

# 电针刺刺激头部运动区对脑瘫大鼠脑损伤及 JAK2/STAT3 信号通路的影响

王泽熙<sup>1</sup> 回利<sup>2</sup> 刘帅<sup>3</sup> 岳玲<sup>1</sup> 王静<sup>1</sup>

<sup>1</sup>河北省儿童医院神经康复科, 石家庄 050031; <sup>2</sup>河北省沧州市人民医院麻醉科, 沧州 061000;

<sup>3</sup>河北省儿童医院重症医学科, 石家庄 050031

通信作者: 岳玲, Email: yueling4211@163.com

**【摘要】目的** 观察电针刺刺激头部运动区对脑瘫大鼠脑损伤及 JAK2/STAT3 信号通路的影响。**方法** 将 30 只 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组及电针刺刺激组, 每组 10 只大鼠。将模型组及电针刺刺激组大鼠制成脑瘫动物模型, 假手术组大鼠术中不结扎左颈总动脉。于造模后 24 h 及 21 d 时采用 BBB 运动功能评分评价各组大鼠运动功能情况, 并于造模后 21 d 时处死各组大鼠并提取脑组织。采用苏木素-伊红染色观察各组大鼠脑皮质病理学改变; 采用荧光定量 PCR 法检测凋亡基因 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 (Bcl-2)、Bcl-2 相关 x 蛋白 (Bax)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (Caspase-3) mRNA 表达水平; 采用 ELISA 法检测肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )、干扰素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 及氧化应激指标超氧化物歧化酶 (SOD)、总抗氧化力 (T-AOC)、丙二醛 (MDA) 含量; 采用 Western blot 法检测 JAK2、STAT3、p-JAK2 及 p-STAT3 表达水平。**结果** 造模后 21 d 时模型组大鼠 BBB 运动功能评分、脑组织中 Bcl-2 mRNA 表达、SOD、T-AOC 含量均显著低于假手术组水平 ( $P < 0.05$ ), Caspase-3 mRNA 表达、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、MDA 含量、p-JAK2 和 p-STAT3 表达水平均明显高于假手术组水平 ( $P < 0.05$ ); 电针刺刺激组大鼠 BBB 运动功能评分、Bcl-2 mRNA 表达、SOD、T-AOC 含量均显著高于模型组水平 ( $P < 0.05$ ), Caspase-3 mRNA 表达、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、MDA 含量、p-JAK2 及 p-STAT3 表达均明显低于模型组水平 ( $P < 0.05$ )。**结论** 电针刺刺激头部运动区可缓解脑瘫模型大鼠脑损伤, 改善肢体运动功能, 其作用机制可能与抑制 JAK2/STAT3 信号通路激活, 进而减轻细胞凋亡、炎症反应及氧化应激反应有关。

**【关键词】** 脑瘫; 电针刺刺激; 运动功能; JAK2/STAT3 信号通路

**基金项目:** 河北省 2022 年度医学科学研究重点课题计划项目 (20220764)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2023.10.002

## Electroacupuncture stimulation of the head relieves motor function impairment in rats modeling cerebral palsy

Wang Zexi<sup>1</sup>, Hui Li<sup>2</sup>, Liu Shuai<sup>3</sup>, Yue Ling<sup>1</sup>, Wang Jing<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Neurorehabilitation, Hebei Children's Hospital, Shijiazhuang 050031, China; <sup>2</sup>Department of Anesthesiology, Cangzhou People's Hospital, Cangzhou 061000, China; <sup>3</sup>PICU of Hebei Children's Hospital, Shijiazhuang 050031, China

Corresponding author: Yue Ling, Email: yueling4211@163.com

**【Abstract】 Objective** To observe any effect of electroacupuncture in the head motor area on motor impairment and JAK2/STAT3 signaling in rats modeling cerebral palsy. **Methods** Thirty Sprague-Dawley rats were randomly divided into a sham operation group, a model group and an electroacupuncture group, each of 10. A model of cerebral palsy was induced in the model and electroacupuncture groups, while the sham operation group was not ligated in a sham operation. The motor functioning of all of the rats was evaluated 24h and 21d after the modeling using the Basso, Beattie Bresnahan locomotor rating scale (BBB scale). At 21d all of the rats were sacrificed and their brain tissues were collected. Hematoxylin-eosin staining was used to observe any pathological changes in the cerebral cortex, and fluorescence quantitative PCRs were employed to detect the mRNA expression of apoptotic gene B-cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2), Bcl-2-associated x-protein (Bax), and cysteine-aspartate protein hydrolase-3 (Caspase-3). ELISA was used to detect the mRNA expression of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), and the oxidative stress indicators superoxide dismutase (SOD), total antioxidant

capacity (T-AOC), and malondialdehyde (MDA). Western blotting was applied to detect the expression of JAK2, STAT3, p-JAK2 and p-STAT3. **Results** The average BBB motor function score, Bcl-2 mRNA expression, SOD and T-AOC of the model group were all significantly lower than that of the sham-operated group at 21d. The average expression of Caspase-3 mRNA, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IFN- $\gamma$ , were significantly greater as were MDA content, p-JAK2, and p-STAT3 levels. The average BBB motor function score of the electroacupuncture group was significantly higher than the model group's average, but caspase-3 mRNA expression, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , MDA, p-JAK2 and p-STAT3 were all significantly lower. **Conclusion** Electroacupuncture applied to the head motor area relieves motor function impairment in rats modeling cerebral palsy. That may be related to inhibition of the JAK2/STAT3 pathway's activation resulting in less apoptosis, inflammation and oxidative stress.

**【Key words】** Cerebral palsy; Electroacupuncture; Motor function; JAK2/STAT3 pathway

**Funding:** A project of Hebei Province's 2022 Medical Science Research Key Subjects Program (20220764)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2023.10.002

脑瘫(cerebral palsy, CP)是导致儿童残疾的常见疾病之一,既影响患儿的学习和生活,同时也会增加患儿家庭及社会负担。改进治疗方案、促进神经功能重建,对恢复脑瘫患儿语言功能、肢体功能及重返社会具有重要作用<sup>[1-2]</sup>。电针刺激头部运动区是脑瘫康复治疗的重要干预手段,对脑瘫患儿运动功能具有明显改善作用<sup>[3-4]</sup>,但相关分子机制层面的研究并不深入。大量研究报道,细胞凋亡、炎症反应、氧化应激反应与脑瘫发生、发展过程中神经功能损伤密切相关,且上述生物学环节的调控均涉及复杂的细胞内信号转导<sup>[5]</sup>。Janus 激酶 2/信号转导与转录激活子 3 (Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3, JAK2/STAT3) 在外伤、感染、缺血缺氧等病理刺激下发挥促凋亡、促炎、促氧化应激作用<sup>[6-7]</sup>,有研究报道针灸改善脑瘫大鼠神经功能的机制可能与抑制 JAK2/STAT3 信号通路有关<sup>[8-9]</sup>。基于此,本研究拟采用电针刺激脑瘫大鼠头部运动区,并观察对大鼠脑损伤及 JAK2/STAT3 信号通路的影响,现报道如下。

## 材料与方 法

### 一、实验动物

选取清洁级雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 30 只, 2~3 月龄, 体质量 145~155 g, 均购于北京维通利华实验动物技术有限公司。本研究同时经河北省儿童医院医学研究伦理委员会审批[202136]。

### 二、主要试剂及仪器

苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色试剂盒购自南京弗瑞思生物科技有限公司, 组织 RNA 提取试剂盒、cDNA 第一链合成试剂盒、荧光定量检测试剂盒均购自北京天根生化科技有限公司, 肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumour necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白介素-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、干扰素- $\gamma$  (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ) 检测试剂盒均购自武汉佳维斯生物医药有限公司, 丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶 (superoxide

dismutase, SOD)、总抗氧化力 (total antioxidant capacity, T-AOC) 检测试剂盒均购自武汉赛培生物科技有限公司, JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3 的特异性一抗及辣根过氧化物酶标记二抗均购自美国 Abcam 公司。本研究所用 BT701-1B 型电针仪购自上海华谊医用仪器有限公司, DM5000B 型荧光显微镜购自德国 Leica 公司, 半干转印槽、小型垂直电泳槽、基础电源等购自美国 Bio-Rad 公司, 多功能成像系统购自法国 Vilber 公司, Mx3000P 实时荧光定量 PCR 仪购自美国 Agilent 公司, Nano Drop 2000 型核酸/蛋白定量仪购自美国 Thermo 公司。

### 三、动物分组及干预

采用随机数字表法将上述 SD 大鼠分为假手术组、模型组及电针刺激组, 每组各 10 只。按照文献[10]介绍的方法将模型组及电针刺激组大鼠制成脑瘫动物模型, 具体制模方法如下: 大鼠经腹腔注射戊巴比妥钠麻醉后将其仰卧位固定于手术板上行颈部正中切口, 然后分离皮下组织及肌肉, 显露左颈总动脉并用 0 号丝线结扎, 缝合切口后将大鼠放入用水封闭的缺氧箱内, 以 1 L/min 的流量持续灌注混合气体 (氧气浓度为 8%, 氮气浓度为 92%), 持续 2 h 后结束造模。假手术组大鼠手术操作同上, 但术中不进行结扎操作。电针刺激组大鼠于造模成功后 24 h 给予电针治疗, 参照大鼠脑定位图谱选择运动区头皮表面投影上 2/5 进行电针刺激, 选用无菌一次性毫针 (长度 26 mm, 直径 0.4 mm) 与头皮呈 30°角刺入腱膜下间隙, 插入深度约 5 mm, 进针后接通电针仪, 左、右侧针尾分别连接正极、负极, 设置电针频率 2 Hz, 电流强度 3.5 mA, 疏密波形, 每日治疗 1 次, 每次持续约 3 min<sup>[10]</sup>。

### 四、各组大鼠运动功能评定

于造模后 24 h 及 21 d 时分别采用 BBB (Basso, Beattie and Bresnahan) 运动功能评分标准对各组大鼠运动功能进行评定, 具体评定内容包括: ①后肢各关节活动功能; ②后肢步态及协调功能; ③后肢运动时爪的

精细动作。BBB 满分为 21 分,得分越高表明大鼠运动功能越好<sup>[11]</sup>。

### 五、各组大鼠脑组织病理学观察

于造模后 21 d 时完成运动功能评定后迅速将各组大鼠断头处死,从枕骨大孔处向前剪开颅骨、显露脑组织,用眼科镊取大鼠枕叶明显病变部位的脑组织,置于 4%多聚甲醛中固定 24 h,制作蜡块后进行病理切片,采用 HE 染色试剂盒对各组大鼠切片进行染色,再置于光学显微镜下观察大鼠脑组织病理学改变。

### 六、荧光定量 PCR 检测凋亡基因 mRNA 表达

取各组大鼠脑组织约 10 mg,采用 RNA 提取试剂盒提取组织 RNA,选用 cDNA 第一链合成试剂盒将组织 RNA 反转录为 cDNA,再采用荧光定量检测试剂盒对 cDNA 中的自噬相关信号蛋白 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2)、Bcl-2 相关 x 蛋白 (Bcl-2 associated x protein, Bax)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (cysteiny aspartate specific proteinase, Caspase-3)进行荧光定量 PCR 检测。PCR 反应体系如下:cDNA 1 μl,试剂盒中反应混合液 10 μl,上、下游引物(具体序列详见表 1)各 0.6 μl,用去离子水补足至 20 μl。PCR 反应程序如下:95 °C 预变性 3 min,95 °C 反应 15 s,60 °C 反应 25 s,72 °C 反应 30 s,共循环 40 次。以 β-actin 为内参,按照公式  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算 Bax、Bcl-2 及 Caspase-3 mRNA 表达水平。

表 1 各目标基因上、下游引物序列

| 目标基因      | 上、下游引物序列  |
|-----------|---|
| Bax       | 上游: 5'-TTGCTACAGGGTTTCATCC-3'<br>下游: 5'-GTCCAGTTCATCGCCAAT-3'     |
| Bcl-2     | 上游: 5'-CAGAATCAAGTGTTCGTCAT-3'<br>下游: 5'-TCGTTCTTCACTCCACCATGA-3' |
| Caspase-3 | 上游: 5'-GAATCCACGAGCAGAGTC-3'<br>下游: 5'-TCAACAAGCCAACCAAGT-3'      |
| β-actin   | 上游: 5'-CCTAGAAGCATTTCGGCTGC-3'<br>下游: 5'-TCATGAAGTGTGACGTTGAC-3'  |

### 七、ELISA 法检测炎症细胞因子及氧化应激指标表达

取各组大鼠脑组织约 10 mg,采用组织裂解液进行匀浆,在 4 °C 环境下将匀浆液离心(12000 转/分)10 min,取上清采用试剂盒检测 TNF-α、IL-1β、IFN-γ、MDA、SOD 及 T-AOC 水平,并计算每毫克蛋白中上述指标含量。

### 八、Western blot 法检测 JAK2、STAT3、p-JAK2 及 p-STAT3 表达

将各组大鼠脑组织匀浆后离心上清液,取 20 μg 蛋白样本进行 Western blot 检测,在十二烷基硫酸钠聚

丙烯酰胺(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)凝胶中进行蛋白电泳,随后电转移至硝酸纤维素膜,将膜置入 5%脱脂牛奶中室温封闭 1 h,经洗膜 3 次后将膜置入 1:1000 稀释的 p-JAK2 一抗(1:400 稀释)、p-STAT3 一抗(1:400 稀释)、JAK2 一抗(1:1000 稀释)、STAT3 一抗(1:1000 稀释)或 β-actin 一抗(1:5000 稀释)中孵育(4 °C)过夜;第 2 天经洗膜 3 次后将膜置入辣根过氧化物酶标记二抗(1:3000 稀释)中室温孵育 1 h,最后在凝胶成像系统中进行化学发光并分析蛋白条带灰度值,以 β-actin 为内参计算 p-JAK2、p-STAT3 蛋白表达水平。

### 九、统计学方法

采用 SPSS 26.0 版统计学软件包进行数据处理,满足正态分布且方差齐性的计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),组间两两比较采用 S-N-K 法;不满足正态分布或方差齐性的计量资料采用非参数秩和检验进行统计学比较, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

## 结 果

### 一、造模后 3 组大鼠运动功能比较

造模后 24 h 及 21 d 时发现模型组、电针刺刺激组大鼠 BBB 运动功能评分均较假手术组显著降低( $P < 0.05$ ),而电针刺刺激组大鼠在造模后 21 d 时其 BBB 运动功能评分显著高于模型组水平( $P < 0.05$ ),具体数据见表 2。

表 2 造模后不同时间点 3 组大鼠 BBB 运动功能评分比较(分,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别     | 只数 | 造模后 24 h               | 造模后 21 d 时               |
|--------|----|------------------------|--------------------------|
| 假手术组   | 10 | 19.48±0.11             | 19.94±0.20               |
| 模型组    | 10 | 6.86±0.68 <sup>a</sup> | 9.51±0.55 <sup>a</sup>   |
| 电针刺刺激组 | 10 | 7.01±0.47 <sup>a</sup> | 13.01±1.13 <sup>ab</sup> |

注:与假手术组相同时间点比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与模型组相同时间点比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$

### 二、3 组大鼠脑组织病理学观察结果比较

通过 HE 染色发现,假手术组大鼠脑组织病理学结构正常,模型组大鼠脑组织出现与脑瘫相关的病理学改变,包括脑组织间质水肿、神经细胞萎缩、核大深染、染色质成团等;电针刺刺激组大鼠脑组织中与脑瘫相关的病理学改变明显缓解,可见大鼠脑组织间质水肿程度减轻、部分细胞核固缩,具体情况见图 1。

### 三、3 组大鼠脑组织凋亡基因 mRNA 表达比较

通过荧光定量 PCR 检测发现,模型组、电针刺刺激组大鼠脑组织中 Bax、Caspase-3 mRNA 表达水平均显著高于假手术组( $P < 0.05$ ),Bcl-2 mRNA 表达水平均显著低于假手术组( $P < 0.05$ );电针刺刺激组大鼠脑组织

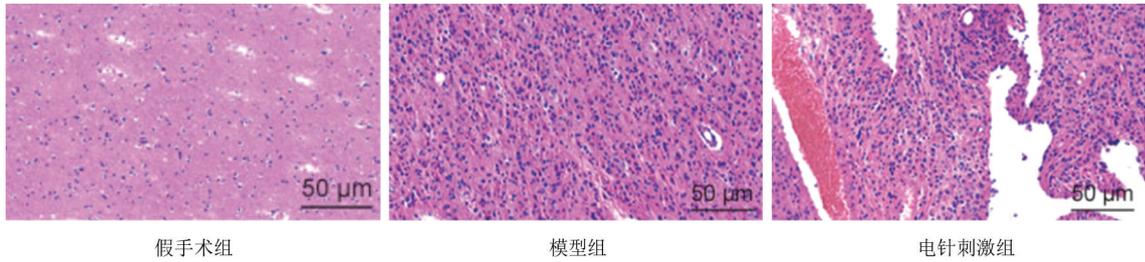


图 1 3 组大鼠脑皮质病理学观察比较(HE 染色, ×100)

中 Bax 及 Caspase-3 mRNA 表达水平均较模型组显著降低( $P<0.05$ ), Bcl-2 mRNA 表达水平较模型组显著增高( $P<0.05$ ), 具体数据见表 3。

表 3 3 组大鼠脑组织凋亡基因 mRNA 表达水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别    | 只数 | Bax                     | Bcl-2                   | Caspase-3               |
|-------|----|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 假手术组  | 10 | 1.00±0.11               | 1.00±0.12               | 1.00±0.09               |
| 模型组   | 10 | 1.77±0.15 <sup>a</sup>  | 0.58±0.07 <sup>a</sup>  | 1.84±0.19 <sup>a</sup>  |
| 电针刺激组 | 10 | 1.24±0.12 <sup>ab</sup> | 0.84±0.08 <sup>ab</sup> | 1.30±0.12 <sup>ab</sup> |

注:与假手术组比较, <sup>a</sup> $P<0.05$ ;与模型组比较, <sup>b</sup> $P<0.05$

#### 四、3 组大鼠脑组织炎症细胞因子含量比较

通过 ELISA 法检测发现, 模型组、电针刺激组大鼠脑组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  及 IFN- $\gamma$  含量均显著高于假手术组( $P<0.05$ ), 电针刺激组大鼠脑组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  及 IFN- $\gamma$  含量均较模型组显著降低( $P<0.05$ ), 具体数据见表 4。

表 4 3 组大鼠脑组织中炎症细胞因子含量比较( $\text{ng}/\text{mg}$ ,  $\bar{x}\pm s$ )

| 组别    | 只数 | TNF- $\alpha$           | IL-1 $\beta$            | IFN- $\gamma$           |
|-------|----|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 假手术组  | 10 | 1.56±0.14               | 0.94±0.11               | 3.09±0.34               |
| 模型组   | 10 | 3.62±0.25 <sup>a</sup>  | 2.15±0.22 <sup>a</sup>  | 7.75±0.81 <sup>a</sup>  |
| 电针刺激组 | 10 | 2.01±0.18 <sup>ab</sup> | 1.33±0.14 <sup>ab</sup> | 4.92±0.55 <sup>ab</sup> |

注:与假手术组比较, <sup>a</sup> $P<0.05$ ;与模型组比较, <sup>b</sup> $P<0.05$

#### 五、3 组大鼠脑组织中氧化应激指标含量比较

模型组、电针刺激组大鼠脑组织中 MDA 含量均明显高于假手术组( $P<0.05$ ), SOD、T-AOC 含量均明显低于假手术组( $P<0.05$ );电针刺激组大鼠脑组织中 MDA 含量较模型组显著降低( $P<0.05$ ), SOD 及 T-AOC 含量均较模型组显著增高( $P<0.05$ ), 具体数据见表 5。

表 5 3 组大鼠脑组织中氧化应激指标含量比较( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别    | 只数 | MDA ( $\mu\text{mol}/\text{mg}$ ) | SOD (U/mg)               | T-AOC (U/mg)            |
|-------|----|-----------------------------------|--------------------------|-------------------------|
| 假手术组  | 10 | 1.22±0.14                         | 20.13±2.64               | 8.79±0.67               |
| 模型组   | 10 | 3.94±0.55 <sup>a</sup>            | 9.35±0.83 <sup>a</sup>   | 4.12±0.44 <sup>a</sup>  |
| 电针刺激组 | 10 | 2.36±0.24 <sup>ab</sup>           | 14.55±1.67 <sup>ab</sup> | 6.68±0.56 <sup>ab</sup> |

注:与假手术组比较, <sup>a</sup> $P<0.05$ ;与模型组比较, <sup>b</sup> $P<0.05$

#### 六、3 组大鼠脑组织中 JAK2/STAT3 信号通路相关蛋白表达比较

通过 Western blot 检测发现, 模型组大鼠脑组织中 p-JAK2、p-STAT3 表达水平、电针刺激组 p-STAT3 表达水平均显著高于假手术组( $P<0.05$ );电针刺激组大鼠脑组织中 p-JAK2、p-STAT3 表达水平均较模型组明显降低( $P<0.05$ ), p-JAK2 表达水平与假手术组间差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 具体情况见图 2、表 6。

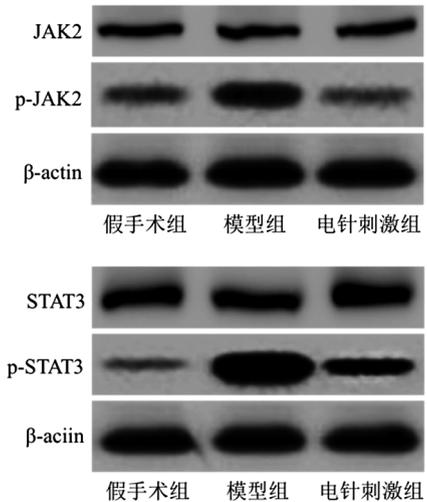


图 2 3 组大鼠脑组织中 p-JAK2、p-STAT3 表达比较

表 6 3 组大鼠脑组织中 p-JAK2、p-STAT3 表达水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别    | 只数 | p-JAK2/JAK2            | p-STAT3/STAT3           |
|-------|----|------------------------|-------------------------|
| 假手术组  | 10 | 0.64±0.05              | 0.36±0.04               |
| 模型组   | 10 | 0.91±0.10 <sup>a</sup> | 1.24±0.13 <sup>a</sup>  |
| 电针刺激组 | 10 | 0.52±0.04 <sup>b</sup> | 0.51±0.06 <sup>ab</sup> |

注:与假手术组比较, <sup>a</sup> $P<0.05$ ;与模型组比较, <sup>b</sup> $P<0.05$

## 讨 论

脑瘫常见致病因素包括高胆红素血症<sup>[9]</sup>、缺氧缺血性脑病<sup>[12]</sup>、呼吸窘迫综合征、颅内出血、颅内感染<sup>[13]</sup>等, 患儿以非进行性脑损伤为主要特征, 多表现为姿势异常、中枢性运动障碍, 部分患儿会出现癫痫、语言障碍或智力低下等后遗症<sup>[14-15]</sup>。目前尚无针对

脑瘫的根治方案,临床上主要通过开展系统性康复干预促进脑瘫患儿受损神经功能恢复,如采用电针刺刺激头部功能区对改善脑瘫患儿运动功能具有促进作用,但确切作用机制尚未明了。本研究从细胞内信号转导层面探讨了电针刺刺激头部功能区对脑瘫大鼠运动功能及 JAK2/STAT3 信号通路的影响。

BBB 运动功能评分被广泛用于中枢神经系统损伤大鼠后肢运动功能的评价,其评价结果准确、可靠、误差甚小<sup>[16]</sup>。本研究采用 BBB 运动功能评分评价各组大鼠运动功能情况,发现模型组大鼠在造模后 21 d 时其 BBB 评分显著低于假手术组,提示脑瘫大鼠制模成功。在造模后 21 d 时电针刺刺激组大鼠 BBB 评分显著高于模型组,提示电针刺刺激头部运动区对脑瘫大鼠肢体运动功能具有改善作用。在此基础上通过 HE 染色观察各组大鼠脑皮质病理学改变,发现模型组大鼠脑皮质出现细胞排列紊乱、间质水肿等异常,而电针刺刺激组大鼠脑皮质细胞排列较规则、间质水肿程度明显减轻,上述结果与 BBB 运动功能评分相吻合,进一步证实电针刺刺激头部运动区可减轻脑瘫大鼠脑损伤、改善肢体运动功能。

有大量文献报道,脑瘫发生、发展过程中机体神经功能损伤与细胞凋亡、炎症反应、氧化应激反应过度激活密切相关<sup>[11]</sup>。TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$  是参与炎症反应的促炎性细胞因子,相关研究发现在脑瘫发生、发展过程中机体 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$  表达明显增加<sup>[17]</sup>。MDA 是脂质发生过氧化反应的产物,而氧化应激反应过度激活能导致 MDA 增多,同时造成 SOD 及 T-AOC 过量消耗。Juan 等<sup>[18]</sup>将脑瘫患儿与正常儿童对比,发现脑瘫患儿 MDA 含量明显增多,SOD 及 T-AOC 含量显著降低,提示脑瘫患儿体内存在氧化应激反应过度激活。Bax 和 Bcl-2 参与线粒体途径细胞凋亡的调控,前者具有促凋亡作用,后者具有抑凋亡作用,最终二者通过调控 Caspase-3 表达影响细胞凋亡过程。本研究中脑瘫模型大鼠脑组织中 Bcl-2 表达及 SOD、T-AOC 含量均明显降低,Bax 及 Caspase-3 表达、多种促炎性细胞因子和 MDA 含量均显著增加,与既往研究结果<sup>[16-18]</sup>基本一致,提示细胞凋亡、炎症反应、氧化应激反应过度激活与脑瘫发生、发展过程密切相关。

有大量基础对电针刺刺激改善受损神经功能的相关生物学机制进行了探索,发现电针干预能显著抑制脑缺血再灌注损伤、阿尔兹海默症等动物模型脑细胞凋亡、炎症反应及氧化应激反应等<sup>[19-20]</sup>。本研究结果显示,脑瘫模型大鼠经电针刺刺激头部运动区后其脑组织中抗凋亡 Bcl-2 表达明显升高,抗氧化的 SOD 及 T-AOC 含量亦显著增加,促凋亡的 Bax 及 Caspase-3 表达明显下降,多种促炎性细胞因子及氧化产物 MDA

含量亦显著降低,表明电针干预可抑制脑瘫大鼠脑组织中细胞凋亡、炎症反应及氧化应激反应,有助于减轻脑损伤。

近年来随着分子层面研究不断深入,发现细胞中复杂的生物信号转导途径参与细胞凋亡、炎症反应及氧化应激反应的调控,其中 JAK2/STAT3 通路受到广泛关注。JAK2 和 STAT3 均以磷酸化的形式发生活化,JAK2/STAT3 通路一方面能直接调控凋亡基因、炎症因子表达,另一方面还能促进炎性细胞浸润、活性氧生成并加剧氧化应激反应,在脑瘫模型<sup>[8]</sup>、脑缺血再灌注损伤模型<sup>[21]</sup>中均存在 JAK2/STAT3 信号通路过度激活。本研究中脑瘫模型大鼠脑组织中 p-JAK2 及 p-STAT3 表达均较假手术组显著升高,提示 JAK2/STAT3 信号通路参与脑瘫发病过程;而经电针刺刺激头部运动区后,脑瘫模型大鼠脑组织中 p-JAK2 及 p-STAT3 表达均较模型组大鼠显著降低,表明电针刺刺激能抑制脑瘫大鼠脑组织中 JAK2/STAT3 通路激活,进而抑制 JAK2/STAT3 通路介导的细胞凋亡、炎症反应及氧化应激反应,有助于受损神经功能改善。

综上所述,电针刺刺激头部功能区可减轻脑瘫大鼠脑损伤,改善肢体运动功能,其作用机制可能与抑制脑组织中 JAK2/STAT3 信号通路激活,进而减轻细胞凋亡、炎症反应及氧化应激反应有关。

## 参 考 文 献

- [1] 封玉霞,庞伟,李鑫,等.中国 0~6 岁儿童脑瘫患病率的 Meta 分析 [J].中国全科医学,2021,24(5):603-607.DOI:10.12114/j.issn.1007-9572.2021.00.072.
- [2] Yu W, He J, Liu X, et al. Clinical features and genetic spectrum of Chinese patients with hereditary spastic paraplegia: a 14-year study [J].Front Genet, 2023, 14: 1085442. DOI: 10.3389/FGENE.2023.1085442.
- [3] 王琼,潘星星.电针、推拿联合康复训练对痉挛型脑瘫患儿痉挛程度及运动能力的影响 [J].中西医结合心脑血管病杂志,2021,19(8):1374-1377.DOI:10.12102/j.issn.1672-1349.2021.08.033.
- [4] Wang L, Shan L, Du L, et al. Comparison of electroacupuncture and body acupuncture on gastrocnemius muscle tone in children with spastic cerebral palsy: a single blinded, randomized controlled pilot trial [J].Chin J Integr Med, 2020, 26(1):14-19.DOI:10.1007/s11655-019-3082-y.
- [5] Andrew MJ, Parr JR, Montague JC, et al. Optimising nutrition to improve growth and reduce neurodisabilities in neonates at risk of neurological impairment, and children with suspected or confirmed cerebral palsy [J]. BMC Pediatr, 2015, 15(1):112-118. DOI: 10.1186/s12887-015-0339-2.
- [6] Mahdiani S, Omidkhoda N, Rezaee R, et al. Induction of JAK2/STAT3 pathway contributes to protective effects of different therapeutics against myocardial ischemia/reperfusion [J]. Biomed Pharmacother, 2022, 155:113751. DOI:10.1016/J.BIOPHA.2022.113751.
- [7] 杨永祥,叶玉勤,苏鑫洪,等.创伤性脑损伤后大鼠海马区神经干

- 细胞增殖及其与 Janus 激酶 2/信号传导与转录激活因子 3 信号通路活性的关系[J]. 中华创伤杂志, 2019, 35(5): 416-422. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-8050.2019.05.006.
- [8] 田利娟, 王苗, 周钰, 等. 基于 JAK/STAT 通路探讨温阳通络针灸法干预缺氧脑瘫幼鼠的作用机制研究[J]. 四川中医, 2021, 39(9): 42-47. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-8050.2019.05.006.
- [9] 高晶, 于雪峰, 吕岫华, 等. 电针刺激头部运动区通过 PI3K/Akt 信号通路减轻脑瘫鼠脑损伤的研究[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(12): 5007-5010. DOI: BXYY.0.2016-12-031.
- [10] 刘红欣, 高晶, 吕岫华, 等. PI3K/Akt 信号通路在头部电针调控脑瘫鼠脑皮质神经生长相关蛋白表达中的作用研究[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(8): 3413-3417. DOI: BXYY.0.2019-08-017.
- [11] 章广泉. PI3K/Akt 信号通路在头部电针促进脑瘫鼠神经功能康复中的作用研究[D]. 南昌大学, 2023. DOI: 10.27232/d.cnki.gnchu.2022.000768.
- [12] 顾秀玲, 严宏菲, 魏航. 332 例脑瘫患儿病因及相关因素分析[J]. 中国医药导报, 2011, 8(14): 153-158. DOI: 10.3969/j.issn.1673-7210.2011.14.076.
- [13] 孟平英. 新生儿缺氧缺血性脑病的早期综合干预及康复治疗的效果观察[J]. 现代预防医学, 2011, 38(11): 2036-2037. DOI: 10.3969/j.issn.1004-437X.2013.03.018.
- [14] 张晓杰, 郭继东, 伊洪波. 小儿脑瘫患者的危险因素分析[J]. 中国妇幼保健, 2012, 27(29): 4549-4551. DOI: ZFYB.0.2012-29-020.
- [15] Li J, Wang H, He Z, et al. Clinical, neuroimaging, biochemical, and genetic features in six Chinese patients with adrenomyeloneuropathy[J]. BMC Neurol, 2019, 19(1): 227. DOI: 10.1186/s12883-019-1449-5.
- [16] Yan Y, Wei Q, Zheng Y, et al. Clinical and genetic characterization of a cohort of Chinese patients with hereditary spastic paraplegia[J]. Clin Genet, 2019, 95(5): 637-639. DOI: 10.1111/cge.13517.
- [17] Paton M, FinchEdmondson M, Dale R, et al. Persistent inflammation in cerebral palsy: pathogenic mediator or comorbidity? a scoping review[J]. J Clin Med, 2022, 11(24): 7368. DOI: 10.3390/JCM11247368.
- [18] Juan R, Tao L, Yiran X, et al. Role of apoptosis-inducing factor in perinatal hypoxic-ischemic brain injury[J]. Neural Regen Res, 2021, 16(2): 205-213. DOI: 10.4103/1673-5374.290875.
- [19] 梁润昱. 电针调节脑铁代谢减少脑缺血再灌注后氧化损伤的机制研究[D]. 黑龙江中医药大学, 2023. DOI: 10.27127/d.cnki.ghlzu.2022.000441.
- [20] 李虹霖, 栾凯迪, 高伟, 等. 针灸治疗阿尔茨海默病的分子生物学研究进展[J]. 重庆医科大学学报, 2020, 45(11): 1612-1615. DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.002489.
- [21] Zhao Y, Ding M, Yan F, et al. Inhibition of the JAK2/STAT3 pathway and cell cycle re-entry contribute to the protective effect of remote ischemic pre-conditioning of rat hindlimbs on cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. CNS Neurosci Ther, 2022, 29(3): 866-877. DOI: 10.1111/CNS.14023.

(修回日期: 2023-07-28)

(本文编辑: 易浩)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 中华医学会期刊管理部关于一稿两投和重复发表问题的处理原则

一稿两投(一稿多投)是指同样的文稿或实质性内容相同的文稿投寄给两个或两个以上的媒体。重复发表是指同样的文稿或实质性内容相同的文稿在两个或两个以上的媒体发表,无论是印刷版媒体还是电子媒体。

中华医学会系列期刊作为我国重要的医学信息源期刊,原则上不接受一稿两投或重复发表的论文,读者在这些期刊上所阅读的论文基本上都是原始的、首发的,除非声明是按作者和编辑的意图重新发表的。这一立场符合中国和国际版权法、道德规范及资源使用的成本效益原则。但这一政策并不妨碍下列论文向中华医学会系列期刊投稿:(1)已经被其他刊物退稿的论文;(2)发表初步报告后再发表完整的论文,如已在其他刊物或专业学术会议的论文汇编上发表过摘要;(3)在专业学术会议上宣读过,但并未在其他刊物或会议汇编上全文发表或准备全文发表。因此,作者在向中华医学会系列期刊投稿时,必须就以前是否投寄过或发表过同样或类似的文稿向编辑部作充分的说明,以免造成一稿两投或重复发表。如果文稿中部分内容已经发表,作者应在新的文稿中明确指出有关内容并列出相应的参考文献,同时将以前发表的文稿寄给编辑部,以便编辑部决定如何处理新的文稿。

如果出现一稿两投现象,且作者在投稿时没有作这方面的说明,编辑部将立即退稿;如果编辑部在发表前没有了解一稿两投的情况而造成重复发表,编辑部将在本刊发表有关该文稿系重复发表的声明。对于一稿两投或重复发表的情况,编辑部将向作者所在单位和该领域的其他科技期刊进行通报,同时,中华医学会系列期刊两年内将拒绝接受该论文第一作者所撰写的其他文稿。

作者向中华医学会系列期刊投稿并收到编辑部回执后 3 个月未接到退稿,则表明该稿件仍在处理中,如果作者欲投寄其他刊物,应事先与编辑部联系并征得编辑部的同意。作者向大众媒体、政府机构或生产厂商初步报告已被中华医学会系列期刊录用但尚未发表的论文的科学内容,是违反中华医学会系列期刊政策的,除非该论文报道的内容涉及到治疗方面的重大突破或对大众健康的严重危害,如药物、疫苗、其他生物制品、医疗器械等的严重副作用。在上述情况下提前透露文稿的内容,不影响该论文的发表,但应事先与编辑部讨论并征得同意。