同时间点其它 3 组 ($P < 0.05$),而模型组大鼠腓肠肌横截面积维持率均小于其它 3 组 ($P < 0.05$),强化训练组大鼠腓肠肌横

表 1 各组大鼠不同时间点的腓肠肌纤维横截面积维持率 ($\%, \bar{x} \pm s$)

组别	只数	第 3 天	第 7 天	第 14 天
假手术组	10	95.12 ± 4.35	96.67 ± 2.76^a	94.34 ± 6.17^a
模型组	10	90.21 ± 4.65	70.35 ± 2.21^b	64.89 ± 2.45^{bc}
普通训练组	10	89.48 ± 3.89	78.68 ± 3.46^{ab}	71.39 ± 5.72^{abc}
强化训练组	10	91.28 ± 5.47	83.31 ± 2.89^{abd}	78.78 ± 3.67^{abcd}

注:与模型组同时间点比较, $^a P < 0.05$;与组内第 3 天比较, $^b P < 0.05$;与组内第 7 天比较, $^c P < 0.05$;与普通训练组同时间点比较, $^d P < 0.05$

截面积维持率均明显大于同时间点普通训练组 ($P < 0.05$)。

三、各组大鼠腓肠肌 p-Akt 水平变化

实验第 3、7 和 14 天, 各组大鼠腓肠肌的 p-Akt 及 t-Akt 蛋白表达条带如图 3 所示。

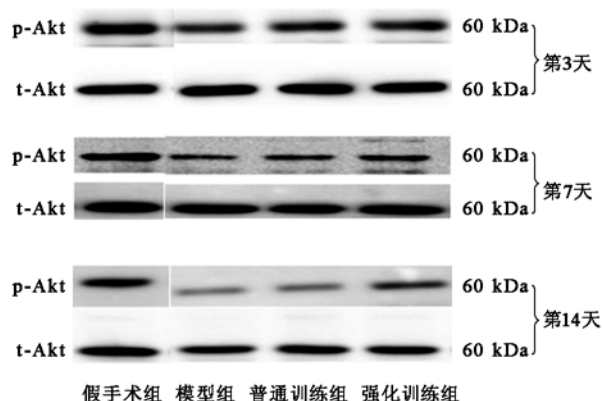


图 3 各组大鼠不同时间点腓肠肌的 p-Akt 及 t-Akt 蛋白表达

各组大鼠腓肠肌 p-Akt/t-Akt 蛋白表达的灰度比值具体数据详见表 2, 表中数据显示, 实验第 7 天和第 14 天, 除假手术组外, 其它三组大鼠腓肠肌中 p-Akt 蛋白表达水平明显低于组内第 3 天水平 ($P < 0.05$), 普通训练组中第 14 天 p-Akt 蛋白表达水平较组内第 7 天明显降低 ($P < 0.05$)。实验第 3 天模型组大鼠以及实验第 7 天和第 14 天的模型组、普通训练组和强化训练组大鼠腓肠肌中 p-Akt 蛋白表达水平均低于同时时间点的假手术组 ($P < 0.05$)。跑台训练第 7 天和第 14 天, 普通训练组和强化训练组大鼠腓肠肌中 p-Akt 蛋白表达水平明显高于同时时间点模型组 ($P < 0.05$), 且强化训练组明显高于普通训练组 ($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠不同时间点腓肠肌 p-Akt/t-Akt 蛋白表达的灰度比值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	p-Akt/t-Akt		
		第 3 天	第 7 天	第 14 天
假手术组	10	1.048 ± 0.147 ^a	1.083 ± 0.106 ^a	0.986 ± 0.047 ^a
模型组	10	0.752 ± 0.013	0.281 ± 0.121 ^b	0.260 ± 0.098 ^b
普通训练组	10	0.865 ± 0.116	0.578 ± 0.072 ^{ab}	0.433 ± 0.106 ^{abc}
强化训练组	10	0.894 ± 0.091	0.749 ± 0.042 ^{abd}	0.689 ± 0.064 ^{abd}

注: 与模型组同时间点比较, ^a $P < 0.05$; 与组内第 3 天比较, ^b $P < 0.05$; 与组内第 7 天比较, ^c $P < 0.05$; 与普通训练组同时间点比较, ^d $P < 0.05$

讨 论

神经行为学评定是观察局灶性脑缺血后神经损伤与修复程度的一项重要指标。本研究假手术组神经行为学评分均为 5 分, 说明实验创伤本身并不影响神经系统的功能。不同强度的跑台训练 2 周后, 未经训练的模型组大鼠神经功能评分都在 3 分以下, 经普通训

练和强化训练大鼠的行为学评分随着时间的延长逐步升高, 至跑台训练第 14 天时强化训练组的神经功能评分明显高于同时时间点普通训练组 ($P < 0.05$)。这与以往研究中运动训练能够改善受损神经功能的结果一致^[15]。

脑卒中后患者多伴不同程度的肌肉萎缩, 如不及时介入有效的运动训练, 可能会增加后期运动功能重建的难度。目前认为, 脑卒中后肌肉的萎缩包含失神经性肌萎缩和废用性肌萎缩, 其痉挛状态也可加重肌肉的萎缩^[16]。本研究中, 模型组在第 3、7 和 14 天腓肠肌横截面积维持率分别为 $(90.21 \pm 4.65)\%$ 、 $(70.35 \pm 2.21)\%$ 和 $(64.89 \pm 2.45)\%$, 可见 1 周后 (实验第 7 天), 模型组大鼠的患侧会发生明显的肌肉萎缩, 肌横截面积减少了大约 20%, 2 周后 (实验第 14 天), 肌横截面积减少将近 30%。国外文献报道, 脑卒中后 4 h 肌肉结构就会出现适应性的改变^[17], 而大鼠脑部缺血后 1 周, 存在大量的肌肉蛋白降解情况, 肌肉重量和横截面积都会不同程度的减少, 而运动训练的介入可以有效地降低肌肉的萎缩程度, 并且促进肌肉功能的重建^[18-19]。抗阻训练被视为增长肌肉体积、力量和耐力的有效方法^[20], Ryan 等^[21]研究报道, 患侧肌肉体积通过 12 周的抗阻训练可增加 14%, 而肌生成抑制素 (myostatin) 的表达较原来水平少 49%。在脑卒中急性期和亚急性期, 骨骼肌的无力导致无法进行抗阻训练, 平台性训练被证实对此时期内的患者具有良好的治疗效果^[22]。通过 Treadmill 训练可明显改善遗传性肌营养不良性肌萎缩患者的步行和平衡能力^[23]; 动物实验中, Treadmill 训练也被证实能明显改善脊髓损伤大鼠的步行能力^[24]。

骨骼肌约占成人重量的 40%, 骨骼肌是生物体运动和支撑的保障力量, 其质量主要取决于 2 个单独过程之间的平衡, 即蛋白质的合成和蛋白质的分解。此过程受磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinases, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 通路的调控。研究发现, 经过 6 周 Treadmill 训练可明显增加脊髓损伤大鼠中 PI3K、p-Akt 蛋白的表达水平, 同时可抑制细胞的凋亡, 促进大鼠运动功能的恢复^[7]。Akt 活化被证实与细胞的存活和凋亡密切相关。本研究采用 Western Blotting 法比较各组间 p-Akt 蛋白的表达水平, 发现普通训练组和强化训练组大鼠经过 3 d 的跑台训练, 腓肠肌中 Akt 的磷酸化水平较假手术组明显降低, 但两组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 训练 7 d 后, 普通训练组和强化训练组大鼠 p-Akt 蛋白的表达较组内第 3 天时明显降低 ($P < 0.05$), 且同时时间点比较明显高于模型组 ($P < 0.05$), 肌横截面积也高于模型组 ($P < 0.05$), 但模型组由于未进行大鼠跑台训

练, p-Akt 蛋白的表达明显低于假手术组 ($P < 0.05$)。实验数据显示, 同时时间点比较, 强化训练组无论是肌横截面维持率还是 p-Akt 蛋白的表达情况都明显优于普通训练组; 且普通训练组训练 7 d 后的 p-Akt 蛋白水平虽高于同时时间点模型组, 但组内不同时间点比较仍见明显降低, 而强化训练组大鼠 p-Akt 蛋白仍维持在较高水平。可见, PI3K-Akt 通路在骨骼肌体积维持过程中发挥了重要的作用, 运动训练通过激活 PI3K-Akt 通路, 使 p-Akt 水平增高, 而强化训练较普通训练更有效地维持了 p-Akt 蛋白的高表达水平, 更有利于脑缺血再灌注大鼠的肌肉重建。Chang 等^[25]通过注射 PI3K 的上游激活物胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factors, IGF)-1 到 MCAO 大鼠的肌肉中, 发现 Akt 的磷酸化水平增高, 骨骼肌运动功能亦得到一定的改善^[26]。Van der Velden 等^[27]研究发现, 悬吊大鼠的后肢, 可导致大鼠比目鱼肌萎缩 40%, 跖肌萎缩 27%; 负重 14 d 可出现肌肉的重建, 这一过程中, IGF-1 mRNA 的表达增加并伴随肌肉中 Akt 磷酸化。上述研究均证实 PI3K-Akt 通路参与骨骼肌体积维持及重建过程, 与本实验结果一致。最近有文献报道, 运动训练所引起蛋白的磷酸化与传统的 PI3K/Akt 通路无关, 而与激活 I κ B 激酶 β (inhibitor kappa B kinase β , IKK β) 有关^[28]。

本研究采取普通训练 (每日训练 1 次) 和强化训练 (每日训练 2 次) 两种训练强度对 MCAO 的大鼠进行跑台训练, 个别大鼠由于术后创伤较大, 无法进行强化适应训练, 适当地与普通训练组个别大鼠进行了对换。骨骼肌运动功能是否会随着训练程度进一步增加而得到改善, 或是会形成疲劳训练而使运动效果不佳, 这些尚需进一步实验证实。

综上所述, 跑台训练能明显提高脑缺血再灌注大鼠神经功能评分, 增加肌纤维横截面积及肌肉中 p-Akt 蛋白的表达, 且强化训练效果更为显著。跑台训练不仅有助于中枢神经功能重塑, 而且可以显著地延缓脑卒中后骨骼肌代偿性改变的进程, 这对临床运动疗法具有一定的指导意义; 在临床上应该依据个体差异不同, 因人而异制订特定的训练计划。

参 考 文 献

- [1] Leonard CT, Stephens JU, Stroppel SL, et al. Assessing the spastic condition of individuals with upper motoneuron involvement: validity of the myotonometer[J]. Arch Phys Med Rehabil, 2001, 82(10): 1416-1420.
- [2] Collin C, Wade D. Assessing motor impairment after stroke: a pilot reliability study[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1990, 53(7): 576-579.
- [3] Choe MA, An GJ, Lee YK, et al. Effect of inactivity and undernutrition after acute ischemic stroke in a rat hindlimb muscle model[J]. Nurs Res, 2004, 53(5): 283-292.
- [4] Chang HC, Yang YR, Wang PS, et al. Effects of insulin-like growth factor 1 on muscle atrophy and motor function in rats with brain ischemia[J]. Chin J Physiol, 2010, 53(5): 337-348.
- [5] Lawrence ES, Coshall C, Dundas R, et al. Estimates of the prevalence of acute stroke impairments and disability in a multiethnic population[J]. Stroke, 2001, 32(6): 1279-1284.
- [6] Schneider R, Gautier JC. Leg weakness due to stroke. Site of lesions, weakness patterns and causes[J]. Brain, 1994, 117(Pt2): 347-354.
- [7] Jung SY, Kim DY, Yune TY, et al. Treadmill exercise reduces spinal cord injury-induced apoptosis by activating the PI3K/Akt pathway in rats[J]. Exp Ther Med, 2014, 7(3): 587-593.
- [8] Kim DY, Jung SY, Kim CJ, et al. Treadmill exercise ameliorates apoptotic cell death in the retinas of diabetic rats[J]. Mol Med Rep, 2013, 7(6): 1745-1750.
- [9] Yang YR, Wang RY, Wang PS, et al. Treadmill training effects on neurological outcome after middle cerebral artery occlusion in rats[J]. Can J Neurol Sci, 2003, 30(3): 252-258.
- [10] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1): 84-91.
- [11] Zausinger S, Hungerhuber E, Baethmann A, et al. Neurological impairment in rats after transient middle cerebral artery occlusion: a comparative study under various treatment paradigms[J]. Brain Res, 2000, 863(1-2): 94-105.
- [12] Jia J, Hu YS, Wu Y, et al. Pre-ischemic treadmill training affects glutamate and gamma aminobutyric acid levels in the striatal dialysate of a rat model of cerebral ischemia[J]. Life Sci, 2009, 84(15-16): 505-511.
- [13] Jarvinen TA, Jozsa L, Kannus P, et al. Mechanical loading regulates the expression of tenascin-C in the myotendinous junction and tendon but does not induce de novo synthesis in the skeletal muscle[J]. J Cell Sci, 2003, 116(Pt 5): 857-866.
- [14] 陆九州, 顾玉东, 沈徐, 等. 神经干细胞移植延缓神经肌肉萎缩的实验研究[J]. 中国修复重建外科杂志, 2008, 22(9): 1051-1055.
- [15] 张振燕, 王强, 王佩佩, 等. 强化训练对局灶性脑缺血大鼠信号素 3a 及其受体神经纤毛蛋白-1 mRNA 表达的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2013, 28(5): 298-402.
- [16] Carda S, Cisari C, Invernizzi M, et al. Sarcopenia or muscle modifications in neurologic diseases: a lexical or pathophysiological difference[J]. Eur J Phys Rehabil Med, 2013, 49(1): 119-130.
- [17] Arasaki K, Igarashi O, Ichikawa Y, et al. Reduction in the motor unit number estimate (MUNE) after cerebral infarction[J]. J Neurol Sci, 2006, 250(1-2): 27-32.
- [18] Saunders DH, Sanderson M, Brazzelli M, et al. Physical fitness training for stroke patients[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2013, 10: CD003316.
- [19] Harris JE, Eng JJ. Strength training improves upper-limb function in individuals with stroke: a meta-analysis[J]. Stroke, 2010, 41(1): 136-140.
- [20] Mackenzie MG, Hamilton DL, Murray JT, et al. mVps34 is activated by an acute bout of resistance exercise[J]. Biochem Soc Trans, 2007, 35(Pt5): 1314-1316.
- [21] Ryan AS, Ivey FM, Prior S, et al. Skeletal muscle hypertrophy and

- muscle myostatin reduction after resistive training in stroke survivors [J]. *Stroke*, 2011, 42(2):416-420.
- [22] Li L, Rong W, Ke Z, et al. Muscle activation changes during body weight support treadmill training after focal cortical ischemia: a rat hindlimb model[J]. *J Electromyogr Kinesiol*, 2011, 21(2):318-326.
- [23] Berthelsen MP, Husu E, Christensen SB, et al. Anti-gravity training improves walking capacity and postural balance in patients with muscular dystrophy[J]. *Neuromuscul Disord*, 2014, 24(6):492-498.
- [24] Timoszyk WK, Nessler JA, Acosta C, et al. Hindlimb loading determines stepping quantity and quality following spinal cord transection [J]. *Brain Res*, 2005, 1050(1-2):180-189.
- [25] Chang HC, Yang YR, Wang PS, et al. The neuroprotective effects of intramuscular insulin-like growth factor-I treatment in brain ischemic rats[J]. *PLoS One*, 2013, 8(5):e64015.
- [26] Rommel C, Bodine SC, Clarke BA, et al. Mediation of IGF-1-induced skeletal myotube hypertrophy by PI(3)K/Akt/mTOR and PI(3)K/Akt/GSK3 pathways[J]. *Nat Cell Biol*, 2001, 3(11):1009-1013.
- [27] Van der Velden JL, Langen RC, Kelders MC, et al. Myogenic differentiation during regrowth of atrophied skeletal muscle is associated with inactivation of GSK-3 β [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2007, 292(5):C1636-C1644.
- [28] Moller AB, Vendelbo MH, Rahbek SK, et al. Resistance exercise, but not endurance exercise, induces IKK β phosphorylation in human skeletal muscle of training-accustomed individuals [J]. *Pflugers Arch*, 2013, 465(12):1785-1795.

(修回日期:2015-01-13)

(本文编辑:汪 玲)

· 外刊摘英 ·

Cannabinoid nasal spray for neuropathic pain

BACKGROUND AND OBJECTIVE Neuropathic pain is a chronic and potentially debilitating condition. Despite the availability of multiple treatment options, many produce only partial relief. As previous studies have demonstrated analgesic effects of the endocannabinoids, this study was designed to determine whether a nasal spray containing delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) and cannabidiol (CBD) could impact neuropathic pain.

METHODS This study included 380 patients with peripheral neuropathic pain associated with diabetes, or allodynia. The subjects were randomized to a control group or a treatment group. The treatment group received 2.7 mg of THC and 2.5 mg of CBD, administered at a maximum of 24 times every 24 hours. The outcome was measured by change in pain severity on a numerical rating scale (NRS). Secondary outcome measures included scores on a neuropathic pain scale, sleep quality, intoxication, subjective global impressions of change and quality of life.

RESULTS All patients improved on the NRS pain scale over the initial weeks of treatment. The mean numeric rating scale score decreased from 6.9 at baseline to 4.2 at the end of the study. Improvements in the neuropathic pain scores were observed after four weeks of treatment, and were maintained over the nine months of the study, without an associated increase in the daily dose of the spray. After nine months, the majority of patients reported 30% or more improvement in pain scores compared to baseline. In addition, improvements in the secondary outcome measures of neuropathic pain scale scores, quality of life and sleep quality were positive and were maintained throughout the duration of the study.

CONCLUSION This open label study found that patients with neuropathic pain can respond well, and over a long period of time, to a delta-9-tetrahydrocannabinol/cannabidiol oral mucosal spray.

【摘自:Hoggart B, Ratcliffe S, Ehler E, et al. A multicentre, open label, follow-up study to assess the long-term maintenance of effect, tolerance and safety of THC/CBD oral mucosal spray in the management of neuropathic pain. *J Neurol*. 2015, 262: 27-40.】

Intra-articular biphosphonate for knee osteoarthritis

BACKGROUND AND OBJECTIVE Osteoarthritis (OA) of the knee is a major cause of disability, affecting 10% of people over the age of 55 years. A prior multicenter study found intra-articular clodronate, a bisphosphonate, to be as effective as hyaluronic acid, for the treatment of OA, with significant progression in improvement of pain and functional outcomes. This study further assessed the tolerability and efficacy of intra-articular clodronate for patients with OA of the knee.

METHODS This randomized, double-blind, study included men and women between the ages of 50 and 75 years of age. All had knee OA with radiographic confirmation. The patients were randomly allocated to receive either weekly intra-articular injections of two mg of clodronate or a placebo saline solution for four weeks. The subjects were then followed for a total of 12 weeks. The primary outcome measure was pain relief, as rated on a 100mm Visual Analogue Scale (VAS) at eight weeks. Secondary outcomes included WOMAC scores, Lesquesne index scores and global knee OA (KOA) evaluations by patients and investigators.

RESULTS Significant improvement was noted on all outcome measures at all time points in both groups. Patients in the clodronate group demonstrated greater improvement in VAS pain scores at eight weeks than did the saline group (by 27.4 mm). However, that difference was no longer evident at 12 weeks. The experimental group demonstrated greater improvement on the Lequesne index, global KOA evaluations of both patients and investigators and the WOMAC pain subscale.

CONCLUSION This double-blind, single center, randomized, controlled trial found that intra-articular clodronate provides symptomatic and functional benefits for patients with osteoarthritis of the knee.

【摘自:Rossini M, Adami S, Fracassi E, et al. Effects of intra-articular clodronate in the treatment of knee osteoarthritis: results of a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Rheum Intern*. 2015, 35(2): 255-263.】