

文章编号:1005-0957(2024)01-0089-07

• 动物实验 •

经颅重复针刺对血管性痴呆模型大鼠认知功能及海马突触超微结构的影响

于国强^{1,2}, 孙婧妍², 关莹¹, 唐祎周¹, 杨添淞³, 石光煜³, 冯秋菊¹, 曹焱¹, 吴壮¹, 张良¹, 李红伟⁴

(1. 黑龙江中医药大学附属第二医院, 哈尔滨 150001; 2. 黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150040; 3. 黑龙江中医药大学附属第一医院, 哈尔滨 150040; 4. 孙申田名老中医工作室, 哈尔滨 150006)

【摘要】 目的 观察经颅重复针刺对血管性痴呆(vascular dementia, VaD)大鼠认知功能及海马 CA1 区突触素(synaptophysin, SYN)、微管相关蛋白-2(microtubule associated protein-2, MAP-2)表达的影响。**方法** 将 56 只 SD 大鼠随机分为空白组(14 只)和造模组(42 只)。造模组建立 VaD 模型, 将造模成功大鼠随机分为模型组(14 只)、常规针刺组(14 只)和经颅重复针刺刺激(repetitive transcranial acupuncture stimulation, rTAS)组(14 只)。造模成功后第 2 天, rTAS 组采用经颅重复针刺;常规针刺组仅给予常规针刺手法;模型组与空白组给予以同等条件抓取及固定, 不予针刺。采用水迷宫评价大鼠学习记忆能力, 采用旷场实验评价大鼠探索行为和自主活动能力, 免疫印迹法检测海马 CA1 区 SYP、MAP-2 蛋白表达水平, 透射电镜观察海马组织中突触超微结构。**结果** 与空白组比较, 模型组逃避潜伏时间明显增加($P<0.05$), 穿越平台次数明显减少($P<0.05$);与模型组比较, 常规针刺组与 rTAS 组逃避潜伏时间明显减少($P<0.05$), 穿越平台次数明显增加($P<0.05$);与常规针刺组比较, rTAS 组逃避潜伏时间与穿越平台次数改变不明显($P>0.05$)。与空白组比较, 模型组穿越格子数与后肢站立数明显减少($P<0.05$);与模型组比较, 常规针刺组与 rTAS 组穿越格子数与后肢站立数明显增加($P<0.05$);与常规针刺组比较, rTAS 组穿越格子数与后肢站立数明显增加($P<0.05$)。与空白组比较, 模型组 SYP、MAP-2 表达水平显著降低($P<0.05$);与模型组比较, 常规针刺组与 rTAS 组 SYP、MAP-2 表达水平显著增高($P<0.05$);与常规针刺组比较, rTAS 组 SYP、MAP-2 表达水平显著增高($P<0.05$)。电镜下, 模型组突触结构欠清晰, 突触间隙模糊不清, 突触小泡较少, 突触前致密物质减少, 胞浆内细胞器稀疏, 线粒体变形肿大明显;而 rTAS 组突触结构较完整, 突触间隙、突触前后膜分界清晰, 突触前膜内囊泡较多, 突触后膜均匀增厚, 周边线粒体丰富、结构完整。**结论** 经颅重复针刺较常规针刺可能通过调控 SYP、MAP-2 表达, 更有效促进突触再生, 改善突触可塑性, 修复受损神经元, 从而改善认知功能。

【关键词】 针刺疗法;经颅重复针刺;痴呆, 血管性;突触;海马;认知功能;大鼠**【中图分类号】** R2-03 **【文献标志码】** A

DOI:10.13460/j.issn.1005-0957.2024.01.0089

Effects of repetitive transcranial acupuncture on cognitive function and hippocampal synaptic ultrastructure in rats with vascular dementia YU Guoqiang^{1,2}, SUN Jingyan², GUAN Ying¹, TANG Yizhou¹, YANG Tiansong³, SHI Guangyu³, FENG Qiuju¹, Cao Yi¹, WU Zhuang¹, ZHANG Liang¹, LI Hongwei⁴. 1.The Second Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150001, China; 2.Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China; 3.The First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of

基金项目:国家自然科学基金面上项目(82074539);黑龙江省卫生健康委科研项目(20211212010322);孙申田青年人才基金(2020KY-12);黑龙江省国医大师学术思想传承科研课题项目(GY2022-19)

作者简介:于国强(1982—),男,副主任医师,博士,Email:James4109@163.com**通信作者:**曹焱(1984—),女,主治医师,硕士,Email:blue0221@126.com

Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China; 4.Sun Shen-tian TCM Studio, Harbin 150006, China

[Abstract] Objective To observe the effects of repetitive transcranial acupuncture on the cognitive function and the expression of synaptophysin (SYN) and microtubule associated protein-2 (MAP-2) in hippocampal CA1 region of vascular dementia (VaD) rats. **Method** Fifty-six SD rats were randomly divided into a blank control group (14 rats) and a model group (42 rats). VaD model was established in the model group, and the successful model rats were randomly divided into a model group (14 rats), a conventional acupuncture group (14 rats) and a repetitive transcranial acupuncture stimulation (rTAS) group (14 rats). On the second day after successful modeling, the rTAS group was treated with repetitive transcranial acupuncture. The rats in the conventional acupuncture group only received conventional acupuncture manipulation. The rats in the model group and the blank control group were grasped and fixed under the same conditions without acupuncture. Water maze was used to evaluate the learning and memory ability of rats, and open field test was used to evaluate the exploratory behavior and autonomous activity ability of rats. Western blot was used to detect the expression of SYP and MAP-2 protein in the hippocampal CA1 region, and transmission electron microscope was used to observe the synaptic ultrastructure of hippocampus. **Result** Compared with the blank control group, the escape latency time of the model group was significantly increased ($P < 0.05$), and the frequency of crossing the platform was significantly reduced ($P < 0.05$). Compared with the model group, the conventional acupuncture group and the rTAS group had a significant reduction in the escape latency time ($P < 0.05$) and a significant increase in the number of platform crossings ($P < 0.05$). Compared with the routine acupuncture group, the rTAS group had no significant changes in the escape latency time and the number of platform crossings ($P > 0.05$). Compared with the blank control group, the number of crossing grids and the number of hind limb standing in the model group were significantly reduced ($P < 0.05$). Compared with the model group, the conventional acupuncture group and the rTAS group had significant increases in the number of grids crossing and the number of hind limbs standing ($P < 0.05$). Compared with the conventional acupuncture group, the rTAS group had significant increases in the number of crossing grids and the number of hind limb standing ($P < 0.05$). Compared with the blank control group, the expression levels of SYP and MAP-2 in the model group were significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the expression levels of SYP and MAP-2 in the conventional acupuncture group and the rTAS group were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the conventional acupuncture group, the rTAS group had significant increases in the expression levels of SYP and MAP-2 ($P < 0.05$). Under electron microscope, the synaptic structure of the model group was not clear, the synaptic gap was blurred, the synaptic vesicles were fewer, the presynaptic dense material was reduced, the organelles in the cytoplasm were sparse, and the mitochondria were deformed and enlarged obviously. In rTAS group, the synaptic structure was more complete, the synaptic cleft, the boundary between the pre - and post-synaptic membranes were clear, there were more vesicles in the presynaptic membrane, the postsynaptic membrane was evenly thickened, and the surrounding mitochondria were abundant and structurally intact. **Conclusion** Compared with conventional acupuncture, repetitive transcranial acupuncture may promote synaptic regeneration, improve synaptic plasticity, repair damaged neurons, and improve cognitive function by regulating the expression of SYP and MAP-2.

[Key words] Acupuncture therapy; Repeated transcranial acupuncture; Dementia, vascular; Synapses; Hippocampus; Cognitive function; Rats

血管性痴呆(vascular dementia, VaD)是指因由各类脑血管疾病造成脑区低灌注导致智能获得性损伤,引起记忆减退,行为、认知障碍的综合征。VaD有高发

病率和高致残率的特点。流行病学调查^[1]发现, VaD在中国的发病率已超过阿尔茨海默病,成为发病率最高的痴呆类型; VaD不但导致患者生活无法自理、生活质

量下降,还给患者家庭带来极大负担。目前,现代医学对VaD缺乏公认的治疗方案^[2],现有治疗方案,对患者认知功能改善效果不明显^[3],无法有效提高患者工作、学习和社交能力。经颅重复针刺刺激(repetitive transcranial acupuncture stimulation, rTAS)可对神经系统产生良性影响^[4],对帕金森病导致轻度认知障碍,能明显改善患者临床症状^[4];对原发性失眠及卒中后睡眠障碍疗效确切^[5-6];对VaD伴失语有显著临床优势^[7],于情感区行经颅重复针刺刺激对于改善脑梗死后轻度认知障碍患者视空间与执行功能、注意和计算力、延迟回忆能力等优于常规针刺手法^[8],但作用机制尚不完全明确,本研究应用rTAS干预VaD模型大鼠,观察其对大鼠认知功能及海马CA1区海马突触素(synaptophysin, SYN)、微管相关蛋白-2(microtubule associated protein-2, MAP-2)表达的影响,探讨经颅重复针刺对VaD的作用及可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 56 只,体质量(200±20)g,由黑龙江中医药大学动物实验中心提供,许可证号 SCXK(黑)2019012。在自然昼夜采光,室温 18~28℃,相对湿度 40%~70%中适应性喂养 1 周。

1.2 主要试剂与仪器

MAP-2 单克隆抗体(ab33580,美国 Abcam);SYP 单克隆抗体(sc-365447,美国 Santa);RIPA 裂解液(AWB-0101,美国 Abmart);BCA 蛋白浓度测定试剂盒(P0011,上海碧云天);荧光染料试剂盒(B2261-1G,德国 SIGMA);反转录试剂盒(MLT6101-2,上海 Mibio);预染蛋白质量标准(P0060M,上海碧云天)。Morris 水迷宫(SN0159858,重庆威斯腾);旷场箱(ZH-OFT,安徽正华);电泳仪电源(PowerPac,美国 BIO-RAD);电泳槽(Mini-PROTEAN Tetra,美国 BIO-RAD);SYD-K4080A 切片仪(81-0478-02,日本 Asone);透射电子显微镜(Tem,北京蓝木)。

1.3 模型制备与分组

根据随机数字表法将大鼠分为空白组(14只)和造模组(42只)。造模组采用大脑中动脉线栓缺血再灌注造模方法建立左侧局灶缺血性脑卒中模型大鼠^[9]。步骤为麻醉→激光多普勒血流仪定位左侧大脑中动脉→切开颈部皮肤→暴露左侧颈总动脉、颈内动脉、颈

外动脉→结扎颈外动脉、近心端颈总动脉→动脉微血管夹夹闭颈内动脉→颈总动脉远端剪V型切口→0.28 mm直径线栓于切口导入18~22 mm,阻断左侧大脑中动脉起始部血流→激光多普勒血流仪显示血流下降至基础值10%~20%→颈内动脉结扎→固定线栓→缺血2 h后回抽线栓至颈总动脉分叉处,使左侧大脑中动脉恢复灌注→缝合、消毒、抗感染^[10]。大鼠生命体征平稳后,参照Zea Longa评分^[11-12],评估造模组大鼠神经功能缺损情况,1~3分说明模型成功。选择造模成功大鼠进行Morris水迷宫检测,以正常组大鼠的平均逃避潜伏期为参考值,计算手术组大鼠平均逃避潜伏期和参考值差值与该鼠平均逃避潜伏期的比值,比值>20%为造模成功^[13]。实验过程和苏醒期间,大鼠体温保持在(37±0.5)℃。空白组仅分离颈总动脉、颈内动脉、颈外动脉,但不结扎、插线,稍后缝合伤口。将最终造模成功大鼠随机分为模型组(14只)、常规针刺组(14只)和rTAS组(14只)。

1.4 干预方法

1.4.1 rTAS组

造模后,参考《实验针灸学》^[14]中的定位方法(百会,项骨正中,向后斜刺2 mm;神庭,前正中线上,在额顶骨缝交界线前方处,向上斜刺2 mm)。穴位局部碘伏消毒2次后,采用经颅重复针刺。具体操作为用0.5寸毫针,与皮肤呈15°角斜向刺入3 mm;然后行快速捻转手法200转/min,每穴捻转3~5 min,留针30 min,每日1次,共14 d,术后第2天开始干预。

1.4.2 常规针刺组

造模后,大鼠固定、选穴、针刺时间、针刺深度、针刺角度、干预开始日期及干预天数同rTAS组,仅给予常规刺激量,即行捻转手法,60转/min左右,每穴捻转1 min。得气后,行平补平泻手法,每日1次,共14 d,术后第2天开始干预。

1.4.3 模型组

造模后,将大鼠回笼饲养,仅予以同等条件抓取及固定,不予针刺。

1.4.4 空白组

大鼠回笼饲养,同等条件抓取及固定,不予针刺。

1.5 观察指标与检测方法

1.5.1 Morris 水迷宫测试

实验用水迷宫为高60 cm、直径150 cm的圆形水池,水深30 cm,水温维持(24±2)℃,于水池第三象限放置

直径 6 cm 圆柱形平台。干预后第 10 天进行定位航行实验,用时 4 d。实验前让大鼠放置在平台上自由活动 1 min 以熟悉周围环境及实验人员,然后从水池四个象限顺时针依次将大鼠放入水中,记录其在 90 s 内找到平台的时间作为逃避潜伏期。若在 90 s 内大鼠未能找到平台,由研究人员辅助其到平台,并停留 15 s,同时记录其潜伏期为 90 s。干预后第 14 天进行空间探索试验,用时 1 d。具体方法为先将第三象限的平台撤除,大鼠同样由第一象限放入水中,记录大鼠 90 s 内穿过平台所在位置的次数。

1.5.2 旷场实验

干预后第 14 天进行旷场实验,用时 1 d。实验用旷场箱尺寸为 60 cm×100 cm×100 cm。具体方法为将旷场箱底面平均分为 25 个小方格,记录大鼠 3 min 内穿越格子数(水平运动)和后肢站立数(垂直运动)。

1.5.3 海马 CA1 区 SYN、MAP-2 蛋白表达

采用 Western blot 法,4 组取 10 只大鼠快速断头处死后,在冰盘上每只大鼠于视交叉后 1 mm 及 4 mm 处冠状切面切开,快速取中间脑组织即海马 CA1 区组织 50 mg,加入裂解液,60 Hz、90 s 匀浆 2 次后,4 ℃,12 000 r/min 离心 5 min,采用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定上清蛋白含量。取 40 μg 总蛋白进行 SDS-PAGE 电泳,转膜,质量分数 5%脱脂奶粉封闭,分别加入一抗 SYP 鼠单抗(1:1 000)、鼠单抗 MAP-2(1:1 000),4 ℃过夜,以β-actin 鼠单抗为参照,再分别加入相应二抗 IgG(HRP-标记羊抗鼠)室温孵育 1 h。ECL 曝光成像,化学发光系统分析结果。

1.5.4 海马组织中突触超微结构

取每组剩余 4 只 -80 ℃保存的大鼠海马组织 50 mg,依次进行固定、磷酸盐缓冲、2%四氧化锇孵育、再固定、脱水、包埋、60 ℃聚合、切片、2.5%乙酸铀酰和 1%柠檬酸铅染色、沉淀、透射电镜下观察。

1.6 统计学方法

采用 SPSS22.0 统计软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以均数±标准差表示,多组间比较采用单因素方差比较,两两比较采用邦弗伦尼校验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4 组大鼠学习记忆能力比较

干预后第 10 天进行定位航行实验,记录 4 组大鼠

在 90 s 内找到平台的时间作为逃避潜伏期;干预后第 14 天进行空间探索试验,记录 4 组大鼠 90 s 内穿过平台所在位置的次数。与空白组比较,模型组逃避潜伏时间明显增加($P<0.05$),穿越平台次数明显减少($P<0.05$);与模型组比较,常规针刺组与 rTAS 组逃避潜伏时间明显减少($P<0.05$),穿越平台次数明显增加($P<0.05$);与常规针刺组比较,rTAS 组逃避潜伏时间与穿越平台次数改变不明显($P>0.05$)。详见表 1。

表 1 4 组大鼠学习记忆能力比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	逃避潜伏时间/s	穿越平台次数/次
空白组	14	18.48±5.82	8.74±2.12
模型组	14	50.49±16.09 ¹⁾	4.53±0.99 ¹⁾
常规针刺组	14	20.09±7.38 ²⁾	7.41±2.07 ²⁾
rTAS 组	14	19.23±6.68 ²⁾	7.92±2.09 ²⁾

注:与空白组比较 ¹⁾ $P<0.05$;与模型组比较 ²⁾ $P<0.05$ 。

2.2 4 组大鼠探索行为和自主活动能力比较

干预后第 14 天进行旷场实验,记录大鼠 3 min 内穿越格子数(水平运动)和后肢站立数(垂直运动)。与空白组比较,模型组穿越格子数与后肢站立数明显减少,差异有统计学意义($P<0.05$);与模型组比较,常规针刺组与 rTAS 组穿越格子数与后肢站立数明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$);与常规针刺组比较,rTAS 组穿越格子数与后肢站立数明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$)。详见表 2。

表 2 4 组大鼠探索行为和自主活动能力比较($\bar{x} \pm s$)

单位:次			
组别	<i>n</i>	穿越格子数	后肢站立数
空白组	14	89.65±7.65	17.44±8.52
模型组	14	41.49±12.14 ¹⁾	7.53±3.91 ¹⁾
常规针刺组	14	80.65±12.35 ²⁾	10.95±5.07 ²⁾
rTAS 组	14	90.26±10.38 ²⁾³⁾	16.92±9.55 ²⁾³⁾

注:与空白组比较 ¹⁾ $P<0.05$;与模型组比较 ²⁾ $P<0.05$;与常规针刺组比较 ³⁾ $P<0.05$ 。

2.3 4 组大鼠海马 CA1 区 SYP 和 MAP-2 表达水平比较

与空白组比较,模型组海马 CA1 区 SYP 和 MAP-2 表达水平显著降低,差异有统计学意义($P<0.05$);与模型组比较,常规针刺组与 rTAS 组 SYP 和 MAP-2 表达水平显著增高,差异有统计学意义($P<0.05$);与常规针刺组比较,rTAS 组 SYP 和 MAP-2 表达水平显著增高,差异有统计学意义($P<0.05$)。详见表 3,图 1。

表 3 4 组大鼠海马 CA1 区 SYP 和 MAP-2 蛋白表达水平比较
($\bar{x} \pm s$)

组别	n	SYP	MAP-2
空白组	6	1.48±0.24	1.50±0.30
模型组	6	0.95±0.14 ¹⁾	0.93±0.19 ¹⁾
常规针刺组	6	1.35±0.21 ²⁾	1.21±0.11 ²⁾
rTAS 组	6	1.73±0.63 ²⁾³⁾	1.63±0.63 ²⁾³⁾

注:与空白组比较 ¹⁾ $P<0.05$;与模型组比较 ²⁾ $P<0.05$;
与常规针刺组比较 ³⁾ $P<0.05$ 。

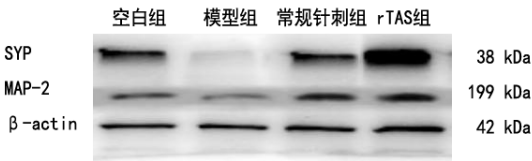


图 1 4 组大鼠海马 CA1 区 SYP 和 MAP-2 蛋白表达水平比较

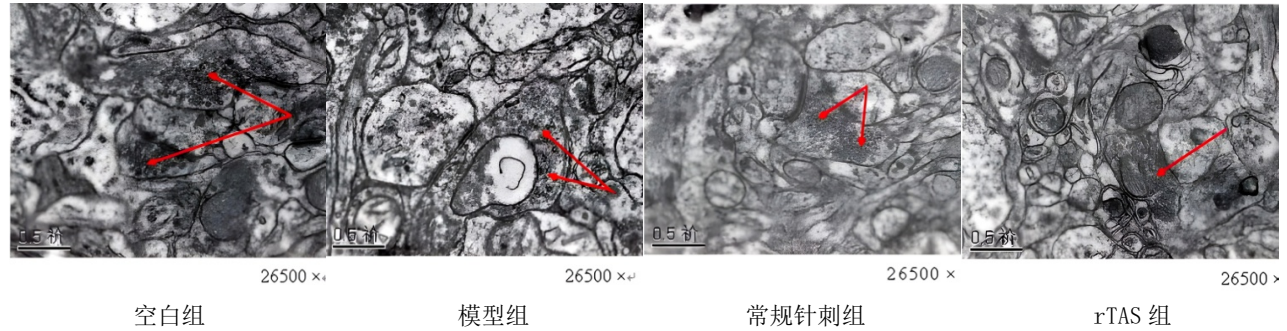


图 2 4 组大鼠海马 CA1 区突触超微结构比较

3 讨论

血管性痴呆 (VaD) 属于中医学“呆病”“痴呆”的范畴。古有“中风后善忘”“无记性者,脑髓渐空”等对该病的描述,认为痴呆病位在脑,髓减脑消、神机失用^[15]为其病机。国医大师孙申田教授根据其病机特点提出“神安病减”理论^[16],认为治疗痴呆以调神为根本。“神”这个概念在中医学理论中占有重要的地位,它与人之起源、生死密切相关,“失神者死,得神者生也”。孙申田教授遵古训“凡刺之法,必先本于神”,选择巅顶之百会醒神益智^[17],配以神庭醒脑开窍。同时,孙申田教授注重针刺手法,发现捻转的时间和速度要达到一个定量的标准,针刺疗效显著^[18],在经颅重复针刺运动诱发电位的研究^[19]基础上,开创了经颅重复针刺刺激疗法^[20],在捻针速度和持续时间给出定量标准^[6],即选择头穴后,斜刺至帽状腱膜下 1.5~2.0 寸深,施以捻转手法,且捻转频率保持 200 转/min,每穴持续捻转 3~5 min^[16]。该方法较之常规针刺存在“火候”差异^[21],当针刺刺激频率、时间达到一定程度的时候,产生的刺激信号是可以穿透高阻抗颅骨,对脑组织产生

2.4 4 组大鼠海马 CA1 区突触超微结构比较

空白组内可见完整的突触结构,突触前可见大量突触小泡,突触周围可见大量电子致密物质,基质均匀、周边细胞器丰富,可见线粒体、高尔基体分布排列均匀;模型组突触结构欠清晰,突触间隙模糊不清,突触小泡较少,突触前致密物质减少,胞浆内细胞器稀疏,线粒体变形肿大明显;常规针刺组突触结构大体完整,突触前膜欠清晰,致密物质较厚,较空白组质核素略增多,个别线粒体有轻微肿胀;rTAS 组突触结构较完整,突触间隙、突触前后膜分界清晰,突触前膜内囊泡较多,突触后膜均匀增厚,周边线粒体丰富、结构完整。详见图 2。

实质性影响^[22]。运用经颅重复针刺额区(情感区)可以治疗认知障碍^[20]。

本研究采用大脑中动脉线栓缺血再灌注造模方法建立大鼠 VaD 模型,造模后大鼠海马神经组织受损、凋亡,降低神经代谢与蛋白合成能力,导致神经元突触变性和丢失,突触可塑性下降,相关蛋白 SYP、MAP-2 表达改变^[23]。SYP 为突触前囊泡蛋白,与突触生长、发育、成熟密切相关^[24];MAP-2 分布于突触后致密区,调控突触形态与数量,与突触可塑性密切相关^[25]。由于 SYP、MAP-2 表达改变导致突触效能改变^[26],中枢胆碱能神经元结构被破坏^[27],神经递质合成受损,造成个体交流缺陷和认识障碍与感觉、焦虑等神经精神症状及社会活动缺陷等^[28]。而神经元结构受损又进一步影响突触功能和结构,导致突触变性和丢失^[29]。因此突触相关蛋白 SYP、MAP-2 的表达是突触数量及功能状态的标志,能够从微观层面反映突触的病理生理变化^[30]。

本研究中发现,模型组大鼠电镜下观察,突触结构欠清晰,突触间隙模糊不清,突触小泡较少,突触前致密物质减少,其学习记忆能力与其余 3 组有明显差

异。rTAS 组大鼠海马 CA1 区突触素 SYP、微管蛋白 MAP-2 蛋白表达水平较模型组和常规针刺组有显著提高,既然触相关蛋白 SYP、MAP-2 的表达是突触数量及功能状态的标志,那么 rTAS 组大鼠海马 CA1 区突触素 SYP、微管蛋白 MAP-2 蛋白表达的提升有助于提高突触可塑性。由于记忆被认为是由突触强度的改变来编码的,突触增强作用被普遍认为是构成学习与记忆基础的主要分子机制之一。本研究发现 rTAS 组大鼠的学习记忆能力明显被改善,且探索行为和自主活动能力优于常规针刺组,其电镜下突触结构较完整,突触间隙、突触前后膜分界清晰,突触前膜内囊泡较多,突触后膜均匀增厚,较接近空白组。说明 rTAS 较常规针刺可能通过调控 SYP、MAP-2 表达,更有效促进突触再生,改善突触可塑性,修复受损神经元,改善 VaD 模型大鼠的探索行为能力、自由活动能力以及学习记忆能力,从而改善其认知功能。

经颅重复针刺刺激是集国医大师孙申田教授数十年临床经验及科学实验总结探索出来新的头穴针刺手法,是对头针治疗的重新认识,阐述了头针的作用机制。其体现中医大家传承经典,指导实践、用于临床,临床启发理论创新,通过机理研究,探索新的诊疗模式,再用于临床的学术思想。目前大量研究^[31-33]表明经颅重复磁刺激和电刺激产生磁信号或电信号,穿过颅骨作用于大脑皮层,对大脑皮层及下游神经系统产生确切的调节作用,这点与经颅重复针刺刺激既相似又不同。而经颅重复针刺刺激产生的不是简单磁场或电流,其作用是一个包含疼感、温感、组织间摩擦、牵扯的复合刺激,涵盖理性因素、感情因素、生理因素的多因素交互^[34-36]。通过本研究发现经颅重复针刺刺激较常规针刺手法可以更有效影响神经突触,通过改善突触可塑性改善认知功能,然而颅内外神经突触的联结机制有待于进一步的研究与探索。

参考文献

- [1] 王岩,白艳杰,张铭.脑卒中后轻度认知障碍的研究进展[J].吉林中医药,2020,40(6):721-724.
- [2] 刘海燕,赵超蓉.血管性痴呆的中西医研究进展[J].现代中西医结合杂志,2021,30(3):334-338.
- [3] 杨坤,宋小鸽,阮静茹,等.艾灸改善血管性痴呆大鼠认知功能及对海马神经元凋亡相关蛋白的影响[J].中国针灸,2021,41(12):1371-1378.
- [4] 刘征,梁爽,毕海洋,等.经颅重复针刺手法治疗帕金森病轻度认知障碍的疗效观察[J].广州中医药大学学报,2020,37(11):2152-2156.
- [5] 潘立民,陈雪岩,李岩,等.“经颅重复针刺手法”治疗原发性失眠的临床随机对照试验[J].针灸临床杂志,2020,36(11):14-17.
- [6] 孙远征,刘越,于天洋.调神电针联合经颅重复针刺手法治疗脑卒中后心脾两虚型睡眠障碍患者的效果及对HRV、5-HT、NE的影响[J].时珍国医国药,2021,32(11):2699-2702.
- [7] 马育轩,朱艺霞,于国强,等.“金钩钓鱼”针法联合经颅重复针刺法治疗血管性痴呆伴失语临床研究[J].针灸临床杂志,2021,37(11):36-40.
- [8] 冯大铭.情感区经颅重复针刺治疗脑梗死后轻度认知功能障碍的临床疗效观察[D].哈尔滨:黑龙江中医药大学,2019:35.
- [9] 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.
- [10] 吴琳,吴芳,刘娅楠,等.大鼠脑缺血再灌注模型制作流程详述及经验总结[J].实验动物科学,2021,38(3):62-65.
- [11] 卢小叶,吕倩忆,李棋龙,等.Zea-longa评分与改良 Garcia评分应用于针刺治疗CIRI大鼠神经功能缺损评估的研究[J].湖南中医药大学学报,2021,41(9):1356-1360.
- [12] RÖTHER J. Neuroprotection does not work![J]. *Stroke*, 2008, 39(2):523-524.
- [13] 赵宪林,方秀斌,李东培.大鼠血管性痴呆模型制作[J].中国医科大学学报,2002,31(3):166-167.
- [14] 张露芬.实验针灸学[M].北京:化学工业出版社,2010:219-220.
- [15] 李心沁,王康锋,崔华峰,等.古代文献针灸治疗老年期痴呆取穴规律研究[J].山东中医药大学学报,2018,42(5):397-401.
- [16] 刘征,王悦,周凌.孙申田教授以经颅重复针刺手法调神治疗疾病的经验[J].针灸临床杂志,2019,35(5):66-69.
- [17] 王军.孙申田教授百会穴临床应用经验[J].上海针灸杂志,2009,28(2):67-68.
- [18] 张禹,孙申田,杨沈秋.经颅重复针刺法治疗肝郁脾虚

- 型失眠30例临床观察[J]. 中国中医药科技, 2019, 26(5):714-715.
- [19] 王玉琳, 孙忠人, 张瑞. 孙申田教授治疗运动障碍疾病验案举隅[J]. 上海针灸杂志, 2013, 32(5):401-402.
- [20] 孙申田, 王军. 经颅重复针刺刺激疗法[J]. 北京: 人民卫生出版社, 2022:1.
- [21] 韩沂晓, 杨思宇, 张莹, 等. 孙申田基于“心身医学”视角针灸治疗郁证经验撷菁[J]. 中国针灸, 2023, 43(4):395-400.
- [22] 于国强, 乔立达, 孙申田. 电针对正常家兔大脑皮层影响的实验研究[J]. 针灸临床杂志, 2011, 27(6):78-81.
- [23] 康丽娟, 齐凡星, 张欣, 等. 丁苯酞注射液在血管性痴呆大鼠中的作用及对神经生长因子的影响研究[J]. 药物生物技术, 2019, 26(4):305-308.
- [24] 杨光, 裴亚妮, 邵淑君, 等. 电针“百会”“涌泉”对APP/PS1双转基因小鼠海马突触可塑性相关蛋白表达的影响[J]. 针刺研究, 2020, 45(4):310-314.
- [25] 张刚, 刘丹丹, 蔡纯, 等. 先天性肺气道畸形患儿病变组织中差异表达基因的筛选及生物学功能分析[J]. 山东医药, 2021, 61(33):15-19.
- [26] 钱旭东, 王东, 徐倩倩, 等. 艾地苯醌对血管性痴呆大鼠海马突触再生和可塑性的影响[J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(14):3063-3066.
- [27] 张杰, 周媛, 马云枝, 等. 基于PI3K/Akt/mTOR通路探讨补肾通络方对血管性痴呆大鼠海马神经元突触可塑性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(18):25-31.
- [28] 李亚慧, 李晓红. 帕金森病运动训练方法及其机制的研究进展[J]. 中国康复理论与实践, 2019, 25(1):51-54.
- [29] 刘斌, 刘金霞, 毛文静, 等. 自噬对血管性痴呆大鼠海马CA1区突触素及突触后膜致密物质95表达的影响[J]. 第二军医大学学报, 2017, 38(2):206-211.
- [30] 钟汝佳, 陶定波, 乐卫东. 血管性痴呆病因及发病机制的研究进展[J]. 转化医学杂志, 2015, 4(4):193-198.
- [31] 朱利红, 杨宁波. SSRI联合高频重复经颅电刺激治疗难治性抑郁症患者临床研究[J]. 深圳中西医结合杂志, 2022, 32(8):23-26.
- [32] 阎华为. 重复经颅电刺激联合左乙拉西坦治疗成人难治性癫痫的效果观察[J]. 辽宁医学杂志, 2022, 36(1):60-62.
- [33] 苏静, 曾坤山, 柯艳梅, 等. 经颅重复高频磁刺激联合康复训练治疗小儿孤独症谱系障碍临床观察[J]. 黑龙江中医药, 2020, 49(5):51-53.
- [34] 谢兴国, 董旭, 张虹岩, 等. 头穴运动区经颅重复针刺治疗脑卒中急性期肢体运动功能障碍的临床研究[J]. 针灸临床杂志, 2022, 38(9):6-10.
- [35] 金泽, 于艳玲. 经颅重复针刺法联合芒针透刺治疗桡神经麻痹案[J]. 中国民间疗法, 2022, 30(3):109-110, 125.
- [36] 马帅, 王玉琳, 张思琪, 等. 头针结合“经颅重复针刺法”治疗慢性疲劳综合征临床研究[J]. 针灸临床杂志, 2022, 38(1):13-17.

收稿日期 2023-04-16