

· 基础研究 ·

功能性电刺激对脑梗死大鼠梗死周边区谷氨酸受体表达的影响

吕晓 林阳阳 董军涛 录欣欣 燕铁斌

【摘要】目的 探讨功能性电刺激(FES)是否是通过增加局灶性脑缺血大鼠梗死周边区突触谷氨酸通路相关蛋白的表达,增加突触可塑性,促进运动功能和感觉功能改善。**方法** 选择雄性 Wistar 大鼠 81 只,采用随机数字表法分为假手术组、安慰刺激组及 FES 组,每组 27 只。安慰刺激组和 FES 组采用光化学诱导法制作 Wistar 大鼠右侧脑局灶缺血模型,假手术组予以冷光源照射但不注射玫瑰红。造模成功 3 d 后,FES 组给予功能性电刺激,每日 1 次,每次刺激 10 min,间歇 10 min 后再刺激 10 min;安慰刺激组连接电刺激器,但不打开电源;假手术组常规饲养,不予任何处理。3 组大鼠均于干预 3、7、14 d 后测定其运动和感觉功能,于测定结束后处死对应时间点大鼠,取梗死周边区皮质行 Western blot 检测,测定 NMDAR1, pGluR1 和 GluR1 的含量,并采用单因素方差分析比较 3 组大鼠不同时间点的感觉、运动功能和蛋白定量。**结果** 干预 7、14 d 后,FES 组大鼠的运动功能评分分别为 (0.30 ± 0.08) 分和 (0.20 ± 0.07) 分,与安慰刺激组同时时间点比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$);干预 7、14 d 后,FES 组大鼠的贴纸去除时间分别为 (15.1 ± 7.2) s 和 (10.3 ± 4.7) s,与安慰刺激组同时时间点比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。干预 7 d 后,FES 组大鼠的 NMDAR1 含量与安慰刺激组同时时间点比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);干预 14 d 后,FES 组大鼠的 GluR 和 pGluR1 含量与安慰刺激组同时时间点比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 功能性电刺激可促进脑缺血大鼠运动和感觉功能的恢复,其可能机制可能与功能性电刺激可促进梗死周边区 NMDAR1, pGluR1 和 GluR1 通路中相关蛋白的表达以及沉默突触的去沉默化有关。

【关键词】 功能性电刺激; 脑梗死; 运动功能; 感觉功能

The effect of functional electrical stimulation after cerebral infarction on the expression of N-methyl-D-aspartate receptors in the brain Lu Xiao*, Lin Yangyang, Dong Juntao, Lu Xinxin, Yan Tiebin. * Department of Rehabilitation Medicine, Guangdong 999 Brain Hospital, Guangzhou 510510, China

Corresponding author: Yan Tiebin, Email: dr.yan@126.com

【Abstract】Objective To investigate whether functional electrical stimulation (FES) can improve the expression of proteins in the NMDAR1-pGluR1 pathway so as to promote the recovery of motor function and sensation after stroke. **Methods** Eighty-one Wistar rats were used to make a photochemical brain model of local ischemia. Rats were randomly assigned into a sham, placebo stimulation or FES group. Rats in the placebo and FES groups had local ischemia induced in the M1 zone of the brain using the photosensitive dye Bengal rose. It was administered intravenously and a laser beam was then stereotactically positioned on the skull. The rats in the FES groups were stimulated for 30 minutes (10 minutes on, 10 minutes off, then 10 minutes on). The placebo group's treatment was similar, but without the electric current. The rats in the sham group received no intervention. The cylinder test and the adhesive-removal test were used to test the rats' motor function and sensation before the operation and before they were sacrificed. Cohorts were sacrificed after 3, 7 and 14 days of intervention. NMDA receptor and AMPA receptor were detected in the peri-ischemic cortex using western blotting. **Results** After 7 and 14 days the index of forelimb motor function in the cylinder test of the FES group was significantly better than that of the placebo group. The average adhesive-removal time of the FES group was also significantly faster compared with the placebo group. After 7 days the average expression of NMDAR1 in the FES group was significantly higher than in the placebo group. The average expression of GluR1 and pGluR1 in the FES group was significantly higher than in the placebo group after 14 days.

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2015.011.001

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81182311)

作者单位:510120 广州,中山大学孙逸仙纪念医院康复医学科[吕晓(现在广东三九脑科医院神经康复科),林阳阳(现在中山大学附属第六医院康复医学科)]

通信作者:燕铁斌,Email:dr.yan@126.com

Conclusion Functional electrical stimulation can improve motor function after ischemia through the NMDAR-AMPA signal pathway, at least in rats.

【Key words】 Functional electrical stimulation; Cerebral infarction; Motor function; Sensory function

功能性电刺激 (functional electrical stimulation, FES) 是利用一定强度的低频脉冲电流,通过预先设定的刺激程序来刺激一组或多组肌肉,诱发肌肉运动或模拟正常的自主运动,以达到改善或恢复被刺激肌肉或肌群功能的目的^[1]。研究证明,FES 促进脑卒中后功能恢复与其促进梗死半影区神经网络的重建密切相关^[2-3]。脑梗死后神经可塑性具有时间窗限制,在该时间窗内神经系统可进行有效的突触连接的建立,强化突触功能,而这种突触连接的建立具有活动依赖性,即其建立是由其所接受突触发放的电活动所调控的^[4]。

谷氨酸是中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 内重要的兴奋性神经递质,而 CNS 内存在两类离子型谷氨酸受体,即 N-甲基-D-天冬氨酸 (N-methyl-D-aspartic acid, NMDA) 受体和 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸 (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid, AMPA) 受体。在突触可塑性变化中,这两类受体的变化是沉默突触被活化的重要指标,NMDA 受体与 AMPA 受体的共定位是功能性突触形成的形态学标志,亦是长时程增强 (long-term potentiation, LTP) 出现的形态学标志^[5-8]。本研究采用光化学诱导法建立急性 Wistar 大鼠皮质缺血模型,观察 FES 治疗脑梗死大鼠不同时间点运动功能和感觉功能的变化,以及缺血半影区/梗死周边区 LTP 诱导和维持所需蛋白表达的变化,寻找 FES 促进突触功能重组的分子学证据。

材料与方法

一、实验动物分组

选取由中山大学实验动物中心提供 [许可证号 SYXK (粤) 2013-0081] 的无特定病原体 (specific pathogen-free, SPF) 成年雄性 Wistar 大鼠 81 只,体重 250 ~ 300 g。按随机数字表法分为 FES 组、安慰刺激组和假手术组,每组 27 只大鼠,3 组再根据取材的时间点分为干预 3、7、14 d 后亚组,每个亚组 9 只大鼠。各组大鼠笼内环境及饲养条件相同。

二、造模方法

FES 组和安慰刺激组大鼠均于运动和感觉功能检测结束后,在 Schmidt^[9] 造模方法的基础上稍作改良制作大鼠光化学诱导的局部脑梗死模型。大鼠用 10% 水合氯醛 (350 mg/kg 体重) 麻醉,待足趾夹痛反射消失后,固定在脑立体定位仪,纵向切开头皮 (2.0 ~

2.5 cm), 暴露头骨,用双氧水擦拭以去除骨膜,确认冠状缝和矢状缝。大鼠的 M1 区定位于前囟前 0.5 mm,中线旁开 3.5 mm。用冷光源 (Schott KL 1500 型,德国 Mainz 公司) 照射 20 min,于刚开始照射的 2 min 内静脉注射玫瑰红 (0.133 ml/kg 体重,10 mg/ml 盐水)。大鼠被提尾悬垂时,若左侧前肢无自主活动,即呈左侧前肢的轻偏瘫症状,则右侧 M1 区梗死造模成功。假手术组予以冷光源照射但不注射玫瑰红,其余处理方法均同 FES 组和安慰刺激组。

三、干预方法

FES 治疗仪为 NeuroTrac™ Continnence 型,购自英国 Verity Medical 公司,治疗时采用双向对称方波,频率 100 Hz,脉宽 300 μ s,波升:波降 = 1 s:1 s,电流强度 4 ~ 6 mA (以出现伸腕伸指动作为准),通断比为 3 s:5 s,每日治疗 1 次,每次治疗 10 min,间歇 10 min 后,再刺激 10 min。

在 3 组大鼠的左前肢背侧行 2 cm 纵行切口,切开皮肤和皮下组织,显露深筋膜。将 FES 治疗仪的两枚电极分别置于前肢背侧远端和伸指肌腹的筋膜上,以 3 mA 的电刺激寻找敏感点,待动物出现充分的伸指动作时,以手术缝线在深筋膜的两个电极接触点处并做标记,此处即为电刺激敏感点。将一根导线的一端固定于前肢远端敏感点上,另一个导线的一端固定于前肢近端的敏感点上,两根导线经前肢背侧、项背,至颅顶两耳之间的皮下,行 0.5 cm 切口,将导线另一端引出 (作为 FES 的接口) 并妥善固定。术后第 3 天开始 FES 治疗,FES 组将治疗仪电极连接于经皮下固定的电极线上,刺激前肢伸展;安慰刺激组则关闭电源不予电刺激;假手术组仅常规饲养,不做其他处理。

四、运动功能与感觉功能检测

于造模前和干预 3、7、14 d 后,按照 Schallert^[10] 的方法分别对 3 组大鼠进行运动和感觉功能检测。

1. 运动功能检测:用圆柱体实验^[10] 进行评估,将大鼠放置于透明的玻璃圆柱体中 5 ~ 7 min,用录像机记录大鼠自发探索圆柱体时前肢的使用次数,指数越低则说明实验大鼠双侧前肢均正常使用,无偏侧瘫痪。按公式 (1) 计算前肢活动功能指数:

$$\text{前肢活动功能指数} = \frac{\text{右侧使用次数} - \text{左侧使用次数}}{\text{右侧使用次数} + \text{左侧使用次数} + \text{双侧使用次数}} \quad (1)$$

2. 感觉功能检测:用贴纸去除实验^[10] 进行评估,将贴纸贴在大鼠前肢远端放射状区域,然后将大鼠放

回笼子,记录大鼠去掉贴纸的时间。该实验每日训练 5 次,每次间隔 5 min,造模前连续训练 3 d,时间为 5 s 之内,则说明大鼠感觉功能正常。

五、FES 对谷氨酸受体的影响

干预 3、7、14 d 后,且运动和感觉功能检测完毕后,取 3 组大鼠中对应时间点亚组的大鼠断头取脑,脑组织放入冻存管后液氮保存后转至 -80°C 冰箱保存。取梗死周边区皮质用 Western blot 法检测脑缺血大鼠梗死半影区 N-甲基-D-天冬氨酸受体 1 (N-methyl-D-aspartic acid receptor 1, NMDAR1), APMA 受体的亚基谷氨酸受体 1 (glutamate receptor 1, GluR1) 和磷酸化的谷氨酸受体 1 (phosphorylated glutamate receptor 1, pGluR1) 等 LTP 早期及长时程维持相关蛋白的表达量;观察处于激活状态即磷酸化状态蛋白表达量随时间变化的规律,以定量的形式判断促进和维持突触可塑性变化的蛋白表达变化规律。

具体步骤为:将保存在冻存管内的梗死周边组织取出,称量组织湿重,按 100 mg/1 ml 的比例添加组织裂解液,其中含 10 mg/ml 的苯甲基磺酰氟 (phenylmethanesulfonyl fluoride, PMSF);玻璃匀浆器反复匀浆组织块,待成匀浆液后,于冰浴中静置 30 min;低温离心后取出后吸取上清液,此即是蛋白抽提液,将蛋白抽提液分装后置于 -80°C 超低温冰箱中保存待用。采用二辛可宁酸 (bicinchoninic acid, BCA) 法蛋白质定量试剂盒测定蛋白浓度。按照聚丙烯酰胺 (polyacrylamide gelelectrophoresis, PAGE) 凝胶配制试剂盒说明配制 10% 分离胶和 5% 的浓缩胶,上样量为 25 μl ;采用 Bio-Rad 电泳仪,浓缩胶电压选择 60 V,分离胶电压提高到 100 V,电泳结束后将蛋白转移至聚偏氟乙烯 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜上,通过 5% 小牛血清蛋白封闭,一抗孵育过夜,吐温-三羟甲基氨基甲烷缓冲盐溶液 (tris buffered saline with tween 20, TBST) 漂洗后二抗孵育 1 h,孵育完毕 TBST 漂洗 3 次,每次 10 min。应用化学发光法检测蛋白,应用 bio-medical 凝胶成像系统进行发光;以微管蛋白 (β -Tubulin) 内参蛋白 (50 KDa) 及甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 内参蛋白 (37 KDa) 的表达情况为对照来判断目的蛋白的表达量,采用 Image-Pro Plus Version 6.0 版计算机图像分析系统软件对图片进行合成处理,计算各时间点平均灰度值,将假手术组作为 1,其余以比值表示。

六、统计学方法

使用 SPSS 17.0 版软件统计分析。先对各组进行重复测定的方差分析,如果差异有显著性,再用单因素方差分析比较不同时间点组间的差异,并作不同时间点

各指标的相关分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

造模前,3 组大鼠术的前肢运动指数组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$),干预 7、14 d 后, FES 组大鼠的运动功能评分与安慰刺激组同时间点比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$);干预 7、14 d 后, FES 组大鼠的贴纸去除时间与安慰刺激组同时间点比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),详见表 1。

表 1 3 组大鼠不同时间点前肢活动指数和贴纸去除时间比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	前肢活动功能指数	贴纸去除时间 (s)
假手术组			
造模前	27	0.02 ± 0.01	3.2 ± 1.3
干预 3 d 后	9	0.03 ± 0.01	3.1 ± 1.2
干预 7 d 后	9	0.04 ± 0.03	2.8 ± 0.8
干预 14 d 后	9	0.01 ± 0.02	3.0 ± 0.9
安慰刺激组			
造模前	27	0.02 ± 0.02	3.5 ± 0.3
干预 3 d 后	9	0.56 ± 0.10	34.2 ± 12.2
干预 7 d 后	9	0.57 ± 0.04	31.8 ± 8.4
干预 14 d 后	9	0.43 ± 0.12	25.1 ± 5.1
FES 组			
造模前	27	0.03 ± 0.02	3.7 ± 0.3
干预 3 d 后	9	0.52 ± 0.01	28.7 ± 10.5
干预 7 d 后	9	0.30 ± 0.08^a	15.1 ± 7.2^a
干预 14 d 后	9	0.20 ± 0.07^a	10.3 ± 4.7^a

注:与安慰刺激组同时间点比较, $^a P < 0.05$

干预 7 d 后, FES 组大鼠的 NMDAR1 含量与安慰刺激组同时间点比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);干预 14 d 后, FES 组大鼠的 GluR 和 pGluR1 含量与安慰刺激组同时间点比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),详见表 2。

表 2 3 组大鼠不同时间点梗死周边区蛋白表达水平比较 (相对灰度值, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	NMDAR1	GluR1	pGluR1
假手术组				
干预 3 d 后	9	1.21 ± 0.12	1.08 ± 0.02	1.13 ± 0.21
干预 7 d 后	9	1.29 ± 0.13	1.05 ± 0.04	1.15 ± 0.27
干预 14 d 后	9	1.12 ± 0.13	1.21 ± 0.07	1.13 ± 0.08
安慰刺激组				
干预 3 d 后	9	0.36 ± 0.23	0.36 ± 0.23	0.37 ± 0.21
干预 7 d 后	9	0.85 ± 0.15	0.45 ± 0.15	0.43 ± 0.14
干预 14 d 后	9	0.74 ± 0.16	0.74 ± 0.16	0.87 ± 0.23
FES 组				
干预 3 d 后	9	0.38 ± 0.11	0.48 ± 0.01	0.36 ± 0.06
干预 7 d 后	9	1.36 ± 0.07^a	0.96 ± 0.07	0.53 ± 0.06
干预 14 d 后	9	1.23 ± 0.08	1.53 ± 0.08^a	1.56 ± 0.02^a

注:与安慰刺激组同时间点比较, $^a P < 0.05$

讨 论

本课题组既往的研究显示, FES 可促进大脑中动脉闭塞大鼠半影区突触的胶质纤维酸性蛋白、突触素、神经颗粒素、微管相关蛋白等的表达^[2-3], 增强神经干细胞的增殖和迁徙^[11-12], 即 FES 可通过增强脑内相关区域的突触可塑性来促进神经功能的恢复。上述研究重点观察了突触可塑性的形态学变化的相关指标, 而本研究在 FES 治疗脑卒中的过程中, 不仅可观察到突触可塑性的结构性改变, 还可观察到突触可塑性的功能性改变, 且在梗死周边脑区, 这种结构性改变和功能改变最明显。梗死周边脑区突触中的 NMDA 受体和 AMPA 受体是突触功能性改变的必须蛋白, 本课题组认为, 研究此类蛋白的变化, 可观察 FES 对中枢可塑性的作用机制。

光化学诱导模型是 1985 年由 Watsons 等^[13]首先提出的局灶性脑缺血模型。其造模原理是通过静脉内注射光敏染料后, 在脑内特定区域用冷光照射, 局部发生光化学反应, 产生氧自由基, 从而诱导血管内皮损伤, 形成局部血栓。这种造模方法成功率高, 梗死部位和面积固定, 死亡率低^[14]。本研究为了明确脑卒中大鼠运动功能的损伤, 选用了大鼠 M1 区, 即初级感觉运动区的大鼠前肢功能定位区进行照射。由于照射后功能缺损主要集中在大鼠前肢, 因此本研究特异性针对该模型进行了行为学检测和感觉功能障碍检测。本研究表明, 干预 7、14 d 后, FES 组大鼠的运动功能评分和贴纸去除时间与安慰刺激组同时时间点比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 证实了光化学诱导的局灶性脑缺血模型可产生神经系统定位体征, 而 FES 治疗可改善其运动和感觉功能, 且在光化学诱导致脑梗死模型中, 应用圆柱体实验和贴纸去除实验进行行为学检测简单易行。

LTP 是信息储存的客观指标之一, 也是突触可塑性功能性改变的客观表现之一。LTP 机制十分复杂, 不同中枢区域的 LTP 机制也可能有不同, 目前比较清楚的是海马 CA1 区 LTP 的机制^[15-18]。有研究认为, 海马的兴奋性突触传递是由谷氨酸受体介导, 其突触后膜上的兴奋性谷氨酸受体主要起作用的有 NMDA 受体和 AMPA 受体。1994 年, Kullmann^[19]首次发现 NMDA 受体可持续地与量子化释放的神经递质结合, 结合量远超过 AMPA 受体与递质的结合量, 该研究提示, AMPA 受体和 NMDA 受体可能独立存在于兴奋性突触上。随后大量的电生理和免疫组化研究证实, 在成年大鼠海马部位确有部分突触只具有 NMDA 受体而缺乏 AMPA 受体。这种只具有 NMDA 受体, 而缺乏介导快速兴奋性突触传递 AMPA 受体的突触称为沉

默突触(silent synapses)。在某些情况下沉默突触可转变为功能性突触并导致 LTP 现象, 即可与其他末梢形成新的突触并产生相应功能^[20], 即沉默突触可在其相邻突触的电生理活动的加强下被强烈激活, 而由突触前终末所形成的突触连接亦得到反复加强, 此时突触前终末会释放递质, 引起突触后膜去极化, 从而形成成熟稳定的功能性突触。

功能性电刺激是临床常用治疗手段, 其通过对外周肌肉的电刺激如何调控中枢相关神经网络功能活动的可能机制和途径尚不清楚。本研究表明, 干预 7 d 后, FES 组大鼠的 NMDAR1 含量与安慰刺激组同时时间点比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 干预 14 d 后, FES 组大鼠的 GluR 和 pGluR1 含量与安慰刺激组同时时间点比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。这种各受体表达时序上的变化, 符合“沉默突触”去沉默化的变化^[21]。由此本课题组判断, 在梗死周边区内发生了突触的 NMDA 受体和 AMPA 受体的共表达, 这也是突触可塑性的功能性变化的指标之一。依据 Hebbin^[22]的活动依赖性神经可塑性的原理, 新运动技能相关的皮质联系的强弱与活动依赖性神经可塑性活动的强弱相关。本课题组前期的临床研究表明, FES 可有效地改善脑卒中患者肢体的运动功能^[23]; 同时基于 FES 的基础研究则显示, 电刺激可通过增加内源性神经干细胞的增殖、迁移和分化, 增加突触的结构可塑性^[11]。本研究尚未从电生理改变方面证明突触可塑性的功能性变化, 这仍需后续进一步研究的阐明。

综上所述, 本研究证实 FES 可上调局灶性脑缺血大鼠梗死周边区 NMDA1, pGluR1 通路中相关蛋白的表达, 促进脑缺血大鼠运动功能和感觉功能的恢复。

参 考 文 献

- [1] Hewlett O, Lannin NA, Ada L, et al. Functional electrical stimulation improves activity after stroke: a systematic review with meta-analysis[J]. Arch Phys Med Rehabil, 2015, 96(5): 934-943.
- [2] 金冬梅, 庄志强, 燕铁斌, 等. 功能性电刺激治疗对急性脑梗死大鼠运动功能和缺血半影区微管相关蛋白-2 表达的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2009, 24(6): 505-508.
- [3] 庄志强, 燕铁斌, 金冬梅, 等. 功能性电刺激对急性脑梗死大鼠运动功能和缺血半影区与镜区突触素表达的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2009, 24(12): 1061-1064.
- [4] Murphy TH, Corbett D. Plasticity during stroke recovery: from synapse to behaviour[J]. Nat Rev Neurosci, 2009, 10(12): 861-872.
- [5] Rebola N, Srikumar BN, Mulle C. Activity-dependent synaptic plasticity of NMDA receptors[J]. J Physiol, 2010, 588(1): 93-99.
- [6] Liao D, Zhang X, O'Brien R, et al. Regulation of morphological postsynaptic silent synapses in developing hippocampal neurons[J]. Nat Neurosci, 1999, 2(1): 37-43.
- [7] Grecucci A, Crescentini C, Siugzdaitė R. Vicarious function in the

- motor cortex. A computational investigation [J]. *Neurosci Lett*, 2008, 434(2): 185-190.
- [8] Centonze D, Rossi S, Tortiglione A, et al. Synaptic plasticity during recovery from permanent occlusion of the middle cerebral artery[J]. *Neurobiol Dis*, 2007, 27(1): 44-53.
- [9] Schmidt A, Hoppen M, Strecker J K, et al. Photochemically induced ischemic stroke in rats[J]. *Exp Transl Stroke Med*, 2012, 4(1): 13.
- [10] Schallert T. Behavioral tests for preclinical intervention assessment [J]. *NeuroRx*, 2006, 3(4): 497-504.
- [11] Liu HH, Xiang Y, Yan TB, et al. Functional electrical stimulation increases neural stem/progenitor cell proliferation and neurogenesis in the subventricular zone of rats with stroke[J]. *Chin Med J*, 2013, 126(12): 2361-2367.
- [12] Xiang Y, Liu HH, Yan T, et al. Functional electrical stimulation facilitates brain neural regeneration of rats with cerebral infarction[J]. *Neural Regen Res*, 2014, 9(3): 243-251.
- [13] Watson BD, Dietrich WD, Busto R, et al. Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis [J]. *Ann Neurol*, 1985, 17(5): 497-504.
- [14] Li H, Roy Choudhury G, Zhang N, et al. Photothrombosis-induced focal ischemia as a model of spinal cord injury in mice[J]. *J Vis Exp*, 2015, 16, (101): e53161.
- [15] Giese KP, Fedorov NB, Filipkowski RK, et al. Autophosphorylation at Thr286 of the alpha calcium-calmodulin kinase II in LTP and learning[J]. *Science*, 1998, 279(5352): 870-873.
- [16] Bortolotto ZA, Collingridge GL. Involvement of calcium/calmodulin-dependent protein kinases in the setting of a molecular switch involved in hippocampal LTP[J]. *Neuropharmacology*, 1998, 37(4-5): 535-544.
- [17] Kasahara J, Fukunaga K, Miyamoto E. Activation of calcium/calmodulin-dependent protein kinase IV in long term potentiation in the rat hippocampal CA1 region[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(26): 24044-24050.
- [18] Ahmed BY, Yamaguchi F, Tsumura T, et al. Expression and subcellular localization of multifunctional calmodulin-dependent protein kinases- I, -II and -IV are altered in rat hippocampal CA1 neurons after induction of long-term potentiation[J]. *Neurosci Lett*, 2000, 290(2): 149-153.
- [19] Kullmann DM. Amplitude fluctuations of dual-component EPSCs in hippocampal pyramidal cells; implications for long-term potentiation [J]. *Neuron*, 1994, 12(5): 1111-1120.
- [20] Shi SH. Amersham Biosciences & Science Prize. AMPA receptor dynamics and synaptic plasticity [J]. *Science*, 2001, 294(5548): 1851-1852.
- [21] Huang X, Stodieck S K, Goetze B, et al. Progressive maturation of silent synapses governs the duration of a critical period[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(24): E3131-3140.
- [22] Morris RG. D. O. Hebb; The Organization of Behavior, Wiley: New York; 1949[J]. *Brain Res Bull*, 1999, 50(5-6): 437.
- [23] Lin Z, Yan T. Long-term effectiveness of neuromuscular electrical stimulation for promoting motor recovery of the upper extremity after stroke[J]. *J Rehabil Med*, 2011, 43(6): 506-510.

(修回日期:2015-11-01)

(本文编辑:阮仕衡)

· 外刊摘英 ·

Functional effects of fampridine for multiple sclerosis

BACKGROUND AND OBJECTIVE The potassium channel blocker 4-aminopyridine (Fampridine) has been found to improve nerve conduction in demyelinating neurons, and has been approved by the European Medicines Agency for the treatment of patients with Multiple Sclerosis (MS) with walking disability. This study investigated the benefits of Fampridine SR on parameters of gait, fatigue and quality-of-life among patients with MS.

METHODS This prospective, open label, cohort study enrolled 120 adults with MS. All were assessed for walking with the Timed 25 Foot Walk Test (T25FW), the Two-Minute Walk Test (2MWT) and the Self Perceived Multiple Sclerosis Walking Scale (MSWS-12) at baseline and at 14 days. Those in the treatment group received Fampridine SR, 10 mg twice per day, for 14 days, continuing for three months only among responders (at least 50% improvement by day 14 on one of these tests). Additional assessments included the Nine Hole Peg Test, a self-assessed fatigue visual analogue scale (F-VAS), the Fatigue Severity Scale (FSS), the GAITRite Walkway System for gait parameters and the 12-Item Short Form Health Survey (SF-12). Outcomes were compared between responders and non-responders at day 14.

RESULTS Of the initial cohort, 112 completed drug treatment and measures at day 14. Of those, 74% were responders, with significant improvements on the T25FW ($P < 0.004$), the 2MWT ($P < 0.004$) and the MSWS-12 ($P < 0.004$). Responders also demonstrated improvement on the secondary outcomes for hand function ($P < 0.001$), fatigue ($P < 0.001$) and quality-of-life ($P < 0.001$). Findings were sustained at three-month follow-up.

CONCLUSION This study of patients with multiple sclerosis found that treatment with Fampridine SR can improve several parameters of gait, as well as hand function and fatigue.

【摘自: Allart E, Benoit A, Blanchard-Dauphin A, et al. Sustained release fampridine in multiple sclerosis: effects on gait parameters, arm function, fatigue and quality-of-life. *J Neurol*, 2015, 262(8): 1936-1945.】