

· 基础研究 ·

缺血性脑损伤后食欲素原系统的表达变化
及电刺激小脑顶核对其调节作用

徐玉生 苗金红 贾延劫 董为伟 谢鹏

【摘要】目的 研究缺血性脑损伤及预先电刺激小脑顶核(FNS)对前增食欲素原(prepro-orexin)及OX₁受体(OX₁R)的影响。**方法** 建立持续性大脑中动脉闭塞(MCAO)大鼠模型,分为假手术组(PO组)、FNS假手术组(FNS-PO组)、缺血组(PI组)、缺血后FNS治疗组(PI-FNS组)、预先行小脑顶核毁损,再缺血行FNS治疗组(FNL-PI-FNS组)。各组均分1,3,6,12,24 h 5个亚组。采用免疫组织化学法检测Prepro-Orexin和OX₁R的表达变化,逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)法检测OX₁R mRNA的表达变化,酶联免疫法检测(RT-PCR)下丘脑及血浆中orexin-A水平的变化。**结果** 随着缺血时间延长,PI组Prepro-Orexin免疫反应性的平均OD值不断降低,至缺血第12小时,降至最低。与PO组、FNS-PO组相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。同时,OX₁R免疫反应性的平均OD值不断增高,缺血第12小时,达到高峰,与PO组、FNS-PO组相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。PI-FNS组缺血第6小时、第12小时组与其相应PI组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。FNL-PI-FNS组结果与PI组差异无统计学意义($P > 0.05$)。PO组、FNS-PO组OX₁R mRNA表达相似($P > 0.05$)。PI组随着缺血时间延长,OX₁R mRNA表达增高,缺血第24小时,达到高峰。PI-FNS组在缺血第12小时、第24小时与其相应PI组相比,差异有统计学意义(各组 $P < 0.05$)。FNL-PI-FNS组结果与PI组差异无统计学意义($P > 0.05$)。此外,各组血浆orexin-A水平差异无统计学意义($P > 0.05$);PI和FNL-PI-FNS组下丘脑orexin-A水平随着缺血时间延长,呈不断降低趋势。缺血第12小时,与PO组、FNS-PO组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。PI-FNS组与PO、FNS-PO组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 脑缺血后可以影响食欲素原系统的表达,FNS能够调节这种变化。

【关键词】 食欲素原; 食欲素受体1; 缺血; 小脑顶核; 电刺激

Expression of the orexinergic system in ischemic cerebral injury and the modulation of the cerebellar fastigial nucleus through electrical stimulation XU Yu-sheng*, MIAO Jin-hong, JIA Yan-jie, DONG Wei-wei, XIE Peng.

* The First Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

Corresponding author: MIAO Jin-hong, Email: ysxu@zzu.edu.cn

【Abstract】 Objective To investigate changes in the expression of prepro-orexin and orexin receptor-1 (OX₁R) following permanent middle cerebral artery occlusion (MCAO) with or without preconditioning through electrical stimulation of the cerebellar fastigial nucleus (FNS). **Methods** Wistar rats were subjected to permanent MCAO and randomly divided into 5 groups: a sham-operated control group (PO), an FNS preconditioning + sham-operated control group (FNS-PO), an ischemia group, an FNS preconditioning + ischemia group (FNS-PI) and a cerebellar fastigial nucleus injury + FNS preconditioning + ischemia group (FNL-FNS-PI). Each group was divided into 5 subgroups according to the time at which the animals were sacrificed after the MCAO (1, 3, 6, 12 and 24 h). RT-PCR was used to detect expression of OX₁R mRNA, and ELISA to measure the levels of orexin-A in the hypothalamus and plasma. **Results** The immunoreactivity of prepro-orexin decreased significantly in the PI groups, with further decreases over time. At the 12th h after MCAO, the immunoreactivity of prepro-orexin reached a minimum. There were significant differences between the rats in the PO and FNS-PO groups. On the contrary, the immunoreactivity of OX₁R increased significantly in the PI groups, with further increases continuing over time, peaking at 12 h after the MCAO. There were significant differences between the PO and FNS-PO groups. In the rats with FNS preconditioning (PI-FNS), the decrease in prepro-orexin and the increase in OX₁R were significantly inhibited compared to the PI subgroups at the 6th and 12th hour. There was no significant difference between the FNL-PI-FNS group and the PI group. The expression of OX₁R mRNA increased significantly in the PI group, with further

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2011.02.007

作者单位:450052 郑州,郑州大学第一附属医院、河南省高等学校临床医学重点学科开放实验室(徐玉生、苗金红、贾延劫);重庆医科大学神经病学研究所(董为伟、谢鹏)

通信作者:苗金红,Email: ysxu@zzu.edu.cn

increases continuing over time, peaking at 24 hours. The plasma levels of orexin-A were not significantly different among the groups, but the levels of orexin-A in the hypothalamus decreased significantly in the PI and FNL-PI-FNS groups, with further decreases continuing over time. At the 12th h after the MCAO the levels were significantly different compared with the PO and PO-FNS groups. While in the rats with FNS preconditioning (PI-FNS), the decrease in orexin-A level was reversed and there was no significant difference compared with PO and PO-FNS groups. **Conclusions** The orexinergic system is altered following cerebral ischaemia. FNS preconditioning may be able to regulate these changes.

【Key words】 Orexin; Orexin receptor-1; Ischemia; Cerebellum; Fastigial nucleus; Electrical stimulation

食欲素原是一种下丘脑神经肽,参与肥胖、摄食、睡眠觉醒周期、激素分泌等多种生理活动^[1]。研究发现,缺血性脑损伤可以导致皮质 OX_1 受体 (orexin-1 receptor, OX_1R) 分布的改变^[2]。预先行小脑顶核电刺激 (fastigial nucleus stimulation, FNS) 对脑缺血具有明显的神经保护作用,其机制可能涉及多个环节^[3]。但是 FNS 对于下丘脑神经肽系统的作用报道不多。在此基础上,本研究通过研究 FNS 对缺血性脑损伤 Orexin 系统的影响,初步探讨 FNS 对下丘脑神经肽系统的作用及其机制。

材料与方法

一、主要试剂

山羊抗多克隆前增食欲素原抗体和 OX_1R 抗体均购自 Santa Cruz 公司;大鼠 Orexin-A EIA 试剂盒购自 Peninsula Laboratories 公司;逆转录-聚合酶链反应 (reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR) 试剂盒购自 Promega 公司;链霉亲和素-生物素-酶复合物 (streptavidin-biotin complex, SABC) 免疫组织化学试剂盒 (山羊) 购自武汉博士德公司;鹅膏氨酸购自 Sigma 公司;引物合成由上海生物工程公司合成, 5'-GCCAGCCTGTTAGTG GACAT-3', 5'-GCTGAGCTTCCAGTTGC TC T-3', 产物 502 bp;其余生化试剂均为进口分装或国产分析纯。

二、实验动物

健康雄性清洁级 Wistar 大鼠 150 只,体重 200 ~ 250 g,由本校动物实验部授权使用。实验过程中对动物的饲养及取材均遵守实验动物管理条例的规定。

三、动物分组

将 150 只大鼠分为假手术组 (PO 组)、FNS 假手术组 (FNS-PO 组)、缺血组 (PI 组)、缺血后 FNS 治疗组 (PI-FNS 组)、预先行小脑顶核毁损,再缺血行 FNS 治疗组 (FNL-PI-FNS 组),每组 30 只。PO 组进行 FNS 模型和大脑中动脉闭塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 手术操作,但不进行电刺激和插入丝线;缺血组及其相应 FNS 组均各分为 1, 3, 6, 12, 24 h 5 个亚组,每个亚组 6 只。

四、小脑顶核电刺激模型

参照 Reis 等^[4]的方法,大鼠麻醉后俯卧位,固定于大鼠脑立体定向仪上,颅顶正中切口,暴露颅骨,根据 Paxinos 和 Watson 的大鼠脑立体定位图谱定小脑顶核 (cerebellar fastigial nucleus, FN) 座标 (以前囟为零点,正中向后 11.6 mm,旁开 1.0 mm,深 5.7 mm)。在左侧颅骨上钻孔,插入直径 100 μ m 同心圆针电极,刺激病灶对侧 FN (左侧)。用低频电刺激仪进行刺激,刺激电流为频率 70 Hz、时程 0.5 ms 的直角方波脉冲,电流强度 50 μ A,调节 FN 刺激部位,以刺激时出现血压增高作为成功标记,持续 1 h。刺激后拔除针电极,缝合头皮。排除标准:大鼠接受 FNS 干预后,虽有一过性呼吸、血压等生命体征的变化,但其小脑连续切片 HE 染色发现刺激部位不在 FN 者排除出本研究。

五、毁损小脑顶核

毁损小脑顶核 (lesioning cerebellar fastigial nucleus, FNL) 参照 Glickstein 等^[5]的方法,将大鼠麻醉后固定于脑立体定位仪上,根据 Wistar 大鼠脑立体定位图谱并结合鼠的大小确定 FN 的定位坐标 (同四),于双侧所定 FN 位置的颅骨上各开一 2 mm $\times$ 2 mm 的骨窗,用 1 μ l 微量进样器分别将 23 nmol/L 鹅膏氨酸缓慢注入两侧 FN,注射时间超过 5 min,保留针头 5 min,逐步拔出,历时 5 min。然后缝合皮肤,5 d 后造模。排除及纳入标准:FNL 的大鼠,不同时相点断头取脑后,作小脑连续切片,尼氏染色发现 FN 内神经细胞数量减少、尼氏体大量消失,表明 FNL 成功者纳入本研究,其大脑可用于检测,否则排除本研究。

六、局灶性脑缺血模型

采用持续性 MCAO 模型^[2]。大鼠麻醉后仰卧位,固定于手术台上,行颈前正中切口分离并暴露右侧颈总动脉,再向头端分离出颈外动脉及颈内动脉,结扎颈外动脉,并分离出颈内动脉颅外段分支翼腭动脉,夹闭其近端。在颈外动脉根部剪口,将肝素抗凝的、长 22 mm、直径 0.22 mm、表面涂布聚氨脂清漆的丝线,经颈外动脉逆向插入颈内动脉,到达大脑前动脉近端,作为栓塞成功标记,丝线进入血管长度约为 18 ~

20 mm。凡因上述排除因素导致各实验组动物数不足预定数额者通过随机抽样原则补齐动物并重新造模。

七、免疫组织化学染色

各组动物达到规定时间点时,采用 10% 水合氯醛麻醉(0.3~0.5 ml/100 g 体重),用 20 ml 注射器接穿刺针小心插入左心室,同时剪开右心耳,注入灭菌温生理盐水,直至流出的液体变清后,再灌注 4% 多聚甲醛 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)(pH7.2)约 60 ml,再断头取脑后置 4% 多聚甲醛 0.1 mol/L PBS 固定 8 h,再转入 30% 蔗糖 0.1 mol/L PBS(pH7.2)中 4℃ 平衡。组织块下沉后,连续冠状冰冻切片,片厚 20 μm。连续取 3 张切片(分别用于 Prepro-orexin、OX₁R 免疫组化染色、HE 染色)后,间隔 100 μm,重复同样切片取片。应用 SABC 染色试剂盒进行免疫组化染色,操作步骤参照试剂盒说明书进行。一抗浓度为 1:100-200,4℃ 过夜;滴加生物素化二抗,37℃ 孵育 20 min;滴加试剂 SABC,37℃ 孵育 20 min,二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)显色,镜下控制时间,光镜观察,图像分析计算平均 OD 值。

八、RT-PCR

Trizol 试剂提取细胞总 RNA,紫外可见分光光度计对 RNA 样品定量。RT-PCR 扩增反应条件参照试剂盒操作手册,反应体系为 50 μl,RT 与 PCR 一步完成,扩增产物 10 μl 加样于 10% 的琼脂糖凝胶,常规电泳,紫外透射仪观察照相,β-actin 作为内对照。

九、Orexin-A 测定

下丘脑及血标本处理参考李峻岭等的方法^[6],在上午 8:00-9:00 时处死动物。大鼠断头后快速在冰盒上分离出下丘脑及留取血标本,下丘脑测重后沸水浴 10 min;经冰盒冷却后,放入匀浆液(1 M 醋酸、20 mM 盐酸)中制备匀浆,4℃,20 000 g 离心 30 s;其上清液再加入 2 ml 匀浆液,4℃,10 000 g 离心 20 min;留取上清液,冷冻成干粉。血标本 2 ml 放入塑料管(含 EDTA 1 mg/ml 全血、抑肽酶 500 KIU/ml 全血)中,0℃,1600 g 离心 15 min,血浆经过 C18 Sep 柱层析,收集洗脱液,冷冻成干粉。干粉经试剂盒的稀释缓冲液溶解后,采用酶联免疫法测定,吸收波长 450 nm,标准曲线 0~25 ng/ml,样品批内及批间变异系数均小于 7%。

十、统计学分析

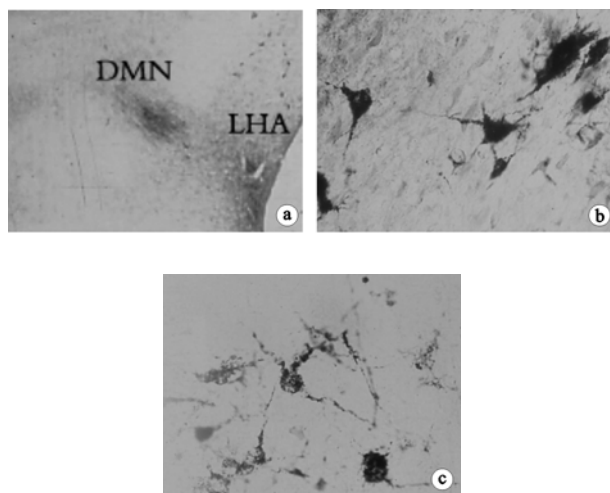
数据采用($\bar{x} \pm s$)表示,应用 ANOVAS 分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、前增食欲素原和 OX₁R 的免疫组织化学变化

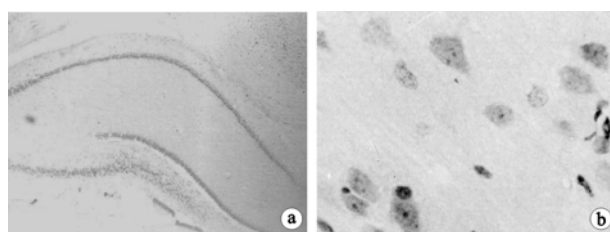
PO 组前增食欲素原神经元胞体主要位于下丘脑

外侧区(lateral hypothalamus area, LHA)和下丘脑背内侧区(dorsomedial hypothalamic nucleus, DMN)核团,其他区域有投射纤维通过,大脑皮质和海马中只有单个投射纤维穿过。OX₁R 在许多脑区包括前额叶和大脑皮质、海马、室旁丘脑核、下丘脑腹内侧核、背缝核、蓝斑等广泛表达(图 1~2),所以本研究选取缺血侧(右侧)LHA 区观察 Prepro-orexin 表达,大脑皮质区观察 OX₁R 表达。FNS-PO 组的免疫反应性(平均 OD 值)相似($P > 0.05$)。



注:a. Prepro-orexin 神经细胞分布在 LHA 和 DMN 核团($\times 40$);b. LHA 区 Prepro-orexin 阳性细胞(SABC 染色, $\times 400$);c. DMN 区 Prepro-orexin 阳性细胞(SABC 染色, $\times 400$)

图 1 Prepro-orexin 阳性细胞



注:a. 在海马表达的 OX₁R 阳性细胞(SABC 染色, $\times 40$);b. 在皮质表达的 OX₁R 阳性细胞(SABC 染色, $\times 400$)

图 2 在海马和皮质表达的 OX₁R 阳性细胞

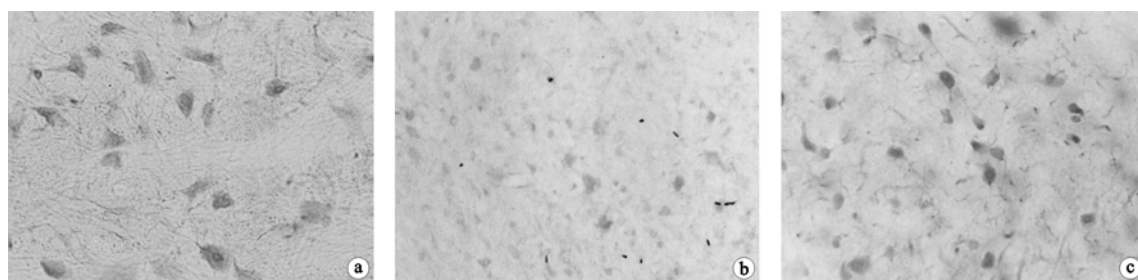
PI 组 LHA 区前增食欲素原免疫反应性的平均 OD 值从缺血第 3 小时开始显著降低,与 PO 组、PO-FNS 组相比差异有统计学意义($P < 0.05$),以后随着缺血时间延长,其平均 OD 值不断降低。缺血第 12 小时,降至最低;缺血第 24 小时,Prepro-orexin 平均 OD 值显著回升,与缺血第 120 小时相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。PI-FNS 组基本变化趋势类似于 PI 组,但与其相应 PI 组相比,其变化程度明显减低,差异有统计学意义(缺血 6 h、12 h 组, $P < 0.05$),见图 3。FNL-PI-FNS 组结果与 PI 组类似,见图 5。

大脑皮质 OX₁R 从第 6 小时也开始显著增高,与

PO 组、FNS-PO 组相比差异有统计学意义($P < 0.05$),以后随着缺血时间延长,平均 OD 值不断增高,缺血第 12 小时达到高峰;缺血第 24 小时,虽然显微镜视野内细胞基本崩溃,无法测定平均 OD 值,但间质内密布免疫反应阳性颗粒。PI-FNS 组基本变化趋势类似于 PI 组,但与其相应 PI 组相比,其变化程度明显减低,差异有统计学意义(缺血 6 h、12 h 组, $P < 0.05$),见图 4。缺血第 24 小时,虽然显微镜视野内细胞基本崩溃,但与其相应 PI 组相比,其完整细胞数量较多。FNL-PI-FNS 组结果与 PI 组差异无统计学意义($P > 0.05$),但是与相应 PI-FNS 组差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 6。

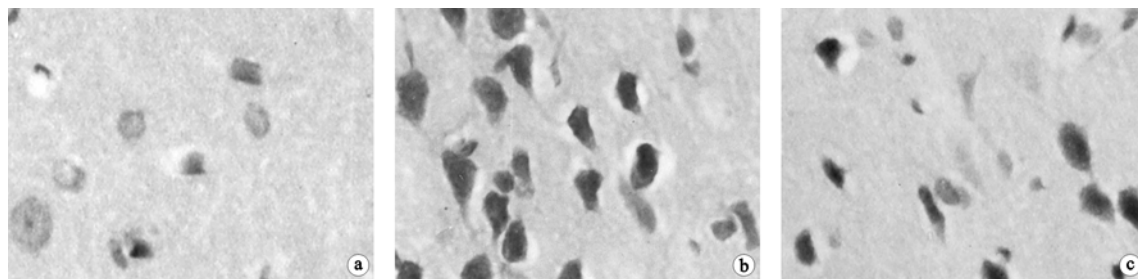
二、RT-PCR

PO 组、FNS-PO 组 OX_1R mRNA 表达相似($P > 0.05$)。PI 组缺血侧大脑皮质 OX_1R mRNA 缺血第 3 小时开始显著增高,与 PO 组、FNS-PO 组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$);随着缺血时间延长, OX_1R mRNA 表达增高,缺血第 24 小时,达到高峰,与 PI 组各亚组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。PI-FNS 组 OX_1R mRNA 表达也类似于 PI 组,从缺血第 3 小时开始出现显著增高,与 PO 组、FNS-PO 组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。但是变化程度明显减低,缺血第 12、24 小时与其相应 PI 组相比,差异有统计学意义(各组 $P < 0.05$)。FNL-PI-FNS 组结果与 PI 组差异无统计学意义($P > 0.05$),见图 7。



注:a. PO 组和 FNS-PO 组变化不显著;b. PI 组 Prepro-orexin 表达显著降低;c. PI-FNS 组基本变化趋势类似于 PI 组,但与其相应 PI 组相比,其变化程度明显减低

图 3 缺血第 12 小时,各组 Prepro-orexin 表达变化(SABC 染色, $\times 200$)



注:a. PO 组和 FNS-PO 组变化不显著;b. PI 组 OX_1R 表达变化显著增加;c. PI-FNS 组基本变化趋势类似于 PI 组,但与其相应 PI 组相比,其变化程度明显减低

图 4 缺血第 12 小时,各组皮质 OX_1R 表达变化(SABC 染色, $\times 400$)

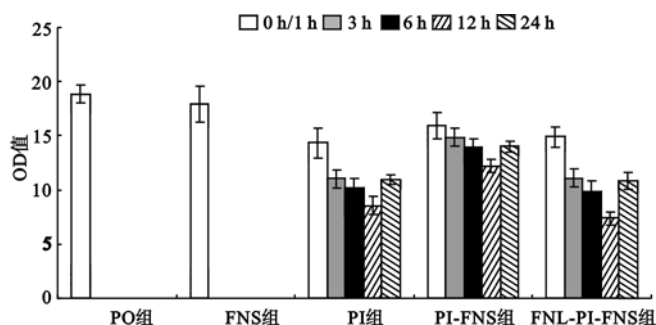


图 5 局灶性脑缺血后 Prepro-orexin 的免疫组织化学 OD 值的变化

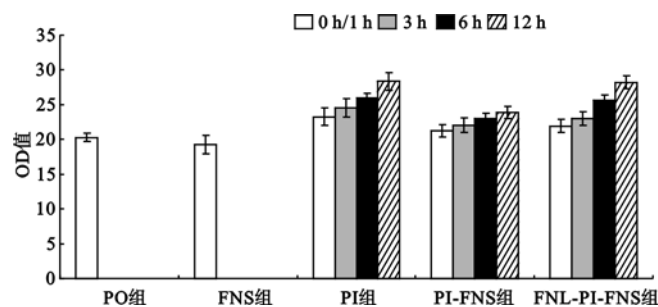
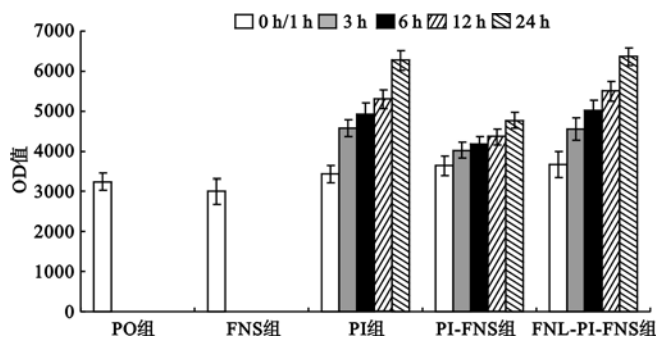


图 6 局灶性脑缺血后 OX_1R 的免疫组织化学 OD 值的变化

图7 局灶性脑缺血后 OX₁R mRNA 的变化

三、Orexin-A 测定

虽然各组血浆 Orexin-A 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$),但是下丘脑组织却有差异。PI 组 Orexin-A 水平随着缺血时间延长,呈不断降低趋势。缺血第 12 小时,与 PO 组、FNS-PO 组相比,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),缺血第 24 小时,虽较缺血第 12 小时有所升高,但是两者之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。PI-FNS 组在缺血第 12、24 小时,与 PO 组、FNS-PO 组相比,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。FNL-PI-FNS 组结果与 PI 组差异无统计学意义 ($P > 0.05$),缺血第 12、24 小时,与 PO 组、FNS-PO 组、PI-FNS 组相比,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 8。

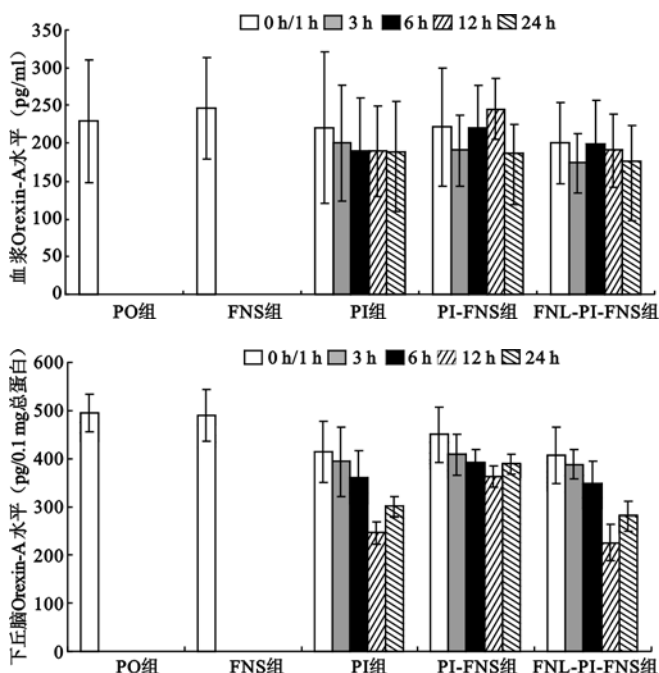


图8 局灶性脑缺血后血浆 Orexin-A 水平和下丘脑 Orexin-A 含量的变化

讨 论

Orexin 是下丘脑中的神经肽,最早在大鼠 LHA 发现,现在已知 Orexin 存在 A、B 两个不同 C-末端乙酰化

的单体^[1]。Orexin 系统有两个 G 蛋白偶联受体:OX₁R 和 OX₂R。OX₁R 与神经肽 Y2r 结构相似,对 Orexin-A 比 Orexin-B 有更高的亲和力。OX₂R 则可与 Orexin-A 及 Orexin-B 结合。因此一般认为 OX₁R 是 Orexin-A 的选择性受体^[1]。本研究发现,持续性 MCAO 模型大鼠在缺血早期 (< 3 h),Orexin 系统改变不明显;随着缺血时间的延长,在缺血中期 (3 ~ 12 h),下丘脑 Prepro-orexin 蛋白表达下调,组织 Orexin-A 含量减少,与此同时,皮质的 OX₁R 蛋白和 mRNA 表达增高;缺血后期 (> 12 h),下丘脑表达 Prepro-orexin 逐步增多,部分代偿了 Orexin-A 水平的下降。这一结果与 Irving 等^[2]报道类似。其机制尚不清楚,可能与 Orexin 系统在应激反应中的作用有关。众所周知,脑缺血后的免疫和应激反应可以刺激下丘脑-垂体-靶腺轴,引起交感-肾上腺系统功能亢进,儿茶酚胺、肾上腺皮质激素等物质剧增,血糖水平也发生改变,机体通过神经系统、内分泌系统调节和加强各脏器的功能和代谢,稳定内环境。已有报道,Orexin 参与调节儿茶酚胺、糖皮质激素、血糖水平等与缺血应激相关事件及交感神经系统兴奋性^[7-8]。缺血早期,Orexin-A 尚未对应激条件产生效应;缺血中期,由于免疫和应激反应刺激 Orexin-A 释放,Orexin-A 可以促进神经肽 Y、皮质激素释放因子 (corticotropin releasing factor, CRF)、ACTH 升高,进而导致糖皮质激素、肾上腺素的增加。但是,体内交感、副交感神经系统过度活化,大量的促肾上腺皮质激素释放激素 (corticotropin releasing hormone, CRH)、糖皮质激素和神经肽 Y 对 Orexin-A 产生更强烈的反馈抑制作用,加上自由基对 Orexin-A 的破坏作用,最终使 Orexin-A 表达下调,皮质的 OX₁R 反应性增高;缺血后期,免疫和应激反应逐渐减弱,CRF、糖皮质激素自由基和神经肽 Y 水平下降,Orexin-A 表达开始上调,恢复新的平衡^[9-10]。对于慢性脑缺血,我们也有类似的报道^[11]。

预先行小脑顶核刺激对脑缺血具有明显的神经保护作用,其机制可能涉及抑制病灶周围电活动、减少缺血区脑组织白细胞浸润及血管炎症反应、降低神经细胞兴奋性损害、下调 nNOS 表达,抑制钙蛋白酶的活性及阻断细胞凋亡事件等多个环节^[2]。本研究表明,预先行 FNS 可以显著减轻缺血对 Orexin-A 系统的影响,一方面,FNS 可以使免疫、应激反应对 LHA 区 Prepro-orexin 神经元抑制作用减轻,另一方面,抑制皮质 OX₁R 反应性增高。而且,FNL 后,这种调节作用消失。由于 Orexin 参与摄食、能量代谢、觉醒等许多最基本的活动,Orexin 水平的降低,将直接影响机体基本生理活动的进行。例如,Orexin-A 水平的降低后,导致胆碱能、单胺能、5-羟色胺能神经元兴奋性下降,胆碱能神经元

活动相对增加,抑制了皮质活动,觉醒程度下降,造成睡眠-觉醒周期的紊乱,可能导致卒中后睡眠障碍的发生^[12]。因此,预先行 FNS 通过调节缺血性脑损伤后 Prepro-orexin 及其 OX₁R 表达的变化,维持神经内分泌系统的稳定,对于缺血性脑损伤的治疗和康复将具有深远的意义。

参 考 文 献

- [1] Tsujino N, Sakurai T. Orexin/hypocretin; a neuropeptide at the interface of sleep, energy homeostasis, and reward system. *Pharmacol Rev*, 2009, 61:162-176.
- [2] Irving EA, Harrison DC, Babbs AJ, et al. Increased cortical expression of the orexin-1 receptor following permanent middle cerebral artery occlusion in the rat. *Neurosci Lett*, 2002, 324: 53-56.
- [3] 董为伟. 电刺激小脑顶核与中枢神经源性神经保护. *中国工程科学*, 2001, 3:32-38.
- [4] Reis DJ, Kobylarz K, Yamamoto S, et al. Brief electrical stimulation of cerebellar fastigial nucleus conditions long-lasting salvage from focal cerebral ischemia; conditioned central neurogenic neuroprotection. *Brain Res*, 1998, 780:161-165.
- [5] Glickstein SB, Ilch CP, Reis DJ, et al. Stimulation of the subthalamic

vasodilator area and fastigial nucleus independently protects the brain against focal ischemia. *Brain Res*, 2001, 912:47-59.

- [6] 李峻岭,郑法雷,谭会兵,等. 慢性肾功能衰竭大鼠下丘脑组织和血浆食欲素 A 及神经肽 Y 水平的变化及其意义. *中华医学杂志*, 2003, 83: 992-995.
- [7] Dohi K, Nishino S, Nakamachi T, et al. CSF orexin A concentrations and expressions of the orexin-1 receptor in rat hippocampus after cardiac arrest. *Neuropeptides*, 2006, 40:245-250.
- [8] Baranowska B, Baranowska-Bik A, Bik W, et al. The role of leptin and orexins in the dysfunction of hypothalamo-pituitary-gonadal regulation and in the mechanism of hyperactivity in patients with anorexia nervosa. *Neuro Endocrinol Lett*, 2008, 29:37-40.
- [9] Mieda M, Sakurai T. Integrative physiology of orexins and orexin receptors. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2009, 8:281-295.
- [10] Nakamachi T, Endo S, Ohtaki H, et al. Orexin-1 receptor expression after global ischemia in mice. *Regul Pept*, 2005, 126:49-54.
- [11] 吕瑞娟,张博爱,贾延劼. 慢性脑缺血大鼠脑 OX-1R 表达的变化. *中国病理生理杂志*, 2008, 24: 519-522.
- [12] Hermann DM, Bassetti CL. Sleep-related breathing and sleep-wake disturbances in ischemic stroke. *Neurology*, 2009, 73:1313-1322.

(修回日期:2010-06-11)

(本文编辑:松 明)

· 短篇论著 ·

本体感觉神经肌肉促进技术结合针刺治疗周围性面瘫的疗效观察

陈莉秋 张娜 马庭秀

面瘫,即面神经麻痹,是以面部表情肌群运动功能障碍为主要特征的一种常见病,它是由病毒感染所致的周围性面神经麻痹^[1]。此病可见于任何年龄,起病急骤,多于晨起洗漱或进食中突然发现或被人发现一侧额纹消失,闭眼、皱眉不能,鼻唇沟变浅,口角下垂,嘴歪向健侧,鼓气时患侧嘴角漏气,食物常易滞留于患侧颊龈沟内^[2]。我科采取本体感觉神经肌肉促进疗法(proprioceptive neuromuscular facilitation, PNF)结合针刺治疗周围性面瘫患者 30 例,取得了较好效果,现报道如下。

一、资料与方法

(一)一般资料

60 例周围性面瘫患者均为我科门诊及住院患者,均符合以下条件:①常有受凉、受潮、吹风或咽炎史,少数患者有耳后(耳内)疼痛或面部不适等前驱症状;②急性或亚急性发病,出现一侧(偶为双侧)周围性面神经麻痹,伴有舌前 2/3 味觉障碍,少数有耳鸣或耳部疱疹等;③排除其他原因所致周围性面神经麻痹^[3]。④排除病程超过 12 周、继发于其他疾病的面瘫、合并严重的心脑血管疾病、针刺可能造成意外情况者及未能按治疗计

划坚持治疗者。根据随机原则将 60 例患者分为治疗组 30 例和对照组 30 例。治疗组中,男 18 例,女 12 例;年龄为(51.73 ± 13.67)岁;左侧 16 例,右侧 14 例。对照组中,男 17 例,女 13 例;年龄为(46.50 ± 46.5)岁;左侧 15 例,右侧 15 例。2 组在性别、年龄、病情等方面经统计学处理,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

(二)治疗方法

1. 治疗组:①针刺疗法,主穴为风池、翳风、牵正、颊车、地仓、四白、阳白、攒竹、下关、人中、承浆,配穴取颧髎、合谷、迎香、太冲等。采用苏州产华佗牌 0.35 × 30 mm 一次性无菌针灸针进行针刺,初起浅刺,1 周后平刺透穴或斜刺,如颊车透地仓。针刺得气后,针感不能太强,以患者能耐受为度,其他穴位采用平补平泻手法。每次选 5 ~ 7 穴,轮换交替使用。得气为度^[4]。得气后留针 30 min,每 10 min 捻转泻法 1 次。以上治疗每日 1 次,10 d 为 1 个疗程,休息 3 ~ 4 d,再进行第 2 个疗程。治疗 2 个疗程后行疗效评定;②PNF,以额肌、皱眉肌、眼轮匝肌、提上睑肌、眉间降肌、颧大肌、口轮匝肌、上唇提肌、下唇降肌、颊肌、口角提肌、口角降肌、口三角肌、颊肌、颞肌和咬肌的对角线模式训练为主^[5]。具体治疗方法有徒手接触法、最大阻力法,治疗师在治疗同时发出口令,令患者根据口令做出不同的面肌运