

·针灸推拿·

本文引用: 袁嘉, 陈俐彤, 刘晓月, 李千隽, 魏瑢琪, 田浩梅, 陈楚洵. 基于不同时间点观察针刺对脑缺血再灌注损伤大鼠缺血半暗带铁死亡相关因子表达的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(12): 2316–2324.

基于不同时间点观察针刺对脑缺血再灌注损伤 大鼠缺血半暗带铁死亡相关因子表达的影响

袁嘉, 陈俐彤, 刘晓月, 李千隽, 魏瑢琪, 田浩梅, 陈楚洵*

湖南中医药大学针灸推拿与康复学院, 湖南长沙 410208

[摘要] **目的** 基于不同时间点观察针刺对脑缺血再灌注损伤(CIRI)大鼠缺血半暗带铁死亡相关因子表达的影响,探讨针刺改善 CIRI 大鼠神经细胞损伤的作用机制。**方法** 将 168 只雄性 SD 大鼠采用随机数字法分为假手术组(42 只)和造模组(126 只),造模组采用改良 Longa 线栓法制备大鼠中动脉闭塞再灌注(MCAO/R)模型,造模成功后再随机分为模型组、去铁酮(DFP)组和针刺组,每组 42 只。以上各组再根据取材时间点随机分为 24 h 组、48 h 组和 72 h 组,每组 14 只。针刺组捆绑并针刺大椎、百会、水沟穴,每次留针 30 min,DFP 组灌胃注射 DFP 溶液(0.125 g/kg),其余各组给予等量 0.9%氯化钠溶液灌胃注射,以上各组每隔 12 h 干预 1 次,其中 24 h 组共干预 3 次,48 h 组共干预 5 次,72 h 组共干预 7 次。干预前后采用改良神经功能缺损评分(mNSS)法评估大鼠神经功能状态,2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)染色观察并计算脑梗死体积比,透射电镜观察脑组织缺血半暗带线粒体超微结构,普鲁士蓝染色观察脑组织铁沉积情况,比色法检测脑组织缺血半暗带铁离子(Fe^{2+})含量,酶联免疫吸附测定(ELISA)检测脑组织缺血半暗带活性氧(ROS)和谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4)含量,硫代巴比妥酸(TBA)及微板法检测脑组织缺血半暗带丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)含量。**结果** 与假手术组相比,各时间点模型组大鼠 mNSS 神经功能评分、脑梗死体积比显著升高($P<0.01$),各时间点模型组线粒体均发生不同程度的水肿变性,且在 72 h 呈现典型铁死亡特征、铁沉积数量明显增多,缺血半暗带 Fe^{2+} 、ROS、MDA 含量显著升高($P<0.01$),GPX4、GSH 含量显著降低($P<0.01$)。与模型组比较,各时间点干预组大鼠 mNSS 神经功能评分、脑梗死体积比显著降低($P<0.01$),线粒体铁死亡改变随时间减轻,铁沉积数量明显减少,缺血半暗带 Fe^{2+} 、ROS、MDA 含量降低($P<0.05$, $P<0.01$),GPX4、GSH 含量升高($P<0.05$, $P<0.01$)。与 DFP 组比较,针刺组干预 24 h、48 h 后 ROS 含量降低($P<0.05$, $P<0.01$),干预 72 h 后 GPX4 含量和干预 24 h 后 MDA 含量升高($P<0.05$)。**结论** 针刺对 CIRI 大鼠具有神经保护作用,其机制可能与调节缺血半暗带铁死亡相关因子、抑制氧化应激损伤、改善神经元铁死亡有关,且随时间呈现动态变化。

[关键词] 脑缺血再灌注损伤;缺血半暗带;针刺;神经功能缺损;铁死亡

[中图分类号]R245

[文献标志码]A

[文章编号]doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.12.010

Effects of acupuncture on the expression of ferroptosis-related factors in the ischemic penumbra of rats with cerebral ischemia-reperfusion injury at different time points

YUAN Jia, CHEN Litong, LIU Xiaoyue, LI Qianjun, WEI Rongqi, TIAN Haomei, CHEN Chutao*

School of Acupuncture-moxibustion, Tuina and Rehabilitation, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China

[Abstract] **Objective** To explore the mechanism of action of acupuncture in ameliorating neural cell damage in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury (CIRI) by observing the effect of acupuncture on the expression of ferroptosis-related factors in the ischemic penumbra of rats with CIRI at different time points. **Methods** A total of 168 male SD rats were randomly divided into

[收稿日期]2025-08-03

[基金项目]国家自然科学基金项目(82274662);湖南省自然科学基金项目(2024JJ5305);湖南省中医药管理局基金项目(A2024009)。

[通信作者]* 陈楚洵,男,博士,教授,博士研究生导师,E-mail:314587702@qq.com。

a sham-operated group ($n=42$) and a modeling group ($n=126$) using random number tables. The modified Longa suture-occlusion method was used to establish middle cerebral artery occlusion/reperfusion (MCAO/R) models in the modeling group. After successful modeling, the modeling group was further randomly divided into a model group, a deferiprone (DFP) group, and an acupuncture group, with 42 rats in each group. Subsequently, each of these groups was randomly subdivided into 24 h, 48 h, and 72 h subgroups based on tissue collection time points, with 14 rats in each subgroup. Rats in the acupuncture group were immobilized and received acupuncture at the "Dazhui (GV14)," "Baihui (GV20)," and "Shuigou (GV26)" acupoints, with acupuncture needles left in place for 30 minutes each time. Rats of the DFP group were administered intragastric administration of DFP solution (0.125 g/kg), while rats of the remaining groups received an equivalent volume of 0.9% sodium chloride solution via intragastric administration. All groups were intervened every 12 hours, with the 24 h subgroup receiving three interventions, the 48 h subgroup receiving five interventions, and the 72 h subgroup receiving seven interventions. Neurological function status was assessed using the modified neurological severity score (mNSS) before and after intervention. 2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride (TTC) staining was performed to observe and calculate the brain infarction volume ratio. Transmission electron microscopy was used to examine the mitochondrial ultrastructure in the ischemic penumbra of the brain tissue. Prussian blue staining was employed to observe the level of iron deposition in the brain tissue. The Fe^{2+} content in the ischemic penumbra of the brain tissue was measured by colorimetry. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to determine the content of reactive oxygen species (ROS) and glutathione peroxidase 4 (GPX4) in the ischemic penumbra of the brain tissue. The thiobarbituric acid (TBA) method and microplate assay were utilized to measure malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) content in the ischemic penumbra of the brain tissue. **Results** Compared with the sham-operated group, rats in the model group at all time points exhibited significantly elevated mNSS neurological function scores ($P<0.01$), along with a markedly increased brain infarction volume ratio ($P<0.01$). Mitochondria in the model group showed varying degrees of edema and degeneration at all time points, with typical ferroptosis features and significantly increased iron deposition observed at 72 hours. The contents of Fe^{2+} , ROS, and MDA in the ischemic penumbra significantly increased ($P<0.01$), while GPX4 and GSH contents significantly decreased ($P<0.01$). Compared with the model group, rats in the intervention groups at all time points showed significantly lower mNSS neurological function scores ($P<0.01$), along with a markedly reduced brain infarction volume ratio ($P<0.01$). Ferroptosis-associated mitochondrial alterations were alleviated over time. The level of iron deposition significantly reduced. The content of Fe^{2+} , ROS, and MDA in the ischemic penumbra decreased ($P<0.05$, $P<0.01$), while GPX4 and GSH content increased ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with the DFP group, the acupuncture group showed lower ROS content after 24 and 48 hours of intervention ($P<0.05$, $P<0.01$), higher GPX4 content after 72 hours, and higher MDA content after 24 hours ($P<0.05$). **Conclusion** Acupuncture exerts neuroprotective effects in rats with CIRI. The mechanism may be related to regulating ferroptosis-related factors in the ischemic penumbra, inhibiting oxidative stress damage, and improving neuronal ferroptosis, with dynamic changes over time.

[**Keywords**] cerebral ischemia-reperfusion injury; ischemic penumbra; acupuncture; neurological impairment; ferroptosis

缺血性脑卒中(cerebral ischemic stroke, CIS)是指脑内血液循环障碍引起脑组织缺血缺氧的神经系统疾病,是我国致死、致残的主要病因^[1],占脑卒中疾病类型的60%~80%^[2]。对于急性CIS而言,治疗的核心在于迅速开通阻塞的血管,从而挽救缺血半暗带^[3],但这一过程往往会诱发脑缺血再灌注损伤(cerebral ischemia reperfusion injury, CIRI)。目前,关于CIRI的发病机制尚未完全清楚,近期研究已证实铁死亡与CIRI密切相关^[4-5]。在CIRI发生后,神经细胞会受到损伤,血脑屏障的完整性遭到破坏,导致脑组织内铁离子(Fe^{2+})含量急剧上升,进而引发铁代谢紊乱和脂质过氧化反应,最终造成细胞铁死亡^[6]。已有研究表明,铁死亡是体内急性病理性脑细胞一种新的死亡机制^[7],在CIRI后神经元也呈现铁死亡方式,且不同时间点下CIRI后的铁死亡状态存在差异^[8]。因此,进一步明确CIRI后铁死亡与时间

点的关系,对防治CIRI疾病至关重要。

针刺治疗CIRI的疗效确切^[9-10]。本课题组前期已证实针刺大椎、百会、水沟穴对CIRI神经系统具有一定保护作用,且可通过减少 Fe^{2+} 、活性氧(reactive oxygen species, ROS)及丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量抑制CIRI后大鼠神经细胞铁死亡,改善神经功能状态^[11]。且有研究指出,针刺对CIRI后铁死亡进程的调控在24 h和72 h内呈现不同的表达模式^[12]。然而,针刺在CIRI后不同时间节点对铁死亡相关因子表达的动态影响,以及由此介导的神经细胞死亡调控机制尚未得到充分探讨。基于此,本实验建立大脑中动脉闭塞再灌注(middle cerebral artery occlusion/reperfusion, MCAO/R)模型,以针刺为干预手段,通过观察不同时间点CIRI后铁死亡相关因子的表达变化,为临床治疗CIRI提供部分实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 168 只, 体质量为 220~250 g, 购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 动物生产许可证号: SCXK(湘)2019-0004。饲养环境为湖南中医药大学 SPF 级动物房, 室温(25±1) °C, 环境湿度 40%~60%, 规律给予灭菌饲料与纯净水, 12 h 光照/d。本实验已通过湖南中医药大学动物伦理委员会审核(批准编号: HNUCM21-2310-25)。

1.2 主要试剂与仪器

1.2.1 主要试剂 MDA、谷胱甘肽(glutathione, GSH) 试剂盒(批号: A003-1、A006-2-1, 南京建成生物科技有限公司); ROS、谷胱甘肽过氧化物酶 4(glutathione peroxidase 4, GPX4) 试剂盒(批号: AF03686-A、AF08534-A, 湖南艾方生物科技有限公司); Fe²⁺试剂盒(批号: 709420, 山东博科生物产业有限公司); 戊巴比妥钠(批号: P3761-5g, 德国 Merck KGaA 公司); 去铁酮(deferiprone, DFP)(批号: H811543-5, 上海麦克林生化科技有限公司); 4%多聚甲醛固定液(批号: BL539A, 北京白鲨易生物科技有限公司); TTC 染色液(批号: DK0005-100, 北京里根生物技术有限公司); 电镜固定液(批号: PN0018, 武汉皮诺飞生物科技有限公司)。

1.2.2 主要仪器 华佗牌针灸针(型号: 210503, 苏州针灸用品厂); 线栓(型号: 2436-100, 北京西农科技发展有限公司); 透射电子显微镜(型号: Nikon EcliPse E100, 日本 Nikon 公司); 恒温水浴锅(型号: HH-420, 金坛区西城新瑞仪器厂); 高速组织研磨仪(型号: KZ-II, 武汉塞维尔生物科技有限公司); 离心机(型号: HT165R, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); 酶标检测仪(型号: SMR60047, 武汉优尔生商贸有限公司)。

1.3 造模与分组

1.3.1 模型制备 造模前 24 h 大鼠禁食不禁水, 采用改良 Longa 线栓法^[13]构建右侧 MCAO/R 模型, 具体操作如下。首先, 以 2%戊巴比妥钠(0.3 mL/100 g)腹腔注射麻醉大鼠, 将麻醉好的大鼠仰卧位固定在颈部备皮, 常规消毒后于右侧喉结旁 1 mm 处作纵行切口, 分离皮下组织与肌肉后, 采用玻璃分针小心剥离颈总动脉、颈内动脉、颈外动脉及迷走神经。依次结扎颈外动脉和颈总动脉, 随后在颈总动脉结扎部位的上方用眼科剪剪开一个小口, 将线栓缓慢沿颈总动脉插入颈内动脉, 遇阻即停(插入深度距颈总动脉分叉处约 19 mm)。结扎颈内动脉, 缝合皮

肤并标记线栓位置, 术后采用青霉素抗感染。线栓插入 2 h 后缓慢拔出栓线约 10 mm, 术后将大鼠置于 20 °C 恒温环境中单笼饲养, 自由摄食饮水。待大鼠麻醉完全苏醒后, 参照 Longa 评分法^[14]评估大鼠神经功能, 评分在 1~3 分则造模成功, 纳入后续实验。假手术组仅进行血管分离操作, 不做插栓处理。

1.3.2 动物分组 所有大鼠常规饲养 7 d 后, 采用随机数字表法选取 42 只大鼠作为假手术组, 剩余 126 只大鼠作为造模组制备 MCAO/R 模型。造模成功的大鼠随机分为模型组、DFP 组和针刺组, 每组 42 只。以上各组再根据取材时间点随机分为 24 h 组、48 h 组和 72 h 组, 每组 14 只。若在实验期间大鼠死亡或不符合实验纳入标准的则排除, 并按相同步骤补齐大鼠数量。

1.4 干预方法

造模完成, 待大鼠生命体征平稳后开始进行干预。针刺组捆绑并模拟人体骨度分寸^[15]针刺百会、大椎、水沟穴, 具体定位及针刺方法如下。百会: 位于顶骨正中, 平刺 2 mm; 大椎: 位于第 7 颈椎与第 1 胸椎之间, 直刺 5 mm; 水沟: 位于唇裂鼻尖下 1 mm 正中处, 向鼻中隔方向斜刺 2 mm。以上穴位均行平补平泻法, 频率 90 次/min, 隔 15 min 行针 1 次, 每次留针 30 min。DFP 组大鼠予以 DFP 溶液灌胃, 每次 0.125 g/kg, 其余各组给予等量 0.9%氯化钠溶液灌胃注射。假手术组、模型组、DFP 组均进行捆绑, 但不做针刺干预。以上各组每隔 12 h 干预 1 次, 其中 24 h 组共干预 3 次, 48 h 组共干预 5 次, 72 h 组共干预 7 次。

1.5 标本采集

分别于造模完成 24、48、72 h 后对大鼠神经功能缺损进行改良神经功能缺损评分(modified neurological severity score, mNSS), 完成评分后, 将大鼠经 2%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉后, 迅速断头取脑。每组随机选取 6 只大鼠, 取全脑用于 TTC 染色; 每组随机选取 1 只大鼠, 取患侧缺血半暗带组织用于普鲁士蓝染色; 每组随机选取 1 只大鼠, 取患侧缺血半暗带组织放入电镜固定液中用于透射电镜观察; 每组剩余 6 只大鼠, 取患侧缺血半暗带迅速装入冻存管置于液氮罐中低温保存, 后转移至 -80 °C 冰箱中备用, 用于后续生化检测。

1.6 观察指标及检测方法

1.6.1 mNSS 神经功能评分评定神经功能缺损情况

分别在首次干预前、末次干预后两个时间点进行, 从提尾试验、平地运动试验、反射丧失和不正常运动、感觉试验、平衡木试验 5 个方面评定神经功能缺

损情况。各项共计 18 分,其中分值越高表示神经功能缺损情况越严重^[16]。

1.6.2 TTC 染色观察并计算脑梗死体积比 大鼠完成 mNSS 评分后,取全脑组织,置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱冷冻 15~20 min,后取出在冰盒上去嗅球、小脑和低位脑干,沿冠状位均匀切成 5 片,每片厚度约为 2 mm。将脑片轻柔地置于烧杯中,并放入 2% TTC 染液浸没脑片,随后放置 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴锅中避光染色 10~12 min,中途将 5 个切片翻面 1 次。染色完成后用 4% 多聚甲醛固定置于采样杯中,并在 24 h 后拍照保存,利用 ImageJ 软件测量脑梗死体积比。

1.6.3 透射电镜观察脑组织缺血半暗带线粒体超微结构 大鼠麻醉后迅速断头取脑,分离脑组织缺血半暗带,在装有电镜固定液的培养皿中将组织切成 $1\sim 3\text{ mm}^3$ 的小组织块, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下固定 2~4 h,后用 1% 锇酸在避光室温环境下固定 2 h,经漂洗后,组织样本依次经梯度乙醇脱水。完成脱水后,样本经丙酮渗透并进行环氧树脂包埋,制备超薄切片。切片经染色、清洗后,室温干燥过夜,透射电子显微镜下观察线粒体超微结构特征并采集图像进行分析。

1.6.4 普鲁士蓝染色观察脑组织缺血半暗带铁沉积情况 取大鼠脑组织缺血半暗带制作石蜡切片,经脱蜡至水处理后,滴加普鲁士蓝染色工作液,确保完全覆盖切片。后续依次进行无水乙醇脱水、二甲苯透明处理,最后用中性树胶封片。在显微镜下观察各组大鼠缺血半暗带的铁沉积情况。

1.6.5 比色法检测脑组织缺血半暗带 Fe^{2+} 含量 称取大鼠脑组织缺血半暗带区重量,按组织(g):生理盐水(mL)为 1:9 的比例研磨成匀浆,将研磨液离心取上清液。严格按照 Fe^{2+} 试剂盒说明书操作,依次加入相应工作液和待测样品上清液,于酶标仪 520 nm 波长处测定各孔吸光度值,并计算 Fe^{2+} 浓度。

1.6.6 ELISA 检测脑组织缺血半暗带 ROS、GPX4 含量 称取各组大鼠脑组织缺血半暗带区,按比例加入生理盐水,充分研磨后离心,取上清液待测。实验前将样本和试剂盒于室温中平衡 1 h,分别设标准品孔及样本孔,每个孔加入相应配制好的标准液和测试样品液 $50\text{ }\mu\text{L}$,于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min,加入洗涤液,洗板拍干;之后每孔加入 $50\text{ }\mu\text{L}$ 酶标试剂,空白孔不加,孵育 30 min,洗涤 3 次;每孔中先加入 $50\text{ }\mu\text{L}$ 的显色 A 液,再加 $50\text{ }\mu\text{L}$ 显色 B 液,避光 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 显色 15 min;完成后加入 $50\text{ }\mu\text{L}$ 终止液,终止反应;随后用酶标仪在 450 nm 波长处测定各孔吸光度值,计

算各样本中 ROS、GPX4 的含量^[17]。

1.6.7 TBA 及微板法检测脑组织缺血半暗带 MDA、GSH 含量 称取大鼠脑组织缺血半暗带区重量,按组织(g):生理盐水(mL)为 1:9 的比例研磨成匀浆,离心后取上清液待测。按照试剂盒说明书溶解试剂进行检测,MDA 需 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴 40 min,再离心取上清液,分别于酶标仪 532、405 nm 波长处测定各孔吸光度值,计算各管中 MDA 及 GSH 含量。

1.7 统计学处理

采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析。所有数据先进行正态性检验,符合正态分布的数据以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,采用两因素方差分析(*Two-way ANOVA*),若方差齐性采用 *LSD* 法进行多重比较,若方差不齐则采用 *Dunnnett's T3* 检验;不符合正态分布的数据以“*M(Q)*”表示,采用非参数检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠 mNSS 神经功能评分比较

干预前,与假手术组相比,其余各组 mNSS 神经功能评分均显著升高($P<0.01$)。干预后,与假手术组相比,各时间点模型组 mNSS 神经功能评分均显著升高($P<0.01$);与模型组相比,各时间点 DFP 组和针刺组 mNSS 神经功能评分显著降低($P<0.01$)。与干预前相比,模型组在干预后 72 h mNSS 神经功能评分显著升高($P<0.01$),DFP 组和针刺组在干预后 48 h、72 h mNSS 神经功能评分均显著降低($P<0.01$);与干预后 24 h 相比,模型组在干预后 72 h mNSS 神经功能评分升高($P<0.05$),DFP 组和针刺组在干预后 48 h、72 h mNSS 神经功能评分降低($P<0.05$, $P<0.01$);与干预后 48 h 相比,72 h 各组 mNSS 神经功能评分差异均无统计学意义($P>0.05$)。详见图 1。

2.2 各组大鼠脑梗死体积比比较

与假手术组相比,各时间点模型组脑梗死体积比均显著升高($P<0.01$);与模型组相比,各时间点 DFP 组和针刺组脑梗死体积比均显著降低($P<0.01$);而与 DFP 组相比,各时间点针刺组的脑梗死体积比差异均无统计学意义($P>0.05$)。与 24 h 组相比,48 h、72 h 组模型组脑梗死体积比显著升高($P<0.01$),DFP 组和针刺组脑梗死体积比显著降低($P<0.01$);与 48 h 组相比,72 h 组模型组脑梗死体积比显著升高($P<0.01$),DFP 组和针刺组脑梗死体积比显著降低($P<0.01$)。详见图 2、表 1。

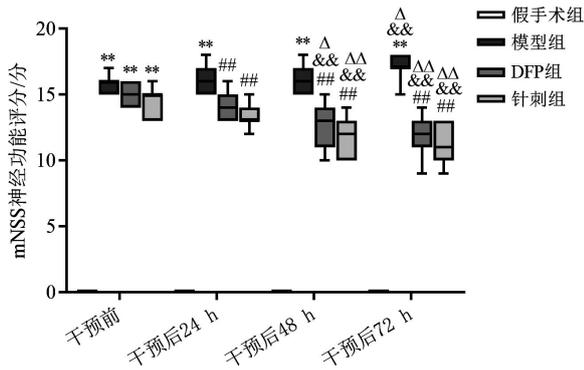


图 1 各组大鼠 mNSS 神经功能评分比较[M(Q), n=14, 分]

Fig.1 Comparison of mNSS neurological function scores among different groups of rats [M(Q), n=14, points]

注:与假手术组相比, **P<0.01;与模型组相比, #P<0.01;与干预前相比, ^{##}P<0.01;与干预后 24 h 相比, [△]P<0.05, ^{△△}P<0.01。

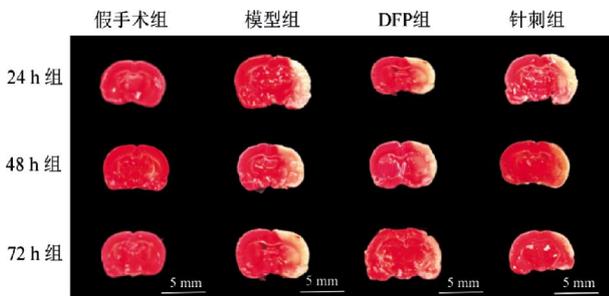


图 2 各组大鼠脑梗死 TTC 染色图(比例尺=5 mm)

Fig.2 TTC staining of cerebral infarction in different groups of rats (scale=5 mm)

2.3 各组大鼠脑组织缺血半暗带区线粒体超微结构

各时间点假手术组大鼠线粒体结构多数正常,

表 1 各组大鼠脑梗死体积比较($\bar{x}\pm s, n=6, \%$)
Table 1 Comparison of cerebral infarction volume ratio among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=6, \%$)

组别	24 h 组	48 h 组	72 h 组
假手术组	0	0	0
模型组	23.30±1.05**	26.92±1.43** ^{△△}	31.17±1.63 ^{##△△▲▲}
DFP 组	20.42±1.46 ^{##}	17.92±1.43 ^{##△△}	13.33±1.21 ^{##△△▲▲}
针刺组	19.17±1.69 ^{##}	16.58±2.80 ^{##△△}	13.08±1.43 ^{##△△▲▲}

注:与假手术组相比, **P<0.01;与模型组相比, #P<0.01;与 24 h 组相比, [△]P<0.01;与 48 h 组相比, [▲]P<0.01。

内外膜未见断裂,嵴结构清晰未见溶解。24 h 组模型组线粒体中度水肿变性,外膜部分断裂,嵴结构多数溶解;48 h 组模型组线粒体中度水肿变性,外膜部分断裂,嵴结构多数溶解,外室肿胀呈现小泡状改变;72 h 组模型组线粒体重度水肿变性,外膜广泛断裂,嵴结构完全溶解,呈现空泡化变形,线粒体数量减少。各个时间点 DFP 组线粒体轻度水肿变性,外膜未见断裂,嵴结构部分轻度溶解。24 h 组针刺组线粒体基质电子密度显著增高,呈固缩后状态;48 h、72 h 组针刺组线粒体轻度水肿变性,外膜未见断裂,嵴结构部分轻度溶解。详见图 3。

2.4 各组大鼠脑组织缺血半暗带区 Fe²⁺含量比较

各时间点假手术组大鼠缺血半暗带界限分明, Fe²⁺沉积不明显;各时间点模型组大鼠 Fe²⁺沉积数量明显增加;各时间点 DFP 组及针刺组大鼠 Fe²⁺沉

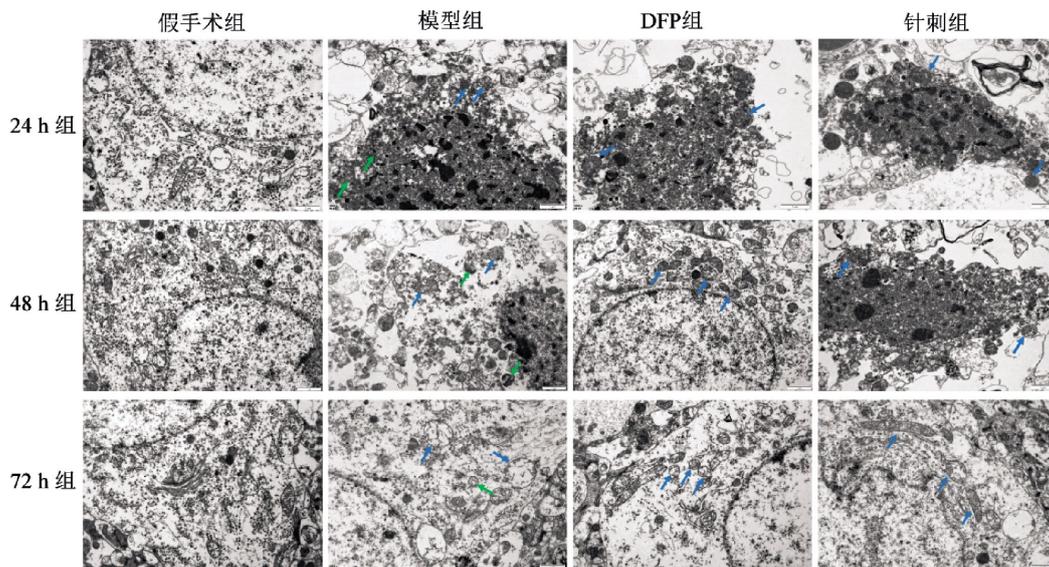


图 3 各组大鼠脑组织缺血半暗带线粒体透射电镜图(比例尺=1 μm)

Fig.3 Transmission electron microscopy images of mitochondria in the ischemic penumbra of the brain tissue among different groups of rats (scale=1 μm)

注:蓝色箭头示线粒体水肿,绿色箭头示线粒体膜断裂。

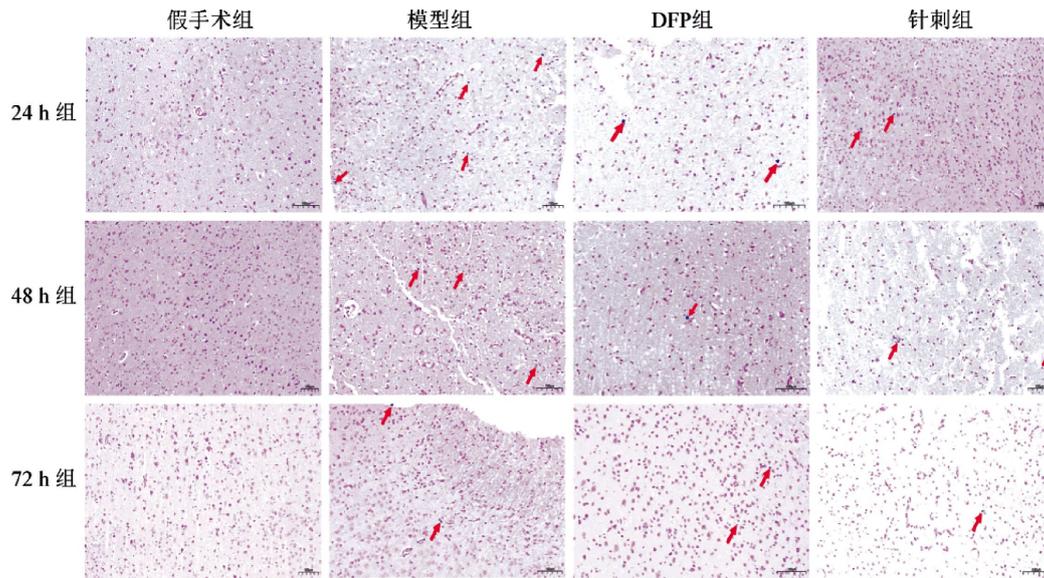


图 4 各组大鼠脑组织缺血半暗带普鲁士蓝染色图(比例尺=100 μm)

Fig.4 Prussian blue staining of the ischemic penumbra of the brain tissue in different groups of rats (scale=100 μm)

注:红色箭头示为铁离子沉积阳性细胞。

积数量显著减少。与假手术组相比,各时间点模型组 Fe^{2+} 含量均显著升高($P<0.01$);与模型组相比,各时间点 DFP 组和针刺组 Fe^{2+} 含量均显著下降($P<0.01$)。与 24 h 组相比,48 h、72 h 组模型组、DFP 组及针刺组 Fe^{2+} 含量均显著下降($P<0.01$);与 48 h 组相比,72 h 组各组 Fe^{2+} 含量差异均无统计学意义($P>0.05$)。详见表 2、图 4。

表 2 各组大鼠脑组织缺血半暗带 Fe^{2+} 含量比较 ($\bar{x}\pm s, n=6, \mu\text{mol/g}$)

Table 2 Comparison of Fe^{2+} content in the penumbra ischemic of the brain tissue among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=6, \mu\text{mol/g}$)

组别	24 h 组	48 h 组	72 h 组
假手术组	6.96±0.19	7.65±0.92	6.61±0.06
模型组	15.13±0.44**	11.15±0.72** $\Delta\Delta$	10.43±0.38** $\Delta\Delta$
DFP 组	11.04±0.63 $\#\#$	8.42±0.58 $\#\#\Delta\Delta$	7.64±0.85 $\#\#\Delta\Delta$
针刺组	11.30±0.65 $\#\#$	7.67±0.76 $\#\#\Delta\Delta$	7.84±0.41 $\#\#\Delta\Delta$

注:与假手术组相比,** $P<0.01$;与模型组相比, $\#\#P<0.01$;与 24 h 组相比, $\Delta\Delta P<0.01$ 。

2.5 各组大鼠脑组织缺血半暗带区 ROS 含量比较

与假手术组相比,各时间点模型组 ROS 含量均显著升高($P<0.01$);与模型组相比,各时间点 DFP 组和针刺组 ROS 含量均显著降低($P<0.01$);与 DFP 组相比,24 h、48 h 组针刺组 ROS 含量降低($P<$

0.05, $P<0.01$)。与 24 h 组相比,48 h、72 h 组模型组和 DFP 组 ROS 含量升高($P<0.05, P<0.01$),72 h 组针刺组 ROS 含量显著升高($P<0.01$);与 48 h 组相比,72 h 组针刺组 ROS 含量显著升高($P<0.01$)。详见表 3。

表 3 各组大鼠脑组织缺血半暗带 ROS 含量比较 ($\bar{x}\pm s, n=6, \text{ng/mL}$)

Table 3 Comparison of ROS content in the ischemic penumbra of the brain tissue among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=6, \text{ng/mL}$)

组别	24 h 组	48 h 组	72 h 组
假手术组	67.75±10.83	59.35±6.96	67.08±8.81
模型组	115.99±8.85**	131.94±14.21** Δ	138.92±14.00** $\Delta\Delta$
DFP 组	91.34±13.13 $\#\#$	107.89±8.21 $\#\#\Delta$	109.93±8.99 $\#\#\Delta\Delta$
针刺组	77.22±14.23 $\#\#\circ$	87.34±13.01 $\#\#\circ\circ$	108.82±7.50 $\#\#\Delta\Delta\Delta\Delta$

注:与假手术组相比,** $P<0.01$;与模型组相比, $\#\#P<0.01$;与 DFP 组相比, $\circ P<0.05, \circ\circ P<0.01$;与 24 h 组相比, $\Delta P<0.05, \Delta\Delta P<0.01$;与 48 h 组相比, $\Delta\Delta P<0.01$ 。

2.6 各组大鼠脑组织缺血半暗带区 GPX4 含量比较

与假手术组相比,各时间点模型组 GPX4 含量均显著降低($P<0.01$);与模型组相比,各时间点 DFP 组和针刺组 GPX4 含量均升高($P<0.05, P<0.01$);与 DFP 组相比,72 h 组针刺组 GPX4 含量升高($P<0.05$)。与 24 h 组相比,48 h、72 h 组模型组 GPX4 含量降低($P<0.05, P<0.01$),72 h 组 DFP 组 GPX4

含量显著降低($P<0.01$);与 48 h 组相比,72 h 组 DFP 组 GPX4 含量显著降低($P<0.01$)。详见表 4。

表 4 各组大鼠脑组织缺血半暗带 GPX4 含量比较

($\bar{x}\pm s, n=6, \text{pg/mL}$)

Table 4 Comparison of GPX4 content in the ischemic penumbra of the brain tissue among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=6, \text{pg/mL}$)

组别	24 h 组	48 h 组	72 h 组
假手术组	572.39±28.55	525.67±35.13	540.25±45.13
模型组	341.97±68.45**	271.03±39.39** [△]	216.97±70.39** ^{△△}
DFP 组	427.63±63.64 [#]	386.09±68.61 [#]	296.18±55.10 ^{#△△▲▲}
针刺组	438.55±54.82 [#]	434.33±53.87 [#]	384.86±63.13 ^{#°}

注:与假手术组相比,** $P<0.01$;与模型组相比,[#] $P<0.05$,[#] $P<0.01$;与 DFP 组相比,[°] $P<0.05$;与 24 h 组相比,[△] $P<0.05$,^{△△} $P<0.01$;与 48 h 组相比,^{▲▲} $P<0.01$ 。

2.7 各组大鼠脑组织缺血半暗带区 MDA 含量比较

与假手术组相比,各时间点模型组 MDA 含量均显著升高($P<0.01$);与模型组相比,各时间点 DFP 组和针刺组 MDA 含量均显著降低($P<0.01$);与 DFP 组相比,24 h 组针刺组 MDA 含量升高($P<0.05$)。与 24 h 组相比,48 h、72 h 组模型组、DFP 组及针刺组 MDA 含量均降低($P<0.05, P<0.01$);与 48 h 组相比,72 h 组 DFP 组 MDA 含量显著降低($P<0.01$)。详见表 5。

表 5 各组大鼠脑组织缺血半暗带 MDA 含量比较

($\bar{x}\pm s, n=6, \text{nmol/mg}$)

Table 5 Comparison of MDA content in the ischemic penumbra of the brain tissue among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=6, \text{nmol/mg}$)

组别	24 h 组	48 h 组	72 h 组
假手术组	1.78±0.19	1.77±0.08	1.64±0.18
模型组	3.09±0.41**	2.44±0.14** ^{△△}	2.24±0.21** ^{△△}
DFP 组	2.22±0.22 [#]	1.94±0.28 ^{#△}	1.57±0.11 ^{#△△▲▲}
针刺组	2.53±0.31 ^{#°}	2.01±0.16 ^{#△△}	1.81±0.13 ^{#△△}

注:与假手术组相比,** $P<0.01$;与模型组相比,[#] $P<0.01$;与 DFP 组相比,[°] $P<0.05$;与 24 h 组相比,[△] $P<0.05$,^{△△} $P<0.01$;与 48 h 组相比,^{▲▲} $P<0.01$ 。

2.8 各组大鼠脑组织缺血半暗带区 GSH 含量比较

与假手术组相比,各时间点模型组 GSH 含量均显著降低($P<0.01$);与模型组相比,各时间点 DFP 组和针刺组 GSH 含量均升高($P<0.05, P<0.01$)。与 24 h 组相比,72 h 组模型组 GSH 含量显著升高($P<0.01$),48 h、72 h 组 DFP 组 GSH 含量降低($P<0.05$,

$P<0.01$);与 48 h 组比较,72 h 组 DFP 组 GSH 含量升高($P<0.05$)。详见表 6。

表 6 各组大鼠脑组织缺血半暗带 GSH 含量比较

($\bar{x}\pm s, n=6, \mu\text{mol/g}$)

Table 6 Comparison of GSH content in the ischemic penumbra of the brain tissue among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=6, \mu\text{mol/g}$)

组别	24 h 组	48 h 组	72 h 组
假手术组	33.32±3.34	33.30±2.45	31.86±2.61
模型组	18.07±1.83**	20.13±2.31**	22.90±1.74** ^{△△}
DFP 组	29.28±2.80 [#]	23.45±2.37 ^{#△△}	26.36±2.11 ^{#△▲}
针刺组	28.50±2.80 [#]	25.88±1.97 [#]	27.90±2.24 [#]

注:与假手术组相比,** $P<0.01$;与模型组相比,[#] $P<0.05$,[#] $P<0.01$;与 24 h 组相比,[△] $P<0.05$,^{△△} $P<0.01$;与 48 h 组相比,[▲] $P<0.05$ 。

3 讨论

CIRI 在中医理论体系中可归属于“中风”范畴^[18]。其发病多因正气亏虚、情志失调、饮食不节等,导致体内阴阳失衡,气血逆乱,进而上犯于脑。《难经·第二十八难》中记载:“督脉者,起于下极之俞,并于脊里,上至风府,入属于脑。”脑髓损伤后会导致督脉失养,故督脉痹阻被认为是中风发病的经络学基础^[19]。本实验所选大椎、百会、水沟均为督脉穴位。其中,大椎是督脉与手足三阳经的交会穴,汇聚诸阳经气血,可协调阴阳平衡^[20];百会位于巅顶,为祛风要穴,善治一切内外之风^[21];水沟属督脉,是中风后口眼喎斜的常用穴^[22]。以上三穴配伍,可醒脑开窍、祛风补虚。本实验结果显示,造模后大鼠 mNSS 神经功能评分显著升高,脑梗死体积比显著增加,且模型组神经功能缺损症状随时间逐渐加重。经针刺干预后,CIRI 大鼠的神经功能得到不同程度改善,脑梗死体积比随时间逐渐减少;且针刺 72 h 后的神经功能评分显著低于针刺 24 h 后,提示针刺的疗效随治疗时间延长而增加。以上结果证实,针刺可有效改善 CIRI 大鼠神经功能症状,减少脑梗死体积比,发挥脑组织保护作用,与前期研究结果一致^[23]。

在 CIRI 的病理过程中,铁死亡扮演了重要角色^[24]。研究发现,在动物模型的脑组织和细胞缺氧缺糖/复氧复糖模型中均可观察到具有铁死亡特征的细胞,且随时间变化呈现不同的死亡方式^[25]。铁死亡是一种由脂质过氧化驱动的铁依赖性细胞死亡方式,其特征性表现主要集中于细胞线粒体结构与功能的改变^[26]。此外,当 CIRI 发生时,由于线粒体功能障碍及铁代谢异常等促使大量 ROS 生成,过多的 ROS 引起氧化应激损伤,导致脂质过氧化产物 MDA

增加,其含量升高是氧化应激损伤的重要标志^[27]。而 GPX4 是一种重要的抗氧化酶,在抑制铁死亡过程中起关键作用,其发挥功能离不开 GSH 的参与,GPX4 能够利用 GSH 将脂质过氧化物还原为相应的醇,这一过程有效清除了细胞内的脂质过氧化物,从而抑制铁死亡的发生^[28]。ZHANG 等^[29]发现, MCAO/R 后大鼠会出现严重的脑损伤和神经功能缺陷,且伴有铁死亡的典型分子特征,包括 Fe²⁺异常积累,ROS、MDA 等脂质过氧化物增加,以及抗氧化酶 GSH、GPX4 的水平下降。本实验结果显示,模型组大鼠脑组织呈现典型且随时间逐渐加重的铁死亡特征,线粒体损伤不断加剧,铁沉积数量显著增加,且 ROS、MDA 含量显著上升,GSH 及 GPX4 的水平显著降低,与既往研究结果一致^[30-31]。

多项研究已证实,针刺对铁死亡具有独特的调控作用^[32-33]。LI 等^[34]在大鼠 MCAO/R 模型中发现,电针通过调节氧化应激,提高 GPX4、GSH 水平,减少 MDA 及 Fe²⁺蓄积,实现对铁死亡的抑制与脑组织的保护。本研究结果亦证明,针刺治疗后不仅能有效改善线粒体损伤,显著减少脑内铁沉积,更可降低缺血半暗带中 Fe²⁺、ROS 和 MDA 的含量,同时上调抗氧化关键分子 GSH 及 GPX4 的水平。这一结果提示,针刺可通过修复线粒体功能,减少 Fe²⁺异常蓄积,从而减轻 CIRI 后氧化应激反应,抑制神经细胞铁死亡。为深入探究针刺干预 CIRI 后铁死亡的作用机制,本实验将 DFP 组设为对照,DFP 作为一种铁螯合剂,可直接降低细胞内游离 Fe²⁺水平、抑制铁死亡^[35]。既往研究表明,针刺可通过多途径调控 CIRI 后铁死亡,二者在其调控机制上的差异为进一步挖掘针刺的优势作用提供了切入点^[36]。本研究结果提示,与模型组相比,DFP 虽能显著改善 CIRI 大鼠的神经功能症状,减轻氧化应激损伤,证实其对铁死亡的抑制作用,但针刺组较 DFP 组更具独特优势。在氧化应激早期调控中,针刺 24、48 h 后 ROS 含量显著低于 DFP 组,提示 DFP 虽能通过螯合 Fe²⁺间接减少 ROS 生成,但针刺可更早激活机体自身抗氧化防御系统,减轻氧化应激损伤。而 DFP 在 CIRI 早期的快速铁螯合作用,虽能暂时降低 MDA 生成底物,导致针刺 24 h 后 MDA 含量略高于 DFP 组,但针刺通过持续调节 ROS 代谢、减少脂质过氧化底物生成,并加速 MDA 的分解代谢,至 72 h 时已实现对 ROS、MDA 的稳定调控。此外,在抗氧化保护的持续性与

后期强化中,针刺体现出更持久的机制协同性。针刺 24 h 后 GSH 含量在后续时间点保持稳定,提示针刺可能在早期即启动持续性抗氧化保护机制,而 DFP 因缺乏对机体自身抗氧化分子的调控作用,难以实现此类长效储备。更关键的是,针刺 72 h 后 GPX4 含量显著高于 DFP 组,GPX4 作为铁死亡的核心抑制分子,其活性直接决定细胞抗氧化能力,针刺虽在早期对 GPX4 的调节作用不明显,但后期通过激活核因子 E2 相关因子 2/血红素氧合酶-1 等抗氧化信号通路^[37],促进 GPX4 的活性表达与持续上调,而 DFP 仅能通过减少 Fe²⁺间接影响 GPX4 活性,无法实现对该关键分子的主动调控。以上结果表明,相较于 DFP“单一铁螯合”的作用模式,针刺早期通过抑制 ROS 产生、调节 Fe²⁺代谢及维持 GSH 含量来启动抗氧化防御,中后期则进一步通过促进 GPX4 活性表达、稳定 MDA 水平及持续改善线粒体功能,协同抑制铁死亡进程。

综上所述,铁死亡相关因子的表达及线粒体损伤情况在 CIRI 后随时间呈现动态变化。针刺能够调节铁死亡相关因子,改善线粒体功能,减少脑组织内铁沉积,提高细胞抗氧化能力,抑制 CIRI 后铁死亡,且针刺在降低氧化应激损伤方面优于 DFP。然而,本实验仅初步揭示了针刺调节铁死亡相关因子与时间点的关系,具体调节的信号通路及分子机制尚未明确,未来需进一步深入探究。

参考文献

- [1] 王陇德,彭斌,张鸿祺,等.《中国脑卒中防治报告 2020》概要[J]. 中国脑血管病杂志, 2022, 19(2): 136-144.
- [2] 中华中医药学会,广东省中医药学会脑病专业委员会,广东省中西医结合学会卒中专业委员会. 中西医结合脑卒中循证实践指南(2019)[J]. 中国循证医学杂志, 2020, 20(8): 901-912.
- [3] 张玮,马静萍. 丁苯酞通过 NLRP3 炎症小体信号通路对大鼠脑缺血再灌注损伤后细胞焦亡的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2020, 18(6): 898-902.
- [4] WANG L L, LIU C W, WANG L L, et al. Astragaloside IV mitigates cerebral ischaemia-reperfusion injury via inhibition of P62/Keap1/Nrf2 pathway-mediated ferroptosis[J]. European Journal of Pharmacology, 2023, 944: 175516.
- [5] ZHANG Y G, YE P, ZHU H, et al. Neutral polysaccharide from *Gastrodia elata* alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibiting ferroptosis-mediated neuroinflammation via the NRF2/HO-1 signaling pathway[J]. CNS Neuroscience & Therapeutics, 2024, 30(3): e14456.

- [6] 刘长兴, 郭心怡, 张雷雷, 等. 铁死亡与缺血性脑卒中及其中医药干预研究进展[J]. 实用心脑血管病杂志, 2022, 30(7): 135-140.
- [7] OU Z J, DENG Y T, WU Y, et al. Tongqiao Huoxue Decoction inhibits ferroptosis by facilitating ACSL4 ubiquitination degradation for neuroprotection against cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *Phytomedicine*, 2024, 130: 155701.
- [8] 向军军, 李丽琴, 李建铮, 等. 基于铁死亡探讨温阳复元方对脑缺血再灌注损伤大鼠神经损伤的保护机制[J]. 中药新药与临床药理, 2023, 34(12): 1649-1657.
- [9] LU X Y, LV Q Y, LI Q L, et al. Impact of acupuncture on ischemia/reperfusion injury: Unraveling the role of miR-34c-5p and autophagy activation[J]. *Brain Research Bulletin*, 2024, 215: 111031.
- [10] 王琪, 刘瑶瑶, 侯子文. “醒脑开窍”针刺法对脑缺血再灌注损伤大鼠铁死亡相关因子表达的影响[J]. 针刺研究, 2024, 49(10): 1019-1029.
- [11] 汪红娟, 唐红, 江姗姗, 等. 针刺对脑缺血再灌注损伤大鼠海马组织铁死亡的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2022, 42(10): 1683-1687.
- [12] 王琪, 李澎, 许军峰. 从铁死亡途径分析针刺对脑缺血再灌注损伤大鼠脑保护的作用机制[J]. 辽宁中医杂志, 2024, 51(6): 196-200, 231.
- [13] 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.
- [14] ZHU W, DONG J J, HAN Y S. Electroacupuncture downregulating neuronal ferroptosis in MCAO/R rats by activating Nrf2/SLC7A11/GPX4 axis[J]. *Neurochemical Research*, 2024, 49(8): 2105-2119.
- [15] 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.
- [16] CHEN J, LI Y, WANG L, et al. Therapeutic benefit of intravenous administration of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats[J]. *Stroke*, 2001, 32(4): 1005-1011.
- [17] SUN X Y, GUO M R, SU H, et al. Baicalin decreases the LPS-induced intestine inflammatory responses by ROS/p-ERK/p-P38 signal pathways in vivo and in vitro[J]. *Biomedicines*, 2025, 13(2): 251.
- [18] 张惜燕, 邢玉瑞. 论中风病因病理理论及其层级划分[J]. 山东中医杂志, 2019, 38(5): 418-421.
- [19] 何兴伟. 中风病从督脉论治探讨[J]. 中国中医基础医学杂志, 2006, 12(8): 561, 563.
- [20] 陈楚云, 李丽霞, 李伟林, 等. 基于数据挖掘技术分析古籍中风病腧穴处方规律[J]. 上海针灸杂志, 2017, 36(12): 1494-1499.
- [21] 王亚飞, 曹利超, 柳佳彤, 等. 基于数据挖掘分析百会、大椎穴的临床应用[J]. 山东中医杂志, 2018, 37(3): 216-219.
- [22] 浦怡婷, 马顾全, 吕鹤群, 等. 基于数据挖掘技术分析古代文献中水沟穴的临床应用规律[J]. 针灸临床杂志, 2024, 40(2): 56-63.
- [23] 唐红, 郑慧娥, 汪红娟, 等. 针刺对脑缺血再灌注损伤模型大鼠海马细胞凋亡的影响[J]. 神经解剖学杂志, 2023, 39(3): 326-332.
- [24] TUO Q Z, ZHANG S T, LEI P. Mechanisms of neuronal cell death in ischemic stroke and their therapeutic implications[J]. *Medicinal Research Reviews*, 2022, 42(1): 259-305.
- [25] LIAO J, WEI M Z, WANG J J, et al. Naotaiyang formula attenuates OGD/R-induced inflammation and ferroptosis by regulating microglial M1/M2 polarization through BMP6/SMADs signaling pathway[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2023, 167: 115465.
- [26] ZHANG Y F, LU X Y, TAI B, et al. Ferroptosis and its multifaceted roles in cerebral stroke[J]. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2021, 15: 615372.
- [27] COLAKOGLU H E, YAZLIK M O, KAYA U, et al. MDA and GSH-px activity in transition dairy cows under seasonal variations and their relationship with reproductive performance[J]. *Journal of Veterinary Research*, 2017, 61(4): 497-502.
- [28] EKOUE D N, HE C X, DIAMOND A M, et al. Manganese superoxide dismutase and glutathione peroxidase-1 contribute to the rise and fall of mitochondrial reactive oxygen species which drive oncogenesis[J]. *Biochimica et Biophysica Acta-Bioenergetics*, 2017, 1858(8): 628-632.
- [29] ZHANG J R, CAI W, WEI X F, et al. Moxibustion ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury by regulating ferroptosis in rats[J]. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 2023, 50(10): 779-788.
- [30] 曹亚荣, 马贤德, 樊程程, 等. 基于 System xc(-)-GSH-GPX4 抗氧化功能轴探讨眼针改善脑缺血再灌注损伤大鼠神经元铁死亡的作用机制[J]. 针刺研究, 2024, 49(12): 1239-1247.
- [31] ALIM I, CAULFIELD J T, CHEN Y X, et al. Selenium drives a transcriptional adaptive program to block ferroptosis and treat stroke[J]. *Cell*, 2019, 177(5): 1262-1279.
- [32] HOU Z W, LIU Y Y, WANG Q, et al. Electroacupuncture attenuates cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibiting ferroptosis via the p53/SLC7A11 pathway[J]. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 2025, 52(5): e70036.
- [33] 王琪, 侯子文, 刘瑶瑶, 等. 基于 p53/SLC7A11/GPX4 信号通路探讨针刺干预脑缺血再灌注损伤大鼠的作用机制[J]. 中国针灸, 2025, 45(8): 1099-1110.
- [34] LI G D, LI X X, DONG J J, et al. Electroacupuncture ameliorates cerebral ischemic injury by inhibiting ferroptosis[J]. *Frontiers in Neurology*, 2021, 12: 619043.
- [35] 盛小飞, 王淑远, 王新雨, 等. 缺血预处理通过抑制铁死亡减轻大鼠肺缺血-再灌注损伤[J]. 中国病理生理杂志, 2023, 39(1): 117-122.
- [36] LIU Y Y, WANG Q, HOU Z W, et al. Electroacupuncture inhibits ferroptosis by modulating iron metabolism and oxidative stress to alleviate cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *Journal of Molecular Neuroscience*, 2025, 75(2): 63.
- [37] 张安邦, 孙秀颀, 庞博, 等. 电针预处理通过调节肠道-大脑轴及 Nrf2/HO-1 信号通路抑制铁死亡减轻大鼠脑缺血再灌注损伤[J]. 南方医科大学学报, 2025, 45(5): 911-920.