·针灸经络·

基于SIRT1/PGC-1α通路探讨电针联合丰富康复训练对脑缺血大鼠氧化应激的影响

姚晓雯，唐 巍，李梦醒，兰 崴，王 玉，高云云，金子开

（安徽中医药大学针灸推拿学院，安徽 合肥 230012）

[摘要]**目的** 探讨电针联合丰富康复训练对脑缺血大鼠急性期神经损伤的保护机制。**方法** 随机选取15只SD大鼠为假手术组，另将模型复制成功的大脑中动脉闭塞（middle cerebral artery occlusion，MCAO）模型大鼠60只随机分为模型组、电针组、丰富康复训练组（康复组）和电针联合丰富康复训练组（联合组），每组15只。假手术组和模型组不进行干预，电针组和联合组于“百会”“大椎”进行电针治疗；康复组和联合组予以丰富环境与康复训练，每次30 min，每日1次，连续治疗3 d。观察大鼠缺血侧皮质区脑血流量、组织形态学、阳性细胞率的动态变化，检测缺血侧皮质中丙二醛（malonic dialdehyde，MDA）、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）含量；RT-PCR检测沉默信息调节因子1（silent information regulator 1，SIRT1）、过氧化物酶体增殖物激活受体γ共激活因子1α（peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1α，PGC-1α）、B淋巴细胞瘤-2（B-cell lymphoma-2，Bcl-2）、半胱氨酸蛋白酶-3（cysteinyl aspartate specific proteinase-3，Caspase-3）及半胱氨酸蛋白酶-9（cysteinyl aspartate specific proteinase-9，Caspase-9）mRNA的表达水平。**结果** 分组因素对缺血侧皮质中MDA、SOD水平和SIRT1、PGC-1α、Caspase-3、Caspase-9、Bcl-2 mRNA表达水平的主效应均有统计学意义（$P<0.05$）。与假手术组比较，模型组大鼠脑血流量，SOD水平，SIRT1、PGC-1α、Bcl-2 mRNA表达水平均显著降低（$P<0.05$），阳性细胞率，MDA水平，Caspase-3、Caspase-9 mRNA表达水平均显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，各治疗组SOD水平，SIRT1、PGC-1α、Bcl-2 mRNA表达水平显著上升（$P<0.05$），MDA水平和Caspase-3、Caspase-9 mRNA表达水平显著降低（$P<0.05$）；联合组与电针组、康复组比较，上述各指标表达水平均有统计学意义（$P<0.05$）；电针联合丰富康复训练对缺血侧皮质MDA、SOD水平和SIRT1、PGC-1α mRNA表达水平的影响具有交互作用（$P<0.05$），对Caspase-3、Caspase-9、Bcl-2 mRNA表达水平的影响无交互作用（$P>0.05$）。**结论** 电针联合丰富康复训练可通过调控SIRT1/PGC-1α通路，提高抗氧化能力，改善神经细胞损伤，发挥神经保护作用。

[关键词]电针；脑缺血；氧化应激；康复训练；SIRT1；PGC-1α

[中图分类号]R255.2 [DOI]10.3969/j.issn.2095-7246.2021.02.013

缺血性脑卒中（cerebral ischemic stroke，CIS）的生理病理过程属于多因素参与、多环节循环、多途径损伤的酶促级联反应[1]。因其高发病率、高死亡率、高致残率，CIS严重威胁人类健康[2]。既往研究[3-4]显示，电针与现代康复医学联合的治疗模式通过抗炎、增强神经可塑性、促血管新生、抑制细胞凋亡等多种途径改善脑部供血，促进神经损伤修复。沉默信息调节因子1（silent information regulator 1，SIRT1）/过氧化物酶体增殖物激活受体γ共激活因子1α（peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1α，PGC-1α）是一条内源性的抗氧化损伤通路，SIRT1通过烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（nicotinamide adenine dinucleotide，NAD^+）依赖的去乙酰化调控PGC-1α活性，参与氧化应激、能量代谢、细胞凋亡等多种生物学途径[5]。本实验通过观察电针联合丰富康复训练对大脑中动脉闭塞（middle cerebral artery occlusion，MCAO）模型大鼠SIRT1/PGC-1α通路及相关凋亡基因[B淋巴细胞瘤-2（B-cell lymphoma-2，Bcl-2）、半胱氨酸蛋白酶-3（cysteinyl aspartate specific proteinase-3，Caspase-3）、半胱氨酸蛋白酶-9（cysteinyl aspartate specific proteinase-9，Caspase-9）]的影响，从氧化应激角度阐明电针联合丰富康复训练的神经保护机制。

1 材料

1.1 实验动物 选取清洁级成年健康雄性SD大鼠

基金项目：国家自然科学基金项目（81874500）；安徽省教育厅自然科学基金重点项目（KJ2019A0430）；安徽省自然科学研究青年基金项目（1808085QH268）

作者简介：姚晓雯（1996- ），女，硕士研究生

通信作者：唐巍（1969- ），女，教授，博士研究生导师，tangwei2633@163.com

75只，体质量为(300±20)g，于(23±3)℃、45%～55%湿度环境下自由饮食饲养，术前禁食不禁水。本实验经安徽中医药大学实验动物伦理委员会批准，实验动物生产许可证号为SCXK(鲁)2019-0003。

1.2 试剂与仪器 荧光显微镜(BA410E)：Motic公司；石蜡切片机(TM2135)：Leica公司；激光多普勒仪(FP 50 Shift)：北廷测量技术公司；荧光定量PCR仪(PIKOREAL 96)：Thermo Scientific；丙二醛(malonic dialdehyde，MDA)(A003-1)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase，SOD)(A001-1)：南京建成生物工程研究院；TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(C1088)：Beyotime公司；SIRT1(bs-0921R)：Bioss；PGC-1α(SC-517380)：Santa Cruz；Bcl-2(RS-0032R)、Caspase-3(ab32351)和Caspase-9抗体(ab32539)：上海瑞齐生物科技公司。

1.3 康复训练器材 FT-200动物跑步机：成都泰盟软件公司；Roto-Rod Series 8转棒测试仪：上海达燊实业有限公司；网屏(50 cm×40 cm)、平衡木(170 cm×2 cm)、自制丰富环境笼(笼中放置彩球、塑料管隧道、积木等)。

2 方法

2.1 动物模型复制方法及分组 随机选取15只大鼠为假手术组，仅分离颈动脉，不进行结扎和插线步骤。其余大鼠参照Longa线栓法[6]复制MCAO模型。按40 mg/kg剂量腹腔注射1%戊巴比妥钠麻醉大鼠，麻醉后将大鼠仰卧位固定于鼠板，在右侧颈部做一切口，钝性分离皮下组织，充分暴露右侧颈总动脉并用缝合线标记，继续分离颈外及颈内动脉，缝合线结扎颈外动脉远心端并电凝，用动脉夹暂时夹闭颈总及颈内动脉，在颈外动脉残端作一“V”型切口，将尼龙线插入，待线栓前端抵达分叉处时放开颈内动脉处动脉夹，继续向颈内动脉深入，深度为18～20 mm，以微遇阻力为度。麻醉清醒后4 h，参考改良神经功能缺损评分(modified neurological severity scores，mNSS)量表[7]评估大鼠神经功能状态，2～18分为模型复制成功。将模型复制成功的大鼠按随机数字表法分为模型组、电针组、康复组和联合组，每组15只。

2.2 治疗方法 电针组和联合组电针选穴参照《实验针灸学》[8]及《大鼠穴位图谱的研制》[9]，选取“百会”“大椎”进行针刺。模型复制后4 h开始治疗，用固定器限制大鼠行动，暴露针刺穴位，以疏密波，频率5～30 Hz，电流1～2 mA进行电针治疗。康复组和联合组进行丰富环境与康复训练。丰富环境治疗：将大鼠置于自制丰富环境笼中，给予声音、颜色和灯光刺激。康复训练治疗：将大鼠置于不同器材上，分别进行跑台、转棒、网屏、平衡木训练，以上治疗均每次30 min，每日1次，共治疗3 d。

2.3 激光多普勒测定缺血侧皮质区脑血流量 在插线后5 min及最末次治疗结束后进行大鼠缺血区局部脑血流量测定。麻醉大鼠后将其头部固定于脑立体定位仪上，沿正中线偏左侧剃毛，暴露颅骨，根据《大鼠脑立体定位图谱》[10]用牙科钻沿冠状缝与矢状缝定位并钻开一颅窗(约4 mm×3 mm)，将多普勒光纤探头固定至颅窗处，测量并记录。

2.4 生化检测缺血侧皮质区SOD、MDA水平 取大鼠脑组织皮质区制备组织匀浆，根据SOD、MDA试剂盒说明书依次进行操作，用酶标仪测定各管吸光度值，根据公式计算SOD活力值与MDA的含量。

2.5 苏木精-伊红(hematoxylin-eosin，HE)染色和TUNEL法观察大鼠缺血侧皮质区形态学变化与阳性细胞率 将大鼠处死，取出全脑，用4%多聚甲醛固定，进行石蜡包埋，制成石蜡切片。一部分用HE染液进行染色，另一部分滴加蛋白酶K(不含DNase)，37 ℃作用20 min以消化蛋白质，PBS洗涤3次，将蛋白酶K冲洗干净。配制并加入50 μL TUNEL反应液，避光孵育60 min，PBS反复冲洗，DAPI染细胞核，封片，荧光显微镜下观察大鼠缺血侧皮质区，随机选取400倍视野进行阳性细胞计数，并计算阳性细胞率(阳性神经细胞数/神经细胞总数)。

2.6 RT-PCR法检测大鼠缺血侧皮质区SIRT1、PGC-1α、Bcl-2、Caspase-3、Caspase-9 mRNA表达水平 Trizol试剂提取各组大鼠皮质区总RNA，使用微量核酸蛋白分析仪测定260、280 nm的OD值。而后参照逆转录试剂盒，进行PCR扩增。PCR反应条件：95 ℃ 1 min，95 ℃ 20 s，60 ℃ 1 min，40个循环。引物序列如表1所示，采用$2^{-\Delta\Delta C_T}$法计算SIRT1、PGC-1α、Bcl-2、Caspase-3、Caspase-9 mRNA的相对表达水平。

表1 各检测指标的引物序列

基因	扩增片段长度/bp	正向引物(5′→3′)	反向引物(5′→3′)
β-actin	150	CCCATCTATGAGGGTTACGC	TTTAATGTCACGCACGATTTC
SIRT1	159	TGACCTCCTCATTGTTATTGG	ATTATGACATCGCAGTCTCCA
PGC-1α	164	AGGTCCCCAGGCAGTAGATC	TCGTGCTCATTGGCTTCATA
Bcl-2	92	GTCACAGAGGGGCTACGAGT	CAGGCTGGAAGGAGAAGATG
Caspase-3	138	ATGTCGATGCAGCTAACCTC	AACTGCTCCTTTTGCTGTGA
Caspase-9	95	GAACGACCTGACTGCTAAGAAA	AGAGGATGACCACCACGAAG

2.7 统计学方法 采用SPSS 23.0软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料采用“均数±标准差($\bar{x}\pm s$)”表示。各组间符合正态分布、方差齐的均数比较采用单因素方差分析,治疗组间均数比较采用两因素方差分析。$P<0.05$为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠缺血侧皮质区脑血流量比较 与假手术组相比,模型组插线后5 min、3 d的脑血流量均明显下降($P<0.05$)。与模型组相比,各治疗组插线后5 min脑血流量差异无统计学意义($P>0.05$),治疗3 d后联合组脑血流量显著增高($P<0.05$);与电针组、康复组相比,联合组脑血流量显著升高($P<0.05$)。见表2。

3.2 各组大鼠缺血侧皮质区MDA、SOD水平比较 与假手术组相比,模型组MDA水平上升,SOD水平下降($P<0.05$);与模型组相比,各治疗组MDA水平均下降,SOD水平均升高($P<0.05$);与电针组和康复组相比,联合组MDA水平降低,SOD水平升高($P<0.05$)。见表3。两因素方差分析显示,治疗手段对氧化应激因子表达水平的主效应具有统计学意义($P<0.05$);电针联合丰富康复训练对MDA、SOD表达水平存在交互效应($P<0.05$)。见表4。

表2 各组大鼠缺血侧皮质区脑血流量比较($\bar{x}\pm s$)

组 别	n	脑血流量/(mL/s)	
		插线后5 min	治疗3 d后
假手术	15	133.80±7.49	141.13±6.13
模 型	15	8.48±0.87*	95.60±1.22*
电 针	15	8.25±0.88	96.80±1.01
康 复	15	8.28±0.98	95.53±1.00
联 合	15	8.40±0.89	106.27±1.26#△◇

注:与假手术组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$;与电针组比较,△ $P<0.05$;与康复组比较,◇ $P<0.05$

表3 各组大鼠缺血侧皮质区MDA、SOD水平比较($\bar{x}\pm s$)

组 别	n	MDA/(nmol/mg)	SOD/(U/mg)
假手术	6	3.59±0.27	250.19±4.09
模 型	6	28.39±0.78*	86.52±4.22*
电 针	6	8.70±0.32#	144.66±2.09#
康 复	6	8.76±0.42#	149.35±5.57#
联 合	6	5.32±0.35#△◇	181.02±4.21#△◇

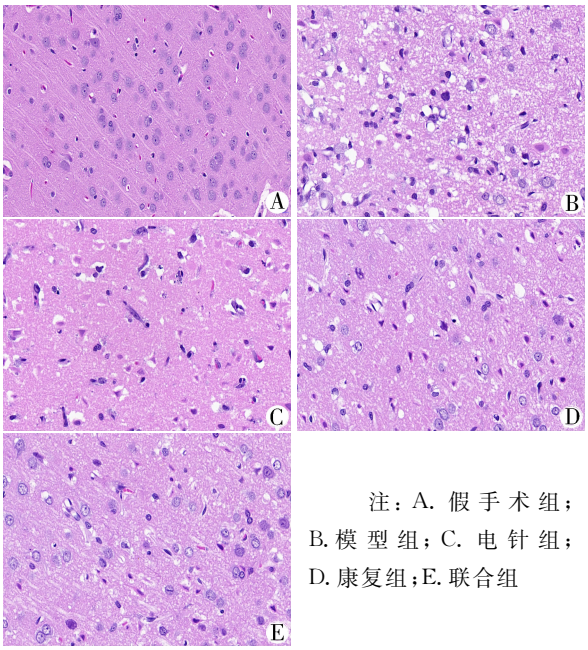
注:与假手术组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$;与电针组比较,△ $P<0.05$;与康复组比较,◇ $P<0.05$

表4 电针与康复训练对脑缺血大鼠氧化应激因子表达水平影响的两因素析因设计方差分析结果

指标	差异来源	自由度	均方	F值	P值
MDA	电针	1	802.495	529.350	0.001
	康复	1	794.075	523.796	0.001
	电针×康复	1	395.753	261.051	0.001
	误差	20	1.516		
SOD	电针	1	12 096.778	113.669	0.001
	康复	1	14 755.009	138.648	0.001
	电针×康复	1	1 050.753	9.874	0.005
	误差	20	106.421		

3.3 各组大鼠缺血侧皮质区形态学变化及阳性细胞率比较 HE染色结果显示,假手术组皮质区神经细胞排列整齐,结构完整,核仁清晰;模型组神经细胞排列紊乱,细胞结构出现不同程度破坏,如核固缩、嗜染质。与模型组相比,各治疗组均出现好转趋势,虽有不同程度的间质水肿、排列紊乱,但可以看到皮质区嗜染质相对较少,细胞结构破坏程度相对减轻,联合组尤为明显。见图1。TUNEL染色结果显示,假手术组仅有少量阳性细胞。与假手术组相比,模型组大鼠缺血侧皮质区阳性细胞数大量增加,阳性细胞率大幅升高($P<0.05$);与模型组相比,各治疗组阳性细胞数减少,阳性细胞率均呈下降趋势($P<0.05$);与电针组、康复组相比,联合组阳性细胞数量相对变少,阳性细胞率降低($P<0.05$)。见图2和表5。

3.4 各组大鼠缺血侧皮质区SIRT1、PGC-1α、BCL-2、Caspase-3、Caspase-9 mRNA表达水平比较 与假手术组相比,模型组SIRT1、PGC-1α、Bcl-2 mRNA表达水平均显著减少($P<0.05$),Caspase-3、Caspase-9 mRNA表达水平显著增加($P<0.05$)。与模型组相比,各治疗组SIRT1、PGC-1α、Bcl-2 mRNA表达水平均显著增加($P<0.05$),Caspase-3、Caspase-9 mRNA表达水平显著减少($P<0.05$)。见表6。两因素方差分析结果显示,分组因素对SIRT1、PGC-1α mRNA表达水平的主效应有统计学意义($P<0.05$);电针与丰富康复训练联合干预对SIRT1、PGC-1α mRNA的表达水平存在交互作用($P<0.05$),对凋亡相关基因表达水平的影响无交互作用($P>0.05$)。见表7、表8。



注：A. 假手术组；B. 模型组；C. 电针组；D. 康复组；E. 联合组

图1 各组大鼠缺血侧皮质区形态学变化

（HE染色，10×40倍）

4 讨论

CIS属中医“中风”范畴，基本病机为气血逆乱，上犯于脑，脑之神明失用，证候多为本虚标实。研究[11]显示，电针通过穴位感受器、神经递质将腧穴局部效应传入中枢，在脑损伤疾病中有显著疗效。丰富康复训练具有独特优势，可刺激脑部特定运动区域，改善脑组织微循环，实现神经细胞再生与功能重组[12]。在脑缺血中，氧化应激是破坏神经细胞活力和组织损伤的主要条件，自由基的大量释放会影响DNA、脂质和蛋白质等重要生物分子，造成细胞损伤[13]。

SIRT1是依赖于NAD^+的去乙酰化酶，在应激反应中起关键作用[14]，PGC-1α作为其下游靶点，正常情况下可与SIRT1形成转录复合体控制代谢基因表达[15]。脑缺血时，神经细胞处于氧化应激状态，治疗手段干预激活SIRT1/PGC-1α通路，提升抗氧化酶和抗氧化剂能力，减少氧化应激和神经细胞凋亡[16-17]。

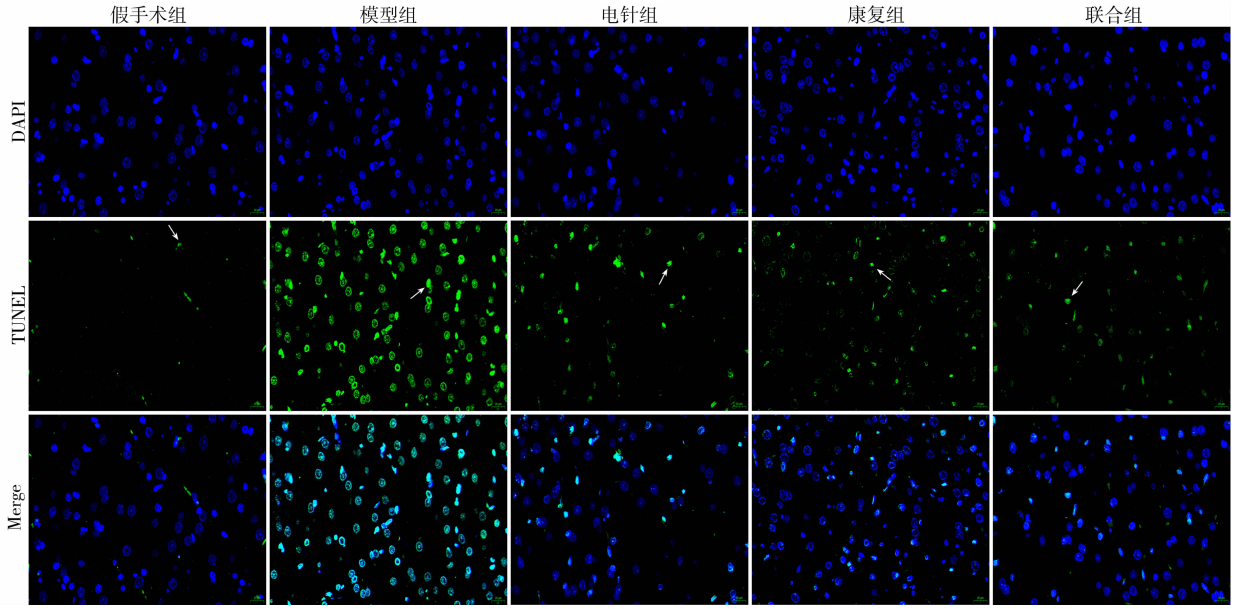


图2 各组大鼠缺血侧皮质区细胞凋亡情况（TUNEL荧光染色，10×40倍，白色箭头表示凋亡细胞）

表5 各组大鼠缺血侧皮质区阳性细胞率比较（$\bar{x}\pm s$）

组 别	n	阳性细胞率
假手术	3	0.17±0.04
模 型	3	0.95±0.03*
电 针	3	0.33±0.01#
康 复	3	0.34±0.02#
联 合	3	0.24±0.01#△◇

注：与假手术组比较，* $P<0.05$；与模型组比较，# $P<0.05$；与电针组比较，△ $P<0.05$；与康复组比较，◇ $P<0.05$

两因素方差分析显示，治疗手段对MDA、SOD、SIRT1、PGC-1α、Caspase-3、Caspase-9、Bcl-2 mRNA表达水平的主效应均有统计学意义，说明本实验治疗手段是影响结果的主要因素。研究发现，氧化应激因子、SIRT1、PGC-1α和凋亡细胞因子的表达具有一定规律性。脑缺血后，MDA含量增加，SOD活性下降，提示脑内自由基过表达，抗氧化物被消耗，脑内氧化失衡。此时，缺血侧皮质区SIRT1 mRNA表达减少，下游PGC-1α mRNA表达水平也随之下降，缺血侧凋亡细胞大幅增多，Caspase-3、Caspase-9表达增多，Bcl-2表达减少，提示缺血性脑损伤后氧化应激持续发生，细胞凋亡途径启动。3种治疗手段均能使SIRT1、PGC-1α mRNA表达水平上调，Caspase-3、Caspase-9 mRNA表达水平下调，Bcl-2 mRNA表达水平上调，提示不同治

表6 各组大鼠缺血侧皮质区SIRT1、PGC-1α、Bcl-2、Caspase-3、Caspase-9 mRNA表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

组 别	n	SIRT1 mRNA	PGC-1α mRNA	Bcl-2 mRNA	Caspase-3 mRNA	Caspase-9 mRNA
假手术	6	1.00±0.07	1.00±0.07	1.00±0.05	1.00±0.06	1.00±0.09
模 型	6	0.63±0.04*	0.51±0.02*	0.55±0.05*	1.46±0.12*	1.97±0.15*
电 针	6	0.79±0.04#	0.64±0.06#	0.73±0.05#	1.24±0.03#	1.55±0.21#
康 复	6	0.79±0.05#	0.66±0.05#	0.75±0.05#	1.24±0.05#	1.49±0.24#
联 合	6	0.86±0.13#△◇	0.89±0.03#△◇	0.85±0.03#△◇	1.12±0.03#△◇	1.16±0.37#△◇

注：与假手术组比较，* $P<0.05$；与模型组比较，# $P<0.05$；与电针组比较，△ $P<0.05$；与康复组比较，◇ $P<0.05$

表7 电针与康复训练对脑缺血大鼠SIRT1、PGC-1α mRNA表达水平影响的两因素析因设计方差分析结果

指 标	差异来源	自由度	均方	F值	P值
SIRT1 mRNA	电针	1	0.080	40.00	0.001
	康复	1	0.080	40.00	0.001
	电针×康复	1	0.011	5.50	0.016
	误差	20	0.002		
PGC-1α mRNA	电针	1	0.136	68.00	0.001
	康复	1	0.169	84.50	0.001
	电针×康复	1	0.013	6.50	0.014
	误差	13	0.002		

表8 电针与康复训练对脑缺血大鼠凋亡相关基因表达水平影响的两因素析因设计方差分析结果

指 标	差异来源	自由度	均方	F值	P值
Bcl-2 mRNA	电针	1	0.120	60.000	0.001
	康复	1	0.155	77.500	0.001
	电针×康复	1	0.008	4.000	0.069
	误差	20	0.002		
Caspase-3 mRNA	电针	1	0.176	44.000	0.001
	康复	1	0.176	44.000	0.001
	电针×康复	1	0.014	3.500	0.085
	误差	20	0.004		
Caspase-9 mRNA	电针	1	0.853	27.516	0.001
	康复	1	1.142	36.839	0.001
	电针×康复	1	0.011	0.355	0.556
	误差	20	0.031		

疗手段通过上调SIRT1/PGC-1α通路，发挥抗缺血性脑损伤作用。联合组通过电针与康复的交互效应，显著上调SIRT1、PGC-1α mRNA的表达，提示外周康复刺激与直接电针刺激共同生成的效应产物能减轻缺血后脑组织氧化应激损伤，发挥神经保护作用。但联合组对凋亡因子表达水平的交互作用无统计学意义($P>0.05$)，提示脑缺血急性期，电针联合丰富康复训练对细胞凋亡有抑制作用，但交互作用并不明显。

目前，SIRT1/PGC-1α通路在CIS的基础性研究成果甚少，电针与康复疗法联合调控缺血后氧化应激机制研究尚不多见。本实验通过电针联合丰富康复训练对MCAO大鼠进行干预，发现电针法、康复法、联合法均在不同程度上激活了SIRT1/PGC-1α通路，调节氧化应激，抑制细胞凋亡；且电针与康复联合治疗对SIRT1、PGC-1α mRNA表达水平的影响具有交互效应($P<0.05$)，发挥正向协同作用。本研究中选择3 d作为治疗终点，旨在观察SIRT1/PGC-1α通路在急性期的抗氧化和神经保护作用，但本实验仅评估SIRT1/PGC-1α通路的即时效应，在后续研究中，应延长治疗观察期，对电针联合丰富康复训练与氧化应激相关性进行深入研究。

参考文献：

[1] SUGINO T M, MARUYAMA M SUGINO T, MARUYAMA M, TANNO M. Protein deacetylase SIRT1 in the cytoplasm promotes nerve growth factor-induced neurite outgrowth in PC12 cells[J]. FEBS Lett, 2010, 584(13): 2821-2826.

[2] KNIGHT-GREENFIELD A, NARIO J J Q, GUPTA A. Causes of acute stroke: a patterned approach[J]. Radiol Clin North Am, 2019, 57(6): 1093-1108.

[3] 咎兴淳，唐巍，李斯亮，等. 电针联合康复训练对脑缺血大鼠血管新生相关因子的影响[J]. 针刺研究，2019，44

(8):547-553.
[4] 何鹏,唐巍,童明月,等.电针对脑缺血大鼠缺血皮质区内皮型一氧化氮合酶及血清中一氧化氮含量的影响[J].安徽中医药大学学报,2020,39(4):56-60.
[5] BARROSO W A,VICTORINO V J,JEREMIAS I C,et al. High-fat diet inhibits PGC-1α suppressive effect on NF-κB signaling in hepatocytes[J]. Eur J Nutr,2018,57(5):1891-1900.
[6] LONGA E Z,WEINSTEIN P R,CARLSON S,et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomyin rats[J]. Stroke,1989,20(1):84-91.
[7] LI Y,CHOPP M, CHEN J,et al. Intrastriatal transplantation of bone marrow nonhematopoietic cells improves functional recovery after stroke in adult mice[J]. Cereb Blood Flow Metab,2000,20(9):1311-1319.
[8] 李忠仁.实验针灸学[M].2版.北京:中国中医药出版社,2007:255-257.
[9] 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,1991,5(1):1-5.
[10] PAXINOS G,WATSON C.大鼠脑立体定位图谱[M].诸葛启钏,译.3版.北京:人民卫生出版社,2005.
[11] 赵庆逸,徐玉东,尹磊淼,等.不同机体状态下针刺对神经递质的调控[J].上海中医药杂志,2020,54(10):29-34.
[12] 高品操,唐芳,杨义,等.智能康复训练系统对脑卒中患者上肢及手功能的效果[J].中国康复理论与实践,2020,26(10):1198-1203.
[13] CHEN Y R, LI Y K, XU H L,et al. Morin mitigates oxidative stress, apoptosis and inflammation in cerebral ischemic rats[J]. Afr J Tradit Complement Altern Med,2017,14(2):348-355.
[14] FU B,ZHANG J,ZHANG X,et al. Alpha-lipoic acid upregulates SIRT1-dependent PGC-1α expression and protects mouse brain against focal ischemia[J]. Neuroscience,2014,281:251-257.
[15] RADA P,PARDO V,MOBASHER M A,et al. SIRT1 controls acetaminophen hepatotoxicity by modulating inflammation and oxidative stress[J]. Antioxid Redox Signal,2018,28(13):1187-1208.
[16] YAN L, ZHU T. Effects of rosuvastatin on neuronal apoptosis in cerebral ischemic stroke rats via Sirt1/NF-kappa B signaling pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2019,23(12):5449-5455.
[17] HUANG J,LIU W,DOYCHEVA D M,et al. Ghrelin attenuates oxidative stress and neuronal apoptosis via GHSR-1α/AMPK/Sirt1/PGC-1α/UCP2 pathway in a rat model of neonatal HIE[J]. Free Radic Biol Med,2019,141:322-337.

(收稿日期:2020-11-02)

Effect of Electroacupuncture Combined with Enriched Rehabilitation Training on Oxidative Stress in Rats with Cerebral Ischemia Based on the SIRT1/PGC-1α Pathway

YAO Xiao-wen, TANG Wei, LI Meng-xing, LAN Wei, WANG Yu, GAO Yun-yun, JIN Zi-kai
(*College of Acupuncture and Moxibustion, Anhui University of Chinese Medicine, Anhui Hefei* 230012, *China*)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the protective mechanism of electroacupuncture combined with enriched rehabilitation training against acute nerve injury in rats with cerebral ischemia. **Methods** A total of 15 Sprague-Dawley rats were randomly selected as sham-operation group, and 60 rats used to establish a model of middle cerebral artery occlusion (MCAO) were randomly divided into model group, electroacupuncture group, enriched rehabilitation training group (rehabilitation group), and electroacupuncture+enriched rehabilitation training group (combination group), with 15 rats in each group. The rats in the sham-operation group and the model group were not given any intervention; the rats in the electroacupuncture group and the combination group were given electroacupuncture at Baihui and Dazhui; the rats in the rehabilitation group and the combination group were given enriched environmental and rehabilitation training for 30 minutes each time, once a day for 3 consecutive days. The dynamic changes of cerebral blood flow, histomorphology, and apoptosis rate in the ischemic cortex were observed, and then the content of malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) was measured. RT-PCR was used to measure the mRNA expression levels of silent information regulator 1 (SIRT1), peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 alpha (PGC-1α), B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), Caspase-3, and Caspase-9. **Results** Grouping factors had a statistically significant main effect on the levels of MDA and SOD in ischemic cortex and the mRNA expression levels of SIRT1, PGC-1α, Caspase-3, Caspase-9, and Bcl-2 ($P<0.05$). Compared with the sham-operation group, the model group had significant reductions in cerebral blood flow, the level of SOD, and mRNA expression levels of SIRT1, PGC-1α, and Bcl-2 ($P<0.05$) and significant increases in

焦氏头针结合言语训练对脑卒中后失语症患者语言功能的影响

罗金发，肖洪波，赖忠涛，张靓男

（安徽中医药大学第一附属医院，安徽 合肥 230031）

[摘要]目的 观察焦氏头针结合言语训练对脑卒中后失语症（post-stroke aphasia，PSA）患者语言功能康复的影响。**方法** 将60例PSA患者随机分为治疗组（焦氏头针联合言语训练）及对照组（神经系统电刺激仪联合言语训练），每组30例，每周治疗6次，共治疗6周。治疗前后分别采用汉语标准失语症检查（China rehabilitation research center aphasia examination，CRRCAE）量表评定语言功能，采用日常生活交流能力（communication abilities in daily living，CADL）量表评定交流能力，采用简易智力状态检查（mini-mental state examination，MMSE）量表评定认知功能，并通过波士顿诊断性失语症检查法（Boston diagnostic aphasia examination，BDAE）评价临床疗效。**结果** 与治疗前比较，治疗后两组患者CRRCAE量表各领域评分均明显升高（$P<0.05$），CADL、MMSE评分也明显升高（$P<0.05$）；治疗组治疗前后MMSE量表评分差值明显大于对照组（$P<0.05$），CRRCAE量表的听、说、朗读、抄写评分差值显著大于对照组（$P<0.05$）。**结论** 焦氏头针结合言语训练的治疗方案能够提高PSA患者语言功能、日常生活交流能力以及认知功能，尤其在改善听、说、朗读及抄写方面疗效显著。

[关键词]焦氏头针；脑卒中后失语症；言语训练

[中图分类号]R245.32^{+}1 [DOI]10.3969/j.issn.2095-7246.2021.02.014

失语症是以口语、书面语的理解表达障碍为主要表现的一种疾病，外侧裂周皮质语言带、皮质下核团功能区的损伤是疾病发生的根本原因[1]。失语症是脑卒中患者常见的临床表现之一，相关数据表明，至少26%的脑卒中患者伴有脑卒中后失语症（post-stroke aphasia，PSA）[2]，严重影响患者日常生活及重返社会。随着全球脑卒中患者的不断增多，PSA已成为一个日益突出且亟待解决的问题。

针灸作为治疗PSA的有效方法之一，已得到充分认可[3]。头针具有改善脑循环，促进语言活动神经环路重建，激活大脑半球语言区的作用[4]。焦氏头针已广泛应用于脑源性疾病的治疗，可促进PSA语言功能的恢复[5]。言语训练是PSA患者重要的康复治疗手段之一，通过听觉、视觉及言语发音器官的反复刺激训练，以激活言语中枢功能低下的神经细胞，令残存的语言功能得以充分利用[6]。已有研究[7]表明，头针及言语训练均在PSA的治疗过程中发挥着重要作用，故笔者尝试将焦氏头针与言语训练相结合应用于PSA的临床治疗中，观察此联合方

基金项目：安徽省“十三五”省级中医重点专科建设项目（中医药服务秘〔2017〕567号）

作者简介：罗金发（1984- ），男，硕士，主治医师

通信作者：肖洪波（1970- ），男，主任医师，2845134995@qq.com

apoptosis rate，the level of MDA，and mRNA expression levels of Caspase-3 and Caspase-9（$P<0.05$）. Compared with the model group，the treatment groups had significant increases in the level of SOD and mRNA expression levels of SIRT1，PGC-1α，and Bcl-2（$P<0.05$）and significant reductions in the level of MDA and mRNA expression levels of Caspase-3 and Caspase-9（$P<0.05$）. There were significant differences in the above indices between the combination group and the electroacupuncture group or rehabilitation group（$P<0.05$）. Electroacupuncture combined with enriched rehabilitation training had synergistic interaction on the levels of MDA，SOD and mRNA expression levels of SIRT1 and PGC-1α（$P<0.05$），but had no interaction on mRNA expression levels of Caspase-3，Caspase-9 and Bcl-2（$P>0.05$）. **Conclusion** Electroacupuncture combined with enriched rehabilitation training can improve antioxidant capacity，alleviate nerve cell injury，and exert a neuroprotective effect by regulating the SIRT1/PGC-1α pathway.

[**Key words**] Electroacupuncture；Cerebral ischemia；Oxidative stress；Rehabilitation training；Silent information regulator 1；Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 alpha