电针疗法对脑卒中大鼠肢体痉挛的改善作用

刘俊霞¹, 赵桂桂¹, 牛 岩², 甘 婷¹, 闫震宇¹, 张雅素³

1. 郑州工业应用技术学院医学院, 河南 新郑 451100

2. 新郑市中医院内十科, 河南 新郑 451100

3. 河南中医药大学中医康复学科, 河南 郑州 450000

[摘 要] **目的:**探讨电针疗法对脑卒中大鼠肢体痉挛的改善作用及对运动神经元兴奋性的影响。**方法:**随机选取45只大鼠建立缺血性脑卒中大鼠模型,建模成功大鼠33只,随机分为模型对照组、电针治疗组、巴氯芬组,各11只,另设手术对照组(10只)。电针治疗组和巴氯芬组分别用电针疗法和巴氯芬干预,模型对照组和手术对照组不干预,仅抓取固定。采用Bederson神经功能评分和平衡木行走实验评价神经功能;电生理描记法检测肌张力;苏木精-伊红(HE)染色检测脑组织病理学变化;酶联免疫吸附试验法分析大鼠大脑皮质中谷氨酸(Glu)、 γ -氨基丁酸(GABA)的含量;实时逆转录聚合酶链反应(PCR)检测代谢型谷氨酸受体1a(*Grm1a*)、 γ -氨基丁酸B型受体1(*Gabbr1*)信使RNA(mRNA)相对表达量。**结果:**与模型对照组比较,术后第7天电针治疗组、巴氯芬组神经功能评分有下降趋势,但差异均无统计学意义(均 $P>0.05$);术后第12天电针治疗组和巴氯芬组神经功能评分均下降(均 $P<0.05$)。术后第7天,与手术对照组比较,模型对照组、电针治疗组和巴氯芬组电生理描记结果均降低(均 $P<0.05$),模型对照组、电针治疗组和巴氯芬组电生理描记结果差异均无统计学意义(均 $P>0.05$);术后第12天,与模型对照组比较,电针治疗组和巴氯芬组电生理描记结果均升高(均 $P<0.05$)。手术对照组无细胞水肿及变性,细胞核无固缩,间质未见出血;模型对照组出现细胞水肿变性、间质充血;电针治疗组和巴氯芬组与模型对照组比较细胞质水肿变性和间质出血均减轻。与手术对照组比较,模型对照组、电针治疗组和巴氯芬组Glu含量、*Grm1a* mRNA相对表达量均增加,GABA含量、*Gabbr1* mRNA相对表达量均减少(均 $P<0.05$);与模型对照组比较,电针治疗组和巴氯芬组Glu含量、*Grm1a* mRNA相对表达量均减少,GABA含量、*Gabbr1* mRNA相对表达量均增加(均 $P<0.05$)。**结论:**电针疗法可能通过调节大脑皮质中Glu和GABA表达,调节运动神经元兴奋性,改善脑卒中肢体痉挛状态。

[关键词] 电针疗法;脑卒中;痉挛;运动神经元;谷氨酸; γ -氨基丁酸;SD大鼠

[中图分类号] R743.3;R245 **[文献标志码]** A

收稿日期:2020-09-30 接受日期:2020-11-30 网络预发表日期:2021-04-22

基金项目:河南省高等学校重点科研项目(18A360012)

作者简介:刘俊霞,高级实验师,主要从事康复学实验研究;E-mail:z12fazhu56@163.com; <https://orcid.org/0000-0001-9721-4061>

Effect of electro-acupuncture therapy on limb spasm and excitability of motor neurons in stroke rats

LIU Junxia¹, ZHAO Guigui¹, NIU Yan², GAN Ting¹, YAN Zhenyu¹, ZHANG Yasu³

(1. Medical College of Zhengzhou Institute of Technology, Xinzheng 451100, Henan Province, China; 2. Department of Internal Medicine, Xinzheng Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xinzheng 451100, Henan Province, China; 3. Rehabilitation of Traditional Chinese Medicine, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China)

Corresponding author: LIU Junxia, E-mail: z12fazhu56@163.com, <https://orcid.org/0000-0001-9721-4061>

[**Abstract**] **Objective:** To investigate the effect of electro-acupuncture therapy on limb spasm and excitability of motor neurons in stroke rats. **Methods:** Ischemic stroke model was induced with middle cerebral artery embolization in SD rats. Thirty-three modeled rats were randomly divided into model group, electro-acupuncture group, and baclofen group with 11 rats in each group, and another 10 rats were taken as sham operation group. The electro-acupuncture group and the baclofen group were treated with electro-acupuncture and baclofen tablets respectively. The model group and the sham operation group had no intervention. The neural function was evaluated with Bederson's scale and balance beam test; the muscle tension was measured with electrophysiography; the pathological changes of brain tissue was examined with HE staining; the content of glutamic acid (Glu) and γ -aminobutyric acid (GABA) in rat cerebral cortex was analyze with enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) method, the expression of metabotropic glutamate receptor 1a (*Grm1a*) and γ -aminobutyric acid type B receptor subunit 1 (*Gabbr1*) mRNA were detected with RT-qPCR. **Results:** Compared with the model group, the neurological function scores of the electro-acupuncture group and the baclofen group showed a downward trend at d7 after operation (all $P>0.05$), and the neurological function scores of the electro-acupuncture group and the baclofen group were significantly decreased at d12 after the operation (all $P<0.05$). Compared with sham operation group, the electrophysiological results of model group, electro-acupuncture group and baclofen group were significantly lower (all $P<0.05$), and there was no statistical difference in the electrophysiological results of the model group, electro-acupuncture group and baclofen group at d7 after operation (all $P>0.05$). Compared with the model group, the electrophysiological results of the electro-acupuncture group and baclofen group were significantly increased 12 d after operation (all $P<0.05$). The results of HE staining showed that there was no cell edema and degeneration in the sham operation group, no pyknosis of the nucleus, and no bleeding in the interstitium. Cell edema and degeneration and mesenchymal congestion appeared in the model group. Compared with the model group, the cytoplasmic edema and degeneration and the interstitial bleeding in the electroacupuncture group and the baclofen group were reduced. Compared with sham operation group, the Glu content and the relative expression of *Grm1a* mRNA was increased in the model group, electro-acupuncture group and baclofen group, while the GABA content and the relative expression of *Gabbr1* mRNA decreased (all $P<0.05$).

Compared with model group, the Glu content and the relative expression of *Grm1a* mRNA in the electro-acupuncture group and baclofen group decreased, and the GABA content and relative expression of *Gabbr1* mRNA increased (all $P < 0.05$). **Conclusion:** Electro-acupuncture may improve limb spasm after stroke through regulating the expression of Glu and GABA in the cerebral cortex and the excitability of motor neurons in rats.

[**Key words**] Electro-acupuncture therapy; Stroke; Spasm; Motor neuron; Glutamic acid; γ -aminobutyric acid; SD rat

[J Zhejiang Univ(Med Sci), 2021, 50(3): 361-368.]

[**缩略语**] 谷氨酸(glutamic acid, Glu); 苏木精-伊红(hematoxylin and eosin, HE); 酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA); γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA); 焦碳酸二乙酯(diethyl pyrocarbonate, DEPC); 代谢型谷氨酸受体(metabotropic glutamate receptor, Grm); γ -氨基丁酸 B 型受体(γ -aminobutyric acid type B receptor subunit, Gabbr); 信使RNA(messenger RNA, mRNA)

脑卒中是一种神经功能缺损的急性脑血管病, 发病率、致残率和病死率均较高。研究表明, 全世界每年新发脑卒中患者1500万例, 其中约500万例遗留不同程度残疾, 存在不同程度肢体瘫痪的患者占50%~83%^[1-2]。脑卒中痉挛是最重要的并发症之一, 其不仅阻碍患者运动功能恢复和重建, 而且严重影响患者独立生活能力。目前, 针刺作为治疗脑卒中后肢体痉挛状态的一种疗法受到广泛关注。针刺治疗脑卒中中具有价格低廉、副作用小、操作方便等优点。在长期实践中, 针刺治疗在刺激参数和辨证取穴方面积累了丰富的丰富经验^[3]。尽管针刺治疗脑卒中肢体痉挛疗效显著, 但其具体作用机制报道较少^[4]。本实验探讨电针疗法对脑卒中大鼠肢体痉挛的改善作用及对运动神经元兴奋性的影响, 以期为临床治疗脑卒中肢体痉挛提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF级雄性SD大鼠55只, 7周龄, 体重为(200±20)g, 由上海杰思捷实验动物有限公司提供, 动物生产许可证号为SCXK(沪)2018-0004, 动物使用许可证号为SYXK(沪)2018-0031。在干净通风的环境中饲养大鼠7 d, 温度保持在21~25℃, 相对湿度保持在55%~65%。按照动物实验伦理规范进行实验。

1.2 药物、主要试剂和仪器

巴氯芬(国药准字H19980103, 10 mg/片)为福安药业集团宁波天衡制药有限公司产品; TRIzol为美国Thermo Fisher Scientific公司产品; Glu ELISA试剂盒、GABA ELISA试剂盒为上海酶联生物科技有限公司产品; JH-2肌张力传感器为上海继德教学实验器械厂产品; 平衡木由课题组自制。

1.3 大鼠建模及分组

随机取45只大鼠, 利用大脑中动脉栓塞法建立脑卒中大鼠模型。大鼠术前禁食不禁水12 h, 用3%戊巴比妥钠按30 mg/kg腹腔注射麻醉, 仰卧固定, 沿颈部正中切口, 分离左侧颈总、颈外、颈内动脉, 结扎左侧颈总动脉近心端, 夹闭颈外动脉近心端。左侧颈总动脉远心端置一备用缝合线, 动脉夹夹闭左侧颈总动脉远端, 在左侧颈总动脉近心端和远心端之间剪一个小口, 经左侧颈总动脉插入备好的栓线, 直至大脑中动脉起始段, 插入深度为18.5~20.0 mm, 结扎预留的缝合线, 松开颈总动脉, 缝合创口。大鼠术后青霉素抗感染, 并加强喂养。

大鼠清醒后, 参照Zealanga神经损害评分标准^[3]对其神经功能进行评分: 无神经损伤计0分; 前爪不能完全伸展计1分; 向外侧旋转计2分; 向对侧倾倒计3分; 无法自发行走计4分。采用阿什沃思(Ashworth)量表^[4]对脑卒中后偏瘫肢体肌张力进行评价分级: 肌张力没有增高且活动自如

为0级;肌张力轻度增高,屈伸时出现一次停顿为1级;肌张力明显增高,轻度共济失调为2级;肌张力明显增高,中度共济失调为3级;肢体屈伸受限,重度共济失调为4级。肌张力1级及以上, Zealanga 神经损害评分2~3分者纳入本次实验。将建模成功的33只大鼠随机分为电针治疗组、模型对照组、巴氯芬组,各11只。10只大鼠为手术对照组,直接结扎左侧颈总动脉,不插线栓,其他操作同上。

1.4 各组干预方法

造模成功后5 d对电针治疗组和巴氯芬组进行干预。电针治疗组:取穴位置参照《实验针灸学》^[5],针刺大鼠患侧肢体足三里、曲池、阳陵泉以及外关穴,连接韩氏电针仪,疏波,频率为2 Hz,以被刺激大鼠肢体出现规律性收缩、颤动的电流强度为参考值,通电25 min。巴氯芬组:抓取固定后,根据人体与大鼠体表面积计算给药量,灌胃巴氯芬片0.4 mg/kg。模型对照组和手术对照组仅抓取固定后灌胃等渗氯化钠溶液。各组大鼠每日8:00—10:00进行治疗,每日干预1次,连续1周。

1.5 Bederson 神经功能评分和平衡木行走评分评估神经功能缺损

参照 Bederson 神经功能评分标准^[6],由未知分组情况的工作人员在术后第1、7、12天对大鼠进行神经功能评分。轻提大鼠尾巴,使其高于桌面10 cm。正常大鼠的2只前爪伸向桌面,脑卒中大鼠对侧前肢屈曲。然后提起尾部并用手轻推大鼠肩部,致前肢滑动几厘米,在不同方向重复这一动作数次。正常大鼠会在不同方向以同样的力抵抗推力。

参考文献^[7]平衡木行走评分标准,于术后第1、7、12天对大鼠进行评分。大鼠能跳上横木且行走不会跌倒计0分;能跳上横木且行走跌倒概率小于50%计1分;能跳上横木且行走跌倒概率大于等于50%计2分;健侧后肢帮助下跳上横木但不能向前移动计3分;坐在平衡木上不能行走计4分;从平衡木上掉下来计5分。

1.6 电生理描记法检测肌张力

各组大鼠术后第7、12天,采用3%戊巴比妥钠(30 mg/kg)腹腔注射,采用 SLYB 型四道生理记录仪测定间接肌张力;在大鼠左后肢的股四头肌内插入端电极,另一端插入大鼠尾部,将一根低顺

应性的棉线系在大鼠左后肢的下端,棉线经张力传感器与 SLYB 型四道生理记录仪相连。对股四头肌进行定时刺激(刺激量4 mA、刺激时间15 s),记录电刺激所产生的电信号。肌张力越高,刺激痉挛肢体被动运动幅度越小,对棉线的牵引力越小,电信号也就越弱,电生理描记分值越小,反之亦然。电信号间接反映大鼠肌张力的改变。

1.7 获取大鼠脑干组织标本

电生理描记法测肌张力结束后,处死各组大鼠,取出脑干组织,一部分放置于4%多聚甲醛中固定,另一部分用锡箔纸包好后于-80℃保存。

1.8 HE 染色观察脑干组织病理学变化

从4%多聚甲醛固定液中取出脑干组织,放入包埋盒中,流水冲洗30 min,梯度乙醇脱水(75%乙醇1 min→80%乙醇1 min→95%乙醇1 min→100%乙醇2 min),用二甲苯使组织透明,常规石蜡包埋,切片(4 μm)。切片在45℃恒温箱中烘干;二甲苯脱蜡5 min;梯度乙醇至水(100%乙醇2 min→95%乙醇1 min→80%乙醇1 min→75%乙醇1 min),蒸馏水洗10 min;切片取出放苏木精染色液中5 min,氨水中分色5 s,流水冲洗1 h后蒸馏水中浸泡,70%乙醇和90%乙醇中各脱水10 min,在乙醇伊红染色液中染色2 min;染色后的切片经100%乙醇脱水,再经二甲苯使切片透明。将已透明的切片滴上树胶,盖上盖玻片封片。显微镜下观察脑干组织的病理学变化。

1.9 ELISA 检测大鼠皮质 Glu、GABA 水平

取大鼠患病一侧的大脑半球,分离皮质,称取重量,加入适量磷酸盐缓冲液(酸碱度值为7.4)充分匀浆,3600×g离心15 min,离心半径10 cm,收集上清液,保存于-20℃待测。按照 ELISA 试剂盒说明书对标准品进行稀释与加样,设置空白孔、待测样品孔。在酶标包被板待测样品孔中加40 μL 样品稀释液,再加10 μL待测样品,轻晃混匀;用封板膜封板后在37℃恒温箱中孵育30 min,揭掉封板膜,弃去液体,甩干;每孔加满洗涤液,静置30 s,弃去液体,重复5次,甩干;待测孔每孔加50 μL酶标试剂,封板后37℃恒温箱孵育30 min,洗涤液洗涤5次;每孔加显色液A 50 μL,加显色液B 50 μL,轻晃混匀;37℃避光显色15 min,每孔加50 μL终止液,终止反应。用全自动酶标仪测定各孔450 nm处的吸光度值,通过绘制标准曲线得出 Glu 和 GABA 的浓度。

1.10 实时逆转录PCR检测基因表达水平

取保存于液氮中的皮质组织80 mg,充分研磨,加入TRIzol裂解液,提取总RNA,检测RNA的浓度和纯度,按照逆转录试剂盒说明书逆转录为cDNA,以cDNA为模板,进行实时PCR扩增。按照反应体系(模板cDNA 2 μL,正向、反向引物各0.8 μL,2×qPCR Mix 10 μL,加DEPC水至总体积20 μL),将模板、引物、Mix以及DEPC水加入实时定量PCR专用96孔板中,每个基因设置5个复孔,封膜,振荡离心机瞬时离心后,放入实时定量PCR扩增仪中,设置反应条件为95℃预变性30 s,95℃变性5 s,55℃退火30 s,72℃延伸30 s,40个循环。以β-actin为内参基因。引物由北京擎科生物科技有限公司合成,引物序列如下。*Grm1a*:正向5'-ATCCGTCAATCTACTAATTTCG-3',反向5'-ACCGTTAGCAATGCCACCTA-3';*Gabbr1*:正向5'-CATTACCGATGGATTTCGATA-3',反向5'-ATTCCTTAGTGTACCATGAC-3'。

1.11 统计学方法

采用SPSS 26.0软件分析数据,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多样本计量资料比较采用单因素方差分析,两两样本比较采用LSD-*t*检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组神经功能缺损程度比较

各组术后Bederson神经功能评分见表1。手术对照组无神经损伤。与模型对照组比较,术后第1天电针治疗组和巴氯芬组神经功能评分差异无统计学意义(均 $P>0.05$);术后第7天电针治疗组、巴氯芬组神经功能评分均有降低趋势,但差异无统计学意义(均 $P>0.05$);术后第12天电针治疗组和巴氯芬组神经功能评分显著降低,差异有统计学意义(均 $P<0.05$)。电针治疗组与巴氯芬组Bederson神经功能评分差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。

各组术后平衡木行走评分见表2。与模型对照组比较,术后第7天电针治疗组、巴氯芬组平衡木行走评分均有降低趋势,但差异无统计学意义(均 $P>0.05$);术后第12天电针治疗组、巴氯芬组平衡木行走评分均降低,差异有统计学意义(均 $P<0.05$)。电针治疗组与巴氯芬组平衡木行走评分差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。

表1 各组Bederson神经功能评分值比较

Table 1 Bederson nerve function score in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	第1天	第7天	第12天
手术对照组	10	0.20±0.01	0.20±0.00	0.10±0.00
模型对照组	11	2.18±0.65*	2.01±0.59*	1.78±0.43*
电针治疗组	11	1.92±0.54*	1.73±0.45*	0.64±0.08*#
巴氯芬组	11	1.89±0.52*	1.72±0.46*	0.62±0.07*#
F值	—	61.202	66.020	161.191
P值	—	<0.01	<0.01	<0.01

“—”:无相关数据。与手术对照组比较,* $P<0.05$;与模型对照组比较,# $P<0.05$ 。

表2 各组平衡木行走评分值比较

Table 2 Balance beam walking scores in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	第1天	第7天	第12天
手术对照组	10	0.30±0.01	0.20±0.00	0.20±0.01
模型对照组	11	4.00±1.12*	3.34±0.98*	2.85±0.76*
电针治疗组	11	3.65±0.87*	3.14±0.86*	1.81±0.49*#
巴氯芬组	11	3.63±0.78*	3.12±0.77*	1.79±0.48*#
F值	—	78.751	65.357	73.219
P值	—	<0.01	<0.01	<0.01

“—”:无相关数据。与手术对照组比较,* $P<0.05$;与模型对照组比较,# $P<0.05$ 。

上述结果提示,电针治疗可以改善脑缺血大鼠的神经功能。

2.2 各组肌张力比较

各组术后电生理描记分值比较见表3。术后第7天,与手术对照组比较,模型对照组、电针治疗组和巴氯芬组肌张力均增大,差异有统计学意义(均 $P<0.05$);与模型对照组比较,电针治疗组和巴氯芬组肌张力差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。术后第12天,与模型对照组比较,电针治

表3 各组电生理描记分值比较

Table 3 Electrophysiological tracing results in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	第7天	第12天
手术对照组	10	7.41±1.17	7.40±1.27
模型对照组	11	4.72±0.61*	4.91±0.57*
电针治疗组	11	4.66±0.58*	6.58±0.75*#
巴氯芬组	11	4.68±0.52*	6.60±0.72*#
F值	—	56.464	33.059
P值	—	<0.01	<0.01

“—”:无相关数据。与手术对照组比较,* $P<0.05$;与模型对照组比较,# $P<0.05$ 。

疗组和巴氯芬组肌张力均减小,差异有统计学意义(均 $P<0.05$);电针治疗组与巴氯芬组肌张力差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。结果提示,电针治疗对脑卒中大鼠肢体痉挛具有改善作用。

2.3 各组脑干组织病理学变化

HE染色结果可见,手术对照组细胞无水肿变性,细胞核无固缩且间质无出血症状;模型对照组细胞水肿变性,细胞核固缩且间质充血水肿较为明显;与模型对照组比较,电针治疗组和巴氯芬组细胞质水肿变性减轻,间质出血减轻(图1)。结果提示,电针治疗可以改善脑卒中大鼠脑干组织病理学变化。

手术对照组(A)脑干组织病理学变化正常;模型对照组(B)细胞水肿变性,细胞核固缩且间质充血水肿较为明显,电针治疗组(C)和巴氯芬组(D)细胞质水肿变性,细胞核固缩且间质充血水肿均减轻。标尺=20 μm 。

图1 各组脑干组织病理学变化(HE)

Figure 1 Histopathological changes of brain stem in each group

2.4 各组大脑皮质中Glu、GABA含量比较

各组术后大脑皮质中Glu、GABA含量比较见表4。与手术对照组比较,模型对照组、电针治疗组和巴氯芬组Glu含量升高,GABA含量降低,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);与模型对照组比较,电针治疗组和巴氯芬组Glu含量降低,GABA含量升高,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);电针治疗组与巴氯芬组Glu和GABA含量差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。结果提示,电针治疗能够调节脑卒中大鼠大脑皮质Glu、GABA水平。

2.5 各组大脑皮质中Grm1a、Gabbr1 mRNA表达量比较

各组术后大脑皮质中Grm1a、Gabbr1 mRNA相

表4 各组大脑皮质中谷氨酸、 γ -氨基丁酸含量比较

Table 4 Glutamic acid and γ -aminobutyric acid content in each group

(x $\pm$ s)			
组别	n	Glu(mg/L)	GABA($\mu\text{mol/L}$)
手术对照组	10	9.96 $\pm$ 1.12	6.62 $\pm$ 0.71
模型对照组	11	15.50 $\pm$ 1.72*	4.14 $\pm$ 0.51*
电针治疗组	11	10.21 $\pm$ 1.22*#	5.42 $\pm$ 0.62*#
巴氯芬组	11	10.20 $\pm$ 1.13*#	5.41 $\pm$ 0.61*#
F值	—	85.690	53.539
P值	—	<0.01	<0.01

“—”:无相关数据。与手术对照组比较,* $P<0.05$;与模型对照组比较,# $P<0.05$ 。Glu:谷氨酸;GABA: γ -氨基丁酸。

对表达量比较见表5。与手术对照组比较,模型对照组、电针治疗组和巴氯芬组Grm1a mRNA相对表达量增加,Gabbr1 mRNA相对表达量减少,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);与模型对照组比较,电针治疗组和巴氯芬组Grm1a mRNA相对表达量减少,Gabbr1 mRNA相对表达量增加,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);电针治疗组与巴氯芬组Grm1a、Gabbr1 mRNA相对表达量差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。结果提示,电针治疗能够平衡Grm1a和Gabbr1 mRNA表达,对脑卒中后肢体痉挛和运动神经元兴奋性有改善作用。

表5 各组大脑皮质中Grm1a、Gabbr1 mRNA相对表达量比较

Table 5 mRNA expression of Grm1a and Gabbr1 in each group

(x $\pm$ s)			
组别	n	Grm1a	Gabbr1
手术对照组	10	0.30 $\pm$ 0.07	0.61 $\pm$ 0.09
模型对照组	11	0.57 $\pm$ 0.09*	0.29 $\pm$ 0.15*
电针治疗组	11	0.38 $\pm$ 0.08*#	0.42 $\pm$ 0.08*#
巴氯芬组	11	0.37 $\pm$ 0.04*#	0.43 $\pm$ 0.05*#
F值	—	48.334	28.772
P值	—	<0.01	<0.01

“—”:无相关数据。与手术对照组比较,* $P<0.05$;与模型对照组比较,# $P<0.05$ 。Grm1a:代谢型谷氨酸受体1a;Gabbr1: γ -氨基丁酸B型受体1。

3 讨论

偏瘫是脑卒中后发生率最高的后遗症,是影响患者生活质量的主要原因^[8]。脑卒中偏瘫后16 d左右,约90%的脑卒中患者会发生痉挛^[9]。现代医学认为,痉挛是由牵张反射兴奋性增高所致

的一种运动障碍,其特征是速度依赖的紧张性牵张反射亢进^[10]。研究表明,痉挛出现在偏瘫恢复过程中的痉挛期和联带运动期,在此期间,如何抑制痉挛和诱导分离运动的产生是偏瘫治疗中急需解决的重要问题。目前对于偏瘫痉挛状态尚缺乏有效的治疗手段,如何有效抑制痉挛仍是现代医学的难题。本文资料通过研究电针治疗对脑卒中大鼠肢体痉挛改善和运动神经元兴奋性的影响,以期对脑卒中痉挛治疗提供一定理论依据。

痉挛属于运动神经元综合征组成部分之一,目前脑卒中后肢体偏瘫痉挛的具体病理和生理机制尚不清楚^[11]。肢体痉挛可能与脊髓反射亢进以及脊髓水平新神经旁系形成有关^[12]。肢体痉挛也可能与脊髓上神经通路未起到调节作用以致肌肉流变性质改变有关^[13]。以上研究提示,牵张反射的亢进在肌痉挛中起着重要的作用^[14]。 α 运动神经元以及 γ 运动神经元的共同作用产生肌张力, γ 运动神经元能够通过 γ 环路调节 α 运动神经元活性。大脑受损后高级中枢失去了对随意运动的控制功能,转而存在的是脊髓控制下以痉挛为异常的运动模式^[15]。目前脑卒中后肢体痉挛较公认的机制是兴奋性递质相对增多,抑制性氨基酸类神经递质相对减少,造成突触前抑制作用下降,从而引起前角 α 运动神经元兴奋性增高^[16]。既往研究报道,针刺在改善患者脑卒中后痉挛状态方面疗效显著^[17]。本文资料显示,与模型对照组比较,电针治疗12 d后大鼠的Bederson神经功能评分和平衡木行走评分均减小,肌张力减小,细胞质水肿变性减轻,间质出血减轻,提示电针可改善脑卒中大鼠的肢体痉挛,并对其运动神经元的兴奋有积极影响。

现代医学普遍认为,神经元兴奋导致的中枢神经系统稳态失衡可能是兴奋性神经机制过多或大脑中枢抑制性神经递质缺乏引起的^[18]。GABA大多存在于中枢神经系统内,与运动功能密切相关^[19]。研究表明,GABA在痉挛产生、加强和缓解中发挥重要作用,GABA介导中枢神经系统中50%的抑制性神经突触传递,其主要通过结合不同类型的GABA受体诱发神经抑制,对神经元细胞的电活动造成影响,从而产生突触前和突触后抑制作用^[20]。GABA递质和突触间信号传递主要受GABA转运蛋白的调控,该转运蛋白可以影响GABA的回收过程,从而影响神经递质的传

递^[21]。Glu是兴奋性神经递质,过度分泌会引起神经元和其他细胞损害,与多种神经系统功能障碍密切相关^[22]。本文资料中,与手术对照组比较,模型对照组Glu含量升高,GABA含量降低;经过电针和巴氯芬治疗后,脑卒中大鼠大脑皮质Glu含量降低而GABA含量升高。结果表明,电针可以平衡GABA和Glu表达,对脑卒中后肢体痉挛和运动神经元兴奋性有显著改善作用。

综上所述,电针治疗能够减轻脑卒中大鼠肢体痉挛症状,其可能是通过调节大脑皮质中Glu和GABA含量及表达,调节运动神经元兴奋性,从而改善肢体痉挛。本研究结果可为临床治疗脑卒中后肢体痉挛提供一定理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] MÖNCH S, LEHM M, MAEGERLEIN C, et al. Worse endovascular mechanical recanalization results for patients with in-hospital onset acute ischemic stroke[J]. *J Neurol*, 2018, 265(11): 2525-2530.
- [2] LEE S H, SUH D C, CHO S H, et al. Subacute endovascular recanalization of symptomatic cerebral artery occlusion: a propensity score-matched analysis[J]. *J NeuroIntervent Surg*, 2018, 10(6): 536-542.
- [3] 黄志强, 赵宁, 苏昭元, 等. 刺络拔罐联合康复训练对脑卒中后上肢屈肘痉挛状态及肌电积分值的临床研究[J]. *中国针灸*, 2018, 38(2): 119-124.
HUANG Zhiqiang, ZHAO Ning, SU Zhaoyuan, et al. Effects of pricking and cupping combined with rehabilitation training on elbow flexion spasticity of upper limb after stroke and its IEMG value[J]. *Chinese Acupuncture & Maribustion*, 2018, 38(2): 119-124. (in Chinese)
- [4] 贾澄杰, 张宏如, 倪光夏, 等. 头针加音乐联合康复治疗脑卒中后痉挛性偏瘫: 随机对照研究[J]. *中国针灸*, 2017, 37(12): 1271-1275.
JIA Chengjie, ZHANG Hongru, NI Guangxia, et al. Spasmodic hemiplegia after stroke treated with scalp acupuncture, music therapy and rehabilitation: a randomized controlled trial[J]. *Chinese Acupuncture & Maribustion*, 2017, 37(12): 1271-1275. (in Chinese)
- [5] 李忠仁. *实验针灸学*[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2008: 33-35.
LI Zhongren. *Experimental acupuncture science*[M]. Beijing: China Traditional Chinese Medicine Press, 2008: 33-35. (in Chinese)
- [6] BIEBER M, GRONEWOLD J, SCHARF A C, et al. Validity and reliability of neurological scores in mice exposed to middle cerebral artery occlusion[J]. *Stroke*,

- 2019, 50: 2875-2882.
- [7] 曲慧玲, 赵传胜. 强制性运动疗法结合抗抑郁治疗对脑梗死大鼠神经功能的影响[J]. *中国医科大学学报*, 2018, 47(12): 1085-1088.
QU Huiling, ZHAO Chuansheng. Effects of constraint-induced movement therapy combined with antidepressant treatment on recovery after cerebral infarction in rats[J]. *Journal of China Medical University*, 2018, 47(12): 1085-1088. (in Chinese)
 - [8] TOMIDA K, SONODA S, HIRANO S, et al. Randomized controlled trial of gait training using gait exercise assist robot (gear) in stroke patients with hemiplegia[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2019, 28: 2421-2428.
 - [9] HONG Z, SUI M, ZHUANG Z, et al. Effectiveness of neuromuscular electrical stimulation on lower limbs of patients with hemiplegia after chronic stroke: a systematic review[J]. *Arch Phys Med Rehabil*, 2018, 99: 1011-1022.e1.
 - [10] YAN R, ZHANG Y, LIM J, et al. The effect and biomechanical mechanisms of intradermal needle for post-stroke hemiplegia recovery[J/OL]. *Medicine*, 2018, 97: e0448.
 - [11] MIWA T, HANAI T, MORINO K, et al. Effect of l-carnitine supplementation on muscle cramps induced by stroke: a case report[J]. *Nutrition*, 2020, 71: 110638.
 - [12] ZHANG J J, FONG K N K. Effects of priming intermittent theta burst stimulation on upper limb motor recovery after stroke: study protocol for a proof-of-concept randomised controlled trial[J/OL]. *BMJ Open*, 2020, 10: e035348.
 - [13] CHATTERJEE K, STOCKLEY R C, LANE S, et al. PULSE-I - is repetitive upper limb sensory stimulation early after stroke feasible and acceptable? A stratified single-blinded randomised controlled feasibility study[J]. *Trials*, 2019, 20: 388.
 - [14] ZHAO J L, CHEN P M, ZHANG T, et al. Inter-rater and intra-rater reliability of the chinese version of the action research arm test in people with stroke[J]. *Front Neurol*, 2019, 10: 540.
 - [15] ERAIFEJ J, CLARK W, FRANCE B, et al. Effectiveness of upper limb functional electrical stimulation after stroke for the improvement of activities of daily living and motor function: a systematic review and meta-analysis[J]. *Syst Rev*, 2017, 6: 40.
 - [16] ZHANG J J Q, FONG K N K, WELAGE N, et al. The activation of the mirror neuron system during action observation and action execution with mirror visual feedback in stroke: a systematic review[J]. *Neural Plast*, 2018, 2018: 1-14.
 - [17] 黄馨云, 夏秋芳, 朱慧雯, 等. 运动针法联合康复训练治疗脑卒中后上肢痉挛性瘫痪疗效观察[J]. *中国针灸*, 2020, 40(5): 473-478.
HUANG Xinyun, XIA Qiufang, ZHU Huiwen, et al. Therapeutic effect on post-stroke spastic paralysis of upper extremity treated with combination of kinematic-acupuncture therapy and rehabilitation training[J]. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 2020, 40(5): 473-478. (in Chinese)
 - [18] MUÑOZ-LOPETEGI A, DE BRUIJN M A A M, BOUKHRISSI S, et al. Neurologic syndromes related to anti-GAD65[J/OL]. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*, 2020, 7: e696.
 - [19] DALAKAS M C, RAKOCEVIC G, DAMBROSIA J M, et al. A double-blind, placebo-controlled study of rituximab in patients with stiff person syndrome[J]. *Ann Neurol*, 2017, 82: 271-277.
 - [20] LIU J, WANG L N, MA X, et al. Gamma aminobutyric acid (GABA) receptor agonists for acute stroke[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2016, 10(10): CD009622
 - [21] WANG J X, MU J D, MA L X, et al. Waggle needling wields preferable neuroprotective and anti-spastic effects on post-stroke spasticity rats by attenuating γ -aminobutyric acid transaminase and enhancing γ -aminobutyric acid[J]. *Neuroreport*, 2020, 31(10): 708-716.
 - [22] NICOLO J P, O'BRIEN T J, KWAN P. Role of cerebral glutamate in post-stroke epileptogenesis[J]. *NeuroImage-Clin*, 2019, 24: 102069.

[本文编辑 沈 敏 余 方]