·基础研究·

督脉电针对脑卒中后肢体痉挛大鼠大脑皮质中KCC2、GABAARα1表达的影响*

梅紧紧[1] 李婧雯[1] 王艺莹[1] 张建云[1] 张丽红[1] 郭 健[2] 李瑞青[1,2,3]

摘要

目的:观察督脉电针对脑卒中后肢体痉挛大鼠大脑皮质中钾离子-氯离子共转运体2(KCC2)和γ-氨基丁酸A型受体(GABAARα1)表达的影响,探讨其治疗脑卒中后肢体痉挛的可能机制。

方法:选用45只SPF级雄性SD大鼠,随机选出空白组和假手术组,每组各9只,剩余大鼠制备大脑中动脉栓塞模型。在完成造模后的第3天,经一系列行为学检测后,筛选出肢体痉挛的大鼠,并随机分为模型组、电针组和巴氯芬组,每组各9只。电针组给予针刺"大椎""脊中""后会"等穴位,巴氯芬组给予灌胃巴氯芬溶液,均连续治疗7d。以神经功能缺损评分观察各组大鼠神经功能变化,以改良Ashworth分级评分和肌电信号值的改变评估大鼠肌张力水平变化,用实时荧光PCR法和Western Blot法检测大鼠大脑皮质中KCC2和GABAARα1 mRNA和蛋白的表达情况;用比色试剂盒检测氯离子含量改变情况。

结果:与同时点假手术组比较,模型组神经功能缺损评分、改良Ashworth分级评分、脑组织含水量、脑梗死体积及氯离子含量均升高(P<0.01),肌电信号值、大脑皮质KCC2和GABAARα1 mRNA、蛋白表达量均降低(P<0.01);与模型组比较,电针组和巴氯芬组神经功能缺损评分、改良Ashworth分级评分、脑组织含水量、脑梗死体积及氯离子均降低(P<0.01),肌电信号值及大脑皮质KCC2和GABAARα1 mRNA、蛋白表达均升高(P<0.01,P<0.05);而督脉电针组与巴氯芬组相较,各项指标无明显差异(P>0.05)。

结论:督脉电针可升高大鼠大脑皮质KCC2、GABAARα1 mRNA及其蛋白的表达,发挥γ-氨基丁酸的抑制作用,进而改善脑卒中后肢体痉挛症状。

关键词 督脉电针;脑卒中肢体痉挛;钾离子-氯离子共转运体2;γ-氨基丁酸A受体;氯离子含量

中图分类号:R245;R743.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2025)-04-0487-08

Effects of governor vessel electroacupuncture on the expression of KCC2 and GABAARα1 in cerebral cortex of rats with post-stroke limb spasticity/MEI Jinjin, LI Jingwen, WANG Yiying, et al.//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2025, 40(4): 487—494

Abstract

Objective: To observe the effect of governor vessel (GV) electroacupuncture on potassium chloride cotransporter 2 (KCC2) and γ- Aminobutyric acid type a receptor (GABAAR α 1)and to explore the possible mechanism of GV electroacupuncture in improving post-stroke limb spasticity (PSLS).

Method: 45 male SD rats of SPF grade were randomly selected into the blank group and the sham operation group, with 9 rats in each group. The remaining rats were used to make the middle cerebral artery occlusion model. On the 3rd day after the completion of modeling, the rats with limb spasticity were chosen and randomly divided into the model group, the electroacupuncture group, and the baclofen group, with 9 rats in each group, following a series of behavioral tests. Acupuncture was provided to the electroacupuncture group at "Dazhui", "Jizhong" and "Houhui", whereas the baclofen group received a baclofen solution by gavage for 7 days.

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2025.04.002

*基金项目:河南省高等学校重点科研项目(21A360023);河南省中医药科学研究专项(2019ZY2129);国家青年自然科学基金项目(81503630)

1 河南中医药大学,河南省郑州市,450000; 2 河南中医药大学第一附属医院; 3 通讯作者

第一作者简介:梅紧紧,女,硕士研究生; 收稿日期:2022-05-18

Rats in each group were observed for the changes in nerve function by the symptom score of nerve function defect, and the changes in muscle tension level were evaluated by the modified Ashworth grading score and EMG signal value change. KCC2 and GABAARα1 mRNA and protein in the cerebral cortex of rats were detected by qPCR and Western Blot, and changes in chloride ion content were detected with a colorimetric kit.

Result: The neurological function defect score, the modified Ashworth grading score, the water content of brain tissue, the volume of cerebral infarction, and the expression of chloride ion content in the model group were all significantly increased compared with the sham operation group at the same time point (P<0.01), while the EMG signal value, cerebral cortex KCC2 and GABAAR α 1 mRNA and protein were significantly decreased (P<0.01). Compared with the model group, the nerve function defect score, the modified Ashworth grading score, the water content of brain tissue, the volume of cerebral infarction and the expression of chloride ion content in the electroacupuncture group and the baclofen group were all decreased (P<0.01), while the EMG signal value and KCC2, with GABAARα1 mRNA and protein expression were all increased (P<0.01, P<0.05, respectively); There was no significant difference in all indexes between the GV electroacupuncture group and the baclofen group (P>0.05).

Conclusion: GV electroacupuncture can increase the expression of KCC2, GABAARα1 mRNA,and protein in the cerebral cortex of rats, in order to exert the inhibitory effect of γ-aminobutyric acid, thus improving the symptoms of PSLS.

Author's address Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan, 450000

Key word governor vessel; electroacupuncture; post-stroke limb spasticity; KCC2; GABAARα1; chloride ion content

脑卒中后肢体痉挛作为脑卒中后并发症之一，主要表现为肌张力增高，活动受限，其发展严重降低患者的生存质量，给患者及家庭带来经济和心理负担[1—2]。巴氯芬是公认的有效抗痉挛药物，但其潜在的副作用较大，如嗜睡、恶心和呕吐等[3]，督脉电针治疗痉挛疗效显著，且具有绿色、安全、副作用小等优势[4]。

课题组临床研究发现，督脉电针可有效缓解脑卒中后痉挛症状，帮助患者恢复活动能力，提高其生存质量[4]。另外，基础研究发现，针刺大鼠督脉大椎、脊中、后会等穴位可以改变γ-氨基丁酸（γ-aminobutyric acid，GABA）等神经递质的表达[5—6]，从而改善脑卒中后肢体痉挛症状。近年的研究表明，脑卒中后肢体痉挛与神经递质的异化失常有关，主要表现为神经递质的平衡被打破[7—8]。其中GABA作为主要的抑制性神经递质之一，其发挥作用主要是与突触后神经元上的A型GABA受体（GABAARα1）结合，通过增加氯离子电导，氯离子内流导致神经元超极化，使突触前和突触后抑制效应。氯离子流入的动力主要来自细胞内外的浓度梯度差，这种浓度梯度差主要依赖于钾离子-氯离子共转运体2（K-Cl Cotransporter 2，KCC2）的功能。作为一种将神经元中的钾离子和氯离子同步释放到膜外的通道蛋白，KCC2可以通过调节细胞内和细胞外氯离子的分布，以及GABA能抑制来调节神经元兴奋性[9—10]。在病理状态下，运动神经胞膜上的KCC2的分布减少，导致氯离子转运受阻在胞内聚集，进而GABA与其A型受体的结合受阻，影响其正常功能，导致痉挛的发生。然而督脉电针是否可通过影响KCC2转运体以及GABAARα1的表达从而改善脑卒中后肢体痉挛的症状尚未明确。因此，本实验通过观察督脉电针治疗前后大鼠脑皮质中KCC2、GABAARα1的表达以及氯离子的含量变化，以证明上述猜想，为督脉电针治疗此病提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

SPF级雄性SD大鼠45只，由郑州市惠济区华兴实验动物养殖场提供，体质量为180—220g，生产许可证号：SCXK（豫）2019-0002。大鼠在河南中医药大学第一附属医院中心实验室动物实验房内进行饲养，环境温度为（22±2）℃，相对湿度为40%—

50%,12h日夜更替,自由进食、饮水。适应性喂养1周后,将45只大鼠随机选择9只大鼠作为空白组、9只作为假手术组。剩余大鼠接受大脑中动脉栓塞(middle cerebral artery occlusion,MCAO)模型,并在造模后第3天,经神经功能缺损症状评分、肌张力评分和电生理检测法筛选出肢体痉挛的大鼠,并随机分为模型组、电针组和巴氯芬组,每组9只。本研究已通过河南中医药大学第一附属医院动物伦理委员会批准(批号:YFYDW2019036)。

1.2 主要试剂及仪器

水合氯醛(上海凌峰化学试剂有限公司),TTC染液、总RNA提取试剂盒、BCA蛋白浓度测定试剂盒(均购于北京索莱宝科技有限公司),逆转录试剂盒(东洋纺(上海)生物科技有限公司),qPCR试剂盒(苏州宇恒生物科技有限公司),GABAARα1抗体(武汉三鹰),KCC2抗体(CST),GAPDH抗体(武汉三鹰),氯比色法试剂盒(伊莱瑞特)。

BL-420F型生理记录仪(成都泰盟软件有限公司),SDZ-II型电针仪、一次性针灸针(均购于苏州医疗用品厂有限公司),荧光定量PCR仪(美国柯达),KZ-II型研磨仪(武汉塞维尔生物科技有限公司),酶标仪(美国Thermo 公司),电泳仪、凝胶成像仪(美国BioRad公司),Image J生物医学图像分析软件(美国国家心理健康研究所)。

1.3 造模方法

采用MCAO法建立大鼠脑缺血模型[11—12],具体操作如下:术前禁食不禁水12h,称重后以3.5ml/kg腹腔注射10%水合氯醛,将麻醉后的大鼠仰卧位固定于手术台上,备皮,消毒,于颈部正中线偏左作一切口,钝性分离左侧颈总动脉,将其近心端结扎,随后对颈内动脉和颈外动脉进行分离,结扎颈外动脉,动脉夹夹颈内动脉,并在颈总动脉处放置一活结,随后在上作一“V”字形切口,往颈内插入线栓,将活结紧置,防止血把线栓冲出,随即松开动脉夹,将线栓插入后并结扎,以固定线栓,随即清理、缝合伤口。缝合时在皮肤外留1cm线栓并作以标记,2h后将线栓小心退至颈总,以实现再灌注。术后注射庆大霉素(2U/只,连续注射3d),以预防感染。

脑卒中后肢体痉挛大鼠模型筛选:Zea-Longa神经功能缺损评分1—3分,改良Ashworth肌张力评分1—4级及肌电信号值低者则可判定为大鼠肢体痉挛,根据随机数字表法入组模型组、督脉电针组和巴氯芬组。空白组:正常饲养,不做其他处理。

假手术组:同模型组,但仅分离颈部相关血管,然后清理、缝合。

1.4 干预方法

造模后第3天开始干预,电针组选取督脉穴位“大椎”“脊中”“后会”,参考《实验动物常用穴位》[13]大鼠穴位图谱定位取穴。将大鼠俯卧位固定于特制鼠板上[14],直刺“大椎”“后会”5mm,“脊中”3—4mm。进针后将“大椎”“脊中”连入SDZ-II电针治疗仪,参数设置为密波,频率为100Hz,电流强度为1—3mA,大鼠表现为轻微抖动,1次/d,30min/次,共7d。

巴氯芬组按成人剂量换算成动物剂量,灌胃量为1ml/100g体质量,灌胃后将大鼠俯卧位固定于特制鼠板上30min,1次/d,共7d。

空白组、假手术组、模型组予相同方式固定相同时间。

1.5 观察指标及检测方法

大鼠神经功能缺损评分:分别在造模后3d(治疗前)和第9d(治疗后)采用Zea-Longa神经功能缺损评分标准[15],见表1。1—3分视为造模成功。

大鼠肌张力评分:①根据改良Ashworth肌张力评分法[16],见表2,分别于造模3d后和第9d对大鼠患侧肱二头肌、肱三头肌、股四头肌、股二头肌、腓肠肌等肌张力进行评分,将等级记为相对应的分数,在治疗前后各进行1次评分。②电生理描记法[11,17]:分别于造模后3d(治疗前)和第9d(治疗后)进行记录,使

表1 Zea-Longa神经功能缺损评分标准

评分	行为指标
0	无神经功能缺损症状,行动正常
1	轻度神经功能缺损,不能完全将患侧的前爪伸展
2	中度神经功能缺损,在爬行时向患侧转圈
3	重度局灶性神经功能缺损,行走时,身体向患侧倾斜
4	意识丧失,无自主运动

表2 改良Ashworth(大鼠)评分标准

评分	行为指标
0级	无肌张力增高,大鼠活动自如
1级	轻度肌张力增高,在屈伸过程中出现一过性停顿
2级	明显肌张力增高,但肢体尚易屈伸,伴轻度共济失调
3级	明显肌张力增高,被动活动困难,伴中度共济失调
4级	肢体活动受限,伴重度共济失调

用BL-420F型生理记录仪测定大鼠患侧股四头肌的肌电信号值。以3.5mL/kg腹腔注射10%水合氯醛，待大鼠麻醉后，将大鼠仰卧至鼠板上，针灸针插入患侧股四头肌和大鼠后肢，并将电极连接于针上，并在大鼠后肢系一根低顺应性的棉线，距离、松紧适中，前后保持一致，通过张力传感器与BL-420相连，给予大鼠0.59的后负荷后，对其进行强度3mA，时间30s的刺激，BL-420收集大鼠产生的肌电信号，其中肌张力越高，肌肉对电刺激的反应越小，对棉线的牵引力越小，张力传感器上能检测到的张力变化越小，电生理描记分值越小。

脑水肿程度测定：将大鼠麻醉断头，取全脑，清除脑皮质表面残留血渍并用滤纸吸干表面水分，放锡纸上称重，得到脑湿重，将脑连同锡纸一同放置于电热恒温鼓风干燥箱中，80℃恒温烘烤24—48h至恒重，进行称重，即可得到脑干重，最后计算脑水肿含量。

脑水肿含量=(脑湿重-脑干重)/脑湿重×100%

TTC染色：将大鼠麻醉断头，取全脑，放－20℃冰箱20min，然后进行切片，用2%的TTC染液染色30min，在第15min时进行翻面，染色完成后拍照，白色区域为梗死区，红色区域为未梗死区。此染色主要用来观察脑缺血区域以及计算梗死体积[18]。

脑梗死体积百分比=(各切片缺血区面积之和)/(各切片脑片面积之和)×100%

取材：电生理描记法检测后，将大鼠断头取脑，用PBS冲洗干净，参照大鼠脑立体图谱，于冰上快速剥离取出患侧皮质并分成两份，装到冻存管里，液氮冻存，随后转移至－80℃冰箱保存备用。

Western Blot法检测大脑皮质KCC2，GABAARα1的表达水平：将存于－80℃冰箱中的组织剪成小块后并加入RIPA裂解液和PMSF后置于研磨机内匀浆，4℃离心取上清，测浓度，加入蛋白上样缓冲液，100℃变性，制胶、上样、电泳、转膜、封闭，加入一抗KCC2(1∶1000)、GABAARα1(1∶2000)于4℃孵育过夜，TBST洗膜10min×3次后放入二抗(1∶5000)室温孵育2h，洗膜后使用ECL发光显影液，通过Image Lab显出条带图，Image J分析读取目的以及内参条带灰度值，求其比值则为目标蛋白的相对表达量。

qPCR法检测大鼠皮质KCC2、GABAARα1 mRNA的表达：将存于－80℃冰箱中的组织取出，放入研磨珠研磨，使用RNA提取试剂盒提取样本总RNA，根据逆转录试剂盒说明书的操作步骤以及测得的RNA浓度将总RNA逆转录为cDNA，并于－80℃保存。其扩增条件为95℃预变性3min、95℃ 5s、60℃ 30s，共40个循环。使用GAPDH作为内参，使用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算相对表达量。引物序列见表3。

表3 引物序列

引物	序列号	长度	bp
r-KCC2-F	GTGCATCTCACCTGGACCAA	171373	116
r-KCC2-R	AAGTTTTCCCACTCCGGCTT	171373	116
r-GABAARα1-F	TGTCTTTGGAGTGACGACCG	29705	188
r-GABAARα1-R	CATCCCACGCATACCCTCTC	29705	188
r-GADPH-F	CAACTCCCTCAAGATTGTCAGCAA	24383	188
r-GADPH-R	GGCATGGACTGTGGTCATGA	24383	188

氯离子含量测定：选用氯比色法试剂盒检测，按照试剂盒内说明书进行操作，测出OD值，根据说明书中氯离子含量计算公式算出各组的含量。

1.6 统计学分析

使用SPSS 26.0软件进行数据分析，符合正态分布且方差齐者以均数±标准差表示，组间使用单因素方差分析，LSD检验对组间进行两两比较，不符合者用中位数(四分位间距)表示并选用秩和检验。以$P<0.05$为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 各组大鼠神经功能缺损评分比较

与空白组比较，假手术组神经功能缺损评分无显著性差异($P>0.05$)；治疗前，与假手术组比较，模型组、电针组和巴氯芬组评分升高($P<0.01$)，表明在造模后大鼠神经功能显著下降，提示模型制备成功。治疗后，与假手术组比较，模型组评分升高($P<0.01$)；与模型组比较，电针组、巴氯芬组得分显著降低($P<0.01$)；且电针组、巴氯芬组得分均与本组治疗前相比显著降低($P<0.01$)；但模型组治疗前后得分无显著性差异($P>0.05$)，提示各治疗组大鼠的神经功能均有所改善。见图1。

2.2 各组大鼠改良 Ashworth评分比较

与空白组比较，假手术组改良Ashworth分级评

分无显著性差异(P>0.05);治疗前,与假手术组比较,模型组、电针组和巴氯芬组评分均显著升高(P<0.01),提示痉挛模型成功。治疗后,与假手术组比较,模型组评分显著升高(P<0.01);与模型组比较,电针组、巴氯芬组评分明显降低(P<0.01);且电针组和巴氯芬组评分与本组治疗前相比显著降低(P<0.01)。模型组治疗前后评分无显著性差异(P>0.05)。见表4。

2.3 各组大鼠BL-420F型生理记录仪测试的张力

与空白组比较,假手术组肌电信号值无显著性差异(P>0.05),治疗前,与假手术组比较,模型组、电针组和巴氯芬组肌电信号值均显著升高(P<0.01),提示造模成功。治疗后,与假手术组比较,模型组肌电信号值均显著升高(P<0.01),与模型组比较,电针组和巴氯芬组肌电信号值均显著降低(P<0.01);且电针组和巴氯芬组评分与本组治疗前相比显著降低(P<0.01)。治疗前后模型组肌电信号值无显著性差异(P>0.05)。见图2。

2.4 各组大鼠脑组织含水量的比较

与空白组相比,假手术组脑组织含水量无明显差异,与假手术组相比,模型组脑组织含水量显著增大(P<0.01),与模型组相比,电针组和巴氯芬组脑组织含水量均显著减小(P<0.01)。电针组与巴氯芬组之间比较无显著性差异(P>0.05)。见图3。

2.5 各组大鼠脑梗死体积的比较

与空白组相比,假手术组梗死体积无显著性差异(P>0.05);与假手术组相比,模型组梗死体积显著增大(P<0.01);与模型组相比,电针组和巴氯芬组梗死体积均显著减小(P<0.01)。电针组与巴氯芬组之间比较无显著性差异(P>0.05)。见图4。

2.6 各组大鼠皮质KCC2、GABAARα1 mRNA表达的比较

与空白组相比,假手术组大脑皮质中KCC2、GABAARα1 mRNA表达量无明显差异(P>0.05);与假手术组相比,模型组KCC2、GABAARα1 mRNA表达量降低(P<0.01);与模型组对比,电针组、巴氯芬组KCC2、GABAARα1mRNA表达量升高(P<0.01)。电针组与巴氯芬组之间比较无显著性差异(P>0.05)。见图5。

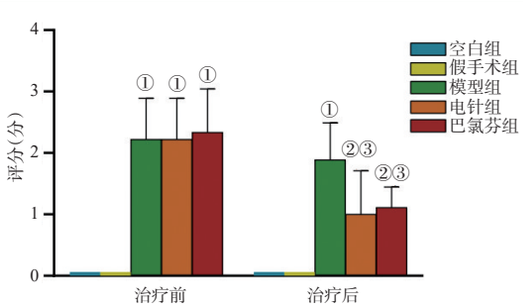
2.7 各组大鼠皮质KCC2、GABAARα1蛋白含量表达的比较

与空白组比较,假手术组大脑皮质中KCC2、GABAARα1蛋白表达水平无明显差异(P>0.05);与假手术组比较,模型组KCC2、GABAARα1蛋白表达水平下降(P<0.01);与模型组比较,电针组和巴氯芬组KCC2、GABAARα1表达水平升高(P<0.05,P<0.01)。电针组与巴氯芬组之间无显著性差异(P>0.05),见图6。

2.8 各组大鼠皮质中氯离子含量的比较

与空白组、假手术组比较,模型组氯离子含量显著增高(P<0.01),与模型组比较,电针组和巴氯芬组氯离子含量显著降低(P<0.01)。见图7。

图1 各组大鼠治疗前后Zea-Longa神经功能缺损症状评分比较 ($\bar{x}\pm s$,9只鼠/组)



注:与同时点假手术组比较,①P<0.01;与同时点模型组比较,②P<0.01;与本组治疗前比较,③P<0.01。

表4 各组大鼠治疗前后改良Ashworth分级评分比较 (M(Q),9只鼠/组)

组别	鼠数	Ashworth评分	
		治疗前	治疗后
空白组	9	0(0)	0(0)
假手术组	9	0(0)	0(0)
模型组	9	3(1)①	2(1)①
电针组	9	3(1)①	1(1)②③
巴氯芬组	9	3(1)①	1(1)②③

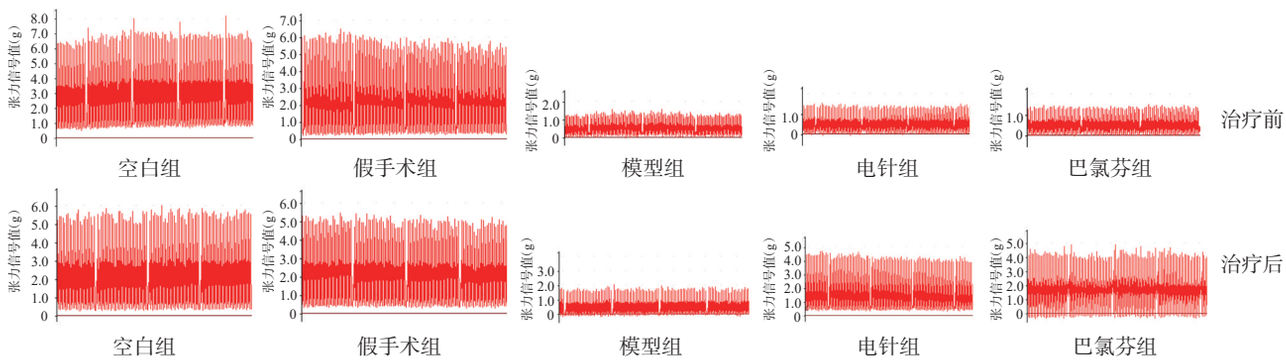
注:与同时点假手术组比较,①P<0.01;与同时点模型组比较,②P<0.01;与本组治疗前比较,③P<0.01。

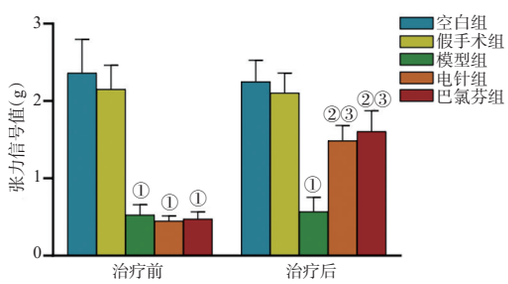
3 讨论

脑卒中患者常伴随着痉挛的发生,痉挛被定义为速度依赖性的牵张反射亢进的肢体功能障碍,持续痉挛状态会导致残疾的加重、主动运动能力丧失,更有甚者引起关节挛缩变形并伴随疼痛,严重影响患者的康复及生活[19]。

脑卒中后肢体痉挛在中医上属“痉证”“拘挛”“筋痹”等范畴,具有肢体瘫痪、筋脉拘挛、屈伸不利

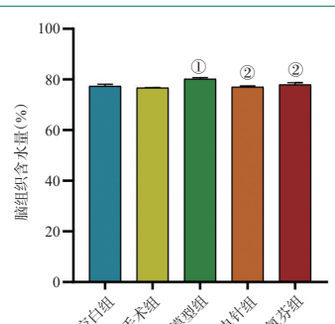
图2　各组大鼠治疗前后肌电信号值的比较　（$\bar{x}\pm s$，9只鼠/组）





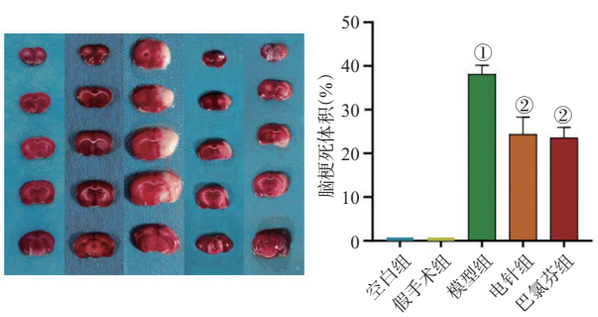
注：与同时点假手术组比较，①P<0.01；与同时点模型组比较，②P<0.01；与本组治疗前比较，③P<0.01。

图3　各组大鼠脑组织含水量的比较（$\bar{x}\pm s$，3只鼠/组）



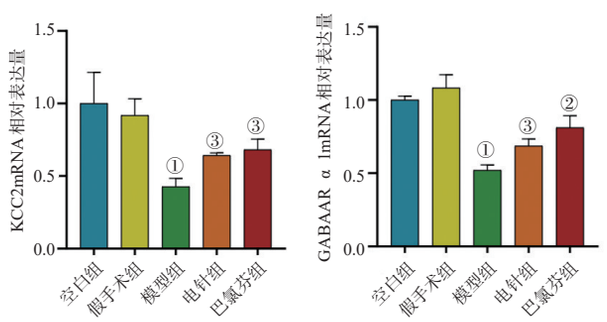
注：与假手术组比较，①P<0.01；与模型组比较，②P<0.01。

图4　各组大鼠脑梗死体积的比较　（$\bar{x}\pm s$，3只鼠/组）



注：与假手术组比较，①P<0.01；与模型组比较，②P<0.01。

图5　各组大鼠皮质KCC2、GABAARα1mRNA表达的比较　（$\bar{x}\pm s$，3只鼠/组）

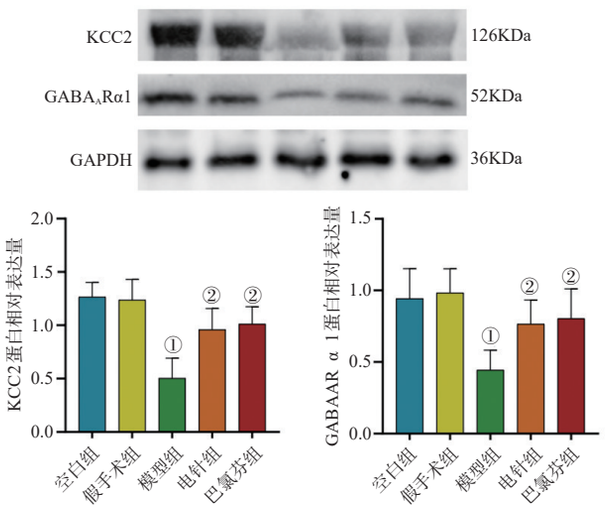


注：与假手术组相比较，①P<0.01；与模型组比较，②P<0.01；③P<0.05。

等特点，同时还可伴有关节挛缩畸形、疼痛以及活动度下降等症状[17,20]。督脉为人体阳脉之总纲，总督一身之阳气，为“阳脉之海”，《难经》有云：“督脉者，起于下极之俞，并于脊里，上至风府，入属于脑”，故与脑部疾病的发生有着密切的关系，中医认为，中风发病表现为督脉痹阻，正如《灵枢·经脉》中以“实则脊强、拘急”来形容痉挛。针刺督脉穴位，有疏通经络，醒神开窍，振奋阳气，温养筋脉等功效，故在治疗脑卒中后肢体痉挛应以调治督脉为主[21—25]。因此本文选择大椎、脊中、后会等督脉穴位[5]，大椎作为“诸阳之会”，刺之可激发阳气，行气通络。“脊中”和“后会”可使气血同阳气向四肢末端运行，使肢体筋脉得以滋养，而缓解痉挛。

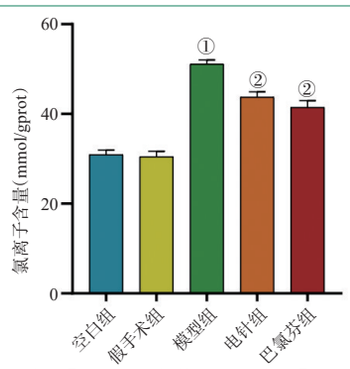
现代医学目前对于痉挛的发病机制尚未统一，目前主要认为痉挛由于α和γ两种运动神经元互相作用所致，当脑卒中发生后，直接影响到高位下行中枢，它通过前庭脊髓束作用在α运动神经元上，提高其活性，使其异常兴奋，导致痉挛的发生；或者高位

图6 各组大鼠皮质KCC2、GABAARα1蛋白含量的比较 （$\bar{x}\pm s$，3只鼠/组）



注：与假手术组比较，①P<0.01；与模型组比较，②P<0.05。

图7 各组大鼠皮质中氯离子含量的比较



注：与假手术组比较，①P<0.01；与模型组比较，②P<0.01。

下行中枢通过网状脊髓束作用在脊髓γ神经元上，使得肌梭的敏感性增加，传入的冲动增加，又导致α运动神经元兴奋，从而引发痉挛。而α神经元兴奋主要表现为兴奋和抑制神经递质的失衡[6,8,26]。作为一种重要的抑制性神经递质，GABA与痉挛的发生密切相关[15,27]，它与突触后膜上的GABAA受体结合，触发神经细胞膜上离子通道的变化，并抑制过量的神经细胞放电，产生抑制作用并防止痉挛的发生[28]。GABA发挥作用的途径主要是基于神经元内低浓度的氯离子，而低氯离子浓度的维持则依赖于KCC2的转运[29—31]。作为神经元特异性转运蛋白，KCC2是将氯离子转运至细胞外的主要通道，也是维持神经细胞超极化膜平衡电位的基础。 当抑制性神经递质与受体结合并激活其相应的受体离子通道时，细胞外氯离子被转移到细胞内部，产生超极化膜电位并抑制神经元活动[32—33]。在病理条件下，运动神经元细胞膜上KCC2的分布减少，导致细胞内氯离子的积累，使GABAARα1受到抑制[34]，平衡被打破，导致疾病的产生。因此，Wang等[35]在动物模型中敲除KCC2的基因导致了神经元氯离子浓度升高，GABA平衡电位去极化和抑制作用降低，从而证实了KCC2对神经元氯化物稳态和GABA功能的重要性。由此可看出KCC2对于维持中枢神经平衡（GABAARα1）的作用至关重要，其表达对于痉挛的防治有重要意义。

本研究显示，脑卒中后大鼠脑皮质中KCC2、GABAARα1的表达减少，表明脑卒中的发病改变了大脑中神经递质的平衡，在经督脉电针和巴氯芬干预后，神经功能评分以及肌张力检测结果较前均有所改善；KCC2、GABAARα1的表达均较模型组有所增高，提示督脉电针及巴氯芬均能缓解卒中后痉挛。巴氯芬作为GABA的衍生物，可与突触前及突触后GABAB受体结合，使兴奋性神经递质释放减弱，能有效缓解痉挛，是最被广泛使用的口服抗痉挛药物[36]，但是研究表明服用巴氯芬可致中枢神经系统抑制症状，长期服药突然停药还会引起精神病症状，影响药物的广泛应用[37]。而督脉电针治疗本病有较好的优势，副作用不明显，效果肯定，因此我们认为其可作为巴氯芬替代治疗方式进行推广。

本实验选用巴氯芬作为阳性对照，实验设计参照其他课题组的研究结果[27,38—39]，巴氯芬灌胃治疗后可促进脑卒中后痉挛大鼠GABAARα1的mRNA及蛋白的表达上升，与本实验研究结果一致。

综上所述，督脉电针可能是通过增加大鼠大脑皮质KCC2、GABAARα1的表达，降低氯离子浓度，使GABA正常 发挥其抑制作用，从而缓解大鼠脑卒中后肢体痉挛状态，可能是督脉电针抗痉挛的机制之一。

参考文献

[1] Tsao CW，Aday AW，Almarzooq ZI，et al. Heart disease and stroke statistics-2022 update：a report from the American heart association[J]. Circulation，2022，145(8)：e153—e639.

[2] Zorowitz RD，Gillard PJ，Brainin M. Poststroke spasticity：

sequelae and burden on stroke survivors and caregivers[J]. Neurology，2013,80(3 Suppl 2):S45—S52.
[3] de Sousa N，Santos D，Monteiro S，et al. Role of baclofen in modulating spasticity and neuroprotection in spinal cord injury[J]. J Neurotrauma，2022,39(3-4):249—258.
[4] 李瑞青，刘承梅，席建明，等. 督脉电针治疗脑卒中后上肢痉挛的临床疗效和表面肌电图特征研究[J]. 中国康复医学杂志，2019,34(10):1157—1161.
[5] 李婧雯，胡延超，王艺莹，等. 督脉电针对脑卒中肢体痉挛大鼠大脑皮质中谷氨酸脱羧酶67和γ-氨基丁酸转氨酶表达的影响[J]. 针刺研究，2021:1—19.
[6] Liu C，Li R，Song X，et al. Effect of catgut implantation at acupoints on GABA（B） and mGluR1 expressions in brain stem of rats with spasticity after stroke[J]. J Tradit Chin Med，2014,34(5):566—571.
[7] Trompetto C，Marinelli L，Mori L，et al. Pathophysiology of spasticity：implications for neurorehabilitation[J]. Biomed Res Int，2014,2014:354906.
[8] 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.
[9] 方露，李向哲，王红星，等. 运动训练对脊髓损伤后痉挛大鼠脊髓内钾-氯离子协同转运体2表达的影响[J]. 中国康复医学杂志，2017,32(12):1326—1330.
[10] 庞青民，赵欲晓，邵素菊，等. 醒脑开窍针刺法通过调控mTOR-EAAT2通路影响脑卒中后痉挛大鼠大脑皮层神经递质代谢[J]. 中国病理生理杂志，2021,37(11):2001—2007.
[11] 母杰丹,马良宵,王俊翔,等. 利用线栓法制备脑卒中后痉挛大鼠模型的研究[J]. 中华中医药杂志,2019,34(12):5687—5690.
[12] Fluri F，Schuhmann MK，Kleinschnitz C. Animal models of ischemic stroke and their application in clinical research [J]. Drug Des Devel Ther，2015,9:3445—3454.
[13] 实验动物常用穴位名称与定位第2部分:大鼠[J]. 针刺研究，2021,46(4):351—352.
[14] 郝文雪,常军超,冯晓东,等. 一种实验用大鼠固定器[P].河南省:CN210843588U,2020-06-26.
[15] 杨慎峭，金荣疆，朱天民，等. 康复训练结合电针对脑卒中肢体痉挛大鼠γ-氨基丁酸能中间神经元表达的影响[J]. 中国康复医学杂志，2013,28(3):198—203.
[16] Ashworth B. Preliminary trial of carisoprodol in multiple sclersis[J]. Practitioner，1964,192:540—542.
[17] 李瑞青，徐志伟，孙伟娟，等. 穴位埋线对脑缺血再灌注后肢体痉挛大鼠谷氨酰胺合成酶表达的影响[J]. 中华中医药杂志，2018,33(10):4736—4739.
[18] 孙天祎，马良宵，王俊翔，等. 恢刺“阳陵泉”穴对脑卒中大鼠肌痉挛状态和脑梗死体积的影响[J]. 针灸临床杂志，2021,37(02):67—72.
[19] 李登耀，罗伦，王孝云，等. “降张五步操”配合以任务为导向的作业训练对脑卒中上肢痉挛患者功能恢复的影响[J]. 神经损伤与功能重建，2022,17(4):237—239.
[20] 黄慧，陈健，邱斐，等. 电针对脑卒中后下肢痉挛患者运动功能及步态的影响[J]. 中国针灸，2022,42(1):23—27.
[21] 林飞燕，郑武熙，张文琪，等. 早期针刺督脉穴、夹脊穴干预中风偏瘫痉挛状态临床观察[J]. 上海针灸杂志，2018,37(06):614—618.
[22] 王光益，王玉龙，龙建军，等. 督脉电针治疗脑卒中后上肢痉挛的疗效及对表面肌电图的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志，2021,19(23):4145—4148.
[23] 邵田娱，丁敏芮，周秀，等. 基于数据挖掘探究针刺督脉治疗急性缺血性中风的腧穴应用规律[J]. 中华中医药杂志，2021,36(02):1118—1121.
[24] 熊丽，王伟贵，郝秀元，等. 平衡灸法结合功能锻炼治疗缺血性脑卒中后下肢痉挛性瘫痪疗效及对血清谷氨酸、γ-氨基丁酸水平的影响[J]. 现代中西医结合杂志，2021,30(35):3916—3919.
[25] 杨延兰.督脉的古今文献研究[D].晋中:山西中医药大学,2019.
[26] Wang K，Smolker HR，Brown MS，et al. Association of gamma-aminobutyric acid and glutamate/glutamine in the lateral prefrontal cortex with patterns of intrinsic functional connectivity in adults[J]. Brain Struct Funct，2020,225(7):1903—1919.
[27] 黄麟荇，蒋海龙，岳增辉，等. 电针结合加味芍药汤电针结合加味芍药汤对脑卒中肢体痉挛大鼠海马GABAa及PSD-95表达的影响[J]. 时珍国医国药，2021,32(11):2777—2781.
[28] 毛雪莲,秦思,金荣疆,等.电针对脑卒中肢体痉挛大鼠γ-氨基丁酸代谢酶的影响[J].中国康复医学杂志,2018,33(1):22—28.
[29] Farmer GE，Balapattabi K，Bachelor ME，et al. AT1a influences GABAA-mediated inhibition through regulation of KCC2 expression[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol，2018,315(5):R972—R982.
[30] Wan L，Chen L，Yu J，et al. Coordinated downregulation of KCC2 and GABAA receptor contributes to inhibitory dysfunction during seizure induction[J]. Biochem Biophys Res Commun，2020,532(3):489—495.
[31] Heubl M，Zhang J，Pressey JC，et al. GABAA receptor dependent synaptic inhibition rapidly tunes KCC2 activity via the $Cl^{(-)}$-sensitive WNK1 kinase[J]. Nat Commun，2017,8(1):1776.
[32] Tillman L，Zhang J. Crossing the chloride channel：the current and potential therapeutic value of the neuronal $K^{(+)}$-$Cl^{(-)}$ cotransporter KCC2[J]. Biomed Res Int，2019,2019:8941046.
[33] Virtanen MA，Uvarov P，Mavrovic M，et al. The multifaceted roles of KCC2 in cortical development[J]. Trends Neurosci，2021,44(5):378—392.
[34] Bilchak JN，Yeakle K，Caron G，et al. Enhancing KCC2 activity decreases hyperreflexia and spasticity after chronic spinal cord injury[J]. Exp Neurol，2021,(338):113605.
[35] Wang C，Ohno K，Furukawa T，et al. Differential expression of KCC2 accounts for the differential GABA responses between relay and intrinsic neurons in the early postnatal rat olfactory bulb[J]. Eur J Neurosci，2005,21(5):1449—1455.
[36] 刘冬，郭建生，刘顶鼎，等. 脑卒中后痉挛性瘫痪药物治疗进展[J]. 贵州中医药大学学报，2020,42(2):91—95.
[37] 赵敏，刘玥，黄振光. 巴氯芬致中枢神经系统药品不良反应的文献分析[J]. 中国医院药学杂志，2020,40(8):929—931.
[38] 刘未艾，岳增辉，谢志强，等. 针药结合对脑卒中肢体痉挛大鼠大脑皮质BDNF、TrkB、GABAa受体表达的影响[J]. 中国中医基础医学杂志，2021,27(6):954—958.
[39] 王彭汉，黄麟荇，郭斌，等. 针药结合对脑卒中肢体痉挛大鼠大脑皮质中GABAa受体和GAT-1表达的影响[J]. 中华中医药杂志，2020,35(11):5764—5768.