

电针“曲池”-“阳陵泉”缓解脑卒中大鼠痉挛状态 脑突触结构可塑性的实验研究*

郭斌¹ 王彭汉¹ 黄麟荇¹ 谢志强¹ 谢丽娜¹ 刘未艾² 易丽贞¹ 刘欣¹ 岳增辉^{1,3}

摘要

目的:通过动物实验观察电针治疗对脑卒中痉挛状态下SD大鼠的神经损伤与肌张力情况,皮质运动区突触超微形态变化及大脑皮质内突触可塑性相关蛋白(synaptophysin, SYN;GABA transporter, GAT-1;post-synaptic density-95, PSD-95)表达的影响,揭示电针“曲池”-“阳陵泉”缓解痉挛的疗效及其作用机制。

方法:将77只SD大鼠经两次随机分组分为电针组、假手术组、模型组、空白对照组,采用改良Zea-Longa线栓法+内囊注射NMDA受体法制备脑卒中肢体痉挛大鼠模型,行为学评分确认模型成功后,开始在双侧曲池、阳陵泉行电针治疗,每次30min,每日1次,持续5d。行为学检测神经功能与肌张力,电镜观察各组皮质突触的超微结构变化,采用逆转录-聚合酶链反应检测皮质中SYN、GAT-1、PSD-95相应mRNA的表达,采用蛋白质印迹法检测皮质中SYN、GAT-1、PSD-95相应蛋白的表达。

结果:①Zea-longa神经功能评分与改良Ashworth肌张力评分结果显示,模型组评分增高($P < 0.01$);与模型组相比,电针组评分降低($P < 0.05$)。②电镜图像观察,模型组较空白组、假手术组突触数量减少明显,囊泡数量减少密度不均,前后膜及间隙发生融合界限模糊,突触后细胞终末胞质变性溶解显著,突触后致密带的密度也下降;电针组较模型组的突触数量明显增多也相对密集,囊泡数量增多,新生的凹形突触增加,突触后致密物增厚,间隙变得规则紧致。未进行统计学分析。③同模型组比较,电针组SYN、GAT-1、PSD95蛋白与受体基因的表达均有升高($P < 0.01$);而与空白对照组、假手术组比较,模型组SYN、GAT-1、PSD95蛋白与受体基因的表达均降低($P < 0.05$)。

结论:电针“曲池”-“阳陵泉”能够改善了脑卒中后痉挛状态,其作用机制可能是调节大脑皮质内突触可塑性相关蛋白与基因的表达,促进了皮质突触的重塑,从而改善中枢神经系统的运动功能。

关键词 脑卒中;痉挛;电针;皮质;突触素;GABA转运蛋白;突触后致密物95

中图分类号:R245,R49 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2020)-07-0787-07

Experimental study of electroacupuncture at “Quchi”(LI 11)-“Yanglingquan”(GB 34) on relieving the plasticity of brain synapse structure in rats with stroke/GUO Bin, WANG Penghan, HUANG Linxing, et al// Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2020, 35(7): 787—793

Abstract

Objective: To observe the neurological injury of SD rats under spasticity of cerebral apoplexy(SCA) by animal electroacupuncture, to detect the changes of synaptic ultrastructural in the cortex and the expression of synaptic plasticity related proteins(SYN, GAT-1, PSD-95), to reveal the efficacy and mechanism of electroacupuncture at “Quchi”(LI 11)-“Yanglingquan”(GB 34).

Method: Thirty-six Sprague-Dawley rats were randomly divided into electroacupuncture group, sham operation group, model group and blank control group. The model of limb spasticity after stroke was prepared by modi-

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2020.07.005

*基金项目:国家自然科学基金项目(81673886);国家重点基础研究发展计划“973”中医专项(2014CB543102);湖南省自然科学基金项目(2018JJ2294);湖南省中医药科研计划项目(201862);2018年湖南省研究生科研创新项目(CX2018B488)

1 湖南中医药大学针灸推拿学院,长沙,410208; 2 湖南中医药大学第二附属医院针灸科; 3 通讯作者

第一作者简介:郭斌,男,博士研究生; 收稿日期:2019-08-08

fied Zea-longa suture method+internal capsule injection of NMDA receptor method. After confirming the successful model by behavioral score, the electroacupuncture treatment was given in the bilateral Quchi and Yanglingquan, once every 30 minutes, once a day for 5 days. The ultrastructural changes of synapses in each group were observed by electron microscopy. The mRNA expression of SYN, GAT-1 and PSD-95 in cortex were detected by Rt-PCR. The protein expressions of SYN, GAT-1 and PSD-95 were detected by Western Blot.

Result: ①The Ashworth scores of the model group were significantly higher ($P<0.01$). Compared with the model group, the electroacupuncture group scores were statistically significantly decreased ($P<0.05$). ②Under electron microscope, the number of synapses in the model group was significantly lower than that in the blank group and the sham operation group, accompanied by the reduced number of vesicles. The fusion boundary between the anterior and posterior membranes and the gap were blurred, and the terminal cytoplasmic degeneration of the postsynaptic cells was significantly dissolved. The density of post-synaptic dense bands also decreased; the number of synapses in the electroacupuncture group was significantly increased compared with the model group, the number of vesicles increased, the new concave synapses increased, and the post-synaptic denses thickened and the gap changed. ③Compared with the model group, the expressions of SYN, GAT-1, PSD95 protein and receptor gene in the electroacupuncture group were increased ($P<0.01$). Compared with the blank control group and the sham operation group, the expression of SYN, GAT-1 and PSD95 protein and receptor gene were decreased in the model group ($P<0.05$).

Conclusion: Electroacupuncture treatment can alleviate the paralysis state of stroke to some extent, which may regulate the expression of synaptic plasticity-related proteins and genes in the cerebral cortex, promote the remodeling of cortical synapses, and improve the motor function of the central nervous system.

Author's address College of Acu-moxibustion and Massage, Hunan University of TCM, Changsha, 410208

Key word stroke; sputum; electroacupuncture; cortex; synaptophysin; GABA transporter; post-synaptic density 95

脑卒中是脑动脉系统病变引起的脑血管痉挛、闭塞或者破裂,造成了急性的脑局部循环障碍,产生了一组器质性脑损伤的脑血管疾病的共同临床特征群,包括突然的发病、迅速出现了局限性或弥漫性的脑部功能缺损^[1],给患者的家庭和社会带来沉重的医疗、经济和社会负担,具有很高的发病率、致残率和死亡率^[2]。肢体痉挛是脑卒中后常见且严重的并发症之一,不仅影响患者的运动功能、限制患者的日常生活活动,同时降低了患者的生活质量。所以,肢体痉挛的治疗对患者的康复有重要的作用^[3]。

研究表明,突触可塑性是脑卒中康复的重要原因,脑卒中痉挛状态的恢复依赖于神经元功能的恢复,从而使相关神经递质恢复正常^[4]。突触可塑性分为突触结构可塑性和突触功能可塑性,后者又称传递效能的可塑性。突触是神经细胞之间信息传递和加工的部位,也是脑可塑性变化的关键结构部位,在不同的状态下表现出明显的可塑性,即突触的结构可随外界刺激或环境因素的影响发生可塑性变化^[5]。突触可塑性相关蛋白是一组与突触相关的具有神经元特异性的磷酸蛋白,它作为突触的特异性

标志物,能促进脑卒中后突触的生长,与神经系统可塑性密切相关^[6]。中医治疗脑卒中痉挛状态有很多方法^[7],针灸临床治疗效果已被广泛报道与研究^[8-9],我们前期试验结果显示,电针“曲池”-“阳陵泉”可以改善谷氨酸、 γ 氨基丁酸、多巴胺等神经递质的分泌表达来调节卒中后痉挛状态^[10-11],但还未深入说明其作用机制。本研究拟通过实验研究,揭示电针治疗脑卒中痉挛的作用机制与脑可塑性的相关性。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康成年的SPF级SD雄性大鼠共77只,体重 $240\pm 30\text{g}$,由具有相关资格的湖南中医药实验动物中心提供,合格证编号:XCXK(湘)2009-0004,投喂普通饲料。实验前将动物置于动物房1周以适应环境,室温 $25\pm 2^\circ\text{C}$,相对湿度65%—70%。自然光照,自由进食、饮水。适应性饲养7天后,77只大鼠按随机数字表法抽取18只分为空白对照组(9只)、假手术组(9只),剩余大鼠(59只)进行造模,造模成功的18只大鼠按随机数字表法分为模型组(9只)、电针

组(9只)。

1.2 药品与仪器

水合氯醛:北京索莱宝; β -Actin: Bioswamp; SYN: Abcam; PSD95: Abcam; GABA Transporter 1: abcam; DL2000 DNAMarker: Genstar; 逆转录试剂盒: Fermentas; PVDF 转移膜: millipore; EDTA; 引物: 上海生工; 荧光定量PCR仪: Bio-Rad; PCR仪: Eppendorf公司; 电泳仪: BIO-RAD; 酶标仪: 雷勃生物技术公司; 全自动化学发光分析仪: 上海天能科技公司。

1.3 大鼠造模方法

采用改良 Zea-Longa 线栓法+内囊注射 NMDA 受体法制作脑卒中肢体痉挛大鼠模型^[12]。10%水合氯醛 3ml/kg 腹腔注射进行麻醉。大鼠麻醉成功后,仰卧位固定在操作台上,备皮、消毒、铺巾,沿颈部正中偏右切口,钝性分离大鼠右侧颈总动脉和迷走神经,再向上暴露颈总动脉分叉处、颈内动脉与颈外动脉;在颈总动脉远心端、颈内动脉近心端、颈外动脉近心端备用 6—0 丝线,分别结扎颈外动脉近心端、颈总动脉远心端,动脉夹夹闭颈内动脉;离颈总动脉分叉膨大 5mm 处做一小切口,将栓线经切口插入颈内动脉,松开动脉夹,栓线深度约 18—20mm 时稍感阻力停止插线;插线完毕后,将颈内动脉近心端和栓线一起结扎,逐层缝合切口;大鼠清醒后纳入 Zea-Longa 评分 1—3 分的大鼠第二天再行内囊注射 NMDA 法^[13]。麻醉成功后,将大鼠以俯卧固定于大鼠脑立体定位仪上,大鼠头顶部备皮、消毒、铺巾;沿大鼠颅顶矢状缝作纵行切口,长约 2cm,逐层分离暴露前囟,止血钳向两侧拉开,暴露右侧顶骨和额骨交界骨缝;按《大鼠立体定位图谱》确定内囊位置,用牙科钻在标记点上钻一直径约 2mm 小孔,将微量注射器垂直插入 7mm,缓慢注射 5 μ l NMDA,注射时间维持 5 分钟。注射完毕后拔出微量注射器,之后用明胶海绵小心压迫止血,并用碘伏消毒;逐层缝合切口。术后均予以青霉素抗感染;按 0.1mg/kg 剂量腹腔注射速尿,防止脑水肿;术后予葡萄糖水及饲料喂养,单笼饲养,保持呼吸道通畅。大鼠苏醒后, Ashworth 肌张力评分 \geq 1 分, Zea-Longa 评分 1—3 分,说明脑卒中后肢体痉挛模型成功。

模型组:进行造模手术后,饲料喂养,投喂葡萄糖水,青霉素 80 万 U 每日肌肉注射 5d。假手术组:

颈总动脉只做分离,不结扎也不插线;内囊注射生理盐水。电针组:大鼠捆绑束缚于鼠板上,采用华佗牌 0.30 \times 13mm 一次性使用针灸针,75%乙醇棉签常规消毒,常规针刺,行针时捻转角度 90—180 $^{\circ}$,频率:60—90 次/min,持续捻转 1min,针后选用 SDZ-V 电针治疗仪导线的正负极,波形:密波,频率:100Hz,连接刺激电极,正极接在肢体一侧的阳陵泉穴毫针针柄,负极接在同侧曲池穴毫针针柄,以形成刺激回路,以大鼠肢体轻微抖动为度。时间:每次 30min,每天 1 次,连续治疗 5d。

1.4 穴位定位

结合解剖学知识,根据郭义^[14]教授主编《实验针灸学》的“动物针灸穴位图谱”进行大鼠穴位定位。阳陵泉:距足三里(大鼠膝关节下侧腓骨小头下约 3mm)上外侧 5mm,直刺 3mm。曲池:桡骨近端的关节外侧前方的凹陷中,直刺 3mm。

1.5 观察指标

1.5.1 动物行为学检测:治疗 5 天后,结合 Zea-Longa^[15]神经功能评分标准与改良 Ashworth 肌张力^[16]评分标准进行评分。

1.5.2 电镜观察各实验组大鼠皮质突触超微结构的变化:冰盘上取患侧大脑半球迅速剥离出皮质,切取前三分之一的运动区(额叶中心前回附近),取一部分切成体积为 1mm³左右大小的米粒状,置于 2% 戊二醛混合固定液固定、脱水、渗透、包埋后,制成 70nm 的超薄切,行醋酸铀-柠檬酸铅双染色, H7650 透射电镜观察并采集照片。

1.5.3 PCR 检测大脑皮质(synaptophysin, SYN; GABA transporter, GAT-1; post-synaptic density-95, PSD95)基因的表达:行为学检测后断头处死动物,冰盘上取患侧大脑半球迅速剥离出皮质,切取前三分之一的运动区(额叶中心前回附近),除一部分用于电镜检测外切一部分称取质量后加 TRIzol 匀浆离心(12000r/min, 15min)后转移上清液至防冻管,放液氮中迅速降温 1d,随后放入 -80 $^{\circ}$ C 冰箱储存,供 RT-PCR 检测。

经提取组织总 RNA; mRNA 逆转录成 cDNA; 梯度 PCR 技术扩增目的基因,利用软件 Primer Premier 5.0 设计上下游引物;最终将图片采集,并用 Quality one 软件对图像进行灰度分析。见表 1。

表1 SYN、GAT-1、PSD95受体引物设计

SYN受体	GAT-1受体	PSD95
上游:TGTGCCAACAAGACGG 下游:CTTTGACGCAGGAGGG 产物长度为100bp	上游:GCAACATGCACCAAAT 下游:TCCACGGAAGAACAGG 产物长度为191bp	上游:TGGACCCACCAAAGAC 下游:GCCAGCCTCAATGAAC 产物长度为187bp

1.5.4 蛋白印迹法检测大鼠皮质 SYN、GAT-1、PSD95 蛋白的表达:行为学测试结束后,麻醉断头,冰盘上取患侧大脑半球迅速剥离出皮质,切取前三分之一的运动区(额叶中心前回附近),除一部分用于电镜检测外切一部分称取质量后加 TRIzol 匀浆离心(12000r/min, 15min)后转移上清液至防冻管,放液氮中迅速降温 1d,随后放入-80℃冰箱储存,供蛋白印迹法检测。

对皮质组织进行蛋白提取,并进行蛋白定量,凝胶,上样跑电泳,转膜,孵育显色后利用 TANONGIS 软件获取相关条带灰度值。

1.6 统计学分析

所有数据均输入计算机,用 SPSS 20.0 软件进行处理。全部计量资料用样本含量、均数±标准差或中位数(四分位间距)表示,所有数据都进行正态性和方差齐性检验。满足正态性及方差齐性时,组内治疗前后比较采用配对 t 检验,组间比较采用方差分析,不满足正态性或方差齐性时,则采用非参数检验;多组计量资料采用单因素方差分析,方差不齐时选择 DunnettT3 法,方差齐时选择 LSD 法;不满足正态性时选择秩和检验。以 P < 0.05 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 大鼠的一般情况

整个实验进行期间每日对大鼠及摄食进行记录,空白对照组精神状况尚可,活动敏捷,摄食摄水量均正常。造模手术过程中发生死亡,随即补充纳入,模型组精神欠佳,活动严重受限,体质重均有不同下降、摄食摄水量明显减少一半。电针组治疗 3d 后开始活动受限程度、精神状况、摄食摄水量均较前改善。

2.2 行为学检测结果

见表 2。神经系统损伤症状评分,与空白对照组相比,假手术组无明显差异(P>0.05),模型组评分

增高,具有显著性意义(P < 0.01);与模型组相比,电针组评分降低,具有显著性意义(P < 0.05)。本实验所造的脑卒中肢体痉挛大鼠的模型是成功的;而且电针治疗具有明显降低神经损伤的症状的效果,从而可以抗痉挛。

表 3 结果显示大鼠肌张力 Ashworth 评定情况:治疗前与空白对照组比较,假手术组无显著性意义(P>0.05),模型组评分升高,具有显著性意义(P<0.01);治疗 5d 结束后与模型组比较,电针组评分降低,差异有显著性意义(P < 0.05)。提示:本实验所造的脑卒中肢体痉挛大鼠的模型是成功的;而且电针具有明显降低痉挛所致增高的大鼠肌张力的作用,减缓痉挛。

2.3 电镜观察各实验组大鼠皮质突触超微结构

见图 1,电镜下观察,模型组较空白组、假手术组突触数量减少明显,囊泡数量减少密度不均,前后膜及间隙发生融合界限模糊,突触后细胞终末胞质变性溶解显著,突触后致密带的密度也下降;电针组较模型组的突触数量明显增多也相对密集,囊泡数量增多,新生的凹形突触增加,突触后致密物增厚,间隙变得规则紧致。说明电针可以对脑可塑性的结构可塑性有一定的作用。

2.4 电针对 SCA 模型大鼠大脑皮质内 SYN、GAT-

表 2 各组大鼠 Zea-Longa 神经功能评分比较 [n, M(Q)]

组别	动物数	治疗前	治疗后
空白对照组	9	0(0)	0(0)
假手术组	9	0(0)	0(0)
模型组	9	3(1) ^①	3(1)
电针组	9	3(1)	0(2) ^②

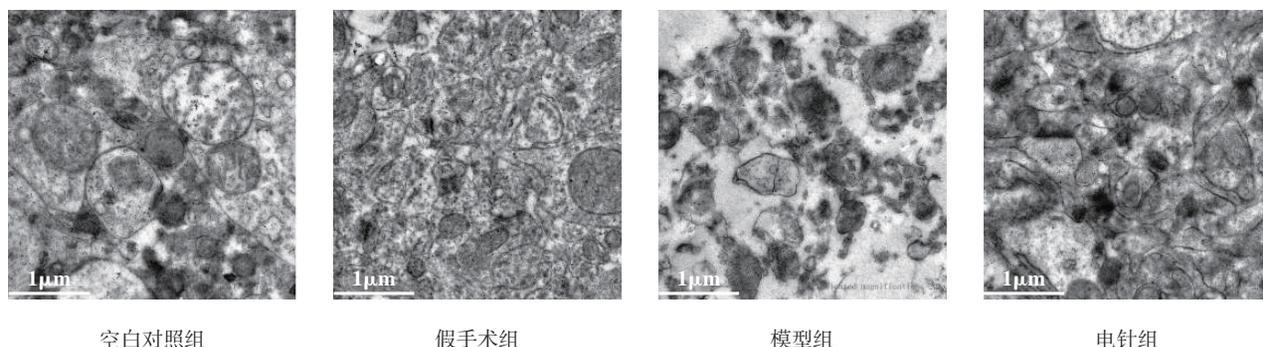
注:与空白对照组比较,①P < 0.01;与模型组比较,②P < 0.05

表 3 各组大鼠肌张力 Ashworth 评定情况 [n, M(Q)]

组别	动物数	治疗前	治疗后
空白对照组	9	0(0)	0(0)
假手术组	9	0(0)	0(0)
模型组	9	3(1) ^①	3(1)
电针组	9	3(0)	1(1) ^②

注:与空白对照组比较,①P < 0.01;与模型组比较,②P < 0.05

图1 电镜观察各实验组大鼠皮质突触超微结构的变化



1、PSD95 基因的影响

见表4。SCA模型大鼠大脑皮质内突触可塑性相关蛋白基因表达的变化:电针组同模型组比较SYN、PSD95基因的表达均有升高,GAT-1有所下降($P<0.01$);而模型组与空白对照组、假手术组比较SYN、PSD95基因的表达均降低,而GAT-1有所升高($P<0.05$)。结果提示:电针可以调节SYN、GAT-1、PSD95基因的活性,全面的参与突触前可塑性蛋白与突触后可塑性蛋白的转录^[17],从而为使得神经突触恢复相关功能提供物质基础,从而减轻痉挛的状况,改善机体患肢的运动状况。

2.5 电针对SCA模型大鼠大脑皮质内SYN、GAT-1、PSD95蛋白表达的影响

图2及表5结果显示SCA模型大鼠大脑皮质内SYN、GAT-1、PSD95蛋白表达的变化:电针组同模型组比较SYN、PSD95蛋白表达明显升高,而GAT-1表达下降($P<0.01$);而模型组与空白对照组、假手术组比较SYN、PSD95蛋白表达均明显下降,而GAT-1表达上升($P<0.05$)。结果提示:电针可以调节SYN、GAT-1、PSD95蛋白在大脑皮质内的表达,突触前可

塑性蛋白与突触后可塑性蛋白全面参与了脑卒中后神经突触的恢复,促进新神经元的生长、发育、分化、存活、调节突触结构等中枢神经系统的多种神经可塑性^[18],运动神经功能的恢复最终使机体的痉挛状况得到改善。

3 讨论

脑卒中后痉挛状态主要是因为上位中枢损伤,对下位中枢 α 、 γ 运动神经元的易化和抑制作用,尤其是抑制作用部分或全部丧失,失去了对下位中枢的调控作用,而神经元间已受损突触的再生以及未受损突触间新的神经通路的形成则需要突触可塑性

表4 电针对SCA模型大鼠大脑皮质内SYN、GAT-1、PSD95基因表达的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	SYNmRNA 相对表达量	GAT-1mRNA 相对表达量	PSD95 mRNA 相对表达量
空白对照组	9	1.00±0.000	1.00±0.000	1.00±0.000
假手术组	9	0.91±0.038	0.96±0.037	0.96±0.062
模型组	9	0.41±0.049 ^①	1.69±0.062 ^①	0.64±0.055 ^①
电针组	9	0.54±0.082 ^②	1.51±0.043 ^②	0.76±0.046 ^②
<i>F</i>		275.8	682.1	115.4
<i>P</i>		<0.0001	<0.0001	<0.0001

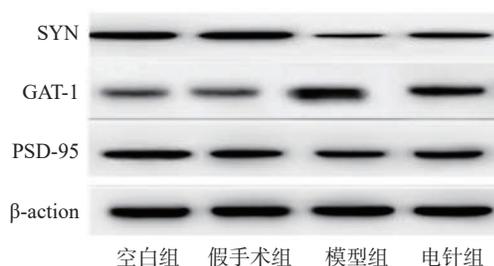
注:与空白对照组、假手术组相比,① $P<0.01$,与模型组相比,② $P<0.05$

表5 电针对SCA模型大鼠大脑皮质内SYN、GAT-1、PSD95蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	SYN	GAT-1	PSD95
空白对照组	9	0.63±0.022	0.37±0.010	0.52±0.054
假手术组	9	0.63±0.035	0.37±0.061	0.53±0.037
模型组	9	0.44±0.023 ^①	0.67±0.046 ^①	0.44±0.020 ^①
电针组	9	0.50±0.039 ^②	0.56±0.070 ^②	0.52±0.020 ^②
<i>F</i>		87.47	73.17	12.45
<i>P</i>		<0.0001	<0.0001	<0.0001

注:与空白对照组、假手术组相比,① $P<0.01$;与模型组相比,② $P<0.05$

图2 各组大鼠WB检测的条带情况



蛋白的参与完成,神经元的恢复与痉挛状态的缓解有着密切的联系。

SYN是一种与突触结构和功能密切相关的钙结合蛋白,围绕在突触前囊泡特定分布的卵泡膜细胞体周围的神经元和树突,能准确反映突触的数量和密度,其免疫活性增加与轴突末端分支形成密切相关,与突触可塑性密切相关。SYN经常被用来作为突触重建和神经可塑性的一个重要指标,可以调节神经元突触的发生和扩展,并参与突触介导的神经递质的释放和突触囊泡运输,突触前待释放囊泡数量越多,释放概率增大,突触后反应也相对增强^[19]。研究表明突触素与突触重建密切相关,短暂脑缺血后突触素会有短暂降低,与神经元凋亡在时间上具有同步性,脑缺血后神经再获现象可能与DNA的损伤和修复有关,并且也与BDNF相关联,共同作用于脑可塑性^[20],恢复的神经功能可以减缓痉挛状态。本实验结果显示,电针“曲池”“阳陵泉”能够提升大脑中SYN含量,增进抑制性递质分泌,促进突触重塑从而实现脑可塑性功能,缓解神经兴奋性从而改善SCA的症状。

神经系统内GAT-1是最GABA重要的转运蛋白,主要分布在突触前膜和神经胶质细胞内,能快速摄取GABA从而终止其抑制作用,在精确调控GABA突触间信号传递中发挥了重要的作用,而GABA已经被证实是针灸治疗脑卒中痉挛状态的调节机制之一^[21]。研究证明脑卒中GABA能神经元突触传递的终止依赖与GAT-1的快速摄取密切相关^[22]。有研究发现脑缺血再灌注后GAT-1阳性神经元数是逐步增加再慢慢减少的过程,对卒中后痉挛状态起到缓解作用^[23]。本实验结果提示,电针“曲池”“阳陵泉”能够抑制GAT-1的释放,提高突触间隙和细胞外液GABA浓度,充分发挥GABA突触前膜、后膜的抑制作用,恢复突触间的信息沟通从而实现脑可塑性功能。

突触后致密蛋白可以参与调节神经递质的分泌、积聚及相应受体的生物功能,分布在突触活性区突触后膜下方与胞浆相连的一层致密结构。其中PSD-95是其中的一个主要蛋白,参与介导和整合突触信号传递过程^[24]。PSD-95直接参与了缺血信号的转导影响突触的传递功效,缺血会引起PSD-95及其相关蛋白减少而诱发相应机制,包括突触后细胞

去磷酸化反应、Ca²⁺浓度改变、氧化反应、蛋白酶激活等,会神经细胞兴奋性而发生肌张力增强^[25]新树突棘形成所需蛋白要在突触后致密物中合成,通过与N-甲基-D-天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartic acid receptor, NMDA)受体亚基的C末端结合调节细胞蛋白表达和酶的活性, NMDA受体结合一定程度上减少神经兴奋性,缓解了痉挛状态。本实验结果提示,电针“曲池”“阳陵泉”能够增加PSD-95的释放,调节神经元发育,兴奋性突触传递,参与突触可塑性,发挥了脑可塑性的功能。

本课题前期发表的文章证明电针可以影响多种神经递质的表达^[26],从而达到缓解脑卒中痉挛状态,而这些递质的表达直接与突触可塑性相关蛋白有密切的联系^[27],提示了我们突触可塑性蛋白可能是电针缓解脑卒中痉挛状态的作用机制。

本实验通过观察电镜下突触数目,轮廓清晰,前后膜完整度,突触间隙等证明了电针对皮质突触恢复有一定的作用,而大脑皮质中SYN、GAT-1、PSD95蛋白与基因的表达与突触再塑有直接联系,实验结果也揭示了电针通过调节SYN、GAT-1、PSD95而促进突触的再塑,从而使卒中过程中造成的神经细胞损伤得以缓解。突触的恢复过程中,皮质内神经递质相应发生改变,使其兴奋受到调节,减缓肌肉紧张度。行为学结果表明电针可以明显缓解肢体痉挛状态,电针可以从基因表达开始调控,并且改善相应突触可塑性蛋白的表达,说明了电针可以改善突触可塑性蛋白来缓解脑卒中后痉挛状态,揭示了电针缓解卒中后痉挛的作用机制。

参考文献

- [1] 张欣扬. 脑卒中相关危险因素筛查与社区人群干预研究现状[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(8): 82—83+87.
- [2] 任彩丽, 付娟娟, 王红星, 等. 早期康复临床路径对缺血性脑卒中患者功能恢复影响的多中心、单盲、随机对照研究[J]. 中国康复医学杂志, 2017, 32(3): 275—282.
- [3] 武沁枫, 孙舒, 白敏. 脑卒中后肢体痉挛的康复治疗进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(79): 23—24.
- [4] 宋长明. 电针脑缺血再灌注大鼠“百会”“神庭”穴调控海马P2X7受体影响突触可塑性的机制研究[D]. 福建中医药大学, 2018.
- [5] 邹兆鹏, 范锦阁, 赵博, 等. 脑缺血后突触可塑性研究进展[J]. 广东医学, 2018, 39(23): 3573—3577.
- [6] 朱旭红, 张萍淑, 程赞赞, 等. 突触可塑性相关蛋白及其与临床疾病的关系[J]. 华北理工大学学报(医学版), 2017, 19(3): 237—241.
- [7] 刘未艾, 岳增辉, 陈建宏, 等. 脑卒中肢体痉挛状态的中医药研

- 究进展[J].时珍国医国药,2018,29(4):953—955.
- [8] 毛忠南,何天有,雒成林.从康复角度看脑卒中的针刺治疗[J].中国针灸,2014,34(3):293—296.
- [9] 郑蕊,柳维林,上官豪,等.针灸治疗脑卒中患者肢体运动功能障碍疗效的Meta分析[J].中国康复医学杂志,2016,31(2):217—221.
- [10] 郭斌,岳增辉,谢志强,等.电针对脑卒中痉挛状态大鼠大脑皮质中谷氨酸与 γ -氨基丁酸二者受体表达的影响[J].中华中医药杂志,2019,34(1):325—327.
- [11] 郭斌,岳增辉,谢志强,等.针刺调节大鼠在脑卒中痉挛状态下黑质纹状体内相关神经兴奋-抑制因子受体的研究[J].中华中医药杂志,2019,34(7):3201—3203.
- [12] 岳增辉,谢志强,谢莉娜,等.脑卒中后肢体痉挛大鼠模型制备方法[J].中国中医药现代远程教育杂志,2019,17(5):129-131.
- [13] 刘鸿燕,周奇志,蔡定均,等.构建大鼠内囊电毁损痉挛模型[J].四川生理科学杂志,2008,(2):61—63.
- [14] 郭义.实验针灸学实验指导[M].北京:中国中医药出版社,2012.47—48.
- [15] 项薇,潘速跃,谭焱,等.移植活化小胶质细胞改善急性脑梗死小鼠神经功能的作用机制[J].中国组织工程研究,2017,21(16):2552—2557.
- [16] 张增乔,厉坤鹏,朱燕,等.冯氏筋膜点缓解脑卒中后手痉挛的临床疗效初步观察[J].上海中医药杂志,2018,52(4):66—68.
- [17] 郭敏,李刚.突触可塑性相关蛋白的研究进展[J].神经药理学报,2013,3(6):57—64.
- [18] 孙芳玲,艾厚喜,张丽,等.Eph/ephrin信号通路对损伤后中枢神经功能的影响研究进展[J].中国药理学与毒理学杂志,2012,26(3):424.
- [19] 孙国欣,田振军.突触素与运动、学习记忆的神经生物学研究进展[J].西安体育学院学报,2006(03):81—83+115.
- [20] 赵嘉培,黄丹霞,黄赛娥,等.电针“曲池”和“足三里”对脑缺血大鼠皮质突触素、脑源性神经营养因子表达的影响[J].中国动脉硬化杂志,2017,25(11):1099—1106.
- [21] 郭斌,岳增辉,谢志强,等.电针对脑卒中痉挛状态大鼠大脑皮质中谷氨酸与 γ -氨基丁酸二者受体表达的影响[J].中华中医药杂志,2019,34(01):325—327.
- [22] 杨慎峭,毛雪莲,冯丽娟,等.电针申脉照海对脑梗死痉挛大鼠 γ -氨基丁酸转运蛋白-1变化影响的研究[J].时珍国医国药,2014,25(10):2539—2542.
- [23] Chambers J S, Thomas D, Saland L. Growth-associated protein 43(GAP-43) and synaptophysin alterations in the dentate gyrus of patients with schizophrenia[J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2015, 29:283—290.
- [24] 韩雪峰,张析哲,周琪.PSD-95在神经损伤后表达作用的研究进展[J].世界最新医学信息文摘,2018,18(77):37+47.
- [25] 陶涛,秦文熠,秦新月,等.米诺环素对大鼠脑缺血再灌注损伤后学习记忆能力及海马神经元PSD-95蛋白表达的影响[J].重庆医科大学学报,2015,40(1):23—26.
- [26] 郭斌,岳增辉,谢志强,等.基于大鼠黑质纹状体内多巴胺受体亚型含量与表达观察针刺对大鼠脑卒中痉挛状态的影响[J].中华中医药杂志,2019,34(02):577—579.
- [27] 端木程琳.电针对痛负性情绪大鼠杏仁核细胞突触可塑性及相关蛋白表达的影响[D].中国中医科学院,2017.

(上接第786页)

- effects of intermittent hypoxia[J]. Basic Res Cardiol, 2006, 101(5):436—446.
- [11] Wan CX, Lan YF, Jiang H, et al. Hypoxia training attenuates left ventricular remodeling in rabbit with myocardial infarction[J]. J Geriatr Cardiol, 2014, 11(3):237—244.
- [12] Liu J, Zhuo X, Liu W, et al. Resveratrol inhibits high glucose induced collagen upregulation in cardiac fibroblasts through regulating TGF- β 1-Smad3 signaling pathway[J]. Chem Biol Interact, 2015, 227:45—52.
- [13] Neubauer S. The failing heart—an engine out of fuel[J]. N Engl J Med, 2007, 356(11):1140—1151.
- [14] Sutton MG, Sharpe N. Left ventricular remodeling after myocardial infarction: pathophysiology and therapy[J]. Circulation, 2000, 101(25):2981—2988.
- [15] Dargatzis N, Hindricks G. Risk stratification after myocardial infarction: is left ventricular ejection fraction enough to prevent sudden cardiac death?[J]. Eur Heart J, 2013, 34(26):1964—1971.
- [16] Headrick JP, See Hoe LE, Du Toit EF, et al. Opioid receptors and cardioprotection - 'opioidergic conditioning' of the heart[J]. Br J Pharmacol, 2015, 172(8):2026—2050.
- [17] Peart JN, Gross ER, Gross GJ. Opioid-induced preconditioning: recent advances and future perspectives[J]. Vascular Pharmacol, 2005, 42(5—6):211—218.
- [18] Tanaka K, Kersten JR, Riess ML. Opioid-induced cardioprotection[J]. Curr Pharm Des, 2014, 20(36):5696—5705.
- [19] Seewald M, Coles JA Jr, Sigg DC, et al. Featured article: pharmacological postconditioning with delta opioid attenuates myocardial reperfusion injury in isolated porcine hearts[J]. Exp Biol Med (Maywood), 2017, 242(9):986—995.
- [20] Miller LE, McGinnis GR, Peters BA, et al. Involvement of the delta-opioid receptor in exercise-induced cardioprotection[J]. Exp Physiol, 2015, 100(4):410—421.
- [21] Pepe S, Xiao RP, Hohl C, et al. 'Cross talk' between opioid peptide and adrenergic receptor signaling in isolated rat heart[J]. Circulation, 1997, 95(8):2122—2129.
- [22] Huang MH, Wang HQ, Roeske WR, et al. Mediating delta-opioid-initiated heart protection via the beta2-adrenergic receptor: role of the intrinsic cardiac adrenergic cell[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007, 293(1):H376—384.
- [23] Zhou JJ, Wei Y, Zhang L, et al. Chronic intermittent hypobaric hypoxia prevents cardiac dysfunction through enhancing antioxidation in fructose-fed rats[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2013, 91(5):332—337.
- [24] Chis IC, Baltaru D, Dumitrovici A, et al. Protective effects of quercetin from oxidative/nitrosative stress under intermittent hypobaric hypoxia exposure in the rat's heart[J]. Physiol Int, 2018, 105(3):233—246.