

· 基础研究 ·

强化训练对脑缺血再灌注大鼠臂板蛋白 3A 及其受体神经纤毛蛋白-1 表达的影响

王强 王佩佩 孟萍萍 岳寿伟

【摘要】目的 观察不同强度运动训练对脑缺血再灌注大鼠脑内臂板蛋白 3A(Sema 3A)及其受体神经纤毛蛋白-1(NP-1)的表达以及缺血侧脑细胞凋亡的影响,探讨强化运动训练促进脑缺血再灌注大鼠运动功能恢复的可能机制。**方法** 采用线栓法建立左侧大脑中动脉阻塞(MCAO)2 h 再灌注动物模型。60 只造模成功的雄性 Wistar 大鼠按随机数字表法分为训练 1 组、训练 2 组、训练 3 组、对照组(各 15 只鼠)。训练 1 组大鼠每天游泳 1 次,每次 5 min;训练 2 组大鼠每天游泳 1 次,每次 10 min;训练 3 组大鼠每天游泳 2 次,每次 10 min;对照组大鼠不做任何训练;另 15 只鼠为假手术组不阻塞大脑中动脉血流,不训练。采用 Garcia 神经功能缺损评分评价神经功能缺损情况。采用 TUNEL 染色观察缺血区大脑皮质细胞凋亡情况。应用免疫组织化学法对脑缺血后脑内神经生长抑制因子 Sema 3A 及其受体 NP-1 的表达进行分析。**结果** 假手术组神经行为功能正常。对照组各时间点的 Garcia 神经行为功能评分与假手术组同时间点比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$);各训练组游泳训练 7 和 14 d 后的 Garcia 神经功能评分明显优于同时间点对照组($P < 0.01$),且训练 3 组神经功能评分提高最明显,其游泳训练 3、7 和 14 d 后的 Garcia 神经功能评分分别为(12.80 ± 0.45)、(15.20 ± 0.45)和(16.80 ± 0.45)分。游泳训练 3、7 和 14 d 后,训练 1 组、训练 2 组、训练 3 组的 Sema 3A、NP-1 及 TUNEL 各指标阳性细胞的表达均明显低于对照组相同时间点($P < 0.01$),以训练 3 组更为明显。训练 3 组游泳训练 3、7 和 14 d 后,TUNEL 阳性细胞率分别为(29.43 ± 1.38)%、(22.30 ± 1.21)%和(17.58 ± 1.70)%;Sema 3A 阳性细胞率分别为(19.64 ± 1.17)%、(9.73 ± 3.83)%和(8.24 ± 0.87)%;NP-1 阳性细胞率分别为(33.95 ± 6.86)%、(27.95 ± 1.29)%和(18.90 ± 1.44)%,较其他各训练组的阳性细胞表达减少更明显($P < 0.01$ 或 0.05)。**结论** 康复训练可减少脑缺血再灌注大鼠 Sema 3A、NP-1 及 TUNEL 阳性细胞表达,促进其运动功能的恢复及神经功能重塑,强化运动训练的效果更明显。

【关键词】 脑缺血再灌注; 强化训练; 臂板蛋白 3A; 神经纤毛蛋白-1; 细胞凋亡

Effects of intensive training on the expressions of semaphorin 3A and neuropilin-1 after cerebral ischemia-reperfusion in rats WANG Qiang*, WANG Pei-pei, MENG Ping-ping, YUE Shou-wei. * Department of Rehabilitation Medicine, Qilu Hospital, Shandong University, Jinan 250012, China

Corresponding author: YUE Shou-wei, Email: shouweiy@sdu.edu.cn

【Abstract】 Objective To observe the effects of intensive training at different intensities on the expressions of semaphorin 3A (Sema 3A) and its receptor neuropilin (NP-1) and the cell apoptosis in cerebrum after cerebral ischemia-reperfusion in rats, and to investigate the possible mechanism of intensive training in recovery of motor function after cerebral ischemia-reperfusion in rats. **Methods** To establish animal model of cerebral ischemia-reperfusion in rats, the intraluminal thread method was applied to cause left middle cerebral artery occlusion (MCAO) for 2 h and before reperfusion. After cerebral ischemia-reperfusion model were established for 24 h, 60 male model Wistar rats were randomly divided into training group 1 (swimming for 5 min once a day), training group 2 (swimming for 10 min once a day), training group 3 (swimming for 10 min twice a day) and control group (no training); another 15 rats assigned to the sham-operation group were subject to no MCAO and no training. Neurological function was evaluated by Garcia scores, and terminal deoxynucleotidyl transferase mediated deoxyuridine triphosphate-biotin nick end labeling (TUNEL) was performed to detect the cortical cell apoptosis. Expressions of neural growth inhibition factor Sema 3A and its receptor NP-1 were detected by immunohistochemistry. **Results** The neurological function in sham-operation group was normal. The differences of Garcia scores at different time points between sham-operation

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2012.01.002

基金项目:山东省教育厅科研发展计划(J09LF22)

作者单位:250012 济南,山东大学齐鲁医院康复医学科(王强、岳寿伟);青岛大学医学院附属医院康复医学科(王强、王佩佩、孟萍萍)

通信作者:岳寿伟,Email: shouweiy@sdu.edu.cn

group and control group were significant ($P < 0.01$). Garcia scores in all training groups, were significantly higher than those in controls at the 7th and 14th d after swimming training ($P < 0.01$), especially in training group 3 the Garcia scores were (12.80 ± 0.45), (15.20 ± 0.45), (16.80 ± 0.45), respectively, at the 3rd, 7th and 14th d after swimming training. The rates of positive cell of Sema 3A, NP-1 and TUNEL indexes in all training groups were lower than those in controls at the 3rd, 7th and 14th d after swimming training ($P < 0.01$), especially in the training group 3. At the 3rd, 7th and 14th d after swimming training in training group 3, the rates of TUNEL indexes positive apoptosis cells were (29.43 ± 1.38)%, (22.30 ± 1.21)%, (17.58 ± 1.70)%, respectively, the positive cell rates of Sema 3A were (19.64 ± 1.17)%, (9.73 ± 3.83)%, (8.24 ± 0.87)%, respectively, the positive cell rates of NP-1 were (33.95 ± 6.86)%, (27.95 ± 1.29)%, (18.90 ± 1.44)%, respectively, the reduction of positive cells expressions in training group 3 was significantly more obvious compared with other training groups ($P < 0.01$ or 0.05). **Conclusions** Rehabilitation training can reduce the expression of positive cell of Sema 3A, NP-1 and TUNEL indexes in rats after cerebral ischemia-reperfusion and can improve motor function recovery and facilitate neural plasticity. The more intensive the training, the better the effects.

【Key words】 Cerebral ischemia-reperfusion; Intensive training; Semaphorin 3A; Neuropilin-1; Cell apoptosis

大约 30% 的脑卒中幸存者存在严重的残疾,严重影响患者日常生活活动能力。脑卒中后,早期运动训练可以促进患者运动功能恢复^[1-2],并对其脑组织结构和神经功能的恢复产生积极的影响,而强化运动训练能够更快、更有效地使其运动功能得到恢复^[3-7]。康复训练可促进脑梗死后大脑发生可塑性改变^[8-9],其对神经元结构的影响是神经功能提高的基础^[10]。神经生长抑制因子臂板蛋白 3A (Semaphorin 3A, Sema 3A) 是一种化学排斥性因子, Sema 3A 可特异性地介导轴突生长锥萎缩,抑制轴突延伸^[11-13],与神经元死亡和神经再生有关^[14-17],能够反映脑缺血后的神经元损害情况。神经纤毛蛋白-1 (Neuropilin-1, NP1) 是 Sema 3A 的受体^[18],可间接影响 Sema 3A 介导的皮质神经元死亡^[19]。有报道证实,脑缺血后 Sema 3A、NP1 表达会短暂性上调^[13],但鲜见不同训练强度的运动训练能否对其产生影响的实验研究报道。本研究应用线栓法制作大鼠大脑中动脉缺血再灌注模型,采取不同训练强度的运动训练方法,旨在探讨强化训练对脑缺血再灌注大鼠神经行为功能恢复的影响及其可能的机制。

材料与方法

一、实验动物分组

健康成年雄性 Wistar 大鼠 75 只,体重 250 ~ 300 g,无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 级,由山东大学实验动物中心提供,按照随机数字表法随机分成训练 1 组、训练 2 组、训练 3 组、对照组和假手术组,每组大鼠 15 只,5 组大鼠再按游泳训练的时间随机分为游泳训练 3 d 组、游泳训练 7 d 组和游泳训练 14 d 组,共 3 个亚组,每个亚组 5 只大鼠。实验前,所有动物均置于实验室适应环境 1 周,自由进食、饮水,

室温控制在 (23 ± 2) °C,自然光照,术前禁食 12 h。

二、脑缺血再灌注动物模型制备

训练 1 组、训练 2 组、训练 3 组和对照组大鼠均参照 Longa 等^[20]的颈外动脉线栓法制作左侧大脑中动脉阻塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 2 h 再灌注脑缺血模型,按照 Bederson 等^[21]制订的神经功能评分法,将麻醉清醒后评分 1 ~ 3 分的大鼠纳入研究。假手术组制模方法同上,但不阻塞大脑中动脉血流。实验过程中剔除感染及死亡大鼠,补充模型大鼠到规定数量。

三、康复训练方法

各训练组大鼠均于脑缺血再灌注 24 h 后开始进行游泳训练,训练 1 组每天游泳 1 次,每次 5 min;训练 2 组大鼠每天游泳 1 次,每次 10 min;训练 3 组大鼠每天游泳 2 次,每次 10 min。游泳训练时,将大鼠单独置于长 0.8 m、宽 0.8 m、高 1 m 和水深 0.6 m 的长方体容器内,水温 29 ~ 31 °C,水面距离容器边缘 0.4 m,以使大鼠不能抓到容器边缘。对照组、假手术组大鼠不做任何训练。

四、大鼠神经功能评定

神经功能评定皆由同一位对实验分组不知情的研究人员完成,在游泳训练后 3、7 和 14 d 后进行神经功能评定。参考 Garcia 等^[22]制订的方法,对大鼠进行神经功能缺损评分, A 为自发性活动; B 为四肢活动的对称性; C 为前肢伸展爬行动作的对称性; D 为笼壁抓力; E 为推躯干反应; F 为触须反应。每项无活动或无反应 (四肢或患肢) 为 0 分,少许活动为 1 分。最高 18 分,最低 3 分,得分越少表明神经功能缺损越严重。

五、取材切片

5 组大鼠均于游泳训练 3、7 和 14 d 后分别取 5 只

大鼠,用生理盐水 200 ml 心脏灌注直到流出液体清亮,然后用 4% 多聚甲醛 200 ml 内固定 30 min 后断头取脑。冠状切取视交叉后约 5 mm 厚的脑组织,浸泡于 4% 多聚甲醛溶液中固定 24 h。将大鼠脑组织常规梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋并切片,切片厚度为 5 μm 。

六、检测指标及方法

采用末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记法 (TdT-mediated dUTP nick end labeling, TUNEL) 检测细胞凋亡 (Roche, 美国)。采用 PV6001 通用二步免疫组化法检测 Sema 3A (Santa Cruz, 美国) 及 NP-1 (北京博奥森生物技术有限公司) 的表达。严格按试剂盒操作说明操作, DAB 显色, 苏木精复染, 以细胞浆染成黄褐色为阳性表达。阴性对照用 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液 (Phosphate buffer solution, PBS) 代替一抗, 其余步骤相同, 未见阳性表达。

七、图像分析

Olympus 光学显微镜下观察脑梗死同侧梗死灶周围皮质区, 每只大鼠取 5 张不连续切片, 每张切片在 400 倍视野下于皮质缺血周边区随机选取 5 个不重叠视野, 利用 Image Plus 图像分析仪计数阳性细胞数目和总细胞数, 计算阳性细胞率 = (阳性细胞数/总细胞数) $\times 100\%$ 。

八、统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行统计分析, 所有实验数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、各组实验大鼠神经功能缺损评分比较

各组大鼠神经功能评分均随时间逐渐增加, 游泳训练 3 d 后, 训练 1 组、训练 2 组的神经功能缺损评分与对照组同时时间点比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 训练 3 组的神经功能评分明显高于对照组及其他训练组同时时间点 ($P < 0.05$)。游泳训练 7 d 和 14 d 后, 训练 1 组、训练 2 组和训练 3 组大鼠的神经功能缺损评分均明显高于对照组同时时间点 ($P < 0.01$)。假手

术组大鼠神经功能缺损评分为满分, 提示该组大鼠无神经功能缺损, 表明手术操作本身对神经缺损评分结果无影响。详见表 1。

二、5 组大鼠 TUNEL 染色结果比较

造模后, 假手术组几乎未见阳性细胞, 对照组各时间点的细胞凋亡率均高于假手术组同时时间点 ($P < 0.01$); 训练 1 组、训练 2 组、训练 3 组大鼠各时间点神经细胞凋亡率与对照组同时时间点比较, 均明显降低 ($P < 0.01$), 且以训练 3 组的效果最为显著。详见图 1 和表 2。

表 1 各组大鼠脑缺血再灌注后神经功能缺损评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	游泳训练 3 d 后	游泳训练 7 d 后	游泳训练 14 d 后
假手术组	5	18.00 $\pm$ 0.00	18.00 $\pm$ 0.00	18.00 $\pm$ 0.00
对照组	5	11.60 $\pm$ 0.55 ^a	11.80 $\pm$ 0.84 ^a	12.80 $\pm$ 0.45 ^a
训练 1 组	5	12.00 $\pm$ 0.71	13.00 $\pm$ 0.00 ^b	14.20 $\pm$ 0.45 ^b
训练 2 组	5	12.00 $\pm$ 0.71	13.80 $\pm$ 0.45 ^{bc}	15.20 $\pm$ 0.84 ^{bd}
训练 3 组	5	12.80 $\pm$ 0.45 ^{bcd}	15.20 $\pm$ 0.45 ^{bde}	16.80 $\pm$ 0.45 ^{bde}

注: 与假手术组同时时间点比较, ^a $P < 0.01$; 与对照组同时时间点比较, ^b $P < 0.01$; 与训练 1 组同时时间点比较, ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$; 与训练 2 组同时时间点比较, ^e $P < 0.01$, ^f $P < 0.05$

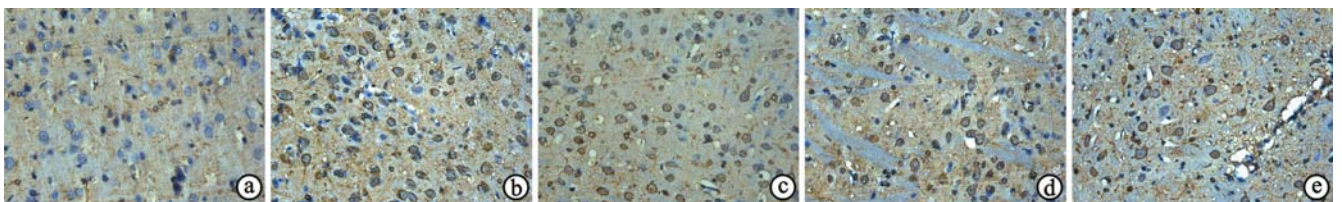
表 2 各组大鼠脑组织梗死灶周围区细胞凋亡率比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	游泳训练 3 d 后	游泳训练 7 d 后	游泳训练 14 d 后
假手术组	5	3.04 $\pm$ 1.06	2.96 $\pm$ 0.89	3.08 $\pm$ 1.12
对照组	5	43.85 $\pm$ 2.27 ^a	30.12 $\pm$ 1.88 ^a	27.73 $\pm$ 1.80 ^a
训练 1 组	5	37.22 $\pm$ 2.43 ^b	28.45 $\pm$ 1.24 ^b	25.61 $\pm$ 1.64 ^b
训练 2 组	5	32.72 $\pm$ 1.75 ^{bc}	27.13 $\pm$ 1.72 ^{bc}	22.93 $\pm$ 1.28 ^{bc}
训练 3 组	5	29.43 $\pm$ 1.38 ^{bcd}	22.30 $\pm$ 1.21 ^{bcd}	7.58 $\pm$ 1.70 ^{bcd}

注: 与假手术组同时时间点比较, ^a $P < 0.01$; 与对照组同时时间点比较, ^b $P < 0.01$; 与训练 1 组同时时间点比较, ^c $P < 0.01$; 与训练 2 组同时时间点比较, ^d $P < 0.01$

三、各组大鼠 Sema 3A 免疫组化染色结果比较

游泳训练 3、7 和 14 d 后, 训练 1 组、训练 2 组、训练 3 组大鼠的 Sema 3A 阳性表达率均明显高于对照组 ($P < 0.01$), 训练 3 组 Sema 3A 阳性表达率明显低于训练 1 组、训练 2 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。详见图 2 和表 3。



注: a 为假手术组; b 为对照组造模成功 3 d 后; c 为训练 1 组游泳训练 3 d 后; d 为训练 2 组游泳训练 3 d 后; e 为训练 3 组游泳训练 3 d 后

图 1 脑缺血再灌注大鼠梗死灶周围区凋亡细胞表达 (TUNEL 染色, $\times 400$)

表 3 各组大鼠梗死灶周围 Sema 3A 阳性细胞率比较
(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	游泳训练 3 d 后	游泳训练 7 d 后	游泳训练 14 d 后
假手术组	5	4.45 ± 0.72	4.76 ± 0.90	4.71 ± 0.84
对照组	5	36.60 ± 1.55 ^a	19.58 ± 1.04 ^a	11.01 ± 0.92 ^a
训练 1 组	5	33.73 ± 0.89 ^b	17.70 ± 0.79 ^b	10.30 ± 0.89 ^b
训练 2 组	5	26.51 ± 1.14 ^{bc}	12.18 ± 1.17 ^{bc}	8.78 ± 0.81 ^{bc}
训练 3 组	5	19.64 ± 1.17 ^{bcd}	9.73 ± 3.83 ^{bcd}	8.24 ± 0.87 ^{bce}

注:与假手术组同时时间点比较,^a $P < 0.01$;与对照组同时时间点比较,^b $P < 0.01$;与训练 1 组同时时间点比较,^c $P < 0.01$;与训练 2 组同时时间点比较,^d $P < 0.01$,^e $P < 0.05$

四、各组大鼠 NP-1 免疫组化染色结果比较

游泳训练 3、7 和 10 d 后,各组大鼠梗死灶周围区域均可见 NP-1 阳性表达。游泳训练 3 d 后,各组大鼠梗死灶周围 NP-1 阳性表达达到高峰,此后一直维持较高水平,至游泳训练 14 d 后降低;训练 1 组、训练 2 组、训练 3 组大鼠的 NP-1 阳性表达率均显著低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),训练 3 组各时间点的 NP-1 阳性表达率与训练 1 组和训练 2 组同时时间点比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$),详见表 4 和图 3。

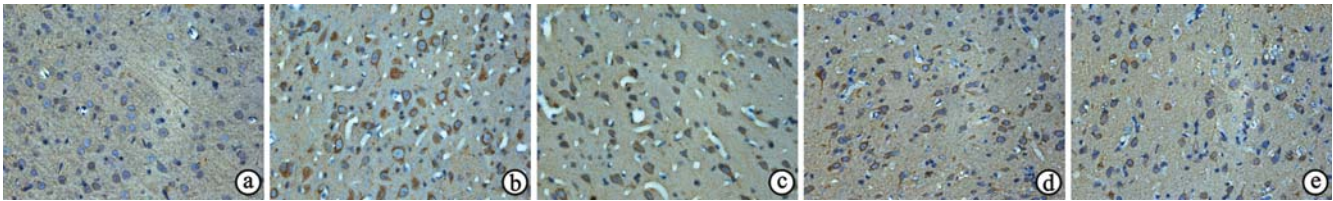
表 4 各组大鼠梗死灶周围 NP-1 阳性细胞率比较
(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	游泳训练 3 d 后	游泳训练 7 d 后	游泳训练 14 d 后
假手术组	5	4.45 ± 0.72	4.76 ± 0.90	4.66 ± 0.81
对照组	5	53.31 ± 1.44 ^a	46.52 ± 1.38 ^a	34.50 ± 1.70 ^a
训练 1 组	5	47.76 ± 1.09 ^b	40.14 ± 1.41 ^b	31.74 ± 1.43 ^b
训练 2 组	5	40.45 ± 1.31 ^{bc}	34.12 ± 1.42 ^{bc}	25.90 ± 1.26 ^{bc}
训练 3 组	5	33.95 ± 6.86 ^{bcd}	27.95 ± 1.29 ^{bcd}	18.90 ± 1.44 ^{bcd}

注:与假手术组同时时间点比较,^a $P < 0.01$;与对照组同时时间点比较,^b $P < 0.01$;与训练 1 组同时时间点比较,^c $P < 0.01$;与训练 2 组同时时间点比较,^d $P < 0.01$

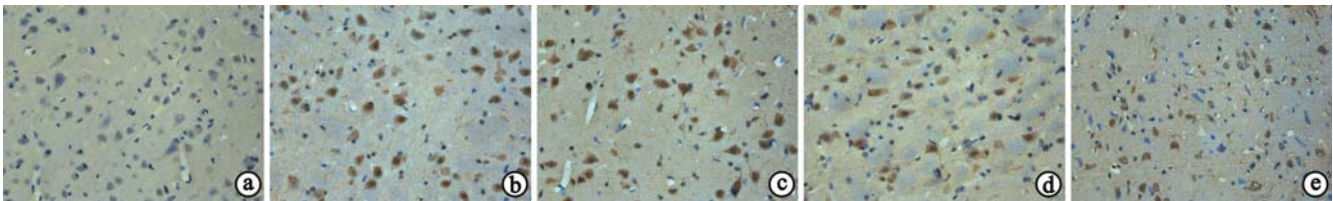
讨 论

脑卒中后的运动功能恢复主要出现在数周或数月内,通常归因于脑神经的可塑,可塑性改变在脑缺血的恢复过程中起到非常重要的作用。由于受损脑组织中少突胶质细胞、髓磷脂、反应性星形胶质细胞及成纤维细胞分泌过多的生长抑制性配体,受损的 CNS 轴突具有非常弱的再生能力^[23]。运动训练可在一定程度上调控大脑损伤病灶邻近相关特定区域的可塑性变化^[24],且会对缺血脑组织神经元相关蛋白因子水平产生影响^[3,9,25-26]。本实验采用游泳训练的方法对脑缺血再灌注后大鼠进行康复训练,这不仅是因为大鼠天生具有此项技能,而且游泳训练还能加强大鼠的平衡功能。各组大鼠采用不同时间的游泳训练,结果显示运动训练组大鼠神经缺损评分明显优于对照组,提示运动训练可促进脑缺血大鼠神经运动功能恢复。TUNEL 染色结果显示在各个时间点训练组大鼠梗死灶周围区凋亡阳性细胞数明显低于对照组,其中又以训练 3 组的减少最为明显。梗死灶周围的免疫组化结果显示,各组脑缺血大鼠 Sema 3A 及其受体 NP1 在缺血后第 3 天的表达水平最高,在同一时间点,运动训练组脑缺血大鼠 Sema 3A 和 NP1 的阳性细胞表达显著低于对照组。随着时间的推移,在游泳训练后第 14 天对照组及各训练组的 Sema 3A 及 NP1 阳性细胞率均明显降低,这可能与此时神经元凋亡明显减少有关。以上实验结果说明,脑缺血损伤后,运动训练可以降低一些损害性因子的表达水平,从而使运动功能得到较大恢复,并进一步促进损伤神经修复,而强化训练的效果更明显。



注:a 为假手术组;b 为对照组造模成功 3 d 后;c 为训练 1 组游泳训练 3 d 后;d 为训练 2 组游泳训练 3 d 后;e 为训练 3 组游泳训练 3 d 后

图 2 脑缺血再灌注大鼠梗死灶周围区 Sema 3A 表达(免疫组化染色, ×400)



注:a 为假手术组;b 为对照组造模成功 3 d 后;c 为训练 1 组游泳训练 3 d 后;d 为训练 2 组游泳训练 3 d 后;e 为训练 3 组游泳训练 3 d 后

图 3 脑缺血再灌注大鼠梗死灶周围区 NP-1 表达(免疫组化染色, ×400)

细胞凋亡是缺血区神经元死亡的主要形式^[27]。采取及时有效的干预措施,可以抑制细胞凋亡过程,防止缺血再灌注损伤程度进一步扩大。Sema 3A 是一种分泌性轴突导向蛋白,胚胎发育时期它在轴突延伸、分支,神经元迁移以及组织分化中起到重要的作用。出生后 Sema 3A 和 NP1 表达水平下降^[18],但在成年大鼠脊髓运动神经元、嗅球神经元、海马以及大脑皮质^[13]中仍然保持相对较高水平的表达。研究表明,Sema 3A 及其受体 NP1 在脑缺血神经元死亡和神经再生过程中起到重要的作用^[14-17],MCAO 后损伤侧的大脑 Sema 3A 和 NP1 的表达上调^[13],Pasterkam 等^[12]的研究证实,成年大鼠大脑皮质损伤后,Sema 3A 在瘢痕区中心表达。本研究中,各组大鼠 MCAO 游泳训练后,Sema 3A 及其受体 NP1 在梗死灶周围区的表达水平显著增高,与上述研究结果相符^[12]。Sema 3A 与 NP1 的相互作用可引起轴突生长锥的坍塌,阻碍轴突延伸或神经元的存活。Jiang 等^[19]的研究证实,Sema 3A 可以通过 NP1 来诱导皮质神经元的死亡,而 NP1 可通过与 Fer 激酶的相互作用来影响 Sema 3A 介导的皮质神经元死亡。Sema 3A 与 NP1 的相互作用与成熟皮质神经元死亡具有直接相关性。本研究表明,脑缺血再灌注大鼠梗死灶周围区域凋亡细胞数在第 3 天达到高峰,这与 Sema 3A 及其受体 NP1 的表达规律相符,也证实了 Sema 3A 对神经元凋亡具有一定促进作用。游泳训练后第 14 天,Sema 3A 与 NP1 阳性表达明显降低,细胞凋亡数也明显减少,训练 3 组的效果最明显。说明运动训练可以抑制神经生长抑制因子 Sema 3A 与其受体 NP1 的表达,从而减少神经损伤,促进肢体运动功能的恢复,其中强化训练的效果尤为明显。另外,Sema 3A 表达可增加血管通透性,间接地促进神经元死亡^[28]。NP1 在成年大鼠脑内起着非常重要的作用,NP1 的表达是由凋亡介导的转录因子 E2F1 来调整的^[19],脑缺血时 E2F1 活化引起神经元死亡。

有文献报道,早期康复训练与患者的预后密切相关^[1,29],但到目前为止,康复训练介入的强度尚无明确的标准。Qutermans 等^[4]通过系统回顾性研究证实,卒中后高强度作业导向训练的早期介入能够更有效改善偏瘫步态、提高步速与行走能力,促进运动功能恢复。Sonoda 等^[3]研究结果表明,每周训练 7 d 组与每周训练 5 d 组相比,其 FIM 评分明显较优,且其治疗总时间缩短,从而证实高强度运动训练可明显改善脑卒中患者的功能预后。国内也有研究证实高强度的运动训练有利于脑损伤后运动能力的恢复,陈炳等^[30]通过观察常规运动与强化运动治疗对脑卒中偏瘫患者的疗效,证实强化训练能够更好地促进脑卒中偏瘫患者运动功能恢复。本研究给予各训练组大鼠不同时间的游泳训

练,结果表明,游泳训练后各训练组的运动功能均得到改善,训练 3 组大鼠在造模后 7 d、14 d 时神经缺损评分明显优于其他训练组,说明高强度运动训练更有利于卒中后运动功能的恢复。本研究测定脑缺血再灌注大鼠梗死灶周围 Sema 3A、NP1 及凋亡阳性细胞表达,结果显示,各运动训练组大鼠 Sema 3A、NP1 及凋亡阳性细胞表达均较对照组明显降低,训练 3 组阳性细胞表达降低最为明显,我们推测强化训练可能更快地促进新的神经通路形成及突触再生,这为强化训练能更有效地促进缺血后功能恢复提供了分子依据,为临床对脑卒中患者进行早期康复治疗提供了一定的实验依据。

参 考 文 献

- [1] Park JW, Bang MS, Kwon BS, et al. Early treadmill training promotes motor function after hemorrhagic stroke in rats. *Neurosci Lett*, 2010, 471:104-108.
- [2] Chang HC, Yang YR, Wang SG, et al. Effects of treadmill training on motor performance and extracellular glutamate level in striatum in rats with or without transient middle cerebral artery occlusion. *Behav Brain Res*, 2009, 205:450-455.
- [3] Sonoda S, Saitoh E, Nagai S, et al. Full-time integrated treatment program, a new system for stroke rehabilitation in Japan; comparison with conventional rehabilitation. *Am J Phys Med Rehabil*, 2004, 83:88-93.
- [4] Outermans JC, van Peppen RP, Wittink H, et al. Effects of a high-intensity task-oriented training on gait performance early after stroke: a pilot study. *Clin Rehabil*, 2010, 24:979-987.
- [5] 韩超,王强,蔡明珠. 强化运动治疗对脑卒中偏瘫患者上肢功能恢复的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2011, 33:39-41.
- [6] Langhorne P, Coupar F, Pollock A. Motor recovery after stroke: a systematic review. *Lancet Neurol*, 2009, 8:741-754.
- [7] French B, Thomas LH, Leathley MJ, et al. Repetitive task training for improving functional ability after stroke. *Cochrane Database Syst Rev*, 2007, 17:CD006073.
- [8] Ferreira AF, Real CC, Rodrigues AC, et al. Moderate exercise changes synaptic and cytoskeletal proteins in motor regions of the rat brain. *Brain Res*, 2010, 1361:31-42.
- [9] 毕然然,崔宝娟,王珊珊,等. 胞二磷胆碱结合康复训练对脑缺血大鼠神经可塑性的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2010, 32:492-497.
- [10] Briones TL, Suh E, Jozsa L, et al. Changes in number of synapses and mitochondria in presynaptic terminals in the dentate gyrus following cerebral ischemia and rehabilitation training. *Brain Res*, 2005, 1033:51-57.
- [11] Dontchev VD, Letourneau PC. Nerve growth factor and semaphorin 3A signaling pathways interact in regulating sensory neuronal growth cone motility. *J Neurosci*, 2002, 22:6659-6669.
- [12] Pasterkamp RJ, Kolodkin AL. Semaphorin junction: making tracks toward neural connectivity. *Curr Opin Neurobiol*, 2003, 13:79-89.
- [13] Hiroko Fujita, Bo Zhang, Kohji Sato, et al. Expressions of neuropilin-1, neuropilin-2 and semaphorin 3A mRNA in the rat brain after middle

- cerebral artery occlusion. Brain Res, 2001, 914:1-14.
- [14] Hou ST, Keklikian A, Slinn J, et al. Sustained up-regulation of semaphorin 3A, Neuropilin1, and doublecortin expression in ischemic mouse brain during long-term recovery. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 367:109-115.
- [15] De Winter F, Holtmaat AJ, Verhaagen J. Neuropilin and class 3 semaphorins in nervous system regeneration. Adv Exp Med Biol, 2002, 515:115-139.
- [16] Nangle MR, Keast JR. Semaphorin 3A inhibits growth of adult sympathetic and parasympathetic neurons via distinct cyclic nucleotide signalling pathways. Br J Pharmacol, 2011, 162:1083-1095.
- [17] Montolio M, Messegue J, Masip I, et al. A semaphorin 3A inhibitor blocks axonal chemorepulsion and enhances axon regeneration. Chem Biol, 2009, 16:691-701.
- [18] Kolodkin AL, Levengood DV, Rowe EG, et al. Neuropilin is a semaphorin III receptor. Cell, 1997, 90:753-762.
- [19] Jiang SX, Whitehead S, Aylsworth A, et al. Neuropilin 1 directly interacts with Fer kinase to mediate semaphorin 3A-induced induced death of cortical neurons. J Biol Chem, 2010, 285:9908-9918.
- [20] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. Stroke, 1989, 20:84-91.
- [21] Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion; evaluation of the model and development of a neurologic examination. Stroke, 1986, 17:472-476.
- [22] Garcia JH, Liu KF, Yoshida Y, et al. Influx of leukocytes and platelets in an evolving brain infarct (Wistar rat). Am J Pathol, 1994, 144:188-199.
- [23] Yiu G, He Z. Glial inhibition of CNS axon regeneration. Nat Rev Neurosci, 2006, 7:617-627.
- [24] Briones TL, Suh E, Jozsa L, et al. Behaviorally-induced ultrastructural plasticity in the hippocampal region after cerebral ischemia. Brain Res, 2004, 997:137-146.
- [25] 胡昔权, 郑海清, 燕铁斌, 等. 康复训练对脑梗死大鼠运动功能及 GAP-43、SYN 表达的影响. 中华物理医学与康复杂志, 2008, 30:217-221.
- [26] 王慧娟, 李陈莉, 张金平, 等. 康复训练对脑缺血大鼠突触体素表达的影响. 中华物理医学与康复杂志, 2009, 31:730-733.
- [27] Mehta SL, Manhas N, Raghubir R. Molecular targets in cerebral ischemia for developing novel therapeutics. Brain Res Rev, 2007, 154:134-66.
- [28] Acevedo LM, Barillas S, Weis SM, et al. Semaphorin 3A suppresses VEGF-mediated angiogenesis yet acts as a vascular permeability factor. Blood, 2008, 111:2674-2680.
- [29] 马艳, 刘琦, 李洁, 等. 及早康复介入对脑卒中患者肢体功能恢复的影响. 中华物理医学与康复杂志, 2006, 28:328-329.
- [30] 陈炳, 邱纪方, 张垣, 等. 强化运动治疗脑卒中偏瘫患者的疗效观察. 中华物理医学与康复杂志, 2008, 30:393-395.

(修回日期:2011-12-10)

(本文编辑:阮仕衡)

《中华物理医学与康复杂志》第七届编辑委员会组成名单

顾问: 许云影(加拿大) 吴宗耀 连倚南(中国台湾) 陈安民 南登崑 谭维溢

名誉总编辑: 郭正成

总编辑: 黄晓琳

副总编辑: 吴毅 李玲 郭铁成 顾新 窦祖林 燕铁斌

编辑委员: (按姓氏笔画排序)

尤春景 尹平 毛容秋 王伟 王刚 王彤 王强 王宁华 王冰水 王茂斌
王亭贵(中国台湾) 王颜和(中国台湾) 邓复旦(中国台湾) 冉春风 冯珍 卢成皆(澳大利亚)
刘宏亮 华桂茹 孙福成 朱珊珊 汤晓芙 牟翔 纪树荣 许晓冬 闫金玉 何成奇
何成松 励建安 吴华 吴毅 宋为群 张长杰 张光宇 张志强 张继荣 张盘德
李玲 李兴志 李红玲 李建军 李建华 李胜利 李晓捷 李常威(中国香港)
朱愈(美国) 杨渝珍 肖农 陆再英 陈启明(中国香港) 周士枋 周谋望 岳寿伟
林伟 范建中 郑光新 恽晓平 洪章仁(中国台湾) 倪国新 倪朝民 徐军 徐永健
敖丽娟 袁华 贾子善 郭钢花 郭铁成 顾新 顾旭东 高晓平 梁英 梅元武
黄真 黄东锋 黄晓琳 谢青 谢荣 谢欲晓 窦祖林 廖维靖 燕铁斌
Bryan O'Young(美国) Sheila Purves(加拿大)