

针刺康复治疗影响脑性瘫痪模型大鼠大脑病变组织生长相关蛋白43和突触小泡蛋白的表达

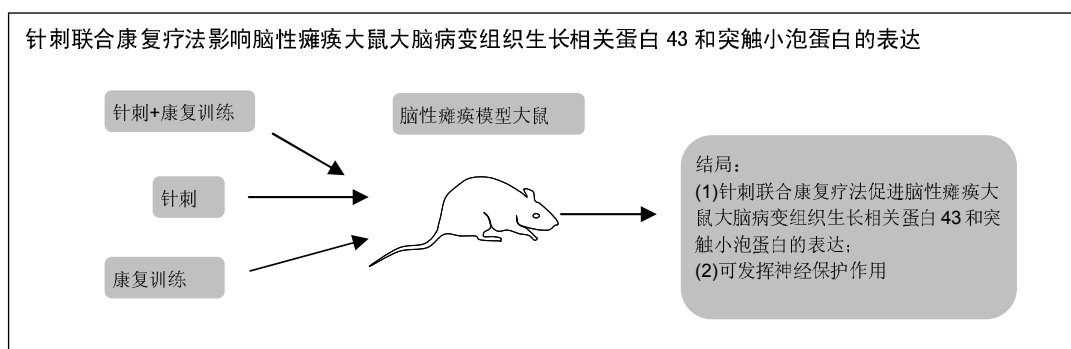
侯玉晋¹, 康豪鹏²(¹河南中医学院第二附属医院儿童脑病康复科, 河南省郑州市 450002; ²河南电力医院内一科, 河南省郑州市 450052)

引用本文: 侯玉晋, 康豪鹏. 针刺康复治疗影响脑性瘫痪模型大鼠大脑病变组织生长相关蛋白 43 和突触小泡蛋白的表达[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(27): 3999-4005.

DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2016.27.007

ORCID: 0000-0001-9841-4081(侯玉晋)

文章快速阅读:



侯玉晋, 女, 1981 年生, 汉族, 河南省南阳市人, 2009 年河南中医学院毕业, 硕士, 主治医师。

通讯作者: 侯玉晋, 河南中医学院第二附属医院儿童脑病康复科, 河南省郑州市 450002

中图分类号: R318

文献标识码: B

文章编号: 2095-4344

(2016)27-03999-07

稿件接受: 2016-04-30

文题释义:

脑性瘫痪: 是自受孕开始至婴儿期非进行性脑损伤和发育缺陷所导致的综合征, 是因非进行性损伤引起的各种运动功能障碍为主的一种综合征, 病变部位在大脑, 经常累及四肢, 伴有智力障碍、精神行为异常、听视觉及语言障碍等。

生长相关蛋白: 是神经发育以及突触密度的特征性标记物, 广泛存在于神经组织中, 参与神经细胞的生长、修复、再生以及突触重塑。测定生长相关蛋白 43 的分布及表达, 可了解神经细胞增生的程度及部位, 是衡量神经细胞可塑性及神经细胞的生长发育再生情况的重要指标。

摘要

背景: 针刺联合康复治疗是目前脑性瘫痪最有效的治疗方法, 生长相关蛋白 43 和突触小泡蛋白是神经发育以及突触密度的特征性标记物, 参与神经细胞的生长、修复、再生以及突触重塑。

目的: 观察针刺联合康复疗法对脑性瘫痪大鼠大脑病变组织生长相关蛋白 43 和突触小泡蛋白表达的影响, 探讨针刺联合康复疗法治疗脑性瘫痪的机制。

方法: 将 125 只大鼠随机分为 5 组: 假手术组、模型组、康复组、针刺组、针刺康复组。后 4 组均建立脑性瘫痪模型, 假手术组和模型组不予治疗处理, 康复组进行康复训练, 针刺组给予针刺治疗, 针刺康复组给予康复训练和针刺治疗。

结果与结论: ①运动功能: 针刺康复组模后第 3-5 周的运动功能评分优于模型组、康复组和针刺组($P < 0.05$); ②生长相关蛋白 43 和突触小泡蛋白的表达: 免疫组织化学染色显示, 与模型组相比, 康复组、针刺组和针刺康复组在第 2-4 周时大鼠大脑病变组织生长相关蛋白 43 的表达, 建模后 4、5 周突触小泡蛋白的表达均升高($P < 0.05$), 其中针刺康复组均升高最明显($P < 0.05$)。③结果表明, 针刺联合康复疗法促进脑性瘫痪大鼠大脑病变组织生长相关蛋白 43 和突触小泡蛋白的表达, 以此发挥神经保护作用。

关键词:

实验动物; 神经损伤与修复动物模型; 针刺; 康复训练; 针康法; 针刺治疗; 脑性瘫痪; 大鼠; 生长相关蛋白 43; 突触小泡蛋白; 运动功能

主题词:

组织工程; 生长相关蛋白 43; 模型, 动物

基金资助:

河南省高等学校重点科研项目计划(15A360003)

Hou Yu-jin, Master,
Attending physician,
Department of Children's
Encephalopathy
Rehabilitation, Second
Affiliated Hospital, Henan
University of Chinese
Medicine, Zhengzhou
450002, Henan Province,
China

Corresponding author: Hou
Yu-jin, Department of
Children's Encephalopathy
Rehabilitation, Second
Affiliated Hospital, Henan
University of Chinese
Medicine, Zhengzhou
450002, Henan Province,
China

Effects of acupuncture and rehabilitation therapy on the expression of growth associated protein-43 and synaptophysin at the injury site of cerebral palsy rats

Hou Yu-jin¹, Kang Hao-peng² (¹Department of Children's Encephalopathy Rehabilitation, Second Affiliated Hospital, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450002, Henan Province, China; ²First Department of Internal Medicine, Henan Electric Power Hospital, Zhengzhou 450052, Henan Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Acupuncture + rehabilitation therapy is the most effective treatment for cerebral palsy. Growth associated protein-43 and synaptophysin were characteristic markers for neurodevelopment and synaptic density, and involved in nerve cell growth, repair, regeneration and synapse remodeling.

OBJECTIVE: To study the effects of acupuncture + rehabilitation therapy on the expression of growth associated protein-43 and synaptophysin in cerebral palsy rats and to investigate the mechanism of acupuncture + rehabilitation therapy on cerebral palsy.

METHODS: The 125 rats were randomly divided into five groups: sham group, model group, rehabilitation group, acupuncture group, and acupuncture + rehabilitation group. Rat models of cerebral palsy were established in model group, rehabilitation group, acupuncture group, and acupuncture + rehabilitation group. Rat models in the sham and model groups did not receive treatment. Rat models in the rehabilitation group underwent rehabilitation training. Rat models in the acupuncture group were subjected to acupuncture. Rat models in the acupuncture + rehabilitation group underwent rehabilitation training and acupuncture.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) Motor function: The motor function scores were better in the acupuncture + rehabilitation group than in the model, acupuncture, and rehabilitation groups ($P < 0.05$). (2) Growth associated protein-43 and synaptophysin expression: immunohistochemical staining revealed that compared with the model group, growth associated protein-43 expression at 2-4 weeks and synaptophysin expression at 4 and 5 weeks were higher in the acupuncture and acupuncture + rehabilitation groups ($P < 0.05$); the increase in above expression was most significant in the acupuncture + rehabilitation group ($P < 0.05$). (3) Results confirmed that acupuncture combined with rehabilitation promoted growth associated protein-43 and synaptophysin expression in rats with cerebral palsy and exerted neuroprotective effect.

Subject headings: Tissue Engineering; Growth Associated Protein-43; Models, Animal

Funding: the Key Scientific Research Project of Colleges and Universities of Henan Province, No. 15A360003

Cite this article: Hou YJ, Kang HP. Effects of acupuncture and rehabilitation therapy on the expression of growth associated protein-43 and synaptophysin at the injury site of cerebral palsy rats. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2016;20(27): 3999-4005.

0 引言 Introduction

脑性瘫痪是因非进行性损伤引起的各种运动功能障碍为主的一种综合征,病变部位在大脑,经常累及四肢,伴有智力障碍、精神行为异常、听视觉及语言障碍等,主要表现为运动和姿势异常、智力及语言障碍、生长发育迟缓、精神行为异常等,严重影响患儿的发育和生活质量。目前脑性瘫痪的治疗主要有中医治疗、西医治疗以及中西医结合治疗,其中以针刺+康复治疗治疗效果较为显著。

生长相关蛋白43和突触小泡蛋白是神经发育以及突触密度的特征性标记物,广泛存在于神经组织中,参与神经细胞的生长、修复、再生以及突触重塑。测定生长相关蛋白43和突触小泡蛋白的含量、分布以及表达,可以了解神经细胞增生的程度及部位,是衡量神经细胞可塑性及神经细胞的生长发育再生情况的重要指标。

针刺+康复治疗是目前脑性瘫痪最有效的治疗方法,生长相关蛋白43和突触小泡蛋白是神经发育以及突触密度的特征性标记物,参与神经细胞的生长、修复、再生以及突触重塑。实验以此观察针刺联合康复疗法对脑性瘫痪大鼠大脑病变组织生长相关蛋白43和突触小泡蛋白表达的影响。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物模型实验。

1.2 时间及地点 于2014年3月至2015年6月在河南中医学院第二附属医院实验室完成。

1.3 造模动物 健康6-8周龄清洁级雄性SD大鼠125只,体质量220-280 g,由河南实验动物中心提供。实验前饲养1周,按照实验动物标准进行进食和饮水饲养于大鼠专用鼠笼。实验大鼠符合卫生部一级动物标准。

1.4 造模方法 将125只大鼠随机分为5组:假手术组、模型组、康复组、针刺组和针刺康复组,后4组均建立脑性瘫痪大鼠动物模型,每组25只。每组按照脑性瘫痪建模后1, 2, 3, 4, 5周再分为5个亚组,每个亚组5只。

脑性瘫痪大鼠动物模型建立:采用改良式的建模方法^[1],建模大鼠用水合氯醛进行腹腔麻醉,麻醉成功后将大鼠固定于手术台上,常规消毒,切开颈正中皮肤、分离皮下组织,分离左侧颈总动脉,并结扎,缝合手术切口后立即放入封闭的缺氧箱内,维持缺氧箱内氧气体积分数为8%,2 h后取出。假手术组按照上述手术步骤找到左颈总动脉,不予结扎,常规缝合切口。

1.5 造模成功的检测标准 在大鼠清醒状态下,用改良的Tarlov分组评定法评价大鼠神经症状;采用改良Ashworth痉挛量表检测大鼠肌张力;大鼠出现检测结果为3级或3级以下瘫痪,肌张力达到1级或1级以上即判定造模成功。

1.6 康复及针刺方法 ①假手术组:自由活动,正常饲养;②模型组:自由活动,正常饲养;③康复组:自由活动,正常饲养,于建模后开始进行网屏训练、平衡木训练及转动训练等康复训练;④针刺组:自由活动,正常饲养,于建模后开始给予针刺治疗,针刺穴位为合谷、肘节、前三里、少海和膝前,穴位定位参照华兴邦等的大鼠穴位图谱^[2],1次/d,3 min/次,毫针浅刺,不留针,持续5周;⑤针刺康复组:自由活动,正常饲养,于建模后开始给予康复训练和针刺治疗,方法同上。

1.7 大鼠运动功能评估 在建模后第1, 2, 3, 4, 5周,每组分别取5只大鼠进行实验,每只大鼠在麻醉处死取材前采取BBB功能评分进行运动功能评估,在安静且光线好的环境中进行实验,待大鼠适应测试环境后进行正式测试,由3个不同专业的人员从不同方向对大鼠的后肢运动、躯干运动、步态、足部持重、趾爪及肢体运动协调等进行评分。分值越高表明大鼠运动越活跃,说明大鼠运动功能越好。

1.8 大鼠大脑病变组织生长相关蛋白43和突触小泡蛋白的免疫组织化学染色 每只大鼠进行运动功能训练后,用水合氯醛麻醉,固定手术台上,暴露心脏,向左心室内注入生理盐水至右心耳鼓起,剪开右心耳待右心耳流出无色透明液体时用多聚甲醛固定至颈部变硬,剖颅取脑,将其在多聚甲醛中固定。将石蜡包埋的切片切成5 μm 厚的切片,进行生长相关蛋白43和突触小泡蛋白免疫组织化学染色。具体步骤:常规脱蜡, H_2O_2 中孵育, PBS洗涤,微波炉中修复,加入一抗(1:200),4 $^{\circ}\text{C}$

冰箱孵育12 h, PBS洗涤,加入二抗(1:200)孵育12 h, PBS洗涤, DAB显色,蒸馏水洗涤,苏木精复染,脱水透明,树胶封固,光学显微镜下观察。每只大鼠取3张切片,显微镜下选取5个视野,用图像软件测定生长相关蛋白43和突触小泡蛋白免疫组织化学染色阳性产物吸光度值。

1.9 主要观察指标 各组大鼠运动功能评分及大脑病变组织生长相关蛋白43与突触小泡蛋白的表达。

1.10 统计学分析 计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用SPSS 18.0软件进行数据分析,组建数据差异的比较采用单因素方差分析和LSD-*t*检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 大鼠125只,模型组有1只未出现瘫痪,弃之不用,未做补充,最终124只纳入结果分析。

2.2 模型稳定性及组大鼠运动功能变化 由表1可看出:模型组大鼠建模后第1-5周的运动功能评分均明显低于假手术组($P < 0.05$),表明大鼠脑性瘫痪模型制作成功。康复组和针刺组第4, 5周的运动功能明显优于模型组($P < 0.05$);针刺康复组建模后第3-5周功能运动评分优于模型组、康复组和针刺组($P < 0.05$)。表明针刺康复组、康复组和针刺组治疗脑性瘫痪均有效果,其中针刺康复组的治疗效果最好。

表1 各组大鼠运动功能评分比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$, 分)
Table 1 Comparison of motor function scores of rats in each group

建模后 时间	假手术组	模型组	康复组	针刺组	针刺康复组
1周	18.8 $\pm$ 0.13 ^a	5.8 $\pm$ 0.22	5.6 $\pm$ 0.25	5.7 $\pm$ 0.20	5.7 $\pm$ 0.27
2周	19.2 $\pm$ 0.10 ^a	5.7 $\pm$ 0.15	5.6 $\pm$ 0.14	5.5 $\pm$ 0.14	5.9 $\pm$ 0.23
3周	19.8 $\pm$ 0.16 ^a	6.4 $\pm$ 0.08	6.2 $\pm$ 0.25	6.0 $\pm$ 0.25	8.4 $\pm$ 0.10 ^{abc}
4周	19.0 $\pm$ 0.16 ^a	6.0 $\pm$ 0.12	8.6 $\pm$ 0.24 ^a	8.3 $\pm$ 0.24 ^a	11.2 $\pm$ 0.13 ^{abc}
5周	19.5 $\pm$ 0.23 ^a	6.6 $\pm$ 0.22	12.5 $\pm$ 0.09 ^a	12.1 $\pm$ 0.09 ^a	15.3 $\pm$ 0.16 ^{abc}

表注:与模型组比较, ^a $P < 0.05$;与康复组比较, ^b $P < 0.05$;与针刺组比较, ^c $P < 0.05$ 。

2.3 各组大鼠大脑病变组织生长相关蛋白43的表达 模型组大鼠大脑病变组织生长相关蛋白43的表达在建模后第1-4周均高于假手术组($P < 0.05$);康复组、针刺组和针刺康复组在建模后第1-3周大鼠大脑病变组织生长相关蛋白43的表达逐渐增加,建模后第3周时最高,

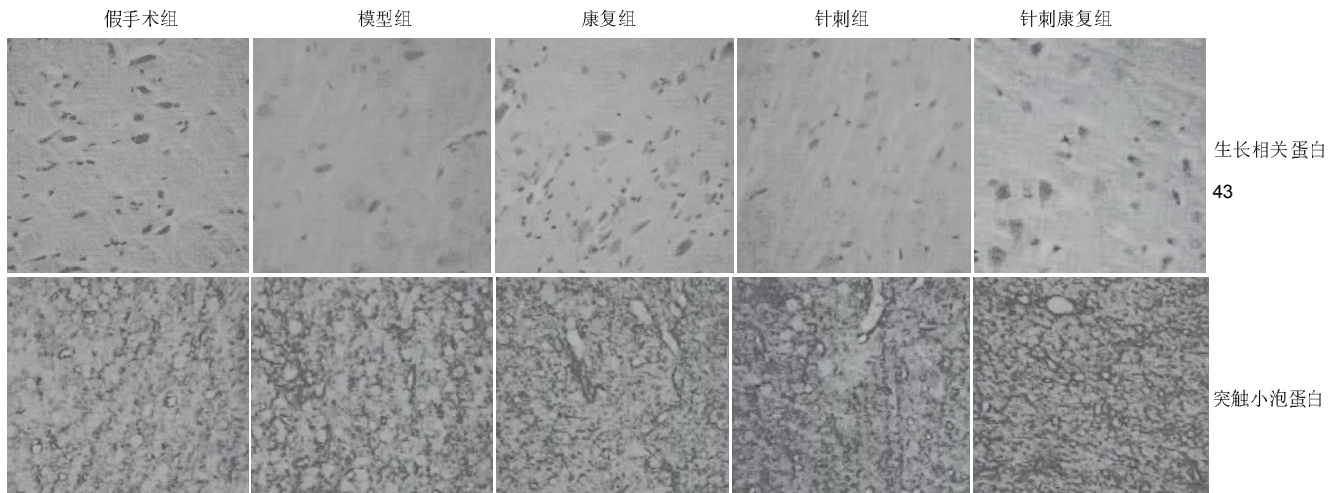


图 1 建模后 3 周各组大鼠病变组织生长相关蛋白 43 和突触小泡蛋白阳性细胞的表达(免疫组织化学染色, $\times 400$)

Figure 1 Growth associated protein-43- and synaptophysin-positive cells in the site of lesions at 3 weeks after model establishment in each group (immunohistochemical staining, $\times 400$)

图注: 康复组、针刺组和针刺康复组在建模后第 3 周大鼠大脑病变组织生长相关蛋白 43 的表达高于其他 2 组, 针刺康复组最明显。

表 2 各组大鼠大脑病变组织生长相关蛋白 43 的表达情况

($\bar{x} \pm s$, $n=5$, 吸光度值)

Table 2 Expression of growth associated protein-43 at the injury site of rats in each group

建模后时间	假手术组	模型组	康复组	针刺组	针刺康复组
1 周	0.084 $\pm$ 0.021 ^a	0.177 $\pm$ 0.014	0.164 $\pm$ 0.019	0.173 $\pm$ 0.020	0.173 $\pm$ 0.011
2 周	0.085 $\pm$ 0.019 ^a	0.234 $\pm$ 0.015	0.274 $\pm$ 0.014 ^a	0.275 $\pm$ 0.012 ^a	0.292 $\pm$ 0.017 ^{abc}
3 周	0.084 $\pm$ 0.017 ^a	0.361 $\pm$ 0.028	0.419 $\pm$ 0.013 ^a	0.420 $\pm$ 0.023 ^a	0.484 $\pm$ 0.016 ^{abc}
4 周	0.083 $\pm$ 0.016 ^a	0.204 $\pm$ 0.012	0.257 $\pm$ 0.010 ^a	0.256 $\pm$ 0.024 ^a	0.282 $\pm$ 0.013 ^{abc}
5 周	0.087 $\pm$ 0.023	0.092 $\pm$ 0.014	0.089 $\pm$ 0.034	0.090 $\pm$ 0.29	0.100 $\pm$ 0.026

表注: 与模型组比较, ^a $P < 0.05$; 与康复组比较, ^b $P < 0.05$; 与针刺组比较, ^c $P < 0.05$ 。

表 3 各组大鼠大脑病变组织 SPY 的表达情况

($\bar{x} \pm s$, $n=5$, 吸光度值)

Table 3 Expression of synaptophysin in the lesion site of rats from each group

建模后时间	假手术组	模型组	康复组	针刺组	针刺康复组
1 周	0.163 $\pm$ 0.011	0.134 $\pm$ 0.019	0.138 $\pm$ 0.012	0.140 $\pm$ 0.017	0.139 $\pm$ 0.021
2 周	0.162 $\pm$ 0.013	0.120 $\pm$ 0.012	0.124 $\pm$ 0.024	0.125 $\pm$ 0.022	0.130 $\pm$ 0.015
3 周	0.163 $\pm$ 0.009	0.162 $\pm$ 0.016	0.166 $\pm$ 0.023	0.167 $\pm$ 0.025	0.178 $\pm$ 0.019
4 周	0.164 $\pm$ 0.016	0.228 $\pm$ 0.015	0.254 $\pm$ 0.020 ^a	0.256 $\pm$ 0.014 ^a	0.286 $\pm$ 0.017 ^{abc}
5 周	0.163 $\pm$ 0.017	0.244 $\pm$ 0.014	0.284 $\pm$ 0.015 ^a	0.283 $\pm$ 0.018 ^a	0.332 $\pm$ 0.019 ^{abc}

表注: 与模型组比较, ^a $P < 0.05$; 与康复组比较, ^b $P < 0.05$; 与针刺组比较, ^c $P < 0.05$ 。

随后第 4, 5 周逐渐下降。康复组、针刺组和针刺康复组在建模后第 2, 3, 4 周时大鼠大脑病变组织生长相关蛋白 43 的表达均高于模型组 ($P < 0.05$); 针刺康复组在建模后第 2, 3, 4 周时大鼠大脑病变组织生长相关蛋白 43 的表达均高于康复组和针刺组 ($P < 0.05$)。见表 2 和图 1。

2.4 各组大鼠大脑病变组织突触小泡蛋白的表达情况
模型组、康复组、针刺组和针刺康复组大鼠大脑病变组织突触小泡蛋白的表达在建模后第 2 周最低, 随后不断升高, 在第 4, 5 周时, 康复组、针刺组和针刺康复组的

大鼠大脑病变组织突触小泡蛋白的表达均高于模型组 ($P < 0.05$), 其中针刺康复组的又明显高于康复组和针刺组 ($P < 0.05$)。见表 3 和图 1。

3 讨论 Discussion

脑性瘫痪是指各种原因引起的出生前或者出生后 1 个月内的非进行性的中枢性姿势异常和运动障碍, 是小儿残疾的主要原因之一。中国每年有三四万脑性瘫痪患儿^[3], 致残率为 42%–45%。脑性瘫痪给患者以及家庭

社会带来巨大负担, 直接影响患者的生活和生存能力。脑性瘫痪的主要病因有窒息、早产、缺血缺氧性脑病及颅内出血等。脑性瘫痪的治疗包括西医治疗、中医治疗和中西医结合治疗。

西医治疗: ①药物治疗: 药物治疗主要是降低肌肉张力, 促进神经细胞生长发育, 促进大脑代谢, 改善脑部循环, 主要药物有胞二磷胆碱、神经肽生长因子等。②手术治疗: 目前的手术主要有选择性脊神经后根部分切断术、骨科矫形手术, 国外应用较多的为周围神经选择性部分切断术^[4]。③细胞移植治疗: 神经干细胞治疗是一种新的治疗方法, 可以降低肌肉张力和痉挛程度。④康复治疗: 音乐疗法联合感觉综合训练治疗脑性瘫痪有一定效果^[5], 康复疗法联合游泳训练可以改善粗大运动功能以及平衡协调功能^[6], 核心稳定性训练能够改善粗大运动功能^[7], 引导式教育可以提高脑性瘫痪儿的智力发育等^[8]。

中医治疗: ①针灸: 靳三针疗法的头针四项治疗患儿的 Gesell 量表测定结果均有所改善^[9], 针刺手三阳经穴能够改善患儿的精细运动能力^[10], 头针和体针联合可以改善上肢运动^[11], 穴位埋线可以提高粗大运动功能^[12], 华佗磁疗贴压耳穴可以提高患儿体质等^[13]。②中药: 补中益气汤和药浴联合治疗脑性瘫痪患者膝反张有良好效果^[14], 参鹿启智汤治疗痉挛型脑性瘫痪可以提高 ADL 评分, 减低肌张力等^[15]。③推拿: 推拿治疗痉挛型脑性瘫痪患者可以改善粗大运动功能^[16], 改善关节功能障碍^[17]等。④理疗: 神经肌肉电刺激能够加快步行速度, 提高 CMFM 评分^[18], 经颅超低频磁刺激治疗脑性瘫痪疗效显著^[19], 五行体感音乐可以改善下肢关节活动度等^[20]。

中西医结合治疗: 康复运动疗法联合针灸治疗脑性瘫痪流涎有效率达 89%^[21], 上田正疗法联合熏蒸治疗痉挛型脑性瘫痪有效率为 48%^[22], 针刺结合坐位训练可以提高患儿的坐位功能^[23], 康复训练配合中药颗粒及熏洗剂可能改善痉挛型脑性瘫痪患者步态^[24], 康复功能训练联合中药蒸气浴治疗也有良好效果^[25], 康复训练联合推拿可以改善痉挛型脑性瘫痪患儿的粗大运动功能^[26], 中医按摩联合常规治疗方法治疗脑性瘫痪患儿吞咽功能障碍效果优于单纯常规治疗方法^[27], 康复训练联合功能性电刺激能够降低下肢肌张力, 提高下肢的运动功能^[28], 提高 WeeFIM 量表的功能评分等^[29]。

总之, 目前治疗脑性瘫痪的方法比较多, 其中针灸

在多种方法中显示出了独特的优势^[30], 在康复训练治疗的基础配合中医疗法效果较单一疗法显著。针刺联合康复治疗方法(即针康法)治疗脑性瘫痪是将传统中医与现代西医相结合, 在针刺治疗期间进行康复训练, 避免了单独针刺或者单独康复治疗的不足, 在临床中发挥了良好的治疗效果, 能够改善患者的各种运动功能障碍, 提高患者生活治疗。在动物研究中发现: 针康法能够促进细胞增生, 提高突触数量, 减轻神经组织损伤, 保护和修复神经元^[31]; 可以通过免疫抑制机制保护受损的大脑^[32]; 能够促进脑性瘫痪后内源性神经干细胞的分化与迁移等^[33]。在临床研究中发现: 针康法可以改善肌力障碍^[34]、运动功能障碍^[35]、语言功能障碍^[36]、平衡功能障碍^[37]、认知功能障碍等^[38]。生长相关蛋白 43 和突触小泡蛋白是神经组织的 2 个特异性标志蛋白, 参与神经元的修复和代偿。生长相关蛋白 43: 主要在神经元轴突末端表达, 生长相关蛋白 43 能够影响轴突生长, 在轴突形态形成以后消失, 在成年人中表达比较低^[39], 是参与神经细胞的生长、修复、再生以及突触重塑的标志性蛋白。在脑缺血的情况下, 生长相关蛋白 43 mRNA 表达增加, 促进神经元发芽和轴突再生^[40]。突触小泡蛋白: 在几乎所有的中枢及周围神经系统中都有突触小泡蛋白, 是突触可塑性的主要标志物, 能够引起神经递质的释放^[41], 影响神经信息传递加工, 突触小泡蛋白含量的高低影响神经生物功能, 参与神经细胞的生长、修复、再生以及突触重塑^[42], 在脑性瘫痪脑缺血时, 神经元的代谢和合成不足, 突触小泡蛋白的表达下降^[43-50]。

实验通过采用改良脑性瘫痪模型大鼠实验动物造模方法, 建立脑性瘫痪模型大鼠, 将其分为 5 组进行康复治疗、针刺治疗、针康治疗, 观察不同治疗方法的治疗效果。实验结果显示, 针刺康复组对大鼠的治疗效果最明显, 说明针刺联合康复治疗效果最优。康复训练能巩固刺激神经细胞生长, 超微结构发生变化, 突触传递信息功能增强, 长期运动能够减少脑组织突触数量下降, 及突触密度减少, 记忆学习能力也可增加突触数量, 康复训练还可以延缓突触小泡蛋白免疫产物的下降幅度, 增加脑皮质突触小泡蛋白的表达, 康复训练联合针刺疗法后大脑病变组织突触小泡蛋白的表达增加, 可见针康法对各项功能的调节作用机制可能为增加神经突触数量, 激发神经元轴突长芽, 增加突触和神经元间联系, 诱导恢复突触功能有关。康复训练联合针刺疗法后大脑病变组织生长相关蛋白 43 的表达增加, 表明针康

法能够刺激生长相关蛋白 43 的生长,促进神经轴突出芽,形成突触连接,促进突触重建,改善脑性瘫痪大鼠的运动功能。

综上所述,针刺联合康复疗法治疗脑性瘫痪大鼠可以有效恢复大鼠的运动功能,作用机制可能为针刺联合康复治疗能够促进病变组织生长相关蛋白 43 与突触小泡蛋白的表达。

致谢: 对实验过程的相关参与人员以及为实验提供帮助的机构和人员表示感谢。

作者贡献: 第一作者负责设计和实施。第二、三作者负责实施及文章的修改。

利益冲突: 所有作者共同认可文章内容不涉及相关利益冲突。

伦理问题: 实验过程中对动物的处置符合 2009 年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。实验方案中有关动物伦理问题已经河南医学院第二附属医院单位实验动物伦理委员会讨论批准。

文章查重: 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 文章经国内小同行外审专家双盲外审,符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 第一作者对研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁,可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

4 参考文献 References

- [1] Holtzman DM, Sheld RA, Jaffe W, et al. Nerve growth factor protects the neonatal brain against hypoxic-ischemic injury. *Ann Neurol*. 1996;39:114.
- [2] 华兴邦,李辞蓉,周浩良,等.大鼠穴位图谱的研制[J].实验动物与动物实验,1991,1:1.
- [3] 吴云.小儿脑性瘫痪的发病机制及诊治进展[J].安徽医学,2011,32(6):859-862.
- [4] 怀智勇.小儿痉挛型脑性瘫痪的中西医治疗概况[J].按摩与康复医学.2012.03(1):47-48.
- [5] 唐秀梅,钟陶.感觉统合训练联合音乐疗法对小儿脑性瘫痪功能康复的效果观察[J].现代诊断与治疗,2013,24(10):2385-2389.
- [6] 侯晓晖,李裕和,王春阳,等.Halliwick技术对学龄期脑性瘫痪儿童平衡和粗大运动功能的影响[J].中国运动医学杂志,2013,32(10):875-880.
- [7] 刘启雄,万子超.核心稳定性训练对脑性瘫痪患儿粗大运动的影响[J].鄂州大学学报,2013,20(5):70-71.
- [8] 魏明香,林小芹,黄翠梅,等.引导式教育对脑性瘫痪儿童智能发育的影响分析[J].临床医学工程,2013,20(4):434-435.
- [9] 汤健,张跃,朱敏,等.头针对脑性瘫痪儿童认知功能和脑干听觉诱发电位的影响[J].南京中医药大学学报,2013,29(6):532-534.
- [10] 谭晓如,赵伊黎,谢洁珊,等.针刺配合功能训练改善小儿脑性瘫痪精细运动功能临床观察[J].中医儿科杂志,2013,9(5):40-43.
- [11] 何金华,张惠佳,王益梅,等.针刺配合强制性诱导运动疗法对偏瘫型脑性瘫痪患儿上肢功能的影响[J].中国康复医学杂志,2013,28(9):864-866.
- [12] 刘辉,徐琳,董宝强.穴位埋线治疗不随意运动型脑性瘫痪随机平行对照研究[J].实用中医内科杂志,2013,27(6):113-115.
- [13] 黄启军,杨杰,张燕君,等.华佗磁疗贴压耳穴对200例脑性瘫痪儿童体质调理的临床疗效观察[J].中医儿科杂志,2013,9(1):62-64.
- [14] 陈玲.补中益气汤内服与药浴对脑性瘫痪膝反张的观察[J].军事医学,2012,36(2):160-161.
- [15] 陆春玲,周顺林,郭刚.参鹿启智汤治疗痉挛型脑性瘫痪40例临床观察[J].河北中医,2012,34(1):21-23.
- [16] 郑宏,张建奎,雷爽,等.辨证施术推拿按摩对痉挛型脑性瘫痪粗大运动功能及中医证候积分的影响[J].中国康复医学杂志,2013,28(10):952-954.
- [17] 刘朝辉,吴夏勃.点穴疗法治疗产伤性痉挛型脑性瘫痪之关节功能障碍的临床观察[J].中国优生优育,2013,19(3):176-178.
- [18] 王雪花.NMES结合运动疗法对脑性瘫痪患儿运动功能的影响[J].中外医学研究,2013,11(33):165.
- [19] 徐晨.经颅超低频磁刺激治疗脑性瘫痪患儿的疗效分析[J].中国医药指南,2013,11(23):213.
- [20] 刘振寰,张丽红,赵勇.五行体感音乐对痉挛型脑性瘫痪患儿肌张力的影响[J].中国康复理论与实践,2013,19(8):771-774.
- [21] 张丽丽,潘勇,赵斌.康复运动疗法配合针灸治疗脑性瘫痪流涎的疗效观察[J].中国伤残医学,2013,21(5):25-26.
- [22] 宋西晓,席慧萍.熏蒸方配合上田正疗法治疗小儿痉挛型脑性瘫痪88例[J].陕西中医,2012,33(7):799-780.
- [23] 张红运,杜菲.针刺结合坐位训练治疗脑性瘫痪患儿坐位功能异常的临床研究[J].针刺研究,2013,38(5):403-410.
- [24] 唐强,朱琳,王艳,等.穴位埋线治疗不随意运动型脑性瘫痪随机平行对照研究[J].辽宁中医杂志,2013,40(6):1063-1064.
- [25] 熊裕娟,覃蓉,王跑球,等.中药蒸汽浴配合功能训练治疗痉挛型脑性瘫痪59例临床观察[J].中医药导报,2013,19(1):36-38.
- [26] 苏炜,王建文.推拿手法结合康复训练治疗68例痉挛型脑性瘫痪疗效观察[J].甘肃医药,2013,32(11):838-840.

- [27] 李爱霞,左月仙,贾革红,等.中医手法介入对脑性瘫痪儿童吞咽障碍康复的疗效观察[J].中国康复理论与实践, 2013, 19(4):375-377.
- [28] 李威,章荣,罗亚玲,等.步态诱发功能性电刺激改善痉挛型双瘫型脑性瘫痪患儿下肢运动功能的疗效观察[J].中国康复医学杂志,2013,28(12):1126-1130.
- [29] 徐晨.小脑电刺激对脑性瘫痪儿童康复作用的疗效评价[J].中国现代药物应用,2013,7(20):48-49.
- [30] 王国洪,姜帅,林瑜.针灸按摩联合溶栓胶囊治疗小儿脑性瘫痪的疗效观察[J].中华中医药学刊,2013,31(5):1191.
- [31] 刘云.头穴丛刺结合康复训练对急性脑梗死大鼠神经可塑性影响的研究[D].哈尔滨:黑龙江中医药大学,2004.
- [32] 宋畅.头穴丛刺结合康复技术对急性脑梗死患者临床疗效及IL-6、TGF- β 1含量影响的研究[D].哈尔滨:黑龙江中医药大学,2008.
- [33] 唐强,白晶,王艳,等.头穴丛刺法调控大鼠脑梗死后内源性神经干细胞增殖迁移分化的实验研究[J].中国康复医学杂志,2009,24(8):676-679.
- [34] 关莹,张立,邢艳丽,等.针康法对脑卒中后痉挛状态的影响[J].中国康复理论与实践,2011,17(4):325-327.
- [35] 刘波,唐强,孔妍.头穴丛刺结合康复训练治疗脑梗死患者运动功能障碍的临床观察[J].针灸临床杂志,2009,25(10):32-34.
- [36] 张慧敏,唐强.针康法治疗脑卒中运动性失语患者79例临床观察[J].中医杂志,2011,52(10):855-858.
- [37] 邢艳丽,杨龙,张立,等.头穴丛刺结合康复治疗对脑梗死患者平衡功能影响的研究[J].中国中医药咨讯,2010,2(30):126-127.
- [38] 王艳,张立,李淑荣,等.头穴丛刺结合认知训练对脑梗死患者认知功能障碍的影响[J].中国康复理论与实践,2011,17(4):316-318.
- [39] McIlvain VA, Robertson DR, Maimone MM, et al. Abnormal thalamocortical pathfinding and terminal arbors lead to enlarged barrels in neonatal GAP-43 heterozygous mice. *J Comp Neurol*. 2003;462(2):252-264.
- [40] Chen B, Wang JF, Sun X. Regulation of GAP-43 expression by chronic desipramine treatment in rat cultured hippocampal cells. *Biol Psychiatry*. 2003; 53(6):530-537.
- [41] Levy HI, Hanscom B, Boden SD. Three-question depression screener used for lumbar disc herniation and spinal stenosis. *Spine*. 2002;27(11):1232-1237.
- [42] Thiel G, Synapsin I. Synapsin II and Synaptophysin: marker proteins of synaptic vesicles. *Brain Pathol*. 1993;3(1):87-95.
- [43] 槐雅萍,杨永轩,贾子善,等.探索学习对局灶性脑梗死大鼠梗死灶周围皮质巢蛋白及突触素表达的影响[J].中国全科医学,2010,13(5):501-505.
- [44] Rumajogee P, Bregman T, Miller SP, et al. Rodent Hypoxia-Ischemia Models for Cerebral Palsy Research: A Systematic Review. *Front Neurol*. 2016.
- [45] Kang B, Kim DH, Hong YJ, et al. Complete occlusion of the right middle cerebral artery associated with *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. *Korean J Pediatr*. 2016;59(3):149-152.
- [46] Placha K, Luptakova D, Baciak L, et al. Neonatal brain injury as a consequence of insufficient cerebral oxygenation. *Neuro Endocrinol Lett*. 2016;37(2):79-96.
- [47] Balakrishnan N, Ericson M, Maggi R, et al. Vasculitis, cerebral infarction and persistent *Bartonella henselae* infection in a child. *Parasit Vectors*. 2016;9(1):254.
- [48] Wang JH, Zhao M, Bao YC, et al. Effect of Scalp-acupuncture Treatment on Levels of Serum High-sensitivity C-reactive Protein, and Pro-inflammatory Cytokines in Patients with Acute Cerebral Infarction. *Zhen Ci Yan Jiu*. 2016;41(1):80-84.
- [49] Zhang CH, Bian JL, Meng ZH, et al. Tongguan Liqiao acupuncture therapy improves dysphagia after brainstem stroke. *Neural Regen Res*. 2016;11(2):285-291.
- [50] Sands KA, Shahripour RB, Kumar G, et al. Acute Isolated Central Facial Palsy as Manifestation of Middle Cerebral Artery Ischemia. *J Neuroimaging*. 2016.