

• 针灸推拿 •

本文引用: 来奕恬, 范涵泊, 陈佳晨, 李 武, 李江山, 陈 恒. 推拿按法通过 C 纤维调控 SIRT1/SGK1 表达改善痉挛型脑瘫大鼠神经-肌肉功能障碍的机制研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(10): 1874-1883.

推拿按法通过 C 纤维调控 SIRT1/SGK1 表达改善痉挛型脑瘫大鼠神经-肌肉功能障碍的机制研究

来奕恬^{1,2}, 范涵泊^{1,3}, 陈佳晨¹, 李 武^{1,2}, 李江山^{1,2*}, 陈 恒^{2*}

1. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208; 2. 湖南中医药大学第二附属医院, 湖南 长沙 410005;

3. 湖南省中西医结合医院, 湖南 长沙 410006

[摘要] 目的 观察推拿按法通过 C 纤维调控组蛋白去乙酰化酶 1(SIRT1)/血清和糖皮质激素调节激酶 1(SGK1)分子网络,改善痉挛型脑瘫大鼠的神经-肌肉功能障碍,缓解肌痉挛的机制。方法 将 50 只 SD 大鼠随机分为正常组 10 只和造模组 40 只,使用无水乙醇损毁锥体束法建立痉挛型脑性瘫痪模型大鼠,造模成功后再随机分为模型组、按法组、按法辣椒素组、按法盐水组,每组 10 只。按法辣椒素组对左侧坐骨神经使用 2%辣椒素去 C 纤维处理,按法盐水组对左侧坐骨神经使用生理盐水对照处理。按法组、按法辣椒素组、按法盐水组在模型制备成功后第 2 天起按压左侧小腿三头肌与跟腱连接处的腱器官干预,连续干预 14 d。采用改良 Ashworth 量表评估大鼠肢体痉挛程度,Zea Longa 量表评估大鼠神经功能缺损程度,HE 染色观察锥体束病理学改变,免疫组化观察锥体束中甘氨酸、 γ -氨基丁酸(GABA)含量,Western blot 和 ELISA 检测大鼠海马中 SGK1、SIRT1 蛋白表达,ELISA 检测大鼠脊髓中 SGK1、SIRT1、细胞外信号调节蛋白激酶 1(ERK1)、腺苷酸环化酶 1(ADCY1)、钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II(CaMK II)含量,软组织张力测定器测定大鼠大腿内侧肌软组织张力 $D_{0.2\text{ kg}}$ 数值。结果 干预后,与正常组相比,模型组大鼠改良 Ashworth 量表、Zea Longa 量表评分显著升高($P<0.01$),软组织张力 $D_{0.2\text{ kg}}$ 显著降低($P<0.01$);与模型组相比,按法组、按法辣椒素组和按法盐水组大鼠改良 Ashworth 量表、Zea Longa 量表评分降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),软组织张力 $D_{0.2\text{ kg}}$ 显著升高($P<0.01$)。干预后,与正常组相比,模型组大鼠锥体束中甘氨酸、GABA 的 AOD 值及海马中 SIRT1 降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),SGK1 显著升高($P<0.01$),脊髓中 ERK、CaMK II、SGK1 显著升高($P<0.01$),ADCY1、SIRT1 降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与模型组相比,按法组和按法盐水组大鼠锥体束中 GABA 的 AOD 值、海马中 SIRT1 升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),SGK1 降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),脊髓中 ERK、CaMK II、SGK1 降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),ADCY1、SIRT1 升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论 推拿按法刺激腱器官可能通过 C 纤维调控 SIRT1/SGK1 分子网络,改善痉挛型脑瘫大鼠的神经-肌肉功能障碍,缓解脑瘫大鼠的肌痉挛状态。

[关键词] 痉挛型脑瘫;推拿按法;C 纤维;辣椒素;腱器官;组蛋白去乙酰化酶 1;血清和糖皮质激素调节激酶 1

[中图分类号] R244

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.10.010

Mechanism of tuina pressing manipulation in improving neuromuscular dysfunction in rats with spastic cerebral palsy via C-fiber-mediated regulation of SIRT1/SGK1 expression

LAI Yitian^{1,2}, FAN Hanbo^{1,3}, CHEN Jiachen¹, LI Wu^{1,2}, LI Jiangshan^{1,2*}, CHEN Heng^{2*}

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. The Second Hospital of Hunan University of

[收稿日期] 2025-04-01

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(82374613);湖南省卫生健康高层次人才重大科研专项(R2023166);湖南省自然科学基金面上项目(2023JJ30467);湖南省科技创新计划资助(2022RC1221);湖南中医药大学本科科研创新基金项目(2024BKS126)。

[通信作者] * 陈 恒,男,硕士,主治医师,E-mail:30206231@qq.com;李江山,男,博士,教授,博士研究生导师,E-mail:001316@hnucm.edu.cn。

Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410005, China; 3. Hunan Provincial Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Changsha, Hunan 410006, China

[Abstract] Objective To observe the mechanism by which pressing manipulation of tuina improves neuromuscular dysfunction and alleviates muscle spasticity in spastic cerebral palsy (CP) rats through C-fiber modulation of the sirtuin1 (SIRT1)/serum and glucocorticoid-regulated kinase 1 (SGK1) molecular network. **Methods** Fifty SD rats were randomly divided into a normal group ($n=10$) and a modeling group ($n=40$). The spastic CP model was established by ethanol-induced pyramidal tract injury. After successful modeling, the spastic CP model rats were further randomized into a model group, a pressing manipulation group (PM group), a pressing manipulation+capsaicin group (PM+Cap group), and a pressing manipulation+saline group (PM+Sal group), with 10 rats per group. The PM+Cap group received 2% capsaicin to ablate C-fibers in the left sciatic nerve, while the PM+Sal group received saline as a control. The PM, PM+Cap, and PM+Sal groups underwent daily pressing intervention at the tendon organ junction of the left triceps surae and Achilles tendon for 14 consecutive days starting on day 2 post-modeling. Muscle spasticity was assessed using the modified Ashworth scale. Neurological deficits were evaluated via the Zea Longa scale. Pyramidal tract pathology was examined by HE staining. Glycine and gamma-aminobutyric acid (GABA) levels in the pyramidal tract were quantified by immunohistochemistry. SIRT1 and SGK1 protein expression in the hippocampus was determined by Western blot and ELISA. Levels of SGK1, SIRT1, extracellular signal-regulated kinase 1 (ERK1), adenylate cyclase 1 (ADCY1), and calcium/calmodulin-dependent protein kinase II (CaMK II) in rat spinal cord were measured by ELISA. The $D_{0.2\text{ kg}}$ value for soft tissue tension in the rat medial thigh muscles was measured using a soft tissue tensiometer. **Results** After intervention, compared with the normal group, the model group showed significantly higher modified Ashworth and Zea Longa scores ($P<0.01$) and lower $D_{0.2\text{ kg}}$ value ($P<0.01$). Compared with the model group, the PM, PM+Cap, and PM+Sal groups exhibited reduced Ashworth and Zea Longa scores ($P<0.05$ or $P<0.01$) and significantly increased $D_{0.2\text{ kg}}$ values ($P<0.01$). After intervention, compared with the normal group, the model group exhibited significantly reduced average optical density (AOD) values of glycine and GABA in the pyramidal tract, along with downregulated SIRT1 expression ($P<0.05$ or $P<0.01$) and markedly upregulated SGK1 expression ($P<0.01$) in the hippocampus. In the spinal cord, ERK, CaMK II, and SGK1 levels were significantly higher ($P<0.01$), while ADCY1 and SIRT1 levels were lower ($P<0.05$ or $P<0.01$). In contrast, when compared with the model group, the PM and PM+Sal groups showed increased AOD value of GABA in the pyramidal tract, and elevated SIRT1 expression ($P<0.05$ or $P<0.01$) while reduced SGK1 expression ($P<0.05$ or $P<0.01$) in the hippocampus. In the spinal cord, ERK, CaMK II, and SGK1 levels decreased ($P<0.05$ or $P<0.01$), whereas ADCY1 and SIRT1 levels increased ($P<0.05$ or $P<0.01$). **Conclusion** Pressing manipulation of tuina at tendon organs may improve neuromuscular dysfunction and alleviate muscle spasticity in spastic CP rats through C-fiber-mediated regulation of the SIRT1/SGK1 molecular network.

[Keywords] spastic cerebral palsy; pressing manipulation of tuina; C-fibers; capsaicin; tendon organ; sirtuin1; serum and glucocorticoid-regulated kinase 1

脑性瘫痪(cerebral palsy, CP)简称脑瘫,是在大脑发育未成熟阶段发生脑损伤,形成以运动障碍和姿势异常为主的综合征,且儿童脑瘫患者中约80%为痉挛型脑瘫^[1],其主要特征为牵张反射亢进、下肢肌张力增高^[2],给患者家庭和社会带来了沉重的负担。推拿按法是中医传统疗法,具有运转营卫之气、疏通全身经络的作用,患者接受程度高。有研究表明,推拿能改善痉挛型脑瘫儿童的临床痉挛指数评分、下肢痉挛肌肉表面肌电及步行功能^[3],且能更好地改善脑瘫患儿的下肢关节力线,提高步行效率,对于脑瘫患儿出现的肌体痉挛等情况具有明显改善作用^[4]。

突触可塑性是指神经元之间突触连接强度随时

间变化的特性,长时程增强(long-term potentiation, LTP)是这种可塑性的一种形式,表现为突触传递的效能增强,且脊髓背角C纤维诱发的LTP能够介导病理性疼痛^[5]。C纤维在传递慢性和持续的痛觉信号中起着关键作用,辣椒素能够触发C纤维的激活,进而引发疼痛信号的产生和传递^[6]。血清和糖皮质激素调节激酶(serum and glucocorticoid-regulated kinase, SGK)可引起神经突触的强度变化,C纤维释放的神经肽可能通过SGK调节离子通道^[7]。组蛋白去乙酰化酶(sirtuin, SIRT)的激活同样可以促进突触可塑性,巨噬细胞可以间接激活SIRT抑制炎症,C纤维的持续激活可能导致组织炎症或代谢紊乱,而SIRT和SGK均参与这些过程的调控,产生神经-

免疫交互效应^[8]。

脑瘫患者的大脑和脊髓中均存在突触可塑性受损的情况,导致神经传导通路的信息传递障碍,进而影响运动控制和感觉功能^[9]。研究发现,细胞外信号调节蛋白激酶1(extracellular signal-regulated kinases 1, ERK1)在脊髓背角 C 纤维中的作用与病理性疼痛有关^[10]。腺苷酸环化酶 1(adenylyl cyclase 1, ADCY1)通过对钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II (calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, CaMK II) 磷酸化,在 LTP 的诱导和维持中起重要作用^[11]。研究表明,按法能够通过组织中的 C 纤维感受器将推拿机械力信号传输至脊髓和大脑^[12],进而改善患者的运动功能和肢体障碍。课题组前期研究证实,按法可以减轻肌痉挛大鼠的肌张力,缓解肢体痉挛^[13-14]。因此,本研究使用辣椒素对坐骨神经进行去 C 纤维功能化处理,继续深入观察推拿按法是否通过刺激大鼠腱器官,诱发 C 纤维产生 LTP,调节 L1-L2 脊髓节段 SGK1/SIRT1 介导的中间神经元突触可塑性,同时观察按法对抑制性神经递质甘氨酸、 γ -氨基丁酸(gamma-aminobutyric acid, GABA)的调节作用,最终通过改善痉挛型脑瘫大鼠神经-肌肉功能障碍,缓解痉挛。

1 材料与方法

1.1 实验动物

50 只 SPF 级雄性 SD 大鼠,体质量 250~280 g,由湖南奥克莱斯实验动物有限公司提供,动物许可证:SCXK(湘)2019-0004。分笼饲养于湖南中医药大学实验动物中心,室温(22±2)℃,相对湿度 50%~70%,光/暗周期为 12 h/12 h(光照时间为 6:00~18:00),自由摄食饮水。实验操作遵循《关于善待实验动物的指导性意见》,所有实验操作均遵循湖南中医药大学实验动物伦理委员会批准的程序进行(伦理批号:HNUCM21-2405-05)。

1.2 主要仪器与试剂

大鼠脑立体定位仪、匀速推进注射泵(型号:SA-130 R、LSP-01,上海玉研科学仪器有限公司);25 μ L 微量进样器(型号:Hamilton 80401,上海哈美顿仪器有限公司);骨钻(型号:SD-300,北京华创智造科技有限公司);正置光学显微镜(型号:NIKON ECLIPSE E100,日本尼康公司);软组织张力测定仪(型号:

JZL-III 型,天津明通世纪科技有限公司);多功能酶标仪(型号:SpectraMax M3,美国MDC 公司)。

辣椒素(货号:N820430,上海麦克林生化科技股份有限公司);无水乙醇(货号:459836,美国 Sigma 公司);HE 染色套装(货号:C0105S,上海碧云天生物技术有限公司);ERK1、CaMK II、ADCY1、SGK1、SIRT1 ELISA 试剂盒(货号:SEB357Ra、SEA655Ra、SEB348Ra、SEB720Ra、SEE912Ra,武汉云克隆科技股份有限公司);BCA 蛋白浓度测定试剂盒、Rabbit 二抗(货号:EBC-K318-M、E-AB-1003,武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司);SGK1、SIRT1、GAPDH 抗体(货号:BM4452、PB0173、A00227-1,武汉博士德生物工程有限公司)。

1.3 动物分组

首先,将 50 只大鼠随机分为正常组 10 只和造模组 40 只。造模成功后,再随机将 40 只模型大鼠分为 4 组:模型组、按法组、按法辣椒素组、按法盐水组,每组 10 只。

1.4 模型建立

采用无水乙醇毁损锥体束法^[15]建立大鼠痉挛型脑瘫模型。大鼠行腹腔注射 1%戊巴比妥钠(40 mg/kg),麻醉后仰卧固定于脑立体定位仪上,剃毛,消毒,取头顶后正中切口约 3 cm,逐层切开皮肤、皮下组织、深筋膜及骨膜,充分暴露前囟及矢状缝,参照《大鼠脑立体定位图谱》^[16],取前囟后 10.0 mm、矢状缝右侧 0.8 mm,使用骨钻在颅骨顶上钻孔,孔径约 0.7 mm。当钻孔到达硬脑膜时,先用 2 mL 注射器针头探查是否钻透颅骨,以免骨钻损伤脑组织。待颅骨完全钻透后,再将微量进样器移至钻孔处,垂直插入颅顶钻孔,深度约 9.7 mm。向颅内以 1 μ L/min 的速度注入 15 μ L 无水乙醇,注射完毕后停留 5 min,而后缓慢拔出微量进样器,充分止血后立即用骨蜡封闭颅顶钻孔,缝合切口。待大鼠苏醒后进行评估,将 Zea Longa 量表神经功能缺损评分为 1~3 分、改良 Ashworth 量表肌张力评分为 1~4 分的大鼠视为造模成功^[15]。本实验中 40 只造模大鼠均符合模标准,纳入实验。

1.5 干预方法

正常组正常饲养,不进行其余操作。

模型组仅进行造模,正常饲养,不进行其余操作。

按法组于造模成功后第 2 天开始,每天进行按

法干预。按法操作采用自制推拿按法刺激器,根据前期实验研究^[17-18]设定按法最佳刺激参数为力量 0.7 kg、时间 7.5 min、频率 10 次/min,垂直于皮肤表面按压大鼠左小腿部腱器官(位于左小腿三头肌与跟腱连接处),每天 1 次,7 次为 1 个疗程,共干预 2 个疗程(14 次)。干预过程中由实验人员监督,防止出现滑脱、外伤和麻醉意外等不良事件。

按法辣椒素组于造模成功后第 2 天,将大鼠呼吸麻醉后以侧卧位固定,剔除左后肢毛发后消毒,而后沿着股骨长轴偏后方处剪开约 1 cm 的切口,钝性分离肌肉,可见粗大的坐骨神经主干暴露于开口处;用镊子小心分离黏膜和组织,游离出 1 cm 左右光滑的坐骨神经主干,用 2%辣椒素的湿棉球置于坐骨神经干上湿敷 20 min,其间 10 min 更换 1 次,次日再重复上述操作 1 次^[19]。同样进行按法,处理方法及频率同按法组。连续干预 14 d。

按法盐水组于造模成功后第 2 天,同样方法游离出坐骨神经干,使用生理盐水置于大鼠左侧坐骨神经干上湿敷,处理方法及频率同按法辣椒素组。再进行按法,处理方法及频率同按法组。连续干预 14 d。

1.6 观察指标及检测方法

1.6.1 改良 Ashworth 量表评估大鼠肢体痉挛程度 分别于各组大鼠造模后第 1 天(干预前)、干预第 14 天(干预后)采用改良 Ashworth 量表^[20]评估大鼠肢体痉挛程度。按 0、1、1+、2、3、4 级分别计 0、1、2、3、4、5 分,分数越低表示痉挛程度越低。

1.6.2 Zea Longa 量表评估大鼠神经功能缺损程度 分别于各组大鼠造模后第 1 天(干预前)、干预第 14 天(干预后)采用 Zea Longa 量表^[21]评估大鼠神经功能缺损情况。0 分:无神经功能缺损;1 分:瘫痪侧前爪不能完全伸展;2 分:行走时向左侧转圈;3 分:行走时向左侧倾倒;4 分:不能自发行走,存在意识丧失现象。

1.6.3 HE 染色观察大鼠大脑锥体束病理学变化 麻醉处死大鼠后进行取材,每组取 3 只大鼠全脑组织,使用 4%多聚甲醛溶液固定,经脱蜡、脱水、石蜡包埋、切片(厚约 5 μm)、HE 染色等,制成脑组织病理封片。光镜下对比观察脑组织神经细胞的受损情况、有无变性坏死等改变,并使用 CaseViewer 2.4 软件进行图像采集。

1.6.4 免疫组化检测大鼠大脑锥体束中甘氨酸、GABA 含量 经 4%多聚甲醛固定后,按照程序进行修剪、脱水、包埋、切片、染色、封片。使用 Eclipse Ci-L 拍照显微镜选取组织的目的区域进行 200 倍成像。成像完成后使用 Image-Pro Plus 6.0 分析软件,统一以像素面积 pixel 作为标准单位,分别测量每张切片中 3 个视野阳性的累积光密度(Optical density, OD)值,以及对应的阳性像素面积,并计算:平均光密度(average optical density, AOD)值=累积 OD 值/阳性像素面积。

1.6.5 Western blot、ELISA 检测大鼠海马中 SGK1、SIRT1 蛋白表达 每组取 7 只大鼠海马组织,充分研磨匀浆,分别采用 Western blot 和 ELISA 检测 SGK1、SIRT1 蛋白表达。一部分样本提取蛋白,将制备的蛋白样品通过浓度测定、蛋白变性、制胶、上样、电泳、转膜,加 5%脱脂奶粉封闭,分别加入 SGK1(1:1 000)、SIRT1(1:1 000)一抗,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, TBST 洗涤 3 次,二抗(1:10 000)室温孵育 1 h, TBST 洗涤 3 次,加入 ECL 显影液,于 Chemi Doc XRS 系统显影并拍照, ImageJ 软件统计灰度值。另一部分样本按照 ELISA 试剂盒说明步骤,检测海马中 SGK1、SIRT1 的含量。

1.6.6 ELISA 检测大鼠脊髓中 SGK1、SIRT1、ERK、CaMK II、ADCY1 含量 每组取 10 只大鼠的 L1-L2 节段脊髓组织,置于 1.5 mL 的离心管,并加入预冷的 PBS 1 mL 充分匀浆后离心 15 min,离心条件为 4 $^{\circ}\text{C}$ 、3 000 r/min、半径 10 cm。离心后取上清液,按照 ELISA 试剂盒说明步骤检测 SGK1、SIRT1、ERK、CaMK II、ADCY1 的含量。

1.6.7 软组织张力测定器测定大鼠大腿内侧肌软组织张力 $D_{0.2\text{ kg}}$ 位移 每组 10 只大鼠,干预前后各检测 1 次。用鼠套套住大鼠头部,使其处于安静状态,连接并调试校准软组织张力测定器。剃除大鼠左后肢毛发,触诊寻找大腿内侧肌部位的肌肉紧张带,正常组检测大腿内侧肌中部。将检测头对准检测区域,垂直均匀用力按压,按压施加压力约 3 s,然后缓慢均匀撤力。检测系统自动记录加载卸载时的力量-位移曲线并进行数据分析。参照仪器说明书和本课题组前期研究^[18]发现,取曲线中 0.2 kg 对应位移 $D_{0.2\text{ kg}}$ 作为观察指标,可以较好地反映大鼠肌肉软

组织张力情况。每只大鼠检测 3 次,每次间隔 10 min,取平均值作为实际数值。 $D_{0.2\text{ kg}}$ 数值与软组织张力呈负相关,即 $D_{0.2\text{ kg}}$ 越小,软组织张力越大^[18]。

1.7 统计学分析

使用 SPSS 25.0 进行统计学分析。计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,先进行正态性、方差齐性检验:满足正态性者,多组间比较采用 *One-Way ANOVA* 进行两两比较,方差齐时选择 *LSD* 法,方差不齐时选择 *Dunnnett T3* 法;不满足正态性时用“*M(P25,P75)*”描述,选择秩和检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠肢体痉挛程度比较

干预前,与正常组相比,模型组、按法组、按法辣椒素组和按法盐水组大鼠改良 Ashworth 量表评分均显著增高($P<0.01$)。干预后,与正常组相比,模型组大鼠改良 Ashworth 量表评分显著增高($P<0.01$);与模型组相比,按法组、按法辣椒素组和按法盐水组改良 Ashworth 量表评分均降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与干预前相比,按法组和按法盐水组大鼠干预后改良 Ashworth 量表评分均降低($P<0.05$)。详见表 1。

表 1 各组大鼠改良 Ashworth 量表评分比较[M(P25,P75), $n=10$,分]

Table 1 Comparison of scores of modified Ashworth scale among different groups of rats [M(P25,P75), $n=10$, points]

组别	干预前	干预后
正常组	0(0,0)	0(0,0)
模型组	4(3,4)**	3(3,4)**
按法组	3.5(2.75,4)**	0(0,1)▲▲#
按法辣椒素组	4(2.75,4)**	1(0,1)▲
按法盐水组	4(3,4)**	0(0,1)▲▲#

注:与正常组相比,** $P<0.01$;与模型组相比,▲ $P<0.05$,▲▲ $P<0.01$;与干预前相比,# $P<0.05$ 。

2.2 各组大鼠神经功能缺损程度比较

干预前,与正常组相比,模型组、按法组、按法辣

椒素组和按法盐水组大鼠 Zea Longa 量表评分均显著升高($P<0.01$)。干预后,与正常组相比,模型组大鼠 Zea Longa 量表评分显著升高($P<0.01$);与模型组相比,按法组、按法辣椒素组和按法盐水组大鼠 Zea Longa 量表评分均降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与干预前相比,按法组和按法盐水组大鼠干预后 Zea Longa 量表评分均降低($P<0.05$)。详见表 2。

表 2 各组大鼠 Zea Longa 量表评分比较
[M(P25,P75), $n=10$,分]

Table 2 Comparison of scores of Zea Longa scale among different groups of rats [M(P25,P75), $n=10$, points]

组别	干预前	干预后
正常组	0(0,0)	0(0,0)
模型组	3(2,3)**	2(1,2)**
按法组	2.5(2,3)**	0(0,1)▲▲#
按法辣椒素组	3(1.9,3)**	1(0,1)▲
按法盐水组	3(2,3)**	0(0,1)▲▲#

注:与正常组相比,** $P<0.01$;与模型组相比,▲ $P<0.05$,▲▲ $P<0.01$;与干预前相比,# $P<0.05$ 。

2.3 各组大鼠大脑锥体束病理学观察结果

经 HE 染色后,镜下可见正常组大鼠锥体束部位神经细胞排列规律,细胞核分布均匀;与正常组比较,模型组大鼠锥体束部位神经细胞出现体积增大,细胞核体积缩小,染色加深;与模型组相比,按法组、按法辣椒素组、按法盐水组均有改善,细胞肿胀稍有减轻,但仍有小囊腔形成,细胞形态改善并不明显。详见图 1。

2.4 各组大鼠大脑锥体束中甘氨酸、GABA 的 AOD 值比较

与正常组相比,模型组大鼠甘氨酸、GABA 的 AOD 值降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与模型组相比,按法组大鼠甘氨酸 AOD 值显著增加($P<0.01$),按法组、按法盐水组大鼠 GABA 的 AOD 值均增加($P<0.05$)。详见图 2—3。

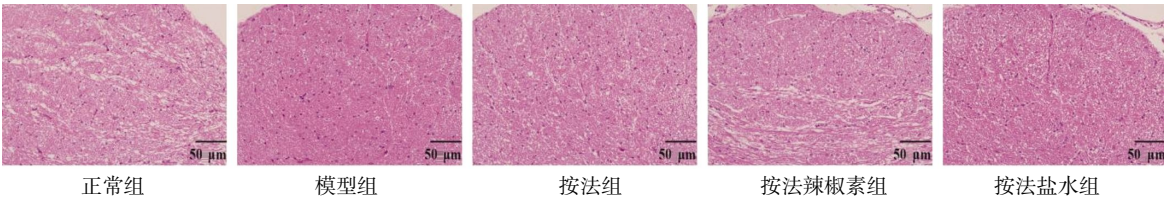


图 1 各组大鼠大脑锥体束 HE 染色后镜下观察结果($n=3$, $\times 200$)

Fig.1 Microscopic observation results of HE staining in the rat pyramidal tract across groups ($n=3$, $\times 200$)

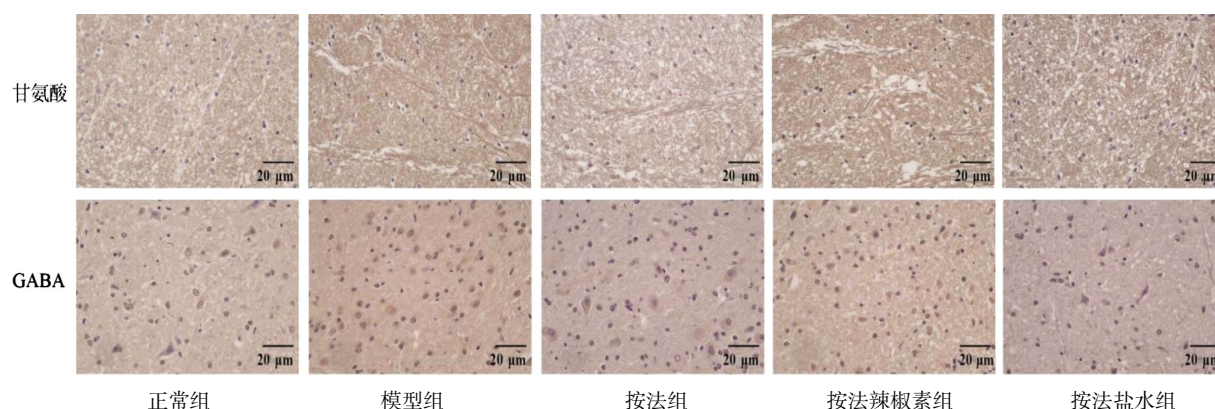


图2 各组大鼠大脑锥体束中甘氨酸、GABA 表达情况(免疫组化, $n=3$, $\times 400$)

Fig.2 Expression levels of glycine and GABA in the rat pyramidal tract across groups (immunohistochemistry, $n=3$, $\times 400$)

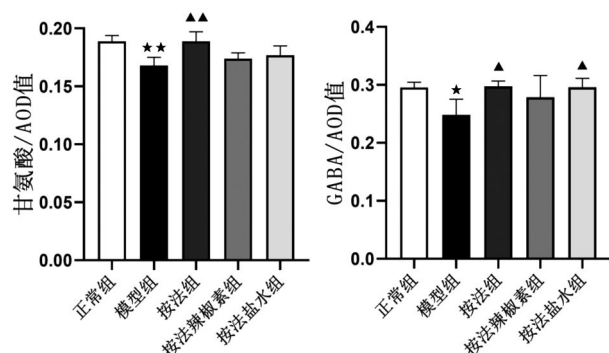


图3 各组大鼠大脑锥体束中甘氨酸、GABA 的 AOD 值比较($n=3$)

Fig.3 Comparison of AOD values of glycine and GABA in the pyramidal tract among different groups of rats ($n=3$)

注:与正常组相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$;与模型组相比, [▲] $P<0.05$, ^{▲▲} $P<0.01$ 。

2.5 各组大鼠海马中 SGK1、SIRT1 蛋白相对表达量比较

与正常组相比,模型组大鼠 SGK1 表达显著升高($P<0.01$),SIRT1 表达显著降低($P<0.01$);与模型组相比,按法组、按法盐水组、按法辣椒素组大鼠 SGK1 表达均显著降低($P<0.01$),按法组、按法盐水组 SIRT1 表达均升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。详见图 4—5。

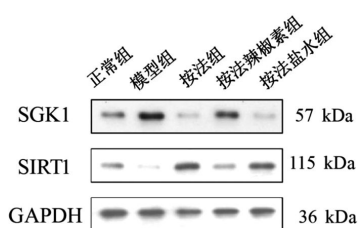


图4 各组大鼠海马中 SGK1、SIRT1 的蛋白电泳图

Fig.4 Protein electrophoresis images of SGK1 and SIRT1 in the rat hippocampus across groups

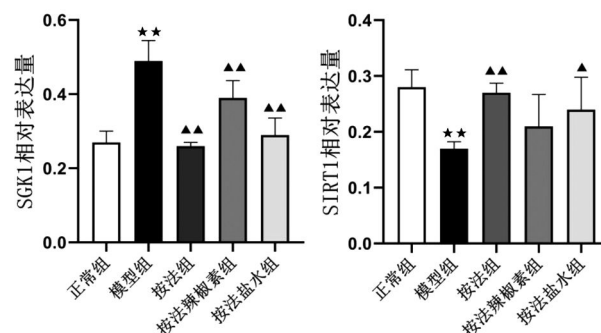


图5 各组大鼠海马中 SGK1、SIRT1 蛋白相对表达量比较($n=7$)

Fig.5 Comparison of relative expression levels of SGK1 and SIRT1 in the hippocampus among different groups of rats ($n=7$)

注:与正常组相比, ** $P<0.01$;与模型组相比, [▲] $P<0.05$, ^{▲▲} $P<0.01$ 。

2.6 各组大鼠海马中 SGK1、SIRT1 含量比较

与正常组相比,模型组大鼠 SGK1 含量显著升高($P<0.01$),SIRT1 含量显著降低($P<0.01$);与模型组相比,按法组、按法盐水组、按法辣椒素组大鼠 SGK1 含量均降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),按法组、按法盐水组 SIRT1 含量均升高($P<0.05$)。详见图6。

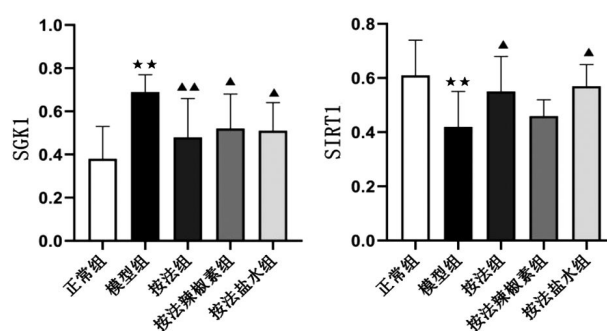


图6 各组大鼠海马中 SGK1、SIRT1 含量比较($n=7$)

Fig.6 Comparison of SGK1 and SIRT1 content in the hippocampus among different groups of rats ($n=7$)

注:与正常组相比, ** $P<0.01$;与模型组相比, [▲] $P<0.05$, ^{▲▲} $P<0.01$ 。

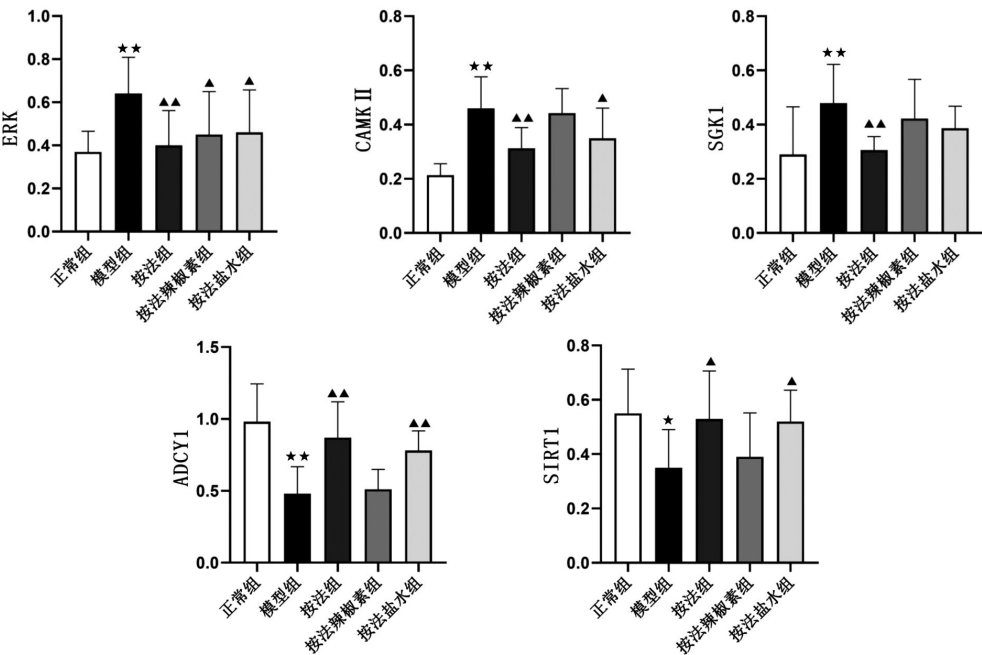


图 7 各组大鼠脊髓中 ERK、CaMK II、ADCY1、SGK1、SIRT1 含量比较($n=10$)

Fig.7 Comparison of ERK, CaMK- II, ADCY1, SGK1, and SIRT1 content in the spinal cord among different groups of rats ($n=10$)
注:与正常组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组相比,▲ $P<0.05$,▲▲ $P<0.01$ 。

2.7 各组大鼠脊髓中 ERK、CaMK II、ADCY1、SGK1、SIRT1 含量比较

与正常组相比,模型组大鼠脊髓中 ERK、CaMK II、SGK1 含量显著升高($P<0.01$),ADCY1、SIRT1 含量降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与模型组相比,按法组大鼠脊髓中 ERK、CaMK II、SGK1 含量显著降低($P<0.01$),ADCY1、SIRT1 的含量升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);按法辣椒素组 ERK 含量降低($P<0.05$);按法盐水组 ERK、CaMK II 含量降低($P<0.05$);ADCY1、SIRT1 的含量升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。详见图 7。

2.8 各组大鼠大腿内侧肌软组织张力 $D_{0.2\text{ kg}}$ 位移比较

干预前,与正常组相比,模型组、按法组、按法辣椒素组和按法盐水组大鼠软组织张力 $D_{0.2\text{ kg}}$ 均显著降低($P<0.01$)。干预后,与正常组相比,模型组软组织张力 $D_{0.2\text{ kg}}$ 显著降低($P<0.01$);与模型组相比,按法组、按法辣椒素组和按法盐水组软组织张力 $D_{0.2\text{ kg}}$ 显著升高($P<0.01$)。与干预前比较,按法组和按法盐水组软组织张力 $D_{0.2\text{ kg}}$ 干预后均升高($P<0.05$);与正常组和模型组相比,按法组、按法辣椒素组和按法盐水组软组织张力 $D_{0.2\text{ kg}}$ 干预前后差值均显著升高($P<0.01$)。详见表 3。

表 3 各组大鼠大腿内侧肌软组织张力 $D_{0.2\text{ kg}}$ 位移比较($\bar{x}\pm s$, $n=10$, mm)

Table 3 Comparison of $D_{0.2\text{ kg}}$ values for soft tissue tension in the medial thigh muscles among different groups of rats ($\bar{x}\pm s$, $n=10$, mm)

组别	干预前	干预后	差值
正常组	3.02±0.17	3.07±0.15	0.04±0.10
模型组	2.07±0.21**	2.17±0.17**	0.10±0.09
按法组	2.17±0.17**	2.93±0.11▲▲#	0.76±0.13***▲▲
按法辣椒素组	2.11±0.16**	2.94±0.21▲▲	0.82±0.17***▲▲
按法盐水组	2.09±0.12**	2.92±0.15▲▲#	0.83±0.12***▲▲

注:与正常组相比,** $P<0.01$;与模型组相比,▲▲ $P<0.01$;与干预前相比,# $P<0.05$ 。

3 讨论

3.1 推拿按法能够显著改善痉挛型脑瘫大鼠的神经肌肉功能

根据脑瘫的发病特点和主要症状,将其归属于中医学“五迟”“五软”“五硬”等范畴。脑为“髓海”,髓海不足,经脉失养,推拿按法可以疏通全身经脉,调和气血,有助于机体恢复平衡。《素问·举痛论篇》提到“按之则血气散,故按之痛止”“寒气客于背俞之脉……按之则热气至,热气至则痛止矣”,明确了推拿按法具有温经散寒、活血止痛的作用,与痉挛型

脑瘫“筋急拘挛”的病机相契合^[22]。痉挛型脑瘫“筋急拘挛”的治疗原则为疏通经络、调和气血^[23]。

有研究发现,推拿能改善痉挛型偏瘫儿童的粗大运动功能评分、下肢痉挛肌肉表面肌电及步行功能^[3],且脑瘫患儿的肢体痉挛评分、足背屈角、肌肉协同收缩率显著降低,对于脑瘫患儿出现的肌体痉挛等情况具有明显的改善作用^[24]。而本研究中脑瘫大鼠的肌肉痉挛程度在推拿后同样有明显改善,与前人结果一致^[3,24]。本研究显示,推拿按法干预后,按法组大鼠的改良 Ashworth 量表评分和 Zea Longa 量表评分均降低,软组织张力 $D_{0.2\text{ kg}}$ 值均升高,提示推拿按法可有效缓解肢体痉挛及神经功能缺损。有研究发现,推拿可促进骨骼肌运动功能恢复,缓解骨骼肌损伤,其作用机制可能与激活 Piezo1、抑制细胞凋亡有关^[25]。另有研究发现,按揉大鼠承山穴出现明确的镇痛效应,且对已损伤的坐骨神经形态学产生一定的恢复作用^[26]。本研究结果显示,推拿按法干预还能够调控抑制性递质释放,按法组脊髓中甘氨酸、GABA 的 AOD 值明显升高,表明推拿按法通过促进抑制性递质释放抑制肌肉过度牵张反射。

3.2 辣椒素去除 C 纤维后推拿按法的疗效明显减弱

脑瘫发生在锥体系时会导致不同类型的抑制功能丧失^[27],进而牵张反射过度、协同肌和拮抗肌的运动失衡,最终呈现出肌肉痉挛状态,形成痉挛型脑瘫^[28]。腱器官作为分布于肌肉与肌腱连接处的张力感受器,能够激活抑制性中间神经元,抑制过度牵张反射,避免肌肉损伤,肌梭的牵张感受器将冲动通过传入神经兴奋脊髓前角 α 运动神经元,再通过反射传出分支,调节协同肌和拮抗肌的平衡运动^[29]。因此,本研究选择按压大鼠的腱器官,以观察其对脑瘫引起的肌痉挛和肌张力增高的缓解效果。

C 纤维伤害性感受器可以对推拿产生的机械性刺激、辣椒素产生的化学刺激等做出反应,高剂量辣椒素可以使 C 纤维上辣椒素敏感的化学伤害感受器去功能化^[30]。另有研究表明,通过电刺激坐骨神经的 C 纤维,可以在大鼠脊髓的浅表层神经元记录到由 C 纤维诱发的场电位^[31]。研究表明,得气感与穴区 C 纤维的传导有密切关系^[32-33]。因此,本研究使用 2% 辣椒素对大鼠坐骨神经 C 纤维进行去功能化处理,观察推拿按法是否通过 C 纤维传导至脊髓产生效

应,进而改善大鼠肌痉挛状态。本研究结果显示,推拿按法干预脑瘫大鼠左侧下肢的腱器官,大鼠同侧软组织肌张力下降,痉挛状态明显缓解,这提示推拿按法对痉挛型脑瘫大鼠的治疗效果可能与 C 纤维介导的得气效应有关。

3.3 推拿通过神经-肌肉-代谢的协同变化进一步改善痉挛

LTP 是一种重要的突触可塑性现象,在脊髓水平上,LTP 参与疼痛信号的传递和突触连接的强化,增强痛觉敏化^[34]。有研究发现,LTP 的诱导和维持与神经再生和突触重组有关,在脊髓损伤后,LTP 可能参与神经可塑性的变化,有助于神经功能的恢复^[5]。本研究中,推拿按法对腱器官的机械刺激可通过激活中枢抑制性通路,抑制性神经递质甘氨酸和 GABA 在此过程中扮演核心角色。GABA 在发育早期介导兴奋性传递,对神经网络的形成和重塑起着关键作用,GABA 能突触的可塑性表现出神经元活动频率增高,高频率神经元活动通过增强突触后细胞的胞内 CaMK II 激酶活性和细胞膜上氯离子转运体活动,改变胞内氯离子浓度,产生 LTP^[35]。当按压作用于腱器官时,通过 I b 纤维将张力信号传入脊髓,与中间神经元形成突触连接,直接释放 GABA 作用于 α 运动神经元突触后膜相应受体,通过甘氨酸能中间神经元形成双重抑制网络,改善痉挛状态^[36]。

研究发现,ADCY1 是调控前扣带回皮质中突触可塑性的关键点分子^[37],且在脊髓背角的 LTP 调控中也起着关键作用^[38]。ADCY1 通过产生环磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP) 激活蛋白激酶 A,从而对 CaMK II 进行磷酸化,CaMK II 又可以抑制 cAMP 的累积^[39]。本研究中,脑瘫大鼠脊髓中 ADCY1 显著下降、CaMK II 含量显著上升。CaMK II 的活性状态直接影响突触强度和神经元兴奋性,活化的 CaMK II 和 ERK 引起谷氨酸能受体磷酸化,因此,CaMK II 的激活在神经信号传递和突触可塑性中起重要作用^[40]。研究表明,ERK 家族在突触可塑性中起着核心作用,ERK 在脊髓背角 C 纤维诱发的电场电位 LTP 中的作用与病理性疼痛有关^[40]。本研究中脑瘫大鼠脊髓中 ERK 含量显著上升,提示大鼠可能是出现疼痛后,诱导 LTP 使同侧脊髓背角磷酸化 ERK 蛋白水平瞬时升高^[40]。在本研究中,推拿干预后,按法组大鼠脊髓中 ERK、CaMK II 含量明显下降,

ADCY1 含量明显上升。

3.4 推拿通过 SGK1、SIRT1 分子网络改善大鼠神经-肌肉功能障碍

SGK1 参与神经兴奋性、细胞增殖和细胞凋亡的调节^[41],在海马和脊髓中高度表达^[42]。SGK1 介导离子流动,提升神经元胞内的 Ca^{2+} 浓度,引起神经突触的强度变化,这是突触可塑性中 LTP 的基础^[7]。本研究结果显示,痉挛型脑瘫大鼠脊髓、海马中 SGK1 表达水平明显上升,SIRT1 表达水平明显下降。SIRT1 的激活可以促进突触可塑性^[8],对于学习和记忆过程至关重要。SIRT1 还可以调节抗氧化酶活性,影响 C 纤维的功能和疼痛感知^[43]。推拿按法干预后,SGK1 含量明显降低,SIRT1 含量显著升高,而按法辣椒素组的 SGK1、SIRT1 含量改变差异无统计学意义,这提示推拿按法对痉挛型脑瘫大鼠的 SGK1、SIRT1 的调控效果可能与 C 纤维介导的得气效应有关。

课题组前期研究证实,按法刺激除了能兴奋肌肉的感觉神经之外,还可以兴奋 C 类神经纤维^[13],按法刺激腱器官可缓解脑瘫后肌痉挛,缓解股四头肌的肌张力^[17,44]。规律的按法能够诱导脊髓抑制性中间神经元产生 LTP^[45]。本研究发现,推拿按法刺激腱器官缓解脑瘫肌痉挛的机制可能与 SGK1、SIRT1 介导的神经元突触可塑性有关。本研究结果显示,按法刺激的得气效应通过 C 纤维形成冲动,冲动通过传入纤维传到脊髓,调节 L1-L2 脊髓节段 SGK1/SIRT1 介导的中间神经元突触可塑性,同时能够释放大量的甘氨酸、GABA 抑制性神经递质,抑制脊髓背角 C 纤维的 LTP,减轻大鼠慢性软组织疼痛,降低肌张力,改善痉挛型脑瘫大鼠神经-肌肉功能障碍,从而缓解痉挛。

参考文献

- [1] PAUL S, NAHAR A, BHAGAWATI M, et al. A review on recent advances of cerebral palsy[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022, 2022(1): 2622310.
- [2] SADOWSKA M, SARECKA-HUJAR B, KOPYTA I. Cerebral palsy: Current opinions on definition, epidemiology, risk factors, classification and treatment options[J]. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 2020, 16: 1505-1518.
- [3] 郭志丹, 李海峰, 都修波. 左右分治推拿法对痉挛型偏瘫儿童粗大运动功能及下肢痉挛的影响[J]. *中国医药导报*, 2025, 22(4): 159-163.

- [4] 方 茜, 徐纯鑫, 米蕴慧, 等. 互动式推拿对痉挛型脑瘫患儿步态时空参数的影响[J]. *针灸推拿医学(英文版)*, 2024, 22(4): 289-296.
- [5] JI R R, KOHNO T, MOORE K A, et al. Central sensitization and LTP: Do pain and memory share similar mechanisms?[J]. *Trends in Neurosciences*, 2003, 26(12): 696-705.
- [6] WEIDNER C, SCHMELZ M, SCHMIDT R, et al. Functional attributes discriminating mechano-insensitive and mechano-responsive C nociceptors in human skin[J]. *The Journal of Neuroscience*, 1999, 19(22): 10184-10190.
- [7] LANG F, BÖHMER C, PALMADA M, et al. (Patho)physiological significance of the serum and glucocorticoid-inducible kinase isoforms[J]. *Physiological Reviews*, 2006, 86(4): 1151-1178.
- [8] ZHANG F, WANG S P, GAN L, et al. Protective effects and mechanisms of sirtuins in the nervous system[J]. *Progress in Neurobiology*, 2011, 95(3): 373-395.
- [9] MA Y L, TSAI M C, HSU W L, et al. SGK protein kinase facilitates the expression of long-term potentiation in hippocampal neurons[J]. *Learning & Memory*, 2006, 13(2): 114-118.
- [10] XIN W J, GONG Q J, XU J T, et al. Role of phosphorylation of ERK in induction and maintenance of LTP of the C-fiber evoked field potentials in spinal dorsal horn[J]. *Journal of Neuroscience Research*, 2006, 84(5): 934-943.
- [11] 信文君, 黎明涛, 杨红卫, 等. 磷酸化钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II 在大鼠脊髓背角 C-纤维诱发电位长时程增强的诱导和维持中的作用[J]. *生理学报*, 2004, 56(1): 83-88.
- [12] 郑 宇, 朱清广, 孔令军, 等. 推拿相关 C 类触觉传入纤维的研究进展[J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(9): 5380-5383.
- [13] 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.
- [14] 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 G1y、GABA 含量的影响[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2015.
- [15] YU Y D, LI L, SHAO X Z, et al. Establishing a rat model of spastic cerebral palsy by targeted ethanol injection[J]. *Neural Regeneration Research*, 2013, 8(34): 3255-3262.
- [16] 诸葛启钊. 大鼠脑立体定位图谱[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 121-122.
- [17] 蒋全睿, 冯 祥, 刘 丹, 等. 不同力量推拿按法对大鼠筋膜疼痛触发点的影响[J]. *中国组织工程研究*, 2024, 28(27): 4360-4366.
- [18] 蒋全睿, 吴 琼, 匡小霞, 等. 按压对大鼠筋膜激痛点软组织张力的影响及其作用机制研究[J]. *中国疼痛医学杂志*, 2021, 27(5): 335-341.
- [19] ZHU B, XU W D, RONG P J, et al. A C-fiber reflex inhibition induced by electroacupuncture with different intensities applied at homotopic and heterotopic acupoints in rats selectively destructive effects on myelinated and unmyelinated affer-

- ent fibers[J]. *Brain Research*, 2004, 1011(2): 228–237.
- [20] BAUNSGAARD C B, NISSEN U V, CHRISTENSEN K B, et al. Modified Ashworth scale and spasm frequency score in spinal cord injury: reliability and correlation[J]. *Spinal Cord*, 2016, 54(9): 702–708.
- [21] 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.
- [22] 李 武, 张宇星, 蒋全睿, 等. “按之则热气至”理论源流探析[J]. *湖南中医药大学学报*, 2018, 38(11): 1294–1296.
- [23] 黄志凯, 潘 琪, 李霁宁, 等. 王继红运用赖氏通元疗法“三位一体”辨治脑卒中后肌张力增高经验摘要[J]. *中国针灸*, 2025, 45(8): 1134–1140.
- [24] 丁燕青, 许 星, 罗 滨. 分析抑强扶弱推拿在痉挛型脑性瘫痪患儿中的应用效果[J]. *内蒙古中医药*, 2025, 44(2): 1–4.
- [25] 黄 博, 阮 磊, 王兰兰, 等. 推拿技袞法介导机械敏感性离子通道 Piezo1 对骨骼肌损伤模型大鼠细胞凋亡的影响[J]. *湖南中医药大学学报*, 2023, 43(12): 2249–2255.
- [26] 王建珠, 鲍云帆, 杨小存, 等. 按揉承山穴对 CCI 模型大鼠机械足反射阈值及坐骨神经形态学影响研究[J]. *湖南中医药大学学报*, 2023, 43(1): 106–110.
- [27] STEINBOK P. Selective dorsal rhizotomy for spastic cerebral palsy: A review[J]. *Child's Nervous System*, 2007, 23(9): 981–990.
- [28] 于炎冰. 痉挛状态的外科治疗[J]. *中华神经外科杂志*, 2019, 35(1): 3–5.
- [29] RUDOMIN P. Presynaptic inhibition of muscle spindle and tendon organ afferents in the mammalian spinal cord[J]. *Trends in Neurosciences*, 1990, 13(12): 499–505.
- [30] ABDEL-SALAM O M E, MÓZSIK G. Capsaicin, the vanilloid receptor TRPV1 agonist in neuroprotection: Mechanisms involved and significance[J]. *Neurochemical Research*, 2023, 48(11): 3296–3315.
- [31] 杨红卫, 张红梅, 胡晓东, 等. PKC 在成年大鼠脊髓背角 C-纤维诱发电位长时程增强的诱导和维持中的作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2005, 21(2): 252–255.
- [32] 周 晨, 刘 群, 辛娟娟, 等. 基于神经肌肉接头兴奋传递研究得气针感调控机制的思路探讨[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2022, 28(10): 1658–1663.
- [33] WANG K M, YAO S M, XIAN Y L, et al. A study on the receptive field of acupoints and the relationship between characteristics of needling sensation and groups of afferent fibres[J]. *Scientia Sinica Series B, Chemical, Biological, Agricultural, Medical & Earth Sciences*, 1985, 28(9): 963–971.
- [34] LIU X G, ZHOU L J. Long-term potentiation at spinal C-fiber synapses: A target for pathological pain[J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2015, 21(7): 895–905.
- [35] STEIN V, NICOLL R A. GABA generates excitement[J]. *Neuron*, 2003, 37(3): 375–378.
- [36] ARORA I, MAL P, ARORA P, et al. GABAergic implications in anxiety and related disorders[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2024, 724: 150218.
- [37] BLISS T V P, COLLINGRIDGE G L, KAANG B K, et al. Synaptic plasticity in the anterior cingulate cortex in acute and chronic pain[J]. *Nature Reviews Neuroscience*, 2016, 17(8): 485–496.
- [38] WEI F, VADAKKAN K I, TOYODA H, et al. Calcium calmodulin-stimulated adenylyl cyclases contribute to activation of extracellular signal-regulated kinase in spinal dorsal horn neurons in adult rats and mice[J]. *The Journal of Neuroscience*, 2006, 26(3): 851–861.
- [39] BLITZER R D, CONNOR J H, BROWN G P, et al. Gating of CaMKII by cAMP-regulated protein phosphatase activity during LTP[J]. *Science*, 1998, 280(5371): 1940–1942.
- [40] LEAL G, COMPRIDO D, DUARTE C B. BDNF-induced local protein synthesis and synaptic plasticity[J]. *Neuropharmacology*, 2014, 76: 639–656.
- [41] LANG F, PERROTTI N, STOURNARAS C. Colorectal carcinoma cells: Regulation of survival and growth by SGK1[J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2010, 42(10): 1571–1575.
- [42] WU C Y, ZHANG Y L, XU L, et al. The role of serum/glucocorticoid-regulated kinase 1 in brain function following cerebral ischemia[J]. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 2024, 44(7): 1145–1162.
- [43] ROBINSON S, CONTEH F S, OPPONG A Y, et al. Extended combined neonatal treatment with erythropoietin plus melatonin prevents posthemorrhagic Hydrocephalus of prematurity in rats[J]. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2018, 12: 322.
- [44] 蒋全睿, 刘 丹, 潘杰灵, 等. 不同部位按法对慢性疼痛激痛点大鼠模型的影响[J]. *北京中医药大学学报*, 2023, 46(7): 1008–1019.
- [45] ZHANG H Z, WANG B Q, CHEN S J, et al. Exploring the effect of Tuina on the dendritic structure of spinal cord dorsal horn in rats with lumbar disc herniation based on NR2B/PSD-95 pathway[J]. *Journal of Acupuncture and Tuina Science*, 2023, 21(2): 129–136.

(本文编辑 匡静之)