

· 基础研究 ·

磁刺激对大鼠急性脊髓损伤后神经细胞凋亡、B 细胞淋巴瘤/白血病基因-2 及 caspase-3 基因表达的影响

刘传珍 熊飞 吕玉华 张其梅 杨俊 李耀彩 张强 周敬华

【摘要】目的 观察磁刺激治疗对急性脊髓损伤(SCI)大鼠神经细胞凋亡、B 细胞淋巴瘤/白血病-2 基因(Bcl-2)、半胱氨酸蛋白酶-3(caspase-3)基因表达的影响。**方法** 将 60 只大鼠随机分成磁刺激组、模型组及假手术组。采用脊髓离断法将磁刺激组、模型组大鼠制成急性 SCI 模型,假手术组大鼠手术过程中未离断脊髓。磁刺激组大鼠于 SCI 后第 6、12、24 及 72 小时给予磁刺激治疗,模型组及假手术组大鼠则于相同时间点给予假磁刺激。各组分别于上述时间点磁刺激(或假磁刺激)治疗结束后 2 h 各取 5 只大鼠处死,取受损脊髓组织制成切片,采用 TUNEL 法检测神经细胞凋亡情况,选用免疫组化技术检测标本中 Bcl-2 及 caspase-3 基因表达。**结果** 假手术组大鼠受损脊髓中有散在凋亡细胞分布,模型组大鼠可见大量凋亡细胞,磁刺激组大鼠凋亡细胞数量显著少于模型组,组间差异具有统计学意义($P < 0.05$);模型组及磁刺激组在各观察时间点其 Bcl-2 及 caspase-3 表达均明显高于假手术组水平($P < 0.05$);磁刺激组大鼠 Bcl-2 表达显著高于模型组,caspase-3 表达显著低于模型组,组间差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** SCI 后早期介入磁刺激治疗,能显著上调受损脊髓部位 Bcl-2 表达,下调 caspase-3 表达,从而尽可能抑制神经细胞凋亡,促进受损脊髓功能恢复。

【关键词】 脊髓损伤; 磁刺激; 凋亡; B 细胞淋巴瘤/白血病-2 基因; 半胱氨酸蛋白酶-3

The effects of magnetic stimulation on nerve cell apoptosis and the expression of B cell lymphoma/leukemia gene 2 and the caspase 3 gene after spinal cord injury LIU Chuan-zhen, XIONG Fei, LU Yu-hua, ZHANG Qi-mei, YANG Jun, LI Yao-cai, ZHANG Qiang, ZHOU Jin-hua. Department of Neurology, Yichang Central People's Hospital, The First College of Clinical Medical Science, China Three Gorges University, Yichang 443003, China
Corresponding author: XIONG fei, Email: xflcz@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To study the effect of magnetic stimulation on the expression of B cell lymphoma/leukemia gene 2 (Bcl-2) and caspase-3 genes, and the apoptosis of neurons in rats with spinal cord injury (SCI). **Methods** Sixty rats were randomly divided into a magnetic stimulation group, a model group and a sham-operation group. An SCI model was established in the magnetic stimulation and model groups. The magnetic stimulation was applied at the 6th, 12th, 24th and 72nd hour after the operation to the rats in the magnetic stimulation group, and sham magnetic stimulation was given to the model group and sham-operation group rats at the same time points. Two hours after treatment, 5 rats of each group were sacrificed and their injured spinal cords were sectioned. The gene expressions were detected using immunohistochemical techniques, and apoptosis of neurons was observed by the TUNEL method. **Results** Few apoptotic cells were found in the sham-operation group, but more were found in the model group. Apoptotic cells in the magnetic stimulation group were significantly fewer than in the model group. The expression of both Bcl-2 and caspase-3 in the magnetic stimulation and model groups was significantly higher than in the sham-operation group at the different time points. Expression of Bcl-2 in the magnetic stimulation group was significantly higher than in the model group, but expression of caspase-3 in the magnetic stimulation group was significantly lower than in the model group. **Conclusions** Magnetic stimulation up-regulates the expression of Bcl-2 genes and down-regulates the expression of caspase-3 in injured neurons. Magnetic stimulation might have protective and rehabilitative effects after human SCI.

【Key words】 Spinal cord injury; Magnetic stimulation; Apoptosis; B-cell lymphoma/leukemia gene 2; Caspase 3

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2010.10.004

作者单位:443003 宜昌,三峡大学第一临床医学院,宜昌市中心人民医院神经内科

通信作者:熊飞,Email:xflcz@yahoo.com.cn

急性脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是一种严重创伤,具有并发症多、恢复困难、伤残率高等特点。SCI 后容易导致脊髓损伤平面以下感觉、运动功能丧

失,排尿、排便功能障碍,给患者、家庭及社会带来沉重负担。近年来研究发现,SCI 后继发性损伤较原发性损伤危害更大^[1],如 SCI 后早期出现脊髓血流量下降、水肿、氧自由基及炎性介质水平增高、组织代谢功能障碍等,均可诱发神经细胞凋亡,使神经受损情况进一步扩大^[2]。凋亡是 SCI 后细胞继发性死亡的主要方式,故如何抑制 SCI 后细胞凋亡,是保护神经细胞、促进 SCI 后功能恢复的关键。本研究应用磁刺激(magnetic stimulation, MS)对 SCI 大鼠进行治疗,并观察磁刺激对 SCI 大鼠神经细胞凋亡及 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 基因(B-cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2)、半胱氨酸蛋白酶-3(caspase-3)表达的影响,从而探讨磁刺激治疗 SCI 的相关机制。现报道如下。

材料与方法

一、实验动物及分组

共选取成年雌性健康 Sprague-Dawley 大鼠 60 只,体重(180 ± 25)g,由华中科技大学同济医学院实验动物学部提供,分笼饲养,自由饮水,正常昼夜节律,经适应性喂养 1 周后将上述大鼠分为磁刺激组、模型组和假手术组,每组 20 只。

二、大鼠 SCI 模型制作

将磁刺激组及模型组大鼠制成 SCI 模型,具体操作步骤如下:采用 10% 水合氯醛按每千克体重 4 ml 对大鼠进行腹腔注射麻醉,5~10 min 后将大鼠背部鼠毛剃光并固定于手术台上,仔细触摸大鼠胸椎棘突标志(最高的棘突即为 T₁₃棘突),向前确定 T_{9~10}胸椎棘突平面,采用碘伏消毒手术野,取正中切口,切开分离竖脊肌,用小血管钳咬开 T_{9~10}椎板,暴露硬脊膜,离断脊髓造成 SCI,若同时观察到大鼠后肢下伸、抖动,鼠尾摆动,双下肢瘫痪,刺激无反应则提示制模成功;稍压迫创野止血后逐层缝合肌肉层、筋膜及皮肤组织,碘伏消毒创口,同时每日腹腔注射青霉素预防感染,期间自由摄食、饮水。假手术组大鼠手术操作与上相同,但手术过程中不离断脊髓。

二、干预方法

磁刺激组大鼠于制模后 6 h、12 h、24 h 及 72 h 时给予磁刺激治疗,磁刺激器选用丹麦 Dantec 公司生产的磁刺激器及圆形线圈(线圈直径 9 cm),磁刺激频率为 0.5 Hz,脉冲磁场强度峰值为 1.9 T,磁场强度为最大输出强度的 70% 水平(约 1.33 T),每次磁刺激持续时间为 1 min(约 30 个脉冲刺激),每天刺激 2 次,中间间隔 2 h。模型组及假手术组也于相同时间点给予假磁刺激治疗,在进行假磁刺激时,大鼠所处环境条件均与磁刺激组一致,但在治疗过程中磁刺激器无能量输出。

三、细胞凋亡检测

上述 3 组分别于制模后 6 h、12 h、24 h 及 72 h 磁刺激(或假磁刺激)治疗结束 2 h 后各取 5 只大鼠,采用 10% 水合氯醛按每千克体重 4 ml 进行腹腔注射麻醉,然后用 4% 多聚甲醛进行心脏灌注固定,解剖椎管取 10 mm 左右损伤脊髓节段,置入 4% 多聚甲醛溶液中继续浸泡固定 24 h,然后脊髓标本经常规梯度酒精脱水、二甲苯透明、石蜡包埋处理后制成厚度为 6 μ m 的切片,用于细胞凋亡及 Bcl-2、caspase-3 检测。

采用原位末端标记技术检测细胞凋亡情况,实验步骤严格按照原位检测凋亡细胞试剂盒(德国宝灵曼公司)设计程序进行,石蜡标本切片经常规脱蜡逐级乙醇至水化,用蛋白酶 K 37 $^{\circ}$ C 孵育 15 min,然后用 3% H₂O₂-甲醇在室温环境下阻断内源性过氧化氢酶 10 min;经 0.1% Triton X 及 0.1% 枸橼酸钠孵育 2 min(4 $^{\circ}$ C),滴加 TUNEL 液(A 液 + B 液),37 $^{\circ}$ C 湿盒内孵育 60 min;滴加 Converter-POD,并在 37 $^{\circ}$ C 温室内孵育 30 min。二氨基联苯胺(DAB)显色 5~20 min(镜下观察),显色满意后终止反应;苏木素复染,常规乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封固。阴性对照不滴加 TUNEL 反应液,以 TBS 替代。TUNEL 法染色凋亡阳性细胞表现为核固缩、染色质聚集,细胞核呈棕黄色,正常细胞核呈淡蓝色。在高倍镜($\times 400$)下随机计数 5 个视野的凋亡阳性细胞数量并计算凋亡指数,凋亡指数 = [凋亡细胞核数/总细胞核数] $\times 100\%$ 。

四、Bcl-2 及 caspase-3 检测

采用链霉亲和素-生物素-过氧化物酶复合物技术(streptavidin-biotin-peroxidase complex method, SABC)检测各组大鼠标本 Bcl-2 及 caspase-3 水平,实验步骤严格按照试剂盒说明书进行:切片脱蜡至水,3% H₂O₂处理,微波 II 档修复抗原 20 min,自然冷却后滴加山羊血清封闭液,室温孵育 30 min,甩掉多余液体,不洗,分别滴加 caspase-3、Bcl-2 抗体,4 $^{\circ}$ C 环境下过夜,经 0.01 mol/L PBS 液洗涤 2 min $\times$ 3 次,滴加生物素山羊抗兔 IgG 37 $^{\circ}$ C 孵育 20 min,0.01 mol/L PBS 液洗涤 2 min $\times$ 3 次,滴加 SABC 复合物,37 $^{\circ}$ C 孵育 20 min,0.01 mol/L PBS 液洗涤 5 min $\times$ 4 次,二氨基联苯胺(DAB)显色,镜下控制反应时间,双蒸水终止反应,苏木素轻度复染,经脱水、透明、封片后置于显微镜下观察。每组均设阳性对照片(切片由武汉博士德公司提供)和阴性对照片(用 0.01 mol/L PBS 液代替一抗,其余步骤相同)。

Bcl-2 及 caspase-3 阳性细胞均表现为细胞胞质棕黄色,将阳性细胞按照其数量及显色程度分为 3 级,其中表达弱阳性(+)指阳性细胞数 < 10 个/每高倍镜视野,显色强度为淡黄色或个别细胞呈黄色至棕黄色;表

达阳性(++)指阳性细胞>10个/每高倍镜视野,多数细胞呈黄色至棕黄色;凡显色强度与背景无明显差别即判为阴性。选用同济千屏公司研发的 HPIAS-1000 型多媒体真彩病理图像分析系统对上述标本进行图像分析,以获取各组标本平均光密度值(average optical density, AOD)。

五、统计学分析

本研究所得数据以($\bar{x} \pm s$)表示,选用 SPSS 12.0 版统计学软件包进行数据分析,2 组间数据比较选用单因素方差分析及 q 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、各组大鼠细胞凋亡情况比较

对各组大鼠原位末端标记结果分析后发现,制模 6 h 后,磁刺激组和模型组脊髓灰质、白质中均可见散在凋亡阳性细胞分布;制模 24 h 后 2 组大鼠凋亡阳性细胞数量明显增加,于制模后 72 h 时凋亡阳性细胞数量达到峰值;而假手术组大鼠脊髓中仅见散在凋亡阳性细胞表达。进一步分析发现,脊髓损伤后 6 h 和 12 h 时,磁刺激组大鼠凋亡细胞数量与模型组间差异无统计学意义($P > 0.05$);脊髓损伤后 24 h 与 72 h 时,磁刺激组凋亡细胞数量明显少于模型组,组间差异均具有统计学意义($P < 0.01$);在各观察时间点,模型组及磁刺激组凋亡细胞数量均明显多于假手术组,组间差异均具有统计学意义($P < 0.01$)。具体结果详见表 1。

表 1 脊髓损伤后不同时间点各组大鼠凋亡指数比较(% , $\bar{x} \pm s$)

组 别	只数	损伤后 6 h	损伤后 12 h	损伤后 24 h	损伤后 72 h
模型组	20	19.83 ± 1.29	24.46 ± 2.69	42.83 ± 4.35	50.45 ± 5.73
磁刺激组	20	18.16 ± 2.59	23.57 ± 1.44	31.25 ± 2.78 ^a	42.29 ± 4.04 ^a
假手术组	20	10.34 ± 0.79 ^{ab}	9.56 ± 0.67 ^{ab}	9.84 ± 0.85 ^{ab}	9.37 ± 0.78 ^{ab}

注:与模型组比较,^a $P < 0.05$;与磁刺激组比较,^b $P < 0.05$

二、各组大鼠 Bcl-2 及 caspase-3 表达情况比较

各组大鼠脊髓损伤后不同时间点 Bcl-2 及 caspase-3 表达情况详见表 2,表中数据显示,术后 6 h、12 h、24 h 及 72 h 时,假手术组 Bcl-2 及 caspase-3 表达均为阴性;磁刺激组脊髓损伤后 6 h、12 h 时 Bcl-2 表达为弱阳性(+),损伤后 24 h 及 72 h 时表达呈阳性(++);模型组脊髓损伤后 6 h、12 h 及 24 h 时 Bcl-2 表达均为阴性,损伤后 72 h 时表达为弱阳性(+);磁刺激组脊髓损伤后 6 h、12 h、24 h 及 72 h 时 caspase-3 均为微弱表达,模型组脊髓损伤后 6 h 时 caspase-3 为微弱表达,损伤后 12 h、24 h 及 72 h 时均呈阳性表达(+++)。进一步分析发现,在各观察时间点模型组及磁刺激组 Bcl-2 及 caspase-3 表达均明显高于假手术组

($P < 0.05$),磁刺激组 Bcl-2 表达均显著高于模型组,组间差异均具有统计学意义($P < 0.05$);磁刺激组 caspase-3 表达与模型组比较,除损伤后 6 h 时组间差异无统计学意义外($P > 0.05$),其它各时间点磁刺激组 caspase-3 表达均明显低于模型组,组间差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

表 2 脊髓损伤后不同时间点各组大鼠 Bcl-2 及 caspase-3 表达比较($\bar{x} \pm s$)

组 别	只数	Bcl-2		caspase-3	
		表达定性	AOD 值	表达定性	AOD 值
模型组	20				
损伤后 6 h		-	0.025 ± 0.008 ^a	-	0.034 ± 0.009
损伤后 12 h		-	0.049 ± 0.011 ^a	++	0.215 ± 0.079 ^a
损伤后 24 h		-	0.037 ± 0.011 ^a	++	0.291 ± 0.098 ^a
损伤后 72 h		+	0.091 ± 0.015 ^a	++	0.278 ± 0.083 ^a
磁刺激组	20				
损伤后 6 h		+	0.108 ± 0.028 ^a	-	0.041 ± 0.011
损伤后 12 h		+	0.134 ± 0.036 ^a	-	0.034 ± 0.012 ^a
损伤后 24 h		++	0.306 ± 0.072 ^a	-	0.041 ± 0.016 ^a
损伤后 72 h		++	0.316 ± 0.087 ^a	-	0.032 ± 0.009 ^a
假手术组	20				
损伤后 6 h		-	0.012 ± 0.004 ^{ab}	-	0.013 ± 0.003 ^{ab}
损伤后 12 h		-	0.009 ± 0.003 ^{ab}	-	0.019 ± 0.004 ^{ab}
损伤后 24 h		-	0.017 ± 0.004 ^{ab}	-	0.014 ± 0.004 ^{ab}
损伤后 72 h		-	0.019 ± 0.010 ^{ab}	-	0.013 ± 0.006 ^{ab}

注:与模型组比较,^a $P < 0.05$;与磁刺激组比较,^b $P < 0.05$

讨 论

急性 SCI 常见于各种外伤,除了原发物理打击因素造成的直接神经损伤外,各种继发性神经损伤也不容忽视。已有研究发现,邻近损伤病灶部位的神经细胞存在迟发性凋亡现象^[6],如机体发生 SCI 后,细胞凋亡部位(主要是白质)可出现轴突瓦氏变性(Wallerian degeneration),其中主要的凋亡细胞类型包括少突胶质细胞、小胶质细胞、星形胶质细胞等,凋亡能导致病灶处大范围(包括离原发性损伤病灶较远的节段)少突胶质细胞丢失^[7-9],影响神经功能恢复,故如何在有效时间内采取适当措施抑制神经细胞凋亡、防止细胞继发性损伤具有重要的临床意义。

磁刺激是一种神经电刺激技术,具有无创、无痛、快捷方便且相对安全等特点,已被临床广泛接受及应用。磁刺激发生利用高压、高能电流在刺激线圈内瞬间放电,诱生高场强磁场,能无衰减地穿透皮肤及骨组织,诱发神经组织产生局部微电流,使神经细胞去极化,从而兴奋神经纤维。由于磁刺激能兴奋机体深部的外周神经组织及大脑和脊髓,并且通过调节其频率、强度、刺激间歇及持续时间可影响神经系统兴奋性,因而对外周及中枢神经系统损伤具有潜在治疗作用^[10]。根据相关研究报道,磁刺激能促进周围神经损伤后神

经再生及运动功能恢复;经颅磁刺激能改善中枢神经损伤患者局部血液循环,促进截瘫患者受损平面以下残存神经细胞激活,对多发性脊髓硬化患者痉挛病情也有显著改善作用^[11],但有关磁刺激的确切作用机制目前尚未明了。本研究于大鼠 SCI 后给予磁刺激治疗,并观察对大鼠脊髓损伤区神经细胞凋亡、Bcl-2 及 caspase-3 表达的影响,从而探讨磁刺激治疗 SCI 的相关机制。

细胞凋亡是受多种基因调控的程序化死亡过程,分为由凋亡受体介导的胞外和胞内线粒体途径。目前研究发现,Bcl-2 及 caspase 基因家族对神经元凋亡具有重要调控作用。根据 caspase 在细胞凋亡中的不同功能,可分为启动酶和效应酶,有些 caspase 作为一系列蛋白酶级联反应中的下游分子,被其它 caspase 或具有相同切割功能的非 caspase 蛋白酶激活;另一方面 caspase 能通过细胞内中间分子自身激活进而发挥效应。当 caspase 被细胞凋亡刺激信号激活后,可灭活拮抗细胞凋亡因子并激活下游促凋亡因子 caspase-3,因此 caspase-3 被认为是此级联反应中最关键的效应蛋白酶之一,是多种凋亡途径的共同下游效应部分和蛋白联酶反应中的关键酶^[12-13]。有研究发现,caspase-3 参与了 SCI 后神经元损伤的病理过程,在 SCI 后继发性损伤中具有重要作用^[14],因此阻断 caspase-3 表达是抑制细胞凋亡的重要途径。

Bcl-2 基因家族也是细胞凋亡过程中的一类重要调节因子,包含 2 类功能相反的基因,一类是抑制细胞凋亡的基因,如 Bcl-2、Bcl-X1、Bcl-XW 等;另一类则是促进细胞凋亡的基因,如 Bax、Bak 等,由这些基因编码的蛋白具有不同的结构及功能。Bcl-2 是一种与线粒体膜密切相关的稳定基因,主要分布在线粒体外膜、内质网及核周膜部位,可以调节膜的通透性,缓解细胞核内 Ca^{2+} 浓度改变,通过细胞催化抗氧化作用、与 Bax 形成异源二聚体、抑制 caspase-3 活化等途径阻断细胞凋亡的早期环节,提高细胞存活能力^[15]。Bcl-2 在正常细胞的激发及发育过程中均有表达,而在成熟或即将凋亡的细胞中不表达或低表达;Bcl-2 过度表达可抑制由于钙超载、氧自由基、兴奋性氨基酸等所导致的神经细胞凋亡^[16],因此提高 Bcl-2 表达对抑制细胞凋亡具有重要意义。

本研究结果表明,模型组及磁刺激组制模后各观察时间点其受损脊髓凋亡指数、Bcl-2 及 caspase-3 表达水平均明显高于假手术组,提示 SCI 启动了细胞凋亡蛋白酶级联反应,诱发神经组织继发性损伤。磁刺激组在制模后 6 h、12 h、24 h 及 72 h 时,其 Bcl-2 表达明显高于模型组,凋亡指数及 caspase-3 表达均明显低于模型组(制模后 6 h 除外),表明早期磁刺激治疗能

上调 SCI 大鼠受损脊髓节段 Bcl-2 表达,下调 caspase-3 表达,从而抑制神经细胞凋亡,减轻神经组织继发性损伤,有助于神经功能恢复。另外还有学者发现,SCI 可直接引起细胞膜对 Ca^{2+} 通透性增加,使胞内 Ca^{2+} 清除功能障碍,诱发 Ca^{2+} 大量内流并在细胞内聚集,导致细胞发生病理性损伤,磁刺激治疗能增加受损脊髓组织细胞内 Mg^{2+} 含量,降低 Ca^{2+} 含量,有助于改善离子失衡状况,对减轻继发性脊髓组织水肿、改善脊髓血液循环具有重要意义,这可能也是磁刺激抑制细胞凋亡的重要原因之一^[17]。

综上所述,本研究发现 SCI 模型大鼠于制模后早期给予磁刺激治疗,可显著提高受损脊髓组织 Bcl-2 表达,下调 caspase-3 表达,从而尽可能抑制神经细胞凋亡,有助于促进脊髓神经功能恢复及改善 SCI 预后。如能将本实验进一步深入、完善,并进行相关临床研究,那么对指导 SCI 患者选择最佳时机实施磁刺激治疗、促其神经功能恢复将具有重要意义。

参 考 文 献

- [1] Jackson AB, Dijkers M, Devivo MJ, et al. A demographic profile of new traumatic spinal cord injuries: change and stability over 30 years. Arch Phys Med Rehabil, 2004, 85: 1740-1748.
- [2] Lee TT, Green BA. Advances in the management of acute spinal cord injury. Orthop Clin North Am, 2002, 33: 311-315.
- [3] Gris P, Murphy S, Jacob JE, et al. Differential gene expression profiles in embryonic, adult-injured and adult-uninjured rat spinal cord. Mol Cell Neurosci, 2003, 24: 555-567.
- [4] Azanchi R, Bernal G, Gupta R, et al. Combined demyelination plus Schwann cell transplantation therapy increases spread of cells and axonal regeneration following contusion injury. J Neurotrauma, 2004, 21: 775-788.
- [5] Barker AT. An introduction to the basic principles of magnetic nerve stimulation. Clin Neurophysiol, 1991, 8: 26.
- [6] Satake K, Matsuyama Y, Kamiya M, et al. Nitric oxide via macrophage iNOS induces apoptosis following traumatic spinal cord injury. Brain Res Mol Brain Res, 2000, 85: 114-122.
- [7] Fehlings MG, Casha S, Yu WR. FAS deficiency reduces apoptosis, spares axons and improves function after spinal cord injury. Exp Neurol, 2005, 196: 390-400.
- [8] Demjen D, Klusmann S, Kleber S, et al. Neutralization of CD95 ligand promotes regeneration and functional recovery after spinal cord injury. Nat Med, 2004, 10: 389-395.
- [9] Takagi T, Takayasu M, Mizuno M, et al. Caspase activation in neuronal and glial apoptosis following spinal cord injury in mice. Neurol Med Chir, 2003, 43: 20-30.
- [10] Alvaro PL. Repetitive transcranial magnetic stimulation: technical principles, safety, and potential therapeutic applications. EEG Clin Neurophysiol, 1997, 103: 48.
- [11] 郭风劲, 李新志, 许涛, 等. 磁刺激对脊髓神经组织损伤的早期保护作用. 中国康复, 2001, 16: 4-6.
- [12] Zhao H, Yenari MA, Cheng D, et al. Bcl-2 overexpression protects against neuron loss within the ischemic margin following experimental stroke and inhibits cytochrome c translocation and Caspase-3 activity. J Neurochem, 2003, 85: 1026-1036.

- [13] Rami A, Jansen S, Giesser I, et al. Post-ischemic activation of Caspase-3 in the rat hippocampus: evidence of an axonal and dendritic localisation. *Neurochem Int*, 2003, 43: 211-223.
- [14] 吴旭, 王保捷, 张国华, 等. 大鼠脑损伤后 Caspase-3 表达的时间规律性研究. *中国医科大学学报*, 2004, 33: 324-327.
- [15] Newton HB. Molecular neuro-oncology and the development of targeted therapeutic strategies for brain tumors. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2005, 5: 355-378.
- [16] Krajewski S, Mai JK, Krajewski M, et al. Upregulation of Bax protein levels in neurons following cerebral ischemia. *J Neurosci*, 1996, 15: 6364-6376.
- [17] 郭风劲, 李新志, 许涛, 等. 磁刺激和碱性成纤维细胞生长因子对脊髓损伤早期的保护作用. *脊柱外科杂志*, 2004, 2: 345-348.

(修回日期: 2010-09-20)

(本文编辑: 易 浩)

· 短篇论著 ·

McKenzie 法配合电针及推拿治疗腰椎间盘突出症的疗效观察

王爱玲 高晓明 宋传彬

腰椎间盘突出症是一种临床常见病和多发病, 临床治疗效果常不理想, 我们采用 McKenzie 法配合针灸及推拿治疗腰椎间盘突出症, 疗效明显, 现报道如下。

一、资料与方法

选取 2006 年 8 月至 2008 年 6 月来我院针灸推拿门诊接受治疗的 68 例腰椎间盘突出症患者, 均符合腰椎间盘突出症诊断标准^[1], 并经 CT 或 MRI 检查确诊为髓核向后突出或侧方移位。将所有患者随机分成治疗组和对照组, 每组 34 例。治疗组中, 男 18 例, 女 16 例; 年龄 19 岁~75 岁, 平均 41 岁; 平均病程 (7.2 ± 1.5) 个月; L_{3~4} 突出 2 例, L_{4~5} 突出 12 例, L₅~S₁ 突出 10 例, L_{4~5} 和 L₅~S₁ 突出 10 例。对照组中, 男 20 例, 女 14 例; 年龄 22~78 岁, 平均 39 岁; 平均病程 (6.9 ± 2.3) 个月; L_{3~4} 突出 3 例, L_{4~5} 突出 14 例, L₅~S₁ 突出 8 例, L_{4~5} 和 L₅~S₁ 突出 9 例。2 组性别、年龄、病程、突出节段等比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。

治疗组采用 McKenzie 法配合电针及推拿。①电针治疗: 主穴取气海俞、大肠俞、关元俞及阿是穴; 选取配穴时, 疼痛沿足太阳膀胱经放射者配秩边、殷门、委中、承山、昆仑穴, 疼痛沿足少阳胆经放射者配环跳、风市、阳陵泉、绝骨穴。患者皮肤常规消毒后, 选用 1.5 或 3 寸毫针, 针刺得气后接电针仪, 选用疏密波, 强度以患者感到适宜为度, 留针 20~30 min。每日治疗 1 次, 10 d 为 1 个疗程。②推拿法: 患者放松腰部及下肢肌肉, 治疗者点按其腰部俞穴、阿是穴、环跳穴、承扶穴、委中穴、承山穴、阳陵泉穴、绝骨穴等; 患者取俯卧位, 治疗者双手置于其突出腰椎间盘上有节奏地震颤; 治疗者握住患者踝部, 牵拉其下肢并作快速小幅度抖动。每日治疗 1 次, 10 d 为 1 个疗程。③McKenzie 法: 患者取俯卧位, 用肘部将身体撑起, 骨盆以下部位贴于床面, 治疗师于患者腰部行加压伸展手法, 每次持续 5 s, 重复 10 次为 1 组, 治疗后佩戴腰围^[2]。每日治疗 1 组, 10 d 为 1 个疗程。

对照组采用针刺、推拿及口服活血止痛药物。针刺治疗与推拿治疗方法同治疗组。

评定标准: 参照日本整形外科学会制定的腰椎疾患治疗成绩评分表^[3]评定腰椎功能, 用改善率来评估临床治疗效果。改

善率 = (治疗后评分 - 治疗前评分) / (正常评分 - 治疗前评分) × 100%, 改善率达 100% 为治愈, 99% ~ 60% 为显效, 59% ~ 25% 为有效, < 25% 为无效。

统计学分析采用 χ^2 检验。

二、结果

经过 2 个疗程的治疗后, 治疗组治愈率为 64.7%, 对照组为 44.1%, 治疗组总有效率为 97.1%, 对照组为 79.4%, 治疗组疗效优于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 2 组临床疗效比较

组别	例数	治愈 [例(%)]	显效 [例(%)]	有效 [例(%)]	无效 [例(%)]	总有效率 (%)
治疗组	34	22(64.7)	7(20.6)	4(11.8)	1(2.9)	97.1
对照组	34	15(44.1) ^a	6(17.6)	6(17.6)	7(20.6)	79.4 ^a

注: 与对照组比较, ^a $P < 0.01$

三、讨论

腰椎间盘突出症的非手术疗法很多, 我们采用 McKenzie 法配合电针及推拿治疗该病, 疗效明显优于对照组。McKenzie 法采取特定方向的脊柱伸展体位进行伸展运动, 使病变椎间盘受到偏移负荷, 脊柱后方的肌肉和软组织产生压缩应变, 前方则产生拉伸应变, 压应力的作用可以使椎间盘纤维环内的髓核回纳, 从而减轻引起疼痛的纤维环和神经根的张力, 使疼痛向心化或消失。现代研究证明, 电针治疗可以调节免疫功能, 镇痛抗炎; 推拿可以纠正腰椎关节的紊乱, 改变突出物与神经根之间的位置关系, 促进腰椎间盘的回纳与修复, 促使神经根周围水肿的消散与吸收, 加快局部组织的新陈代谢, 消除炎症, 调节脊柱的应力平衡, 使椎间盘内压力降低, 从而缓解对神经根的挤压。总之, 本研究结果表明, McKenzie 法配合电针及推拿治疗腰椎间盘突出症, 效果显著。

参 考 文 献

- [1] 胡有谷. 腰椎间盘突出症. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 221.
- [2] 于兑生, 恽晓平. 运动疗法与作业疗法. 北京: 华夏出版社, 2002: 636.
- [3] 井上骏一. 腰腿疾患治疗成绩制定基准. 日整会志, 1984, 58: 925.

(修回日期: 2010-05-19)

(本文编辑: 吴 倩)