

·基础研究·

早期跑轮联合针刺对重度脑外伤大鼠运动功能及脑源性神经生长因子表达的影响*

陈 林¹ 郑伸伸² 杨 翊^{1,5} 刘经星¹ 张 刚² 袁 也³ 张神怡⁴ 黄 琴²

摘要

目的:探究早期跑轮联合针刺对重度脑外伤大鼠运动功能及前额叶皮质脑源性神经生长因子(BDNF)表达的影响。

方法:50只SD大鼠随机分为假手术组、模型组、针刺组、跑轮组和联合组,每组10只。改良Feeney法制备重度脑外伤大鼠模型。术后第二天开始干预,然后在不同时间点利用改良神经功能缺损评分(mNSS)和足误试验分别评估大鼠神经功能与协调功能。2周后利用Western Blot和免疫组化分别检测皮质BDNF的表达和阳性反应。

结果:治疗第7、10、14天联合组大鼠mNSS评分明显低于模型组($P<0.05$),治疗第10、14天各干预组大鼠足误试验评分明显提高($P<0.05$)。2周后,与假手术组比较,模型组前额叶皮质BDNF表达降低($P<0.05$),而联合组BDNF的表达显著提高($P<0.05$)。免疫组化染色结果显示,与模型组比较,针刺组和跑轮组BDNF的表达增加($P<0.05$);而与针刺组和跑轮组比较,联合治疗组BDNF平均光密度值明显增加($P<0.05$)。

结论:早期跑轮联合针刺可能通过提高皮质中BDNF的表达来改善脑外伤大鼠的运动功能。

关键词 脑外伤;运动功能;跑轮;针刺

中图分类号:R743,R651,R246 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2020)-07-0794-07

Effects of early wheel running combined with acupuncture therapy on motor function and expression of BDNF in rats with severe traumatic brain injury/CHEN Lin, ZHENG Shenshen, YANG Yi, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2020, 35(7): 794—800

Abstract

Objective: To investigate the effects of early wheel running combined with acupuncture on motor function and the expression of BDNF in prefrontal cortex of rats.

Method: Fifty SD rats were randomly divided into five groups :sham group, model group, acupuncture group, running wheel group and combined group. The modified neurologic defect score (mNSS) and foot fault test were used to evaluate the neural function and coordination function of rats at different time points. Western Blot and Immunohistochemical was used to determine the expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and positive reaction in five groups.

Result: The expression of BDNF in the prefrontal cortex of the model group was decreased ($P<0.05$), while the expression of BDNF was significantly increased in the combined group ($P<0.05$). The immunohistochemical staining results showed that compared with the model group, the expression of BDNF in the acupuncture group and the running wheel group increased ($P<0.05$); Compared with the acupuncture group and the running wheel group, the average light density of BDNF in the combined treatment group increased significantly($P<0.05$).

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2020.07.006

*基金项目:十堰市引导性项目(18Y53)

1 十堰市人民医院(湖北医药学院附属人民医院)康复科,湖北省十堰市,442000; 2 十堰市太和医院康复科; 3 十堰市人民医院临床研究所; 4 湖北医药学院麻醉学研究所;5 通讯作者

第一作者简介:陈林,女,硕士研究生,初级技师; 收稿日期:2018-07-27

Conclusion: Early wheel running combined with acupuncture may improve the motor function of brain injury rats by increasing the expression of BDNF in the cortex.

Author's address Dept. of Rehabilitation, Renmin Hospital, Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei, 442000

Key word traumatic brain injury; motor function; running wheel; acupuncture

近年来,我国颅脑外伤(trumatic brain injury, TBI)发生率逐年上升,据统计已超过100/10万人口,仅次于西方发达国家^[1]。目前,康复治疗是改善患者功能障碍的重要方法之一,其基础是大脑可塑性和神经重组^[2-3]。

临床经验发现运动训练和针刺治疗都可以改善脑外伤患者神经功能障碍,但对其机制的研究较少。脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)广泛分布于中枢神经系统内,研究发现它可与神经元细胞膜表面受体酪氨酸蛋白激酶B结合,激活下游信号分子,在神经元发育、分化、功能维持以及突触可塑性中发挥关键性作用^[4-5]。因此,本实验从动物实验运动训练中常用的跑轮为切入点,联合中医技术中的针刺疗法,利用改良神经缺损评分和足误试验评估大鼠神经缺损程度和协调功能,进而检测脑外伤大鼠损伤侧额叶皮质BDNF的表达和免疫染色观察BDNF阳性反应,评价两者联合应用对重度脑外伤大鼠运动功能的影响,并研究BDNF在脑外伤康复中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

SPF级雄性SD大鼠60只,体重(200±20)g,由湖北医药学院动物中心提供,合格证号(许可证号:SCXK(鄂)2016—0008)。动物单笼饲养,自由摄食及饮水,饲养温度24—25℃,实验中所有操作均遵守湖北省实验动物伦理委员会管理规定,尽可能减少实验中动物的痛苦。本实验选取造模成功且符合实验要求的50只大鼠,采用随机数字表法分为五组,每组10只:①假手术组:仅打开头皮,不进行撞击;②模型组:自由落体打击致重度脑外伤;③针刺组:脑外伤大鼠每天给予针刺治疗;④跑轮组:脑外伤大鼠每天给予跑轮运动;⑤针刺+跑轮组:脑外伤大鼠每天给予针刺联合跑轮运动。

1.2 适应性训练及剔除方案

实验前所有大鼠进行3天的跑轮和足误试验适

应性训练,剔除不愿运动和对跑轮抵抗的大鼠,剔除足误试验评分低于5分的大鼠。

1.3 重度脑外伤大鼠模型的建立

大鼠适应性喂养一周后,采用改良Feeney法制备重度脑外伤大鼠模型。造模方法:大鼠麻醉后俯卧位固定于脑立体定位仪(西安万东公司)上,消毒后沿头皮中线切开皮肤,暴露顶骨,于冠状缝后3mm,中线左旁3mm处,钻一直径5mm的圆形骨窗,镊子去除骨瓣,充分暴露硬脑膜,保持硬脑膜完整。Feeney撞击装置撞杆的头端放在骨窗正上方,将40g重的砝码放置在导管内30cm高处,当大鼠翻正反射恢复后,轻放砝码,使之做自由落体撞击撞杆,造成大鼠左顶叶重度脑挫伤。局部充分消毒后,缝合头皮,在切口周围对皮肤再次消毒。大鼠出现昏迷、呼吸减弱、部分反射活动消失和对侧肢体偏瘫等神经功能障碍,提示造模成功。

1.4 干预方法

跑轮:大鼠单笼喂养,于造模成功后的第二天同一时间点进行跑轮。跑轮组和联合组每个饲养笼中有一直径34cm、宽10cm的跑轮(STARR Life Sciences, 美国),每个跑轮连接电脑,通过软件可以记录每天运动的距离、速度和时间。主要记录大鼠24h跑轮运动的距离,共14天。

针刺干预:参照《实验针灸学》并结合人体同身寸取穴法选取大鼠损伤侧曲池和足三里两穴。具体定位,曲池:桡骨近端关节外侧前方凹陷处;足三里:膝关节后外侧,腓骨小头下约5mm处。造模成功后第二天进行针刺。操作方法:75%乙醇棉球消毒穴位,选28号0.5寸华佗牌针灸针直刺两穴,平均深度0.2寸,捻转1min,每10min行针1次,30min/天,共14d。假手术组、模型组和跑轮组大鼠每天同一时间点抓取固定30min。

1.5 行为学评估

改良神经功能缺损评分(modified neurologic defect score, mNSS):采用国际公认的mNSS评分,从运动、感觉、平衡及反射四个方面整体评估大鼠脑

神经功能损伤程度。最低0分,最高18分,分值越高神经受损越重。标准:正常0分,1—6分为轻度损伤,7—12分为中度损伤,13—18分为重度损伤。造模成功后同一时间点评估,选择评分在13—18分的大鼠纳入研究。在治疗前和治疗后第3、7、10、14天进行评估,由两名实验者单独评分,取二者评分的平均值。

足误试验:大鼠置在高于地面30cm的金属网架上,行走时,正常大鼠左右肢“足误”率大致相同,而脑损伤动物患侧肢体“足误”率增高。测试3—5次,每次2.5—5分钟,采用7分制法来评估大鼠运动协调能力,正确放置6分;部分放置5分;重新放置4分;代替放置3分;轻度滑落2分;明显滑落1分;完全放置错误0分。在治疗前和治疗后第3、7、10、14天进行评估,由两名实验者单独评分,取二者评分的平均值。

1.6 Western Blot

14天后各组均取5只大鼠,过量麻醉处死,冰上迅速分离大脑前额叶皮质,加入裂解液后,超声匀浆裂解,离心(4℃,15000r/min,10min),吸取上清液,分装后-20℃保存待用。BCA法测定总蛋白浓度,取25μl样品,在12%的十二烷基硫酸钠—聚丙烯酰胺中电泳,恒压50V跑浓缩胶(大约40min),恒压90V跑分离胶,当溴酚蓝跑至胶底后停止电泳。恒流200 mA,1.5h将蛋白转至PVDF膜(0.25μm)上,5%牛奶室温封闭1h,加BDNF(Abcam,货号:ab108319,1:2000)抗体4℃摇床上孵育过夜;TBST漂洗3次,每次10min,加二抗后室温孵育1h,再用TBST漂洗3次,每次10min。用滤纸吸去PVDF膜上液体,滴加化学发光显影液,在凝胶成像系统中显影。采用Image J图像分析系统对各条带进行灰度分析。

1.7 HE染色和免疫组化染色

同一时间点每组取5只大鼠,麻醉后,仰卧位固定于手术台,打开胸腔,剪开肋骨,充分暴露心脏,剪开右心耳,左心室插管后灌注生理盐水,当右心耳流出的液体澄清后,用4%多聚甲醛灌注固定,先快后慢。当大鼠全身僵直后断头取脑组织,置于4%多聚甲醛中固定过夜。梯度酒精脱水后石蜡包埋,5μm厚连续冠状位切片,裱于载玻片上,60℃烤箱内烤片2h。切片脱蜡、梯度酒精洗涤后苏木素染色2—

5min,1%盐酸酒精分化,温水返蓝,伊红复染,梯度酒精脱水、二甲苯透明后封片。

切片经脱蜡、水化后蒸馏水冲洗,PBS浸泡5min,枸橼酸钠抗原修复,3% H₂O₂室温下孵育10min,阻断内源性过氧化物酶;PBS洗2min,滴加山羊血清封闭10min。滴加兔抗鼠BDNF抗体50μl(浓度1:400),37℃温箱孵育1h;弃一抗,PBS洗后滴加即用型酶标山羊抗兔IgG聚合物(中杉金桥,货号:PV-6001)50μl,37℃温箱孵育0.5h。PBS洗后加DAB显色液室温孵育5—8min,自来水冲洗,苏木素染色液孵育20s;分化、冲洗反蓝,中性树胶封片。用PBS代替一抗作为阴性对照。采用Image-Pro Plus 6.0图像分析系统测定BDNF蛋白表达的平均光密度值。每张切片在相同结构部位随机选取5个视野进行测量,取平均值。

1.8 统计学分析

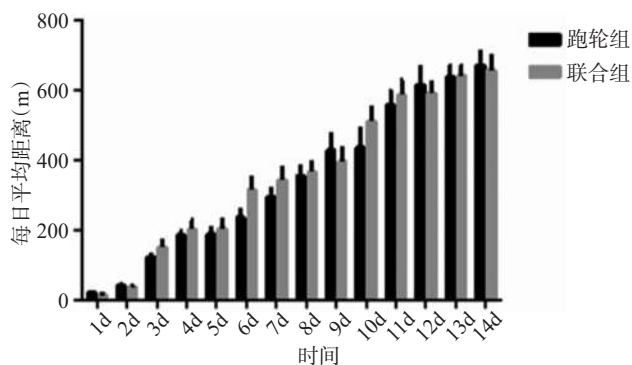
采用SPSS 21.0统计软件对实验结果进行分析,数据以均数±标准差表示,各组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较用LSD检验。 $P<0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 脑外伤大鼠每日平均运动距离

脑外伤大鼠损伤后前两天的运动距离很短,从第三天开始运动距离逐渐增加,可能是由于大鼠早期损伤较重,运动量少。随着各项功能的恢复,运动量渐增,平均每日运动距离最高可达600m每天。跑轮组和联合组大鼠每天平均运动距离无显著性差异($P>0.05$)。见图1。

图1 跑轮组和联合组大鼠每日平均运动距离



2.2 神经功能评分

假手术组大鼠无神经功能损伤,评分均为0,而脑外伤模型组大鼠在术后不同时间点均出现神经功能缺损症状,与假手术组比较,模型组各时间点评分显著升高($P<0.01$);与模型组比较,各治疗组不同时间点mNSS评分降低($P<0.05$);与跑轮组和针刺组比较,联合组第7、10、14天mNSS评分降低($P<0.05$)。见表1。

表1 不同时间点各组大鼠改良神经功能缺损评分(mNSS)

($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	治疗前	治疗第3天	治疗第7天	治疗第10天	治疗第14天
假手术组	10	0	0	0	0	0
模型组	10	15.90±0.61 ^①	12.00±1.43 ^①	9.57±0.78 ^①	8.57±1.35 ^①	7.86±1.30 ^①
针刺组	10	15.50±0.63	9.50±0.50 ^②	7.75±0.56 ^②	7.50±0.63 ^②	6.38±0.72 ^②
跑轮组	10	15.59±0.65	9.28±0.82 ^②	7.71±0.98 ^②	7.14±0.73 ^②	6.14±0.49 ^②
联合组	10	15.14±0.24	9.29±0.89 ^②	6.14±0.77 ^{②③}	5.86±0.49 ^{②③}	4.85±0.73 ^{②③}

与假手术组比较:① $P<0.01$;与模型组比较:② $P<0.05$;与针刺组和跑轮组比较:③ $P<0.05$

表2 不同时间点各组大鼠足误试验评分

($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	造模前	治疗第3天	治疗第7天	治疗第10天	治疗第14天
假手术组	10	5.50±0.50	5.67±0.28	5.83±0.28	5.83±0.28	5.83±0.28
模型组	10	5.43±0.49	0.57±0.49 ^①	2.40±0.61 ^①	3.40±0.49 ^①	3.90±0.49 ^①
针刺组	10	5.38±0.47	1.88±0.66 ^②	3.88±0.44 ^②	4.38±0.63 ^②	4.75±0.38 ^②
跑轮组	10	5.57±0.49	2.00±0.57 ^②	4.00±0.29 ^②	4.43±0.49 ^②	4.71±0.41 ^②
联合组	10	5.43±0.49	2.14±1.06 ^②	4.14±0.49 ^②	4.86±0.24 ^{②③}	5.29±0.41 ^{②③}

与假手术组比较:① $P<0.05$;与模型组比较:② $P<0.05$;与针刺组和跑轮组比较:③ $P<0.05$

2.4 跑轮联合针刺对大鼠前额叶皮质区BDNF蛋白表达的影响

脑外伤14天后BDNF表达降低,针刺和跑轮单独作用增加BDNF的表达,两者联合应用显著提高BDNF的表达。与假手术组比较,模型组BDNF灰度值下降($P<0.05$);与模型组比较,针刺组及跑轮组BDNF灰度值增高($P<0.05$);与针刺组、跑轮组比较,联合组BDNF灰度值增高($P<0.05$)。见图2—3。

2.5 各组大鼠大脑前额叶皮质区HE染色结果

光学显微镜下观察,假手术组大鼠大脑皮质神经元呈锥形,细胞排列整齐均匀,胞浆红染,无坏死、渗出,胞核呈椭圆形或圆形,蓝染;模型组损伤部位细胞正常形态消失,排列不规则,并有炎性细胞浸润,脑组织出现大面积坏死和空白斑,坏死灶周围出现神经元细胞凋亡,细胞核出现核裂解和核固缩。与假手术组比较,针刺组和跑轮组细胞分布不均,周围有炎性细胞浸润,受损区域出现坏死和空白斑,但与模型组比较,坏死空白斑区域面积减小;与跑轮组

2.3 脑损伤对侧肢体足误试验结果

造模前,各组大鼠足误试验评分无显著性差异,脑外伤后,脑损伤对侧肢体的足误率显著增加,治疗后各组大鼠足误试验评分逐渐提高,与假手术组比较,模型组各时间点足误评分降低($P<0.05$);与模型组比较,针刺组、跑轮组和联合组评分提高($P<0.05$);与针刺组和跑轮组比较,联合组第10天、第14天评分提高($P<0.05$)。见表2。

图2 各组大鼠Western Blot结果

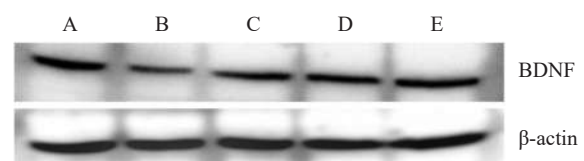
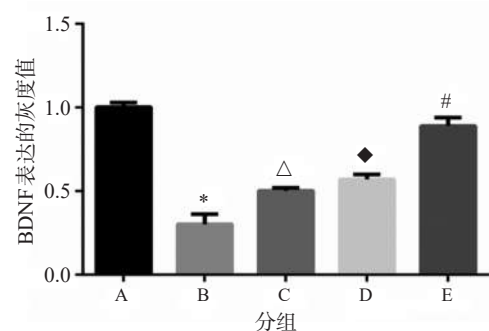


图3 各组大鼠BDNF表达的灰度值



注:A:假手术组;B:模型组;C:针刺组;D:跑轮组;E:联合组
与假手术组比较:* $P<0.05$;与模型组比较:Δ $P<0.05$,◆ $P<0.05$;与针刺组和跑轮组比较,# $P<0.05$

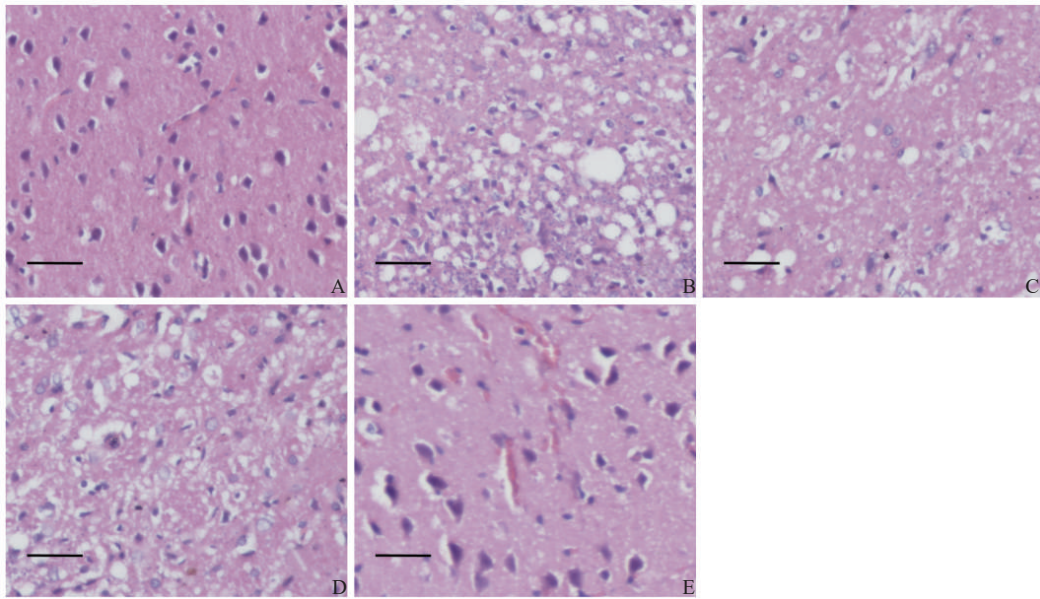
和针刺组比较,联合组坏死和空白斑显著减少,神经元细胞形态接近正常。见图4。

2.6 各组大鼠大脑前额叶皮质区免疫组化染色

BDNF 免疫组化阳性反应物质着色于胞质,呈棕黄色。免疫组化染色结果显示,假手术组和模型组呈弱阳性表达,而各干预组损伤部位周围的细胞

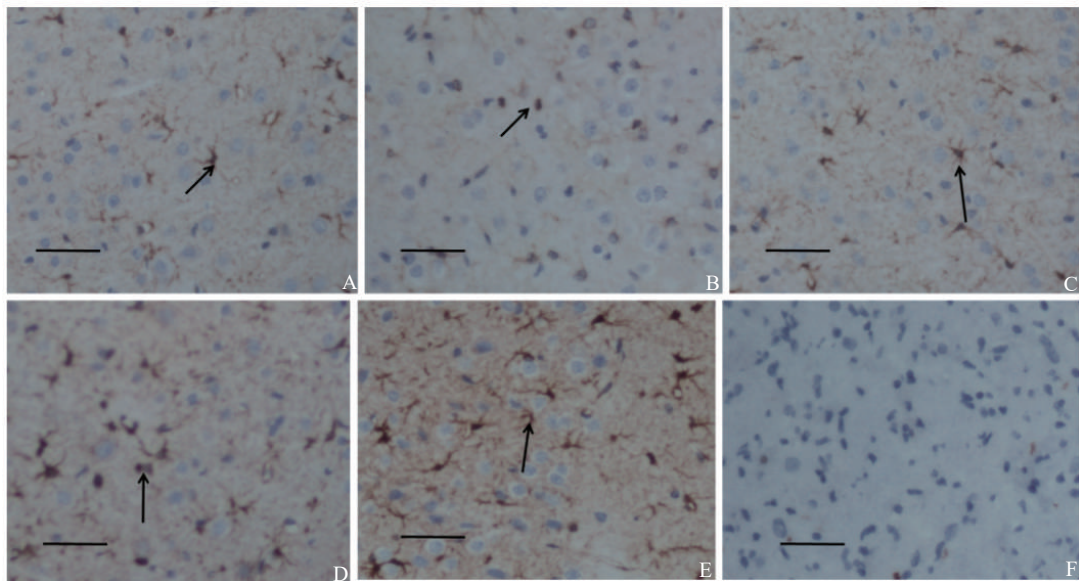
胞浆中可见较强的BDNF 阳性反应。与假手术组比较,模型组 BDNF 平均光密度值降低($P<0.05$);与模型组比较,针刺组和跑轮组 BDNF 表达增加($P<0.05$);而与针刺组、跑轮组比较,联合组 BDNF 平均光密度值增加($P<0.05$)。见图5—6。

图4 各组大鼠大脑前额叶皮质区HE染色 (HE染色,×400)



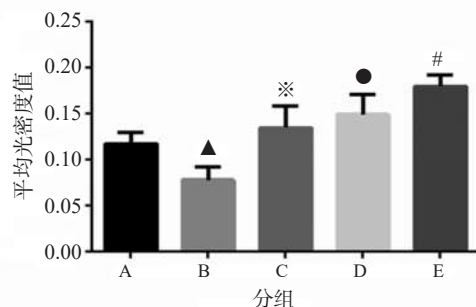
注:A:假手术组;B:模型组;C:针刺组;D:跑轮组;E:联合组;(标尺=100μm)

图5 各组大鼠大脑前额叶皮质区免疫组化染色 (免疫组化染色,×200)



注:A:假手术组;B:模型组;C:针刺组;D:跑轮组;E:联合组;F:模型组阴性对照(标尺=100μm)

图6 各组大鼠前额叶皮质区BDNF平均光密度值的比较



注:A:假手术组;B:模型组;C:针刺组;D:跑轮组;E:联合组;
与假手术组比较:▲ $P<0.05$;与模型组比较:※ $P<0.05$,● $P<0.05$;
与针刺组比较:# $P<0.05$;与跑轮组比较:# $P<0.05$

3 讨论

脑外伤是导致青年人致死和致残的主要原因。随着急救水平的提升,其死亡率逐渐降低,但幸存者遗留长期神经功能障碍,增加了家庭和社会的负担。颅脑损伤属于中医理论中“头部内伤”、“巅顶骨折”的范畴,致病机理为气机逆乱、淤血以及痰湿阻滞经络^[6]。研究发现,针刺可能通过增加中枢神经系统中营养因子的表达,如BDNF和胶质源性神经营养因子的表达和激活来抑制神经退行性变,对神经组织产生保护作用^[7];针刺还可能通过刺激神经干细胞增殖和促进其分化,促进脑损伤后功能的恢复^[7];此外最近研究报道针刺可以提高局部刺激点ATP水平^[8]。

BDNF是神经营养因子家族的成员,1982年Barde等^[9]首次从猪脑中分离纯化出BDNF,随后国内外学者进行了大量关于BDNF与神经系统疾病的研究,研究发现BDNF在神经元发育、分化、功能维持以及突触可塑性中发挥重要作用。

研究表明运动可增加脊髓、大脑皮质和海马区BDNF的水平^[10-11]。Cotman等^[12]研究发现大鼠跑轮运动2—7天后,海马中BDNF mRNA与对照组相比增加了20%。Griesbach等^[13]在制备大鼠脑外伤模型后的第14天开始,给予连续7天,每天24h自主跑轮。与对照组相比,跑轮组在空间学习任务中表现显著提高,海马区BDNF水平升高,而在运动期间阻断海马区TrkB受体,行为增强的表现消除,提示BDNF在运动后记忆能力的提高中起重要的作用,

BDNF途径是促进大脑功能恢复的重要机制。

康复训练联合针刺治疗颅脑外伤是临床上常用的康复治疗方法,临床研究表明针刺结合康复治疗可以显著改善患者ADL评分和Brunnstrom分期^[14]。当前,对于康复介入的时机并没有统一的定论。多数研究表明,针刺介入时间越早,更有利于上调脑组织神经元的神经生长因子及相应mRNA的表达,达到保护脑组织神经元的作用^[15-16]。但也有研究显示,过早运动介入可能损害脑组织,不利于神经功能的恢复^[17],这可能跟损伤的程度和运动方式、强度等相关。本实验中的跑轮属于自主运动,大鼠可选择性的运动。跑轮结果发现脑外伤大鼠损伤早期运动距离很短,可能是由于大鼠早期损伤较重;但从第三天开始,随着各项功能的恢复,运动距离逐渐增加。

本研究发现,随着时间的推移,运动及针刺单独或联合应用均可改善脑外伤大鼠神经功能缺损程度,提高足误试验评分,且联合治疗效果更优。Western Blot结果表明,脑外伤后大鼠大脑皮质BDNF的表达降低,运动及针刺单独应用提高了大脑皮层BDNF的表达,两者联合应用可以更显著提高BDNF的表达,这可能是脑外伤后BDNF对脑组织起保护作用和提高脑的可塑性,这与Shin等^[18]的研究一致。

光学显微镜下观察,脑外伤大鼠损伤部位细胞正常形态消失,并出现大面积坏死和空白斑,细胞核出现核裂解和核固缩;针刺组和跑轮组坏死空白斑区域面积减小;联合组坏死和空白斑面积较针刺组和跑轮组更加显著减少,神经元细胞形态接近正常。BDNF免疫组化染色结果发现与针刺组和跑轮组比较,联合组BDNF平均光密度值明显增加。说明针刺联合跑轮可提高脑外伤大鼠前额叶皮质区BDNF的表达。

4 结论

早期跑轮联合针刺可改善脑外伤大鼠运动功能,提高大脑前额叶皮质BDNF的水平,从而对脑组织起到保护作用,促进大脑可塑性和运动功能的恢复。本实验仅观察了跑轮联合针刺对BDNF水平的影响,关于相关机制的研究还需进一步的实验探究。

参考文献

- [1] 励建安. 脑外伤康复的现状与未来发展趋势[J]. 中国康复医学杂志, 2011, 26(12):1095—1097.
- [2] Kleim J A, Jones TA. Principles of experience-dependent neural plasticity: implications for rehabilitation after brain damage[J]. J Speech Lang Hear Res, 2008, 51(1):S225—S239.
- [3] Adkins DL, Boychuk J, Remple MS, et al. Motor training induces experience-specific patterns of plasticity across motor cortex and spinal cord[J]. J Appl Physiol (1985), 2006, 101(6):1776—1782.
- [4] Madathil SK, Deng-Bryant Y, Wilfred BS, et al. Alterations in brain-derived neurotrophic factor and insulin-like growth factor-1 protein levels after penetrating ballistic-like brain injury in rats[J]. J Trauma Acute Care Surg, 2017, 83(1 Suppl 1):S16—S24.
- [5] Park H, Poo M M. Neurotrophin regulation of neural circuit development and function[J]. Nat Rev Neurosci, 2013, 14(1):7—23.
- [6] 潘丹, 林威明. 针灸治疗脑外伤后综合征的研究进展[J]. 上海针灸杂志, 2017, 36(7):881—885.
- [7] Shin HK, Lee S, Choi BT. Modulation of neurogenesis via neurotrophic factors in acupuncture treatments for neurological diseases[J]. Biochem Pharmacol, 2017, 141:132—142.
- [8] Lin D, De La Pena I, Lin L, et al. The Neuroprotective role of acupuncture and activation of the BDNF signaling pathway[J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(2):3234—3252.
- [9] Barde YA. Trophic factors and neuronal survival[J]. Neuron, 1989, 2(6):1525—1534.
- [10] Vaynman S, Gomez-Pinilla F. License to run: exercise impacts functional plasticity in the intact and injured central nervous system by using neurotrophins[J]. Neurorehabil Neural Repair, 2005, 19(4):283—295.
- [11] Rasmussen P, Brassard P, Adser H, et al. Evidence for a release of brain-derived neurotrophic factor from the brain during exercise[J]. Exp Physiol, 2009, 94(10):1062—1069.
- [12] Cotman CW, Engesser-Cesar C. Exercise enhances and protects brain function[J]. Exerc Sport Sci Rev, 2002, 30(2):75—79.
- [13] 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.
- [14] 卜满云, 陈翠玉. 针刺结合康复训练治疗脑外伤偏瘫的效果分析[J]. 中医临床研究, 2017(15):114—116.
- [15] 郭新荣. 不同时机针刺介入对TBI模型大鼠脑神经元的保护作用及机理研究[D]. 成都中医药大学, 2013.
- [16] 王东岩, 黄昕红, 王岩, 等. 不同针刺时机促进急性脑损伤大鼠神经功能康复的动态研究[J]. 中医药学报, 2008, 36(3):30—32.
- [17] Griesbach GS. Exercise after traumatic brain injury: is it a double-edged sword?[J]. PM&R, 2011, 3(6 Suppl 1):S64—S72.
- [18] Shin MS, Park HK, Kim TW, et al. Neuroprotective effects of bone marrow stromal cell transplantation in combination with treadmill exercise following traumatic brain injury[J]. Int Neurourol J, 2016, 20(Suppl 1):S49—S56.