

· 基础研究 ·

8 Hz、90 dB/130 dB 次声作用对大鼠 海马 NMDAR1 表达的影响

刘朝晖 陈景藻 刘静 邱建勇 鲁睿 袁晓朝

【摘要】目的 探讨 8 Hz、90 dB/130 dB 不同声压级次声作用对海马细胞 N-甲基-D-天门冬氨酸受体 1 (NMDAR1) 表达的影响。**方法** 将雄性 SD 大鼠 88 只随机分为 11 组,即对照组,90 dB 次声作用 1,7,14,21,28 d 组,130 dB 次声作用 1,7,14,21,28 d 组,每组 8 只。应用免疫组织化学方法,分别观察 8 Hz、90 dB/130 dB 次声作用不同时间点大鼠海马 CA1、CA3 和 DG 区细胞内 NMDAR1 表达。**结果** 8 Hz、90 dB 次声作用对海马各区 NMDAR1 表达的影响呈现下降→回升→显著增高→回落→恢复的变化规律;在所观察各组中,14 d 组海马各区 NMDAR1 表达至峰值。8 Hz、130 dB 次声作用对海马各区 NMDAR1 表达的影响与 90 dB 次声作用效应相反,呈现升高→下降→显著下降→回升→恢复的变化规律;在所观察各组中,14 d 组海马各区 NMDAR1 表达降至最低点。**结论** 8 Hz、90 dB/130 dB 次声作用后,大鼠海马细胞 NMDAR1 均有较为敏感的反应和可逆性变化。海马不同区域对不同声压级次声作用的敏感性具有一定差异性。这些变化可能影响海马学习记忆功能。

【关键词】 次声; N-甲基-D-天门冬氨酸受体 1; 学习记忆; 钙离子; 海马; 大鼠

Effects of 8 Hz, 90 dB/130 dB infrasound on expression of NMDAR1 in hippocampus of rat LIU Zhao-hui*, CHEN Jing-zao, LIU Jing, QIU Jian-yong, LU Rui, YUAN Xiao-chao. * Department of Physiotherapy and Rehabilitation, Tangdu Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710038, China

【Abstract】 Objective To study the effect of infrasound on the changes of expression of NMDAR1 in hippocampal cells. **Methods** Eighty-eight male Sprague-Dawley rats were randomized into eleven groups: control group, 90 dB/1 d, 7 d, 14 d, 21 d and 28 d infrasound exposed groups; 130 dB/1 d, 7 d, 14 d, 21 d and 28 d infrasound exposed groups. All the animals in the test groups were put in an infrasound field with 8 Hz, 90 dB or 130 dB for 2 hours daily. Immunohistochemistry methods were used to detect the changes of intracellular expression of NMDAR1 in hippocampal cells. **Methods** The expression of NMDAR1 in hippocampus after the rats were exposed to infrasound of 8 Hz, 90 dB SPL showed a procedure from reducing on the 1st day to rising on the 7th and peaked on the 14th day, then to descending on 21st day and returning to the standard level on the 28th day. Exposure to infrasound of 8 Hz, 130 dB SPL induced opposite effects on the expression of NMDAR1 compared with 90 dB SPL, which showed a process of increasing, descending, reaching to the lowest, then ascending and returning to the normal. The lowest expression of NMDAR1 occurred on the 14th day in every observed hippocampal area. **Conclusion** 8 Hz, 90 dB/130 dB infrasound induced certain reversible reaction in the expression of NMDAR1 of hippocampal cells in rats, which may disturb their learning and memory function.

【Key words】 Infrasound; NMDAR1; Learning and memory; Calcium ion; Hippocampus; Rat

一定频率和声压级水平的次声作用可对中枢神经系统的结构和功能产生影响^[1-11],对其作用机制的研究已涉及不同层面^[4,12]。N-甲基-D-天门冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartate receptors, NMDAR)被激活时可使受体上的离子通道迅速开启,主要是增加 Ca^{2+} 的通透性,导致 Ca^{2+} 内流。NMDA 受体与神经系统的学习记忆功能、突触发育的可塑性等密切相关^[13]。次声作用可使脑组织超微结构包括膜性结构损伤^[5,10,11],其

对海马神经元 NMDAR 表达的影响对进一步研究次声的作用机制及其卫生防护具有重要意义。

在同步实验^[14,15]中,我们发现 8 Hz、90 dB 和 130 dB 次声作用一定时间可以导致海马细胞内 Ca^{2+} 浓度改变。在本研究中,我们应用免疫组织化学方法,分别观察 8 Hz、90 dB 和 130 dB 次声作用不同时间点,大鼠海马细胞内 NMDAR1 表达及其在次声作用下的变化规律,并探讨其相关机制。

材料与方法

一、主要仪器与材料

基金项目:全军医学科学技术研究“十五”计划指令性课题(011071)

作者单位:710038 西安,第四军医大学唐都医院理疗科(刘朝晖、鲁睿、袁晓朝);第四军医大学西京医院理疗科(陈景藻、刘静、邱建勇)

次声压力舱及次声信号检测系统(本校研制);低温恒冷冰冻切片机(德国 LEICA 公司产)和 Leica LA 型全自动光学显微镜(均为德国 LEICA 公司产);兔抗 NMDAR1 多克隆抗体(购自武汉博士德公司)。

二、动物分组与处理

雄性成年 SD 大鼠 88 只(由本校实验动物中心提供),体重 190~210 g。随机分为对照组,8 Hz、90 dB 次声作用 1,7,14,21,28 d 组;8 Hz、130 dB 次声作用 1,7,14,21,28 d 组,每组 8 只。实验采用 8 Hz、90 dB 和 8 Hz、130 dB 次声作用,每日 2 h,对照组只在次声舱内每日停留 2 h 而无次声作用。

三、大鼠海马 NMDAR1 免疫组织化学染色

取各时相点大鼠,经 1% 戊巴比妥钠(20 mg/kg 体重)麻醉,用 4℃ 预冷的 4% 多聚甲醛行心内灌注 30~40 min,剥离出脑组织后置于 4% 多聚甲醛(4℃)再固定 6 h,转入经 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)配制的 20% 蔗糖中脱水并保存待测。经海马齿状回互包平面做冠状切面的冰冻切片(厚度为 35 μm),采用免疫组织化学卵白素生物素复合物(avidin-biotin complex, ABC)染色方法,其中 NMDAR1 多克隆抗体工作液为 1:200,生物素化羊抗兔 IgG 工作液为 1:500(Sigma 公司),ABC 复合物工作液 1:500(Sigma 公司),显色采用二氨基联苯胺(Sigma 公司)-葡萄糖氧化酶-硫酸镍胺蓝色呈色反应 15 min。常规裱片、阴干、脱水、透明、封片。阴性对照除用 0.01 mol/L PBS 代替一抗以外,其余步骤均同实验组。

四、结果判定

利用 Leica LA 型全自动光学显微镜,放大 400 倍,1392×1040 像素扫描(图像分析软件系美国 Simple PCIv5.2 版本)并存档,每个标本随机取 4 张切片,每张切片随机取 2 个视野,对 RyRs 表达阳性的细胞计数,取均值。对 NMDAR1 表达阳性的细胞做灰度分析,方法为每个标本随机取 4 张切片,每张切片在海马细胞层随机取 3 处面积相同的 NMDAR1 表达阳性的区域测灰度值,取均值;再以分子层做被底随机取 3 处相同面积的区域测灰度值,取均值;然后用被底灰度值减去 NMDAR1 阳性表达区域的灰度值得到阳性表达细胞的相对灰度值,每个标本 4 张切片测得的相对灰度值再取均值。相对灰度值越大则表明 NMDAR1 阳性表达越强。

五、统计学分析

各组数据用($\bar{x} \pm s$)表示。采用 SPSS 统计软件的 Multivariate 中 Least-significant difference (LSD) 完成组间差异性比较。

结 果

一、8 Hz、90 dB 次声作用对海马 NMDAR1 表达的影响

与对照组相比,1 d 和 7 d 组海马 CA1 区锥体细胞 NMDAR1 表达变化不大($P > 0.05$);14 d 组 NMDAR1 阳性表达显著增加($P < 0.05$);21 d 组 NMDAR1 阳性表达较对照组显著降低($P < 0.05$);28 d 组 NMDAR1 阳性表达则恢复至正常范围。1,7 d 组海马 CA3 区锥体细胞 NMDAR1 表达与对照组相比显著降低($P < 0.01$);14 d 组 NMDAR1 阳性表达较对照组显著增加($P < 0.01$);21 d 组 NMDAR1 表达较对照组降低($P < 0.01$),28 d 组 NMDAR1 表达恢复正常($P > 0.05$)。1 d 组齿状回颗粒细胞(DG)NMDAR1 表达与对照组相比表达降低($P < 0.01$);7 d 组 NMDAR1 表达与对照组相比差异无统计学意义($P > 0.05$);14 d 组 NMDAR1 阳性表达显著增加($P < 0.05$);21 d 组 NMDAR1 阳性表达较对照组显著降低($P < 0.01$);28 d 组 NMDAR1 阳性表达复升至正常范围。见表 1、图 1。

二、8 Hz、130 dB 次声作用对海马 NMDAR1 表达的影响

1 d 组海马 CA1 区锥体细胞 NMDAR1 表达较对照组显著增加($P < 0.01$),较 90 dB 次声作用相同时间点的 CA1 区锥体细胞 NMDAR1 表达亦明显增加($P < 0.01$);7 d 组 NMDAR1 表达较对照组明显降低($P < 0.01$),亦较 90 dB 次声作用相同时间点的 CA1 区锥体细胞 NMDAR1 表达明显降低($P < 0.01$);14 d 组 NMDAR1 表达继续降低至最低点;21 d 组 NMDAR1 阳性表达较 14 d 组有所回升($P < 0.01$),但较对照组仍然降低($P < 0.01$);28 d 组 NMDAR1 阳性表达恢复正常。1 d 组海马 CA3 区锥体细胞 NMDAR1 表达较对照组显著增加($P < 0.01$);7 d 组 NMDAR1 表达与对照组相比显著降低($P < 0.01$);14 d 组 NMDAR1 阳性表达降至最低点;21 d 组 NMDAR1 阳性表达回升($P < 0.01$),但较对照组仍然降低($P < 0.01$);28 d 组虽较 21 d 组 NMDAR1 阳性表达进一步回升,但仍未恢复正常($P < 0.01$)。1 d 组齿状回颗粒细胞 NMDAR1 表达与对照组相比差异无统计学意义($P > 0.05$);7 d 组和 14 d 组与对照组相比 NMDAR1 表达均显著降低($P < 0.01$),两者较 90 dB 次声作用相同时间点的 CA1 区锥体细胞 NMDAR1 表达亦均明显降低($P < 0.01$);21 d 组 NMDAR1 阳性表达有回升趋势,但较对照组仍显著降低($P < 0.01$);28 d 组 NMDAR1 阳性表达与对照组相比差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1、图 2。

表 1 8 Hz、90 dB 和 8 Hz、130 dB 次声作用对海马 NMDAR1 表达的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	8 Hz、90 dB			8 Hz、130 dB		
		CA1	CA3	DG	CA1	CA3	DG
对照组	8	48.89 ± 4.26	49.53 ± 5.25	51.26 ± 5.97	48.89 ± 4.26	49.53 ± 5.25	51.26 ± 5.97
1 d 组	8	39.94 ± 6.60	29.50 ± 5.98 ^a	25.51 ± 8.32 ^a	63.75 ± 11.89 ^{ac}	63.35 ± 5.43 ^{af}	55.30 ± 4.56 ^f
7 d 组	8	46.45 ± 9.12	29.32 ± 4.70 ^a	43.68 ± 4.23	23.69 ± 4.19 ^{ace}	26.28 ± 7.38 ^{ac}	12.20 ± 3.90 ^{ace}
14 d 组	8	75.76 ± 9.40 ^{bc}	75.44 ± 10.05 ^a	83.97 ± 12.75 ^{bc}	3.09 ± 2.78 ^{ace}	3.45 ± 2.50 ^{ace}	14.85 ± 5.07 ^{ac}
21 d 组	8	29.78 ± 8.46 ^{bc}	26.34 ± 3.51 ^a	17.30 ± 5.80 ^{ac}	23.73 ± 3.66 ^{ac}	18.37 ± 4.58 ^{ac}	20.46 ± 3.02 ^a
28 d 组	8	41.69 ± 8.04	46.12 ± 11.37	39.79 ± 14.30	50.08 ± 6.13 ^c	33.96 ± 13.46 ^{ace}	39.56 ± 10.29

注:表中数据为阳性表达灰度值;与对照组比较,^a $P < 0.01$,^b $P < 0.05$;与相邻的前一组比较,^c $P < 0.01$;与相同区域不同声压级水平相比较,^e $P < 0.01$,^f $P < 0.05$

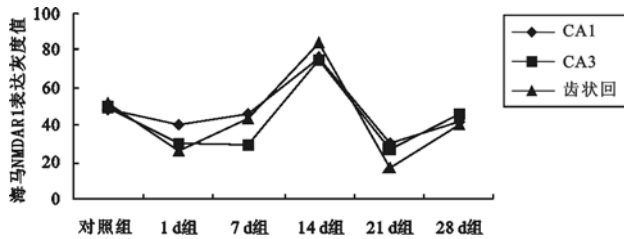


图 1 8 Hz、90 dB 次声作用不同时间对海马各区域 NMDAR1 表达的影响

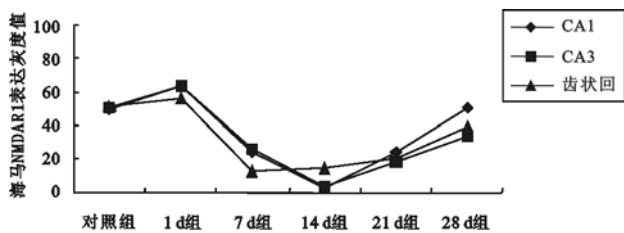


图 2 8 Hz、130 dB 次声作用不同时间对海马各区域 NMDAR1 表达的影响

讨 论

细胞内 Ca^{2+} 浓度的动态变化在维持神经系统功能方面具有重要作用,如保持神经元的兴奋性、促进神经递质释放以及调节突触可塑性、基因表达和参与神经元毒性作用等^[16-18]。神经细胞内 Ca^{2+} 浓度增加既可以通过细胞膜上的电压门控钙通道和受体敏感性钙通道^[19],如 NMDAR 使 Ca^{2+} 内流,也可以通过 ER 膜上的内质网钙通道蛋白(ryanodine receptors, RyRs)和三磷酸肌醇受体促使细胞内贮备的 Ca^{2+} 释放^[16,19]。从大鼠脑内克隆的 NMDA 受体,是由一个 NMDA1 亚基和 4 个 NMDA2 亚基组成的杂合寡聚蛋白,每个亚基肽链均有 $M_1 \sim M_4$ 4 个跨膜功能区段,5 个亚基在细胞膜上组合成一个对 Ca^{2+} 高度通透的阳离子通道^[18]。5 个亚基中 NMDA1 亚基对受体实现其功能具有关键作用。

8 Hz、90 dB 次声作用对海马各区 NMDAR1 表达的影响呈现下降→回升→显著增高→回落→恢复的变化规律,14 d 组海马各区 NMDAR1 表达达峰值;各区域各时间点 NMDAR1 阳性表达的变化与同步实验^[14]

中 90 dB 次声作用后各时间点海马细胞内钙离子浓度变化呈显著正相关。在 90 dB 次声作用下,各组大鼠海马 CA1 区、CA3 区和 DG 的 NMDAR1 阳性表达呈现相似的规律性,即 1 d 组各区 NMDAR1 阳性表达均降低;7 d 组 CA1 区和 DG 的 NMDAR1 阳性表达回升,但 CA3 区 NMDAR1 仍处低表达水平;14 d 组 CA1 区、CA3 区和 DG 的 NMDAR1 阳性表达均显著增加;21 d 组各区 NMDAR1 阳性表达再次较对照组显著降低;28 d 组各区 NMDAR1 阳性表达均恢复正常。显然,8 Hz、90 dB 次声作用对海马 NMDAR1 表达先有一个抑制过程,表明海马 NMDAR1 对 8 Hz、90 dB 次声作用反应敏感。14 d 组各区 NMDAR1 阳性表达均显著增加。NMDA 受体介导兴奋性氨基酸谷氨酸(Glu)和天门冬氨酸(Asp)引起的突触后效应。NMDA 受体被激活时可使受体上的离子通道打开,主要是增加 Ca^{2+} 的通透性,导致 Ca^{2+} 内流,同时增加正价离子 Na^+ 和 K^+ 的通透,导致 Na^+ 内流, K^+ 外流,使突触后膜产生一个快速的 EPSP。任何导致 Glu 或 Asp 受体超常刺激的机制(过量突触释放、摄取缺失、受体超敏感化等)都可引起中枢神经元的兴奋性毒性变化。此时,超常量谷氨酸作用于胞膜上的 NMDA 受体,使胞膜对 Ca^{2+} 、 Na^+ 的通透性增加, Ca^{2+} 大量内流,细胞内 Na^+ 增高,通过 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换系统也可以使胞内 Ca^{2+} 进一步增高,从而造成细胞内 Ca^{2+} 超载。同步实验中的 8 Hz、90 dB 次声作用 14 d 组海马细胞内 Ca^{2+} 超载,表明了 8 Hz、90 dB 次声作用相同时间点 NMDAR1 高表达所造成的后果。NMDA 受体过度激活导致细胞内 Ca^{2+} 浓度的上升也触发一系列生化过程,包括激活受 Ca^{2+} 调控的蛋白分解酶、磷脂酶、核酸内切酶等,这些酶的活化将破坏细胞骨架和膜脂质,导致花生四烯酸代谢产物及自由基的形成,线粒体功能障碍,严重者导致能量耗竭和细胞死亡,其中 Ca^{2+} 在谷氨酸神经兴奋毒性损伤机制中起关键作用^[20]。此外, NMDA 受体激活能通过 Ca^{2+} 增高而激活氮氧合酶,生成 NO。过度产生的 NO 对神经元有直接杀伤作用^[21]。

8 Hz、130 dB 次声作用对海马各区 NMDAR1 表达的影响与 90 dB 次声作用效应正相反,呈现升高→下降

→显著下降→回升→恢复的变化规律,14 d 组海马各区 NMDAR1 表达降至最低点;各区域各时间点 NMDAR1 阳性表达的变化与同步实验^[15]中 130 dB 次声作用后各时间点海马细胞内钙离子浓度变化呈显著负相关。在 130 dB 次声作用下,各组大鼠海马 CA1 区、CA3 区 NMDAR1 阳性表达呈现相似的规律性,即 1 d 组均出现 NMDAR1 阳性表达明显升高;7 d 组 NMDAR1 阳性表达均显著降低;14 d 组 NMDAR1 阳性表达降至同区域各组最低点;21 d 组 NMDAR1 阳性表达有所回升;28 d 组 CA1 区 NMDAR1 阳性表达恢复正常,但 CA3 区 NMDAR1 表达未恢复正常。DG 区域 1 d 组 NMDAR1 表达虽略有升高但与对照组无显著性差异;7 d 组 NMDAR1 阳性表达降至本区域各组最低点;14 d 组 NMDAR1 阳性表达仍处于较低水平;21 d 组 NMDAR1 阳性表达有所回升;28 d 组 CA1 区 NMDAR1 阳性表达恢复到正常范围。显然,8 Hz、130 dB 次声作用对海马各区 NMDAR1 表达首先产生了一个刺激作用,说明 130 dB 次声作用在较短时间内对海马组织即可发挥效力,导致海马细胞内 Ca^{2+} 浓度升高,进而引发一系列生物学效应。付国友等^[7]报道,8 Hz、120 dB 次声作用 2 h 后检测到大鼠海马区 Glu 含量显著增加;李志刚等^[9]报道,8 Hz、130 dB 次声作用 2 h/d,1 d 组和 7 d 组海马 CA1 区代谢型谷氨酸受体 mGluR1 α 高表达,14 d 组 mGluR1 α 表达恢复。说明 8 Hz、120 ~ 130 dB 次声作用 1 次(2 h)即可致海马 Glu 及其受体的明显改变,8 Hz、130 dB 次声作用 1 d 组 Ca^{2+} 浓度增高效应既有离子型谷氨酸受体(iGluR)又有代谢型谷氨酸受体(mGluR)参与,但 8 Hz、130 dB 次声作用 7 d 组 NMDAR1 阳性表达受到抑制而 mGluR1 高表达,此时 Ca^{2+} 浓度增高效应以 mGluR1 介导为主。8 Hz、130 dB 次声作用 14 d 组 NMDAR1 和 mGluR1 阳性表达均受到抑制,但此时海马细胞内呈现 Ca^{2+} 超载征象,伴有细胞超微结构明显损伤,如线粒体肿胀、核固缩等^[3,9]。说明 8 Hz、130 dB 次声作用 14 d 组次声能量直接导致了细胞膜性结构损伤,各类钙通道开放,致使胞外 Ca^{2+} 内流以及线粒体和内质网中 Ca^{2+} 释放,造成细胞内 Ca^{2+} 超载,线粒体能量代谢障碍,蛋白合成受阻,NMDAR1 阳性表达受到抑制;随着海马组织细胞损伤后修复机制的启动和功能调整,NMDAR1 阳性表达又逐渐恢复。

脑海马在学习记忆功能中担当重要角色。神经电生理研究证实,长时程增强(long-term potentiation, LTP)是学习和记忆重要的神经基础之一。LTP 的诱导主要依赖于 NMDAR 的作用。海马内存在一个三突触回路,即内嗅区通过前穿质纤维与齿状回颗粒细胞构成突触联系,颗粒细胞发出苔状纤维与 CA3 锥体细胞

形成突触联系,再由 CA3 锥体细胞发出 Schaffer 侧枝与 CA1 锥体细胞产生突触联系。继而,CA1 锥体细胞发出纤维出海马至下托,由下托发出纤维返回内嗅皮质完成此回路。在离体海马薄片上研究,三突触回路中所有突触均可出现 LTP,但不同部位产生的 LTP 至少有两种不同的机制。在 CA3 区的苔状纤维进入锥体神经元的突触,LTP 只能由突触前末梢处的高频刺激引起。所需刺激强度不受突触后膜去极化的影响。此型 LTP 称为同突触型或非联合型,因它与邻近其它突触发生的事件无关。第 2 型 LTP 发生于三突触回路的第 1、第 3 突触。在这两个突触上,LTP 可因突触后膜电流改变或邻近兴奋性突触受刺激至去极化再受到突触前强高频刺激以及弱刺激而诱发。此型 LTP 称异突触型或联合型 LTP,因刺激一组突触,增加了同一种神经元其它突触的强化几率。由 NMDAR 激活而引起的突触后 Ca^{2+} 浓度增加为诱发联合型 LTP 所必需^[22]。然而 8 Hz、130 dB 次声作用造成持续的胞内 Ca^{2+} 浓度异常增加,明显抑制了 NMDAR1 表达,从而可能影响海马的学习记忆功能。王斌等^[4]报道 8 Hz、90 dB、100 dB、110 dB 或 120 dB 次声作用后 14 d 组小鼠学习记忆功能均显著下降。可见,8 Hz、130 dB 次声作用引起海马细胞内 Ca^{2+} 浓度异常增高或超载所造成的 NMDAR1 表达显著减少,可能在较高声压级次声所致的人和动物学习记忆功能障碍中起重要作用。

因此,应用 Ca^{2+} 拮抗剂、受体拮抗剂或蛋白保护剂可能有助于对 8 Hz、90 dB 和 130 dB 次声作用引起的脑功能损害进行防护。已证实,mGluR 拮抗剂 MCPG 能有效减少 8 Hz、130 dB 次声作用 7 d 组和 14 d 组受损伤神经元的数量^[9];NMDA 拮抗剂阻断缺血引起的海马细胞丧失^[23]。

参 考 文 献

- [1] 陈景藻. 次声的存在及其基本生物效应和研究意义. 中华物理医学与康复杂志, 1999, 21: 131-133.
- [2] 李志刚. 次声对中枢神经系统的作用效应. 国外医学物理医学与康复学分册, 2000, 20: 102-105.
- [3] 谭永霞, 李玲, 陈景藻, 等. 次声对大鼠海马超微结构的影响. 中国康复理论与实践, 2003, 9: 645-647.
- [4] 王斌, 陈景藻, 易南. 不同声强 8 Hz 次声对小鼠学习能力的影响. 第四军医大学学报, 1997, 18: 442-445.
- [5] 魏志钧, 李玲, 陈景藻, 等. 次声作用对大鼠记忆功能及隔内侧核和斜角带核胆碱能神经元表达的影响. 中华物理医学与康复杂志, 2001, 23: 79-83.
- [6] 魏智钧, 李玲, 陈景藻, 等. 130 dB 次声对大鼠纹状体 NOS 阳性神经元及 ChAT 免疫阳性神经元表达的影响. 第四军医大学学报, 2003, 24: 289-292.
- [7] 付国友, 陈景藻, 贾克勇. 大鼠次声刺激后脑组织谷氨酸的变化. 第四军医大学学报, 1999, 20: 583-586.
- [8] 刘恩渝, 费舟, 章翔, 等. 次声作用下大鼠脑皮质 I、II 组代谢性

- 谷氨酸受体 mRNA 表达及意义. 中华物理医学与康复杂志, 2001, 23: 284-287.
- [9] 李志刚, 费舟, 章翔, 等. 次声作用后鼠脑 CA1 区 mGluR1a 表达及其拮抗剂 MCPG 的作用研究. 解放军医学杂志, 2001, 26: 104-106.
- [10] 费舟, 章翔, 王晓峰, 等. 次声作用后大鼠血脑屏障的改变及意义. 第四军医大学学报, 1999, 20: 678-680.
- [11] 叶琳, 龚书明, 黄晓峰, 等. 次声作用对鼠大脑皮层超微结构的影响. 第四军医大学学报, 2002, 23: 847-849.
- [12] Svidoyi VI, Kuklina OI. State of the hemolymph circulatory bed of the conjunctiva as affected by infrasound. Gig Tr Prof Zabol, 1985; 51-52.
- [13] 吕国蔚, 主编. 医学神经生物学. 北京: 高等教育出版社, 2000: 87-88, 112, 184-202.
- [14] 刘朝晖, 陈景藻, 谭永霞, 等. 8 Hz 90 dB 次声对大鼠海马细胞内钙离子及内质网钙通道蛋白 RyRs 表达的影响. 第四军医大学学报, 2005, 26: 185-188.
- [15] 刘朝晖, 陈景藻, 王志鹏, 等. 8 Hz 130 dB 次声对大鼠海马细胞内钙离子浓度的影响. 第四军医大学学报, 2004, 25: 304-306.
- [16] Bouchard R, Patterini R, Geiger JD. Presence and functional significance of presynaptic ryanodine receptors. Prog Neurobiol, 2003, 69: 391-418.
- [17] Nakanishi S. Molecular diversity of glutamate receptors and implications for brain function. Science, 1992, 258: 597-603.
- [18] Shaw PJ. Excitatory amino acid receptors, excitotoxicity, and the human nervous system. Curr Opin Neurol Neurosurg, 1993, 6: 414-422.
- [19] Miller RJ. Calcium signaling in neurons. Trends Neurosci, 1988, 11: 415-419.
- [20] Kelliher M, Fastbom J, Cowburn RF, et al. Alterations in the ryanodine receptor calcium release channel correlate with Alzheimer's disease neurofibrillary and beta-amyloid pathologies. Neuroscience, 1999, 92: 499-513.
- [21] Dawson VL, Dawson TM, London ED, et al. Nitric oxide mediates glutamate neurotoxicity in primary cortical cultures. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88: 6368-6371.
- [22] 陈宜张, 主编. 分子神经生物学. 北京: 人民军医出版社, 1995: 48, 205-210, 354-357.
- [23] Benveniste H, Jorgensen MB, Diemer NH, et al. Calcium accumulation by glutamate receptor activation is involved in hippocampal cell damage after ischemia. Acta Neurol Scand, 1988, 78: 529-536.

(修回日期: 2007-08-20)

(本文编辑: 松 明)

· 短篇论著 ·

关节腔灌洗结合悬吊运动训练治疗膝关节骨性关节炎的临床研究

王俊华 徐远红 李海峰 王刚 谢谨 马春明

膝关节骨性关节炎是临床常见病, 多发病。在膝关节骨性关节炎的非手术治疗方法中, 关节腔直接给药治疗是常用的治疗方法^[1], 可获得较好的消炎镇痛效果, 但对本病的复发及关节活动障碍多不能起到良好的控制作用。我科自 2006 年 7 月引进挪威悬吊运动训练 (Sling Exercise Therapy, SET) 系统以来, 采用关节腔灌洗结合 SET 治疗膝关节骨性关节炎, 临床疗效满意, 现报道如下。

一、资料与方法

(一) 一般资料

本研究共观察膝关节骨性关节炎患者 40 例。诊断标准^[2]: (1) 膝关节疼痛, 夜间痛甚, 晨起或坐立转换时疼痛、僵硬, 稍活动则痛减, 但活动过多时痛又加重, 疼痛多与天气变化有关; (2) 局部或全膝关节肿胀, 部分关节腔有积液; (3) 功能障碍, 膝关节屈伸、行走受限, 下蹲困难, 尤其上下楼梯时疼痛明显, 时感乏力; (4) 体征表现为髌骨周围、关节间隙压痛; (5) 影像学表现为关节面不整齐, 关节间隙变窄, 髌间隆起变尖, 胫骨或股骨内外缘呈唇样增生, 髌骨上下缘骨质增生等; (6) 类风湿因子, 抗“O”均正常。将 40 例患者分为观察组与对照组, 每组 20 例。观察组 20 例中, 男 8 例, 女 12 例; 年龄 43 ~ 69 岁; 病

程 15 d ~ 16 年; 单膝患病 12 例, 双膝患病 8 例。对照组 20 例中, 男 7 例, 女 13 例; 年龄 40 ~ 77 岁; 病程 25 d ~ 14 年; 单膝患病 13 例, 双膝患病 7 例。2 组患者治疗前在性别、年龄、病程、病情等方面经统计学处理差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

(二) 治疗方法

观察组采用关节腔灌洗结合 SET 治疗, 对照组只用关节腔灌洗治疗。

1. 关节腔灌洗^[3]: 患者取仰卧位, 膝关节屈 30°, 膝关节局部皮肤用 2% 碘伏消毒, 在髌骨的内外上缘和内外下缘予以 2% 利多卡因局部麻醉后行膝关节腔穿刺。穿刺成功后, 分别留置 16 号针头各 1 只, 内上缘处针尾通过输液器接高悬的生理盐水或林格液输液瓶; 外下缘处针尾以同一方法接引流瓶。冲洗时先夹住外下缘处针尾与引流瓶之间的连接管, 打开内上缘处针尾上方的输液器, 待水充盈关节腔、关节间隙扩张后, 再关闭输液器, 并打开外下缘处针尾与引流瓶之间的连接管, 快速放出液体, 如此反复进行, 直到流出的冲洗关节液清晰为止。共用冲洗生理盐水或林格液 1 500 ml, 每 500 ml 加庆大霉素注射液 16 万 U。灌洗结束后尽量吸出关节内残留液体, 可用吸引器或 50 ml 注射器接外下缘处针尾抽吸, 以减少术后滑膜水肿; 之后拔除外下缘处针头, 经内上针尾上方的输液器注入透明质酸钠 2 ml, 术毕膝关节周围用大纱布衬垫, 弹力绷带加压包扎, 防止滑膜继发肿胀或渗出。灌洗每周 1 次, 5 周为 1 个疗程。

作者单位: 442000 十堰, 湖北郧阳医学院附属太和医院康复中心

通讯作者: 徐远红, Email: xyz915@tom.com