

· 临床研究 ·

早期运动训练对急性缺血性脑卒中患者内皮祖细胞含量及临床疗效的影响

陈荣华 江信宏 刘楠 杜厚伟 林菲菲 张逸仙 刘勇

【摘要】目的 观察早期运动训练对急性脑卒中(AIS)患者内皮祖细胞(EPCs)含量及临床疗效的影响。**方法** 共选取 AIS 患者 120 例,按照随机数字表法将其分为运动组(60 例)和对照组(60 例)。所有患者均接受脑卒中常规治疗及基本康复训练,运动组在此基础上辅以早期运动训练。运动前及运动 14 d 后,抽取患者静脉血 5 ml(抗凝),采用流式细胞术(FCM)检测 EPCs 含量,另抽取 5 ml 静脉血(非抗凝),采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清血管内皮细胞生长因子(VEGF)含量,并采用美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)、Fugl-Meyer 运动功能评分(FMA)、改良 Barthel 指数(MBI)对患者的神经功能、运动功能及日常生活活动(ADL)能力进行评定。**结果** 2 组患者 EPCs 细胞数、VEGF 含量及 NIHSS 评分与组内运动前比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。运动 14 d 后,运动组患者 EPCs 细胞数由 $[(27.93 \pm 6.08) \text{ 个/ml}]$ 升高到 $[(457.49 \pm 73.02) \text{ 个/ml}]$ ($P < 0.05$),对照组患者 EPCs 细胞数由 $[(28.29 \pm 5.93) \text{ 个/ml}]$ 升高到 $[(81.87 \pm 9.92) \text{ 个/ml}]$ ($P < 0.05$)。运动 14 d 后,运动组 VEGF 的表达量 $[(968.19 \pm 67.40) \text{ ng/L}]$ 较对照组 $[(353.85 \pm 74.03) \text{ ng/L}]$ 明显升高($P < 0.05$)。2 组患者运动 14 d 后 NIHSS、FMA、MBI 评分间比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 早期运动训练能够促进 AIS 患者 EPCs 数量增加,显著改善患者的神经功能,其机制可能与 VEGF 水平上调有关。

【关键词】 急性缺血性卒中; 康复训练; 内皮祖细胞

Effects of early exercise training on circulating endothelial progenitor cells in patients with acute ischemic stroke CHEN Rong-hua*, JIANG Xin-hong, LIU Nan, DU Hou-wei, LIN Fei-fei, ZHANG Yi-xian, LIU Yong.

* Department of Rehabilitation, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, China

Corresponding author: LIU Nan, Email: xieheliunan1984@sina.com

【Abstract】Objective To observe the effects on and the possible mechanism of early exercise training underlying the mobilization of circulating endothelial progenitor cells in patients with acute ischemic stroke. **Methods** One hundred and twenty patients with acute ischemic stroke were randomized into two groups: an early exercise group (treated with exercise training, $n = 60$) and a control group (no exercise training, $n = 60$). Meanwhile, each group was divided into two different age groups (50-68 years group of 32 cases, > 68 years group of 28 cases in exercise group; 50-68 years group of 29 cases, > 68 years of 31 cases in control group). The amount of circulating endothelial progenitor cells in peripheral blood was accounted by flow cytometry (FCM), while the level of vascular endothelial cell growth factor (VEGF) in blood serum was examined by enzyme-linked immunoassay (ELISA). National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS), Fugl-Meyer Assessment (FMA) and modified Barthel index (MBI) were used to evaluate the patients at 1st day and 14th day after exercise. **Results** The amount of circulating progenitor cells after 14 days of exercise training in exercise group (from $27.93 \pm 6.08/\text{ml}$ to $457.49 \pm 73.02/\text{ml}$) is higher than in control group (from $28.29 \pm 5.93/\text{ml}$ to $81.87 \pm 9.92/\text{ml}$) ($P < 0.01$). Compared with the control group, the level of VEGF at 14th day of exercise group is significantly higher ($P < 0.01$). The score of NIHSS, FMA, MBI were not significantly different between exercise group and control group ($P < 0.01$). However, the score of NIHSS was decrease in both exercise group and control group after treatment. Furthermore, the amount of circulating progenitor cells was not significantly different between the age groups either in exercise group or control group ($P > 0.05$). **Conclusion** Early Exercise training may promote the mobilization of the circulating progenitor cells, which might be related to the increase of VEGF. The mobilization of the EPCs has no

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2013.11.009

基金项目:国家自然科学基金项目(81171867);福建省重点项目(2011Y0027);福建省教育厅科技项目(JB12116)

作者单位:350001 福州,福建医科大学附属协和医院神经内科(陈荣华、刘楠、杜厚伟、刘勇);福建医科大学附属协和医院康复医学科(江信宏、张逸仙);福建医科大学附属第三医院神经内科(林菲菲)

通信作者:刘楠,Email:xieheliunan1984@sina.com

effect on the early neurological function after acute ischemic stroke. Age is not associated with the amount of circulating endothelial progenitor cells.

【Key words】 Acute ischemic stroke; Exercise training; Endothelial progenitor cells

血管内皮功能异常所诱发的动脉粥样硬化和血栓形成是导致急性缺血性脑卒中 (acute ischemic stroke, AIS) 发生的关键环节。内皮祖细胞 (endothelial progenitor cells, EPCs) 在动脉粥样硬化、脑卒中后脑组织内皮修复及新生血管形成过程中起着重要作用。近期基础和临床研究证实^[1-2], 运动训练对于干细胞具有一定的动员作用。本研究在脑卒中常规治疗基础上, 采用早期运动训练对 AIS 患者进行干预, 观察其对患者 EPCs 含量及临床疗效的影响。

对象与方法

一、研究对象

选取 2011 年 4 月至 2012 年 4 月在福建医科大学附属协和医院神经内科住院治疗的 AIS 患者 120 例, 按照随机数字表法将其分为运动组和对照组, 每组 60 例。纳入标准: ①符合 1995 年全国第 4 届脑血管病学术会议通过的诊断标准^[3], 并经头颅 CT 或 MRI 证实; ②颈内动脉系统 (大脑中动脉) 脑梗死, 有明确的神经系统定位特征; ③美国国立卫生研究院脑卒中量表^[4] (the National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS) 评分在 8~20 分之间; ④初次发病, 急性发病 72 h 内入院; ⑤年龄 50~85 岁之间; ⑥能够对言语指令作出反应; ⑦收缩压在 120~220 mmHg; ⑧吸氧或不吸氧情况下, 血氧饱和度 >92%; ⑨心率在 40~100 次/min 之间; ⑩患者及患者家属均签署治疗知情同意书。排除标准: ①正在溶栓治疗的患者; ②脑出血、蛛网膜下腔出血、短暂性脑缺血发作 (transient ischemic attack, TIA)、可逆性缺血性神经功能缺损 (reversible ischemic neurologic deficit, RIND) 及后循环缺血的患者; ③病情恶化, 出现新的梗死或出血灶; ④3 个月内有颅脑手术史或外伤史患者; ⑤患有肝功能异常、血液系统疾病、肾功能不全、恶性肿瘤、发热性疾病、心衰、急性或慢性感染的患者; ⑥出现癫痫或意识障碍; ⑦不配合治疗的患者。2 组患者年龄、性别、基础疾病等一般资料比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 具有可比性, 详见表 1。

表 1 2 组患者一般资料比较

组别	例数	年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	性别 (例)		基础疾病 (例)				
			男	女	高血压	糖尿病	冠心病	高脂血症	颅外颈动脉狭窄
运动组	60	65.07 ± 10.64	32	28	52	28	16	20	20
对照组	60	66.33 ± 10.66	28	32	44	24	8	36	24

二、治疗方法

2 组患者均给予脑卒中常规治疗, 包括药物治疗及基本康复训练, 如良肢位摆放、定时翻身、物理因子治疗 (包括功能性电刺激、肌电生物反馈及低频电刺激等手段)、日常生活活动 (activities of daily living, ADL) 能力训练、心理治疗等。运动组在此基础上增加早期运动训练, 以 Bobath 疗法为主, 结合本体感觉神经肌肉促进疗法 (proprioceptive neuromuscular facilitation, PNF)、Rood 法等促通技术和运动再学习法, 对患者进行康复治疗, 包括: ①关节活动训练, 包括全身主要关节的抗阻训练, 主动、助动及被动训练, 上肢着重进行上举训练, 沿着患者瘫肢水平方向适当挤压关节, 即向前方和外上方轻推肩胛骨, 随后进行健侧上肢的抗阻训练, 以使患者发生耸肩动作, 最后迅速叩击患者的肱三头肌, 诱发其伸肘动作, 同时握持患者的手指使其腕关节进行背伸运动; 下肢训练主要采取桥式运动, 治疗时嘱患者仰躺、屈髋、屈膝, 做挺腹运动并维持 5~10 s; ②使用易化促进技术诱发分离运动、抑制痉挛及联带运动; ③卧-坐-站三级平衡训练; ④肩、髋、膝等关节控制训练。上述训练每日 1 次, 每次 45 min, 共治疗 14 d。

三、评定方法

1. EPCs 及血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 含量测定: 运动前及运动 14 d (运动后) 后, 抽取患者静脉血 5 ml, 置于抗凝管中, 使用 CD34⁺ KDR⁺ 单克隆抗体对血液中的单个核细胞进行标记后, 采用流式细胞术 (flow cytometer, FCM) 对其进行识别和读数, 以此检测 EPCs 的含量; 另抽取 5 ml 静脉血于非抗凝管中, 采用酶联免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 测定血清 VEGF 的含量, 其步骤严格按照 ELISA 试剂盒说明书进行。其中标记 CD34⁺ 和 KDR⁺ 的单克隆抗体均购于美国 Becton Dickinson 公司, 检测细胞因子的 ELISA 试剂盒购于美国 R&D 公司。

2. 临床疗效评定: 于运动前及运动后对 2 组患者进行临床疗效评定。①采用 NIHSS 评分对患者的神经功能进行评定, NIHSS 评分 <7 分表示神经功能轻度缺损, 7~15 分表示中度缺损, >15 分表示重度缺损; ②采用 Fugl-Meyer 运动功能评分^[5] (Fugl-Meyer assessment, FMA) 对患者的运动功能进行评定, FMA 满分为 100 分, 上肢部分 66 分, 下肢部分 34 分, 分值

越高表示运动功能越好;③ADL 能力采用改良 Barthel 指数^[6](modified Barthel index, MBI)进行评定,内容包括进食、洗澡、穿衣、上下楼梯等,满分为 100 分,≥60 分表示轻度功能障碍,41~59 分表示中度功能障碍,≤40 分表示重度功能障碍。

四、统计学分析

采用 SPSS 16.0 版统计学软件对数据进行处理,符合正态分布或近似正态分布的计量资料采用($\bar{x} \pm s$)形式表示,方差齐时采用独立样本 *t* 检验,方差不齐时采用 Mann-Whitney U 检验,计数资料采用 χ^2 检验,CD34⁺KDR⁺数量与 VEGF 及 NIHSS 评分之间的关系采用直线相关分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

运动前,2 组患者 CD34⁺KDR⁺含量、VEGF 含量及 NIHSS、FMA、MBI 评分间比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。运动后,2 组患者 CD34⁺KDR⁺细胞含量、VEGF 含量及 NIHSS 评分与组内运动前比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$),与对照组比较,运动组 CD34⁺KDR⁺细胞及 VEGF 含量显著较高($P < 0.05$)。利用直线相关分析后发现,CD34⁺KDR⁺细胞数增加与 VEGF 升高呈正相关($r = 0.739, P = 0.003$),CD34⁺KDR⁺细胞数增加与 NIHSS 评分下降无关($r = 0.179, P = 0.523$)。

讨 论

内皮祖细胞增殖能力强,可迁移至血管损伤部位,促进血管实现新生和再内皮化。EPCs 至少可表达出一个未成熟的标记抗原,其携带有内皮细胞的特征;CD34⁺是一种可表达于造血干细胞上的粘附分子,其被认为是具有典型未成熟性的标记抗原;CD133⁺可用于确定比 CD34⁺出现更早的未成熟祖细胞;KDR⁺则预示着早期的内皮细胞分化。从骨髓动员出来的 EPCs 一旦被释放入血,便逐渐开始丢失 CD133⁺,因此 CD34⁺KDR⁺细胞便成为了血中主要的循环 EPCs。

EPCs 可因局部缺血、运动训练或 VEGF 等神经因

子的作用从骨髓中被动员,在保持内皮细胞层的完整性过程中起主要作用,其存在于骨髓的“干细胞龛”中,依靠某些粘附分子附着在基质细胞上^[7]。VEGF 是一种重要的血管生成因子,具有增加血管通透性、促进内皮细胞增殖、参与血管生成等重要生物学功能。Urbich 等^[8]发现,归巢至缺血组织中的 EPCs 可分泌 VEGF。王杰华等^[9]发现,脂肪来源的干细胞移植能促进脑缺血大鼠缺血区微血管的生成,其机制可能与促进 VEGF 的表达有关。由此可推测出,循环 EPCs 增加与血清 VEGF 升高紧密相关。本研究中,运动组 AIS 患者血清 VEGF 水平显著高于对照组,表明早期运动训练可促进 VEGF 在外周血中表达,其机制可能与 EPCs 动员有关。此外,本研究还发现,EPCs 数量增加与 VEGF 含量升高呈正相关,提示循环 EPCs 数量可能受 VEGF 含量调节。

众所周知,运动训练可显著改善脑损伤后的神经功能缺损程度。近期研究表明^[10],早期康复训练对神经功能的恢复具有重要作用,康复训练的开始时间越早,其康复效果越好,患者的肢体残疾程度也越低。本研究采用常规临床药物治疗配合早期运动训练对急性缺血性卒中患者进行干预,结果发现,早期运动训练可显著改善缺血后 NIHSS 评分,但在 FMA、ADL 评分方面,组内比较和组间比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。考虑有以下几个原因,① NIHSS 评分与 FMA、MBI 评分的侧重点不同^[6],NIHSS 评分主要体现的是大体方面的运动能力(如活动手臂、抬腿等),FMA、MBI 评分则侧重于强调综合协调功能,如生活中某些具体事务(吃饭、穿衣等)的完成度,而这些相对精细的运动功能需要更长时间的训练才能恢复。如能在运动训练 4 周后进行 NIHSS、FMA 及 MBI 评分,效果可能会更为理想。

综上所述,早期运动训练可促进 AIS 患者循环 EPCs 数量增加,显著改善患者的神经功能,其机制可能与 VEGF 含量上调有关。但能否通过提高 VEGF 含量,促进 AIS 患者 EPCs 含量增加,从而更大程度上改善患者的神经功能,尚需进一步研究证实。

表 2 2 组患者训练前、后 CD34⁺KDR⁺、VEGF 含量及 NIHSS、FMA、MBI 评分情况($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CD34 ⁺ KDR ⁺ 细胞 (个/ml)	VEGF(ng/L)	NIHSS(分)	FMA(分)	MBI(分)
运动组						
运动前	60	27.93 ± 4.40	146.31 ± 12.65	11.60 ± 4.37	22.47 ± 14.75	29.13 ± 22.81
运动后	60	457.49 ± 73.02 ^{ab}	968.19 ± 67.40 ^{ab}	10.40 ± 4.19 ^a	24.93 ± 15.72	31.93 ± 24.08
对照组						
运动前	60	28.29 ± 5.93	149.05 ± 12.51	13.73 ± 5.92	21.73 ± 18.97	20.60 ± 11.66
运动后	60	81.87 ± 9.92 ^a	353.85 ± 74.03 ^a	11.73 ± 5.61 ^a	23.20 ± 19.52	22.00 ± 12.82

注:与组内运动前比较,^a $P < 0.05$;与对照组比较,^b $P < 0.05$

参 考 文 献

- [1] Ding Y, Li J, Luan X, et al. Exercise pre-conditioning reduce brain damage in ischemic rats that may be associated with regional angiogenesis and cellular over expression of neurotrophin. *Neuroscience*, 2004, 124:583-591.
- [2] Liu N, Huang H, Lin F, et al. Effects of treadmill exercise on the expression of netrin-1 and its receptors in rat brain after cerebral ischemia. *Neuroscience*, 2011, 194:349-358.
- [3] 中华神经科学会, 中华神经外科学会. 各类脑血管疾病诊断要点. *中华神经科杂志*, 1996, 29:379-380.
- [4] 杜敢琴, 黄丽娜, 富奇志, 等. 经颅超声对急性缺血性脑卒中血管再通的作用. *中华物理医学与康复杂志*, 2012, 34:669-672.
- [5] 王拥军. 神经病学临床评定量表. 北京: 北京中国友谊出版公司, 2005:265-267.
- [6] 缪鸿石, 朱镛连. 脑卒中的康复评定和治疗. 北京: 华夏出版社, 1996:8-13.
- [7] Lapidot T, Petit I. Current understanding of stem cell mobilization: the roles of chemokines, proteolytic enzymes, adhesion molecules, cytokines, and stromal cells. *Exp Hematol*, 2002, 30: 973-981.
- [8] Urbich C, Aicher A, Heeschen C, et al. Soluble factors released by endothelial progenitor cells promote migration of endothelial cells and cardiac resident progenitor cells. *J Mol Cell Cardiol*, 2005, 39: 733-742.
- [9] 王杰华, 刘楠, 杜厚伟, 等. 脂肪来源的干细胞移植对大鼠脑缺血后微血管生成及 bFGF 和 VEGF 表达的影响. *细胞与分子免疫学杂志*, 2008, 24: 958-961.
- [10] Cowell PE, Whiteside SP, Windsor F, et al. Plasticity, permanence, and patient performance: study design and data analysis in the cognitive rehabilitation of acquired communication impairments. *Front Hum Neurosci*, 2010, 4:213-218.

(修回日期:2013-09-29)

(本文编辑:凌 琛)

系列髋关节强化训练对脑卒中后偏瘫患者步行能力的影响

张伟 华东 张斌 李桥军 冯晓东

【摘要】目的 观察系列髋关节强化训练对脑卒中后偏瘫患者步行能力的疗效。**方法** 选取脑卒中后偏瘫患者 46 例,按随机数字表法分为治疗组 23 例和对照组 23 例,对照组患者采用运动再学习技术、Bobath 技术等常规康复训练,每次训练 60 min。治疗组采用与对照组相同的治疗方案,但每次训练 40 min 后再进行 20 min 的系列髋关节强化训练。2 组患者均于治疗前,和治疗 4 周后(治疗后)采用简式 Fugl-Meyer 运动功能评定量表(FMA)、Berg 平衡量表(BBS)、Holden 步行能力分级和 10 m 步行时间来评定患者的下肢运动能力、平衡能力和步行能力。**结果** 治疗后,2 组患者各项指标与组内治疗前比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);治疗组治疗后的 FMA 评分、BBS 评分、Holden 步行能力分级和 10 m 步行时间分别为(23.18 ± 3.77)分、(39.49 ± 8.39)分、(2.97 ± 0.63)级和(104.30 ± 42.75)s,各项指标均优于对照组治疗后,且差异均有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 系列髋关节强化训练可显著改善脑卒中后偏瘫患者的步行能力。

【关键词】 髋关节强化训练; 步行能力; 脑卒中

脑卒中后步行功能障碍严重影响患者的日常生活活动能力和生活质量,恢复偏瘫患者的步行功能,是康复的主要目标^[1]。髋关节姿势异常是脑卒中后患者康复过程中常见的问题之一,而髋关节是连接躯干与下肢的重要关节,是全身受力最大的关节,同时具有很高的稳定性和较大的活动范围,并有精确的对合装置和控制系统,髋关节功能不全,将直接影响患者的步行能力^[2]。本研究采用强化训练方法治疗脑卒中后偏瘫合并髋关节姿势异常患者 23 例,取得了满意疗效。

资料与方法

一、临床资料

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2013.11.010

作者单位:450000 郑州,河南中医学院第一附属医院康复中心(张伟、华东、张斌、李桥军、席建明)

纳入标准:①疾病诊断符合 1995 年第四次全国脑血管病学术会议制定的诊断标准^[3]②经头颅 CT 或 MRI 检查确诊为脑梗死或脑出血;③病程 < 3 个月;④患侧髋关节无手术史、异位骨化、外伤、疼痛等影响强化训练的因素;⑤Brunnstrom 分期,偏瘫下肢功能为Ⅲ~Ⅵ期;⑥排除严重的心、肺、肝、肾功能不足,无恶性肿瘤,恶性进行性高血压,以及认知障碍、听理解障碍;⑦患者均并签署知情同意书。

选取在河南中医学院第一附属医院康复中心住院,且符合上述标准的脑卒中后偏瘫患者 46 例,按随机数字表法分为治疗组 23 例和对照组 23 例,2 组患者一般资料见表 1。

表 1 2 组患者一般资料

组别	例数	性别(例)		病程 (d)	偏瘫侧(例)		脑梗死 (例)	脑出血 (例)	平均年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)
		男	女		左	右			
治疗组	23	14	9	31	11	12	12	11	57.2 ± 13.7
对照组	23	15	8	32	13	10	9	14	58.5 ± 10.9