

针刺改善脑缺血后学习记忆功能机制的研究进展

韩肖华, 陈潞婷

【关键词】 针刺; 脑缺血; 学习记忆; 机制

【中图分类号】 R49; R743.3 【DOI】 10.3870/zgkf.2018.04.022

脑卒中是单病种致残率最高的疾病,其高发病率、高死亡率和高致残率给社会、家庭和患者带来了沉重的负担和巨大的痛苦^[1]。而缺血性脑卒中是我国最常见的脑血管疾病之一,发病率占总卒中的45.5%~75.9%^[2]。脑缺血引起的学习记忆功能损害一方面影响患者肢体运动功能的康复效果,另一方面也会严重影响患者的生活自理能力,加重家庭和社会的经济负担。因此,探索针对脑缺血后学习记忆功能障碍的有效治疗方法具有重大的临床意义。

学习记忆功能障碍属于中医学“健忘”、“呆病”、“遗忘”等范畴,针刺治疗“呆病”、“健忘”在中医学医籍早有论述。如《针灸大成》曰:“百会主头风中风,惊悸健忘,忘前失后,心神恍惚”。近年来,国内外大量的研究证实了针刺在改善缺血性卒中临床症状中的作用,其中部分文献涉及到针刺在改善脑缺血后学习记忆功能作用机制方面的研究,现将其综述如下。

1 抗氧化应激

在生理条件下,活性氧(reactive oxygen species, ROS)的生成由内源性抗氧化剂如超氧化物歧化酶(super oxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)等控制,处于低水平。然而,脑缺血再灌注后突然过量产生的ROS引起氧化应激,神经细胞内氧化损伤产物大量堆积,改变了细胞的结构和功能,甚至导致细胞的死亡^[3]。ROS产生脂质过氧化的最终产物丙二醛(malonaldehyde, MDA)的水平直接反映脂质的含量和程度。而SOD和GSH-Px被认为是自由基的清除剂,它们的表达水平可直接反映脑组织清除自由基的能力。Lin^[4]的研究发现电针干预可以抑制脑缺血再灌注损伤大鼠的氧

化应激反应,降低脑组织中MDA的含量,增加SOD和GSH-Px的含量。Lin^[4]认为:抑制氧化应激反应可能是电针改善大鼠学习记忆功能的作用机制之一。Liu^[5]的研究证实:针刺能显著上调多发性脑缺血大鼠脑组织中SOD和GSH-Px的表达,发挥抗氧化作用,从而改善大鼠受损的空间记忆能力。侯志涛^[6]在永久性结扎双侧颈总动脉方法制备缺血性学习记忆障碍模型中,也证实了电针具有相同的治疗作用。

2 减轻炎症反应

神经炎症在神经系统疾病发病的病理机制中扮演重要角色。激活的胶质细胞、少突胶质细胞、巨噬细胞等在对抗神经炎症因子的免疫反应中发挥重要作用。研究表明神经炎症与神经系统疾病密切相关,可导致认知障碍和丧失^[7-8]。Yang等^[9]的研究发现电针能改善双侧颈总动脉结扎沙鼠的认知功能并减少海马神经炎症相关蛋白Toll样受体4和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的表达。Han等^[10]的研究发现电针可下调双侧颈总动脉结扎大鼠海马的白细胞介素 1β (interleukin- 1β , IL- 1β)和TNF- α 的表达,上调白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)的表达,发挥很好的抑制脑缺血后炎症反应的作用。Liu^[11]的研究证实了电针在脑缺血再灌注模型中也具有相同的抗炎效应:电针治疗降低了大鼠海马IL- 1β 和TNF- α 的表达,该研究进一步通过阻断实验验证电针是通过激活 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体来介导的抗炎作用。

3 改善突触超微结构和功能

突触是大脑学习记忆的生物学基础,突触形态的改变是突触可塑性的主要反映,与大脑学习记忆密切相关。研究发现:脑缺血后大脑皮层神经毡内突触数目逐渐减少;突触结构中突触小泡、线粒体也发生改变。缺血48小时,突触小泡减少,甚至消失,突触前后膜被破坏,典型的突触结构已不存在^[12]。有研究发现电针可显著增加脑缺血大鼠海马CA1区锥体细胞突

基金项目:国家自然科学基金(81774404)

收稿日期:2018-04-22

作者单位:华中科技大学同济医学院附属同济医院康复医学科,武汉430030

作者简介:韩肖华(1975-),男,副主任医师,主要从事针灸治疗脑血管病方面的研究。

触数量,改善突触可塑性,从而改善其认知能力^[13-14]。长时程增强(long-term potentiation, LTP)可以改变海马内树突棘数量、形状、大小和亚细胞组成。树突棘丢失会引起海马和前额叶皮层的突触传递减少,导致学习和记忆功能障碍。一些研究证实了电针可以增加缺血海马树突棘的密度,可能的作用机制包括通过抑制 Ras 同源成员 A(RhoA)的表达^[15],下调 miR-134 调控突触 LIMK1 蛋白磷酸化^[14],增加脑源性神经营养因子的表达调控 p250GAP 的表达等^[16]。

针刺除了具有上述改善突触超微结构的作用外,还能影响突触功能传递效能。LTP 是指条件刺激(一般为短暂的高频刺激)后,突触传递效率和强度增加几倍且能持续数小时至几天保持这种增强的现象,被认为是学习记忆的分子基础。自从 1973 年学者发现这种现象以来,LTP 是被广泛运用研究学习与记忆细胞机制较为理想的动物模型^[17],可以反映学习和记忆形成的基本突触机制^[18],是神经元功能可塑性的重要表现形式。Jing 等^[19]运用 Morris 水迷宫和 LTP 研究电针对糖尿病大鼠脑缺血后学习记忆能力的影响,结果发现电针可明显降低水迷宫试验的潜伏期;增加海马 CA1 区降低的群峰电位(population spikes, PS)波幅和斜率。该文作者认为 LTP 的变化在电针改善学习记忆效果中发挥了非常重要作用。Li 等^[20]的研究也发现颅内多发缺血大鼠海马齿状回区受损的兴奋性突触后电位(excitatory postsynaptic potential, EPSP)的斜率显著下降,针灸治疗后大鼠的海马齿状回区 fEPSP 斜率显著升高。

1983 年学者发现 N-甲基-D-门冬氨酸(N-methyl-D-aspartic acid, NMDA)受体通道复合体在 LTP 过程中起重要作用,进一步深化了其对 LTP 在大脑学习记忆中作用的理解。在急性脑缺血缺氧等病理情况下,脑内谷氨酸浓度异常升高, NMDA 被过度激活,从而产生一系列反应,最终导致神经元损伤,使学习记忆能力降低。张茜等^[21]的研究发现电针能改善缺血再灌注大鼠的学习记忆功能,使海马组织中谷氨酸含量及 NMDAR 表达明显降低。Lin 等^[22]发现 2Hz 的电针能逆转大脑中动脉栓塞模型海马 CA1 区异常增高的 NMDA 亚型 NMDAR1,改善受损的 LTP,从而改善血管性痴呆的行为学症状。韩德雄等^[23]的研究证实电针能下调慢性脑低灌注大鼠海马 JAK2/STAT3 mRNA 的表达水平,而 JAK/STAT 通路参与了海马天门冬氨酸受体介导的 LTP 的调节,进而改善其认知功能。上述研究表明影响海马 NMDAR 的表达可能是电针修复脑缺血模型 LTP 受损,改善学习记忆功能中重要的环节,也为研究针刺改善脑缺血后学习记忆

功能提供了一个新的靶点。

4 抗神经细胞凋亡

细胞凋亡是指为维持内环境稳定,由基因控制的细胞自主的有序的死亡。研究表明,缺血性损伤后神经元细胞的凋亡与 Bcl-2 家族和 Caspase-3 家族的表达变化有关^[24]。凋亡期间发生的早期细胞变化由 Bcl-2 蛋白家族介导,包括抗凋亡的 Bcl-2 蛋白和促凋亡的 Bax 蛋白,它们是凋亡反应的关键调节剂。大量的研究均证实了电针能够通过调节凋亡相关蛋白 Bcl-2 和 Bax 的表达发挥抗海马神经细胞凋亡的作用,从而改善学习记忆功能^[25-26]。Feng 等^[27]的研究也证实了上述发现,并且认为电针是通过抑制 NF- κ B 介导的神经细胞凋亡来改善脑缺血再灌注大鼠的认知功能。He 等^[28]的研究发现电针预处理可通过 Wnt/ β -catenin 信号通路来抑制海马神经细胞的凋亡,从而改善学习记忆功能。Bcl-2 基因是环磷酸腺苷反应元件结合蛋白(cyclic adenosine monophosphate response element binding protein, CREB)的下游靶基因之一,缺血刺激时促进 CREB 磷酸化,介导了 Bcl-2 蛋白显著增加进而发挥抗凋亡作用。本团队之前的研究证实了电针可以通过激活 CREB 信号通路,抑制海马细胞的凋亡,从而改善脑缺血大鼠的学习记忆功能^[29]。侯志涛等^[6]的研究证实电针能抑制 Caspase-3 蛋白的表达,发挥抗凋亡作用,从而改善缺血大鼠的学习记忆能力。

5 总结与展望

综上所述,针刺干预能有效地改善各种类型脑缺血后学习记忆功能,可能的作用机制包括抗氧化应激、减轻炎症反应、改善突触超微结构和传递功能、抗细胞凋亡等。这些研究多采用电针干预,综合了传统针刺和现代电刺激的方法。选用频率较高的腧穴包括:百会、神庭、大椎、足三里等,尤其是督脉要穴百会选用频率最高。因督脉属于奇经八脉之一,上至风府,入属于脑,总督一身之阳脉,是“阳脉之海”,历代医家素有“病变在脑,首取督脉”之说。

中枢神经系统具有潜在的自我修复能力,成体脑内脑室下区(subventricular zone, SVZ)和海马齿状回颗粒下区(subgranular zone, SGZ)等区域可终生持续产生神经干细胞。这些内源性神经干细胞能够自我更新,具有分化为神经元、少突胶质细胞和星形胶质细胞的潜能。在一篇关于针刺治疗在缺血性脑卒中康复中作用机制的综述中,作者筛选、分析了 40 篇相关的基础研究文献,认为针刺可以促进内源性神经干细胞增

殖^[30]。但是,支撑该观点的文献更多的是关注针刺干预对运动功能恢复的影响,鲜有对学习记忆功能的观察。针刺治疗抗氧化应激、减轻炎症反应等作用为脑缺血后内源性神经干细胞的存活创造了条件。针刺治疗能否通过激活内源性神经干细胞增殖,改善新生神经干细胞的生存内环境,来促进海马脑区神经再生,从而改善脑缺血后受损的学习记忆功能?此外,作为非常有前景的细胞治疗技术,外源性的细胞移植治疗在如何提高移植细胞在宿主脑内存活问题上遇到瓶颈,而针刺治疗对于缺血局部内环境的调节作用,有可能为移植的神经干细胞的存活、增殖、分化为靶细胞并替代死亡的细胞功能创造条件。因此,对于针刺在改善脑缺血后学习记忆功能的作用机制,值得进一步深入的研究。

【参考文献】

- [1] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国脑血管病一级预防指南 2015[J]. 中华神经科杂志, 2015, 48(8): 629-643.
- [2] 乔曼丽,江滨,王文志,等. 中国脑卒中的发病与趋势——三大城市的研究结果[J]. 中国卒中杂志, 2006, 1(8): 599-602.
- [3] 赵丹洋,吴伟康. 氧化应激在脑缺血损伤中的作用机制[J]. 中国病理生理杂志, 2004, 20(4): 679-682.
- [4] Lin R, Lin Y, Tao J, et al. Electroacupuncture ameliorates learning and memory in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibiting oxidativestress and promoting p-CREB expression in the hippocampus[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2015, 12(5): 6807-6814.
- [5] Liu CZ, Yu JC, Zhang XZ, et al. Acupuncture prevents cognitive deficits and oxidative stress in cerebral multi-infarction rats[J]. *Neuroscience Letters*, 2006, 393(1): 45-50.
- [6] 侯志涛,孙忠人,刘松涛,等. 电针对缺血性学习记忆障碍大鼠氧自由基及凋亡相关蛋白表达的影响[J]. 针刺研究, 2015, 40(6): 431-438.
- [7] Mawhinney LJ, Vaccari JPDR, Dale GA, et al. Heightened inflammasome activation is linked to age-related cognitive impairment in Fischer 344 rats[J]. *Bmc Neuroscience*, 2011, 12(1): 123-123.
- [8] Liu L, Chan C. The role of inflammasome in Alzheimer's disease[J]. *Ageing Research Reviews*, 2014, 15(1): 6-15.
- [9] Yang EJ, Cai M, Lee JH. Neuroprotective effects of electroacupuncture on an animal model of bilateral common carotid artery occlusion[J]. *Molecular Neurobiology*, 2016, 53(10): 7228-7236.
- [10] Han D, Liu Z, Wang G, et al. Electroacupuncture improves cognitive deficits through increasing regional cerebral blood flow and alleviating inflammation in CCI rats[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative medicine*, 2017, 2017(5): 5173168.
- [11] Liu J, Li C, Peng H, et al. Electroacupuncture attenuates learning and memory impairment via activation of $\alpha 7$ nAChR mediated anti-inflammatory activity in focal cerebral ischemia/reperfusion injured rats[J]. *Experimental & Therapeutic Medicine*, 2017, 14(2): 939-946.
- [12] 王慧娟,李陈莉,赵秀丽,等. 大鼠脑缺血后突触超微结构的变化[J]. 解剖学杂志, 2003, 26(6): 587-590.
- [13] 宋长明,黄佳,林冰冰,等. 电针百会、神庭穴对脑缺血再灌注大鼠学习记忆能力及海马 CA1 区突触超微结构的影响[J]. 中国康复理论与实践, 2017, 23(7): 750-755.
- [14] Liu W, Wu J, Huang J, et al. Electroacupuncture regulates hippocampal synaptic plasticity via miR-134-mediated LIMK1 function in rats with ischemic stroke[J]. *Neural Plasticity*, 2017, 2017: 9545646.
- [15] Lin R, Wu Y, Tao J, et al. Electroacupuncture improves cognitive function through Rho GTPases and enhances dendritic spine plasticity in rats with cerebral ischemia reperfusion[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2016, 13(3): 2655-2660.
- [16] Zheng CX, Lu M, Guo YB, et al. Electroacupuncture ameliorates learning and memory and improves synaptic plasticity via activation of the PKA/CREB signaling pathway in cerebral hypoperfusion[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative medicine*, 2016, 2016(4): 1-11.
- [17] Kandel ER, Schwartz JH. *Molecular biology of learning: modulation of transmitter release*[J]. *Science*, 1982, 218(4571): 433-443.
- [18] Bliss TVP, Collingridge GL. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus [J]. *Nature*, 1993, 361(6407): 31-39.
- [19] Jing XH, Chen SL, Shi H, et al. Electroacupuncture restores learning and memory impairment induced by both diabetes mellitus and cerebral ischemia in rats[J]. *Neuroscience Letters*, 2008, 443(3): 193-198.
- [20] Li QQ, Shi GX, Yang JW, et al. Hippocampal cAMP/PKA/CREB is required for neuroprotective effect of acupuncture[J]. *Physiology & Behavior*, 2015, 139: 482-490.
- [21] 张茜,张闯,张佳音,等. 电针对血管性痴呆大鼠海马谷氨酸、钙离子含量及 N-甲基-D-天冬氨酸受体表达的影响[J]. 针刺研究, 2016, 41(6): 509-514.
- [22] Lin YW, Hsieh CL. Electroacupuncture at Baihui acupoint (GV20) reverses behavior deficit and long-term potentiation through N-methyl-D-aspartate and transient receptor potential vanilloid subtype 1 receptors in middle cerebral artery occlusion rats[J]. *Journal of Integrative Neuroscience*, 2010, 9(3): 269-282.
- [23] 韩德雄,刘喆,张莺,等. 电针对慢性脑低灌注大鼠认知功能及海马 JAK2、STAT3 mRNA 表达的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2017, 39(8): 572-576.
- [24] 陈红兵,王鲁民,许贞峰,等. 脑缺血再灌注损伤神经细胞凋亡与 Bcl-2 和 caspase-3 的关系[J]. 中国老年学杂志, 2003, 23(12): 840-842.
- [25] Wang T, Liu CZ, Yu JC, et al. Acupuncture protected cerebral multi-infarction rats from memory impairment by regulating the expression of apoptosis related genes Bcl-2 and Bax in hippocampus[J]. *Physiology & Behavior*, 2009, 96(1): 155-161.
- [26] Xue X, You Y, Tao J, et al. Electro-acupuncture at points of Zusanli and Quchi exerts anti-apoptotic effect through the modulation of PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Neuroscience Letters*, 2014, 558(9): 14-19.
- [27] Feng X, Yang S, Liu J, et al. Electroacupuncture ameliorates cognitive impairment through inhibition of NF- κ B-mediated neuronal cell apoptosis in cerebral ischemia-reperfusion injured rats[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2013, 7(5): 1516-1522.
- [28] He X, Mo Y, Geng W, et al. Role of Wnt/ β -catenin in the tolerance to focal cerebral ischemia induced by electroacupuncture pretreatment[J]. *Neurochemistry International*, 2016, 97: 124-132.
- [29] Han X, Zhao X, Lu M, et al. Electroacupuncture ameliorates learning and memory via activation of the CREB signaling pathway in the hippocampus to attenuate apoptosis after cerebral hypoperfusion[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative medicine*, 2013, 2013(7): 156489.
- [30] Chavez LM, Huang SS, Macdonald I, et al. Mechanisms of acupuncture therapy in ischemic stroke rehabilitation: a literature review of basic studies[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, 18(11): 2270.