

· 基础研究 ·

电针治疗大鼠急性缺血性脑损伤的作用机制

王玉凯 任丽 黄铭娜 龙赤 黄海鹰

【摘要】目的 观察急性脑缺血后及电针治疗后大鼠脑组织中电压门控型钠通道亚型 Nav1.6 表达, 探讨电针治疗急性缺血性脑损伤的作用机制。**方法** 选取 144 只健康 SD 大鼠用线栓法制作大鼠脑缺血模型, 按随机数字表法分为脑缺血组、电针治疗组和药物治疗组, 每组 48 只大鼠, 另取 24 只健康 SD 大鼠作为假手术组, 分别于脑缺血后 6 h、1 d、2 d、3 d 四个不同观察时间点取材后, 应用实时定量荧光聚合酶链反应 (PCR) 检测 Nav1.6 表达, 荧光法检测钙离子浓度, 氯化三苯四唑染色检测脑梗死体积。**结果** 假手术组大鼠神经功能缺损 Joshua 评分均为 0 分, 余 3 组缺血后 6 h、1 d 和 2 d 时的 Joshua 评分均呈逐渐增高趋势, 但在缺血 3 d 时的 Joshua 评分与组内缺血 2 d 时比较均有所降低, 且各组组长内差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。在大鼠脑缺血后不同时间点, 电针治疗组 Nav1.6 表达先上调然后逐渐下调, 组内比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 钙离子浓度亦是早期升高, 后期降低, 且差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 脑梗死体积百分比增大明显, 组内差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。以大鼠脑缺血 3 d 时为例, 在大鼠脑缺血后相同时间点与假手术组、脑缺血组和药物治疗组相比, 电针治疗组的 Joshua 评分 [(2.55 ± 0.42) 分] 最低, Nav1.6 表达 [光密度值 (0.387 ± 0.023)] 下调最明显, 钙离子浓度 [(448.4 ± 12.4) nmol/L] 最低, 脑梗死体积百分比 [$(22.27 \pm 1.34)\%$] 最小, 且组间差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 电针治疗脑缺血后大鼠可抑制缺血脑组织 Nav1.6 的表达, 减少细胞 Na^+ 内流, 减少细胞内 Ca^{2+} 浓度, 减轻缺血脑损伤; 电针治疗对急性缺血性脑损伤的保护作用可能是通过抑制 Nav1.6 的表达来实现。

【关键词】 脑缺血; 电针疗法; 作用机制; 大鼠

The mechanism of electroacupuncture therapy after cerebral ischemic injury Wang Yukai*, Ren Li, Huang Mingna, Long Chi, Huang Haiying. *Department of Neurology, The First People's Hospital of Foshan, Foshan 528000, China

Corresponding author: Ren Li, Email: 13929964733@163.com

【Abstract】Objective To observe the operation of Nav1.6 voltage-gated sodium channels in rats with acute cerebral injury after electroacupuncture therapy and investigate the mechanism. **Methods** Male Sprague-Dawley rats were randomly divided into an ischemia control group (IC, $n = 48$), an electroacupuncture group (ET, $n = 48$), a nimodipine therapy group (NT, $n = 48$) and a sham operation group (SO, $n = 24$), and were treated accordingly. A model of acute cerebral ischemia was induced by occlusion of the right middle cerebral artery using the suture method. The expression of Nav1.6, the concentration of Ca^{2+} and infarct volume were observed at 6 h, 1 d, 2 d and 3 d after ischemia with the real-time quantitative fluorescence PCR, immunofluorescence and 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride methods, respectively. **Results** The Joshua score for neural function was zero in the sham operation group, and increased gradually in the three other groups 6 h and 1 and 2 d after ischemia. The average Joshua score 3 d after ischemia was significantly lower than 1 d earlier in each group. In the ET group the expression of Nav1.6 was significantly upregulated at first, followed by a significant decrease. The concentration of Ca^{2+} behaved similarly. However, no significant changes were observed in the infarction volume percentage. At 3 d after ischemia the expression of Nav1.6, the Joshua grades, the Ca^{2+} concentrations and the infarction volume percentage were all significantly lower in the ET group compared with the IC, NT and SO groups. **Conclusion** Electroacupuncture therapy after acute cerebral ischemia can inhibit the expression of Nav1.6, reduced Na^+ inflow and calcium overload, and mitigate acute cerebral ischemic injury, at least in rats. The protective effect may be attributed to inhibiting the expression of Nav1.6.

【Key words】 Cerebral Ischemia; Electroacupuncture therapy; Mechanisms

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2015.04.002

基金项目:佛山市科技局资助项目(201208105)

作者单位:528000 佛山,佛山市第一人民医院神经内科(王玉凯);佛山市禅城区中心医院神经内科(任丽、黄铭娜、龙赤、黄海鹰)

通信作者:任丽,Email:13929964733@163.com

急性脑缺血早期神经元持续钠离子内流,细胞内钠离子浓度升高,钠-钙交换增加,导致细胞内钙超载,所以脑缺血早期神经元钠离子内流增加是细胞钙超载的始动因素之一。Leao 等^[1]用膜片钳技术研究发现持续钠电流增强的大鼠电压门控型钠通道亚型 1.6 (Nav1.6) 的表达明显上调,提示 Nav1.6 可能主要介导持续钠电流的产生,并且参与早期缺血性神经损伤的形成^[2-3]。有研究表明,电针治疗脑缺血后神经功能损害有效,并广泛用于脑梗死患者的治疗^[4],但电针治疗的机制目前尚不清楚。研究发现,钠通道参与神经源性疼痛的产生^[4],而电针治疗可以缓解神经源性疼痛,作用机制可能是调控了钠通道的开放^[5]。但电针治疗脑梗死的机制是否也是由于调控钠通道的开放,目前尚未见这方面的报道。本研究选择以 Nav1.6 为主要观察指标,旨在探讨电针治疗急性缺血性脑损伤的作用机制。

材料与方法

一、动物模型建立及分组

选取无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 级雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠若干,体重 200 ~ 250 g,符合国家卫生部颁发的实验动物清洁级标准[实验动物质量合格证许可证号 SCXK(粤)2004-0011,粤监证号 2008A010]。实验期间所用动物饲养于中山大学中山医学院动物实验室,5 只/笼,任意供水,颗粒鼠粮喂养,室温控制在 20 ℃ 左右,光暗周期 12 h。所有模型制备均在动物实验室完成(屏蔽动物实验室使用证明编号 0021275),手术场所及所用器具严格消毒,全部操作在无菌条件下进行。

脑缺血大鼠术前 12 h 禁食、6 h 禁水,采用线栓法^[6]制作大鼠脑缺血动物模型,大鼠清醒后回笼自由进饮食。脑缺血造模成功的标准^[7]:大鼠行走时出现手术对侧前肢伸展不全,前爪屈曲,向手术对侧转圈,提尾时手术对侧前肢屈曲,反抗力减弱。将脑缺血造模成功的 144 只大鼠按随机数字法分为脑缺血组(未行任何干预治疗)、电针治疗组(行电针治疗)和药物治疗组(给予尼莫地平治疗),每组 48 只;另选 24 只健康 SD 大鼠作为假手术组(手术时不插鱼线外,其余手术操作各组相同)。各组大鼠按术后时间分为脑缺血 6 h、1 d、2 d 和 3 d 四个观察时间点,每个时间点假手术组 6 只大鼠,余 3 组大鼠每个时间点各 12 只;每个时间点再针对每种检测方法分别进行取材检测,即假手术组各取 2 只,脑缺血组、药物治疗组和电针治疗组各取 4 只大鼠,分别用于实时定量荧光聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR)、钙离子浓度和梗死体积的检测。

二、治疗方法

脑缺血组和假手术组不采取任何治疗措施,在各观察时间点直接取材观察。电针治疗组给予电针治疗,药物治疗组给予腹腔注射钙离子拮抗剂(尼莫地平注射液)治疗,即缺血 6 h 时只干预了 1 次,缺血 1 d 时干预了 2 次,缺血 2 d 时干预了 3 次,缺血 3 d 时干预了 4 次,各组在相应时间点取材观察;这 2 组的具体治疗方法如下。

1. 电针治疗方法:选取内关、外关、足三里和三阴交四个穴位^[8]。电针参数:疏密波,刺激频率 20 ~ 30 Hz;刺激强度 2 mA,以大鼠肢体轻轻抖动并耐受为度。首次治疗于大鼠脑缺血半小时后开始,以后每日 1 次,每次留针时间 30 min。

2. 药物治疗方法:脑缺血后半小时首次给予尼莫地平注射液(德国拜耳公司生产)腹腔注射,每次 2 mg/kg 体重,以后每日 1 次。

三、神经功能缺损评分

根据 Joshua 评分标准^[9]对各组每一观察时间点的大鼠进行神经功能缺损评分。Joshua 评分标准为:0 分——提尾悬空时,两前肢均伸向地板方向且无其他行为缺陷;1 分——提尾悬空时,手术对侧前肢表现为弯肘屈曲、肩内旋、肘外展、紧贴胸壁;2 分——将大鼠置于光滑地面上,推手术侧肩向对侧移动时阻力降低;3 分——大鼠自由行走时,向手术对侧环转或转圈。分值越高,说明行为缺损越严重。

四、检测方法及观察指标

1. 实时定量荧光 PCR 检测 Nav1.6 mRNA 的表达:用 10% 水合氯醛(0.35 g/kg 体重)腹腔麻醉大鼠,迅速开颅取右侧梗死灶周大脑运动皮质区域脑组织 50 ~ 100 mg,放入无酶并高温处理过的冻存管内,置于液氮中迅速冷冻,然后存放于 -80 ℃ 低温冰箱备用。取标本所用器械均经过 0.1% 焦碳酸二乙酯(diethylpyrocarbonate, DEPC)水浸泡过夜,180 ℃ 烤箱烘烤 6 h,灭活 RNA 酶。

Primer express 2.0 设计引物,ABI3900 high-flux DNA synthesizer 合成标记探针。引物和探针序列(TaqMan 探针法)如下。①序列名称:R-scna Nav1.6 (91 bp);正向引物:5'-GAAGCTGTCGGACGTGATGA-3';反向引物:GTTTCGAAGGTTCCCATGA-3';探针:5'-FAM-CTGACTGTTTTCGCCCTGATTG-TAMRA-3';②序列名称:R-GAPDH (134 bp);正向引物:5'-TGGTCTACATGTTCCAGTATGACT-3';反向引物:5'-CCATTTGATGTTAGCGGGATCTC-3';探针:5'-FAM-CCACG-GCAAGTTCAACGGCACAGT-TAMRA-3'。

根据试剂盒说明书,用 Trizol 法提取脑组织总 RNA,进行逆转录反应。T-A 载体克隆法将 Nav1.6 和

GAPDH 扩增产物克隆之 pGEM-Teasy 载体,筛选含有插入片段的载体,用质粒 DNA 提取试剂盒(德国 QIAGEN 公司)提取质粒 DNA,稀释成不同浓度梯度制备标准曲线,然后进行实时定量 PCR 反应。每个样本均做 3 个平行管,PCR 反应结束后根据标准曲线,计算机自动进行分析,得出 Nav1.6 mRNA 的相对扩增倍数。

2. 钙离子浓度检测:将麻醉的大鼠断头置冰上,快速剥离大脑半球,立即置于冷的 D-Hanks 平衡盐溶液中,洗 2 次后剪碎;取脑组织约 300 g 置于 0.25% 胰酶液中(用前 37 °C 水浴箱中预热)消化及机械吹打后制备脑细胞悬液,台盼蓝排斥试验检查,细胞存活率在 90% 以上,将细胞数调整到 $2 \times 10^6/\text{ml}$;然后用达氏修正依氏培养基(Dulbecco's modified Eagle medium, DMEM)(含 10% 小牛血清)配制细胞悬液;分样品管和对照管,样品管用 0.5 mmol/L 的 Fura-2-AM(Fura-2 的一种乙酰甲酯衍生物)溶液负载,对照管加等量的二甲亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO),并分别在 37 °C 恒温摇床振荡孵育 40 min,用 D-Hanks 液洗涤 2 次,调整细胞浓度为 $2 \times 10^6/\text{ml}$,采用 970CRT 荧光分光光度计(上海产),测定神经细胞内游离 Ca^{2+} 的荧光强度。发射光波长为 510 nm,激发光波长为 340 nm,分别测定不同时间点各组大鼠神经细胞悬液的荧光强度,按公式(1)计算脑组织细胞内 Ca^{2+} 的浓度:

$$[\text{Ca}^{2+}]_i = K_d \times [(F - F_{\min}) / (F_{\max} - F)] \quad (1)$$

公式中 K_d 为 Fura-2-AM 的解离常数, $K_d = 224 \text{ nmol/L}$, F 为 340 nm 激发波长测得的荧光强度, $F_{\max}$ 是在 F 值测定后加入 0.1% 聚乙二醇辛基苯基醚(TritonX-100)测得的最大荧光强度, $F_{\min}$ 是在 $F_{\max}$ 基础加入 5 mmol/L 的乙二醇二乙醚二胺四乙酸(ethylene glycol tetraacetic acid, EGTA)后测得的最小光强度值。式中 F 、 $F_{\max}$ 、 $F_{\min}$ 均为样品管与对照管荧光值之差^[10]。

3. 梗死体积检测:采用 2,3,5-氯化三苯基四氮唑(2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride, TTC)染色检测梗死体积。将麻醉后的大鼠断头,迅速取出脑组织放入 -20 °C 冰箱,约 10 min 组织冻硬后,进行冠状面切片(片厚 2 mm)。放入 2% TTC(避光)染色 30 min(37 °C),然后在 4% 多聚甲醛(paraformaldehyde, PFA)固定 24 h 后拍照。用图像分析软件测定不同时间点各组大鼠每张脑片的面积和梗死面积,以梗死体积百分比表示脑损伤的严重程度,按公式(2)计算梗死体积百分比。

$$\text{梗死体积百分比} = \frac{\text{切片梗死面积} \times \text{切片厚度}}{\text{切片全部面积} \times \text{切片厚度}} \times 100\% \quad (2)$$

五、统计学方法

使用 SPSS 13.0 版统计软件对数据进行统计学分析处理,各组数据以($\bar{x} \pm s$)表示,全部数据均行单因

素方差分析,比较不同时间点各组间和组内的差异, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

结 果

一、脑缺血后大鼠神经功能缺损评分(Joshua 评分)

假手术组大鼠 Joshua 评分均为 0 分。余 3 组大鼠均出现不同程度的局灶性神经功能缺损表现;3 组缺血后 6 h、1 d 和 2 d 的 Joshua 评分均呈逐渐增高趋势,但在缺血 3 d 时的 Joshua 评分与组内缺血 2 d 时比较均有所降低,各组组内比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。缺血 1、2 和 3 d 时,药物治疗组大鼠的 Joshua 评分与脑缺血组同时时间点相比,组间差异有统计学意义($P < 0.05$);而电针治疗组的 Joshua 评分亦均低于同时时间点的药物治疗组和脑缺血组($P < 0.05$)。具体数据详见表 1。

表 1 各组大鼠脑缺血后不同时间点 Joshua 评分比较(分, $\bar{x} \pm s$)

分组	只数	脑缺血 6 h	脑缺血 1 d	脑缺血 2 d	脑缺血 3 d
假手术组	6	0	0	0	0
脑缺血组	12	2.35 ± 0.16	3.24 ± 0.16 ^a	3.56 ± 0.21 ^a	3.12 ± 0.31 ^a
药物治疗组	12	2.26 ± 0.22	2.52 ± 0.17 ^b	3.14 ± 0.15 ^b	2.93 ± 0.16 ^b
电针治疗组	12	2.17 ± 0.28 ^b	2.40 ± 0.14 ^{ab}	2.61 ± 0.17 ^{ab}	2.55 ± 0.42 ^{ab}

注:与药物治疗组同时时间点比较, ^a $P < 0.05$;与脑缺血组同时时间点比较, ^b $P < 0.05$

二、脑缺血后大鼠脑组织 Nav1.6 表达变化

各时间点假手术组大鼠缺血后脑组织 Nav1.6 mRNA(即 Scn8a)表达组内比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);脑缺血组和药物治疗组各时间点组内比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$),缺血 6 h 和 1 d 时表达逐渐上调,缺血 2 d 和 3 d 时脑组织 Nav1.6 mRNA 的表达逐渐回落;电针治疗组缺血 6 h 时脑组织 Nav1.6 mRNA 表达上调,以后逐渐回落。缺血 6 h 时,脑缺血组、药物治疗组和电针治疗组组间对比,差异均无统计学意义($P > 0.05$),而在缺血 1、2 和 3 d 时,电针治疗组分别与药物治疗组和脑缺血组同时时间点比较,组间差异均有统计学意义($P < 0.05$)。假手术组各时间点缺血后脑组织 Nav1.6 mRNA 表达与其他三组同时时间点比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。具体数据详见表 2。

三、大鼠缺血后脑组织钙离子浓度

脑缺血组脑组织 Ca^{2+} 浓度随缺血时间延长逐渐升高,组内比较,差异有统计学意义($P < 0.01$);药物治疗组、电针治疗组脑组织 Ca^{2+} 浓度在缺血 6 h 和 1 d 时均逐渐升高,但在缺血 2 d 和 3 d 时又降低,组内比

表 2 各组不同时间点缺血脑组织 Nav1.6 mRNA 表达的比较($\bar{x} \pm s$)

分组	只数	脑缺血 6 h	脑缺血 1 d	脑缺血 2 d	脑缺血 3 d
假手术组	2	0.183 ± 0.032 ^c	0.191 ± 0.028	0.179 ± 0.019	0.182 ± 0.026
脑缺血组	4	0.493 ± 0.054	0.523 ± 0.061 ^a	0.477 ± 0.032 ^a	0.454 ± 0.020 ^a
药物治疗组	4	0.487 ± 0.019	0.521 ± 0.029 ^a	0.479 ± 0.018 ^a	0.432 ± 0.041 ^a
电针治疗组	4	0.457 ± 0.019	0.431 ± 0.034 ^{abc}	0.409 ± 0.048 ^{abc}	0.387 ± 0.023 ^{abc}

注:与假手术组同时时间点比较,^a $P < 0.05$;与脑缺血组同时时间点比较,^b $P < 0.05$;与药物治疗组同时时间点比较,^c $P < 0.05$

较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);假手术组组内比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。假手术组同时时间点与其余三组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。除假手术组外,其余三组在缺血后 6 h 时的脑组织 Ca^{2+} 浓度组间比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),但在缺血 1、2 和 3 d 时,电针治疗组分别与药物治疗组和脑缺血组同时时间点比较,组间差异有统计学意义($P < 0.05$),并组间比较,以电针治疗组脑组织 Ca^{2+} 浓度最低,其次是药物治疗组。具体数据详见表 3。

表 3 各组不同观察时间点缺血脑组织 Ca^{2+} 浓度的比较(nmol/L, $\bar{x} \pm s$)

分组	只数	脑缺血 6 h	脑缺血 1 d	脑缺血 2 d	脑缺血 3 d
假手术组	2	297.4 ± 13.8	301.6 ± 10.7	299.5 ± 12.1	294.9 ± 13.4
脑缺血组	4	379.6 ± 12.9 ^a	516.2 ± 14.1 ^a	626.4 ± 13.7 ^{ab}	643.5 ± 14.1 ^{ab}
药物治疗组	4	352.8 ± 13.4 ^a	513.6 ± 13.7 ^a	489.6 ± 11.7 ^{ac}	452.9 ± 12.3 ^{ac}
电针治疗组	4	361.4 ± 10.6 ^a	498.4 ± 12.6 ^{ac}	387.1 ± 12.1 ^{abc}	448.4 ± 12.4 ^{ac}

注:与假手术组同时时间点比较,^a $P < 0.05$;与药物治疗组同时时间点比较,^b $P < 0.05$;与脑缺血组同时时间点比较,^c $P < 0.05$

四、大鼠缺血后脑梗死体积

假手术组无脑梗死灶出现。脑缺血组从缺血 6 h 至 3 d 时脑梗死体积百分比逐渐增大($P < 0.05$);药物治疗组在缺血 1、2 和 3 d 时组内比较,脑梗死体积百分比增大明显,差异有统计学意义($P < 0.05$);电针治疗组脑梗死百分比增大不明显,差异无统计学意义($P > 0.05$)。在缺血 1、2 和 3 d 时,药物治疗组和电针治疗组分别与脑缺血组相比,组间差异均有统计学意义($P < 0.05$),且电针治疗组在缺血 3 d 时的梗死体积百分比最小($P < 0.05$)。详见表 4。

讨 论

Nav1.6 在中枢和周围神经系统都有广泛分布,Nav1.6 在大脑皮质、脑干、尾状核等部位呈高表达。

表 4 各组大鼠不同观察时间点脑梗死体积百分比的比较(% , $\bar{x} \pm s$)

分组	只数	脑缺血 6 h	脑缺血 1 d	脑缺血 2 d	脑缺血 3 d
假手术组	2	0	0	0	0
脑缺血组	4	17.62 ± 1.69	22.24 ± 2.06	26.45 ± 1.18	27.13 ± 1.90
药物治疗组	4	16.85 ± 1.23	20.34 ± 1.47 ^a	23.61 ± 1.73 ^a	25.69 ± 2.32 ^a
电针治疗组	4	16.93 ± 1.42	19.13 ± 1.66 ^a	21.56 ± 2.04 ^a	22.27 ± 1.34 ^{ab}

注:与脑缺血组同时时间点比较,^a $P < 0.05$;与药物治疗组同时时间点比较,^b $P < 0.05$

大脑中动脉闭塞导致的梗死主要在纹状体和皮质。荧光指示剂 Fura-2/AM 测定细胞内 Ca^{2+} 浓度已经得到广泛的应用^[10-11]。Nav1.6 在海马有明显的免疫应答反应,电压依赖型钠通道压型 Nav1.6 参与介导钠电流的产生^[12]。研究发现,缺氧后海马 CA1 区神经元中持续钠电流增加^[7];颅脑损伤后 Nav1.6 表达上调^[13],外周神经损伤、脊髓损伤时 Nav1.6 表达均有变化^[14-15]。如果 Nav1.6 参与缺血性脑损伤,脑缺血后 Nav1.6 表达也发生改变。本研究主要观察纹状体和大脑皮质部位 Nav1.6 基因水平的表达变化。

本研究结果显示,假手术组大鼠未出现神经功能缺损的表现;脑缺血模型鼠出现中度至重度不同程度的局灶性神经功能缺损表现;在脑缺血 2~3 d 神经缺损症状最明显。相同时间点各组大鼠神经功能缺损严重程度比较,脑缺血组大鼠最为严重,其次为药物治疗组,电针治疗组相对较轻。

假手术组不同时间点 Nav1.6 的表达无变化。脑缺血后 Nav1.6 表达呈先上调再下调的趋势。Nav1.6 出现这种表达变化的可能机制是缺血后细胞代谢障碍,早期快钠通道关闭,但持续慢钠通道仍开放,Na⁺内流,使细胞内 Na⁺ 浓度持续增加,继发 Na⁺-Ca²⁺ 交换增加,导致细胞内钙超载,引起细胞损伤。由于细胞的自我调节保护机制,缺血后慢钠通道逐渐关闭,Na⁺内流减少,Nav1.6 出现低表达状态,缺血损伤逐渐减轻,细胞功能逐渐恢复。本研究发现,大鼠脑缺血后 Nav1.6 表达上调时,大鼠神经功能缺损的症状最严重、脑梗死体积比也最大;当表达下调时,缺血后神经功能缺损症状逐渐减轻、脑梗死体积比逐渐缩小。说明脑缺血后 Nav1.6 表达变化规律与缺血后神经损伤程度有关,因此推断 Nav1.6 参与缺血后脑损伤。

电针治疗使缺血后 Nav1.6 表达下调,促进持续慢钠通道关闭,持续钠电流内流减少,Na⁺-Ca²⁺ 交换减少,细胞内 Ca^{2+} 浓度降低,减轻继发性脑损伤,脑梗死体积缩小,从而神经功能缺损症状减轻。尼莫地平药物治疗组的 Nav1.6 表达在缺血后无明显变化,但 Ca^{2+} 浓度降低,脑梗死体积缩小,神经功能缺损症状减

轻,但其减低的程度都没有电针治疗组那么大。这进一步证实脑缺血后 Na^+ 内流发生在脑缺血的早期,电针治疗可以抑制 Na^+ 内流, Na^+ 内流减少降低 Ca^{2+} 内流,减轻缺血性脑损伤;尼莫地平可以抑制 Ca^{2+} 内流,减轻钙超载,但不能抑制 Na^+ 内流。

综上所述,脑缺血后 Nav1.6 的表达先上调,然后下调;Nav1.6 表达的改变,可能引起钠电流的变化;电针治疗可抑制 Nav1.6 的表达,从而减少细胞 Na^+ 内流, Na^+ - Ca^{2+} 交换减少,细胞内 Ca^{2+} 减少,减轻钙超载所引起的缺血脑损伤。因此,可以认为,Nav1.6 可能参与急性缺血性脑损伤,电针治疗急性缺血性脑损伤可能是通过抑制 Nav1.6 的表达来实现的。

参 考 文 献

- [1] Leão RN, Naves MM, Leão KE, et al. Altered sodium currents in auditory neurons of congenitally deaf mice[J]. Eur J Neurosci, 2006, 24(4):1137-1146.
- [2] Osorio N, Cathala L, Meisler MH, et al. Persistent Nav1.6 current at axon initial segments tunes spike timing of cerebellar granule cells[J]. J Physiol, 2010, 588(Pt 4):651-670.
- [3] Chatelier A, Zhao J, Bois P, et al. Biophysical characterisation of the persistent sodium current of the Nav1.6 neuronal sodium channel: a single-channel analysis[J]. Pflugers Arch, 2010, 460(1):77-86.
- [4] Zhao P, Waxman SG, Hains BC. Sodium channel expression in the ventral posterolateral nucleus of the thalamus after peripheral nerve injury[J]. Mol Pain, 2006, 2:27.
- [5] Kim SK, Moon HJ, Park JH, et al. The maintenance of individual differences in the sensitivity of acute and neuropathic pain behaviors to electroacupuncture in rats[J]. Brain Res Bull, 2007, 74(5):357-360.
- [6] 任丽, 方燕南, 李宪亮, 等. 电针治疗对大鼠缺血脑组织中 Na^+ 1.1 表达的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2010, 32(6):414-418.
- [7] Belayev L, Alonso OF, Busto R, et al. Middle cerebral artery occlusion in the rat by intraluminal suture. Neurological and pathological evaluation of an improved model[J]. Stroke, 1996, 27(9):1616-1622.
- [8] 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, 3(1):1-5.
- [9] Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination[J]. Stroke, 1986, 17(3):472-476.
- [10] 李媛媛, 张苏娟. KCL 对 Hepa1-6 细胞内钙离子浓度影响的研究[J]. 科技信息, 2010, 27(9):228-230.
- [11] Ozcan M, Ayar A, Alcin E, et al. Effects of levobupivacaine and bupivacaine on intracellular calcium signaling in cultured rat dorsal root ganglion neurons[J]. J Recept Signal Transduct Res, 2012, 30(2):115-120.
- [12] Van Wart A, Matthews G. Impaired firing and cell-specific compensation in neurons lacking Nav1.6 sodium channels[J]. J Neurosci, 2006, 26(27):7172-7180.
- [13] Mao Q, Jia F, Zhang XH, et al. The up-regulation of voltage-gated sodium channel Nav1.6 expression following fluid percussion traumatic brain injury in rats[J]. Neurosurgery, 2010, 66(6):1134-1139.
- [14] Hunanyan AS, Alessi V, Patel S, et al. Alterations of action potentials and the localization of Nav1.6 sodium channels in spared axons after hemisection injury of the spinal cord in adult rats[J]. J Neurophysiol, 2011, 105(3):1033-1044.
- [15] Tan J, Soderlund DM. Independent and joint modulation of rat Nav1.6 voltage-gated sodium channels by coexpression with the auxiliary $\beta 1$ and $\beta 2$ subunits[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2011, 407(4):788-792.

(修回日期:2015-03-17)

(本文编辑:汪 玲)

· 消息 ·

《中华物理医学与康复杂志》“海特金路捷康复医学科科研基金”科研项目评审结果

自 2014 年 3 月底发布“海特金路捷康复医学科科研基金”科研项目招标公告后,得到了全国康复医学科及相关学科专业人员的热烈响应,收到了来自全国各地的标书数十份。经过严格初筛和复审评议,最终确定了 2014 年“海特金路捷康复医学科科研基金”资助项目。现将结果公告如下:

1. 重点项目 1 项, 资助 3 万元

徐三清:鼠神经生长因子对 VPA 自闭症模型大鼠的治疗作用及其机制研究

2. 一般项目 2 项, 每项资助 2 万元

贾飞勇:神经生长因子对异常 GMs 婴儿运动和智能结构的影响;

张 磊:神经生长因子联合减重步行训练对脊髓损伤的干预机制研究

3. 启动项目 3 项, 每项资助 1 万元

张盘德:骶管注射鼠神经生长因子治疗神经源性膀胱的前瞻性研究

王朝亮:神经生长因子定时定点神经旁注射对运动功能恢复的研究

沈夏锋:神经生长因子对脑梗塞记忆障碍患者工作记忆的影响

特向以上各位获得资助的人员表示祝贺! 稍后在与各位获得资助者签订科研合同后, 会将款项汇入大家所在单位科研账户。

《中华物理医学与康复杂志》编辑部 武汉海特生物制药股份有限公司