

本文引用: 谭佳佳, 唐丽亚, 孙晓莹, 易细芹, 瞿启睿, 艾坤, 周璐. 电针预处理对脑缺血再灌注损伤大鼠神经功能及缺血半暗带区 VEGF、CD31 表达的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(9): 1679-1684.

## 电针预处理对脑缺血再灌注损伤大鼠神经功能及缺血半暗带区 VEGF、CD31 表达的影响

谭佳佳<sup>1</sup>, 唐丽亚<sup>1</sup>, 孙晓莹<sup>1</sup>, 易细芹<sup>1</sup>, 瞿启睿<sup>1</sup>, 艾坤<sup>1\*</sup>, 周璐<sup>2\*</sup>

1. 湖南中医药大学针灸推拿与康复学院, 湖南长沙 410208; 2. 郴州市第一人民医院康复医学科, 湖南郴州 423000

**[摘要]** **目的** 通过观察电针预处理对脑缺血再灌注损伤大鼠神经功能、脑梗死体积及半暗带区脑组织血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、血小板-内皮细胞黏附分子(platelet endothelial cell adhesion molecule-1, CD31)表达的影响, 判断电针预处理对半暗带区血管新生的影响, 探索电针预处理改善脑缺血再灌注损伤的可能作用机制。**方法** 将 36 只 SD 大鼠按照随机数字表法分为假手术组、模型组、电针预处理组, 每组 12 只。电针预处理组予以电针百会、水沟、大椎, 每天 1 次, 共 7 次; 假手术组、模型组仅捆绑, 不予电针处理。实验第 8 天, 参照 Zea Longa 方法对模型组、电针预处理组进行大脑动脉栓塞(medial cerebral artery occlusion, MCAO)造模后灌注, 假手术组仅切开皮肤暴露颈动脉, 不做手术。造模 24 h 后, 对各组大鼠进行神经功能缺损评分(neurological severity scores, NSS)法评估神经功能, 评分后取大鼠梗死侧脑半球行红四氮唑(2,3,5-Triphenyltetrazolium Chloride, TTC)染色检测脑梗死面积, 取脑缺血半暗带区组织进行 HE 染色观察脑组织形态变化, 免疫组织化学法测定 VEGF、CD31 表达。**结果** 假手术组未见梗死以及任何神经功能损伤, 细胞形态正常; 模型组半暗带区细胞损伤显著增加, 排列紊乱, 呈肿胀状, 毛细血管管腔塌陷; 电针预处理组损伤程度减轻, 排列轻度紊乱, 细胞肿胀不明显。与假手术组比较, 模型组大鼠神经功能缺损评分明显升高( $P<0.01$ ), 脑梗死面积明显增加( $P<0.01$ ), 缺血半暗带区 VEGF、CD31 表达明显增加( $P<0.01$ ); 与模型组比较, 电针预处理组大鼠神经功能缺损评分降低( $P<0.05$ ), 脑梗死面积明显减少( $P<0.01$ ), 缺血半暗带区 VEGF、CD31 表达明显增加( $P<0.01$ )。**结论** 电针预处理可能通过促进缺血半暗带区血管新生, 从而改善脑缺血再灌注损伤大鼠神经功能损伤、降低脑梗死体积。

**[关键词]** 脑缺血再灌注; 缺血半暗带; 损伤; 电针预处理; 血管内皮生长因子; 血小板-内皮细胞黏附分子; 血管新生

**[中图分类号]** R245.9

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2023.09.019

## Effects of electroacupuncture pretreatment on neurological function and expressions of VEGF and CD31 in the ischemic penumbra of rats with cerebral ischemia-reperfusion injury

TAN Jiajia<sup>1</sup>, TANG Liya<sup>1</sup>, SUN Xiaoying<sup>1</sup>, YI Xiqin<sup>1</sup>, QU Qirui<sup>1</sup>, AI Kun<sup>1\*</sup>, ZHOU Lu<sup>2\*</sup>

1. School of Acupuncture-moxibustion, Tuina and Rehabilitation, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Department of Rehabilitation Medicine, Chenzhou First People's Hospital, Chenzhou, Hunan 423000, China

**[Abstract]** **Objective** To evaluate the effects of electroacupuncture pretreatment on angiogenesis in the penumbra area and to explore the possible mechanism of action of electroacupuncture pretreatment in improving cerebral ischemia-reperfusion injury, by observing the effects of electroacupuncture pretreatment on the neurological function, cerebral infarction volume, and expressions of vascular endothelial growth factor (VEGF) and platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (CD31) in the ischemic penumbra of

**[收稿日期]** 2022-06-03

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(82074565); 湖南省自然科学基金青年项目(2021JJ40007); 湖南中医药大学中西医结合一流学科开放基金项目(2020ZXYJH56)。

**[第一作者]** 谭佳佳, 女, 硕士研究生, 研究方向: 常见疾病的中西医结合康复的机制与临床研究。

**[通信作者]** \* 周璐, 女, 副主任医师, E-mail: 3263793@qq.com; 艾坤, 男, 教授, 硕士研究生导师, E-mail: aikun650@qq.com。

rats with cerebral ischemia-reperfusion injury. **Methods** A total of 36 SD rats were randomly divided into sham-operated group, model group, and electroacupuncture pretreatment group by the random number table method, with 12 rats in each group. The electroacupuncture pretreatment group received electroacupuncture at "Baihui" (DU20), "Shuigou" (DU26), and "Dazhui" (DU13) once a day, with a total of 7 times; the sham-operated group and the model group were only bundled without electroacupuncture. On the 8th day of the experiment, according to the Zea Longa method, the model group and the electroacupuncture pretreatment group were subjected to medial cerebral artery occlusion (MCAO) modeling and reperfusion. The sham-operated group only underwent skin incision to expose the carotid artery and did not undergo surgery. After modeling for 24h, neurological severity scores (NSS) were applied to evaluate the neurological function of rats in each group. After scoring, the infarcted area was measured by 2,3,5-triphenyltetrazolium Chloride (TTC) staining in the affected cerebral hemisphere, the histomorphological changes of the tissue in the ischemic penumbra were observed by HE staining, and the expressions of VEGF and CD31 were determined by immunohistochemical method. **Results** There was no infarction or any neurological function injury in the sham-operated group, and the cellular morphology was normal; the cell damage in the penumbra area increased significantly in the model group, with a disordered arrangement and swollen appearance, and the capillary lumina collapsed; the cell damage degree in the electroacupuncture pretreatment group was reduced with a slightly disordered arrangement and no significant cell swelling. Compared with the sham-operated group, the neurological deficit score of the model group was significantly elevated ( $P<0.01$ ), the cerebral infarction area significantly increased ( $P<0.01$ ), while the expressions of VEGF and CD31 in the ischemic penumbra significantly decreased ( $P<0.01$ ); compared with the model group, the neurological deficit score of the electroacupuncture pretreatment group was lower ( $P<0.05$ ), the cerebral infarction area significantly decreased ( $P<0.01$ ), while the expressions of VEGF and CD31 in the ischemic penumbra significantly increased ( $P<0.01$ ). **Conclusion** Electroacupuncture pretreatment may promote angiogenesis in the ischemic penumbra, thereby alleviating neurological function injury and reducing infarcted volume in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury.

[**Keywords**] cerebral ischemia-reperfusion; ischemic penumbra; injury; electroacupuncture pretreatment; vascular endothelial growth factor; platelet endothelial cell adhesion molecule-1; angiogenesis

缺血性脑卒中是指由于脑的供血动脉狭窄或闭塞、脑供血不足导致的脑组织坏死的总称<sup>[1-3]</sup>。目前认为,再灌注损伤是脑缺血的重要病理过程,其中梗死病灶主要由中心坏死区及其周围的缺血半暗带组成,该区血管新生以及微血管重建可迅速改善局部血流,是减轻再灌注损伤的关键<sup>[4]</sup>。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是最重要的血管生成因子,在胚胎血管发育和成人生理及病理条件下的血管生成过程中起关键作用<sup>[4]</sup>。血小板-内皮细胞黏附分子(platelet endothelial cell adhesion molecule-1, CD31)在发育中和成熟个体的所有血管内皮细胞均有高度表达,CD31表达越高,提示微血管数量越多,是一种重要的微血管标志物<sup>[5]</sup>。

预处理的思想与中医学“治未病”相互对应,古往今来就有针灸防病的先例。临床研究表明,电针可以有效减轻缺血性脑卒中神经功能障碍、改善脑组织血液循环、改善患者患病后生活质量<sup>[6-7]</sup>。近年来,关于电针预处理的研究越来越多:李雪静等<sup>[8-9]</sup>研究证实,电针预处理可以改善急性脑缺血再灌注损伤大鼠神经功能缺损、增强脑组织保护作用,其机制可能与细胞自噬及凋亡调控有关;程爱芳<sup>[10]</sup>研究表明,电针预处理可诱导脑内缺血耐受、增加缺血组织 VEGF、CD34 表达、改善缺血区血供、减少梗死面

积及降低脑损伤程度。

本研究拟采用于造模前电针百会、水沟、大椎对大鼠进行预处理后,再行大脑动脉栓塞(medial cerebral artery occlusion, MCAO)造模后再灌注,通过观察电针预处理对缺血再灌注损伤大鼠神经功能、脑梗死体积及半暗带区脑组织 VEGF、CD31 表达的影响,判断电针预处理与半暗带区血管新生的关系,从而探索电针预处理改善脑缺血再灌注损伤的可能作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物与分组

健康雄性 SD 大鼠 36 只,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供(许可证号:430727211101797368),体质量(190±10) g。36 只大鼠以 3 只一笼饲养于湖南中医药大学动物实验中心,实验室温度(25.0±1)℃,湿度 60%±10%。适应性喂养 7 d 后,根据随机数字表法将其分为假手术组、模型组、电针预处理组,每组 12 只。实验全程均遵从《关于善待实验动物的指导性意见》(2006 年版)中的动物伦理学相关规定(伦理审批号:LL2021072802)。

### 1.2 主要试剂与仪器

TTC 染液(批号:G1017)、HE 染液(批号:G1005)、

分化液(批号:G1005-3)、返蓝液(批号:G1005-4)、EDTA(pH 8.0)抗原修复液(批号:G1206)、EDTA(pH 9.0)抗原修复液(批号:G1203)、柠檬酸(pH6.0)抗原修复液(批号:G1202)、PBS 缓冲液(批号:G0002)、正常兔血清(批号:G1209)、组化试剂盒 DAB 显色剂(批号:G1211)、BSA(批号:G5001)、一抗 CD31(批号:GB113151)、二抗 HRP 标记山羊抗兔(批号:GB23303)、脱色摇床(型号:TSY-B)、涡旋混合器(型号:MX-F)、掌上离心机(型号:D1008E)均来自武汉赛维尔生物科技有限公司;鼠抗 VEGF(武汉三鹰生物技术有限公司,货号:66828-1-Ig);水合氯醛、中性树胶(国药集团化学试剂有限公司,批号:30037516、10004160)。MCAO 线栓(北京西浓科技有限公司,货号:A4-263450);电子针疗仪(华佗牌,型号:SDZ-II);超净工作台(苏州安泰空气技术有限公司,型号:SW-CJ-1FD);加热台灯(佛山市顺德区欧雅仕照明电器有限公司,型号:GD-2071);脱水机、包埋机(武汉俊杰电子有限公司,型号:JJ-12J、JB-P5);病理切片(上海徕卡仪器有限公司,型号:RM2016);组织摊片机(浙江省金华市科迪仪器设备有限公司,型号:KD-P);正置光学显微镜、成像系统(日本尼康,型号:Nikon Eclipse E100、Nikon DS-U3);恒温水浴锅(姜堰市无力医疗器械厂有限公司,型号:TL-420D);刀片(上海徕卡仪器有限公司,型号:LEICA819)。

### 1.3 干预方法

假手术组、模型组大鼠常规饲养,均以俯卧位固定于自制的大鼠固定器上 30 min。电针预处理组大鼠俯卧位固定于自制的大鼠固定器上,进针点为动物纹身标记处,选用 30 号 1 寸针进行针刺,百会平刺 2 mm、水沟直刺 2 mm、大椎斜刺 3 mm,进针后接电子针疗仪,一组电极连于百会和水沟,另一组电极连大椎和尾尖,疏密波(20/100 Hz),每次留针 30 min。于适应性喂养 7 d 后分组并开始干预,每天 1 次,共干预 7 次。

### 1.4 模型制备

干预 7 d 后,模型组、电针预处理组第 8 天参照 Zen Longa 方法进行造模<sup>[1]</sup>。大鼠麻醉消毒后,从颈部正中切开皮肤,钝性分离皮下组织,随后分离颈总、颈外、颈内动脉,并结扎颈总动脉近心端和颈外动脉,使用动脉夹夹闭颈内动脉,并在颈总动脉处用眼科剪剪一小口;插入预先准备好的栓线,插入深度为 18~20 mm(栓线黑色标记处大约在分叉处),用 4.0 细线结扎好线栓并缝合肌肉和皮肤,缝好后的大鼠放入笼中,缺血 2 h 后向外抽出栓线约 10 mm,从而形成脑缺血再灌注模型。待造模大鼠清醒后行神

经功能缺损评分(neurological severity scores, NSS)法评估神经功能:无神经功能缺损症状为 0 分;提尾时栓塞动脉对侧前肢不能伸直为 1 分;行走时向栓塞动脉对侧旋转为 2 分;行走时向栓塞动脉对侧倾倒为 3 分;无法自由活动,无自主意识为 4 分<sup>[12]</sup>。评分在 1~3 分者纳入实验。由于脑缺血再灌注造模实验较易引起动物死亡,故按照随机分组原则对各组死亡样本进行补充,保障每组完整实验结果。假手术组大鼠仅切开皮肤。

### 1.5 取材方法

各组大鼠行 NSS 法评估神经功能缺损后,用 10%水合氯醛(3.5 mL/kg)腹腔注射麻醉,左心室灌注固定,迅速断头取脑,用冰生理盐水冲洗,用 4%多聚甲醛固定 24 h 后进行石蜡包埋、切片。在确定取样具体部位时,通过对文献检索,选择最为广泛使用的 Ashwal 法<sup>[13]</sup>将大鼠脑组织切成 3 片。从额叶的前尖端开始 2 mm 处向后测量 4 mm,冠状切片,取 4 mm 的切片用于检测,确定 4 mm 的切片的两个半球之间中心线,也就是大鼠脑组织的纵向中线,然后从中线向梗死侧测量 2 mm,进行纵向切割,排除由大脑前动脉供血的中脑半球结构,然后将切片的断面看成一个钟面,从大约 2 点和 8 点之间连线与中线旁开 2 mm 的平行线呈夹角,夹角内的部分就是缺血半暗带取样区。

### 1.6 指标检测

1.6.1 NSS 法评估神经功能 大鼠于手术结束后放回笼中进行观察,自由饮食。于灌注后 24 h,进行神经功能评分,采用 NSS 法分别进行运动试验、感觉实验、平衡木试验、反射丧失和不正常运动试验评分并记录,总分为 18 分,分数越低表示功能越健全,0 分表示功能完全健全。

1.6.2 TTC 染色检测脑梗死面积 断头法处死大鼠后迅速取脑(10 min 内),置于 0~4 ℃磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)溶液中转移,-20 ℃冰箱冷冻 30 min。切取脑片厚度为 2 mm,将切片放入 2%红四氮唑溶液中,37 ℃避光水浴 30 min,每 5 min 轻微晃动容器,使充分染色。取出脑片用 PBS 溶液洗涤 3~5 min,拍照记录,用 10% 中性甲醛固定脑片 6 h。用病理图文分析系统进行图像分析,测量每片的梗死面积和总面积。梗死体积=各层梗死面积之和×层间隔;相对梗死面积=(对侧区域面积-同侧非梗死面积)/对侧区域面积。

1.6.3 HE 染色观察脑组织形态变化 制作石蜡切片(同 TTC 染色切片方法,便于后期宏观和微观的对比);依次将切片放入二甲苯 I 20 min、二甲苯 II

20 min、无水乙醇 I 5 min、无水乙醇 II 5 min、75%乙醇 5 min, 自来水洗; 将切片置入苏木素染液染 3~5 min, 自来水洗, 分化液分化, 自来水洗, 返蓝液返蓝, 流水冲洗; 再进入 85%、95% 的梯度乙醇脱水各 5 min, 入伊红染液中染色 5 min; 染色后依次放入无水乙醇 I 5 min、无水乙醇 II 5 min、无水乙醇 III 5 min、二甲苯 I 5 min、二甲苯 II 5 min 脱水透明, 中性树胶封片; 显微镜镜检, 图像采集分析。

1.6.4 免疫组织化学测定缺血半暗带区脑组织中 VEGF、CD31 的相对表达量 冰冻脑组织切片室温晾干, 置于 4% 多聚甲醛固定 10 min, 组织切片置于盛满乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)抗原修复缓冲液(pH 9.0)的修复盒中, 于微波炉内进行抗原修复。洗涤 3 次后放入 3% 过氧化氢溶液水溶液, 室温避光孵育 25 min, 洗涤 3 次甩干后用组化笔在组织周围画圈(防止抗体流走), 在圈内滴加用 3% 牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)均匀覆盖组织, 室温封闭 30 min。弃封闭液, 在切片上滴加 PBS 按 1:1 000 比例稀释好的一抗, 4 ℃ 孵育过夜。洗涤 3 次后在圈内滴加组化试剂盒内与一抗相应种属的二抗(HRP 标记, 稀释比例 1:500)覆盖组织, 室温孵育 50 min。洗涤 3 次后在圈内滴加新鲜配制的双抗体(double antibody, DAB)显色液, 显色后用自来水冲洗切片终止显色。苏木素复染 3 min 左右, 自来水洗。最后将切片依次放入 75% 乙醇 5 min、85% 乙醇 5 min、无水乙醇 I 5 min、无水乙醇 II 5 min、二甲苯 I 5 min 脱水透明, 将切片从二甲苯拿出来稍晾干, 中性树胶封片。显微镜镜检, 图像采集分析。

## 1.7 统计学方法

采用 SPSS 22.0 分析数据, 全部数据都用“ $\bar{x} \pm s$ ”表示。符合正态分布且方差齐, 使用单因素方差分析法; 不满足正态分布和(或)方差不齐则采用非参数检验。均以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠 NSS 法评分结果

与假手术组相比, 模型组、电针预处理组 NSS 法评分均显著增高( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 电针预处理组 NSS 法评分降低( $P < 0.05$ )。详见表 1。

### 2.2 各组大鼠脑梗死体积结果

造模 24 h 后, 各组大鼠取完整脑组织行 TTC 染色并分析脑梗死体积, 白色区域为梗死部分, 详见图 1。除假手术组无脑梗死外, 模型组和电针预处理

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

组别	n	分数
假手术组	12	0
模型组	12	13.750±0.250**
电针预处理组	12	8.750±0.250***

注: 与假手术组相比, \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组相比, \* $P < 0.05$ 。

组均有不同程度的脑梗死, 与假手术组比较, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ ); 与模型组相比, 电针预处理组脑梗死体积明显减少, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。详见表 2。



假手术组 模型组 电针预处理组

图 1 各组大鼠脑梗死情况

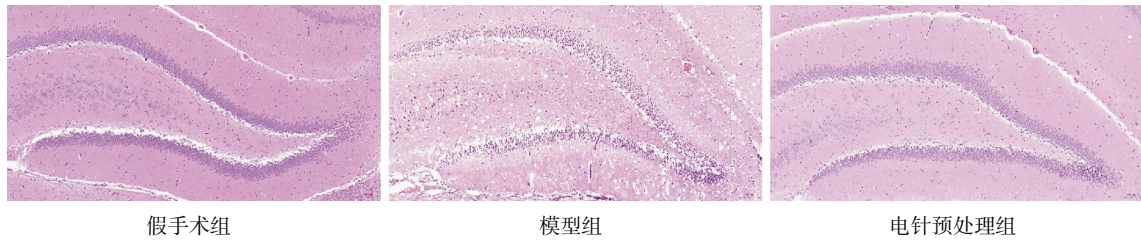
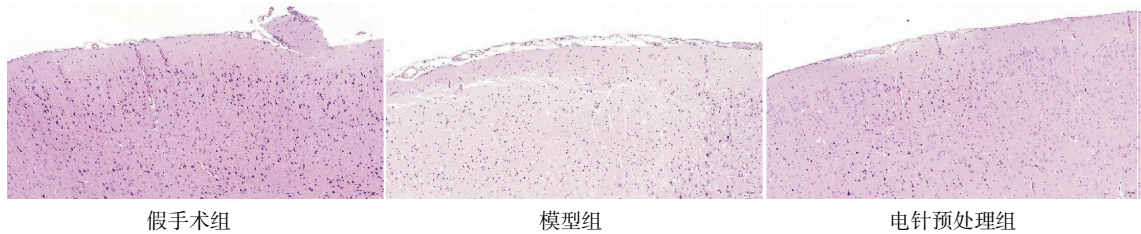
表 2 各组大鼠脑梗死体积结果( $\bar{x} \pm s$ ,  $\text{cm}^3$ )

组别	n	相对脑梗死体积
假手术组	6	0
模型组	6	0.586±0.088**
电针预处理组	6	0.187±0.028***

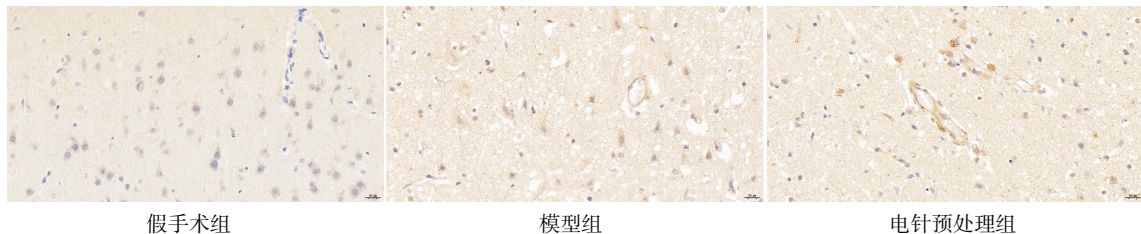
注: 与假手术组相比, \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组相比, \* $P < 0.01$ 。

### 2.3 各组大鼠缺血半暗带区脑组织 HE 染色结果

脑组织病变在海马区及大脑皮质区域较为显著, 本实验结果主要截取海马区及大脑皮质区作为展示。假手术组大鼠右侧大脑海马区及皮质区域细胞排列有序, 无肿胀变形, 细胞壁连续, 核仁居中, 细胞与细胞之间紧密排列, 未见炎性细胞浸润, 偶见破损细胞; 模型组大鼠海马区及皮质区域细胞排列紊乱, 呈肿胀状, 核仁偏居于细胞一侧或深染固缩或呈嗜酸性样改变, 细胞与细胞之间间隙增大, 间质水肿明显, 毛细血管管腔塌陷, 细胞损伤显著增加; 电针预处理组大鼠海马区及皮质区域细胞较模型组损伤程度减轻, 排列轻度紊乱, 细胞肿胀不明显。详见图 2—3。

图2 各组大鼠海马区 HE 染色结果( $\times 100$ )图3 各组大鼠缺血区大脑皮质染色结果( $\times 100$ )图4 各组大鼠缺血半暗带区 CD31 表达结果( $\times 400$ )

注:CD31 阳性着色为与背景明显不同的单个内皮细胞或细胞簇团,呈棕黄色或棕褐色。

图5 各组大鼠缺血半暗带区 VEGF 表达结果( $\times 400$ )

注:VEGF 阳性着色为与背景明显不同的单个内皮细胞或细胞簇团,呈棕黄色或棕褐色。

#### 2.4 各组大鼠缺血半暗带区脑组织 VEGF、CD31 免疫组化结果

与假手术组相比,模型组半暗带区脑组织中CD31 表达明显增加( $P < 0.01$ );与模型组相比,电针预处理组 CD31 表达明显增加( $P < 0.01$ )。详见图 4、表 3。

表3 各组大鼠缺血半暗带区脑组织 CD31 表达结果( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	CD31
假手术组	6	8.483 $\pm$ 0.220
模型组	6	12.816 $\pm$ 0.697**
电针预处理组	6	17.676 $\pm$ 0.315***

注:与假手术组相比,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组相比,\*\*\* $P < 0.01$ 。

与假手术组相比,模型组半暗带区脑组织 VEGF 阳性表达率明显增多( $P < 0.01$ );与模型组相比,电针预处理组半暗带区脑组织 VEGF 阳性表达率明显

增多( $P < 0.01$ )。详见图 5、表 4。

表4 各组大鼠缺血半暗带区脑组织 VEGF 表达结果( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	VEGF
假手术组	6	10.767 $\pm$ 0.573
模型组	6	13.610 $\pm$ 0.243**
电针预处理组	6	15.177 $\pm$ 0.439***

注:与假手术组相比,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组相比,\*\*\* $P < 0.01$ 。

### 3 讨论

缺血性脑卒中属于中医学“中风病”范畴,是医学临床常见病症之一<sup>[1]</sup>。该病起病急、变化快,具有极高的死亡率和致残率,大部分患者在发病前会出现明显的前驱症状,因此,如何预防脑卒中疾病的发生是降低患者临床安全风险的重要举措<sup>[1-3]</sup>。“中医治未病理论”是当前医学临床预防疾病发生和预防

病变的重要措施<sup>[14-15]</sup>。本研究亦从中医治未病角度出发,造模前采取电针干预的方式,观察大鼠发生脑缺血再灌注后的症状以及脑组织梗死的情况,从而判断电针干预的预防效果及可能机制。本研究结果显示,相比于假手术组,模型组大鼠NSS评分明显增高、脑梗死体积增大;电针干预组神经功能损伤情况、脑梗死体积均低于模型组。从组织形态学上来看,模型组大鼠右侧海马区及皮质区域在造模后出现了明显的细胞排列紊乱、细胞与细胞之间间隙增大、间质水肿明显、毛细血管管腔塌陷;相比于模型组,电针干预组在以上方面均有所改善。此外,电针干预组半暗带区 VEGF、CD31 表达明显高于模型组。

中医学认为,中风病多由脉络空虚、卫外不固、风寒等邪乘虚侵袭而滞留闭塞于经络所致<sup>[1]</sup>。临床治疗该病重在开窍,辨证灵活运用滋阴潜阳、平肝熄风、通腑化痰、健脾利湿、益气养血等治则。针刺具有醒脑开窍、调节气血等功效。本研究所选百会可开窍醒脑、振奋阳气,水沟可解痉熄风、调和阴阳,大椎可开通督脉、活血行气<sup>[16-18]</sup>。本实验中,电针干预组大鼠脑梗死体积、神经损伤情况较模型组均改善,这与许秀洪等<sup>[19-20]</sup>研究结果一致。

脑缺血再灌注损伤是导致缺血性卒中患者神经功能损害的主要原因<sup>[2]</sup>,早期脑梗死患者的缺血半暗带区神经元保留了部分蛋白合成和基因表达的能力,及时恢复其血流则能恢复其功能<sup>[3]</sup>。VEGF 作为一种高度特异性血管生长因子,参与多个血管新生过程,其含量与血管新生程度呈正相关;CD31 常见于血小板、内皮细胞等细胞表面,是一种细胞黏附分子,作为血管内皮特异性标志物,其增加将提示血管丰度的提高,从而改善脑血流的循环代谢<sup>[21-22]</sup>。本实验结果显示,电针干预后大鼠脑组织中的 VEGF、CD31 表达较模型组明显增加,提示电针干预组大鼠缺血半暗带区血管新生程度明显高于模型组。

综上所述,经电针干预后,脑缺血再灌注损伤大鼠神经功能损伤降低、脑梗死体积减少,缺血半暗带区 VEGF、CD31 表达增多,这可能与电针干预促进缺血半暗带区血管新生有关。通过电针提前干预提高血管新生能力,一定程度上为缺血性脑卒中的预防提供了新思路,本课题组将围绕该方向开展更加深入的研究。

## 参考文献

[1] GOTTRUP C, THOMSEN K, LOCHT P, et al. Applying instance-based techniques to prediction of final outcome in acute stroke[J]. *Artificial Intelligence in Medicine*, 2005, 33(3): 223-

236.

[2] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会脑血管病学组, 彭 斌, 等. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018[J]. *中华神经科杂志*, 2018, 51(9): 666-682.

[3] 唐 强. 临床康复学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2017: 20-30.

[4] 黄家星, 林文华, 刘丽萍, 等. 缺血性卒中侧支循环评估与干预中国专家共识[J]. *中国卒中杂志*, 2013, 8(4): 285-293.

[5] 张宏如, 陈 静, 徐森磊, 等. 针刺内关和足三里双穴位对大鼠心肌缺血再灌注损伤后的血管重塑作用[J]. *南京中医药大学学报*, 2023, 39(1): 42-49.

[6] 于丽影, 周鸿飞. 电针治疗中风后遗症的临床研究进展[J]. *实用中医内科杂志*, 2022, 36(2): 29-32.

[7] 汪晓娟, 徐彦龙, 赵 慧. 电针治疗中风后肢体痉挛性瘫痪的临床研究进展[J]. *中医外治杂志*, 2021, 30(3): 85-87.

[8] 李雪静, 唐 强, 叶 涛, 等. p53 蛋白在电针干预改善急性脑缺血再灌注损伤大鼠神经功能中的作用[J]. *中国康复理论与实践*, 2018, 24(2): 141-147.

[9] 李雪静. 电针干预调控 p53/mTOR 信号通路降低脑缺血再灌注损伤的作用机制研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2018.

[10] 程爱芳. 基于大鼠步态研究电针干预诱导脑缺血耐受及对运动皮层“神经血管”重塑的影响[D]. 上海: 上海中医药大学, 2020.

[11] 吴远华, 朱广旗, 胡 蓉, 等. 线栓法大鼠脑缺血再灌注模型改良与评价[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2010, 13(18): 4-6.

[12] CHEN J, SANBERG P R, LI Y, et al. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces behavioral deficits after stroke in rats[J]. *Stroke*, 2001, 32(11): 2682-2688.

[13] ASHWAL S, TONE B, TIAN H R, et al. Core and penumbra nitric oxide synthase activity during cerebral ischemia and reperfusion[J]. *Stroke*, 1998, 29(5): 1037-1047.

[14] 孟 健, 张 哲. 中医治未病·科研项目专家共识[J]. *中国中医药信息杂志*, 2021, 28(6): 8-12.

[15] 汪 媛, 王 键, 胡建鹏. 缺血性中风病机治法研究[J]. *中医药临床杂志*, 2015, 27(10): 1363-1366.

[16] 龙 漫, 郑 洲, 陈泽斌. 电针干预防治大鼠脑缺血再灌注损伤的研究进展[J]. *中国临床研究*, 2020, 33(1): 124-126.

[17] 曲 怡, 张立德, 才丽平, 等. 电针督脉穴对局灶性脑缺血再灌注大鼠大脑基因表达谱的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2009, 27(1): 218-220.

[18] 王 强, 王 玥. 电针内关、百会通过 NLRP3/ASC/Caspase-1 通路干预局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠的作用研究[J]. *湖南中医药大学学报*, 2022, 42(8): 1335-1340.

[19] 许秀洪, 周国平, 董苗苗, 等. 电针对脑缺血再灌注损伤大鼠海马区细胞焦亡相关蛋白酶 Caspase-1 的影响[J]. *世界科学技术: 中医药现代化*, 2020, 22(2): 446-451.

[20] 许秀洪, 董苗苗, 周国平, 等. 半胱氨酸蛋白酶关键调控基因在针刺抗脑缺血再灌注损伤中的研究进展[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2019, 17(23): 125-128.

[21] 赵婷婷, 郝利芳, 张 蕊, 等. 十二井穴流注放血干预急性脑缺血模型大鼠 HSP70 及 CD31 表达的研究[J]. *中国中医急症*, 2021, 30(3): 427-430, 467.

[22] 陈 果, 向 娟, 欧阳里知, 等. 电针对 MCAO 模型大鼠 VEGF 和 CD31 表达的影响[J]. *针灸推拿医学(英文版)*, 2017, 15(5): 311-316.

(本文编辑 匡静之)