



电子、语音版

·论著·

电针对癫痫模型大鼠自发性反复发作及海马CA3和DG区谷氨酸脱羧酶67表达的影响

高东升¹, 杨晓燕¹, 马临庆¹, 谢云亮¹, 龙莉莉², 肖波², 马舒宇¹

1. 苏州高新区人民医院, 江苏 苏州 215000

2. 中南大学湘雅医院, 湖南 长沙 410008

摘要:背景 由于对药物疗法不良反应的担忧,近几年人们对使用针灸治疗癫痫越来越感兴趣。尽管现已报道了不少针灸抗癫痫作用的临床证据,但其确切机制仍不清楚。目的 研究电针(EA)对癫痫大鼠自发性复发性癫痫(SRS),以及海马CA3和齿状回(DG)区谷氨酸脱羧酶67(GAD67)表达的影响。方法 将50只Sprague-Dawley(SD)大鼠随机分为对照组、癫痫组、假刺激组、非穴位电针组和穴位电针组,每组10只。除对照组外,其余4组均制备氯化锂-匹罗卡品颞叶癫痫大鼠模型。造模成功的大鼠采用针刺或电针穴位治疗,8周后观察自发性复发性癫痫发作的次数。分别取5组大鼠海马组织,采用荧光定量PCR和Western blotting分别检测各组大鼠海马组织中GAD67 mRNA水平和蛋白水平表达变化;采用免疫组化法检测各组大鼠海马CA3和DG区GAD67蛋白水平表达变化。结果 治疗8周后,穴位电针组与癫痫组、假刺激组、非穴位电针组比较,减少了自发性复发性癫痫发作的次数,差异有统计学意义($P<0.05$)。qRT-PCR结果显示:与对照组相比,癫痫组、假刺激组、非穴位电针组和穴位电针组大鼠海马组织中GAD67 mRNA表达均下调,差异有统计学意义($P<0.01$);通过8周电针百会和大椎穴连续治疗后,穴位电针组与癫痫组、假刺激组、非穴位电针组比较,大鼠海马组织中GAD67 mRNA水平与上调,差异有统计学意义($P<0.01$);假刺激组和非穴位电针组中GAD67 mRNA水平与癫痫组相比,无统计学意义($P>0.05$)。Western blotting和免疫组化结果显示:GAD67蛋白水平变化趋势与mRNA水平相一致。结论 电针百会和大椎穴对癫痫大鼠具有一定的疗效,并与CA3和DG区GAD67表达水平的变化有关。

[国际神经病学神经外科学杂志, 2022, 49(5): 1-6]

关键词:癫痫;自发性复发性癫痫发作;电针;谷氨酸脱羧酶67;海马;大鼠

中图分类号:R742.1

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2022.05.001

Effect of electroacupuncture on spontaneous recurrent seizure and the expression of glutamic acid decarboxylase 67 in hippocampal CA3 and dentate gyrus regions in a rat model of epilepsy

GAO Dong-Sheng¹, YANG Xiao-Yan¹, MA Lin-Qing¹, XIE Yun-Liang¹, LONG Li-Li², XIAO Bo², MA Shu-Yu¹

1. People's Hospital of Suzhou Gaoxin Zone, Suzhou, Jiangsu 215000, China

2. Xiangya Hospital of Central South University, Changsha, Hunan 410008, China

Corresponding author: YANG Xiao-Yan, Email: 303813624@qq.com

Abstract: **Background** Due to concerns regarding the adverse effects of drug therapy, there is an increasing interest in the use of acupuncture for the treatment of epilepsy. Although the antiepileptic effect of acupuncture has been reported in literature, its detailed mechanism remains unclear. **Objective** To investigate the effect of electroacupuncture (EA) on spontaneous recurrent seizures and the expression of glutamic acid decarboxylase 67 (GAD67) in hippocampal CA3 and dentate gyrus (DG) regions of epileptic rats. **Methods** A total of 50 Sprague-Dawley rats were randomly divided into control group, epilepsy group, sham-stimulation group, non-EA group, and EA group, with 10 rats in each group. All rats ex-

收稿日期:2021-12-17;修回日期:2022-05-10

作者简介:高东升(1978—),男,主治医师,硕士,主要从事耳鼻喉科疾病研究。

通信作者:杨晓燕(1980—),女,副主任中医师,博士,主要从事神经内科疾病研究。Email:3093813624@qq.com。

cept those in the control group were used to establish a rat model of temporal lobe epilepsy induced by lithium-pilocarpine. After successful modeling, the rats were given acupuncture or EA at related acupoints, and the number of spontaneous recurrent seizures were observed after 8 weeks of treatment. After hippocampal tissue samples were collected from all five groups, quantitative real-time PCR and Western blotting were used to measure the mRNA and protein expression levels of GAD67 in hippocampal tissue, and immunohistochemistry was used to measure the protein expression level of GAD67 in hippocampal CA3 and DG regions. **Results** After 8 weeks of treatment, the EA group had a significant reduction in the number of spontaneous recurrent seizures compared with the epilepsy group, the sham-stimulation group, and the non-EA group ($P < 0.05$). Quantitative real-time PCR showed that the epilepsy group, the sham-stimulation group, the non-EA group, and the EA group had a significant reduction in the mRNA expression level of GAD67 in hippocampal tissue compared with the control group ($P < 0.01$); after 8 weeks of consecutive EA treatment at Baihui and Dazhui acupoints, the EA group had a significant increase in the mRNA expression level of GAD67 in hippocampal tissue compared with the epilepsy group, the sham-stimulation group, and the non-EA group ($P < 0.01$); there was no significant difference in the mRNA expression level of GAD67 between the sham-stimulation group and the non-EA group ($P > 0.05$). Western blotting and immunohistochemistry showed that the changing trend of the protein expression level of GAD67 was consistent with that of the mRNA expression level of GAD67. **Conclusions** EA at Baihui and Dazhui acupoints has a certain therapeutic effect on epilepsy rats, which is associated with the changes in the mRNA and protein expression levels of GAD67 in hippocampal CA3 and DG regions. [Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2022, 49(5): 1–6]

Keywords: epilepsy; spontaneous recurrent seizures; electroacupuncture; glutamic acid decarboxylase 67; hippocampus; rat

癫痫是一种慢性神经系统疾病,患病率约为1%,其特征是由于中枢神经系统的神经元过度活跃而反复出现自发发作。研究表明, γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)是脊椎动物中枢神经系统中分布最广的已知抑制性神经递质,GABA降低已被证明是癫痫发作的主要原因^[1-3]。谷氨酸脱羧酶(glutamic acid decarboxylase, GAD)是GABA产生的限速酶,也是GABA能神经元的标志物。GAD有2种主要的亚型GAD65和GAD67,由2种不同的基因编码。GAD65主要以载脂蛋白酶的形式存在,主要在辅因子结合水平上调节;而GAD67主要以全酶的形式存在,代表GAD的酶活性形式,在基因表达水平上受到更多的调控^[4-5]。GAD67蛋白被认为是神经元释放GABA活性的标志^[6]。目前,许多抗癫痫药物的作用源于增强GABA介导的抑制作用,其中一些疗效是通过提高GAD表达获得的^[7]。现有证据表明,GAD67表达水平的降低会增加癫痫发作的概率^[8]。

近年来,对药物疗法的不良反应的关注,增加了学者对非药物疗法使用的兴趣,包括迷走神经刺激、外周电刺激和针灸等。针刺治疗癫痫早在《黄帝内经》等古籍中均有记载,近代也有大量报道^[9]。临床上,针刺某些特定穴位,如足三里(St36)、大椎(Du14)和百会(Du20)等,对癫痫具有显著疗效^[10-11]。针刺信号可能通过传入神经通路传播到中枢神经系统,并引起各种生理和神经变化^[12-13]。尽管已有一些证据支持这种疗效^[14],但其确切的机制仍然未知。

本研究中,我们选择锂-匹罗卡品癫痫大鼠模型(迄

今为止颞叶癫痫的良好模型)^[15],我们首先通过对自发性复发性癫痫发作(spontaneous recurrent seizures, SRS)的监测,研究了电针在大椎和百会的抗癫痫作用;然后我们研究了CA3和DG区GAD67表达的变化,分析电针百会和大椎穴对GAD67在颞叶癫痫中表达的影响,进而探讨针灸对癫痫治疗的内在机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

取50只SD雄性大鼠,均来自北京维通利华动物实验中心,体质量220~250 g。在温度(22±3)℃、12 h明暗循环的环境中饲养,给予自由饮食和饮水。适应性喂养1周后,随机选取10只作为对照组,其余40只用于癫痫造模。造模成功后,10只不进行任何处理(癫痫组);10只进行针刺处理(假刺激组);10只进行电针治疗(非穴位电针组);10只进行穴位电针治疗(穴位电针组)。

所有实验内容经苏州高新区人民医院动物伦理委员会同意(伦理审查受理号:20210625181531)。

1.2 仪器和试剂

戊巴比妥钠(1507002-200MG);脑立体定位仪(赛昂斯,货号:SA301);G6805-2电针治疗仪(中国青岛鑫升实业有限公司);LiCl(美国Boehringer Mannheim公司);PI-LO(美国Sigma公司);GAD67抗体(ab213508, Abcam)。

1.3 大鼠癫痫模型的制备

大鼠腹腔注射LiCl 3 mEq/kg(约125 mg/kg);18 h后腹腔注射PILO,每次注射量10 mg/kg,每30 min注射1次。至大鼠出现癫痫持续状态(status epilepticus, SE),则可给

予10%水合氯醛终止发作。

1.4 电针治疗

模型制备后2 h对假刺激组、非穴位电针组、穴位电针组动物进行针刺或电针处理,随后的8周每天(晚上18:30至19:00)进行相同的处理,直到被杀死。针刺或电针处理前15 min,所有大鼠(包括假刺激组、非穴位电针组、穴位电针组)吸入乙醚进行麻醉,然后将大鼠头部固定于脑立体定位仪上。假刺激组选用1寸毫针平刺百会穴和斜刺大椎穴,约7 mm^[16]。非穴位电针组用电针刺激右侧肢体腋横纹下和尾骨尖下3 mm的非穴位处。穴位电针组用电针刺激百会穴和大椎穴。电针处理使用G6805-2电针治疗仪进行,采用疏密波,密波:6.25 Hz,强度:1.0 mA,时间:2.08 s;疏波:3.85 Hz,强度:1.0 mA,时间:1.28 s,共持续30 min。

1.5 SRS监测

通过视频监控确定建模成功的每只动物的SRS发生次数。由于匹罗卡品模型中发生SRS的频率在光照(昼间)期间比黑暗(夜间)期间高得多,所以SRS记录均在光照期间进行。每天对动物进行视频监控(每天8 h,上午8:00至12:00和下午14:00至18:00),使用光敏黑白摄像机(CCD Kamera Modul, Conrad Electronic, Germany)拍摄。监测从建模成功第2天开始,一直持续到第45天。

1.6 qRT-PCR检测检测GAD67 mRNA水平表达

将脑组织于冰上匀浆,提取脑膜组织中总RNA,利用逆转录试剂盒将RNA逆转录为cDNA,应用Primer5.0软件设计GAD67和GAPDH mRNA的特异性引物,GAPDH作为内参照。引物序列分别为:大鼠GAPDH正向5'-ACTCCCATCTCTCCACCTTTG-3';反向5'-CCCTGTTGCTGTAGCCATATT-3';GAD67正向5'-AAGTTCTGGCTGATGTGGAAGC';反向5'-TGTGCTCAGGCTCACCATTGAA-3'。每个样本做3个复孔检测,PCR反应体系总体积为20 μL,反应条件:42℃孵育2 min;95℃预变性30 s;95℃预变性5 s,60℃预变性34 s,40个循环。采用ABI7500系统软件进行数据采集、分析。利用qRT-PCR测定对照基因和目的基因的Ct值,将Ct值转化为相对倍数,从而计算目的基因的表达量:采用实验组/对照组=2^{-ΔΔCt}进行计算。

1.7 Western blotting检测GAD67蛋白表达

取大鼠脑组织,液氮磨成粉末,加入100 μL PBS,50 μL收集的蛋白中,加入150 μL 4×loading buffer,混匀后,100℃水浴5 min,冰上冷却。配置好分离胶和浓缩胶,每孔上样40 μL,电泳90 min。转移结束后关掉电源,取出PVDF膜放入容器(培养皿)中,加适量的封闭缓冲液[含5%(w/v)脱脂奶粉的PBS缓冲液],室温轻轻摇动温育1~2 h。换新的培养皿,加入10 mL上述封闭缓冲液,并按1:1 000的量加入兔抗大鼠GAD67多克隆抗体(一抗),

4℃孵育过夜。PBS缓冲液洗涤3次,每次10 min。将PVDF膜转移至另一培养皿中,加入含有5%脱脂奶粉的二抗缓冲液,并以1:5 000量加入HRP标记羊抗兔IgG(二抗),室温摇动温育1 h。再将PVDF膜转移至另一培养皿中,加适量二抗缓冲液(150 mmol/L NaCl, 50 mmol/L Tris-HCl pH 7.5),室温洗涤3次,每次10 min。ECL加底物显色液,拍照。

1.8 免疫组织化学(免疫组化)染色检测GAD67蛋白表达

对大鼠进行灌注取材,腹腔注射10%水合氯醛麻醉大鼠,迅速取出脑组织,用4%多聚甲醛4℃固定12 h。取出脑组织后常规梯度酒精脱水,二甲苯透明,在石蜡中浸泡并进行包埋。以切片厚度4 μm进行连续冠状切片。石蜡切片常规二甲苯脱蜡,梯度酒精至水;加入含1% Triton和3% H₂O₂的磷酸缓冲盐溶液(PBS),于4℃冰箱中孵育30 min,以去除内源性过氧化物酶,PBS漂洗3次,每次5 min;滴加含有10% BSA的封闭液封闭约2 h;加入1:100稀释的兔抗大鼠GAD67多克隆抗体(一抗),于4℃冰箱中孵育过夜,然后PBS漂洗3次,每次5 min;滴加生物素标记羊抗兔IgG(二抗)工作液,室温下孵育约1 h,PBS漂洗3次,每次5 min;DAB显色液显色,显微镜下观察显色情况,并予PBS终止显色反应。

1.9 统计学方法

采用SPSS 21.0统计软件包对数据进行统计学分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),多组间两两比较采用LSD-*t*检验。*P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 电针对癫痫模型大鼠SRS次数的影响

所有建模成功的大鼠在第16天均出现了SRS。4组间SRS次数比较,差异有统计学意义(*P*<0.05)。假刺激组和非穴位电针组SRS次数与癫痫组相比,差异均无统计学意义(*P*>0.05)。穴位电针组SRS次数与癫痫组、假刺激组和非穴位电针组比较,次数均减少,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表1。

表1 电针对癫痫模型大鼠SRS次数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	SRS次数/次
癫痫组	10	26.35±3.84
假刺激组	10	27.03±3.15 ^a
非穴位电针组	10	26.89±2.14 ^a
穴位电针组	10	18.22±2.73 ^b
<i>F</i> 值		16.530
<i>P</i> 值		<0.001

注:a为与癫痫组比较,*P*>0.05;b为与癫痫组比较,*P*<0.01

2.2 电针治疗后癫痫大鼠海马组织GAD67 mRNA 表达变化

qRT-PCR 结果显示:5 组之间 GAD67 mRNA 表达水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。与对照组比较,癫痫组大鼠海马组织中 GAD67 mRNA 表达下调近 2 倍,差异有统计学意义($P<0.05$)。连续 8 周电针百会和大椎穴治疗后,与癫痫组相比,穴位电针组大鼠海马组织中 GAD67 mRNA 表达水平有明显的上调,差异有统计学意义($P<0.05$)。而在癫痫组、假刺激组和非穴位电针组中,大鼠海马组织中 GAD67 mRNA 水平差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

2.3 电针治疗后癫痫大鼠海马组织 GAD67 蛋白表达水平变化

Western blotting 结果显示:与对照组比较,癫痫组大鼠海马组织中 GAD67 蛋白水平表达有明显下调($P<0.05$)。连续 8 周电针百会和大椎穴治疗后,与癫痫组相比,穴位电针组大鼠海马组织中 GAD67 蛋白表达水平明显上调,差异有统计学意义($P<0.05$)。见图 1。

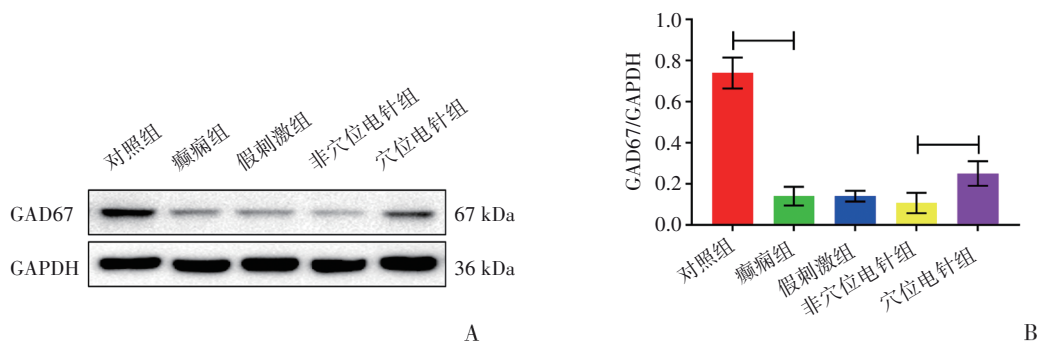
免疫组织化学染色结果显示:GAD67 在对照组大鼠

表 2 qRT-PCR 检测各组海马组织 GAD67 mRNA 表达水平变化 ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	GAD67 mRNA 相对表达量
对照组	10	0.9852±0.2541
癫痫组	10	0.3720±0.1235 ^a
假刺激组	10	0.3961±0.0952 ^a
非穴位电针组	10	0.3807±0.1493 ^a
穴位电针组	10	0.7165±0.2769 ^b
F 值		115.780
P 值		<0.001

注:a 为与对照组比较, $P<0.01$; b 为与癫痫组比较, $P<0.01$

海马 CA3 和 DG 区锥体细胞层均有广泛表达(图 2A、图 2F、图 3)。与对照组比较,GAD67 蛋白在癫痫组大鼠海马 DG 区的表达水平明显减少(图 2B、图 3);与癫痫组相比,假刺激组和非穴位电针组大鼠海马 DG 区 GAD67 的表达水平变化不明显(图 2C、图 2D、图 3);而穴位电针组中大鼠海马 DG 区 GAD67 的表达水平显著增加(图 2E、图 3)。在 CA3 区,癫痫组、假刺激组、非穴位电针组和穴位电针组中 GAD67 蛋白表达水平与对照组相比变化不明显(图 2F、图 2G、图 2I、图 2J、图 3)。



A: Western blotting 检测条形图; B: Western blotting 检测各组 GAD67 蛋白表达水平柱形图

图 1 Western blotting 检测各组海马组织 GAD67 蛋白表达水平变化

3 讨论

在许多研究中,电针已经应用于癫痫患者的治疗,并且已经报道了电针抗癫痫机制的一些证据。百会和大椎穴是中医药中使用最广泛和最有效的穴位之一,而且之前的研究表明,百会和大椎穴是使用电针治疗癫痫的一个实际选择。电针治疗后一氧化氮合酶的减少^[17]和褪黑素的增加^[18]有助于电针的抗癫痫作用。研究还发现,针刺可提高癫痫大鼠中枢神经系统中的 GABA 水平,这表明针刺抗癫痫作用可能部分归因于其调节中枢神经系统中 GABA 水平的作用^[19-20]。GAD67 是 GABA 产生的限速酶,也是 GABA 能神经元的标志物。然而,在这些研究中,很少有人提供自发反复发作和 GAD 67 表达的数据用

于疗效评估和机制探索。

本研究旨在研究电针在百会和大椎穴的抗癫痫作用,并通过检测 GAD67 在 CA3 和 DG 区中的表达,探讨电针百会和大椎穴抗癫痫作用的机制。我们在本研究中采用的实验模型是锂—匹罗卡品癫痫模型,与人类颞叶癫痫相似^[21]。海马组织 CA3 和 DG 区是颞叶癫痫的重要参与者。因此,我们在本研究中主要观察了 GAD67 在 CA3 和 DG 区中的表达变化。作为机制探索的前提,首先进行 SRS 监测以确定抗癫痫作用,评估电针作为治疗癫痫手段的潜在价值。我们发现电针百会和大椎穴可显著降低 SRS 频率,癫痫模型大鼠 CA3 和 DG 区的 GAD67 表达水平显著低于正常大鼠。电针百会和大椎穴后海马组织中

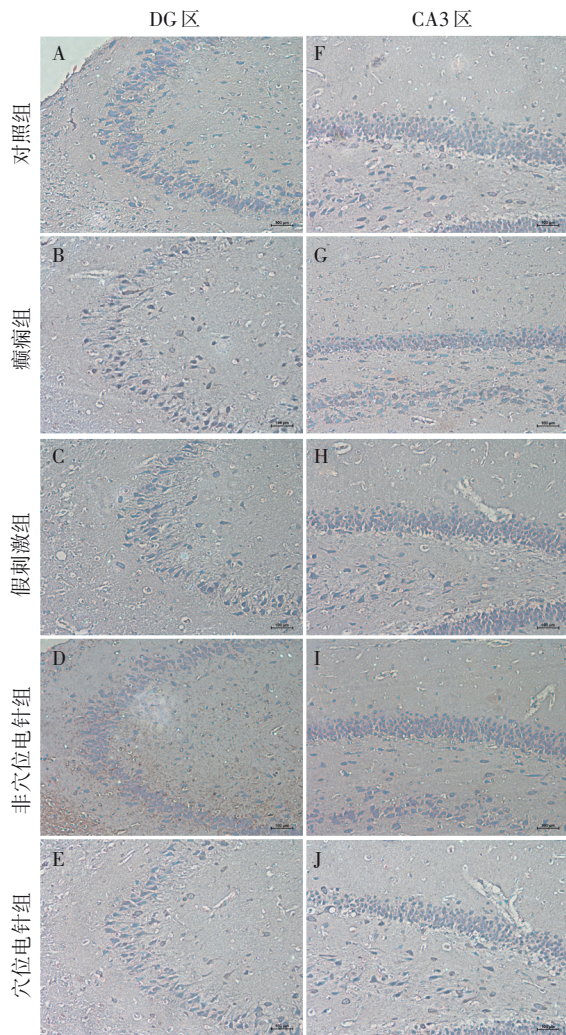


图2 免疫组织化学染色检测GAD67($\times 200$)

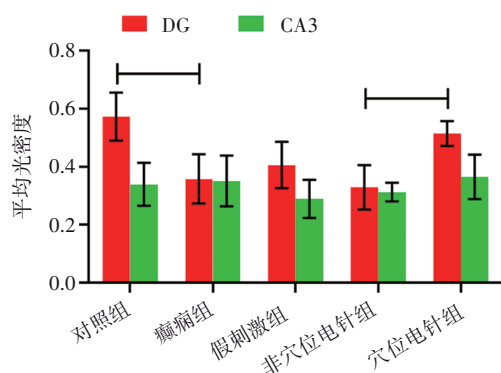


图3 免疫组织化学染色检测GAD67在海马DG区和CA3区各组的表达变化

GAD67表达增强,提示边缘癫痫中GABA能增强神经传递,这支持自我保护和抗惊厥机制^[22]。事实上,一些早期报告已经发现癫痫实验模型中GABA功能的长期和短期增加^[23-24]。

Dos等^[25]发现,在匹罗卡品癫痫模型大鼠中,足三里穴位的电针可防止某些边缘结构(包括海马组织)的神经元损伤,这可能防止了GABA引起的神经元丢失。正如我们前面提到的,GAD67被认为是神经元释放GABA活性的标志。电针足三里穴可能通过提高GAD67的表达水平,从而提高了齿状回GABA能神经元的活性。其他研究也发现^[26],针刺百会和大椎穴可增加DG区的细胞增殖,从而在DG细胞层产生新的细胞。这些新产生的细胞来源于DG区的神经干细胞,包括GABA能神经元。这解释了电针百会和大椎穴在CA3和DG区GAD67表达变化的原因。

本研究的局限性在于,无法对未麻醉的癫痫大鼠进行电针或假电针,因为在清醒时癫痫大鼠容易激动,对环境条件适应缓慢,因此难以准确定位针刺点。因此,他们在轻度麻醉条件下接受电针或假电针。但这可能会对大脑神经递质和突触传递以及电针效应产生影响。为了减少影响,我们对大鼠进行轻度麻醉,其中戊巴比妥钠(40 mg/kg,腹腔注射)的剂量低于正常剂量(60 mg/kg,腹腔注射)。未接受刺激的大鼠(对照组和非电针组)也被轻度麻醉,以消除各组间麻醉剂引起的影响差异。

综上所述,本研究结果表明,电针百会和大椎穴对锂一匹罗卡品诱导的癫痫大鼠具有一定的抗癫痫作用,该作用伴随着CA3和DG区GAD67表达的增加。这些发现为电针的抗颞叶癫痫作用机制提供了具体证据。

参 考 文 献

- [1] AKYUZ E, POLAT AK, EROGLU E, et al. Revisiting the role of neurotransmitters in epilepsy: an updated review[J]. Life Sci, 2021, 265: 118826.
- [2] PAVLOV I, WALKER MC. Tonic GABA(A) receptor-mediated signalling in temporal lobe epilepsy[J]. Neuropharmacology, 2013, 69: 55-61.
- [3] KHAZIPOV R, VALEEVA G, KHALILOV I. Depolarizing GABA and developmental epilepsies[J]. CNS Neurosci Ther, 2015, 21(2): 83-91.
- [4] LEE SE, LEE Y, LEE GH. The regulation of glutamic acid decarboxylases in GABA neurotransmission in the brain[J]. Arch Pharm Res, 2019, 42(12): 1031-1039.
- [5] 袁恺,张黎恒,赵日霞,等. 针刺对抑郁大鼠海马GAD65、GAD67调控作用研究[J]. 河北中医药学报, 2018, 33(1): 5-8.
- [6] CHOWDHURY S, MATSUBARA T, MIYAZAKI T, et al. GABA neurons in the ventral tegmental area regulate non-rapid eye movement sleep in mice[J]. Elife, 2019, 8: e44928.
- [7] ZHANG YF, VANMEERT M, SIEKIERSKA A, et al. Inhibition of glutamate decarboxylase (GAD) by ethyl ketopentenoate (EKP) induces treatment-resistant epileptic seizures in zebrafish [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 7195.
- [8] GULCEBI M, AKMAN O, CARCAK N, et al. Evaluation of GAD67 immunoreactivity in the region of substantia nigra pars

- reticulata in resistance to development of convulsive seizure in genetic absence epilepsy rats[J]. *North Clin Istamb*, 2017, 3(3): 161-167.
- [9] 何伟, 朱兵, 喻晓春, 等. 西方针灸和中医针灸的比较与启示[J]. *中国针灸*, 2015, 35(2): 105-108.
- [10] 乔嘉, 李洋洋, 黄银兰, 等. 百会、大椎、足三里对癫痫大鼠神经保护机制的影响研究[J]. *中华中医药学刊*, 2019, 37(4): 918-921.
- [11] 吴立群, 邹小秋, 李荣蓉, 等. 针灸治疗癫痫的作用机理研究概况[J]. *江苏中医药*, 2018, 50(2): 82-85.
- [12] XIAO LY, WANG XR, YE Y, et al. Applications of acupuncture therapy in modulating plasticity of central nervous system[J]. *Neuromodulation*, 2018, 21(8): 762-776.
- [13] VILLARREAL SANTIAGO M, TUMILTY S, MACZNIK A, et al. Does acupuncture alter pain-related functional connectivity of the central nervous system? A systematic review[J]. *J Acupunct Meridian Stud*, 2016, 9(4): 167-77.
- [14] WANG J, PEI J, KHIATI D, et al. Acupuncture treatment on the motor area of the scalp for motor dysfunction in patients with ischemic stroke: study protocol for a randomized controlled trial [J]. *Trials*, 2017, 18(1): 287.
- [15] FERNÁNDEZ - GARCÍA S, SANCHO - BALSELLS A, LONGUEVILLE S, et al. Astrocytic BDNF and TrkB regulate severity and neuronal activity in mouse models of temporal lobe epilepsy[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(6): 411.
- [16] 华兴邦, 周浩良. 大鼠穴位图谱的研制[J]. *实验动物与动物实验*, 1991(1): 1-5.
- [17] HSIEH CL, CHANG QY, LIN IH, et al. The study of electroacupuncture on cerebral blood flow in rats with and without cerebral ischemia[J]. *Am J Chin Med*, 2006, 34(2): 351-361.
- [18] HUANG CL, TSAI PS, WANG TY, et al. Acupuncture stimulation of ST36 (Zusanli) attenuates acute renal but not hepatic injury in lipopolysaccharide - stimulated rats[J]. *Anesth Analg*, 2007, 104(3): 646-654.
- [19] KIM EH, KIM YJ, LEE HJ, et al. Acupuncture increases cell proliferation in dentate gyrus after transient global ischemia in gerbils[J]. *Neurosci Lett*, 2001, 297(1): 21-24.
- [20] KIM EH, JANG MH, SHIN MC, et al. Acupuncture increases cell proliferation and neuropeptide Y expression in dentate gyrus of streptozotocin - induced diabetic rats[J]. *Neurosci Lett*, 2002, 327(1): 33-36.
- [21] JANG-HERN L, BEITZ AJ. The distribution of brain-stem and spinal cord nuclei associated with different frequencies of electroacupuncture analgesia[J]. *Pain*, 1993, 52(1): 11-28.
- [22] 刘俊, 程介士. 大鼠海人藻酸诱发癫痫及针刺抗痫时海马内氨基酸释放的变化[J]. *针刺研究*, 1995, 20(3): 50-54.
- [23] MARTIN DL, RIMVALL K. Regulation of gamma-aminobutyric acid synthesis in the brain[J]. *J Neurochem*, 1993, 60(2): 395-407.
- [24] NAJLERAHIM A, HARRISON PJ, BARTON AJ, et al. Distribution of messenger RNAs encoding the enzymes glutaminase, aspartate aminotransferase and glutamic acid decarboxylase in rat brain[J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 1990, 7(4): 317-333.
- [25] DOS SANTOS JG Jr, TABOSA A, MONTE FHMDO, et al. Electroacupuncture prevents cognitive deficits in pilocarpine-epileptic rats[J]. *Neurosci Lett*, 2005, 384(3): 234-238.
- [26] 王津存, 黄远桂, 温晓妮, 等. 电针穴位刺激对致痫大鼠海马齿状回神经发生及行为学变化影响的实验研究[J]. *第四军医大学学报*, 2006, 27(5): 441-444.

责任编辑: 龚学民