

引用:蓝相洲,李铃佳,李叶舟,薛珂,陈苗,文志,陈青.井穴刺络放血调控Nrf2/ARE通路改善脑卒中大鼠认知功能的机制研究[J].中医导报,2025,31(9):9-16,31.

井穴刺络放血调控Nrf2/ARE通路改善脑卒中大鼠认知功能的机制研究*

蓝相洲¹,李铃佳²,李叶舟¹,薛珂¹,陈苗¹,文志¹,陈青¹

(1.湖南中医药大学第一附属医院,湖南 长沙 410007;

2.湖南中医药大学护理学院,湖南 长沙 410208)

[摘要] 目的:探讨井穴刺络放血通过激活核因子E2相关因子2(Nrf2)/抗氧化反应原件(ARE)信号通路对脑卒中大鼠认知功能及炎症反应的影响。方法:将70只SD大鼠随机分为空白组、假手术组、模型组、井穴刺络放血组、Nrf2抑制剂(ML385)组、井穴刺络放血+ML385组、Nrf2激动剂(Resveratrol)组。空白组不进行处理,假手术组给予假手术进行对照,模型组、井穴刺络放血组、ML385组、井穴刺络放血+ML385组、Resveratrol组均采用大鼠中动脉闭塞法(MCAO)制作永久性缺血性脑卒中大鼠模型。术后井穴刺络放血组大鼠予井穴刺络放血治疗3 d(1次/d,左右两侧交替进行);ML385组大鼠予ML385[30 mg/(kg·d)]腹腔注射7 d;井穴刺络放血+ML385组大鼠予以井穴刺络放血治疗和ML385[30 mg/(kg·d)]腹腔注射;Resveratrol组大鼠予Resveratrol[40 mg/(kg·d)]腹腔注射7 d。造模后第1天及取材前1 d使用改良神经功能缺损评分法(mNss)进行神经功能评分;治疗后采用Y迷宫和新异物识别实验评价大鼠的认知功能障碍情况;采用2,3,5-三苯基氯化四氮唑(TTC)染色评估大鼠脑梗死面积;采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测大鼠血清白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、丙二醛(MDA)、微量还原型谷胱甘肽(GSH)含量和超氧化物歧化酶(SOD)活力;Real-time PCR检测大鼠海马组织Nrf2 mRNA、血红素氧合酶-1(HO-1) mRNA、NAD(P)H醌脱氢酶1(NQO1) mRNA表达水平;Western blotting检测大鼠海马组织Nrf2、HO-1、NQO1蛋白表达水平。结果:井穴刺络放血组、Resveratrol组大鼠mNss评分均低于模型组($P<0.05$),大鼠自发交替百分比高于模型组($P<0.01$ 或 $P<0.05$);Resveratrol组大鼠认知指数高于模型组($P<0.05$);井穴刺络放血组、井穴刺络放血+ML385组、Resveratrol组大鼠梗死面积均小于模型组($P<0.05$);ML385组大鼠血清IL-6、IL-1 β 、TNF- α 含量高于模型组($P<0.01$);井穴刺络放血组、井穴刺络放血+ML385组和Resveratrol组大鼠血清IL-6、IL-1 β 、TNF- α 含量均低于模型组($P<0.01$);井穴刺络放血组、Resveratrol组大鼠血清MDA、GSH含量和SOD活力高于模型组($P<0.01$);ML385组、井穴刺络放血+ML385组大鼠血清MDA、GSH含量和SOD活力均低于模型组($P<0.01$)。HE染色结果显示井穴刺络放血组、井穴刺络放血+ML385组、Resveratrol组大鼠神经元损伤程度减轻,而ML385组大鼠神经元损伤程度加重;井穴刺络放血组、Resveratrol组大鼠海马组织Nrf2 mRNA、HO-1 mRNA、NQO1 mRNA相对表达量及Nrf2、HO-1、NQO1蛋白相对表达量均高于模型组($P<0.01$)。结论:井穴刺络放血能通过激活Nrf2/ARE通路改善脑卒中大鼠认知功能障碍。其作用机制为上调HO-1/NQO1表达以增强抗氧化能力,同时抑制炎症因子释放,从而减轻大鼠的氧化应激与神经炎症,缩小脑梗死面积。

[关键词] 脑卒中;井穴刺络;认知功能障碍;核因子E2相关因子2/抗氧化反应原件信号通路;大鼠

[中图分类号] R245 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2025)09-0009-08

DOI: 10.13862/j.cn43-1446/r.2025.09.002

Mechanistic Study on the Improvement of Cognitive Function in Stroke Rats by Jing-Well Points Acupuncture through Modulation of the Nrf2/ARE Pathway

LAN Xiangzhou¹, LI Lingjia², LI Yezhou¹, XUE Ke¹, CHEN Miao¹, WEN Zhi¹, CHEN Qing¹

*基金项目:2023年长沙市软科学项目(Kh2302034);2024年湖南省自然科学基金-医卫行业联合基金(2024JJ9424);2023年湖南省中医药管理局项目(D2023018)

通信作者:陈青,女,教授,研究方向为中西医结合护理

(1.The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha Hunan 410007, China;

2.School of Nursing, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha Hunan 410208, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effect of Jing-well points acupuncture on improving cognitive dysfunction in rats with stroke by activating the Nrf2/ARE signaling pathway and its impact on the inflammatory response. Methods: Totally 70 SD rats were randomly divided into blank group, sham-operation group, model group, Jing-Well points acupuncture group, ML385 (Nrf2 inhibitor) group, Jing-Well points acupuncture+ML385 group, and Resveratrol (Nrf2 agonist) group. The blank group received no treatment, the sham-operation group underwent a sham operation, and the other groups were subjected to permanent ischemic stroke via middle cerebral artery occlusion (MCAO). The Jing-Well points acupuncture group was treated with Jing-Well points acupuncture for 3 days (once daily, alternating sides). The ML385 group received intraperitoneal injections of ML385 [30 mg/(kg·d)] for 7 days. The Jing-Well points acupuncture+ML385 group received Jing-Well points acupuncture and intraperitoneal injections of ML385 [30 mg/(kg·d)]. The Resveratrol group received intraperitoneal injections of Resveratrol [40 mg/(kg·d)] for 7 days. Neurological function was scored using the modified neurological severity score (mNss) on the first day after modeling and the day before tissue collection. Cognitive function was assessed using Y-maze and novel object recognition tests. Brain infarct area was evaluated by 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) staining. Serum levels of interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor- α (TNF- α), model driven architecture (MDA), glutathione (GSH) and superoxide dismutase (SOD) activity were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Real-time PCR was used to detect levels of Nrf2 mRNA, HO-1 mRNA and NQO1 mRNA in the hippocampus, and Western blotting was used to assess protein levels of Nrf2, HO-1, and NQO1. Results: The Jing-Well points acupuncture group and Resveratrol group showed lower mNss than model group ($P<0.05$), while higher spontaneous alternation percentages than model group ($P<0.01$ or $P<0.05$). The Resveratrol group showed higher cognitive index than model group ($P<0.05$). The Jing-Well points acupuncture group, Jing-Well points acupuncture + ML385 group, and Resveratrol group exhibited smaller brain infarct areas than model group ($P<0.05$). The ML385 group showed higher serum levels of IL-6, IL-1 β and TNF- α than model group ($P<0.01$); The Jing-Well points acupuncture group, Jing-Well points acupuncture + ML385 group, and Resveratrol group showed lower levels of IL-6, IL-1 β and TNF- α than model group ($P<0.01$). The Jing-Well points acupuncture group and Resveratrol group showed higher serum MDA, GSH levels and SOD activity than model group ($P<0.01$), while the ML385 group and Jing-Well points acupuncture + ML385 group showed lower serum MDA, GSH levels and SOD activity than model group ($P<0.01$). HE staining revealed reduced neuronal damage in the Jing-Well points acupuncture group, Jing-Well points acupuncture + ML385 group, and Resveratrol group, while the ML385 group showed aggravated damage. The Jing-Well points acupuncture group and Resveratrol group exhibited higher Nrf2 mRNA, HO-1 mRNA, and NQO1 mRNA and protein levels of Nrf2, HO-1 and NQO1 than model group ($P<0.01$). Conclusion: Jing-Well points acupuncture can improve cognitive dysfunction in stroke rats by activating the Nrf2/ARE pathway. It upregulates HO-1/NQO1 to enhance antioxidant capacity, suppresses inflammatory factors, alleviates oxidative stress and neuroinflammation, and reduces infarct size.

[Keywords] stroke; Jing-Well points acupuncture; cognitive impairment; nuclear factor erythroid 2-related factor 2/antioxidant response element signaling pathway; rat

脑卒中是一种由脑血管破裂或阻塞导致的急性脑损伤疾病,具有极高的发病率、致残率和死亡率^[1-2]。脑卒中后认知功能障碍(post-stroke cognitive impairment,PSCI)是脑卒中患者常见的并发症之一,其表现为患者在脑卒中后出现记忆力、理解力、执行力、空间定位定向力等功能下降^[3]。PSCI不仅影响患者的生活质量,还会增加治疗难度和康复时间^[4-5]。因此,寻找有效的治疗手段改善PSCI患者的预后具有重要意义。近年来,中医传统疗法在脑卒中康复治疗中展现出独特的优势^[2,6]。其中,井穴刺络放血作为一种有效的治疗方法,在脑卒中后认知功能障碍的治疗中逐渐受到关注^[7-8]。井穴刺络放血

疗法可通过刺激特定的穴位,放出少量血液,达到调和气血、疏通经络的目的^[9]。然而,其作用机制尚未完全明确,需要进一步的研究和探索。

核因子E₂相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2,Nrf2)/抗氧化反应原件(antioxidant response element,ARE)信号通路是细胞内关键的抗氧化应激通路,对于细胞应对氧化应激反应起着至关重要的作用^[10]。研究^[11-12]表明,Nrf2/ARE信号通路在脑卒中的发生和发展中起着重要作用。激活Nrf2/ARE信号通路可以减轻氧化应激损伤,保护神经细胞免受损伤。因此,本研究将基于Nrf2/ARE信号通路,探讨并

穴刺络放血改善脑卒中大鼠认知功能障碍的作用机制,旨在为脑卒中后认知功能障碍的中医治疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 实验动物 84只8~10周龄健康雄性SPF级SD大鼠,体重220~250 g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,动物生产许可证证号:SCXK(湘)2019-0004。动物质量合格证号:430727241100289952,430727241100562212。大鼠分笼饲养于湖南中医药大学动物实验中心SPF级动物房,维持室温22~24℃、湿度50%~60%,12 h交替照明,自由饮水进食。本动物实验已经通过湖南中医药大学实验动物伦理委员会审批(伦理审批号:HNUCM21-2312-25)。

1.2 药物与试剂 ML38(Nrf2抑制剂)(批号:HY-100523)、Resveratrol(Nrf2激动剂)(批号:HY-16561)和PEG300(批号:HY-Y0873)均购自美国MedChemExpress生物科技公司;二甲亚砜(上海麦克林生化科技股份有限公司,批号:D6258);吐温-80(北京索莱宝科技有限公司,批号:T8360);2,3,5-氯化三苯基四氮唑(西格玛奥德里奇贸易有限公司,批号:T8877-10G);栓线(北京西浓科技有限公司);大鼠白细胞介素-6(IL-6)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(批号:MM-0190R1)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)ELISA试剂盒(批号:MM-0047R1)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)ELISA试剂盒(批号:MM-0180R1)均购自酶免生物科技有限公司;丙二醛(MDA)测定试剂盒(批号:A003-1)、微量还原型谷胱甘肽(GSH)测定试剂盒(批号:A006-2-1)和超氧化物歧化酶(SOD)测定试剂盒(批号:A001-3)均购自南京建成生物科技有限公司;RNA Isolater 总RNA提取试剂(批号:R401-01)、HiScript II Q RT SuperMix(+gDNA 擦拭)(批号:R223-01)和Taq Pro通用型SYBR qPCR预混液(批号:Q712-02)均购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司;RIPA裂解液(批号:P0013B)、磷酸化蛋白酶抑制剂(批号:P1081)、BCA蛋白定量检测试剂盒(批号:P0012)和ECL(批号:P0018AS)均购自碧云天生物技术有限公司;PMSF(100 mmol/L)(北京兰杰柯科技有限公司,批号:BL507A);NRF2抗体(批号:16396-1-AP)、血红素氧合酶-1(HO-1)抗体(批号:10701-1-AP)、NAD(P)H醌脱氢酶1(NQO1)抗体(批号:11451-1-AP)和 β -actin抗体(批号:66009-1-Ig)均购自武汉三鹰生物技术有限公司;HRP标记山羊抗大鼠(批号:bs-0296G)、HRP标记山羊抗兔(批号:bs-0295G)均购自北京博奥森生物技术有限公司;5 \times 蛋白上样缓冲液(批号:G2013)、蛋白Marker(批号:G2083-250UL)均购自赛维尔生物技术有限公司;TRIS(批号:1115GR500)、甘氨酸(批号:1275KG2P5)和SDS(批号:3250GR500)均购自北京兰杰柯科技有限公司。

1.3 主要仪器 台式离心机(上海安亭科学仪器厂,型号:TGL-16c);水浴锅(姜堰市天力医疗器械厂有限公司,型号:TL-420D);高速组织研磨仪(上海净信实业发展有限公司,型号:JXFSTPRP-48);电泳仪(北京六一仪器厂,型号:DYY-6C);紫外分光光度计(上海现科仪器有限公司,型号:752-P);纯水仪(美国艾科浦国际有限公司,型号:AJC-0501-P);PCR梯度基因扩增仪(美国赛洛捷克公司,型号:SCI1000-G);微量

分光光度计(北京德泉兴业商贸有限公司,型号:111503)。

1.4 模型制备 适应性喂养3 d后开始造模,造模前禁食8 h,不禁水。将大鼠称重,按20 mg/kg腹腔注射戊巴比妥钠进行麻醉。麻醉生效后,将动物仰卧固定于手术台上,颈部络合碘消毒,正中切口,暴露右侧颈动脉三角;分离右侧颈总动脉(CCA)、颈内动脉(ICA)、颈外动脉(ECA);在颈总动脉近心端结扎,结扎颈外动脉,分离颈外动脉与颈内动脉,用血管钳夹住颈内动脉;在颈总动脉结扎的分叉处剪一小口,沿颈总动脉将栓线插入颈内动脉,当栓线进入颈内动脉时,松开血管钳,继续将栓线插入颈内动脉,当到达指定长度(18 mm左右)时结扎颈内动脉,缝合切口,剪去高出皮肤的栓线^[13]。将大鼠放置保温垫上待大鼠苏醒,各组大鼠于造模后第3天进行评价。MCAO模型的评价参照神经损伤标准^[14],无神经损伤症状为0分,不能完全伸展对侧前爪为1分,行走向对侧转圈为2分,不能站立、向对侧倾倒为3分,不能自发行走、意识丧失为4分。1~3分为模型成功,0分及4分为造模失败予以剔除,并剔除明显视力障碍及运动障碍大鼠。为保证模型制备的可靠性,随机选取3只MCAO大鼠进行TTC染色。

1.5 分组与干预 采用随机数字表法将70只SD大鼠随机分为空白组、假手术组、模型组、井穴刺络放血组、ML385组、井穴刺络放血+ML385组、Resveratrol组,剩余14只大鼠用于模型脱落时补充,采用苦味酸染色法标记。(1)空白组:常规喂养,不做任何处理;(2)假手术组:操作步骤同模型组,但不留置栓线;(3)模型组:造模后同其余各组大鼠一同抓取,但不进行干预;(4)井穴刺络放血组:造模后,参照《实验针灸学》动物腧穴定位^[15]取“少商”“商阳”“少泽”“少冲”“中冲”“关冲”“厉兑”“隐白”“至阴”“涌泉”“足窍阴”“至阴”共12个穴位进行刺络放血,针刺前严格消毒,以毫针点刺后出血3~5滴为宜。每日09:00:00—11:00:00定时治疗,1次/d,左右两侧交替刺络,治疗时间为3 d;(5)ML385组:造模后给予Nrf2抑制剂(ML385)腹腔注射,30 mg/(kg·d),连续7 d^[16];(6)井穴刺络放血+ML385组:造模后,进行井穴刺络放血(同井穴刺络放血组),连续3 d,同时予Nrf2抑制剂(ML385)腹腔注射,30 mg/(kg·d),连续7 d;(7)Resveratrol组:造模后给予Nrf2激动剂(Resveratrol)腹腔注射,40 mg/(kg·d),连续7 d^[17]。

1.6 观察指标

1.6.1 神经功能评分 术后第1天及取材前1 d采用改良神经功能缺损评分法(modified neurological severity score, mNss)评估MCAO造模大鼠的神经功能评分^[18],从提尾试验、行走试验、感觉试验、平衡木试验以及放射丧失和不正常运动等方面评估大鼠认知障碍情况。1~6分为轻度损伤,7~12分为中度损伤,13~18分为重度损伤。

1.6.2 行为学实验 各组大鼠在治疗结束后进行Y迷宫测试(Y maze test)^[19]和新异物识别实验(novel object recognition, NOR)^[20]以评价大鼠认知功能。实验测试均采用Tracking Master v3.0软件进行,Y迷宫由黑色PVC板制成,3个相同的臂划分为A区、B区、C区,其中间等边三角形区域划分为D区,各臂夹角约120°。实验时将大鼠放于D区,观察其总路程,总进臂次数和自发交替次数,实验时间为5 min,实验结束用75%酒精擦

拭Y迷宫以去除大鼠所留气味。计算公式:自发交替百分比=[自发交替次数/(总进臂次数-2)×100%]。NOR实验:将大鼠放入长、宽、高均为50 cm的不透明塑料箱,箱内放入2个相同大小圆柱体($V=9\text{ cm}^2\times15\text{ cm}\times\pi$),使大鼠熟悉物体20 min。熟悉结束1 h后将大鼠放入相同的不透明塑料箱,将箱内其中一个圆柱体更换为长方体($V=15\text{ cm}\times6\text{ cm}\times6\text{ cm}$),记录5 min内大鼠接触两个物体的时间。计算公式:认知指数=大鼠探索新物体的时间/大鼠探索两个物体总时间×100%。

1.6.3 梗死面积 各组大鼠于治疗结束后采用TTC染色判断大鼠梗死面积。大鼠麻醉后开颅取脑,将脑组织置于-20℃冰箱冷冻定型20 min,取出后用刀片将大鼠脑组织每隔2 mm切片,然后将切好的脑片置于浓度为2%的TTC染色液中,并用锡箔纸覆盖避光,置于37℃水浴锅15~30 min。脑片染色成功后置于4%的多聚甲醛中固定24 h并拍照,使用Image J图像分析软件。计算公式:梗死面积=脑梗死面积/脑片总面积×100%。

1.6.4 血清IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、MDA、GSH和SOD含量 各组大鼠于治疗结束后,经腹主动脉采血,采用一次性非抗凝真空采血管收集血液5 mL。4 000 r/min(离心半径10 cm)离心10 min,吸取上层血清,储存在-80℃冰箱。采用ELISA法检测血清IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、MDA、GSH和SOD含量。冷藏环境中取出ELISA试剂盒室温静置20 min后使用,严格按照各试剂盒说明书进行操作。

1.6.5 病理组织切片 各组大鼠于治疗结束后采用HE染色判断大鼠神经细胞病理学改变。取出的大鼠脑组织经4%多聚甲醛固定液固定后,乙醇脱水,浸蜡包埋,切成薄片后用HE染色液染色,乙醇脱水后封固,于显微镜下观察组织情况并拍照。

1.6.6 海马组织Nrf2 mRNA、HO-1 mRNA、NQO1 mRNA表达水平 各组大鼠于治疗结束后处死,取出大脑海马组织储存在-80℃冰箱,采用Real-time PCR检测大鼠海马组织Nrf2 mRNA、HO-1 mRNA、NQO1 mRNA表达水平。从-80℃冰箱中取出大鼠海马组织加入Trizol试剂匀浆后提取RNA,经分光光度计检测浓度和纯度,合格后进行逆转录得到cDNA。设计Nrf2、HO-1、NQO1和 β -actin基因的特异性引物,采用20 μ L反应体系(含4 μ L稀释cDNA、0.4 μ L上游引物、0.4 μ L下游引物、10 μ L 2 \times SYBR Green Master Mix和5.2 μ L无菌水),在实时荧光定量PCR仪中进行扩增,条件为50℃/2 min,95℃/10 min,然后95℃变性30 s,60℃退火30 s,72℃延伸30 s,40个循环,最后绘制溶解曲线。通过2^{- $\Delta\Delta$ CT}法分析数据,以 β -actin为内参,计算各目标基因的相对表达量。引物序列见表1。

表 1 引物序列表

目的基因	序列(5'-3')	扩增产物片段长度/bp
Nrf2	上游引物:CCCATTGAGGGCTGTGAT	247
	下游引物:TTGGCTGTGCTTTAGGTC	
HO-1	上游引物:GCATGTCCCAGGATTTGTCC	192
	下游引物:GGTTCCTGCTTTCCTCT	
NQO1	上游引物:GATGGGAGCTGCTCGAATCT	197
	下游引物:TATCACCAGGTCTGCAGCTT	
β -actin	上游引物:CACCATGAGGGGCGGACTCATC	240
	上游引物:CACCATGAGGGGCGGACTCATC	

1.6.7 海马组织Nrf2、HO-1、NQO1蛋白表达水平 各组大鼠于治疗结束后处死,取出大脑海马组织储存在-80℃冰箱,采用Western blotting检测大鼠海马组织Nrf2、HO-1、NQO1蛋白表达水平。将大鼠海马组织剪碎后放入匀浆离心管,加入含50 \times Cocktail蛋白酶抑制剂20 μ L、磷酸化蛋白酶抑制剂20 μ L、PMSF 10 μ L的RIPA裂解液1 mL,置于冷冻匀浆机匀浆,冰上裂解30 min。4℃,12 000 r/min(离心半径10 cm)离心10 min,取上清,用BCA法检测蛋白浓度。蛋白样品与上样缓冲液体积比为4:1,加入5 \times SDS-PAGE蛋白上样缓冲液,100℃金属浴中变性15 min。采用聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白,每孔上样量200 μ g,稳压90 V电泳后用300 mA电流转膜90 min。转膜后用无蛋白快速封闭液封闭5 min,加入稀释比例为1:5 000的NRF2、HO-1、NQO1、 β -actin抗体,4℃摇床过夜。次日TBST洗膜,用稀释比例1:5 000的HRP标记山羊抗兔和HRP标记山羊抗大鼠二抗孵育1 h。最后X射线摄影暗盒曝光并扫描条带,用Image J软件测灰度值,以目的蛋白灰度值与 β -actin灰度值比值表示蛋白相对表达量。

1.7 统计学方法 采用IBM SPSS Statistic 27.0对数据进行分析,计量资料符合正态分布以“均数 \pm 标准差”($\bar{x}\pm s$)的形式表示,多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),在各组间符合正态性检验的前提下,检验方差齐性,若方差齐采用LSD检验;若方差不齐采用塔姆黑尼检验。采用GraphPad Prism 9.0.0软件绘图。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠mNss评分比较 治疗前,模型组、井穴刺络放血组、ML385组、井穴刺络放血+ML385组、Resveratrol组大鼠mNss评分均高于假手术组($P<0.05$),表明模型制备成功。治疗后,井穴刺络放血组、Resveratrol组大鼠mNss评分均低于模型组($P<0.05$);井穴刺络放血组大鼠mNss评分与Resveratrol组比较,差异无统计学意义($P>0.05$);与治疗前比较,井穴刺络放血组、ML385组、井穴刺络放血+ML385组、Resveratrol组大鼠mNss评分均降低($P<0.05$),表明井穴刺络放血和腹腔注射Resveratrol对脑卒中后大鼠神经功能缺损状态有一定改善作用。(见表2)

表 2 各组大鼠 mNss 评分比较 ($\bar{x}\pm s$,分)

组别	<i>n</i>	治疗前	治疗后	<i>t</i>	<i>P</i>
空白组	10				
假手术组	10	2.80 \pm 2.53	1.40 \pm 0.97	1.500	0.168
模型组	10	11.20 \pm 2.39 ^a	9.20 \pm 1.75 ^a	1.826	0.101
井穴刺络放血组	10	10.50 \pm 2.37 ^a	6.40 \pm 2.07 ^{ab}	3.911	0.004
ML385组	10	12.00 \pm 2.16 ^a	7.80 \pm 2.62 ^a	3.348	0.009
井穴刺络放血+ML385组	10	11.10 \pm 2.92 ^a	7.60 \pm 1.71 ^a	2.671	0.026
Resveratrol组	10	10.70 \pm 2.54 ^a	6.90 \pm 1.91 ^{ab}	4.835	0.000
<i>F</i>		18.132	20.104		
<i>P</i>		0.000	0.000		

注:与假手术组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$ 。

2.2 各组大鼠行为学比较 模型组和ML385组大鼠自发交替百分比均低于假手术组($P<0.01$ 或 $P<0.05$);井穴刺络放血组和Resveratrol组大鼠自发交替百分比均高于模型组($P<0.01$

或 $P<0.05$);井穴刺络放血组大鼠自发交替百分比与Resveratrol组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),表明井穴刺络放血和腹腔注射Resveratrol均能提高脑卒中后大鼠自发交替百分比。模型组、ML385组、井穴刺络放血+ML385组大鼠认知指数均低于假手术组($P<0.01$ 或 $P<0.05$);Resveratrol组大鼠认知指数高于模型组($P<0.05$);井穴刺络放血组大鼠认知指数与Resveratrol组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),表明腹腔注射Resveratrol能提高脑卒中后大鼠的认知指数。(见表3、图1~2)

表3 各组大鼠行为学比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	自发交替百分比/%	认知指数/%
空白组	10	84.09±11.65	78.57±15.57
假手术组	10	69.98±17.65	64.44±23.37
模型组	10	35.10±22.85 ^b	40.17±7.74 ^b
井穴刺络放血组	10	69.76±21.22 ^d	51.58±9.07
ML385组	10	44.05±31.91 ^a	44.28±17.38 ^b
井穴刺络放血+ML385组	10	51.91±24.13	48.07±20.72 ^a
Resveratrol组	10	58.36±23.27 ^c	58.02±12.76 ^c
F		5.605	6.701
P		0.000	0.000

注:与假手术组比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$;与模型组比较,^c $P<0.05$,^d $P<0.01$ 。

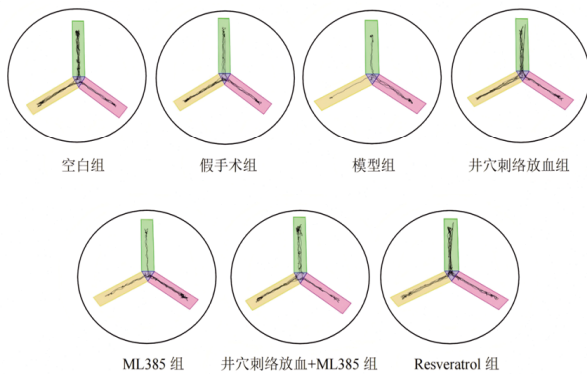


图1 Y迷宫实验结果

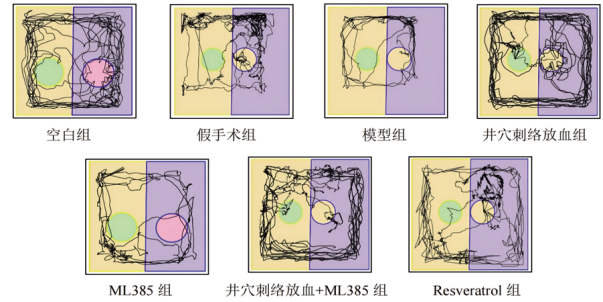


图2 NOR实验结果

2.3 各组大鼠梗死面积比较 空白组、假手术组大鼠未插入栓线,未出现脑梗死区域,其余5组大鼠均存在一定面积的脑梗死区域。(见图3)井穴刺络放血组、井穴刺络放血+ML385组、Resveratrol组大鼠梗死面积均小于模型组($P<0.05$);井穴刺络放血组大鼠梗死面积与Resveratrol组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。井穴刺络放血和腹腔注射Resveratrol一定程度上可减少大鼠脑梗死面积。(见表4)

表4 各组大鼠梗死面积比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	梗死面积/%
空白组	10	—
假手术组	10	—
模型组	10	35.36±1.09
井穴刺络放血组	10	26.49±1.15 ^a
ML385组	10	33.51±1.03
井穴刺络放血+ML385组	10	29.58±0.93 ^a
Resveratrol组	10	25.24±1.47 ^a
F		43.349
P		0.000

注:与模型组比较,^a $P<0.01$ 。

2.4 各组大鼠生化检测指标比较 模型组、井穴刺络放血组、ML385组、井穴刺络放血+ML385组和Resveratrol组大鼠血清IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、MDA、GSH含量和SOD活力均高于假手术组($P<0.01$),表明模型组、井穴刺络放血组、ML385组、井穴



图3 大鼠脑梗死面积

刺络放血+ML385组和Resveratrol组大鼠均存在炎症反应和氧化应激状态。ML385组大鼠血清IL-6、IL-1 β 、TNF- α 含量高于模型组($P<0.01$),而井穴刺络放血组、井穴刺络放血+ML385组和Resveratrol组大鼠血清IL-6、IL-1 β 、TNF- α 含量均低于模型组($P<0.01$);井穴刺络放血组、井穴刺络放血+ML385组大鼠血清IL-6、IL-1 β 、TNF- α 含量均高于Resveratrol组($P<0.05$ 或 $P<0.01$),表明井穴刺络放血和腹腔注射Resveratrol能改善炎症反应,且腹腔注射Resveratrol效果更明显。井穴刺络放血组、Resveratrol组大鼠血清MDA、GSH含量和SOD活力均高于模型组($P<0.01$),ML385组、井穴刺络放血+ML385组大鼠血清MDA、GSH含量和SOD活力均低于模型组($P<0.01$);井穴刺络放血组、ML385组、井穴刺络放血+ML385组大鼠血清MDA、GSH含量和SOD活力均低于Resveratrol组($P<0.01$),表明井穴刺络放血和腹腔注射Resveratrol均能改善炎症反应和氧化应激状态,但腹腔注射Resveratrol的效果更为显著。(见表5)

2.5 各组大鼠病理组织切片比较 HE染色结果显示,空白组、假手术组大鼠大脑皮质组织未见明显病理学改变,神经元形态与结构正常,排列紧密整齐;模型组大鼠大脑皮质组织可见明显病理学改变,神经元排列稀疏紊乱、组织间隙水肿、核皱缩、坏死等;井穴刺络放血组、井穴刺络放血+ML385组、Resveratrol组大鼠神经元损伤程度减轻;ML385组大鼠神经元损伤程度加重。(见图4)

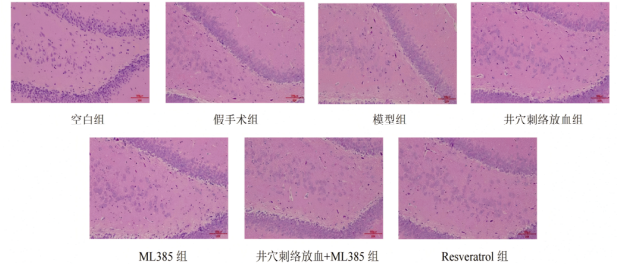


图 4 各组大鼠脑组织病理图片 (HE,×200)

2.6 各组大鼠海马组织 Nrf2 mRNA、HO-1 mRNA、NQO1 mRNA 相对表达量比较 模型组大鼠海马组织 Nrf2 mRNA、HO-1 mRNA、NQO1 mRNA 相对表达量高于假手术组($P<0.01$);井穴刺络放血组、Resveratrol组大鼠海马组织 Nrf2 mRNA、HO-1 mRNA、NQO1 mRNA 相对表达量均高于模型组($P<0.01$),而ML385组、井穴刺络放血+ML385组大鼠海马组织

Nrf2 mRNA、HO-1 mRNA、NQO1 mRNA 相对表达量均低于模型组($P<0.01$);井穴刺络放血组大鼠海马组织 Nrf2 mRNA、HO-1 mRNA 相对表达量低于 Resveratrol 组($P<0.01$),而 NQO1 mRNA 相对表达量与 Resveratrol 组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),表明井穴刺络放血和腹腔注射 Resveratrol 均能激活 Nrf2 信号通路,但 Resveratrol 激活作用优于井穴刺络放血。(见表6)

表 6 各组大鼠海马组织 Nrf2 mRNA、HO-1 mRNA、NQO1 mRNA 相对表达量比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	Nrf2 mRNA	HO-1 mRNA	NQO1 mRNA
空白组	6	1.04±0.04	1.03±0.03	1.04±0.04
假手术组	6	1.52±0.03	1.07±0.05	1.07±0.05
模型组	6	3.65±0.10 ^b	4.33±0.11 ^b	4.48±0.12 ^b
井穴刺络放血组	6	9.31±0.32 ^{bcd}	7.65±0.10 ^{bcd}	7.77±0.34 ^{bc}
ML385组	6	1.69±0.10 ^{cd}	1.74±0.07 ^{bcd}	1.71±0.09 ^{bcd}
井穴刺络放血+ML385组	6	1.95±0.12 ^{aed}	2.12±0.11 ^{bcd}	2.13±0.15 ^{bcd}
Resveratrol组	6	11.76±0.33 ^{bc}	7.95±2.22 ^{bc}	7.82±0.40 ^{bc}
F		1 552.488	2 070.273	580.288
P		0.000	0.000	0.000

注:与假手术比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$;与模型组比较,^c $P<0.01$;与 Resveratrol 组比较,^d $P<0.01$ 。

2.7 各组大鼠海马组织 Nrf2、HO-1、NQO1 蛋白相对表达量比较 模型组大鼠海马组织 Nrf2、HO-1 和 NQO1 蛋白相对表达量低于假手术组($P<0.01$);井穴刺络放血组、Resveratrol 组大鼠海马组织 Nrf2、HO-1 和 NQO1 蛋白相对表达量均高于模型组($P<0.01$),而ML385组大鼠海马组织 Nrf2、HO-1 和 NQO1 蛋白相对表达量低于模型组($P<0.01$);井穴刺络放血+ML385组大鼠海马组织 Nrf2 蛋白相对表达量低于模型组($P<0.05$),HO-1 和 NQO1 蛋白相对表达量与模型组比较,差异无统计学意义($P>0.05$);井穴刺络放血组大鼠海马组织 Nrf2、HO-1 相对表达量低于 Resveratrol 组($P<0.01$),而 NQO1 蛋白相对表达量与 Resveratrol 组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。在激活 Nrf2 信号通路并提高 HO-1 蛋白表达方面,腹腔注射 Resveratrol 的效果优于井穴刺络放血,但在提高 NQO1 蛋白表达方面,两者的作用效果相当。(见图5、表7)

表 5 各组大鼠生化检测指标比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	IL-6/(pg/mL)	IL-1 β /(pg/mL)	TNF- α /(pg/mL)	MDA/(nmol/mL)	GSH/(μ mol/L)	SOD/(U/mL)
空白组	10	12.37±2.19	90.07±12.05	91.81±23.50	9.70±0.52	16.66±1.44	10.34±0.27
假手术组	10	17.05±2.02	171.87±21.15	111.62±7.46	13.33±0.52	23.33±1.44	12.74±0.19
模型组	10	65.58±2.43 ^a	557.55±30.46 ^a	385.83±15.45 ^a	25.15±0.52 ^a	50.83±1.44 ^a	17.68±0.26 ^a
井穴刺络放血组	10	44.49±3.27 ^{abd}	232.63±19.78 ^{abc}	311.84±15.85 ^{abd}	29.09±0.91 ^{abd}	65.00±2.50 ^{abd}	20.52±0.19 ^{abd}
ML385组	10	77.54±2.94 ^{abd}	643.40±30.87 ^{abd}	425.17±15.42 ^{abd}	18.18±0.91 ^{abd}	29.17±1.44 ^{abd}	14.05±0.22 ^{abd}
井穴刺络放血+ML385组	10	54.76±2.66 ^{abd}	476.48±24.48 ^{abd}	365.68±17.56 ^{abd}	22.12±0.52 ^{abd}	41.67±1.44 ^{abd}	16.53±0.26 ^{abd}
Resveratrol组	10	27.27±2.67 ^{ab}	210.98±13.74 ^{ab}	224.31±10.20 ^{ab}	32.12±0.52 ^{ab}	79.17±3.82 ^{ab}	22.55±0.25 ^{ab}
F		1 072.325	1 061.394	858.692	463.242	349.822	993.766
P		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与假手术比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$;与 Resveratrol 组比较,^c $P<0.05$,^d $P<0.01$ 。

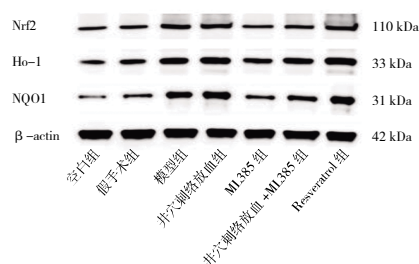


图5 各组大鼠海马组织 Nrf2、HO-1、NQO1 蛋白表达

Western blotting 图

表7 各组大鼠海马组织 Nrf2、HO-1、NQO1

相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Nrf2	HO-1	NQO1
空白组	6	0.29 ± 0.01	0.34 ± 0.01	0.23 ± 0.09
假手术组	6	0.31 ± 0.01	0.36 ± 0.01	0.38 ± 0.04
模型组	6	0.46 ± 0.01 ^b	0.73 ± 0.01 ^b	0.60 ± 0.02 ^b
井穴刺络放血组	6	0.52 ± 0.02 ^{bde}	0.81 ± 0.04 ^{bde}	0.66 ± 0.02 ^{bd}
ML385组	6	0.35 ± 0.01 ^{bde}	0.53 ± 0.05 ^{bde}	0.46 ± 0.03 ^{ade}
井穴刺络放血+ML385组	6	0.43 ± 0.00 ^{bce}	0.68 ± 0.02 ^{be}	0.54 ± 0.02 ^{be}
Resveratrol组	6	0.62 ± 0.03 ^{bd}	0.91 ± 0.04 ^{bd}	0.73 ± 0.03 ^{bd}
F		218.456	166.534	52.195
P		0.000	0.000	0.000

注:与假手术比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与模型组比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$;与Resveratrol组比较,^e $P < 0.01$ 。

3 讨 论

本研究采用十二穴刺络放血干预脑卒中模型大鼠。mNss评分、行为学评分显示,刺络放血可保护脑卒中模型大鼠神经功能,减轻认知功能障碍,与高靛等^[20]研究结果一致。TTC及HE染色结果显示,模型组大鼠神经元损伤严重,井穴刺络放血组大鼠神经元损伤减轻,表明井穴刺络放血能在一定程度上减轻神经元损伤,减少大鼠脑梗死面积。此外,井穴刺络放血在改善炎症反应和氧化应激方面均具有显著效果。

PSCI在中医学中属于“中风”范畴,其病因多为血虚、血瘀。血脉瘀滞、气血不通会导致脑络闭塞,进而使脑髓失去濡养,神机失用,甚至脑窍闭塞,神明失守,最终导致瘫痪或突发倒地不起。《张氏医通》^[22]指出:“有中风者,卒然昏愦,不省人事……当以气虚为主,纵有风邪,亦是趁虚而袭。”“古人论中风偏枯,麻木酸痛不举诸证,以血虚、死血、痰饮为言,是论其致病之根源。”因此,中医治疗PSCI主要强调补益气血、活血化瘀以改善脑部血液循环,促进气血流通,从而恢复脑络通畅。

井穴刺络放血具有活血化瘀、疏通经络的功效^[23]。《乾坤生意》^[24]指出:“凡初中风跌倒,卒暴昏沉,不省人事,痰涎壅盛,牙关紧闭,药水不下,急以通关散搐醒,方可服药。其或不醒者,急以三棱针刺手十指甲角十井穴,当去黑血,就以气针合谷二穴、人中一穴,但觉略醒,得知人事,宜以气针再刺曲池、足三里,再灸颊车、迎香、上星、百会、印堂穴,法备载后针灸门,此乃急救回生之妙诀也。”《古今医鉴》^[25]也指出“一切初中风、中气,昏倒不知人事……急以三棱针刺手中指甲角、十井穴,将去恶血”。由此可见,井穴刺络放血治疗PSCI有一定

的效果。周靛等^[26]指出,以“指”治“脑”,即手指与大脑之间存在双向特异性联系。刺激手指端的穴位可以特异性地调节大脑功能,起到护脑健脑的效果。大脑对手指的控制最为精细,大脑功能的改变也能在手指端得到体现。这进一步证明了手指与大脑之间的密切联系。此外,研究^[27-28]表明,井穴刺络放血疗法能有效改善中风、颅脑外伤等引起的认知功能障碍、神经功能缺损及脑水肿。祝秋梅等^[29]认为其作用机制与改善脑血流和组织供氧、修复血脑屏障、调节局部离子平衡等有关。石会等^[30]认为井穴刺络放血可能通过减轻炎症反应实现神经保护作用。由此可见,井穴刺络放血治疗PSCI的作用机制仍需进一步深入研究。

目前,已有研究发现激活Nrf2可以改善缺血性脑卒中后认知功能障碍^[10,31-32]。本研究中模型组大鼠海马组织Nrf2、HO-1和NQO1表达均升高,与郭潇潇等^[33]的结果一致。其原因可能是缺血性脑卒中后内源性Nrf2升高,但其激活水平较低,不足以改善认知功能障碍。井穴刺络放血和Nrf2激动剂(Resveratrol)干预后,Nrf2、HO-1和NQO1表达均明显升高,表明在缺血性脑卒中后,井穴刺络放血可在一定程度上激活Nrf2/ARE通路,并上调下游保护性蛋白酶HO-1表达。HO-1作为Nrf2/ARE通路的下游蛋白酶,具有强大的抗炎作用^[33]。研究^[34-35]显示,Nrf2激活的抗氧化基因产物可以降低细胞内氧化应激水平,从而减少NF- κ B活化,抑制NF- κ B信号通路,减少炎症因子的表达,减轻炎症反应。研究^[36-37]表明,HO-1的抗炎作用机制可能与巨噬细胞的极化有关,中枢神经系统的巨噬细胞具有M1型和M2型两种状态。其中M1型小胶质细胞可产生IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等促炎因子,加重脑损伤;M2型小胶质细胞则具有抗炎和促修复的功能,能减轻神经炎症反应,促进神经保护和修复。本研究中模型组大鼠血清炎症因子IL-6、IL-1 β 、TNF- α 含量高于假手术组,井穴刺络放血组、井穴刺络放血+ML385组、Resveratrol组大鼠血清炎症因子IL-6、IL-1 β 、TNF- α 含量低于模型组,提示Nrf2/ARE通路可参与调控小胶质细胞激活后的炎症反应。Nrf2/ARE通路的激活可以诱导抗氧化酶HO-1的表达,从而抑制M1型小胶质细胞的活化,促进M2型小胶质细胞的极化。本研究中,井穴刺络放血组大鼠海马组织HO-1 mRNA及HO-1蛋白相对表达量高于模型组,与炎症因子的减少相对应,进一步验证了Nrf2/ARE通路在改善脑卒中大鼠认知功能和炎症反应中的关键作用。

卒中后“气血逆乱,瘀毒损络”,与氧化应激和炎症反应高度契合。“气血失和”为炎症与氧化损伤之源。气滞则津停为痰,血瘀则郁而化火,痰火互结加剧“毒损脑络”。井穴刺络放血疗法通过“调气活血”打破此病理链条,从而达到“气血得畅,毒邪自消”的作用。临床上,PSCI是影响脑卒中患者康复的重要因素,而现有治疗手段有限。井穴刺络放血作为一种中医特色干预方式,在改善神经功能、促进脑组织修复方面展现出潜在的临床应用价值。

综上所述,井穴刺络放血能够显著改善脑卒中大鼠的认知功能障碍,减少脑梗死面积。这一机制可能与激活Nrf2/ARE信号通路,促进下游抗氧化蛋白HO-1/NQO1表达,减少促炎因子释放,阻断氧化应激与炎症间的恶性循环密切相关。本研

究为临床治疗PSCI及井血刺络放血的临床转化提供了实验依据,但未来仍需更进一步深入研究,以验证井穴刺络放血调控Nrf2通路的具体分子靶点。

参考文献

- [1] CAMPBELL B C V, KHATRI P. Stroke[J]. Lancet,2020, 396(10244):129-142.
- [2] 中医康复临床实践指南·缺血性脑卒中脑梗死制定工作组,章薇,娄必丹,等.中医康复临床实践指南·缺血性脑卒中(脑梗死)[J].康复学报,2021,31(6):437-447.
- [3] ROST N S, BRODTMANN A, PASE M P, et al. Post-stroke cognitive impairment and dementia[J]. Circ Res,2022, 130(8):1252-1271.
- [4] HUANG Y Y, CHEN S D, LENG X Y, et al. Post-stroke cognitive impairment: Epidemiology, risk factors, and management[J]. J Alzheimers Dis,2022,86(3):983-999.
- [5] KIM K Y, SHIN K Y, CHANG K A. Potential biomarkers for post-stroke cognitive impairment: A systematic review and meta-analysis[J]. Int J Mol Sci,2022,23(2):602.
- [6] 梁能幸,郭芙,陈俊伟,等.缺血性脑卒中中医体质分布的研究述评[J].中国中医基础医学杂志,2023,29(8):1405-1408.
- [7] 赖晓燕.醒脑开窍针法与刺络放血治疗脑卒中后吞咽障碍临床观察[J].中国中医药现代远程教育,2024,22(6):110-112.
- [8] CHAVEZ L M, HUANG S S, MACDONALD I, et al. Mechanisms of acupuncture therapy in ischemic stroke rehabilitation: A literature review of basic studies[J]. Int J Mol Sci,2017,18(11):2270.
- [9] 张亚南,徐天舒,张华军.针刺对脑卒中后认知功能障碍相关机制研究进展[J].针灸临床杂志,2014,30(3):74-77.
- [10] 冯一璇,苏凯奇,丁志敏,等.Nrf2抑制缺血性脑卒中后铁死亡的研究进展[J].医学研究生学报,2022,35(7):757-762.
- [11] 李梅,李强.靶向Nrf2-铁死亡通路与缺血性脑卒中后脑损伤治疗研究进展[J].中国临床药理学与治疗学,2024, 29(2):188-197.
- [12] 李文静,李强,王洪权.药物靶向调控Nrf2与缺血性脑卒中治疗[J].中国神经免疫学和神经病学杂志,2023,30(6): 451-457.
- [13] 缪培,张通,米海霞,等.不同线栓法复制局灶性脑缺血模型大鼠恢复期学习记忆能力的差异及其机制[J].中国康复理论与实践,2022,28(7):789-796.
- [14] LONGA E Z, WEINSTEIN P R, CARLSON S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke,1989,20(1):84-91.
- [15] 郭义.实验针灸学[M].4版.北京:中国中医药出版社,2016.
- [16] TAUFANI I P, SITUMORANG J H, FEBRIANSAH R, et al. Mitochondrial ROS induced by ML385, an Nrf2 inhibitor aggravates the ferroptosis induced by RSL3 in human lung epithelial BEAS-2B cells[J]. Hum Exp Toxicol,2023,42:9603271221149663.
- [17] BAI Y J, SUI R B, ZHANG L, et al. Resveratrol improves cognitive function in post-stroke depression rats by repressing inflammatory reactions and oxidative stress via the Nrf2/HO-1 pathway[J]. Neuroscience,2024, 541:50-63.
- [18] 卢小叶,吕倩忆,李棋龙,等.Zea-longa评分与改良Garcia评分应用于针刺治疗CIRI大鼠神经功能缺损评估的研究[J].湖南中医药大学学报,2021,41(9):1356-1360.
- [19] MCHAIL D G, DUMAS T C. Hippocampal gamma rhythms during Y-maze navigation in the juvenile rat[J]. Hippocampus,2020,30(5):505-525.
- [20] ANTUNES M, BIALA G. The novel object recognition memory: Neurobiology, test procedure, and its modifications[J]. Cogn Process,2012,13(2):93-110.
- [21] 高靓,潘玥,赵贵捷,等.井穴放血对大鼠脑梗死缺血再灌注损伤的脑保护作用[J].中国老年学杂志,2020,40(13): 2836-2839.
- [22] 张璐.张氏医通[M].北京:人民卫生出版社,2006.
- [23] 杨元祯,郭义,李永明,等.井穴刺络醒神护脑效应的特异性及穴位启动机制探析[J].中华中医药杂志,2023,38(10): 4632-4636.
- [24] 朱权.乾坤生意 乾坤生意秘腧[M].于海芳,校注.北京:中国中医药出版社,2018.
- [25] 龚信,达美君.古今医鉴[M].北京:中国中医药出版社, 2007.
- [26] 周靓,郭义,周丹,等.试论“指-脑”相关[J].中华中医药杂志,2022,37(12):7279-7283.
- [27] 张静莎,郭义,耿连岐.手十二井穴刺络放血、薏苡仁鼻饲联合亚低温对重型颅脑创伤影响的临床疗效评价的初步研究[J].世界中医药,2016,11(3):510-514,518.
- [28] 金军,张赛,李洪艳,等.手十二井穴刺络放血对急性一氧化碳中毒意识障碍患者意识状态的影响[J].中国中医急症,2012,21(2):175-176.
- [29] 祝秋梅,余楠楠,刘宝虎,等.井穴刺络放血治疗急性中枢神经损伤的研究进展[J].针刺研究,2019,44(11):854-857.
- [30] 石会.循经井穴放血疗法治疗丘脑中风后遗症的临床疗效及其对患者血清TNF- α 、IL-6和IGF- II 水平的影响[J].河北中医药学报,2017,32(3):39-41.
- [31] 李志坤,王希柱,宋巧凤.基于Nrf2/HO-1通路探讨藏红花酸对高血脂合并冠心病大鼠心肌损伤的改善作用及对心电图的影响[J].中医药导报,2021,27(7):22-26.
- [32] 李家正,秦文秀,许军峰.中医药抑制铁死亡在缺血性脑卒中防治中的研究进展[J].中医药导报,2024,30(8):98-102.
- [33] 郭潇潇,刘梦珂,刘欢欢,等.基于Nrf2/(下转第31页)

- 病海马神经炎症的抑制作用研究[J].中华细胞与干细胞杂志(电子版),2016,6(6):339-344.
- [18] 刘运权,李若照,郭磊磊,等.平肝止痫复方联合卡马西平通过HMGB1/TLR4/NF- κ B通路对难治性癫痫大鼠神经元损伤的影响[J].中国免疫学杂志,2021,37(19):2345-2350.
- [19] 毕翻,姜俊杰,潘恒恒,等.癫痫相关炎症介质的研究进展[J].癫痫与神经电生理学杂志,2023,32(2):117-120.
- [20] 吴琼莹,高文勇,艾艳萍,等.槲皮素通过HMGB1/RAGE/NF- κ B通路减轻癫痫大鼠神经炎症的实验研究[J].中国免疫学杂志,2024,40(8):1601-1606.
- [21] ZAHEDIPOUR F, HOSSEINIS A, HENNEYN C, et al. Phytochemicals as inhibitors of tumor necrosis factor alpha and neuroinflammatory responses in neurodegenerative diseases[J]. Neural Regen Res, 2022, 17(8): 1675-1684.
- [22] 聂荔,李巷,谈庆华,等.血清基质金属蛋白酶-9、肿瘤坏死因子- α 、 γ 干扰素水平与癫痫患儿脑电图的相关性分析[J].中国医学前沿杂志(电子版),2020,12(3):90-94.
- [23] SADEGHIM A, HEMMATI S, MOHAMMADI S, et al. Chronically altered NMDAR signaling in epilepsy mediates comorbid depression[J]. Acta Neuropathol Commun, 2021, 9(1):53.
- [24] 李大立,王献忠,杨海涛,等.丙戊酸联合拉莫三嗪治疗不同类型癫痫患者的疗效及对细胞因子的影响[J].癫痫与神经电生理学杂志,2021,30(2):102-105.
- [25] 张菲菲,程艳伟,石向群.大鼠癫痫持续状态后海马TNF- α 、IL-1 β 的动态变化[J].中国神经精神疾病杂志,2017,43(6):362-367.
- [26] XIAO Z H, PENG J, WU L W, et al. The effect of IL-1 β on synaptophysin expression and electrophysiology of hippocampal neurons through the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in a rat model of mesial temporal lobe epilepsy[J]. Neurol Res, 2017, 39(7):640-648.
- [27] 叶霖,黄虹蜜,吴莹,等.抗NMDA受体脑炎相关癫痫小鼠脑组织小胶质细胞及IL-1 β 、TNF- α 表达的变化[J].癫痫与神经电生理学杂志,2022,31(3):129-134.
- [28] BAUD V, KARIN M. Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives[J]. Trends Cell Biol, 2001, 11(9):372-377.
- [29] 韵成才,雍文兴.TNF- α /NF- κ B信号通路在慢性阻塞性肺疾病中的作用及中医药调控研究进展[J].临床医学研究与实践,2024,9(7):7-10.
- [30] KAN M C, SONG L H, ZHANG X Q, et al. Circulating high mobility group box-1 and toll-like receptor 4 expressions increase the risk and severity of epilepsy[J]. Braz J Med Biol Res, 2019, 52(7):e7374.
- [31] ZHANG S T, HU L, JIANG J L, et al. HMGB1/RAGE axis mediates stress-induced RVLM neuroinflammation in mice via impairing mitophagy flux in microglia[J]. J Neuroinflammation, 2020, 17(1):15.
- [32] 杜双霞,张晓红,赵合意,等.miRNA-146a-5p对癫痫大鼠海马神经元NF- κ B信号转导通路的影响[J].临床和实验医学杂志,2019,18(4):341-346.
- [33] CAI M T, LIN W H. The function of NF- κ B during epilepsy, a potential therapeutic target[J]. Front Neurosci, 2022, 16:851394.
- [34] SINGH S, SINGH T G. Role of nuclear factor kappa B (NF- κ B) signalling in neurodegenerative diseases: An mechanistic approach[J]. Curr Neuroparmacol, 2020, 18(10):918-935.
- [35] LAWRENCE T. The nuclear factor NF- κ B pathway in inflammation[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2009, 1(6):a001651.
- [36] 赵永顺.NF- κ B“圈套”对癫痫大鼠脑内COX-2调控作用的研究[D].大连:大连医科大学,2008.
- [37] 朱坤,胡明,杨蓬勃,等.阿司匹林通过促进海马功能性神经再生改善颞叶癫痫慢性期小鼠的空间记忆能力[J].西安交通大学学报(医学版),2016,37(5):622-626.
- [38] 苏晨,毛永尽,杨慧琳,等.牛MMP9启动子与转录因子NF- κ B作用的研究[J].中国乳品工业,2021,49(12):4-7.

(收稿日期:2025-02-26 编辑:蒋凯彪)

(上接第16页) ARE通路探讨CDDO-Im对缺血性脑卒中大鼠的神经保护作用[J].中国免疫学杂志,2023,39(12):2513-2516,2522.

- [34] 陈淑颖,陈雨敏,李晓晓,等.Nrf2/HO-1信号通路在卒中后认知障碍中的作用及中药干预的研究进展[J].中国医院药学杂志,2023,43(11):1281-1287.
- [35] AHMED S M U, LUO L, NAMANI A, et al. Nrf2 signaling pathway: Pivotal roles in inflammation[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2017, 1863(2):585-597.

- [36] WANG Y J, HUANG Y, XU Y Z, et al. A dual AMPK/Nrf2 activator reduces brain inflammation after stroke by enhancing microglia M2 polarization[J]. Antioxid Redox Signal, 2018, 28(2):141-163.
- [37] LANDIS R C, QUIMBY K R, GREENIDGE A R. M1/M2 macrophages in diabetic nephropathy: Nrf2/HO-1 as therapeutic targets[J]. Curr Pharm Des, 2018, 24(20):2241-2249.

(收稿日期:2025-02-27 编辑:蒋凯彪)