

# 经颅直流电刺激对脑梗死大鼠神经行为学、脑血流和血管再生以及相关蛋白的影响

蔡缘邨<sup>1,2</sup> 杨文<sup>1</sup> 白安娜<sup>1</sup> 王莎<sup>1</sup> 孙艳冬<sup>1</sup> 梁宇<sup>1</sup> 王璐<sup>3</sup> 邓慧<sup>4</sup> 郝利霞<sup>1</sup>

<sup>1</sup>内蒙古医科大学附属医院康复科, 呼和浩特 010000; <sup>2</sup>保定市第一中心医院康复科, 保定 071000; <sup>3</sup>内蒙古医科大学医学实验中心, 呼和浩特 010000; <sup>4</sup>内蒙古医科大学附属医院神经内科, 呼和浩特 010000

通信作者: 郝利霞, Email: haolixia15@163.com

**【摘要】 目的** 探讨经颅直流电刺激(tDCS)对脑梗死大鼠神经行为学、脑血流(CBF)、血管再生、血管内皮生长因子(VEGF)和 CD34 蛋白表达的影响。**方法** 选取成年雄性 SD 大鼠 32 只,按照随机数字表法将其分为假手术组(Sham 组)、模型组[大脑中动脉闭塞(MCAO)组]、阳极经颅直流电刺激组(A-tDCS 组)、阴极经颅直流电刺激组(C-tDCS 组),每组 8 只。采用线栓法将 MCAO 组、A-tDCS 组、C-tDCS 组大鼠制成 MCAO 模型。造模后 24 h 开始给予大鼠 tDCS 刺激,Sham 组和 MCAO 组大鼠均安装电极,但不给予电流刺激,A-tDCS 组给予阳极电极刺激,C-tDCS 组给予阴极电极刺激,刺激强度 200  $\mu$ A,每日 20 min,刺激 5 d,休息 2 d,再刺激 5 d,整体周期共 12 d。造模前、造模后 24 h 和治疗 12 d 后,采用 Longa 神经行为学评分法对 4 组大鼠进行神经行为学评分;造模后 3 d 和治疗 12 d 后,采用 MRI 观察 4 组大鼠的 CBF 变化情况;治疗 12 d 后,采用免疫荧光法观察 4 组大鼠血管的再生情况,采用 Western blot 法检测大鼠 VEGF 和 CD34 蛋白的表达水平。**结果** 造模后 24 h 和治疗 12 d 后,MCAO 组、A-tDCS 组、C-tDCS 组大鼠均存在不同程度的神经功能缺损症状。组内比较发现,A-tDCS 组、C-tDCS 组治疗 12 d 后的神经行为学评分较造模前和造模后 24 h 降低( $P < 0.05$ )。组间比较发现,A-tDCS 组[(1.3 $\pm$ 0.4)分]、C-tDCS 组[(1.9 $\pm$ 0.32)分]治疗 12 d 后的神经行为学评分较 MCAO 组[(2.6 $\pm$ 0.52)分]低( $P < 0.05$ ),且 A-tDCS 组低于 C-tDCS 组( $P < 0.05$ )。造模后 3 d,三维动脉自旋标记(3D-ASL)扫描示 MCAO 组、A-tDCS 组、C-tDCS 组大鼠缺血灶周围 CBF 明显减少,治疗 12 d 后缺血灶周围 CBF 有不同程度的增加。A-tDCS 组、C-tDCS 组的  $\Delta$ CBF 较 MCAO 组大( $P < 0.05$ ),且 A-tDCS 组  $\Delta$ CBF 较 C-tDCS 组大( $P < 0.05$ )。治疗 12 d 后,A-tDCS 组、C-tDCS 组大鼠脑梗死区的新生微血管密度、脑组织 VEGF 和 CD34 蛋白表达较 MCAO 组高( $P < 0.05$ ),A-tDCS 组上述指标较 C-tDCS 组高( $P < 0.05$ )。**结论** tDCS 可以改善脑梗死大鼠的神经功能缺损症状,促进血管再生,增加 CBF,提高 VEGF 和 CD34 的表达水平,且阳极 tDCS 作用优于阴极 tDCS。

**【关键词】** 经颅直流电刺激; 脑梗死; 脑血流; 血管再生; VEGF; CD34

**基金项目:** 内蒙古自治区自然科学基金项目(2020MS08049);内蒙古自治区卫生健康委 2022 年度医疗卫生科技计划项目(202201254)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2023.10.001

## The effects of transcranial direct current stimulation on cerebral blood flow and new vascularization after cerebral infarction

Cai Yuanhan<sup>1,2</sup>, Yang Wen<sup>1</sup>, Bai Anna<sup>1</sup>, Wang Sha<sup>1</sup>, Sun Yandong<sup>1</sup>, Liang Yu<sup>1</sup>, Wang Lu<sup>3</sup>, Deng Hui<sup>4</sup>, Hao Lixia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Rehabilitation Department of Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010000, China;

<sup>2</sup>Rehabilitation Department of Baoding First Central Hospital, Baoding 071000, China; <sup>3</sup>Medical Experiment Center of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010000, China; <sup>4</sup>Department of Neurology, Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010000, China

Corresponding author: Hao Lixia, Email: haolixia15@163.com

**【Abstract】 Objective** To explore any effect of transcranial direct current stimulation (tDCS) on neurons, behavior, cerebral blood flow (CBF), vascular regeneration, and the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and CD34 protein in rats modeling cerebral infarction. **Methods** Thirty-two adult male Sprague-

Dawley rats were randomly divided into a sham surgery group (Sham group), a model group (modeled with middle cerebral artery occlusion, MCAO group), an anode transcranial direct current stimulation group (A-tDCS group), and a cathode transcranial direct current stimulation group (C-tDCS group), each of 8. MCAO models were established in the rats of the MCAO, A-tDCS and C-tDCS groups using thread fixation. Twenty-four hours after successful modeling, both the Sham and MCAO groups were connected with electrodes without current stimulation, while the A-tDCS and C-tDCS groups were given 20 minutes of 200 $\mu$ A anodic or cathodic electrical stimulation daily, 5 days a week for 12 days. Before and 24 hours after the modeling, and then after the 12 days of treatment, the four groups received Longa neurobehavioral scoring. Moreover, three days after the modeling as well as after the 12 days of treatment, changes in CBF were observed using MRI. Any blood vessel regeneration was observed using immunofluorescence methods, and the expression of VEGF and CD34 proteins were detected using western blotting. **Results** The rats in the MCAO, A-tDCS and C-tDCS groups exhibited various degrees of neurological deficit after the modeling. After the 12 days of treatment the average neurobehavioral scores of the A-tDCS and C-tDCS groups were significantly lower than that of the MCAO group, with the A-tDCS group's average significantly lower than that of the C-tDCS group. Three days after the modeling, 3D-arterial spin labeling scanning showed a significant decrease in CBF around the ischemic lesion in the MCAO, A-tDCS and C-tDCS groups, but that had increased to varying degrees after 12 days of treatment. The changes in the A-tDCS and C-tDCS groups were significantly larger than in the MCAO group on average, with the former group improving significantly more than the latter. After the 12 days of treatment, new vascularization and the expression of VEGF and CD34 proteins were significantly higher in the A-tDCS and C-tDCS groups than in the MCAO group, with the change in the former group again significantly greater than in the latter. **Conclusions** tDCS can relieve the symptoms of neurological deficits in rats with cerebral infarction, promote vascular regeneration, CBF, and expression of VEGF and CD34 proteins. Anodic is superior to cathodic stimulation.

**【Key words】** Transcranial direct current stimulation; Cerebral infarction; Cerebral blood flow; Angiogenesis; Vascular endothelial growth factor; CD34 protein

**Funding:** The Natural Science Foundation of Inner Mongolia Autonomous Region (2020MS08049); A 2022 Medical and Health Science and Technology Plan Project of the Health Commission of the Inner Mongolia Autonomous Region (202201254)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2023.10.001

缺血性脑卒中,又称脑梗死,是由多种因素引发局部脑组织供血不足所致,脑梗死后大脑产生缺氧缺血性损伤,进而出现神经功能障碍<sup>[1]</sup>。脑梗死的发病机制中,以脑血栓形成较为常见<sup>[2]</sup>。脑血流(cerebral blood flow, CBF)为脑组织提供氧气、营养和能量<sup>[3]</sup>。一旦脑梗死或因其它因素导致血流中断,大脑相应部位就会出现功能障碍,此种情况下尽快疏通血管,建立侧支循环,将血液重新运输到梗死部位,可在一定程度上促进神经功能恢复<sup>[4-5]</sup>。因此,疏通血管或促进血管再生以恢复血供,是脑梗死治疗的关键所在。

经颅直流电刺激(transcranial direct current stimulation, tDCS)是近年来新兴的一种脑部刺激技术<sup>[6]</sup>,具有无创、操作简单、安全便捷等优点。本研究采用线栓法制备大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)大鼠模型,利用阳极 tDCS 和阴极 tDCS 对脑梗死大鼠进行治疗,观察其行为学、CBF、血管再生、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和 CD34 蛋白含量的变化,旨在

探索 tDCS 治疗脑梗死的作用机制。

## 材料与方 法

### 一、实验动物及分组

选取成年无特定病原体(specific pathogen free, SPF)级雄性 Sprague-Dawley (SD)大鼠,体重 260 ~ 290 g,由北京斯贝福生物技术有限公司提供,动物使用许可证号 SCXK(京)2019-0010。大鼠均饲养于内蒙古医科大学动物实验中心,自由饮食,室温 23 ~ 26  $^{\circ}$ C,空气湿度控制在 50%左右,12 h : 12 h 明暗交替,适应性饲养 5 d 后开始实验。按照随机数字表法将大鼠分为假手术组(Sham 组)、模型组(MCAO 组)、阳极经颅直流电刺激组(A-tDCS 组)、阴极经颅直流电刺激组(C-tDCS 组),每组 8 只。

### 二、MCAO 大鼠模型制备

根据 Longa 线栓法<sup>[7]</sup>,经腹腔注射 0.3%戊巴比妥钠(1 ml/100 g)麻醉大鼠,将其取仰卧位固定于手术台上,剔除颈毛,碘伏消毒皮肤,做正中切口充分暴露右侧颈总动脉、颈外动脉和颈内动脉,结扎颈外

动脉和颈总动脉近心端,用血管夹夹闭颈内动脉,于颈总动脉远心端打活结,在颈总动脉结扎处,于活结中间、距离与颈总动脉分叉处 4~6 mm 处,用血管剪剪出小口,缓慢插入线栓并用颈总动脉的活结适当固定,松开血管夹沿着颈内动脉缓慢插入线栓,感觉有轻微阻力后停止,插入深度大约 18~20 mm,固定线栓,用生理盐水冲洗并撒青霉素粉预防感染,缝合皮肤切口。Sham 组大鼠线栓进线长度控制在 6~10 mm,其余步骤同上。手术全程在加热垫上操作,实时监测,保证大鼠肛门温度处于 37℃ 左右。

采用 Longa 神经行为学评分法<sup>[8]</sup>,在造模后 24 h 对大鼠进行评定,对评分 2 分和 3 分的大鼠行 MRI T2WI 检查,扫描参数:重复时间(time of repetition, TR)为 5208 ms,回波时间(time of echo, TE)为 85 ms,层厚 1 cm,视野 6.0 cm×0.8 cm,扫描时间 4 min 57 s。观察到大鼠脑组织相应部位存在缺血灶时,提示造模成功。

### 三、干预方法

造模后 24 h,采用江西产 MBM-I 型 tDCS 仪对大鼠进行干预。Sham 组和 MCAO 组大鼠均安装电极,但不给予电流刺激,A-tDCS 组给予阳极电流刺激,C-tDCS 组给予阴极电流刺激。刺激强度 200 μA,每日 20 min,刺激 5 d,休息 2 d,再刺激 5 d,整体周期共 12 d。

选取底面直径为 2 mm 的圆柱形透明胶管,管内用 0.9%生理盐水浸泡的海绵填充,制成刺激电极(接触面积为 3.14 mm<sup>2</sup>)。用透明胶管套在电极金属线外。制成阳极电极,使用牙科水泥将电极固定在大鼠右侧颅骨前囟后 2.5 mm、矢状缝旁开 3.5 mm 处,电极上方留有孔,在刺激过程中滴加生理盐水以保证较小的接触阻抗,阴极电极的接触面积为 10 cm<sup>2</sup>,通过自制紧身衣将电极固定于大鼠胸腹部。上述电极放置方法适用于阳极作为刺激电极、阴性作为参考电极时。当阴极作为刺激电极、阳极作为参考电极时,应调换电极放置位置。

### 四、神经功能损伤评估

根据 Longa 神经行为学评分法<sup>[8]</sup>,于造模前、造模后 24 h 和治疗 12 d 后对 4 组大鼠进行神经行为学评分。大鼠无神经功能缺损表现,计 0 分;提尾时,大鼠左侧前爪不能充分伸展,计 1 分;提尾时,大鼠左侧前爪不能充分伸展并向左侧转圈,计 2 分;大鼠行走时向左侧倾倒或转圈,计 3 分;大鼠不能独立行走,计 4 分;大鼠死亡,计 5 分。

### 五、CBF 评估

根据曾静等<sup>[9]</sup>的研究方法,于造模后 3 d(大鼠生命体征趋于平稳)和治疗 12 d 后,对 4 组大鼠进行

MRI 三维动脉自旋标记(3D-arterial spin labeling, 3D-ASL)、T2WI 和 DWI 扫描,观察 CBF 的变化情况。

经腹腔注射 0.3%戊巴比妥钠(1 ml/100 g)麻醉大鼠,将其俯卧放置于线圈支架内,头部位于线圈中央。采用 GM 3.0T 磁共振扫描仪和手腕线圈进行扫描:①3D-ASL 扫描参数——TR 为 4472 ms,TE 为 12.9 ms,层厚 2 cm,扫描时间 4 min 12 s;②DWI 扫描参数——TR 为 3000 ms,TE 为 82 ms,视野 12 cm×0.8 cm,层厚 2.9 cm,扫描时间 1 min 15 s;③T2WI 扫描参数同上。扫描 3D-ASL 和 T2WI 的图像后,挑选脑梗死最明显的部位,选用 CBF 图像缺血区域作为感兴趣区,在缺血半暗带区选取 3 个部位测 CBF 值,取平均值作为大鼠的 CBF 最终值,计算造模后 3 d 与治疗 12 d 后 CBF 的差值(用 ΔCBF 表示)。

### 六、采用免疫荧光法观察血管的再生情况

治疗 12 d 后,麻醉大鼠后立即开胸,从左心室注射番茄凝集素(1 ml/kg)。对大鼠行安乐死后,取新鲜脑组织置于液氮速冻 5 min 后,行包埋、切片、复温、画圈复染、封片等处理,用荧光显微镜观察血管的再生情况,选取同等面积截图并统计每张照片的新生微血管数量。

### 七、采用 Western blot 法检测 VEGF 和 CD34 蛋白的表达水平

治疗 12 d 后,对大鼠行安乐死,断头取脑,冰上迅速分离 M1 区大脑皮质,提取蛋白后使用二奎啉甲酸法(bicinchoninic acid, BCA)测蛋白浓度,行上样、电泳、转膜、封闭、一抗孵育(β-actin 1:1000、兔多克隆抗体 VEGF 1:1000、兔单克隆抗体 CD34 1:1000)4℃摇床过夜、二抗孵育[羊抗兔 IgG(H+L)1:1000]室温摇床 90 min、显影,最后选取合适条带,用 Image J 软件分析灰度值并进行统计学分析。

### 八、统计学方法

采用 SPSS 26.0 版统计学软件对所得数据进行统计学分析,数据用均数±标准差( $\bar{x}±s$ )形式表示。多组间比较采用单因素重复测量方差分析,两组间比较采用配对 *t* 检验, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

## 结 果

### 一、4 组大鼠不同时间点的神经行为学评分

造模前,4 组大鼠均无神经功能缺损症状,行为学评分均为 0 分。造模后 24 h 和治疗 12 d 后,与组内造模前和 Sham 组同时间点比较,MCAO 组、A-tDCS 组、C-tDCS 组的神经行为学评分均增高( $P<0.05$ )。与组内造模后 24 h 比较,MCAO 组治疗 12 d 后的神经行为学评分虽有所降低,但差异无统计学意义( $P>0.05$ ),

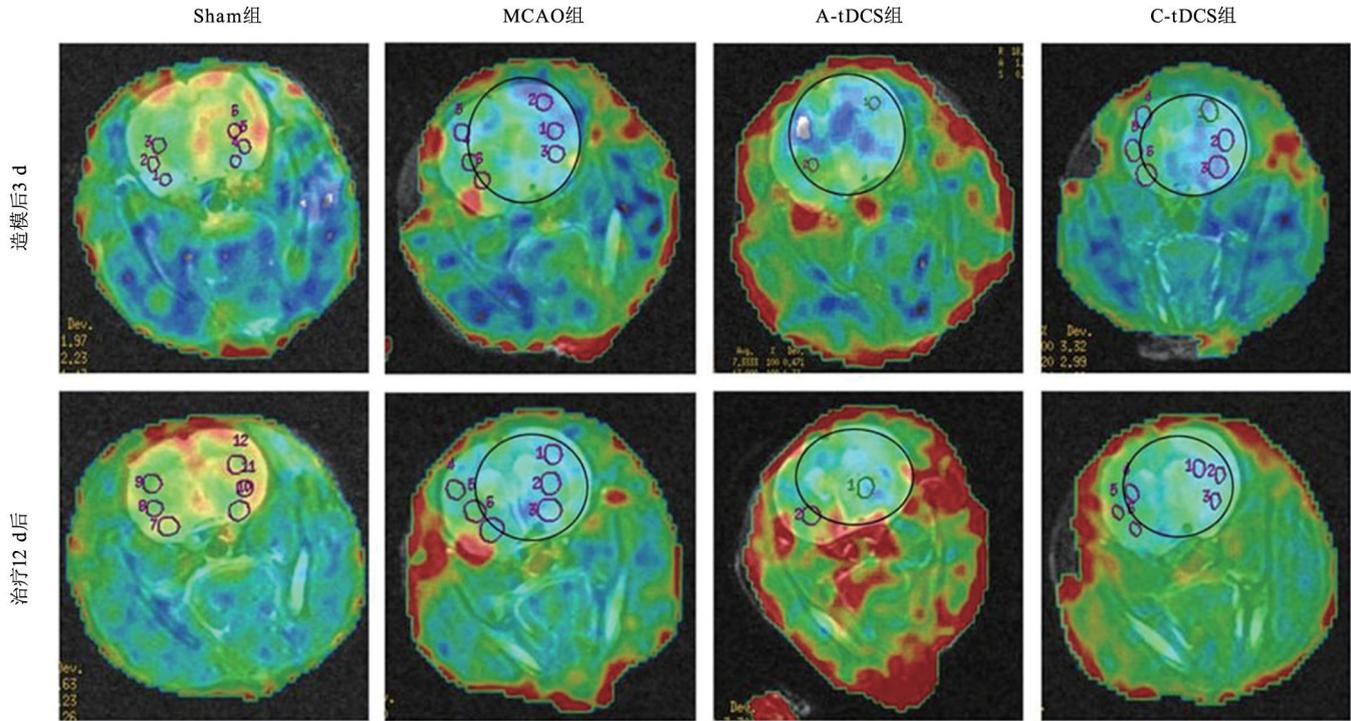


图 1 4 组大鼠造模后 3 d 与治疗 12 d 后的 3D-ASL 扫描图像

A-tDCS 组、C-tDCS 组治疗 12 d 后的神经行为学评分大幅降低 ( $P < 0.05$ )。MCAO 组、A-tDCS 组、C-tDCS 组造模后 24 h 的神经行为学评分比较, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。A-tDCS 组、C-tDCS 组治疗 12 d 后的神经行为学评分显著低于 MCAO 组 ( $P < 0.05$ ), 且 A-tDCS 组低于 C-tDCS 组 ( $P < 0.05$ )。详见表 1。

表 1 4 组大鼠不同时间点的神经行为学评分 (分,  $\bar{x} \pm s$ )

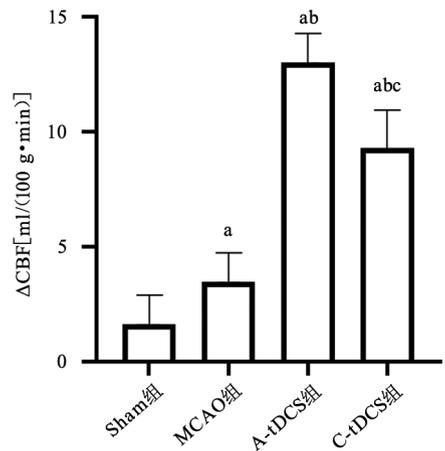
组别	只数	造模前	造模后 24 h	治疗 12 d 后
Sham 组	8	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
MCAO 组	8	0.00±0.00	2.75±0.43 <sup>ac</sup>	2.6±0.52 <sup>ac</sup>
A-tDCS 组	8	0.00±0.00	2.88±0.33 <sup>ac</sup>	1.3±0.48 <sup>abcd</sup>
C-tDCS 组	8	0.00±0.00	2.88±0.33 <sup>ac</sup>	1.9±0.32 <sup>abcde</sup>

注: 与组内造模前比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与组内造模后 24 h 比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与 Sham 组同时时间点比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; 与 MCAO 组同时时间点比较, <sup>d</sup> $P < 0.05$ ; 与 A-tDCS 组同时时间点比较, <sup>e</sup> $P < 0.05$

### 二、4 组大鼠不同时间点的 CBF 变化

造模后 3 d, 采用 MRI T2WI 扫描显示大鼠右侧大脑出现高密度影, 3D-ASL 扫描可见 MCAO 组、A-tDCS 组、C-tDCS 组大鼠缺血灶周围 CBF 明显减少, Sham 组大鼠相应部位 CBF 较多。治疗 12 d 后, 3D-ASL 扫描可见 MCAO 组、A-tDCS 组、C-tDCS 组大鼠缺血灶周围 CBF 均有不同程度的增加。详见图 1。

与 Sham 组比较, MCAO 组、A-tDCS 组、C-tDCS 组的  $\Delta CBF$  较大 ( $P < 0.05$ )。与 MCAO 组比较, A-tDCS 组、C-tDCS 组的  $\Delta CBF$  明显较大 ( $P < 0.05$ )。A-tDCS 组的  $\Delta CBF$  较 C-tDCS 组大 ( $P < 0.05$ )。详见图 2。



注: 与 Sham 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与 MCAO 组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与 A-tDCS 组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$

图 2 4 组大鼠造模后 3 d 与治疗 12 d 后的  $\Delta CBF$  比较

### 三、4 组大鼠治疗 12 d 后脑梗死区内脑组织的血管再生情况

治疗 12 d 后, Sham 组视野下仅观察到个别新生微血管, MCAO 组视野下新生微血管密度稍高于 Sham 组, A-tDCS 组和 C-tDCS 视野下新生微血管密度明显增加。详见图 3。

与 Sham 组比较, MCAO 组、A-tDCS 组、C-tDCS 组脑梗死区的新生微血管密度较高 ( $P < 0.05$ )。与 MCAO 组比较, A-tDCS 组、C-tDCS 组脑梗死区的新生微血管密度较高 ( $P < 0.05$ )。A-tDCS 组脑梗死区的新生微血管密度较 C-tDCS 组高 ( $P < 0.05$ )。详见图 4。

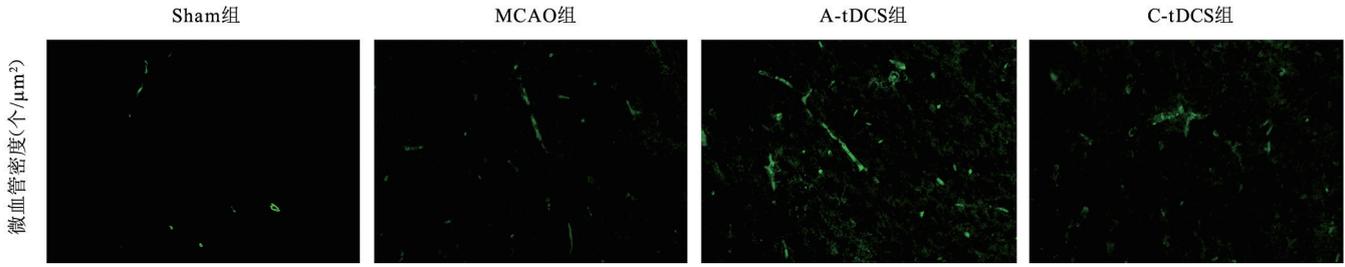
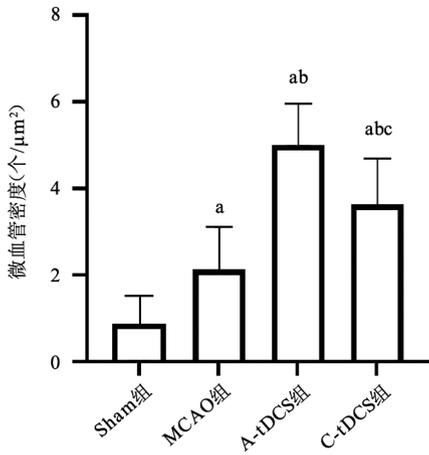


图 3 4 组大鼠治疗 12 d 后脑组织免疫荧光图像 (×200)



注:与 Sham 组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 MCAO 组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与 A-tDCS 组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$

图 4 4 组大鼠大脑梗死区新生微血管密度比较

#### 四、4 组大鼠治疗 12 d 后脑组织 VEGF 和 CD34 的蛋白表达情况

治疗 12 d 后, Sham 组大鼠脑组织仅见少量 VEGF、CD34 蛋白表达, MCAO 组、A-tDCS 组、C-tDCS 组大鼠 VEGF、CD34 蛋白表达高于 Sham 组 ( $P < 0.05$ )。

A-tDCS 组和 C-tDCS 组大鼠 VEGF、CD34 蛋白表达明显高于 MCAO 组 ( $P < 0.05$ ), 且 A-tDCS 组 VEGF、CD34 蛋白表达较 C-tDCS 组高 ( $P < 0.05$ )。详见图 5、图 6。

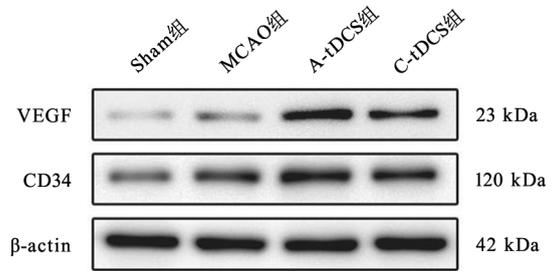
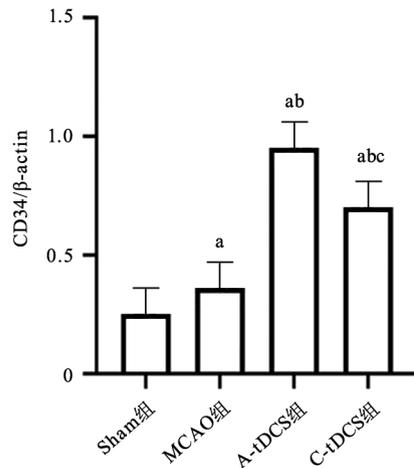
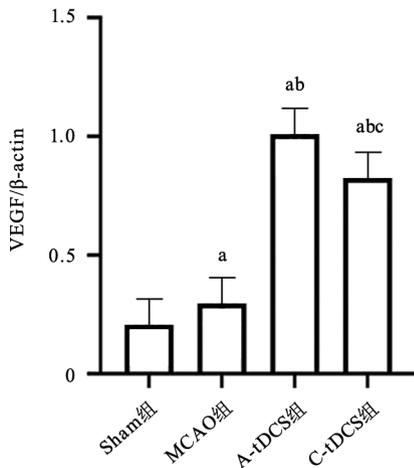


图 5 4 组大鼠脑组织中 VEGF 和 CD34 的蛋白表达情况

## 讨 论

本研究将 tDCS 作用于脑梗死大鼠, 观察其对大鼠神经行为学、脑血流、血管再生、VEGF 和 CD34 蛋白表达的影响。结果发现, 接受了 tDCS 刺激大鼠的神经功能缺损症状和 CBF 改善, 新生微血管密度、VEGF 和 CD34 蛋白表达增加, 提示 tDCS 在治疗脑梗死方面有一定的积极作用。



注:与 Sham 组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 MCAO 组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与 A-tDCS 组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$

图 6 4 组大鼠脑组织中 VEGF 和 CD34 蛋白含量比较

有研究报道,tDCS 作为一种非侵入性的脑部刺激技术,可利用恒定、低强度的直流电调节皮质兴奋性<sup>[10-12]</sup>,并且在刺激后产生长达 90 min 的后效应<sup>[13]</sup>。早期研究表明,阳极刺激可以使大脑皮质兴奋性增加,阴极刺激使大脑皮质兴奋性降低<sup>[14]</sup>。本研究中,A-tDCS 组、C-tDCS 组治疗 12 d 后的神经行为学评分显著低于 MCAO 组,且 A-tDCS 组低于 C-tDCS 组,提示接受阳极 tDCS 刺激大鼠的神经功能恢复较好。

目前,多数有关 CBF 的研究均采用阳极 tDCS 施加刺激<sup>[15]</sup>。有研究报道,利用阳极 tDCS 可恢复脑损伤小鼠大脑实质小动脉的脑血管反应性,并改善 CBF,进而有助于促进神经功能恢复<sup>[16]</sup>。本研究采用阳极 tDCS 与阴极 tDCS 进行对比研究,结果发现阳极 tDCS 作用优于阴极 tDCS。Hu 等<sup>[17]</sup>研究发现,阴极 tDCS 可引起 CBF 小幅度增加,而阳极 tDCS 可引起 CBF 大幅度增加。Shinde 等<sup>[18]</sup>研究显示,将阳极 tDCS 电极放置在人大脑右侧运动区(C4),阴极 tDCS 电极放置在左侧眶上区域,予以同等刺激,结果发现双侧 CBF 增加,且阳极侧 CBF 高于阴极侧 CBF。还有研究报道,tDCS 可以增加大鼠脑内动脉血流<sup>[19]</sup>。提示 tDCS 无论是对人类还是大鼠的 CBF 均有促进作用。

此外,对于监测 CBF 的方法,早期研究多依托于经颅多普勒超声<sup>[20]</sup>。但经颅多普勒超声的测量结果受声窗窗口大小、探头方向及部位、人为操作差异的影响较大,尤其受限于 Willis 环解剖变异和软脑膜动脉侧支循环,对侧支循环形成的监测效果差<sup>[18]</sup>。3D-ASL 可以快速地监测大鼠 CBF,评估脑部的血流动力学变化,实时显示脑梗死部位 CBF 数值<sup>[21]</sup>。因此,本研究采用 3D-ASL 监测 tDCS 对脑梗死大鼠 CBF 的影响,为 3D-ASL 监测 CBF 进一步提供了依据。

本研究还采用免疫荧光技术直接观察 tDCS 对脑梗死大鼠新生微血管数量的影响,并通过 Western blot 法检测 VEGF 和 CD34 蛋白含量表达的变化。结果发现,tDCS 可以促进脑梗死后 VEGF 和 CD34 的增加,从而对损伤血管产生修复作用,并促进新生微血管形成,建立侧支循环。有研究报道,VEGF 能够促进血管内皮增生,增强血管通透性、加速血管再生,对缺血损伤后脑功能的恢复有重要作用<sup>[22]</sup>。Ahn 等<sup>[23]</sup>使用阳极 tDCS 对大鼠中动脉梗死小鼠施加刺激,结果显示刺激组 VEGF 表达升高,这与本研究中阳极 tDCS 可以使脑梗死大鼠 VEGF 表达升高的结论一致。在此基础上,本研究进一步对阳极 tDCS 与阴极 tDCS 的作用进行了对比,结果显示阴极 tDCS 也可以促进 VEGF 的表达,但阴极 tDCS 促 VEGF 表达作用弱于阳极 tDCS。CD34 作为一种阶段特异性白细胞分化抗原,具有黏附、加速血管前内皮细胞聚集形成血管等作用,对侧支

循环的建立具有重要意义<sup>[24]</sup>。

综上所述,tDCS 可以改善脑梗死大鼠的 CBF,促进血管再生和 VEGF、CD34 的生成,使缺血区域重新获得血液灌注,从而改善神经功能缺损症状,且阳极 tDCS 作用优于阴极 tDCS。但由于脑梗死后的恢复机制较为复杂,加之 tDCS 对 CBF 及血管再生的调控机制目前也尚未完全阐明,所以本课题仍需进一步探究。

## 参 考 文 献

- [1] 中国中西医结合学会急救医学专业委员会.中国急性缺血性脑卒中中西医结合急诊诊治专家共识[J].中华危重病急救医学,2018,30(3):193-197. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2018.03.001.
- [2] 李花.缺血性脑卒中的再发风险因素分析[J].中国老年学杂志,2013,33(13):3184-3185. DOI:10.3969/j.issn.1005-9202.2013.13.093.
- [3] 韩珂,胡汉华.脑血流自动调节:从理论到临床转化及检查流程的标准化[J].中国卒中杂志,2019,14(3):195-206. DOI:10.3969/j.issn.1673-5765.2019.03.002.
- [4] Zong X, Li Y, Liu C, et al. Theta-burst transcranial magnetic stimulation promotes stroke recovery by vascular protection and neovascularization[J]. Theranostics, 2020, 10(26):12090-12110. DOI:10.7150/thno.51573.
- [5] Sarraj A, Sangha N, Hussain MS, et al. Endovascular therapy for acute ischemic stroke with occlusion of the middle cerebral artery M2 segment[J]. JAMA Neurol, 2016, 73(11):1291-1296. DOI:10.1001/jamaneurol.2016.2773.
- [6] 王杨,程佳月,王振.经颅直流电刺激作用机制的研究进展[J].上海交通大学学报(医学版),2022,42(7):952-957. DOI:10.3969/j.issn.1674-8115.2022.07.016.
- [7] 王龙,金保哲,张新中.脑血流监测对大鼠脑缺血模型制备的评价作用[J].中国脑血管病杂志,2017,14(5):254-260. DOI:10.3969/j.issn.1672-5921.2017.05.007.
- [8] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1):84-91. DOI:10.1161/01.str.20.1.84.
- [9] 曾静,王茹,李丹丹,等.曲克芦丁脑蛋白水解物对大鼠中动脉栓塞后大鼠神经血管单元的保护作用[J].中国卒中杂志,2017,12(12):1097-1103. DOI:10.3969/j.issn.1673-5765.2017.12.006.
- [10] 刘丽旭.缺血性卒中的康复评定和治疗[J].中华全科医师杂志,2022,21(2):198-200. DOI:10.3760/cma.j.cn114798-20211231-00965.
- [11] Kenney-Jung DL, Blacker CJ, Camsari DD, et al. Transcranial direct current stimulation: mechanisms and psychiatric applications[J]. Child Adolesc Psychiatr Clin N Am, 2019, 28(1):53-60. DOI:10.1016/j.chc.2018.07.008.
- [12] 杨飞,田蓉,王春方,等.经颅直流电刺激联合机器人治疗对脑卒中患者上肢功能康复的研究进展[J].国际生物医学工程杂志,2018,41(4):325-330. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4181.2018.04.010.
- [13] 陈韵佳,陈柱,朱燕,等.神经调控技术在失语症治疗中的应用进展[J].中国康复理论与实践,2019,25(8):930-935. DOI:10.3969/j.issn.1006-9771.2019.08.009.
- [14] Bolognini N, Vallar G, Casati C, et al. Neurophysiological and behavioral

- effects of tDCS combined with constraint-induced movement therapy in poststroke patients [J]. *Neurorehabil Neural Repair*, 2011, 25 (9): 819-829. DOI: 10.1177/1545968311411056.
- [15] Choi CH, Iordanishvili E, Shah NJ, et al. Magnetic resonance spectroscopy with transcranial direct current stimulation to explore the underlying biochemical and physiological mechanism of the human brain: a systematic review [J]. *Hum Brain Mapp*, 2021, 42(8): 2642-2671. DOI: 10.1002/hbm.25388.
- [16] Bragina OA, Semyachkina-Glushkovskaya OV, Nemoto EM, et al. Anodal transcranial direct current stimulation improves impaired cerebrovascular reactivity in traumatized mouse brain [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1232: 47-53. DOI: 10.1007/978-3-030-34461-0\_7.
- [17] Hu S, Zheng T, Dong Y, et al. Effect of anodal direct-current stimulation on cortical hemodynamic responses with laser-speckle contrast imaging [J]. *Front Neurosci*, 2018, 12: 503. DOI: 10.3389/fnins.2018.00503.
- [18] Shinde AB, Lerud KD, Munsch F, et al. Effects of tDCS dose and electrode montage on regional cerebral blood flow and motor behavior [J]. *Neuroimage*, 2021, 237: 118144. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2021.118144.
- [19] 华扬,高山,吴钢,等. 经颅多普勒超声操作规范及诊断标准指南 [J]. *中华医学超声杂志(电子版)*, 2008, 5(2): 197-222. DOI: 10.3969/j.issn.1672-6448.2008.02.002.
- [20] 李华钢,章军建,姜健,等. 通过 1H 磁共振波谱和经颅多普勒超声观察急性脑梗死患者早期代谢物及血流动力学的变化 [J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2003, 25(11): 684-688.
- [21] 苗培芳,王彩鸿,魏莹,等. 3D-ASL 评估慢性期皮层下脑梗死脑血流量改变 [J]. *磁共振成像*, 2021, 12(2): 1-5. DOI: 10.12015/issn.1674-8034.2021.02.001.
- [22] Wu L, Jiang Y, Zhu J, et al. Orosomucoid1: Involved in vascular endothelial growth factor-induced blood-brain barrier leakage after ischemic stroke in mouse [J]. *Brain Res Bull*, 2014, 109: 88-98. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2014.09.007.
- [23] Ahn SM, Jung DH, Lee HJ, et al. Contralesional application of transcranial direct current stimulation on functional improvement in ischemic stroke mice [J]. *Stroke*, 2020, 51(7): 2208-2218. DOI: 10.1161/STROKEAHA.120.029221.
- [24] 杨小萍,杨婷婷,古晶晶,等. 人骨骼肌源性血管外膜细胞对人脐血 CD34+ 细胞的体外造血支持作用 [J]. *中国组织工程研究*, 2020, 24(13): 2047-2054. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2065.

(修回日期:2023-09-03)

(本文编辑:凌 琛)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 作者署名和作者单位的基本要求

1. 作者署名:《中华医学会系列杂志论文作者署名规范》中明确规定,论文作者姓名在题名下按序排列,排序应在投稿前由全体作者共同讨论确定,投稿后不应再作改动,确需改动时必须出示单位证明以及所有作者亲笔签名的署名无异议书面证明。作者应同时具备以下四项条件:(1)参与论文选题和设计,或参与资料分析与解释;(2)起草或修改论文中关键性理论或其他主要内容;(3)能按编辑部的修改意见进行核修,对学术问题进行解答,并最终同意论文发表;(4)除了负责本人的研究贡献外,同意对研究工作各方面的诚信问题负责。仅参与获得资金或收集资料者不能列为作者,仅对科研小组进行一般管理也不宜列为作者。

2. 通信作者:每篇论文均需确定一位能对该论文全面负责的通信作者。通信作者应在投稿时确定,如在来稿中未特殊标明,则视第一作者为通信作者。集体署名的论文应将对该文负责的关键人物列为通信作者。规范的多中心或多学科临床随机对照研究,如主要责任人确实超过一位的,可酌情增加通信作者。无论包含几位作者,均需标注通信作者,并注明其 Email 地址。集体作者成员姓名可在文末与参考文献之间列出所有参与研究人员名单和单位,编排格式如:“×××组成员”冒号后依次接排参加协作组各单位的名称,单位名称后括号内列出参加者姓名,文末无标点。

3. 同等贡献作者:不建议著录同等贡献作者,需确定论文的主要责任人。确需著录同等贡献作者时,可在作者项后另起一行著录“前×位作者对本文有同等贡献”,英文为“×× and ×× contributed equally to the article”。英文摘要中如同等贡献者为第一作者且属不同单位,均需注册其单位,以 1、2、3、4……等顺序标注。同一单位同一科室作者不宜著录同等贡献。作者申请著录同等贡献时需提供全部作者的贡献声明,期刊编辑委员会进行核查,必要时可将作者贡献声明刊登在论文结尾处。

4. 志谢:对给予实质性帮助但不符合作者条件的单位或个人可在文后给予志谢,但必须征得志谢人的书面同意。被志谢者包括:(1)对研究提供资助的单位和个人、合作单位;(2)协助完成研究工作和提供便利条件的组织和个人;(3)协助诊断和提出重要建议的人;(4)给予转载和引用权的资料、图片、文献、研究思想和设想的所有者;(5)做出贡献又不能成为作者的人,如提供技术帮助和给予财力、物力支持的人,此时应阐明其支援的性质;(6)其他。不宜将被志谢人放在作者的位置上,混淆作者和被志谢者的权利和义务。

5. 作者单位:著录作者单位全称(以投稿单位信函公章为准),并标注到二级单位(科室),包括所在省、自治区、城市名(省会城市可以略去省名)和邮政编码。凡以“中国人民解放军”开头的单位名称,“中国人民”字样可以省略;军区总医院和军医大学名称可以进一步省略“解放军”字样。省会及名城的医院和所有医学院校均不加省名。省、自治区等行政区划名要写全称。与国外人员共同研究完成的论文,应共同署名,并在文内注明研究进行及完成的单位名称。外国作者姓名及单位应标注原文。