

· 针灸推拿 ·

本文引用:陈海南,卢园,王兰兰,孙梦龙,薛惠天,杨舟,彭亮.按法对脑卒中肌痉挛大鼠脊髓内5-HT2B受体、5-HT2C受体表达与GABA含量的影响[J].湖南中医药大学学报,2022,42(7):1169-1174.

按法对脑卒中肌痉挛大鼠脊髓内5-HT2B受体、5-HT2C受体表达与GABA含量的影响

陈海南,卢园,王兰兰,孙梦龙,薛惠天,杨舟*,彭亮*
(湖南中医药大学,湖南长沙410208)

[摘要] 目的 观察按法对脑卒中肌痉挛大鼠脊髓内5-羟色胺2B(5-hydroxytryptamine 2B, 5-HT2B)受体和5-羟色胺2C(5-hydroxytryptamine 2C, 5-HT2C)受体表达水平与 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)含量变化的影响。方法 32只大鼠采用随机数字表法均分为4组,分别是空白组、假手术组、模型组和治疗组,模型组和治疗组构造MCAO脑缺血模型,假手术组进行与模型组相同的手术操作但不插入线栓。后通过改良Ashworth法测定大鼠的肌张力水平,平衡木实验测定大鼠的运动功能,Western blot法检测脊髓中5-HT2B受体和5-HT2C受体表达情况,ELISA法检测脊髓中GABA含量。结果 治疗后,改良Ashworth肌张力评分方面,模型组、治疗组明显高于空白组和假手术组($P<0.05$),而治疗组肌张力水平显著低于模型组($P<0.05$);平衡木运动能力评分方面,模型组、治疗组评分均显著低于空白组和假手术组($P<0.05$),而治疗组评分显著高于模型组($P<0.05$);模型组、治疗组5-HT2B受体和5-HT2C受体表达量相比于空白组和假手术组有明显提升($P<0.05$),且治疗组中5-HT2B受体和5-HT2C受体表达量显著低于模型组($P<0.05$);模型组GABA含量低于空白组和假手术组($P<0.05$),且治疗组GABA含量高于模型组($P<0.05$)。结论 按法可以有效缓解脑卒中后大鼠的肌痉挛、降低肌张力、提升运动功能恢复速度,其机制可能与脊髓中的5-HT2B受体和5-HT2C受体的表达以及GABA释放量有关。

[关键词] 脑卒中;按法;肌痉挛;5-羟色胺受体; γ -氨基丁酸;改良Ashworth肌张力评分;平衡木运动能力评分

[中图分类号]R244

[文献标志码]A

[文章编号]doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.07.017

Effect of the pressing manipulation on the expression of 5-HT2B receptor and 5-HT2C receptor and GABA content in the spinal cord of rats with cerebral apoplexy muscle spasm

CHEN Hainan, LU Yuan, WANG Lanlan, SUN Menglong, XUE Huitian, YANG Zhou*, PENG Liang*
(Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effect of the pressing manipulation on the expression levels of 5-hydroxytryptamine 2B (5-HT2B) receptor and 5-hydroxytryptamine 2C (5-HT2C) receptor and the changes of γ -aminobutyric acid (GABA) content in the spinal cord of rats with cerebral apoplexy muscle spasm. **Methods** A total of 32 rats were divided into 4 groups by random number table method, namely blank group, sham operation group, model group and treatment group. The model group and treatment group constructed the MCAO cerebral ischemia model, and the sham operation group performed the same operation as the model group without inserting the suture. The muscle tension level of the rats was measured by the modified Ashworth muscle tension score, the motor function of the rats was measured by the balance beam experiment, the expression of 5-HT2B receptor and 5-HT2C receptor in the spinal cord was measured by Western blot, and the GABA content in the spinal cord was measured by ELISA. **Results** After treatment, the modified Ashworth muscle tension score in the model group and the treatment group was significantly higher than that in the blank group and the sham operation group ($P<0.05$), while the muscle tension level in the treatment group was significantly

[收稿日期]2021-12-21

[基金项目]国家自然科学基金项目(82174521);湖南省教育厅优秀青年项目(19B438)。

[第一作者]陈海南,女,硕士研究生,研究方向:推拿治病机理。

[通信作者]*杨舟,男,硕士,讲师,E-mail: ziv_yeung@qq.com;彭亮,男,博士,博士研究生导师,E-mail:pengliangleo@foxmail.com。

lower than that in the model group ($P<0.05$); in terms of balance beam exercise ability score, the scores of the model group and the treatment group were significantly lower than those of the blank group and the sham operation group ($P<0.05$), while the score of the treatment group was significantly higher than that of the model group ($P<0.05$); the expressions of 5-HT_{2B} receptor and 5-HT_{2C} receptor in the model group and the treatment group were significantly higher than those in the blank group and the sham operation group ($P<0.05$), and the expression levels of 5-HT_{2B} receptor and 5-HT_{2C} receptor in the treatment group were significantly lower than those in the model group ($P<0.05$); the content of GABA in the model group was lower than that in the blank group and the sham operation group ($P<0.05$), and the content of GABA in the treatment group was higher than that in the model group ($P<0.05$). **Conclusion** Pressing manipulation can effectively relieve muscle spasm of rats after cerebral apoplexy, reduce muscle tension, and improve the recovery speed of motor ability. The mechanism may be related to the expression of 5-HT_{2B} receptor and 5-HT_{2C} receptor in spinal cord and the release of GABA.

[**Keywords**] cerebral apoplexy; pressing manipulation; muscle spasm; 5 hydroxytryptamine receptor; γ -aminobutyric acid; modified Ashworth muscle tension score; balance beam exercise ability score

肌肉痉挛是脑卒中的常见后遗症之一,研究显示,约80%的脑卒中患者会有不同程度的肌肉痉挛,将近60%的患者劳动能力严重下降^[1-2],故而脑卒中患者的肌痉挛康复治疗一直是相关研究的重点。而推拿中的按法被大量临床实践与研究证实是一种安全可靠的疗法^[3-5]。已有研究证实,按法可以通过影响脊髓层面抑制性神经递质 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)的含量来缓解脑卒中后大鼠的肌痉挛症状^[6-7]。近年来,脊髓层面的5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)及其受体被证明与肌肉痉挛及疲劳有密切关联,本课题组在综合分析相关研究成果的基础上推断,按法可能是通过调控脊髓内抑制性中间神经元上的5-HT受体,进而影响其对于抑制性神经递质GABA的释放量来缓解肌肉痉挛的。因此,本文通过构造大鼠脑卒中肌痉挛模型并施以按法治疗,观察按法治疗脑卒中大鼠肌痉挛的疗效,以及治疗前后脊髓层面相关5-HT受体表达与GABA含量变化情况,来分析上述猜想的可能性,旨在为相关研究治疗提供相应的理论依据与实验参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

32只健康成年雄性SD大鼠由湖南中医药大学动物实验中心提供(SPF级),体质量280~300g[动物许可证号:SYXK(湘)2019-0009]。适应性喂养1周后编号,通过随机数字表法将动物分为4组(空白组、假手术组、模型组和治疗组),每组8只。

1.2 试剂及仪器

1.2.1 Western blot 所用仪器与试剂 低温冷冻离心机(型号:Fresco)、酶标仪(型号:MultiSkán3)均购

自赛默飞世尔科技有限公司;水平脱色摇床(型号:TS-1000,其林贝尔仪器制造有限公司);电泳仪(型号:PowerPac,伯乐生命医学产品有限公司);电泳槽(型号:Mini P-4)、湿转电泳槽(型号:Mini TBC)均购自北京凯元信瑞仪器有限公司;酸度计(型号:pH211,德国Hanna Instruments公司);蛋白酶抑制剂(货号:11697498001,上海罗氏制药有限公司);GAPDH鼠单抗(货号:YM3029,美国Immunoway Biotechnology公司)。

1.2.2 ELISA 所用仪器与试剂 微量高速离心机(型号:TG16W)、台式高速冷冻离心机(型号:TGL16M)均购自湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;恒温摇床(型号:HT-111B,上海赫田科学仪器有限公司);电子天平(型号:XB220A,上海天美天平仪器有限公司);洗板机(型号:988,北京市海淀区天石医疗用品制作所);酶标仪(型号:RT-6100,雷杜生命科学股份有限公司);荧光分光光度计(型号:Epoch,意大利BioTeck Academy公司);大鼠GABA ELISA试剂盒(批号:20210819-J3317,湖南艾方生物科技有限公司)。

1.3 模型制备

造模方法参考LONGA等^[8]所报道的方法,通过将线栓插入颈外动脉堵塞血液流通的方式建立大鼠MCAO模型,具体实施步骤如下。

称重筛选合格大鼠,之后采用10%水合氯醛按0.003 mL/g的浓度稀释后注射入大鼠腹腔麻醉。将完全麻醉的大鼠以腹部朝上的姿势固定于手术台上进行常规消毒,先于颈部中央切长度为2 cm的上切口,后沿颌下腺之间用手术剪剪开筋膜暴露颈前部。接着使用显微镊分离左侧胸锁乳突肌、胸骨与舌骨肌之间的肌肉间隙,并保证不伤及其他部分组

织。然后依次分离出右侧颈总动脉(common carotid artery, CCA)、颈内动脉(internal carotid artery, ICA)、颈外动脉(external carotid artery, ECA),并将迷走神经从中分离。迷走神经分离完后,将2根4-0细线分别穿在右CCA和ECA上来方便后续操作。在入颅前有一分叉处外部可以观测到翼腭动脉(posterior pulmonary artery, PPA),此时将一根4-0细线从其分叉处穿过以扎紧固定住PPA根部。完成PPA根部固定后,再在距离CCA分叉前部8~10 mm处结扎ECA,再用微动脉夹住CCA、ICA并确保完全夹闭,再用眼科剪在ECA近心端2 mm处剪一小口作为线栓插入口。完成裁剪后,将事先制备好的线栓缓慢插入小口处,插入后再将线栓经CCA分叉处沿着ICA逐步推入大鼠颅内,当线栓逐渐插入ICA时松开微动脉夹。当线栓推至大脑前动脉19~20 mm处时,再将线栓拉回至大脑中动脉起始位置(拉动1~2 mm),这一步骤的主要目的是为了阻断颅内以及大脑中动脉的血流反流。线栓插入深度(18.5±0.5) mm。在线栓完全插入后通过将ECA近心一端结扎的方法来将其固定。完成线栓固定后,松开动脉夹并将多余的线栓剪去,至此线栓插入部分手术完成,最后缝合好大鼠的肌肉与皮肤。手术完成后,将大鼠单笼饲养,自由饮水进食,并保证恒温在22~25 ℃。造模术后第1天,采用Longa法^[9]对大鼠分别进行神经功能的测试与评分,仅保留评分2、3分的大鼠进入下一实验阶段,0、1、4分的大鼠未达到本次实验受试因素均予以剔除;实验全部结束后,在取材之前先检查线栓位置,若出现线栓位置偏移(即线栓偏离大脑中动脉起始处),则同样将这类大鼠样本予以剔除。

1.4 干预方法

模型组和治疗组进行一次造模手术,假手术组同样予以手术操作,但不插入线栓。术后均干预5 d,干预方法:治疗组每天被捆绑于自制的按法仪上10 min接受按法治疗;空白组、假手术组和模型组除正常饲养外,每天同样捆绑10 min,但不予以按法治疗。按法治疗方式^[9]:治疗部位为按压股四头肌肌腱,按法仪参数设置为按压力度(0.35±0.05) N、按压频率1 Hz,每次治疗时间为10 min。

1.5 行为学检测

1.5.1 Longa法测定大鼠神经功能 根据Longa 5分制评分法^[9]评定大鼠的神经功能:0分代表大鼠活动自如,完全无法观测到肢体功能缺失症状或偏瘫

症状;1分为观察到大鼠出现轻微的神经功能损伤或缺失现象,具体表现包括大鼠受手术影响的左侧前肢无法完全伸展,或者是将大鼠抓尾悬空时相应前肢呈现屈曲状态而无法自由活动挣扎;2分为观察到大鼠出现中等程度的神经功能缺失,具体表现包括将大鼠置于平坦台面让其自由爬行时,大鼠出现追尾或不断向手术影响肢体对侧转圈;3分为观察到大鼠出现严重的神经功能缺失,具体表现包括将大鼠置于平坦台面让其自由爬行时,其直接倒向手术影响的肢体对侧;4分为观察到大鼠无法自由活动甚至出现昏迷等现象。于造模手术后第1天予以评分,且仅用于筛选手术成功的大鼠。

1.5.2 Ashworth法测定大鼠肌张力 大鼠股四头肌肌张力水平的测定使用了改良的Ashworth评分法^[9]:0级(0分)为肌张力无明显增高,大鼠运动能力完全正常;1级(1分)为肌张力轻微增高,抓握中被动屈伸肢端到最大范围处有微小阻力;1+级(1.5分)为肌张力轻度增高,抓握中被动屈伸到一半以上有轻度阻力;2级(2分)为大鼠肢体被动运动容易,但在大部分屈伸范围内的肌张力出现较大增加;3级(3分)为大鼠肢体被动活动困难且屈伸过程中肌张力明显增高;4级(4分)为受手术影响部分肢体强直性伸直或屈曲。

1.5.3 平衡木实验测定大鼠运动能力 参考FEENEY等^[10]的平衡木检测方法,于治疗前后进行评分。平衡木规格为长1200 mm,宽、高均为25 mm。实验方法为先将大鼠置于平衡木一端,在其身后施加噪声和捏尾巴等刺激,驱赶其在平衡木上行并评分。1分:完全不能爬行,且后肢会跌落平衡木或无法放置于水平位置上;2分:可坐在平衡木上但无法爬行;3分:无法通过平衡木,爬行时有超过50%的概率跌落;4分:无法通过平衡木,且爬行时跌落概率小于50%;5分:可以通过平衡木,但痉挛肢体发挥作用小于50%;6分:可以通过平衡木,且痉挛肢体发挥作用超过50%;7分:可以通过平衡木,且没有明显的肢体运动功能障碍。

1.6 组织取材

术后第7天进行取材,用10%水合氯醛麻醉大鼠,断头处死并立即消毒,取腰1至腰3节段对应脊髓,放于Eppendorf管,并在-80 ℃保存。

1.7 Western blot法检测大鼠脊髓5-HT_{2B}受体和5-HT_{2C}受体表达

先将RIPA蛋白预冷却,并掺入蛋白酶抑制剂

和 PMSF 母液。称取适量组织后将裂解液以 1:9 掺入其中,将搅拌好的样品放在 Fluko 电动组织匀浆器上以 15 000 r/min 匀浆 3 次(10 s/次,间隔 10 s),匀浆过程保证 EP 管处于低温环境。匀浆完毕后将样品放在冰面上孵育约 20 min 后 4 ℃离心,持续时间为 20 min,离心转速设置为 13 000 r/min,离心半径为 8.61 cm。离心完成后取上清液为待测样品,并分组进行储存。准备 A 液:B 液=50:1 的 BCA 工作液。样品用 PBS 稀释后以样品:BCA 工作液=1:8 的比例混合,后置于 37 ℃恒温环境下孵育 30 min 或放在室温下孵育 60 min,然后按照酶标仪的 570 nm 波长滤光片的结果,得到 OD 值。后添加 5× 的还原样品缓冲液将样品含量稀释为 4 mg/mL,充分煮沸样品 5 min 变性。按照目标蛋白质分子量配制 20%分离胶和 5%浓缩胶,每孔上样量为 20 μg。然后进行电泳、转膜、封闭。以 3%的牛血清白蛋白-TBST 稀释一抗后置于室温孵育 10 min,4 ℃恒温环境过夜。2 种目标蛋白稀释比例均为 1:1000,稀释后体积为 4 mL。以 5%的脱脂乳粉-TBST 稀释二抗,并将山羊抗小鼠 IgG(H+L)HRP:山羊抗兔 IgG(H+L)HRP=10 000:1 的比例混合。TBST 洗膜 6 次(3 min/次)后将 ECL 加于膜上,再根据光强调节胶片曝光时长,最后显影约 2 min 并完成定影。

1.8 ELISA 法检测大鼠脊髓 GABA 含量变化

标记样品孔、标准品孔和空白孔,在标准品孔中加入不同浓度标准品各 50 μL。每个样品孔加入稀释液 40 μL 和样品 10 μL,在空白孔以外的每孔中加 100 μL 的酶标试剂。后将板膜封后以恒温 37 ℃温育 60 min。温育完成后打开封板膜去除液体并甩干,甩干后每孔添加洗涤液并静置 30 s 后去除(重复 5 次后干燥)。在所有孔中添加 50 μL 显色剂 A 后加入 50 μL 显色剂 B,并摇匀两类显色剂,充分摇匀后将其置于 37 ℃恒温无光环境下 15 min 以显色。在所有孔中加 50 μL 终止液等待出现蓝转黄的终止反应。以空白孔调零为标准,在加入终止溶液后 15 min 内根据取样顺序分别测定各个孔的吸光度(OD 值),测定波长为 450 nm。

1.9 统计学方法

所有实验数据采用“ $\bar{x} \pm s$ ”来描述,统计分析使用 SPSS 21.0 软件。经检验,除平衡木结果外所有数据符合正态分布且方差齐,故平衡木结果组间差异性

检验采用 *Kruskal-Wallis* 检验,其余数据组间差异性检验均采用单因素方差分析,均以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 行为学检测结果

2.1.1 各组大鼠 Ashworth 评分比较 空白组与假手术组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗前,模型组、治疗组相比于空白组和假手术组评分显著上升($P < 0.05$)。治疗后,治疗组、模型组相比于治疗前评分显著下降($P < 0.05$);且治疗组相比于模型组评分显著下降($P < 0.05$)。详见表 1。

表 1 各组大鼠 Ashworth 评分结果比较($\bar{x} \pm s$,分)

组别	n	治疗前	治疗后
空白组	8	0	0
假手术组	8	0	0
模型组	8	2.375±0.518 ^{△△}	1.313±0.259 ^{△△□}
治疗组	8	2.625±0.518 ^{△△}	0.625±0.517 ^{△△□□}

注:与空白组比较,[△] $P < 0.05$;与假手术组比较,[△] $P < 0.05$;与模型组比较,[□] $P < 0.05$;与治疗前比较,[□] $P < 0.05$ 。

2.1.2 各组大鼠平衡木评分比较 空白组与假手术组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗前,模型组、治疗组相比于空白组和假手术组评分显著下降($P < 0.05$)。治疗后,模型组、治疗组相比于治疗前评分显著上升($P < 0.05$);且治疗组相比于模型组评分显著上升($P < 0.05$)。详见表 2。

表 2 各组大鼠平衡木评分结果比较($\bar{x} \pm s$,分)

组别	n	治疗前	治疗后
空白组	8	7.000±0.000	7.000±0.000
假手术组	8	7.000±0.000	7.000±0.000
模型组	8	1.000±0.000 ^{△△}	1.875±0.331 ^{△△□}
治疗组	8	1.000±0.000 ^{△△}	3.000±0.500 ^{△△□□}

注:与空白组比较,[△] $P < 0.05$;与假手术组比较,[△] $P < 0.05$;与模型组比较,[□] $P < 0.05$;与治疗前比较,[□] $P < 0.05$ 。

2.2 各组大鼠 5-HT_{2B} 受体和 5-HT_{2C} 受体表达量比较

空白组 5-HT_{2B} 受体和 5-HT_{2C} 受体表达量与假手术组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);模型组、治疗组的 5-HT_{2B} 受体和 5-HT_{2C} 受体表达量相比于空白组和假手术组明显提升($P < 0.05$);且治疗组 2 个受体的表达量均低于模型组($P < 0.05$)。详见图 1、表 3。

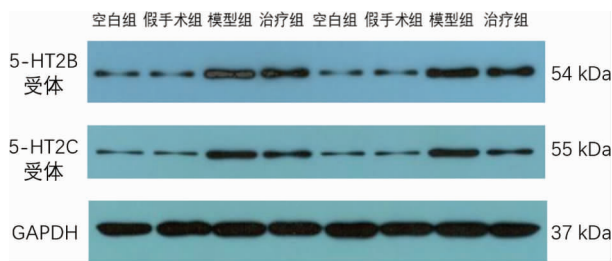


图1 Western blot 结果条带

表3 各组大鼠 5-HT2B 受体和 5-HT2C 受体表达量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	5-HT2B 受体	5-HT2C 受体
空白组	8	0.224±0.039	0.215±0.051
假手术组	8	0.270±0.110	0.241±0.128
模型组	8	0.634±0.175 ^{△△}	0.553±0.177 ^{△△}
治疗组	8	0.504±0.087 ^{△△□}	0.384±0.059 ^{△△□}

注:与空白组比较,[△] $P<0.05$;与假手术组比较,[△] $P<0.05$;与模型组比较,[□] $P<0.05$ 。

2.3 各组大鼠 GABA 含量比较

空白组 GABA 含量与假手术组比较,差异无统计学意义($P>0.05$);模型组、治疗组 GABA 含量相比于空白组和假手术组显著降低($P<0.05$);且治疗组 GABA 含量高于模型组($P<0.05$)。详见表 4。

表4 各组大鼠 GABA 含量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	GABA
空白组	8	0.318±0.047
假手术组	8	0.287±0.023
模型组	8	0.267±0.036 ^{△△}
治疗组	8	0.320±0.031 ^{△△□}

注:与空白组比较,[△] $P<0.05$;与假手术组比较,[△] $P<0.05$;与模型组比较,[□] $P<0.05$ 。

3 讨论

脑卒中又称中风,其中医学归为“痹病”的范畴,张仲景在《金匱要略·中风历节病脉证治》中对中风病的症状做了总结性的概述:“夫风之为病,当半身不遂,或但臂不遂者,此为痹,脉微而数,中风使然”,而痹病的病因主要归于风、寒、湿、热等邪气的入侵^[1]。对于中风的辨证诊治,中医主张以疏风散邪、扶助正气为根本宗旨,如清代王清任指出中风所导致的偏瘫、痉挛等,是因为人体气血虚弱、血脉瘀堵导致的人体气血不畅所致。而按法作为中医推拿中最古老的手法之一,恰恰具有疏通经络、扶助正气、祛除湿邪的功效。如《素问·举痛论》中曾记载“按之经络以通郁闭之气,摩其壅聚,以散郁结之肿”,

即按法可以疏通经络血管的闭塞之处,加快血液循环,从而促进身体代谢;而《素问·举痛论》也提到“按之则气血散,故按之痛止”的观点,同样认为按法能有效行气通血、缓解局部瘀塞疼痛;而在《素问·举痛论》中提出“寒气客于背俞之脉则血脉泣,脉泣则血虚,血虚则痛,其俞注于心,故相引而痛。按之则热气至,热气至则痛止矣”,表明了按法可以刺激患处产生热效应,从而治愈由寒邪侵扰所导致的肢体疼痛、运行不畅等疾病。而到了现代,按法也被大量的临床与实验研究证实是一种有效的脑卒中后康复治疗手段^[12-16]。

5-HT 是神经系统中主要的单胺类神经递质,其受体共有 7 类 14 个亚型,划分依据主要为氨基酸序列、药理学特性和其在细胞内所产生的信号传导机制等,其中,除了 5-HT₃ 受体为配体门控离子型通道受体外,其余的 5-HT 受体类型均为 G 偶联蛋白,其可以与 Gi/o、Gs 和 Gq 3 种类型的蛋白偶联来激活不同的信号通路,而且这些受体被证实参与如情绪、行为、运动等多项生理活动的调控^[17-19]。GABA 是中枢神经系统中常见的抑制性神经递质,研究表明,脑卒中后痉挛的一大重要原因是因为脑组织损伤后,大脑对于脊髓的控制能力减弱,以 GABA 为代表的抑制性神经递质含量下降,造成了肌肉产生过度的牵张反射形成痉挛^[6-7]。而且研究表明,作为 Gq 亚型的 5-HT_{2B} 受体和 5-HT_{2C} 受体可以激活磷脂酶 C (phospholipase C, PLC),将 PIP₂ 分解为 IP₃ 和 DG 两个胞内信使,而 IP₃ 能够促使细胞内钙库内质网释放 Ca²⁺,从而升高细胞浆内的 Ca²⁺ 浓度。由于神经突触中囊泡递质的释放具有 Ca²⁺ 依赖性,任何减少 Ca²⁺ 进入突触前膜的方式均可减少神经递质的释放^[20-22],上述的理论成果已经表明 5-HT_{2B} 受体和 5-HT_{2C} 受体可以通过调节 Ca²⁺ 的浓度来影响神经递质的释放,包括中枢神经系统中最为常见的抑制性神经递质 GABA。近年来,多项国内外研究表明,脊髓内 5-HT 受体系统在肌肉痉挛、肌肉疲劳机制和中枢神经系统损伤后的运动功能恢复中发挥了重要的作用,如:研究发现阻断或兴奋脊髓损伤大鼠脊髓内的 5-HT₂ 受体时,能够显著影响其下肢运动功能的恢复^[23-24];研究发现通过调控肌痉挛大鼠脊髓层面 5-HT_{2C} 的活性,可以直接使其痉挛现象消失^[25]。

本研究在前期研究^[6-7]的基础上,对按法缓解脑

卒中后大鼠肌痉挛的生理机制进行了更为深入的探索,实验结果表明:(1)经过按法治疗的大鼠肌张力水平相比于模型组得到了显著降低,且平衡木评分也更好,表明按法能有效缓解脑卒中后肌痉挛,并促进运动功能的恢复;(2)模型组大鼠脊髓内5-HT_{2B}受体、5-HT_{2C}受体表达量显著升高且GABA含量明显降低,而经过按法治疗后,两种受体表达量均显著降低且GABA含量显著升高。结合已有的其他研究成果,不难通过上述实验结果推断出:(1)脑卒中后肌痉挛确与这两种5-HT受体表达情况的异常有密切关联;(2)按法治疗脑卒中后肌痉挛的生理机制有可能是通过调控5-HT_{2B}受体和5-HT_{2C}受体的表达情况,进而使得抑制性中间神经元内Ca²⁺浓度上升,从而提升抑制性神经元GABA的释放量,而GABA与运动神经元上的受体结合后抑制了骨骼肌过度的牵张反射。基于前两点结论,可以以相关5-HT受体表达量和GABA含量作为参考指标,来进一步深入探究不同的按法位置、按压力度与按压频率对于疗效的影响,从而改良按法,使其具备更好的疗效。

综上所述,本实验结论为临床按法治疗脑卒中后肌痉挛提供了一定的生理学实验依据,但关于按法调控相关5-HT受体的更深层生理机制以及不同按压方式对相应指标的影响,仍值得进一步研究探索。

参考文献

- [1] 严晓艺,贾丽燕,张云皎,等.针刺治疗脑卒中后肌痉挛的系统综述与Meta分析[J].北京中医药大学学报,2017,40(1):52-58.
- [2] BRAININ M, NORRVING B, SUNNERHAGEN K S, et al. Poststroke chronic disease management: Towards improved identification and interventions for poststroke spasticity-related complications[J]. *International Journal of Stroke*, 2011, 6(1): 42-46.
- [3] 韦殿清.掌根按法治疗脊椎小关节紊乱综合征[J].临床医药文献电子杂志,2019,6(6):59.
- [4] 刘贤平,曹海波.手摸点按法配合椎弓根螺钉治疗胸腰椎骨折的临床研究[J].中国现代药物应用,2017,11(18):52-54.
- [5] 祝木星.肘按法为主推拿治疗髓核型腰腿痛25例的手法力学分析及临床观察[J].中医外治杂志,2012,21(4):42-43.
- [6] 初晓.基于腱器官“反牵张反射”效应研究按法对于脑卒中后肌痉挛大鼠血浆G_{1γ}、GABA含量的影响[D].长沙:湖南中医药大学,2015.
- [7] 陈恒.按法对脑卒中后肌痉挛大鼠肌张力及脊髓前角抑制性神经递质变化的影响[D].长沙:湖南中医药大学,2015.
- [8] LONGA E Z, WEINSTEIN P R, CARLSON S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
- [9] ALTUMBABIC M, PEELING J, BIGIO MRD, et al. Intracerebral hemorrhage in the rat: effects of hematoma aspiration[J]. *Stroke*, 1998, 29: 1917-1923.
- [10] FEENEY DM, GONZALEZ A, LAW WA. Amphetamine, haloperidol, and experience interact to affect rate of recovery after motor cortex injury[J]. *Science*, 1982, 217(4562): 855-857.
- [11] 陈少婷.中医中风溯源刍议[D].广州:广州中医药大学,2014.
- [12] 李武芬.中药热熨配合摩擦按法对脑梗死恢复期气虚血瘀证患者SIAS和ADL评分的影响[J].四川中医,2018,36(3):160-162.
- [13] 胡玉芳.腹部按摩结合耳穴点按法治疗脑卒中便秘症状的体会[J].中国美容医学,2012,21(16):211.
- [14] 吴修玉,李伟,张梦,等.中风后手功能障碍应用原配穴点按法治疗的效果评价[J].中国社区医师,2019,35(9):103,106.
- [15] 刘凤彬,廖秀娥,苏少清,等.点按太冲穴诱发屈曲反射对脑卒中患者下肢功能恢复的影响[J].按摩与康复医学,2015,6(22):15-16.
- [16] 杨舟,艾坤,于隽,等.浅谈点按法的临床应用现状[J].中华中医药杂志,2015,30(6):2026-2028.
- [17] SINOPOLI V M, BURTON C L, KRONENBERG S, et al. A review of the role of serotonin system genes in obsessive-compulsive disorder[J]. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 2017, 80: 372-381.
- [18] PERRIER J F, RASMUSSEN H, CHRISTENSEN R, et al. Modulation of the intrinsic properties of motoneurons by serotonin[J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2013, 19(24): 4371-4384.
- [19] REN L Q, WIENECKE J, CHEN M, et al. The time course of serotonin 2C receptor expression after spinal transection of rats: An immunohistochemical study[J]. *Neuroscience*, 2013, 236: 31-46.
- [20] 陈乃宏.神经递质与神经疾患[M].北京:中国协和医科大学出版社,2012:3-5.
- [21] 孙刚,何平,万顺伦.第六讲 神经递质的释放[J].中国神经科学杂志,2001,17(2):166-170.
- [22] WHEELER D B, RANDALL A, TSIEN R W. Roles of N-type and Q-type Ca²⁺ channels in supporting hippocampal synaptic transmission[J]. *Science*, 1994, 264(5155): 107-111.
- [23] COWLEY K C, MACNEIL B J, CHOPEK J W, et al. Neurochemical excitation of thoracic propriospinal neurons improves hindlimb stepping in adult rats with spinal cord lesions[J]. *Experimental Neurology*, 2015, 264: 174-187.
- [24] SŁAWIŃSKA U, MAJCZYŃSKI H, DAI Y, et al. The upright posture improves plantar stepping and alters responses to serotonergic drugs in spinal rats[J]. *The Journal of Physiology*, 2012, 590(7): 1721-1736.
- [25] MURRAY K C, NAKAE A, STEPHENS M J, et al. Recovery of motoneuron and locomotor function after spinal cord injury depends on constitutive activity in 5-HT_{2C} receptors[J]. *Nature Medicine*, 2010, 16(6): 694-700.