

电针预处理防治大鼠脑缺血再灌注损伤的研究进展

龙漫, 郑洲, 陈泽斌

湖北中医药大学基础医学院, 湖北 武汉 430065

摘要: 大量实验研究表明, 电针预处理对脑缺血再灌注损伤大鼠能起到积极的保护作用。本文从电针预处理的取穴方法和电针使用情况以及电针预处理对脑缺血再灌注损伤大鼠发挥脑保护作用的机制等方面进行综述, 以为电针预处理作为缺血性脑血管疾病的预防措施运用于临床实践提供参考依据。

关键词: 电针预处理; 脑缺血再灌注损伤; 脑保护; 脑血管疾病

中图分类号: R 743.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2020)01-0124-03

脑缺血可通过多种途径致脑细胞损伤, 造成脑组织及其功能的损害, 恢复缺血区的血供后会导致脑缺血再灌注损伤 (cerebral ischemia-reperfusion injury, CRI)。由于缺血性脑卒中的极低治愈率和高致残率、高死亡率, 除药物治疗外, 越来越多的学者着眼于探寻非药物预防措施, 如改变不良生活方式, 改善不良饮食习惯, 适当加强有氧锻炼, 运用艾灸、针刺等。电针 (electroacupuncture) 预处理即预先按照一定方式对研究对象进行电针处理, 观察其对随后造模或发病的抗损伤作用^[1]。近年来, 电针作为一种预处理手段, 已被广泛用于 CRI 内源性保护机制的研究, 本文从以下几个方面就其研究进展进行综述。

1 电针预处理研究的取穴及电针使用情况

1.1 取穴方法 在电针预处理防治 CRI 研究中, 大多数研究者取多个穴位配伍, 如标本配穴法取“百会”和“肾俞”; 近部取穴法取“神聪”和“悬厘”; 本经配穴法取“百会”和“大椎”, 或取“百会”和“水沟”, 或取“百会”和“风府”及“大椎”^[1-5]。少数使用单一穴位, 其中使用最多的是“百会”, 也有取“水沟”^[6-8]。尽管不同研究者取穴配伍不尽相同, 但他们的实验研究结果均表明电针预处理对 CRI 大鼠具有脑保护作用, 不同穴位配伍发挥的脑保护作用是否存在明显差异尚不清楚, 目前还缺乏其他单一穴位发挥脑保护作用的研究证明。

1.2 穴位刺激使用的仪器及其参数、时间、时相 电针预处理使用的电针仪主要包括 HANS-200A 韩氏穴位神经刺激仪、G6805-2A 型电针仪、SD-2V 型电疗仪等。针刺参数是影响针刺疗效的重要因素, 目前电针参数的研究主要集中在电刺激频率、电流强度、波形和针刺时间 (包括单次电针时间和重复电针时程)。经数据挖掘技术研究显示, 电针预处理中疏密波使用率明显高于单独使用疏波或单独使用密波; 疏密波中使用频次由高到低排序前五位依次是 5/10 Hz, 2/15 Hz, 2/100 Hz, 4/16 Hz, 4/20 Hz^[9]。研究显示, 电针预处理 30 min 可明显改善大鼠缺血后再灌注 24 h 时的神经功能缺陷和减少

脑梗死面积, 而预处理 1 h 和 3 h 与对照组并未产生明显差异^[10]。对 SD 大鼠分别进行 1、3、7、15 d 的电针预处理, 结果显示各组均能发挥保护血脑屏障的作用, 以 15 d 组最明显^[11-12]。不同针刺参数组合发挥脑保护作用效应存在差异的机制有待进一步研究, 是否有必要制定针刺参数组合的量化标准有待进一步商榷。

2 电针预处理发挥脑保护效应的作用机制

CRI 是一个包含多种机制相互作用的病理生理过程, 其具体机制尚不完全明了。目前, 国内外对电针预处理产生抗 CRI 效应机制的研究主要集中在以下几个方面。

2.1 抗氧化应激损伤 CRI 时机体自由基的产生与清除失衡, 引发链式脂质过氧化反应, 生成脂质过氧化物 (lipid peroxide, LPO) 及其降解终产物丙二醛 (malonaldehyde, MDA), 损伤细胞膜系进而使细胞死亡。研究发现, 电针预处理可以降低缺血再灌注大鼠大脑皮质神经元型一氧化氮合酶 (nNOS)、诱导型一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, iNOS)、活性氧自由基 (reactive oxygen species, ROS) 等的产生^[13-14]。此外, 电针还可以上调脑缺血后脑组织超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px)、Peroxiredoxin 6 等抗氧化酶的表达, 从而减轻氧化应激损伤^[15-17]。

2.2 抑制炎症反应 多项研究证实电针预处理能降低脑组织和血清中多种促炎因子的表达, 升高抑炎因子的表达, 调节 CRI 时促炎因子与抗炎因子间动态平衡, 对抗炎症反应^[18-22]。脑缺血后小胶质细胞可被激活极化成两种细胞亚群而发挥不同的功能, 即经典活化状态 (M1 型) 启动免疫级联反应和选择活化状态 (M2 型) 抑制过度免疫反应^[23]。研究发现电针预处理能促进 CRI 中活化的小胶质细胞从 M1 型转向 M2 型, 提示这很可能是电针预处理发挥脑保护作用机制之一^[24]。

2.3 抑制中枢神经元的凋亡 机体细胞凋亡是一个受递质、

受体、基因表达等多个环节调控的复杂生物学过程。研究发现电针预处理可以下调半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (caspase-3)、Bax 等凋亡相关蛋白的表达和上调凋亡抑制蛋白 Bcl-2 的表达,抑制缺血后神经元的凋亡^[2,25-27]。葡萄糖调节蛋白 78 (glucose regulate protein 78, GRP78) 和生长停滞及 DNA 损伤基因 153 (growth arrest and DNA damage-inducible gene 153, GADD153) 是内质网应激途径 (endoplasmic reticulum stress, ERS) 介导凋亡的两个经典标志物,GRP78 在应激条件下对细胞起保护作用,GADD153 则参与细胞凋亡。研究发现短暂的 CRI 可以诱发 GRP78 和 GADD153 的表达,而电针预处理可以进一步上调 GRP78 的表达和下调 GADD153 的表达,减轻 ERS 从而抑制细胞凋亡^[28-31]。此外,还有研究显示电针预处理可以通过调控 p53 蛋白,影响急性脑缺血再灌注期间自噬及凋亡发挥脑保护效应。

2.4 抗兴奋性氨基酸的兴奋性毒性 谷氨酸 (glutamate, Glu) 是脑内主要的兴奋性氨基酸 (excitatory amino acid, EAA), 中枢系统中大量的 EAA 堆积会使神经元持续去极化,导致神经元发生退行性病变,产生兴奋性毒性作用。N-甲基-D-天冬氨酸 (N-methyl-D-aspartic acid, NMDA) 受体是离子型 Glu 受体的一个亚型,本课题组前期研究发现电针预处理可以调节中枢神经元的 NMDA 受体 2A 和 2B 的表达,提示电针预处理可能会影响 Glu 的生成^[32]。敲除兴奋性氨基酸转运体 2 (EAAT2) 的大鼠 MCAO 造模后的神经损伤较正常大鼠严重,从侧面提示了 EAAT2 摄取 Glu 的作用参与了缺血后神经元的保护作用^[33]。与 MCAO 造模组相比,电针预处理可以有效地抑制 CRI 所致的 EAAT2 mRNA 及蛋白表达的降低,从而相对增加对 Glu 的摄取,发挥抗兴奋性毒性作用^[34]。

2.5 激活内源性大麻素系统 大麻素配体花生四烯乙醇胺和 2-花生四烯甘油可作用于大麻素受体 1 (CB1R) 和大麻素受体 2 (CB2R),发挥抑制炎症反应、抑制兴奋性氨基酸的兴奋性毒性、抗凋亡等神经元保护作用。研究证实,电针预处理可以激活大鼠脑缺血组织中 CB1、CB2 受体发挥神经保护作用^[35-37]。此外,大麻素受体系统的一些信号分子如糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β)、基质金属蛋白酶-9、蛋白激酶 C 等也参与了电针预处理发挥的神经元保护作用^[38-40]。

2.6 其他方面 神经元的突触结构直接影响神经系统的功能,研究发现电针预处理可能通过改善突触的超微结构,增加脑组织内神经生长因子 (NGF) 的表达,发挥神经元的保护作用^[41]。miRNA 是一类新发现的高度保守的内源性非编码 RNA,在神经系统含量丰富,参与调解神经系统的生长发育及其重大疾病的发展^[42],研究发现电针预处理可提高脑缺血再灌注大鼠脑皮质 miRNA290、miRNA494 相对表达量^[5]。哺乳动物西罗莫司靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 是一种非典型的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,活化的 mTOR 后可以通过调节蛋白的合成,调控细胞的成长、抑制自噬等途径发挥脑组织保护作用^[43-45]。研究发现电针预处理抗小鼠 CRI 的机制可能与激活海马区 mTOR 有关^[46]。

3 总结和展望

电针预处理作为一种安全、有效、便捷、低廉的干预措施,

已经比较成熟和普遍地用于动物实验研究,并取得可观的成果。既往的电针预处理研究既为中医“治未病”提供了有力的证据,也丰富了人们对电针预处理防治 CRI 内源性机制的认识。然而很少见有把电针预处理作为缺血性脑血管疾病的预防手段运用于临床的报道,这可能与人们“未病先防”意识的普遍较低和电针预处理防治 CRI 的理论知识支撑不够完善有关。我们可以将中医治病的整体观念与电针预处理对 CRI 机体神经-内分泌-免疫系统整体调节机制联系在一起思考,使人们能从中医和西医两个方面同时理解和接受电针预处理这种预防措施,为防治缺血性脑血管疾病提供新思路,这将为电针预处理作为缺血性脑血管疾病的预防措施运用于临床实践打下基础。

参考文献

- [1] 陈泽斌,梁凤霞,袁芳,等. 针刺预处理脑组织提取液对抗大鼠脑缺血再灌注损伤的作用[J]. 中国临床康复,2005,9(29):246-248.
- [2] 王振宇,王希文,孙忠人,等. 电针预处理对局灶性脑缺血再灌注大鼠 pSTAT3 蛋白表达的影响[J]. 针灸临床杂志,2012,28(7):49-51.
- [3] 郭真真,吴毅,贾杰,等. 电针预处理对脑缺血再灌注损伤大鼠谷氨酸和 γ -氨基丁酸的影响[J]. 实用老年医学,2013,27(3):202-207.
- [4] Wan QX, Pan P, Xu CQ, et al. Effects of electroacupuncture preconditioning on jugular vein glucose level and cerebral edema in rats undergoing cerebral ischemia reperfusion that induced injury[J]. Int J Clin Exp Med, 2014, 7(11):4384-4388.
- [5] 郑仕平,韩为,储浩然,等. 通督调神针灸预处理对脑缺血再灌注大鼠相关微小 RNA 调控机制的研究[J]. 针刺研究,2015,40(2):99-103.
- [6] 王强,刘艳红,熊利泽,等. 腺苷 A1 受体参与单次电针预处理诱导的脑急性缺血耐受[J]. 中国中西医结合急救杂志,2004,11(1):13-16.
- [7] Xiong L, Lu Z, Hou L, et al. Pretreatment with repeated electroacupuncture attenuates transient focal cerebral ischemic injury in rats[J]. Chin Med J (Engl), 2003, 116(1):108-111.
- [8] 魏媛媛,樊小农,王舒,等. “水沟”穴干预 MCAO 大鼠脑梗死面积的特异性效应及针刺参数研究[J]. 中国针灸,2010,30(3):221-225.
- [9] 张莺,韩德雄,刘喆,等. 基于数据挖掘的脑缺血机制研究中电针参数应用规律分析[J]. 中华中医药学刊,2017,35(3):554-557.
- [10] 张民,刘剑波,张宏亮,等. 单次电针预处理诱导大鼠局灶性脑缺血耐受的时程[J]. 中华麻醉学杂志,2003(5):355-357.
- [11] 刘建勋,林咸明. 不同时程电针预处理对脑缺血大鼠脑屏障功能的保护效应[J]. 上海针灸杂志,2014,33(12):1169-1172.
- [12] 林咸明,陈丽萍,姚旭. 不同时程电针预处理对脑缺血再灌注大鼠脑屏障基质金属蛋白酶-9、血管内皮生长因子的影响[J]. 针刺研究,2015,40(1):40-44.
- [13] 张业贵,龚鑫,侯良芹. 电针预处理对脑缺血再灌注大鼠大脑皮层一氧化氮合酶及胶质纤维酸性蛋白表达的影响[J]. 针刺研究,2015,40(2):113-118.

- [14] Jung YS, Lee SW, Park JH, et al. Electroacupuncture preconditioning reduces ROS generation with NOX4 down-regulation and ameliorates blood-brain barrier disruption after ischemic stroke [J]. *J Biomed Sci*, 2016, 23: 32.
- [15] 郭佳, 王磊, 张莉, 等. 电针预处理对缺血再灌注损伤大鼠脑自由基含量的影响[J]. *安徽中医学院学报*, 2003, 22(1): 29-31.
- [16] 孙思斯, 高杨, 刘墨宇, 等. 电针预处理对脑缺血再灌注后 SOD2 的表达影响[J]. *中华神经外科疾病研究杂志*, 2014, 13(3): 236-240.
- [17] 高杨, 孙思斯, 刘墨宇, 等. 电针预处理通过上调 Peroxiredoxin 6 减轻大鼠脑缺血再灌注损伤[J]. *神经解剖学杂志*, 2014, 30(5): 507-513.
- [18] 王军, 于震, 贾士奇, 等. 电针预处理对全脑缺血再灌注大鼠炎症细胞因子的影响[J]. *中国实用医药*, 2008, 3(6): 4-5.
- [19] 金深辉, 刘俊伟, 罗亮, 等. 电针预处理对脑缺血再灌注大鼠皮质及纹状体 IL-1 β 表达的影响[J]. *浙江中医杂志*, 2012, 47(4): 255-256.
- [20] 朱路文, 叶涛, 姜云飞, 等. 电针预处理对大鼠脑缺血再灌注损伤后炎症因子及细胞凋亡的影响[J]. *中国康复理论与实践*, 2016, 22(7): 765-768.
- [21] 邢东, 吴志新, 董辉, 等. 电针预处理对大鼠脑缺血损伤后脑内炎症反应及 NF- κ B 的影响[J]. *陕西医学杂志*, 2017, 46(9): 1155-1158, 1195.
- [22] 叶涛, 朱路文, 唐强, 等. 电针预处理对大鼠脑缺血再灌注损伤后脑梗死体积及血清 TNF- α 、IL-10 含量的影响[J]. *中国针灸*, 2017, 37(10): 1093-1098.
- [23] Torres-Platas SG, Comeau S, Rachalski A, et al. Morphometric characterization of microglial phenotypes in human cerebral cortex [J]. *J Neuroinflammation*, 2014, 11: 12.
- [24] 杨蕾, 瞿茜, 江涛, 等. 电针预处理对脑缺血再灌注后小胶质细胞活化状态的影响[J]. *现代生物医学进展*, 2015, 1(15): 3826-3829.
- [25] Wang MS, Zhou HP, Shi F, et al. Acupuncture preconditioning protects hippocampal neurons from transient ischemia/reperfusion injury [J]. *Neural Regeneration Research*, 2011, 6(15): 1175-1179.
- [26] 徐浩, 沈剑, 赵昱, 等. 电针预处理大鼠百会穴对脑缺血保护作用及 HIF-1 α 相关机制的研究[J]. *神经解剖学杂志*, 2015, 31(5): 617-622.
- [27] 叶涛, 朱路文, 唐强, 等. 电针预处理对脑缺血再灌注大鼠缺血半暗区细胞凋亡及凋亡相关蛋白表达的影响[J]. *中国康复理论与实践*, 2018, 24(1): 54-59.
- [28] Avila MF, Cabezas R, Torrente D, et al. Novel interactions of GRP78: UPR and estrogen responses in the brain [J]. *Cell Biol Int*, 2013, 37(6): 521-532.
- [29] 陈怀龙, 齐慧, 刘孝洁, 等. 电针预处理对全脑缺血/再灌注损伤大鼠海马葡萄糖调节蛋白 78 表达的影响[J]. *中国针灸*, 2014, 34(9): 889-893.
- [30] 陈怀龙, 齐慧, 刘孝洁, 等. 电针预处理对全脑缺血再灌注损伤大鼠海马葡萄糖调节蛋白 78 和生长停滞及 DNA 损伤基因 153 表达的影响[J]. *针刺研究*, 2014, 39(6): 431-436.
- [31] 李雪静, 唐强, 叶涛, 等. p53 蛋白在电针预处理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.
- [32] 陈泽斌, 邹峰, 袁芳, 等. 针刺预处理对脑缺血再灌注大鼠顶皮质 NR2A 和 NR2B 蛋白表达的影响[J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2005, 12(2): 79-83.
- [33] Rao VL, Dogan A, Bowen KK, et al. Antisense knockdown of the glial glutamate transporter GLT-1 exacerbates hippocampal neuronal damage following traumatic injury to rat brain [J]. *Eur J Neurosci*, 2001, 13(1): 119-128.
- [34] 陈巍, 张森森, 孙彭龄. 电针预处理对大鼠脑缺血再灌注损伤后 EAAT2 的表达研究[J]. *中华神经外科疾病研究杂志*, 2014, 13(3): 232-235.
- [35] 马磊, 侯丽宏, 赵昱, 等. 大麻素 CB2 受体参与电针预处理诱导的延迟相脑保护作用[J]. *中华神经医学杂志*, 2010, 9(4): 325-329.
- [36] 朱芳芸. 电针预处理通过调节 CB2R/EAAT2 产生脑缺血耐受作用[D]. 西安: 第四军医大学, 2013.
- [37] 张治. 电针预处理通过 CB1R 上调 TGF- β 1 发挥脑保护作用的研究[D]. 西安: 第四军医大学, 2014.
- [38] Wang Q, Peng Y, Chen SY, et al. Pretreatment with electroacupuncture induces rapid tolerance to focal cerebral ischemia through regulation of endocannabinoid system [J]. *Stroke*, 2009, 40(6): 2157-2164.
- [39] Ma L, Zhu ZH, Zhao Y, et al. Cannabinoid receptor type 2 activation yields delayed tolerance to focal cerebral ischemia [J]. *Curr Neurovasc Res*, 2011, 8(2): 145-152.
- [40] 魏海东, 王世全, 郭钊, 等. 电针预处理促进缺血再灌注后 GSK-3 β 磷酸化诱导脑缺血耐受效应[J]. *现代生物医学进展*, 2013, 13(8): 1464-1467.
- [41] 聂煌, 劳宁, 黄怡, 等. 电针预处理对脑缺血后突触结构的影响[J]. *中华神经外科疾病研究杂志*, 2012, 11(2): 132-135.
- [42] Li JS, Yao ZX. MicroRNAs: novel regulators of oligodendrocyte differentiation and potential therapeutic targets in demyelination-related diseases [J]. *Mol Neurobiol*, 2012, 45(1): 200-212.
- [43] Ng S, Wu YT, Chen B, et al. Impaired autophagy due to constitutive mTOR activation sensitizes TSC2-null cells to cell death under stress [J]. *Autophagy*, 2011, 7(10): 1173-1186.
- [44] Chong ZZ, Shang YC, Zhang LJ, et al. Mammalian target of rapamycin: hitting the bull's-eye for neurological disorders [J]. *Oxidative Med Cell Longev*, 2010, 3(6): 374-391.
- [45] Li XM, Gu SX, Ling Y, et al. P53 inhibition provides a pivotal protective effect against ischemia-reperfusion injury in vitro via mTOR signaling [J]. *Brain Res*, 2015, 1605: 31-38.
- [46] 周文婷, 陈怀龙, 王明山, 等. 电针预处理对脑缺血/再灌注小鼠海马 mTOR 表达的影响[J]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2016, 10(13): 1937-1941.