

DOI: 10.3969/j.issn.1006-9771.2013.12.009

· 基础研究 ·

早期康复训练对局灶性脑梗死大鼠脑水肿的影响

江晓峰¹, 胡雪艳^{2,3}, 张通^{2,3}

[摘要] **目的** 研究局灶性脑缺血大鼠脑水肿的变化规律及康复训练对脑水肿的影响。**方法** 120 只雄性 Sprague-Dawley 脑缺血模型大鼠随机分为正常对照组(n=24)、自然恢复组(n=24)、静息+自然喂养组(n=24)、静息+自然喂养+营养组(n=24)和康复组(n=24)。于第 1、3、5、7 天进行神经功能评分,应用干-湿重法测定脑组织含水量。**结果** 第 1、3、5 天,各组大鼠神经功能评分组内和组间比较均无显著性差异($P>0.05$)。第 7 天,除正常对照组外,康复组明显好于其他各组($P<0.01$)。第 5、7 天时,除正常对照组外,康复组大鼠脑水肿降低最快,自然恢复组居中,其他三组最慢。**结论** 康复训练可促进局灶性脑缺血大鼠神经功能恢复,减轻脑水肿。

[关键词] 脑梗死;脑水肿;康复;大鼠

Effect of Early Rehabilitation Training on Cerebral Edema in Middle Cerebral Artery Occlusion Rats JIANG Xiao-feng, HU Xue-yan, ZHANG Tong. Capital Medical University School of Public Health and Family Medicine, Beijing 100069, China

Abstract: **Objective** To study the regularity of cerebral edema in middle cerebral artery occlusion rats and the influence of rehabilitation training on edema. **Methods** 120 male Sprague-Dawley rats were randomly assigned to normal control group (n=24), no-intervention group (n=24), resting plus natural feeding group (n=24), resting plus natural feeding and special nutrition group (n=24), and training group (n=24). Bederson score was used to evaluate the neurological function, and the dry-wet weight way was used to measure brain water content on the 1st day, 3rd day, 5th day, and 7th day. **Results** There was no significant difference in the other 4 groups except the normal group on the 1st day, 3rd day, and 5th day ($P>0.05$). However, neurological function in the training group was better than that in the other 3 groups except the normal control group on the 7th day ($P<0.01$). Except the normal control group, the brain water content decreased most rapidly in the training group and slowest in the resting groups after the 3rd day. **Conclusion** Rehabilitation training could accelerate the recovery of neurological function and release cerebral edema in rats with focal cerebral ischemia.

Key words: cerebral infarction; cerebral edema; rehabilitation; rats

[中图分类号] R743.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1006-9771(2013)12-1128-04

[本文著录格式] 江晓峰, 胡雪艳, 张通. 早期康复训练对局灶性脑梗死大鼠脑水肿的影响[J]. 中国康复理论与实践, 2013, 19 (12): 1128-1131.

脑卒中是严重威胁人类生命健康和生活质量的疾病之一。在我国其发病率、患病率、死亡率、致残率和复发率均较高,其中 86.5% 的存活患者遗有不同程度的运动和认知功能障碍、心理或情感障碍。这些问题给家庭和社会带来沉重负担。早期进行康复训练,有利于防止肢体挛缩,减少非瘫痪侧的肌萎缩,有效预防并发症的发生,从而提高患者的生活质量。康复介入的时间越早,康复训练效果越好,即早期康复措施介入优于晚期康复^[1]。

但是有研究报道,早期康复训练不仅不能促进功能的恢复,还会加重脑损伤^[2-4],导致脑水肿加重,颅

内压增高。脑水肿是脑卒中致死和致残的主要原因。关于早期康复训练与脑水肿的关系,即康复训练是否会加重脑水肿,目前尚无定论。本实验旨在探讨其机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物与分组 120 只雄性 Sprague-Dawley 大鼠,鼠龄 90 d,体重 260~300 g,由首都医科大学实验动物中心提供。笼内饲养,给予充足食物和饮水,每天 12 h 光照,控制室温和湿度。

按照随机数字表,根据干预措施的不同将大鼠分

基金项目:国家“十二五”科技支撑计划项目(No. 2011BAI08B11)。

作者单位:1.首都医科大学公共卫生学院康复医学教研室,北京市 100069;2.中国康复研究中心北京博爱医院神经康复科,北京市 100068;3.首都医科大学康复医学院,北京市 100068。作者简介:江晓峰(1974-),男,吉林四平市人,博士,讲师,主要研究方向:神经康复。通讯作者:张通(1961-),男,博士,教授,主任医师,博士生导师,主要研究方向:神经康复。

为: ①正常对照组(n=24), 正常大鼠, 未行手术; ②自然恢复组(n=24), 造模后置于普通笼内饲养, 可自由活动, 自然恢复; ③静息+自然喂养组(n=24), 于造模后被置于静息装置中; ④静息+自然喂养+营养组(n=24), 在自然喂养基础上给予添加奶粉喂养; ⑤康复组(n=24), 给予跑台训练。

每组大鼠中分别取 6 只, 在行为学评分后, 于第 1、3、5、7 天断头处死, 取脑。

1.1.2 模型制备 大鼠大脑中动脉缺血模型(middle cerebral artery occlusion, MCAO)制备参照 Longa 方法, 采用线栓法阻塞大鼠右侧大脑中动脉造成缺血。手术前 12 h 前禁食, 不禁水。参照 Longa 线栓方法, 改进方法造模。线栓使用 3-0 单股尼龙线(北京沙东生物技术有限公司, 型号: 2634), 大鼠 6%水合氯醛 35 mg/kg 腹腔注射麻醉, 麻醉后, 仰卧位固定, 碘伏消毒局部, 取颈部正中切口, 逐层分离皮层、肌层、气管, 以暴露左侧颈总动脉(common carotid artery, CCA)、颈内动脉(internal carotid artery, ICA)、颈外动脉(external carotid artery, ECA), 向离心端游离出 ICA、ECA, 在颈总动脉分叉处近心端 1 cm 处结扎颈总动脉, 然后用手术缝合线绕过 ICA 和 ECA 后分别向垂直于血管的方向牵拉, 使用血管钳固定手术线, 阻止 ICA 和 ECA 的血流, 在 CCA 结扎以及分叉处之间使用缝合线打一个活结, 之后用静脉输液套管针于活结近心端刺入颈总动脉, 将针尾轻轻上抬, 将线栓从套管针的下方插入颈总动脉, 抽出套管针, 将上方的活结轻拉使血管壁和线栓紧密接触, 防止血液自针孔处流出, 继续插入线栓至颈内动脉, 松开牵拉颈内动脉的缝合线, 将线栓向前轻轻推进, 当线栓插入(18±0.5) mm 深度(自颈总动脉分叉处计算)时即停止插入, 此时线栓已经越过大脑中动脉(middle cerebral artery, MCA)的起始部, 到大脑前动脉(anterior cerebral artery, ACA)的近端, 阻断 MCA 起始部, 将下方的活结系紧, 并结扎 ICA, 剪掉多余线栓, 缝合皮肤。最后缝合切口, 并用碘伏消毒缝合处。造成左侧 MCA 供血区局灶缺血, 术中使用加热灯和 JR-1/2 保温毯(成都泰盟科技有限公司)保持动物体温维持在 36.5~37.5 °C。

根据 Bederson 神经功能评分方法^[9], 1、2、3 分纳入试验组, 0 分排除。

1.2 主要干预措施

1.2.1 静息 采用自制大鼠静息箱, 长方形, 长 23 cm, 宽 7 cm, 高 6.5 cm, 材料为纯聚甲基丙烯酸甲酯

(PMMA), 其透光度好, 可以在箱外观察大鼠的活动, 可以推拉的 L 型板(长 16 cm, 高 6 cm, 宽 6 cm, 厚 0.5 cm), 内壁光滑, 不会伤害大鼠, 前后有进食孔, 四周有小孔, 可以透气, 下壁有空隙, 易于清理粪便。大鼠可以自由取食和饮水, 手术前 3 d, 将大鼠放到静息箱内, 让所有大鼠能够适应性箱内环境。静息与制动不同, 制动是固定大鼠的四肢及躯干, 让大鼠处于完全不能活动的状态, 而静息是让大鼠活动减少, 并不是完全不能活动。无论静息或完全制动, 正常大鼠都会有挣扎的现象, 本研究让大鼠造模前选择性适应, 将不能适应的大鼠排除。预试验发现, 有个别正常大鼠, 有挣扎现象。但造模后的大鼠, 因为有局灶性脑缺血, 术后都比较安静, 能够适应。

1.2.2 跑台训练 跑台采用 SLY-RTML 六跑道电动跑台(北京硕林苑科技有限公司)。将大鼠置于不断向后传输的履带上, 为避免履带尾部的电栅栏电击, 大鼠将不断地在电动履带上主动向前奔跑。各组大鼠在手术前均经过适应性跑步训练 3 d, 每天 5 min。跑台参数设置如下: ①平板斜度, 0°; ②履带传输速度, 跑台速度 8 m/min。不能适应跑台的大鼠排除。

MCAO 术后 24 h 康复组大鼠予以跑台训练, 每天 30 min, 跑台速度: 第 1 天 8 m/min, 第 2 天 10 m/min, 第 3 天~第 7 天 15 m/min。平板斜度: 0°, 持续 7 d。预试验发现, 各组大鼠均可适应跑台训练。该训练相对于人类来说, 是轻度至中度的训练强度。

1.3 脑组织含水量的测定

采用干-湿重法, 每组大鼠中分别取 6 只, 在行为学评分后, 于第 1、3、5、7 天断头处死, 迅速取出完整脑组织, 分别取两侧大脑半球脑组织(左侧大脑半球为 L, 右侧大脑半球为 R)标本, 先用电子天平称取湿重, 置(100±5) °C 烤箱中 24 h 烘烤至恒重(即两次测量重量相同)时称取脑干重。脑组织的含水量按下列公式计算^[6]:

$$\text{脑组织含水量} = \frac{\text{湿重} - \text{干重}}{\text{湿重}} \times 100\%$$

1.4 统计学分析

各组数据均以 ($\bar{x} \pm s$) 表示。采用 SPSS 10.0 统计软件进行分析。4 组大鼠各个时间点评分应用方差分析, 脑水肿经平方根反正弦转换后, 再进行析因设计的方差分析。显著性水平 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 神经功能评分

第 1、3、5 天各组大鼠组内和组间神经功能评分

无显著性差异($P>0.05$)。各组大鼠第 7 天神经功能评分均好于其第 1 天评分($P<0.05$)。见表 1。

第 7 天, 康复组明显好于自然恢复组、静息+自然喂养组和静息+自然喂养+营养组($P<0.01$)。见表 1。

表 1 各组第 1、3、5、7 天神经功能评分

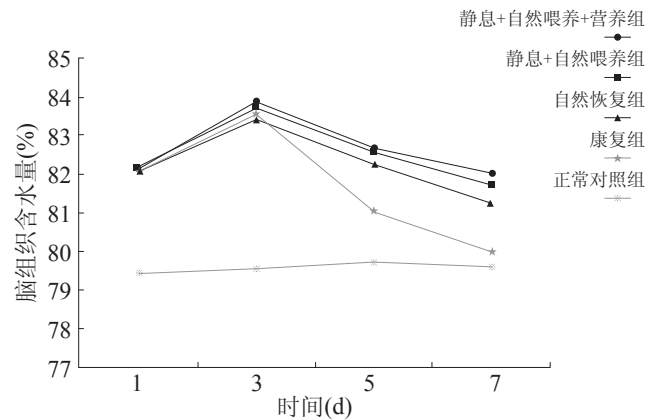
组别	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天
正常对照组	0	0	0	0
自然恢复组	2.91±0.49	2.43±0.57	2.23±0.47	2.04±0.56 ^a
静息+自然喂养组	2.90±0.32	2.30±0.48	2.26±0.50	2.10±0.63 ^a
静息+自然喂养+营养组	2.85±0.42	2.40±0.52	2.22±0.55	2.08±0.48 ^a
康复组	2.90±0.41	2.23±0.50	2.16±0.47	1.87±0.51 ^{a,b}

注: a: 组内比较, $P<0.05$ 。b: 与自然恢复组、静息+自然喂养组和静息+自然喂养+营养组比较, $P<0.01$

2.2 脑水肿

术后第 1 天各组大鼠脑水肿增高, 第 3 天达高峰, 第 5、7 天逐渐降低。

第 5、7 天, 静息+自然喂养组和静息+自然喂养+营养组脑水肿降低幅度最缓慢, 康复组降低幅度最快, 自然恢复组降低幅度居中。见图 1。



注: group 1: 静息+自然喂养+营养组; group 2: 静息+自然喂养组; group 3: 自然恢复组; group 4: 康复组; group 5: 正常对照组

图 1 脑水肿变化图

3 讨论

急性脑梗死时, 脑水肿是一种威胁生命的并发症。脑梗死后缺血脑细胞的能量物质供应中断, 细胞膜离子泵衰竭, 导致脑水肿。早期以细胞毒性为主, 晚期以血管源性为主。缺血 24~72 h 时细胞毒性和血管源性水肿达到高峰。如不及时治疗, 血脑屏障开放, 则会加重水肿。

缺血性脑水肿的病理生理机制尚未完全清楚。一般认为, 其发病机理可能有以下几个原因: ①病灶区

细胞坏死导致胶质细胞及细胞间隙多种离子浓度改变、渗透压升高和 pH 值降低; ②兴奋性氨基酸浓度升高, 最终经胶质细胞蛋白激酶途径诱导 IV 型水通道蛋白(aquaporin-4, AQP4)mRNA 表达升高。缺血后 AQP4 的升高, 必将导致星形细胞水肿, 清理细胞间隙各种离子的能力降低, 不利于神经元的生存以及导致血脑屏障的破坏, 从而加重脑水肿^[7-9]。

大部分研究结果证明, 康复训练有利于改善脑水肿, 促进脑梗死体积的缩小, 改善对侧大脑和梗死区周围的血液供应。康复运动可使大鼠脑梗死灶周围区神经细胞数目明显增多, 侧支循环得到改善, 脑组织水肿减轻, 有助于早期梗死体积减小, 并促进梗死灶周围及正常脑组织结构的重塑和功能水平的改变^[10-12]。

本研究中, 因静息+自然喂养组大鼠较其他组死亡率较高(约为 70%), 故特意设立静息+自然喂养+营养组, 给大鼠增加奶粉喂养, 以观察大鼠的生存率。结果发现此组大鼠生存率并没有明显提高, 表明脑梗死后静息对大鼠有一定程度损害。

动物实验已经证实康复训练能促进脑卒中的康复^[13]。早期康复训练能促进局灶性脑缺血动物神经功能恢复。但有学者发现, 早期康复训练不仅不能促进功能的恢复, 甚至加重脑损伤。缺血性脑水肿 12 h 后明显增高, 24~72 h 最明显, 7 d 基本恢复正常^[8]。本研究发现, 脑缺血大鼠术后第 1 天增高, 第 3 天达高峰, 第 5、7 天逐渐降低, 与该研究相符。但第 5、7 天, 静息+自然喂养组和静息+自然喂养+营养组脑水肿降低幅度最缓慢, 康复组降低幅度最快, 自然恢复组降低幅度居中。神经功能评分方面, 第 1、3、5 天各组大鼠组内和组间神经功能评分无显著性差异($P>0.05$)。各组大鼠第 7 天神经功能评分均好于其第 1 天评分($P<0.05$)。第 7 天, 康复组明显好于自然恢复组、静息+自然喂养组和静息+自然喂养+营养组($P<0.01$)。表明早期康复训练能够促进神经功能的恢复, 脑水肿没有加重。

脑缺血时, 缺血、缺氧导致自由基产生过多, 清除氧自由基的酶类活性降低, 不能清除过多的自由基, 动态平衡被破坏。脑组织富含脂质, 脑对自由基损害更加敏感^[9], 过多的自由基又可以直接损伤细胞并产生更多的自由基, 导致钙超载并激活兴奋性氨基酸大量释放, 加剧细胞损害。研究发现适当的运动可以提高机体抗氧化酶的活性, 减少白细胞释放过氧化物^[14-16]。康复组大鼠脑水肿降低幅度最快, 可能与适

当强度运动训练可以增强机体对抗自由基的能力有关。而适当强度的训练是否能够通过提高体内抗氧化酶系统的活性,减轻脑缺血后的脑水肿,还没有相关的研究报道。相反,限制脑缺血大鼠的运动,是否会减弱抗氧化酶系统的活性,也没有相关的报道。

关于脑卒中后大鼠的运动训练,国内文献报道中多采用游泳、滚筒、网屏、平衡木训练等方法。而本研究采用国际上通用的跑台训练作为缺血性脑卒中大鼠的康复训练手段,循序渐进地增加运动量,不仅可以克服其他训练手段在运动量控制上的不足,且能在运动速度、运动距离上得到更加客观的指标,使研究结果更具可靠性。

总之,经过康复训练后,大鼠脑水肿明显改善。说明康复训练在脑梗死的恢复中起到很重要的作用,减轻脑缺血后的脑水肿。

[参考文献]

- [1] Reisi P, Babri S, Alaei H, et al. Treadmill running improves long-term potentiation (LTP) defects in streptozotocin-induced diabetes at dentate gyrus in rats [J]. *Pathophysiology*, 2010, 17(1): 33-38.
- [2] Yang YR, Wang RY, Wang PS. Early and late treadmill training after focal brain ischemia in rats [J]. *Neurosci Lett*, 2003, 339(2): 91-94.
- [3] Ding Q, Vaynman S, Souda P, et al. Exercise affects energy metabolism and neural plasticity-related proteins in the hippocampus as revealed by proteomic analysis [J]. *Eur J Neurosci*, 2006, 24(5): 1265-1276.
- [4] Griesbach GS, Hovda DA, Gomez-Pinilla F. Exercise-induced improvement in cognitive performance after traumatic brain injury in rats is dependent on BDNF activation [J]. *Brain Res*, 2009, 1288: 105-115.
- [5] Lee SU, Kim DY, Park SH, et al. Mild to moderate early exercise promotes recovery from cerebral ischemia in rats [J]. *Can J Neurol Sci*, 2009, 36(4): 443-449.
- [6] Gotoh O, Asano T, Koide T, et al. Ischemic brain edema following occlusion of the middle cerebral artery in the rat. I: The time courses of the brain water, sodium and potassium contents and blood-brain barrier permeability to ^{125}I -albumin. [J]. *Stroke*, 1985, 16(1): 101-109.
- [7] Paczynski RP, He YY, Diringer MN, et al. Multiple-dose mannitol reduces brain water content in a rat model of cortical infarction [J]. *Stroke*, 1997, 28(7): 1437-1443; discussion 1444.
- [8] Niselen S, Nagelhus EA, Amiry-Moghaddam M, et al. Specialized membrane domains for water transport in glial cells: high-resolution immunogold cytochemistry of aquaporin-4 in rat brain [J]. *J Neurosci*, 1997, 17(1): 171-180.
- [9] Liu KF, Li F, Tatlisumak T, Garcia JH, et al. Regional variations in the apparent diffusion coefficient and the intracellular distribution of water in rat brain during acute focal ischemia [J]. *Stroke*, 2001, 32(8): 1897-1905.
- [10] Ardelt AA, McCullough LD, Korach KS, et al. Estradiol regulates angiopoietin-1 mRNA expression through estrogen receptor- α in a rodent experimental stroke model [J]. *Stroke*, 2005, 36(2): 337-341.
- [11] Chen J, Zhang C, Jiang H, et al. Atorvastatin induction of VEGF and BDNF promotes brain plasticity after stroke in mice [J]. *Cereb Blood Flow Metab*, 2005, 25(2): 281-290.
- [12] Liu Q, Wong-Riley MT. Postnatal developmental expressions of neurotransmitters and receptors in various brain stem nuclei of rats [J]. *J Appl Physiol* (1985), 2005, 98(4): 1442-1457.
- [13] Briones TL, Suh E, Jozsa L, et al. Behaviorally-induced ultrastructural plasticity in the hippocampal region after cerebral ischemia [J]. *Brain Res*, 2004, 997(2): 137-146.
- [14] Niess AM, Dickhuth HH, Northoff H, et al. Free radicals and oxidative stress in exercise – immunological aspects [J]. *Exerc Immunol Rev*, 1999, 5: 22-56.
- [15] Sermet A, Tasdemir N, Deniz B, et al. Time-dependent changes in superoxide dismutase, catalase, xanthine dehydrogenase and oxidase activities in focal cerebral ischaemia [J]. *Cytobios*, 2000, 102(401): 157-172.
- [16] Marin R, Williams A, Hale S, et al. The effect of voluntary exercise exposure on histological and neurobehavioral outcomes after ischemic brain injury in the rat [J]. *Physiol Behav*, 2003, 80(2-3): 167-175.

(收稿日期:2012-09-14 修回日期:2013-11-05)