

- 15 王 萍,张密霞,庄朋伟,等. 脑缺血再灌注损伤的炎症反应机制研究进展 (J). 天津中医药大学学报, 2014; 33(5): 317-20.
- 16 Han D, Shang W, Wang G, *et al.* Ulinastatin-and thymosin α 1-based immunomodulatory strategy for sepsis: a meta-analysis (J). *Int Immunopharmacol*, 2015; 29(2): 377-82.
- 17 He W, Liu Y, Geng H, *et al.* The regulation effect of ulinastatin on the expression of SSAT2 and AQP4 in myocardial tissue of rats after cardiopulmonary resuscitation (J). *Int J Clin Exp Pathol*, 2015; 8(9): 10792-9.
- 18 徐 杰,宋樱花,马明远,等. 乌司他丁联合大黄治疗对严重脓毒症心肌损伤的影响 (J). 中国中西医结合急救杂志, 2012; 19(3): 159-61.
- 19 Cui T, Zhu G. Ulinastatin attenuates brain edema after traumatic brain injury in rats (J). *Cell Biochem Biophys*, 2015; 71(2): 595-600.
- 20 Zhao G, Zhu Y, Yu D, *et al.* The effect of ulinastatin on hyperglycemia in patients undergoing hepatectomy (J). *J Surg Res*, 2015; 193(1): 223-8.
- 21 Sui B, Li Y, Ma L. Postconditioning improvement effects of ulinastatin on brain injury following cardiopulmonary resuscitation (J). *Exp Ther Med*, 2014; 8(4): 1301-7.

(2017-04-18 修回)

(编辑 袁左鸣)

针刺联合康复训练对大鼠中动脉栓塞模型大鼠神经功能修复的作用

史 华 何 琦¹ 姜元俊 邵素菊² (河南省中医院儿童脑病康复科, 河南 郑州 450002)

(摘 要) 目的 通过大鼠中动脉栓塞(MCAO)法建立大鼠缺血性脑卒中模型,探讨针刺结合康复训练对 MCAO 大鼠神经功能修复的作用。方法 采用 MCAO 法建立大鼠缺血性脑卒中模型,从模型复制成功的大鼠中选取 80 只随机分为模型组、针刺组、康复训练组、针刺+康复组,每组 20 只;假手术组 20 只,除不插入线栓外,其余操作与手术组相同。分别在治疗后 3、7、14 d 进行神经行为评分。于 14 d 治疗干预 1 h 后检测脑电活动,麻醉后取大鼠脑部进行 TTC 染色检测大鼠脑组织梗死面积,HE 染色观察大鼠脑组织病理形态学变化。结果 与假手术组比较,模型组大鼠神经行为评分在第 3、7、14 天均显著增加;第 14 天脑电活动显著下降,脑部梗死面积显著增加,病理组织学评分明显升高,组织形态可见神经细胞肿胀、浸润,神经元坏死凋亡、细胞膜破裂细胞核溶解等,可见模型复制成功。而与模型组比较,针刺组、康复训练组、针刺+康复组大鼠脑电的平均波幅显著增加,脑电活动显著增强,脑部梗死面积明显减少,病理组织学评分明显减少,脑部组织形态学均有不同程度的改善,神经元坏死减少,细胞凋亡也减少,病变范围缩小,其中以针刺+康复组效果最佳($P<0.05$, $P<0.01$)。结论 针刺与康复训练结合用于脑缺血性脑卒中的治疗,可有效改善脑部局部组织损伤,增强神经功能,促进神经功能的恢复。

(关键词) 大鼠中动脉栓塞; 神经功能; 康复训练; 神经元; 缺血性脑卒中

(中图分类号) R743 **(文献标识码)** A **(文章编号)** 1005-9202(2018)02-0276-03; doi: 10.3969/j.issn.1005-9202.2018.02.008

缺血性脑卒中通常由于脑动脉狭窄或栓塞,使得局部脑血流量突然减少或中断,导致局部脑组织血氧以及能量供应不足,引起血管内皮继发性损伤及自主神经功能障碍^(1,2)。由于成熟后的中枢神经如遭到损伤,几乎失去再生能力,而神经的再生(包括神经干细胞的增殖分化、神经轴突分化发芽、突触可塑性的改变)是缺血性脑卒中后神经功能修复的关键之一,因此,如何减少神经再生抑制因子以及促进神经再生及重塑在缺血性脑卒中患者的治疗中显得十分重要^(3,4)。研究者发现,针灸、康复训练、周围环境的刺激与神经再生密切相关,针灸治疗脑缺血性脑卒中有良好的疗效,及时有效的介入治疗能有效地减轻后遗症的发生,改善脑梗死,有助于神经功能的恢复,有效的康复训练也被广泛应用于改善患者脑梗死后的多种神经及运动功能障碍⁽⁵⁻⁸⁾。本文拟探讨针刺结合康

复训练对大鼠中动脉栓塞(MCAO)大鼠神经功能修复的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物 雄性 SD 大鼠, SPF 级, 6 月龄左右, 体重 250~280 g, 由河南省中医院实验动物中心提供, 许可证号: SYXK(豫) 2016-0009。河南省中医院实验动物中心提供 SPF 级动物实验室。温度 20℃~26℃, 湿度 45%~70%, 实验过程中所有大鼠不限饲料及水, 术前 12 h 禁食不禁水。

1.2 试剂与仪器 戊巴比妥钠, 北京普博斯生物进口分装; powerlab 电生理记录仪, AD instruments, BX51 型 Olympus 显微镜, 日本奥林巴斯公司。

1.3 模型复制 腹腔注射戊巴比妥钠麻醉后, 将大鼠仰卧于固定板上固定, 去除颈部手术开口区域被毛, 碘酒、酒精消毒, 颈部选取正中位置进行 1~2 cm 的手术开口, 钝性分离颈部皮下组织与肌肉, 在左侧颈内三角处暴露颈总动脉, 然后小心将颈总动脉与迷走神经分离, 钝性分离颈内外动脉, 用电凝器将颈外动脉的分支烧断并使其凝固, 颈外动脉游离约 5 mm, 将颈外动脉远心端用 4 号手术丝线结扎, 颈总和颈内动脉用止血

基金项目: 国家中医药管理局(2012228); 河南省教育厅重点科研项目(15A360003)

1 河南中医药大学教务处

2 河南中医药大学第三附属医院针灸科

第一作者: 史 华(1982-), 男, 主治医师, 医学硕士, 主要从事儿童神经康复研究。

夹夹闭以阻止血流,于颈外动脉近心端剪一切口以便插入线栓(直径 0.26 mm),4 号手术丝线于切口处打一活结,松开夹持在颈内动脉上的止血夹,沿颈总动脉将线栓插入颈内动脉,使其到达大脑中动脉起始部(18~20 mm),将颈外动脉切口处的活结扎紧,松开止血夹,逐层缝合皮肤。

1.4 分组与治疗 130 只大鼠进行造模,从模型复制成功的大鼠中选取 80 只随机分为模型组、针刺+康复组、针刺组、康复训练组,每组 20 只;假手术组 20 只,除不插入线栓外,其余操作与手术组相同。参照《实验针灸学》进行针刺治疗穴位定位及操作,选取百会、风府。以大鼠局部轻颤为度,留针 20 min。针刺第 1 天在模型手术术后 4 h 实施,置于标准笼中饲养。康复训练组干预方式:将大鼠置于丰富环境笼中饲养,笼中额外添加彩球、玩具、滚筒及积木,每天将环境设置变换 1 次。模型复制手术完成 24 h 后开始进行康复,康复过程中播放舒缓音乐。针刺+康复训练组采用的针刺方法与针刺组相同,并在此基础上增加与康复训练组相同的康复训练方法。

1.5 大鼠神经行为评分 分别在治疗后 3、7、14 d 进行神经行为评分。根据 Berderson 评分法标准:(1)提起大鼠尾巴,前肢屈曲,0 分:双前肢对称伸向地面,1 分:手术的对侧前肢出现腕屈,2 分:肘屈曲,3 分:肩内旋,4 分:腕肘屈曲且肩内旋。(2)大鼠置于无障碍平整地面上,推动一侧肩部向对侧移动,检查阻力,0 分:双侧阻力对等且有力,阻力下降的程度分为轻、中、重三级,计为 1,2,3 分。(3)双前肢的肌张力评分,0 分:大鼠双前肢置于金属网上,双前肢肌张力对等且有力,手术对侧肢张力下降程度分为轻、中、重三级,计为 1,2,3 分。当发现大鼠向一侧不停转圈,计 1 分。分数高,代表大鼠行为障碍越严重。

1.6 对脑电活动的影响 于 14 d 治疗干预 1 h 后检测脑电活动。戊巴比妥麻醉,将大鼠俯卧固定,颅顶去毛,沿正中开口 2 cm,暴露颅骨,于矢状缝两侧旁开 2 mm 处钻孔,将作用电极插入孔内;参比电极插于鼻根部,用 Powerlab 描记脑电图,计算脑电活动强弱,用平均波幅(μV)表示。

1.7 TTC 染色检测大鼠脑组织梗死面积 于 14 d 治疗干预 1 h 后,戊巴比妥钠麻醉,迅速断头,冰浴低温将脑部整体取下,-20℃中放置 20 min 后,从额极开始每 2 mm 作一切片,整个脑部可以得到连续的 6 个切片,用 1% TTC 溶液在避光环境中进行染色,37℃ 孵育 20 min,然后用 10% 多聚甲醛进行固定,24 h 后将脑组织切片进行拍照,Image J 图像分析系统测量照片上不着色部分面积(缺血部分不着色),该区占整个脑组织切片面积的百分比(%)即为大鼠脑组织梗死率。

1.8 对脑组织病理形态学的影响 于 14 d 治疗干预 1 h 后,戊巴比妥钠麻醉,断头取左侧大脑视交叉前后

2 mm 冠状切片组织块置于 10% 甲醛溶液中固定,常规石蜡切片,切片厚度 3~4 μm ,HE 染色,于 LEICA DMLB 型光学显微镜下观察大鼠脑组织形态学变化。半定量评价脑组织损伤,镜下将脑组织损伤程度分为 0~3 级(0 级为 0 分,1 级为 1 分,2 级为 2 分,3 级为 3 分),级别越高损伤程度越严重。

1.9 统计学分析 采用 SPSS18.0 软件,计量资料组间比较行 t 检验。

2 结果

2.1 神经行为评分结果 与假手术组相比,模型组大鼠神经行为评分在第 3、7、14 天均显著增加($P<0.01$);第 3、7 天,与模型组比较,针刺组、康复训练组、针刺+康复组大鼠神经行为评分显著减少($P<0.05$);第 14 天,针刺组、康复组、针刺+康复组大鼠神经行为评分显著减少($P<0.01$)。见表 1。

表 1 针刺+康复治疗对 MCAO 大鼠神经行为评分的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	3 d	7 d	14 d
假手术组	0.00±0.00 ¹⁾	0.00±0.00 ¹⁾	0.00±0.00 ¹⁾
模型组	9.03±0.68	8.24±0.77	8.12±0.69
针刺组	7.70±0.54 ²⁾	6.20±0.70 ²⁾	5.47±0.63 ¹⁾
康复训练组	7.30±1.34 ²⁾	6.60±1.35 ²⁾	5.80±1.03 ¹⁾
针刺+康复组	7.10±1.23 ²⁾	6.20±0.85 ²⁾	4.80±0.74 ¹⁾

与模型组比较:1) $P<0.01$;2) $P<0.05$

2.2 脑电活动检测结果 与假手术组(64.56 ± 8.03) μV 相比,模型组大鼠脑电的平均波幅(29.39 ± 3.24) μV 显著减少($P<0.01$);与模型组比较,针刺组(41.11 ± 3.15) μV 与康复训练组(40.14 ± 3.87) μV 大鼠脑电的平均波幅显著增加($P<0.05$),针刺+康复组大鼠脑电的平均波幅(48.36 ± 3.10) μV 显著增加($P<0.01$)。

2.3 脑组织梗死面积检测结果 与假手术组(0.00 ± 0.00) % 相比,模型组大鼠脑梗死面积比(27.64 ± 2.21) % 显著增加($P<0.01$);与模型组比较,针刺组(19.31 ± 2.05) % 与康复训练组(20.06 ± 3.15) % 大鼠脑梗死面积比显著减少($P<0.05$),针刺+康复组大鼠脑梗死面积比(16.32 ± 2.16) % 显著减少($P<0.01$)。

2.4 脑组织病理形态学检测结果 假手术组:未见脑组织异常,神经元细胞结构完整,无病理改变,病变评分为 0 分;模型组:神经元细胞排列紊乱,损伤严重,大脑皮质见有灶状缺血区,淡染,组织结构紊乱,病变评分为 6.8 分;针刺组:见神经组织坏死、液化形成的圆形或卵圆形,多见核固缩及空泡样变,病变评分为 5.9 分;康复训练组,神经组织坏死、液化形成的圆形或卵圆形,多见核固缩及空泡样变,病变评分为 5.4 分;针

刺+康复组: 神经元排列致密, 损伤较轻, 结构较完整, 病变评分为 4.8 分。见图 1。

2.5 脑组织病理形态学评分结果 与假手术组 (0.00 ± 0.00) 分) 比较, 模型组病理评分值 $(7.20 \pm$

$0.48)$ 分) 显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 针刺组 (5.42 ± 1.02) 分) 与康复训练组 (5.20 ± 1.11) 分) 病理评分分值减小 ($P < 0.05$), 针刺+康复组病理评分 (4.81 ± 1.02) 分) 显著减少 ($P < 0.01$)。

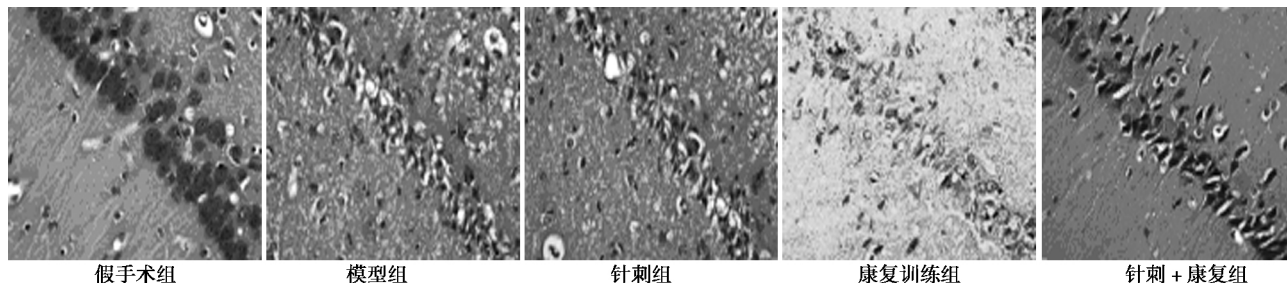


图 1 各组大鼠脑组织病理形态学检测结果 (HE, $\times 400$)

3 讨论

缺血性脑卒中早期出现迟缓性偏瘫, 随着脊髓休克恢复, 肌张力低下的状态得到逐渐恢复, 但会伴有特殊的异常的运动模式^(9,10)。这种情况是由于上运动神经元-锥体束受损后未能恢复, 而表现为上肢肩关节活动受限制而内旋、前臂内收等, 而下肢表现如髋关节伸展以及膝关节伸展而踝关节内翻等^(11,12)。国内外常用 Borden 评分法对神经行为进行评判以评估神经的损伤程度, 分数越高代表动物行为障碍越严重。脑电波是反映脑功能的客观指标, 是大脑活动时皮质细胞群之间电信号传递形成的电位差产生的细胞外电流^(13~15)。缺血性脑卒中后由于局部血流量减少, 病灶局部脑皮质神经元发生病理性改变, 影响突触后电位的释放, 神经兴奋性降低, 反映在脑电波活动的平均波幅呈下降趋势。局局部缺血会引起多种能量依赖性的离子通道发生功能失调、神经递质释放紊乱、蛋白合成障碍、细胞膜合成障碍、多种内平衡被扰乱, 导致神经细胞死亡, 神经元坏死凋亡, 引起多种神经功能及运动功能障碍^(16,17)。本研究结果显示, 针刺与康复训练结合治疗缺血性脑卒中, 可有效改善脑部局部的组织损伤, 增强神经功能, 促进神经功能的恢复。

4 参考文献

- 林梅琴, 柳维林. 针灸治疗脑卒中患者偏瘫步态疗效的系统评价 (J). 康复学报, 2015; 25(1): 54-62.
- Chen X, Wang K. The fate of medications evaluated for ischemic stroke pharmacotherapy over the period 1995-2015 (J). Acta Pharm Sin B, 2016; 6(6): 522-30.
- 姜迎萍, 周益凡, 王波, 等. H-MRS 头针结合康复训练治疗脑梗死恢复期研究 (J). 康复学报, 2016; 26(1): 10-3.
- 许丙海, 时国臣, 何凤, 等. 针刺百会穴和风府穴治疗缺血性脑卒中后轻度认知功能损害的临床研究 (J). 中医药学报, 2012; 40(2): 116-7.
- 刘后, 李梦醒, 刘芳, 等. 针刺联合丰富康复训练对脑缺血损伤大鼠神经功能及 NGF、BDNF 表达的影响 (J). 云南中医学院学报, 2016; 39(1): 1-5.

- 孔妍. 针康法对脑缺血大鼠 Caspase-3 mRNA 和蛋白表达的影响 (J). 针灸临床杂志, 2013; 29(5): 63-5.
- 唐强, 朱路文, 邢艳丽, 等. 针康法对脑缺血大鼠运动功能及 GAP-43、Nogo-A 表达的影响 (J). 针灸临床杂志, 2015; 31(1): 54-7.
- Pernet V, Schwab ME. The role of Nogo-A in axonal plasticity, regrowth and repair (J). Cell Tissue Res, 2012; 349(1): 97-104.
- Yang JP, Liu HJ, Yang H, et al. Therapeutic time window for the neuro-protective effects of NGF when administered after focal cerebral ischemia (J). Neurol Sci, 2011; 32(3): 433-41.
- Zhou D, Fang T, Lu LQ, et al. Neuroprotective potential of cerium oxide nanoparticles for focal cerebral ischemic stroke (J). J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci, 2016; 36(4): 480-6.
- Liang LJ, Yang JM, Jin XC. Cocktail treatment, a promising strategy to treat acute cerebral ischemic stroke (J)? Med Gas Res, 2016; 6(1): 33-8.
- Zhang LD, Wang Z, Li L, et al. Effect of eye acupuncture on the expression of Brain derived neurotrophic factor in hippocampus in rats with cerebral ischemia reperfusion injury (J). World J Acupunct Moxibustion (WJAM), 2012; 22(2): 38-42.
- Moyanova SG, Dijkhuizen RM. Present status and future challenges of electroencephalography and magnetic resonance imaging-based monitoring in preclinical models of focal cerebral ischemia (J). Brain Res Bull, 2014; 102(1): 22-36.
- Abend NS, Dlugos DJ, Clancy RR. A review of long-term EEG monitoring in critically ill children with hypoxic-ischemic encephalopathy, congenital heart disease, ECMO, and stroke (J). J Clin Neurophysiol, 2013; 30(2): 134-42.
- Finnigan S, van Putten MJ. EEG in ischaemic stroke: quantitative EEG can uniquely inform (sub-) acute prognoses and clinical management (J). Clin Neurophysiol, 2013; 124(1): 10-9.
- Yang ZX, Chen PD, Yu HB, et al. Research advances in treatment of cerebral ischemic injury by acupuncture of conception and governor vessels to promote nerve regeneration (J). J Chin Integrative Med, 2012; 10(1): 19-24.
- Jin J, Kang HM, Park C. Voluntary exercise enhances survival and migration of neural progenitor cells after intracerebral haemorrhage in mice (J). Brain Injure, 2010; 24(3): 533-40.

(2016-12-11 修回)
(编辑 徐杰)