

头穴透刺对脑出血大鼠血肿周围脑组织神经生长因子表达的影响

牛彦彦 鲍春龄 岳亚琳 石 程

摘要 **目的** 观察头穴透刺法对脑出血大鼠血肿周围脑组织神经生长因子(NGF)表达的影响。**方法** 健康雄性 Wistar 大鼠 120 只,按照随机数字表法分为假手术组、模型组、针刺组,每组 40 只,每组再随机分为 6 h、24 h、3 d、7 d 4 个时点。采用改良的自体动脉血法制备大鼠脑出血模型,给予“百会”透“太阳”穴电针干预。通过 Longa 评分法进行神经行为学评估,免疫组织化学法检测血肿周围脑组织 NGF 的阳性细胞表达,q-PCR 法检测 NGF mRNA 表达量。**结果** 与假手术组比较,模型组各时点神经行为学评分升高,NGF 阳性细胞数增多,NGF mRNA 表达上调,差异有统计学意义($P < 0.05$);与模型组比较,针刺组 6 h 神经行为学评分、NGF 的阳性细胞数,NGF mRNA 表达均无明显变化,差异无统计学意义($P > 0.05$),针刺组 24 h、3 d、7 d 神经行为学评分降低,NGF 阳性细胞数增多,NGF mRNA 表达上调,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** “百会”透“太阳”头穴透刺通过上调 NGF 基因及蛋白的表达,促进脑出血大鼠神经功能恢复,具有良好的神经保护作用。

关键词 头穴透刺;脑出血;神经保护;神经生长因子

Effect of Scalp Penetration Acupuncture on the Expression of NGF in Brain Tissue around Hematoma of Intracerebral Hemorrhage Rats NIU Yan-yan, BAO Chun-ling, YUE Ya-lin, and SHI Cheng Yueyang Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai (200437)

ABSTRACT **Objective** To observe the effects of scalp penetration acupuncture on the expression of nerve growth factor (NGF) in brain tissue around hematoma of intracerebral hemorrhage rats. **Methods** Totally 120 healthy male Wistar rats were divided into the sham-operation group, the model group, the acupuncture group by random digit table, 40 in each group. Rats in each group were further randomly divided into 4 time points, i.e., 6 h, 24 h, day 3, day 7. The intracerebral hemorrhage rat model was prepared by modified autologous arterial blood method, intervened by electroacupuncture (EA) at Baihui (DU20) through Taiyang (EX-HN5). Neuroethological assessment was conducted by Longa score. The expression of NGF positive cells in brain tissue around hematoma was detected using immunohistochemical method. The amount of NGF mRNA expression was measured by q-PCR. **Results** Compared with the sham-operation group, neurobehavioral scores increased, NGF positive cells increased, NGF mRNA expression increased in the model group at each time point, with statistical difference shown ($P < 0.05$). Compared with the model group, 6 h neurobehavioral scores, NGF positive cells, mRNA expression of NGF did not change significantly in the acupuncture group, with no statistical difference shown ($P > 0.05$). Neuroethological scores decreased, NGF positive cells increased, mRNA expression of NGF was up-regulated in the acupuncture group at 24 h, day 3 and 7, respectively, with statistical difference shown ($P < 0.05$). **Conclusion** scalp penetration acupuncture could up-regulate gene and protein expressions of NGF, and promote recovery of nerve function, showing favorable neuroprotective effects.

KEYWORDS scalp penetration; intracerebral hemorrhage; neuroprotection; nerve growth factor

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81202747)

作者单位:上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院(上海 200437)

通讯作者:鲍春龄, Tel:18930560871, E-mail: chunlingb@163.com

DOI: 10.7661/CJIM.2016.09.1107

脑出血(intracerebral hemorrhage, ICH)后血肿造成脑实质损害,血肿边缘的半暗带区发生一系列的病理生理过程,脑组织血液供应障碍,缺血缺氧,导致水肿半暗带的细胞死亡,从而出现脑功能障碍。积极有效地保护脑出血后神经元的损伤,挽救脑出血半暗带,恢复其神经功能,仍然是目前神经科学研究的重点和难点。神经生长因子(never growth factor, NGF)具有维持交感神经和感觉神经细胞存在,促进神经细胞分化,决定轴突生长方向,促进损伤的中枢神经修复,维持生存及诱导突起生长的作用,对中枢神经损伤起到重要的神经保护作用^[1]。近年来人们对 NGF 结构与神经损伤相关部位的功效有了广泛深入地研究和认识。如 NGF 的信号传递路径^[2]、NGF 在炎症疼痛及修复过程中的作用^[3]、NGF 的基因表达影响因子^[4]、NGF 及受体在肿瘤的形成和肿瘤疼痛中的角色^[5]及结合神经生长因子各种载体的基因表达^[6]等方面都开展了研究。随着对 NGF 功能的了解,对该类药物及 NGF 拮抗剂药物^[7]用于治疗某些慢性疾病或者疼痛也进行了很多试验和探索,但针灸对 ICH 后脑组织 NGF 影响的报道尚不多见^[8]。而头针透刺治疗脑出血的有效性,已经在临床实践中得到广泛的证实^[9]。本研究通过“百会”透“太阳”头穴透刺法观察其对脑出血大鼠血肿周围脑组织 NGF 表达的影响,现报道如下。

材料与方法

1 动物及分组 健康雄性 Wistar 大鼠 120 只,清洁级,体重(300 ± 20) g,由上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院实验动物中心提供,实验动物生产许可证号:SCXK(沪)2012-0002,实验动物使用许可证号:SYXK(沪)2013-0109。室温 22 ~ 25 ℃,相对湿度 45% ~ 65%,适应性饲养 1 周。按随机数字表法分为 3 组,每组 40 只,每组又随机分 6 h、24 h、3 d、7 d 4 个时点,每个时点 10 只动物,5 只用于免疫组化检测,5 只用于 q-PCR 检测。

2 主要试剂及仪器 脑立体定位仪 SR-6N 型(日本 Stoelting 公司),电动颅骨钻 DB014(北京智鼠多宝生物科技有限责任公司),100 μL 微量进样器(上海高鸽工贸有限公司),德国莱卡 2135 型切片机,美国 Moticam3000 显微摄影成像系统,华佗牌针灸针(苏州医疗用品厂有限公司),电针治疗仪:G6805-II 型(上海华谊医用仪器有限公司),超细匀浆器 F6/10-6G(Fluko 上海流体机械制造有限公司),q-PCR 仪 ViiA7(life technology ABI),Anti-NGF antibody(ABCam, ab6199),K5007 型组化试剂盒、DAB 显

色剂(DAKO 公司)、BioTNT 逆转录试剂盒等。

3 方法

3.1 ICH 模型制作 参照任泽光的方法^[10]复制脑出血模型并进行改良,调整立体定向仪使门齿钩平面比耳间线平面低 2.4 mm,头颅背侧剪去鼠毛,75%酒精消毒后于正中切开约 10 mm 纵行切口,30%的双氧水剥蚀骨膜,暴露前囟点 bregma,于 bregma 点正中,中线右侧旁开 3.5 mm 向后 0.2 mm 处,用微型打磨电钻钻一直径约 1 mm 的小孔,注意不伤及硬脑膜,将微量进样器固定于此。用微量进样器进针抽取 100 μL 自体股动脉血液,向脑内注射,深度为 6.0 mm,匀速注射自体动脉血,10 min 内注射完毕后留针 10 min,移出针头,骨蜡封闭针孔,碘伏消毒,缝合头皮。术后标准鼠笼分笼饲养,给予 12 h 光照 12 h 黑暗循环,饲养温度 20 ~ 25 ℃,相对湿度 40% ~ 65%,自由进水及食物。

3.2 分组处理方法 按随机数字表法分为假手术组:向大鼠脑内尾状核中心部注入 100 μL 0.9%的生理盐水。模型组:向大鼠脑内尾状核中心部注入 100 μL 自体股动脉血,不做干预。针刺组:大鼠造模成功后 1 h,给予“百会”透“太阳”穴电针干预,百会在大鼠头顶两耳根连线与前后中线交点(相当于人体百会处),太阳在外眼角与耳之间的凹陷中(相当于人体太阳穴),参照大鼠穴位图谱的研制^[11]。常规消毒,以 0.25 mm × 30 mm 毫针两根,分别刺入百会(向右前太阳穴方向)和右侧太阳穴。将 G-6805 II 型电针仪正极接百会穴毫针,负极接太阳穴毫针,连续波,频率 2 Hz,电流强度 1 mA,留针 30 min。从造模成功后 1 h 开始进行针灸治疗,1 次/d,直至相应时点取材。

3.3 观察项目及检测方法

3.3.1 神经行为学评分 大鼠苏醒后参照 Longa 法^[12]评分。0 分:未见神经病学征象,无神经功能缺损症状;1 分:大鼠被提尾倒悬时,病灶右侧前肢呈屈曲、抬高状态,不能伸展右侧前爪;2 分:有向瘫痪侧旋转的征象,即行走右侧转圈;3 分:有向病灶对侧跌倒的征象,即行走困难并向右侧倾倒;4 分:不能自发行走,意识水平呈下降状态。达到 1 ~ 3 分为造模成功,采用差额补充的方法以保证每组的实验动物例数。

3.3.2 NGF 阳性细胞数 造模完成后相应的时间点,将大鼠处死、取材。先将 0.9%的生理盐水和 4%的多聚甲醛固定液 4 ℃预冷。10%的水合氯醛(0.4 mL/100 g)腹腔注射麻醉,打开横膈,迅速开胸暴露心脏,立刻将输液针头由左心室插入主动脉,剪开右心耳,生理盐水快速灌注约 250 mL 后,大鼠肝脏由暗红转为

浅黄,右心耳缺口处流出液体已澄清,换成4%多聚甲醛继续灌注,先快速灌注 100 mL,剩余 150 mL 缓慢滴注。可观察到大鼠四肢剧烈抽搐,全身多处明显的肌肉颤动。约 30 min 后,大鼠颈部、四肢及尾部僵硬。断头,暴露颅骨,取出大脑。用锋利的刀片,于冠状位取针道前后 1.5~2 mm 之间的脑组织。连同包埋架一起投入 4%多聚甲醛内,于 4℃固定约 24 h,石蜡包埋,制成厚约 4 μm 的切片,进行免疫组化染色。

Moticam3000 显微摄影系统于 400 倍下摄片,采用 Image-pro plus6.0 病理图像分析系统对阳性表达细胞数进行分析,DAB 显色阳性细胞呈棕黄色或褐色,每张切片随机观察并计数脑出血区血肿周边 5 个不重复视野,计算阳性细胞总数。

3.3.3 NGF mRNA 表达量 组织样品按 50~100 mg/mL Trizol 加入 Trizol,用电动匀浆器充分匀浆约 1~2 min;组织匀浆或细胞破碎后,室温放置 5 min,使其充分裂解;12 000 r/min 离心 5 min,弃沉淀;按 200 μL 氯仿/mL Trizol 加入氯仿,振荡混匀后室温放置 15 min;4℃12 000 g 离心 15 min;吸取上层水相,至另一离心管中;按 0.5 mL 异丙醇/mL Trizol 加入异丙醇混匀,室温放置 5~10 min;4℃12 000 g 离心 10 min,弃上清,RNA 沉于管底;按 1 mL 75%乙醇/mL Trizol 加入 75%乙醇,温和振荡离心管,悬浮沉淀;4℃8 000 g 离心 5 min,尽量弃上清;室温晾干或真空干燥 5~10 min;用 50 μL H₂O,溶解 RNA 样品,55~60℃5~10 min。取去除核酸酶的无菌 EP 管,放置冰上;分别加入 Oligo (dT) 1 μL,模板 RNA 2 μL,去核酸酶的水 9 μL;70℃加热 5 min,立即将微量离心管插入冰浴中至少 1 min;再分别加入 Buffer 5 μL,dNTP 1.25 μL,RNA 酶抑制剂 0.375 μL,逆转录酶 1 μL,补足水至总体积 25 μL;42℃反应持续 60 min 终止反应;所得产物即 cDNA,-80℃保存。设置内参 GAPDH 引物:上游引物序列 5'-GTG CCA GCC TCG TCT CAT A-3',下游引物序列 5'-GAA CTT GCC GTG GGT AGA G-3';引物长度:187 bp NGF 上游引物 5'-AGT GTG TGG GTT GGA GAT A-3',下游引物:5'-AAA GGT GTG AGT CGT GGT G-3',引物长度:204 bp 设置 PCR 反应体系:2×荧光染料混合物 5 μL,上游引物 1 μL,下游引物 1 μL,cDNA 模板 0.5 μL,去 RNA 酶水定容至 10 μL。PCR 扩增反应条件为预变性 95℃10 min,变性 95℃15 s,退火延伸 60℃30 s,经 40 个循环;PCR 溶解反应条件为 95℃15 s,60℃30 s (0.3℃/s),95℃15 s。通过 2^{-ΔCt} 最终算得样品

mRNA 的相对含量。

3.4 统计学方法 采用 SPSS 20.0 软件进行统计,计量数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,3 组比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 *q* 检验,*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠不同时间点神经行为学评分比较 (表 1) 假手术组大鼠未见明显的神经功能变化。造模成功后模型组大鼠出现病灶对侧上下肢瘫痪,表现为肢体活动减少或肢体无力,多数大鼠不能直行,站立不稳,呈“划圈样”步态;术后 6 h 模型组出现神经缺损症状,24 h 模型组神经缺损最为严重,3 d 时逐渐减轻,至第 7 d 时,神经缺损症状又进一步减轻,但行为学评分仍在 2 分以上。针刺组在 24 h 及 3、7 d 时均较模型组行为学评分减少,差异均有统计学意义(*P* < 0.05)。

表 1 各组大鼠不同时点神经行为学评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	神经行为学评分			
		6 h	24 h	3 d	7 d
假手术	40	0.40 ± 0.24	1.20 ± 0.42	0	0
模型	40	1.90 ± 0.43 *	3.81 ± 0.25 *	2.74 ± 0.48 *	2.08 ± 0.42 *
针刺	40	1.85 ± 0.38	2.53 ± 0.42 ^Δ	2.02 ± 0.23 ^Δ	1.47 ± 0.44 ^Δ

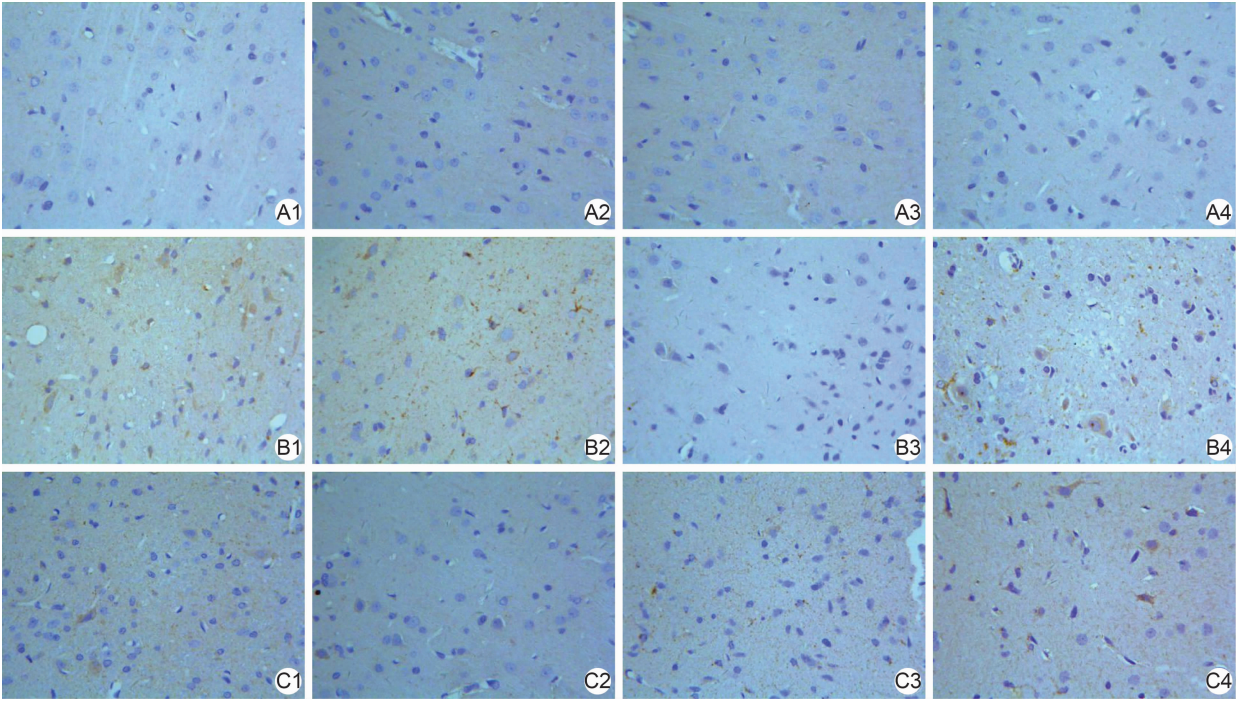
注:与假手术组同期比较,**P* < 0.05,与模型组同期比较,^Δ*P* < 0.05

2 各组大鼠不同时点血肿周围脑组织 NGF 阳性细胞数比较 (表 2,图 1) 假手术组可见少量 NGF 阳性细胞表达,且在各时点无明显变化。模型组 NGF 在血肿周围开始出现表达增加,24 h、3 d 时 NGF 阳性细胞数继续增加,7 d 时达最高。从阳性细胞的形态来看,大部分为神经元细胞,胞体较大,形态较规则,免疫阳性颗粒位于胞体和突起,呈均匀的棕黄色颗粒。小部分是胶质细胞,呈圆形或椭圆形,形态不规则,阳性颗粒位于细胞胞质。与假手术组比较,模型组各时点 NGF 阳性细胞数增多,差异均有统计学意义(*P* < 0.05);与模型组比较,针刺组 24 h 及 3、7 d 时

表 2 各组大鼠不同时点血肿周围脑组织 NGF 阳性细胞数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	NGF 阳性细胞数 (个)			
		6 h	24 h	3 d	7 d
假手术	20	0	45.3 ± 1.4	69.0 ± 4.1	77.1 ± 1.2
模型	20	43.3 ± 1.5 *	234.7 ± 2.1 *	245.2 ± 1.4 *	267.4 ± 2.7 *
针刺	20	32.3 ± 2.7	275.1 ± 2.3 ^Δ	290.3 ± 2.0 ^Δ	315.5 ± 1.9 ^Δ

注:与假手术组同期比较,**P* < 0.05,与模型组同期比较,^Δ*P* < 0.05



注：A 为假手术组，A₁、A₂、A₃、A₄ 分别为 6 h、24 h、3 d、7 d；B 为模型组，B₁、B₂、B₃、B₄ 分别为 6 h、24 h、3 d、7 d；C 为针刺组，C₁、C₂、C₃、C₄ 分别为 6 h、24 h、3 d、7 d

图 1 各组大鼠不同时间 NGF 免疫组化阳性细胞表达结果（DAB 显色，×400）

NGF 阳性细胞数均增多，差异亦有统计学意义 ($P < 0.05$)。

3 各组大鼠不同时间血肿周围脑组织 NGF mRNA 表达量比较(表 3) 取 GAPDH 作为内参。脑出血后 6、24 h 及 3、7 d，假手术组大鼠 NGF mRNA 表达量未见明显变化；脑出血后 6 h，模型组 NGF mRNA 表达量开始升高，24 h 达最高，后开始降低，至 7 d 时最低。与假手术组比较，模型组各时点 NGF mRNA 表达均上调，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)；针刺组 24 h 及 3、7 d 时，NGF mRNA 表达量均上调，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 3 各组大鼠不同时间血肿周围脑组织 NGF mRNA 表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NGF mRNA			
		6 h	24 h	3 d	7 d
假手术	20	1.00 ± 0.29	1.05 ± 0.18	1.07 ± 0.13	1.01 ± 0.15
模型	20	1.41 ± 0.23 *	1.91 ± 0.18 *	1.40 ± 0.11 *	0.94 ± 0.23
针刺	20	1.23 ± 0.03	2.10 ± 0.12 [△]	1.64 ± 0.19 [△]	1.27 ± 0.25 [△]

注：与假手术组同期比较，* $P < 0.05$ ，与模型组同期比较，[△] $P < 0.05$

讨 论

透刺作为一种刺法，其理论萌芽始于中医传统经典著作《黄帝内经》。但透穴之名称则始见于《玉龙

歌》中“偏正头风最难医，丝竹金针亦可施，沿皮向后透率谷，一针两穴世间稀”^[13]。

透刺法，即一针两穴的透刺针法，以同一针作用于两个穴位，采用不同的针刺方向，针刺角度和针刺深度来治疗疾病的一种方法。随着常规头针的问世，头穴透刺作为一种独立的治疗方法引起了国内外学者的关注，施以手法催气，能鼓动头部经气的运行，通达全身经络系统。在之后的十几年里，相继有多种头针法用于临床，如山西焦顺发创立的焦氏“头针疗法”、黑龙江于致顺的于氏“头穴透针”、陕西方云鹏的方氏“头皮针”、上海林学俭的“头针刺激新区”以及陕西朱龙玉的“颅针”等相继问世，使头针理论日趋完善^[14]。头针应用于临床后，头穴透刺治疗中风得以形成独特的医疗模式受到医学界的重视并得以推广。东贵荣等^[15]采用病灶侧百会至太阳穴区针刺治疗急性 ICH 56 例，总有效率 98%，疗效明显优于西药组和碎吸术治疗组 ($P < 0.01$)。

有研究表明，采用 CT 影像学 and 体感诱发电位、运动诱发电位、脑电地形图等神经电生理技术，急性脑出血完全可以应用头穴针刺治疗而且疗效显著^[16]。东贵荣教授采用运动诱发电位技术研究证实^[17]，头穴透刺是头针治疗中风病的最佳治疗区。头穴透刺取百会透太阳穴区，在头部贯穿顶、额、颞三区，这一区域包括承

灵、悬厘穴,形成了百会-承灵-悬厘-太阳穴的一穴区贯穿多穴的特点。此穴区跨越 3 条阳经(督脉、足太阳膀胱经、足少阳胆经)。3 条阳经循行从头至足,纵贯全身,具有统调一身之阳气的功能。

东贵荣教授提出的“百会-太阳穴透刺疗法”是建立在“腧穴-中枢(脑和脊髓)-脏腑”相关理论的基础上:针刺头部穴位及相应的功能投射区,可将刺激产生的生物电效应传送至大脑皮层,促进穴位兴奋点与病灶兴奋点间的相互作用,还可激活或加强休眠状态下的脑细胞和受损脑神经细胞的兴奋性,促进脑组织神经细胞的可塑性调节,调节血管舒缩功能,改善神经功能障碍,从而促进肢体功能恢复^[18]。

NGF 广泛分布于中枢神经系统,对神经系统有重要的神经营养和促神经突触生长的生物学效应,其在阳性细胞中完全表达于神经元和胶质细胞的胞体和突起。有基础研究证明氧自由基介导的脂质过氧化物反应参与了脑出血的过程并使之加重^[19]。也有实验表明,NGF 对神经元的保护作用可能部分是通过阻抑神经元发生凋亡的过程来实现,尤其是在损伤后引起的迟发性神经元死亡中发挥重要作用^[20]。有学者认为,NGF 能增强胞内排出 Ca^{2+} 的能力以及 Ca^{2+} 缓冲能力,提示神经营养因子能够影响那些调节 Ca^{2+} 内流的蛋白质的表达及功能。石秋艳等^[21]观察了 NGF 在脑出血大鼠脑组织中表达的变化,在正常组和假手术组中,发现少量的 NGF 阳性细胞,脑出血组 6 h,在血肿周围开始出现大量深棕色的阳性细胞,24 h 达高峰,48 h 已经开始下降,与正常组和假手术组比较,差异有统计学意义,说明在脑出血后,脑损伤后可诱导 NGF 一过性表达增高,从而发挥神经保护作用,但是时间短暂,含量比较低。

参 考 文 献

- [1] 刘芳,邹伟,张国威,等.针刺对脑出血大鼠神经生长因子基因表达的影响[J]. 针灸临床杂志, 2007,23(5):46-49 转 4.
- [2] Kaihola H, Olivier J, Poromaa IS, et al. The effect of antenatal depression and selective serotonin reuptake inhibitor treatment on nerve growth factor signaling in human placenta [J]. PLoS One, 2015,10(1): e0116459.
- [3] Fink DM, Connor AL, Kelley PM, et al. Nerve growth factor regulates neuro-lymphatic remodeling during corneal inflammation and resolution [J]. PLoS One, 2014, 9(11): e112737.
- [4] Warita K, Mitsuhashi T, Hoshi N, et al. A unique

pattern of bisphenol A effects on nerve growth factor gene expression in embryonic mouse hypothalamic cell line N-44 [J]. Arh Hig Rada Toksikol, 2014, 65(3): 293-299.

- [5] Wang W, Chen J, Guo X. The role of nerve growth factor and its receptors in tumorigenesis and cancer pain [J]. Biosci Trends, 2014, 8(2): 68-74.
- [6] 何峻峰,顾国妹,龙大宏.神经生长因子重组反转录病毒载体在神经干细胞中的表达 [J]. 中国组织工程研究, 2014,18(19):3100-3104.
- [7] Bannwarth B, Kostine M. Targeting nerve growth factor (NGF) for pain management: what does the future hold for NGF antagonists? [J]. Drugs, 2014, 74(6): 619-626.
- [8] 吴正吉.不同频率电针对脑出血大鼠神经生长因子及血管内皮生长因子的影响 [D]. 广州中医药大学, 2008.
- [9] 范春玲,邹伟,于学平,等.头针透刺对脑出血大鼠脑组织 Caspase-3 表达影响的研究 [J]. 针灸临床杂志, 2014,30(4):61-63.
- [10] 任泽光,吴建中.大鼠脑出血模型 [J]. 中华神经外科杂志, 1993,9(4):205.
- [11] 华兴邦.大鼠穴位图谱的研制 [J]. 实验动物与动物实验, 1991, (1): 1-5.
- [12] Zea Longa E, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. Stroke, 1989, 20(1): 84-91.
- [13] 东贵荣,东红升,魏宁颐,等.浅谈针刺透穴 [A]. 中国针灸学会, 2009:4.
- [14] 王海桥,东贵荣.解析头穴针刺治疗中风偏瘫取穴的历史沿革 [A]. 中国针灸学会, 2009:6.
- [15] 东贵荣,于致顺,石宪.头穴透刺治疗偏瘫的研究近况 [J]. 针灸学报, 1992,8(1):56-59.
- [16] 东贵荣,张宣,李丹,等.头穴针刺治疗急性高血压性脑出血的临床对比研究 [J]. 中国针灸, 1994,14(3):13-15.
- [17] 刘建浩,鲍春龄,朱文增,等.头穴透刺治疗急性中风病针刺部位特异性观察 [J]. 中国针灸, 2010,30(4): 275-278.
- [18] 鲍春龄,东贵荣,王海桥,等.阴阳调衡透刺针法为主分期治疗缺血性中风后偏瘫的多中心随机对照临床研究 [J]. 上海中医药杂志, 2015,49(6):30-34.
- [19] 李雪岩,李德韬,付洪瑜,等.百会透悬厘针刺对脑出血模型大鼠脑组织 NGF 蛋白表达的影响 [J]. 针灸临床杂志, 2014,30(9):57-59.
- [20] 王少纲.鼠神经生长因子对脑出血大鼠神经元凋亡与神经功能的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2013,17:4217-4218.
- [21] 石秋艳,何俊芳,孙惠芳,等.脑出血大鼠脑内 NGF 和 BDNF 蛋白表达变化的研究 [J]. 中国医药指南, 2010(7):7.

(收稿:2015-08-05 修回:2016-05-05)