

本文引用: 谭若彤, 谢文彬, 杨尚林, 谢玮琪, 唐雨兰, 李铁浪. 基于 PGC-1 α /NRF1 信号通路探究点按脾俞穴对慢性疲劳综合征大鼠认知障碍的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(12): 2325-2334.

基于 PGC-1 α /NRF1 信号通路探究点按脾俞穴 对慢性疲劳综合征大鼠认知障碍的影响

谭若彤, 谢文彬, 杨尚林, 谢玮琪, 唐雨兰, 李铁浪*

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** 基于过氧化物酶体增殖受体 γ 辅激活因子-1 α (PGC-1 α)/核呼吸因子 1(NRF1)通路探讨点按脾俞穴对慢性疲劳综合征(CFS)大鼠认知障碍的作用机制。**方法** 将 32 只大鼠随机分为空白组 8 只、造模组 24 只。造模组采用 21 d 多因素复合应激刺激法建立 CFS 大鼠模型,造模结束后,再将造模组大鼠随机分为模型组、点按组和人参皂苷组,每组 8 只。空白组和模型组予以 1 mL/d 的生理盐水腹腔注射;点按组点按双侧脾俞穴后,再予以 1 mL/d 的生理盐水腹腔注射;人参皂苷组予 1 mL/d 人参皂苷溶液腹腔注射。均 1 次/d,连续干预 14 d。在造模前、造模后和干预后,进行大鼠体质量测量、一般情况半定量评分评估、力竭游泳实验和 Morris 水迷宫实验;干预后,采用比色法检测大鼠海马组织中腺苷三磷酸(ATP)含量,硫代巴比妥酸比色(TBA)法检测海马组织中丙二醛(MDA)含量,水溶性四唑盐(WST-1)法检测海马组织中超氧化物歧化酶(SOD)活性,实时荧光定量 PCR 法检测海马组织中 PGC-1 α 、NRF1 mRNA 表达量,Western blot 检测海马组织中 PGC-1 α 、NRF1 蛋白表达水平。**结果** (1)在造模前,各组大鼠的体质量、一般情况半定量评分、力竭游泳时间和 Morris 水迷宫实验相关指标的比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。在造模后,与空白组比较,模型组、点按组和人参皂苷组大鼠的体质量下降($P<0.01$),一般情况半定量评分升高($P<0.01$),力竭游泳时间缩短($P<0.05$ 或 $P<0.01$),Morris 水迷宫实验的逃避潜伏期延长($P<0.05$),运动总路程减少($P<0.05$ 或 $P<0.01$),穿越平台次数减少($P<0.01$);模型组、点按组和人参皂苷组大鼠之间的上述指标比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。在干预后,与空白组比较,模型组大鼠的体质量下降($P<0.01$),一般情况半定量评分升高($P<0.01$),力竭游泳时间缩短($P<0.05$),Morris 水迷宫实验的逃避潜伏期延长($P<0.05$),运动总路程减少($P<0.01$),穿越平台次数减少($P<0.01$);与模型组比较,点按组和人参皂苷组大鼠的体质量升高($P<0.01$),一般情况半定量评分降低($P<0.01$),力竭游泳时间延长($P<0.01$),Morris 水迷宫实验的逃避潜伏期缩短($P<0.01$),运动总路程增加($P<0.01$),穿越平台次数增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$);点按组和人参皂苷组大鼠之间的上述指标比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。(2)与空白组比较,模型组大鼠海马组织中 ATP 含量和 SOD 活性降低($P<0.05$),MDA 含量升高($P<0.05$),PGC-1 α 、NRF1 蛋白表达水平降低($P<0.01$),PGC-1 α 、NRF1 mRNA 表达量减少($P<0.01$)。与模型组比较,点按组和人参皂苷组大鼠的海马组织中 ATP 含量和 SOD 活性升高($P<0.05$),MDA 含量降低($P<0.05$),PGC-1 α 、NRF1 蛋白表达水平升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),PGC-1 α 、NRF1 mRNA 表达量升高($P<0.01$)。**结论** 点按脾俞穴可以有效改善 CFS 大鼠疲劳状态和认知障碍,提高海马组织中 ATP 含量、增强 SOD 活性,降低 MDA 含量,其作用机制可能与激活 PGC-1 α /NRF1 信号通路、改善线粒体能量代谢有关。

〔关键词〕 慢性疲劳综合征;点按法;脾俞穴;过氧化物酶体增殖受体 γ 辅激活因子 α /核呼吸因子 1 信号通路;线粒体能量代谢;认知障碍

〔中图分类号〕R244

〔文献标志码〕A

〔文章编号〕doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.12.011

Effects of acupressure at "Pishu (BL20)" on cognitive impairment in rats with chronic fatigue syndrome based on the PGC-1 α /NRF1 signaling pathway

TAN Ruotong, XIE Wenbin, YANG Shanglin, XIE Weiqi, TANG Yulan, LI Tielang*

〔收稿日期〕2025-08-18

〔基金项目〕湖南省自然科学基金面上项目(2023JJ30454);湖南中医药大学大学生创新创业训练项目(S202410541038)。

〔通信作者〕* 李铁浪,男,博士,教授,博士研究生导师,E-mail:litielang810@163.com。

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 acupressure at "Pishu (BL20)" on cognitive impairment in rats with chronic fatigue syndrome (CFS) based on the peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α (PGC-1 α)/nuclear respiratory factor 1 (NRF1) pathway. **Methods** Thirty-two rats were randomly divided into blank group ($n=8$) and modeling group ($n=24$). The CFS model was established in the modeling group using a multifactorial compound stimulation method for a modeling period of 21 days. After modeling, rats in the modeling group were randomly divided into model group, "Pishu (BL20)" acupressure group, and ginsenoside group, with eight rats in each group. The blank group and model group received the intraperitoneal injection of physiological saline at 1 mL/day. The "Pishu (BL20)" acupressure group received bilateral acupressure at "Pishu (BL20)" followed by additional intraperitoneal injection of physiological saline at 1 mL/day. The ginsenoside group received intraperitoneal injection of ginsenoside solution at 1 mL/day. All interventions were administered once daily for 14 consecutive days. Assessments were conducted before and after modeling, and after intervention, including rats' body weight measurement, semi-quantitative scores of general condition, exhaustive swimming test and Morris water maze experiment. After the intervention, the adenosine triphosphate (ATP) content in the hippocampal tissue of rats was measured by colorimetry, the malondialdehyde (MDA) content in the hippocampal tissue was determined by thiobarbituric acid (TBA) colorimetry method, the superoxide dismutase (SOD) activity in the hippocampal tissue was tested by water-soluble tetrazolium salt 1 (WST-1) method, and the mRNA expressions of PGC-1 α and NRF1 in the hippocampal tissue were measured by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (PCR). The protein expression levels of PGC-1 α and NRF1 in the hippocampal tissue were determined by Western blot. **Results** (1) Before modeling, there were no statistically significant differences in body weight, semi-quantitative scores of general condition, exhaustive swimming time, and related indicators of the Morris water maze experiment among different groups of rats ($P>0.05$). After modeling, compared with the blank group, rats in the model group, "Pishu (BL20)" acupressure group, and ginsenoside group all showed decreased body weight ($P<0.01$), increased semi-quantitative scores of general condition ($P<0.01$), shortened exhaustive swimming time ($P<0.05$ or $P<0.01$), prolonged escape latency in the Morris water maze experiment ($P<0.05$), decreased total distance traveled ($P<0.05$ or $P<0.01$) and number of platform crossings ($P<0.01$). There were no statistically significant differences in the above indicators among the model group, "Pishu (BL20)" acupressure group, and ginsenoside group ($P>0.05$). After intervention, compared with the blank group, rats in the model group exhibited decreased body weight ($P<0.01$), increased semi-quantitative scores of general condition ($P<0.01$), shortened exhaustive swimming time ($P<0.05$), prolonged escape latency in the Morris water maze experiment ($P<0.05$), decreased total distance traveled ($P<0.01$) and number of platform crossings ($P<0.01$). Compared with the model group, rats in the "Pishu (BL20)" acupressure group and ginsenoside group both showed increased body weight ($P<0.01$), decreased semi-quantitative scores of general condition ($P<0.01$), and shortened exhaustive swimming time ($P<0.01$), shortened escape latency in the Morris water maze experiment ($P<0.01$), increased total distance traveled ($P<0.01$), and number of platform crossings ($P<0.05$ or $P<0.01$). There were no statistically significant differences in the above indicators between the "Pishu (BL20)" acupressure group and ginsenoside group ($P>0.05$). (2) Compared with the blank group, rats in the model group showed decreased ATP content and SOD activity in the hippocampal tissue ($P<0.05$), increased MDA content ($P<0.05$), decreased protein expression levels of PGC-1 α and NRF1 ($P<0.01$) and mRNA expression levels of PGC-1 α and NRF1 ($P<0.01$). Compared with the model group, rats in the "Pishu (BL20)" acupressure group and ginsenoside group both showed increased ATP content and SOD activity in the hippocampal tissue ($P<0.05$), and decreased MDA content ($P<0.05$), increased protein expression levels of PGC-1 α and NRF1 ($P<0.05$ or $P<0.01$) and mRNA expression levels of PGC-1 α and NRF1 ($P<0.01$). **Conclusion** Acupressure at "Pishu (BL20)" can effectively ameliorate the fatigue state and cognitive impairment in rats with CFS. It increases ATP content and SOD activity while reducing MDA content in the hippocampal tissue. The mechanism of action may be related to the activation of the PGC-1 α /NRF1 signaling pathway and the improvement of mitochondrial energy metabolism.

[Keywords] chronic fatigue syndrome; acupressure; "Pishu (BL20)"; PGC-1 α /NRF1 signaling pathway; mitochondrial energy metabolism; cognitive impairment

慢性疲劳综合征(chronic fatigue syndrome, CFS)是一种以持续6个月以上的严重疲劳为主要表现的慢性致残性疾病,包括运动后不适、睡眠不足、记忆力或注意力受损及肌肉疼痛等症状^[1]。认知障碍是CFS的主要临床表现,研究表明CFS患者的认知障碍症状具有普遍性和典型性^[2]。海马作为调控情绪、认知及应激反应的关键脑区,在CFS发病过程中,其功能活性显著降低,进而引发神经认知障碍和应激调节功能失调^[3],从而引起认知障碍。CFS的临床表现以疲劳虚弱为主,故属于中医学“虚劳病”的范畴。有学者研究发现,脾虚失运,则人体的日常供给能量不足,出现疲乏倦怠、注意力不集中等临床症状,从CFS的临床表现和疾病特点来看,CFS与脾关系最密切^[4]。脾和线粒体具有类比性,“脾主运化”的生物学内涵,集中体现在线粒体对物质能量代谢的核心作用上^[5]。过氧化物酶体增殖受体 γ 辅激活因子-1 α (peroxisome proliferator activated receptor γ coactivator-1 α , PGC-1 α)在线粒体能量代谢中扮演重要角色,PGC-1 α 信号通路能促进线粒体生物合成和能量代谢,海马神经元线粒体质量和腺苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)水平依赖于PGC-1 α ,提高PGC-1 α 水平可有效抵抗氧化应激引起的神经元死亡,增强海马神经元中线粒体生物合成和突触的分子分化^[6],从而提高能量代谢。神经元PGC-1 α 过表达可显著改善其认知缺陷,过表达PGC-1 α 改善了缺氧条件下神经元的能量代谢,增加了海马神经元的代谢活性,进而减少了活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生,因此,提高PGC-1 α 的表达水平可以提高线粒体能量代谢,从而减轻认知障碍^[7]。有相关研究证实,PGC-1 α 活化后可促使下游核呼吸因子1(nuclear respiratory factor 1, NRF1)、核呼吸因子2(nuclear respiratory factor 2, NRF2)的激活,可促使线粒体DNA的转录和翻译,从而改善线粒体功能^[8]。本实验采用多因素复合应激刺激法建立CFS大鼠模型,观察点按脾俞穴干预对大鼠的一般情况、行为学表现、海马组织ATP含量、丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性以及PGC-1 α 、NRF1基因和蛋白表达水平的影响,进而探索点按脾俞穴对CFS疲劳状态和认知障碍的影响及潜在分子作

用机制,为临床推拿治疗CFS提供新的科学证据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

共32只健康成年雄性SD大鼠,SPF级,体质量200~220 g,由湖南中医药大学动物实验中心提供[许可证号:SYXK(湘)2024-0014]。大鼠均在恒温(24~26℃)、恒湿(50%~70%)的标准实验环境中进行分笼饲养。本实验方案已得到湖南中医药大学伦理委员会通过(批准号:HNUCM21-2404-32)。

1.2 药物

人参皂苷片(生产批号:Z20026640,吉林双星药业有限公司,规格:每盒2板,每板24片,25 mg/片),先将25 mg药片碾碎,再溶解于4 mL的生理盐水,浓度为5.83 mg/mL。

1.3 主要试剂及仪器

1.3.1 主要试剂 ATP、SOD、MDA试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号:A095-1-1、A001-2-2、A003-1-1);异氟烷(深圳市瑞沃特生命科技有限公司,批号:R510-22);PGC-1 α 、NRF1抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,批号:66369-1-IG、12482-1-AP);RNA提取试剂盒、逆转录试剂盒、qPCR专用预混液(南京诺唯赞生物科技股份有限公司,批号:R401-01、R223-01、R233-01)。

1.3.2 主要仪器 全景切片扫描仪(匈牙利3DHIS-TECH公司,型号:PANNORAMIC DESK/MIDI/250/1000);呼吸麻醉机(深圳瑞沃德生命科技有限公司,型号:R500);按法刺激仪(自制,专利号:ZL 2022 1 0366733.1);酶标分析仪(山东博科生物产业有限公司,型号:BK-EL10C);电泳仪(武汉赛维尔生物科技有限公司,型号:SVE-2);PCR梯度基因扩增仪(美国SCILOGEX公司,型号:SCI1000-G)。

1.4 动物造模

以多因素复合应激刺激法^[9-11]进行造模。先予强迫负重游泳后,再给予慢性应激刺激。(1)强迫负重游泳:造模组大鼠采取强迫负重游泳训练,尾部增加3%的焊锡丝质量,于水温(25±2)℃、水深超过40 cm(确保大鼠完全进入水中而不触碰水桶底部)的水桶内强迫游泳至力竭,每天1次,持续21 d。力竭标准:大鼠游泳动作失调,不能继续游泳,口鼻部没水超过10 s未浮出。大鼠力竭后迅速捞起擦干毛发,

置于饲养笼中休息。(2)慢性应激刺激:造模期间根据随机数字表每天给予造模组大鼠两种不可预知的应激刺激,刺激强度控制在可承受范围内,每天 1 次,持续 21 d。应激刺激方式包括以下 6 种:①12 h 禁食;②12 h 禁水;③通宵照明;④夹尾 1 min;⑤噪声干扰(分贝量 110 dB 持续 1 h);⑥足底电击(强度控制在 1 mA、30 V、30 s/次,间隔 1 min,重复 5 次)。(3)造模成功标准:根据文献[12]中实验大鼠一般情况半定量评分观察表,对大鼠的精神状态、粪便性状、皮毛色泽及耳尾颜色等 4 个方面进行评价,各方面评分等级为 0、1、2、3 分,当总评分 ≥ 4 分则表明造模成功。

1.5 分组及干预方法

采用随机数字表法将 32 只大鼠分为空白组 8 只、造模组 24 只。造模组参照“1.4”建立 CFS 大鼠模型,模型制备成功后,将造模组大鼠再随机分为模型组、点按组和人参皂苷组,每组 8 只。

空白组、模型组予以 1 mL/d 的生理盐水腹腔注射;点按组点按双侧脾俞穴后,予以 1 mL/d 生理盐水腹腔注射。大鼠的脾俞穴定位^[13]:第 12 胸椎下两旁肋间,背正中间旁开 6 mm。以大鼠两侧髂嵴顶点连线为体表标志,配合鼠尾提手法,精确定位第 6 腰椎棘突后,沿脊柱向头侧触诊 7 个椎体即可确定第 12 胸椎位置^[14]。选用自制的按法刺激仪进行点按脾俞穴操作:将大鼠用 3%异氟烷吸入麻醉后,俯卧位放置,穴位局部备皮,将按法刺激仪器的按摩头对准双侧脾俞穴,垂直于皮肤按压。在团队前期研究成果^[15]的基础上,按法刺激仪参数调节为力量参数 0.5 kg,频率 8 次/min,点按治疗 20 min/次。由研究人员实时监控干预过程,防止意外事件发生。人参皂苷组予以人参皂苷溶液腹腔注射(按总皂苷含量计,浓度为 5.83 mg/mL^[16]),每次 1 mL。以上干预每天 1 次,连续 14 d。

1.6 取材

干预后先对各组大鼠进行行为学检测,评估运动状态差异。行为学检测结束后,将 32 只大鼠称重后用 3%戊巴比妥钠溶液(25 mg/kg)腹腔注射麻醉,腹主动脉采血后离心,取上层血清液。再将大鼠取俯卧位固定,分离大鼠头部:一部分取完整大脑,用多聚甲醛固定液进行保存,拟行组织形态学观察;另一部分大脑于冰上进行操作,剥离双侧海马,在 4 ℃生

理盐水中洗净血液后,冻存于-80 ℃冰箱,用于 Western blot 和实时定量荧光 PCR 技术检测。

1.7 观察指标及方法

1.7.1 一般情况评价 一般情况评价包括大鼠的体质量和一般情况半定量评分。大鼠的体质量变化可反映疲劳情况;一般情况半定量评分用于评价 CFS 造模情况,评分 ≥ 4 分则表示造模成功。造模前、造模后和干预后,对各组大鼠进行体质量测量和一般情况半定量评分。

1.7.2 行为学检测 (1)力竭游泳实验:采用力竭游泳实验反映大鼠的疲劳程度。造模前、造模后和干预后对各组大鼠进行力竭游泳实验。实验方法及力竭标准同“1.4”第(1)部分。记录大鼠自开始游泳至达到力竭标准的时长。

(2)Morris 水迷宫实验^[17]:采用 Morris 水迷宫实验观察大鼠的认知水平。在造模前、造模后和干预后对各组大鼠进行 Morris 水迷宫实验。将各组大鼠在水迷宫实验中,首先进行为期 4 d 的定位航行训练。前 3 d 的训练数据仅作参考,最终分析以第 4 天的平均逃避潜伏期和运动总路程作为主要评价指标。随后在第 5 天进行空间探索测试,移除平台后,从不同象限固定点将大鼠放入水中,记录其在 60 s 内穿越平台次数。

1.7.3 海马组织中 ATP、MDA 含量及 SOD 活性检测 采用比色法检测海马组织中 ATP 含量,硫代巴比妥酸比色法(TBA 法)检测海马组织中 MDA 含量,水溶性四唑盐法(WST-1 法)检测海马组织中 SOD 活性。取各组大鼠海马组织,按照各检测方法的具体步骤检测大鼠海马组织 ATP、MDA 含量及 SOD 活性。

1.7.4 海马组织中 PGC-1 α 、NRF1 蛋白表达水平检测 采用 Western blot 检测海马组织中 PGC-1 α 、NRF1 蛋白表达水平。取各组大鼠海马组织加入 PBS 清洗,切小块放入管中,裂解液完全裂解后,离心取上清液。测定蛋白浓度,电泳,转膜,PBS-T 漂洗,封闭,按照说明加入一抗 PGC-1 α (1:50 000)、NRF1(1:3 000),过夜 4 ℃孵育后,采用 TBST 溶液洗涤膜,后加入二抗(1:15 000),在室温下孵育 1 h,TBST 洗膜。将采集的照片用 ImageJ 软件处理系统分析。

1.7.5 海马组织中 PGC-1 α 、NRF1 mRNA 表达量检测 采用实时荧光定量 PCR 技术检测海马组织

中 PGC-1 α 、NRF1 mRNA 表达量。首先取各组大鼠新鲜冰冻的海马组织用 Trizol 试剂进行总 RNA 提取,其次 RT 逆转录成 cDNA,PCR 扩增:第一阶段 95 °C 预变性 30 s;第二阶段 95 °C 变性 10 s,60 °C,退火,延伸 30 s,45 个循环;第三阶段为溶解曲线采集,60 °C \rightarrow 95 °C,每升温 0.5 °C,采集一次荧光信号。以 β -actin 为内参,所得数据用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算各目标的 mRNA 相对表达量。引物由武汉市皮诺飞生物科技有限公司设计并合成,详见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	引物序列(5'-3')	长度/bp
β -actin	正向: CACGATGGAGGGGCCGACTCATC	240
	反向: TAAAGACCTCTATGCCAACACAGT	
PGC-1 α	正向: CCGCGAACATATTCGAGAAG	222
	反向: GCTTCTTAAGTAGACCGCC	
Nrf1	正向: GCACAGAAGAGCAAAAAGC	226
	反向: CCAACCTGGATGAGCGAC	

1.8 统计学方法

采用 SPSS 26.0 进行统计分析。数据以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,经正态性和方差齐性的检验:若符合正态分布且方差齐,重复测量指标采用重复测量方差分析,若不符合球形假设检验则行 Greenhouse-Geisser 法或 Huynh-Feldt 法校正,若时间与处理因素之间存在交互效应则进行单独效应检验,若不存在交互效应则直接使用主效应检验来评价处理因素的效应,组间比较采用单因素方差分析(ANOVA),若差异显著则进一步以 LSD 法进行两两比较;若方差不齐,则改用 Kruskal-Wallis H 检验,并采用 Dunnett's T3 法进行事后多重比较;若非正态分布数据,重复测量指标采用广义估算方程,组间比较采用非参数检验。均以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠体质量比较

(1)各组时间点比较:与造模前比较,空白组大鼠造模后、干预后体质量升高($P<0.01$),模型组、点按组及人参皂苷组大鼠造模后、干预后体质量均下降($P<0.01$);与造模后比较,模型组、点按组及人参皂苷组大鼠干预后体质量均升高($P<0.01$)。(2)组间比较:造模前,各组大鼠体质量比较差异无统计

学意义($P>0.05$)。造模后,与空白组比较,模型组、点按组及人参皂苷组大鼠体质量均下降($P<0.01$);模型组、点按组及人参皂苷组大鼠之间的体质量差异无统计学意义($P>0.05$)。干预后,与空白组比较,模型组大鼠体质量下降($P<0.01$);与模型组比较,点按组和人参皂苷组大鼠体质量升高($P<0.01$);点按组与人参皂苷组大鼠之间体质量差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表 2。

表 2 各组大鼠在造模前、造模后及干预后的体质量比较

($\bar{x}\pm s, n=8, g$)Table 2 Comparison of body weight among different groups of rats before and after modeling, and after intervention ($\bar{x}\pm s, n=8, g$)

组别	造模前	造模后	干预后
空白组	262.49 \pm 9.22	421.13 \pm 18.08 $\Delta\Delta$	421.16 \pm 20.91 $\Delta\Delta$
模型组	263.33 \pm 5.58	184.83 \pm 14.46 $\Delta\Delta^{**}$	214.30 \pm 24.70 $\Delta\Delta^{***}$
点按组	261.53 \pm 6.61	197.34 \pm 13.86 $\Delta\Delta^{**}$	320.19 \pm 11.70 $\Delta\Delta^{***}$
人参皂苷组	259.76 \pm 6.33	191.15 \pm 15.09 $\Delta\Delta^{**}$	332.38 \pm 19.79 $\Delta\Delta^{***}$

注:与造模前比较, $\Delta\Delta P<0.01$;与造模后比较, $^{**}P<0.01$;与空白组比较, $^{**}P<0.01$;与模型组比较, $^{##}P<0.01$ 。

2.2 各组大鼠一般情况半定量评分比较

(1)各组时间点比较:与造模前比较,各组大鼠造模后、干预后一般情况半定量评分均升高($P<0.01$);与造模后比较,点按组和人参皂苷组大鼠干预后一般情况半定量评分均下降($P<0.01$)。(2)组间比较:造模前,各组大鼠一般情况半定量评分组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。造模后,与空白组比较,模型组、点按组及人参皂苷组大鼠一般情况半定量评分均升高($P<0.01$);模型组、点按组和人参皂苷组大鼠之间的一般情况半定量评分差异无统计学意义($P>0.05$)。干预后,与空白组比较,模型组大鼠一般情况半定量评分升高($P<0.01$);与模型组比较,点按组和人参皂苷组大鼠一般情况半定量评分下降($P<0.01$);点按组与人参皂苷组大鼠之间的一般情况半定量评分差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表 3。

2.3 各组大鼠力竭游泳时间比较

(1)各组时间点比较:与造模前比较,模型组、点按组和人参皂苷组大鼠造模后力竭游泳时间均缩短($P<0.01$),空白组、点按组和人参皂苷组大鼠干预后力竭游泳时间均延长($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与造模后比较,点按组和人参皂苷组大鼠干预后力竭游泳时

表 3 各组大鼠在造模前、造模后及干预后的一般情况半定量评分比较($\bar{x}\pm s, n=8, \text{分}$)

Table 3 Comparison of semi-quantitative scores of general condition among different groups of rats before and after modeling, and after intervention ($\bar{x}\pm s, n=8, \text{points}$)

组别	造模前	造模后	干预后
空白组	0.00±0.00	0.88±0.35 ^{△△}	1.13±0.35 ^{△△}
模型组	0.00±0.00	7.25±0.46 ^{△△**}	7.75±0.46 ^{△△**}
点按组	0.00±0.00	6.88±0.35 ^{△△**}	2.13±0.99 ^{△△***}
人参皂苷组	0.00±0.00	7.13±0.35 ^{△△**}	2.13±0.84 ^{△△***}

注:与造模前比较,^{△△} $P<0.01$;与造模后比较,^{**} $P<0.01$;与空白组比较,^{**} $P<0.01$;与模型组比较,[≡] $P<0.01$ 。

间均延长($P<0.01$)。(2)组间比较:造模前,各组大鼠力竭游泳时间组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。造模后,与空白组比较,模型组、点按组及人参皂苷组大鼠力竭游泳时间均缩短($P<0.05$ 或 $P<0.01$);模型组、点按组和人参皂苷组大鼠之间力竭游泳时间差异无统计学意义($P>0.05$)。干预后,与空白组比较,模型组大鼠力竭游泳时间缩短($P<0.05$);与模型组比较,点按组和人参皂苷组大鼠力竭游泳时间延长($P<0.01$);点按组与人参皂苷组大鼠之间力竭游泳时间差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表 4。

表 4 各组大鼠在造模前、造模后及干预后的力竭游泳时间比较($\bar{x}\pm s, n=8, \text{min}$)

Table 4 Comparison of exhaustive swimming time among different groups of rats before and after modeling, and after intervention ($\bar{x}\pm s, n=8, \text{min}$)

组别	造模前	造模后	干预后
空白组	11.38±0.59	14.50±1.43	16.88±1.49 [△]
模型组	10.13±0.41	6.75±0.29 ^{△△**}	9.13±0.45 [*]
点按组	11.38±0.85	7.13±0.37 ^{△△*}	17.00±1.57 ^{△△***}
人参皂苷组	9.13±0.33	6.13±0.37 ^{△△**}	15.75±0.79 ^{△△***}

注:与造模前比较,[△] $P<0.05$,^{△△} $P<0.01$;与造模后比较,^{**} $P<0.01$;与空白组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$;与模型组比较,[≡] $P<0.01$ 。

2.4 各组大鼠 Morris 水迷宫实验的逃避潜伏期、运动总路程和穿越平台次数比较

(1)各组时间点比较:与造模前比较,模型组、点按组和人参皂苷组大鼠造模后逃避潜伏期均延长($P<0.01$),模型组大鼠干预后逃避潜伏期均延长($P<0.01$);与造模后比较,点按组和人参皂苷组大鼠干

预后逃避潜伏期均缩短($P<0.05$)。(2)组间比较:造模前,各组大鼠逃避潜伏期组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。造模后,与空白组比较,模型组、点按组和人参皂苷组大鼠逃避潜伏期延长($P<0.05$);模型组、点按组和人参皂苷组大鼠之间逃避潜伏期差异无统计学意义($P>0.05$)。干预后,与空白组比较,模型组大鼠逃避潜伏期延长($P<0.05$);与模型组比较,点按组和人参皂苷组大鼠逃避潜伏期缩短($P<0.01$);点按组与人参皂苷组大鼠之间逃避潜伏期差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表 5。

表 5 各组大鼠在造模前、造模后及干预后的逃避潜伏期比较($\bar{x}\pm s, n=8, \text{s}$)

Table 5 Comparison of escape latency among different groups of rats before and after modeling, and after intervention ($\bar{x}\pm s, n=8, \text{s}$)

组别	造模前	造模后	干预后
空白组	2.80±2.23	6.66±3.26	12.20±9.71
模型组	3.57±3.26	24.02±10.04 ^{△△*}	35.08±18.29 ^{△△*}
点按组	3.27±1.70	22.21±7.70 ^{△△*}	7.34±2.91 [≡]
人参皂苷组	4.30±1.76	21.68±9.66 ^{△△*}	8.57±3.88 [≡]

注:与造模前比较,^{△△} $P<0.01$;与造模后比较,^{*} $P<0.05$;与空白组比较,^{*} $P<0.05$;与模型组比较,[≡] $P<0.01$ 。

(1)各组时间点比较:与造模前比较,模型组、点按组和人参皂苷组大鼠造模后运动总路程均减少($P<0.05$),模型组大鼠干预后运动总路程减少($P<0.05$);与造模后比较,点按组和人参皂苷组大鼠干预后运动总路程均增加($P<0.01$)。(2)组间比较:造模前,各组大鼠运动总路程组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。造模后,与空白组比较,模型组、点按组和人参皂苷组大鼠运动总路程减少($P<0.05$ 或 $P<0.01$);模型组、点按组和人参皂苷组大鼠之间运动总路程差异无统计学意义($P>0.05$)。干预后,与空白组比较,模型组大鼠运动总路程减少($P<0.01$);与模型组比较,点按组和人参皂苷组大鼠运动总路程增加($P<0.01$);点按组与人参皂苷组大鼠之间运动总路程差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表 6。

(1)各组时间点比较:与造模前比较,模型组、点按组和人参皂苷组大鼠在造模后的穿越平台次数均减少($P<0.01$),模型组大鼠干预后穿越平台次数均减少($P<0.05$);与造模后比较,点按组和人参皂苷组

表6 各组大鼠在造模前、造模后及干预后的运动总路程的比较($\bar{x}\pm s, n=8, \text{mm}$)

Table 6 Comparison of total distance traveled among different groups of rats before and after modeling, and after intervention ($\bar{x}\pm s, n=8, \text{mm}$)

组别	造模前	造模后	干预后
空白组	588.03±162.33	402.98±147.59	519.37±265.95
模型组	471.45±225.98	134.49±99.12 ^{△△*}	141.82±126.85 ^{△△*}
点按组	477.82±183.39	148.31±106.37 ^{△△*}	573.65±239.73 ^{△△*}
人参皂苷组	459.92±201.04	226.86±111.84 ^{△*}	528.67±201.51 ^{△△*}

注:与造模前比较,[△] $P<0.05$;与造模后比较,^{**} $P<0.01$;与空白组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.01$ 。

大鼠干预后穿越平台次数增加($P<0.01$)。(2)组间比较:造模前,各组大鼠组之间穿越平台次数比较差异无统计学意义($P>0.05$)。造模后,与空白组比较,模型组、点按组和人参皂苷组大鼠穿越平台次数减少($P<0.01$);模型组、点按组和人参皂苷组大鼠之间穿越平台次数差异无统计学意义($P>0.05$)。干预后,与空白组比较,模型组大鼠穿越平台次数减少($P<0.01$);与模型组比较,点按组和人参皂苷组大鼠穿越平台次数增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$);点按组与人参皂苷组大鼠之间穿越平台次数差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表7。

表7 各组大鼠在造模前、造模后及干预后的穿越平台次数比较($\bar{x}\pm s, n=8, \text{次}$)

Table 7 Comparison of the number of platform crossings among different groups of rats before and after modeling, and after intervention ($\bar{x}\pm s, n=8, \text{times}$)

组别	造模前	造模后	干预后
空白组	4.75±1.98	3.37±1.51	3.75±1.39
模型组	3.50±1.20	1.13±0.99 ^{△△*}	1.00±0.76 ^{△△*}
点按组	4.13±2.10	1.38±0.92 ^{△△*}	3.75±1.58 ^{△△*}
人参皂苷组	4.50±1.60	1.25±1.04 ^{△△*}	3.13±1.13 ^{△△*}

注:与造模前比较,[△] $P<0.05$,^{△△} $P<0.01$;与造模后比较,^{**} $P<0.01$;与空白组比较,^{**} $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05$,[#] $P<0.01$ 。

2.5 各组大鼠海马组织中 ATP、MDA 含量及 SOD 活性比较

与空白组比较,模型组大鼠 ATP 含量和 SOD 活性降低($P<0.05$),MDA 含量升高($P<0.05$);与模型组比较,点按组和人参皂苷组大鼠 ATP 含量和

SOD 活性升高($P<0.05$),MDA 含量降低($P<0.05$);点按组和人参皂苷组大鼠之间的 ATP、MDA 含量和 SOD 活性差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表8。

表8 各组大鼠海马组织中 ATP、MDA 含量及 SOD 活性比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 8 Comparison of ATP and MDA content and SOD activity in the hippocampal tissue among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	ATP 含量/ ($\mu\text{mol/g}$)	SOD 活性/ (U/mL)	MDA 含量/ (nmol/mg)
空白组	437.09±190.81	106.34±11.97	2.36±0.55
模型组	43.17±10.66 [*]	48.01±24.28 [*]	5.96±1.87 [*]
点按组	379.72±151.91 [#]	102.96±6.83 [#]	1.20±0.13 [#]
人参皂苷组	344.07±143.20 [#]	96.03±9.99 [#]	2.04±0.75 [#]

注:与空白组比较,^{*} $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$ 。

2.6 各组大鼠海马组织中 PGC-1 α 、NRF1 蛋白表达水平比较

与空白组比较,模型组大鼠的 PGC-1 α 、NRF1 蛋白表达水平降低($P<0.01$);与模型组比较,点按组和人参皂苷组大鼠 PGC-1 α 、NRF1 蛋白表达水平升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);点按组和人参皂苷组大鼠之间的 PGC-1 α 、NRF1 蛋白表达水平差异无统计学意义($P>0.05$)。详见图1、表9。

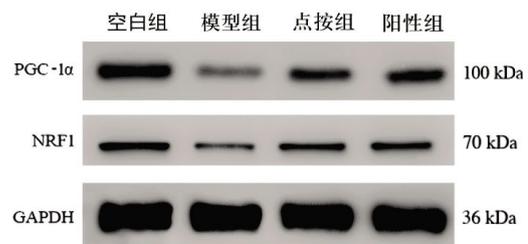


图1 各组大鼠海马组织中 PGC-1 α 和 NRF1 蛋白表达电泳条带图

Fig.1 Electrophoretic band diagrams of PGC-1 α and NRF1 protein expressions in the hippocampal tissue among different groups of rats

2.7 各组大鼠海马组织中 PGC-1 α 、NRF1 mRNA 表达量比较

与空白组比较,模型组大鼠 PGC-1 α 、NRF1 mRNA 表达量减少($P<0.01$);与模型组比较,点按组和人参皂苷组大鼠 PGC-1 α 、NRF1 mRNA 表达量增加($P<0.01$);点按组和人参皂苷组大鼠之间 PGC-1 α 、NRF1 mRNA 表达量差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表10。

表 9 各组大鼠海马组织中 PGC-1 α 和 NRF1 蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 9 Comparison of protein expression levels of PGC-1 α and NRF1 in the hippocampal tissue among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	PGC-1 α	NRF1
空白组	0.98 \pm 0.09	0.99 \pm 0.12
模型组	0.16 \pm 0.06**	0.33 \pm 0.09**
点按组	0.55 \pm 0.05 [#]	0.74 \pm 0.10 [#]
人参皂苷组	0.64 \pm 0.05 [#]	0.68 \pm 0.11 [#]

注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,[#] $P<0.01$ 。

表 10 各组大鼠海马组织中 PGC-1 α 、NRF1 mRNA 表达量比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 10 Comparison of mRNA expression levels of PGC-1 α and NRF1 in the hippocampal tissue among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	PGC-1 α mRNA	NRF1 mRNA
空白组	1.05 \pm 0.06	1.11 \pm 0.10
模型组	0.12 \pm 0.01**	0.12 \pm 0.01**
点按组	0.53 \pm 0.01 [#]	0.46 \pm 0.02 [#]
人参皂苷组	0.52 \pm 0.04 [#]	0.46 \pm 0.01 [#]

注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.01$ 。

3 讨论

中医学根据 CFS 临床症状将其归属于“虚劳”“不寐”“痿病”“百合病”等范畴。《金匱要略》中记载的百合病、虚劳病都与 CFS 具有相似性。五脏气血阴阳失调为 CFS 的总病机,髓海失养在 CFS 的发病中不可忽视^[18]。《脾胃论·脾胃盛衰论》云“形体劳役则脾病,病脾则怠惰嗜卧”,指出脾虚失运为 CFS 的发病基础^[19]。首先,脾虚气血生化无力是 CFS 患者疲劳的根本所在。其次,脾失升清,则水谷精微上升布散失职,精明之府不充,神失所养,出现精神疲乏、认知障碍等 CFS 症状。所以,脾虚会引起疲劳、认知障碍等 CFS 相关临床症状。

脾乃“后天之本”“气血生化之源”,饮食水谷依赖于脾的运化,化为水谷精微输布全身,以供身体所需的能量。脾主运化是维持线粒体功能的必要物质来源,且与线粒体能量代谢过程相似。有研究发现,脾虚证线粒体存在明显的能量代谢障碍及氧化应激^[20]。脾虚大鼠海马神经元线粒体嵴消失现象明显,ATP 和电位膜均显著下降,致使细胞产能减少^[21]。线粒体

代谢稳态是维持机体脑组织正常生理功能的基础,若线粒体功能异常,脑组织氧化磷酸化受到损害,ATP 产生减少,神经元无法满足大脑能量需求,则出现精神疲劳、认知障碍等症状。

张仲景治虚劳,皆以调脾胃论治为主,甘温补中、平调阴阳的建中之法贯穿虚劳病的全程^[22]。而脾俞穴,为脾之背俞穴,脾脏之气输注之处,是诊断和治疗脾病的重要穴位。现代神经解剖学提出的神经节段支配理论为背俞穴的作用机制提供了科学依据,当背俞穴受到刺激时,脊神经后支会将刺激信号传入大脑和脊髓,然后脊髓和大脑的神经中枢会发出信号,再由内脏运动神经对相应脏腑进行支配^[23]。有研究证实,以按法对穴位周围神经加以刺激时,可间接向中枢神经系统进行反馈,反复的刺激将有助于穴位-脑功能区机制的形成,将机械信号转换为神经冲动电信号,沿相关神经纤维上行传导,兴奋大脑皮质^[24-25]。同时,按法可以调控线粒体能量代谢,减少细胞损害^[26]。基于此,选择脾俞穴进行点按刺激可调节脾脏功能,温养脾脏阳气,使气血生化有源,上清脑窍,改善海马线粒体能量代谢,从而改善 CFS 的疲劳和认知障碍症状。

本实验一般情况和行为学研究结果显示,在造模后,与空白组比较,模型组、点按组和人参皂苷组大鼠的体质量下降,一般情况半定量评分升高,力竭游泳时间缩短, Morris 水迷宫实验的逃避潜伏期延长、运动总路程减少、穿越平台次数减少。在干预后,与空白组比较,模型组大鼠的体质量下降,一般情况半定量评分升高,力竭游泳时间缩短, Morris 水迷宫实验的逃避潜伏期延长、运动总路程减少、穿越平台次数减少;与模型组比较,点按组和人参皂苷组大鼠的体质量升高,一般情况半定量评分降低,力竭游泳时间延长, Morris 水迷宫实验的逃避潜伏期缩短、运动总路程增加、穿越平台次数增加。以上结果提示,各组大鼠的时间效应、组间效应存在统计学差异,从一般情况、行为学方面验证了模型制备的成功。慢性应激刺激是导致大鼠出现认知障碍的重要因素,有研究表明不可预测应激 1 个月或 40 d、束缚 7 d 或 21 d 后会损伤大鼠的记忆能力^[27]。本研究 Morris 水迷宫实验证实,在造模后除空白组外,其他各组大鼠均出现认知能力下降的症状;经干预后,点按组和人参皂苷组大鼠认知能力不同程度改善,其

疲劳症状缓解,表明上述治疗均能够有效改善 CFS 大鼠的认知障碍。

ATP 是生物能量直接供给的主要来源之一,其酶活性可以反映能量代谢的水平^[28]。ATP 通过线粒体氧化磷酸化或糖酵解途径合成而来,当海马区神经元线粒体功能障碍时,ATP 合成减少,进而造成神经细胞损伤,出现认知障碍症状^[29]。SOD 与线粒体功能密切相关,可以维持线粒体的基因稳定性,在调节机体氧化还原平衡中发挥核心作用,确保线粒体能够正常发挥其能量生成和代谢调节的功能,也广泛参与疲劳机制研究^[30-31]。MDA 是评估氧化应激水平的关键指标之一,有研究发现,机体 MDA 含量变化与认知功能、焦虑抑郁等精神症状密切相关,当机体处于长期疲劳时,外周 MDA 的含量上升^[32]。本实验结果表明,模型组 ATP 含量、SOD 活性较空白组降低,MDA 含量较空白组升高;经治疗后,点按组和人参皂苷组 ATP 含量、SOD 活性较模型组升高,MDA 含量较模型组降低。以上结果提示,线粒体能量代谢降低可能是导致 CFS 大鼠认知障碍的重要原因。点按脾俞穴通过对线粒体能量代谢的调节作用,可减少线粒体的损伤程度,缓解 CFS 的疲劳和认知障碍症状。

慢性疲劳的发展与线粒体再生能力密切相关,当该代偿机制受到抑制时,疲劳症状的持续时间和严重程度显著增加;反之,增强线粒体生物合成则可有效缓解疲劳状态^[33]。PGC-1 α 是参与调控线粒体生物合成的转录共激活因子,它广泛参与机体的能量代谢调控过程^[34]。有研究发现,CFS 模型大鼠 PGC-1 α 蛋白及 mRNA 的表达明显降低,通过直接或间接激活 PGC-1 α 、提高 ATP 合成、改善线粒体氧化应激反应、维持机体能量代谢,可达到对 CFS 的治疗作用^[35]。NRF1 是一种 DNA 结合转录因子,是线粒体生物发生和调控代谢作用的主要调节剂,PGC-1 α /NRF1 信号通路调节线粒体生物发生和能量代谢^[36]。人参皂苷通过提高血红蛋白水平、增强机体细胞吸氧能力以及改善线粒体代谢,对 CFS 有显著的抗疲劳作用^[37],还可以改善海马神经元状态,提高认知能力^[38]。人参皂苷通过上调 PGC-1 α ,增加线粒体数目和生物发生,降低线粒体的 ROS,改善线粒体能量代谢^[39]。本研究结果表明,点按脾俞穴可以使 CFS 大鼠的 PGC-1 α 、NRF1 蛋白表达水平及其 mRNA 表达量明

显上调,提示点按脾俞穴改善 CFS 认知障碍可能与激活 PGC-1 α /NRF1 信号通路有关。

综上所述,点按脾俞穴可以改善 CFS 大鼠的疲劳状态和认知障碍,其作用与提高海马组织中线粒体 ATP 含量、SOD 活性及降低 MDA 含量,上调 PGC-1 α 、NRF1 蛋白表达水平及其 mRNA 表达量,提高线粒体能量代谢有关,为临床推拿治疗 CFS 疾病提供了一定的科学依据。

参考文献

- [1] YANCEY J R, THOMAS S M. Chronic fatigue syndrome: Diagnosis and treatment[J]. *American Family Physician*, 2012, 86(8): 741-746.
- [2] 周焯晖,唐乐微,吴曦.慢性疲劳综合征轻度认知障碍研究现状及展望[J].*成都中医药大学学报*, 2014, 37(2): 120-123.
- [3] 钟晓玲.经皮穴位电刺激对慢性疲劳综合征大鼠学习记忆能力及海马区 CREB、BDNF 表达的影响[D].福州:福建中医药大学, 2023.
- [4] 陈佳,黄运旋,陈兴华.慢性疲劳综合征免疫功能紊乱“脾虚”本质的探讨与思考[J].*时珍国医国药*, 2021, 32(9): 2233-2235.
- [5] 游雪娟,陈丽斌,纪立金,等.线粒体中医“脾土象”论[J].*时珍国医国药*, 2024, 35(15): 3434-3438.
- [6] CHENG A W, WAN R Q, YANG J L, et al. Involvement of PGC-1 α in the formation and maintenance of neuronal dendritic spines[J]. *Nature Communications*, 2012, 3: 1250.
- [7] 吴晓凡. ZLN005 对围术期神经认知障碍小鼠海马神经炎症和线粒体功能的影响[D].蚌埠:蚌埠医学院, 2023.
- [8] SINGULANI M P, PEREIRA C P M, FERREIRA A F F, et al. Impairment of PGC-1 α -mediated mitochondrial biogenesis precedes mitochondrial dysfunction and Alzheimer's pathology in the 3xTg mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Experimental Gerontology*, 2020, 133: 110882.
- [9] 冯楚文,屈媛媛,孙忠人,等.电针抑制 NF- κ B 活性改善慢性疲劳综合征大鼠认知功能障碍的实验研究[J].*针刺研究*, 2021, 46(9): 775-781.
- [10] CHI A P, SHEN Z M, ZHU W F, et al. Characterization of a protein-bound polysaccharide from *Herba Epimedii* and its metabolic mechanism in chronic fatigue syndrome[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2017, 203: 241-251.
- [11] 林巧婷,钟叶蓓,杨尚林,等.背部推拿对慢性疲劳综合征大鼠运动行为、氧化应激和炎症反应的影响[J].*中国运动医学杂志*, 2024, 43(1): 39-46.
- [12] 高怀林,吴以岭,朱慧明,等.慢性疲劳综合征动物模型的建立及对血管内皮功能的影响[J].*中国中医基础医学杂志*, 2009, 15(12): 904-906, 919.

- [13] 中国针灸学会. 实验动物常用穴位名称与定位 第 2 部分: 大鼠[J]. 针刺研究, 2021, 46(4): 351-352.
- [14] 刘继生, 张 泓, 尹秀婷, 等. 大鼠“脾俞”穴的取穴方法研究[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(4): 1793-1794.
- [15] 林巧婷, 钟叶蓓, 杨尚林, 等. 基于 $\alpha 7nAChR/NF-\kappa B$ 通路研究点按脾俞、胃俞穴对缓解慢性疲劳综合征大鼠外周炎症的效应机制[J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(6): 1027-1033.
- [16] 刘长征, 雷 波, 张 鹏. 针刺对慢性疲劳综合征大鼠认知功能及海马神经元的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2021, 36(8): 1009-1011.
- [17] 杨琪琪, 杨 骏, 叶 敏, 等. 艾灸对血管性痴呆大鼠认知功能及海马线粒体动力学相关蛋白的影响[J]. 针刺研究, 2025, 50(3): 260-269.
- [18] 李华南, 张 玮, 包 安, 等. 从“阳气者, 精则养神, 柔则养筋”思考津液脏腑推拿治疗慢性疲劳综合征的理论内涵[J]. 天津中医药, 2021, 38(6): 736-740.
- [19] 丁 阳, 付姝菲. 基于《理虚元鉴》“治虚三本”理论探讨慢性疲劳综合征[J]. 中医药临床杂志, 2025, 37(7): 1315-1319.
- [20] 卫裕晨, 王一茗, 张 泰, 等. 基于脾-线粒体相关性探讨 ICC 功能障碍[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2024, 26(3): 646-651.
- [21] 戴国英, 李振钰, 刘文俊, 等. 基于海马神经元线粒体自噬探讨脾气虚心神不足的可能机制[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(11): 2636-2638, 2825.
- [22] 王荣荣, 高 飞, 吕翠霞. 张仲景从脾论治学术思想探析[J]. 江苏中医药, 2020, 52(2): 12-14.
- [23] 曹昂焱, 朱世鹏, 刘 通. 背俞穴定位考辨[J]. 中国针灸, 2017, 37(8): 851-855.
- [24] 张宇星, 冯 祥, 危 威, 等. 观察按法作用于正常人手三里产生的痛温觉诱发电位探析经络理论的神经传导效应[J]. 辽宁中医杂志, 2020, 47(9): 150-152.
- [25] 李 伟, 吴修玉, 张 梦, 等. 手三阳原合配穴点按法治疗中风后手功能障碍机制探讨[J]. 中国社区医师, 2019, 35(6): 90, 92.
- [26] 吴 琼, 谢宗池, 黄 河, 等. 按法干预心俞穴对心肌缺血大鼠心肌保护作用的研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2022, 42(10): 1677-1682.
- [27] 李 卫, 边艳青. 外周炎症及慢性应激对认知功能的影响及影响机制[J]. 免疫学杂志, 2014, 30(7): 650-653.
- [28] 高泽谨, 康 姮, 宋 巧. 甜叶菊糖苷对过度运动疲劳大鼠肝脏线粒体能量代谢和氧化应激的影响[J]. 食品工业科技, 2025, 46(6): 377-386.
- [29] 马璐瑶, 李彦杰, 刘昊源, 等. 基于 AMPK/PGC-1 α 信号通路探讨通脉开窍丸对血管性认知障碍大鼠海马神经元线粒体生物发生的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(8): 125-134.
- [30] 何 晶, 李林泽, 张 奇, 等. 基于 p-AMPK α /AMPK α 探讨牛磺酸组方复合黄芪提升疲劳小鼠运动能力作用机制[J]. 华南预防医学, 2024, 50(10): 941-946.
- [31] 姚文环, 周 雯, 李亚轩, 等. 基于线粒体 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 通路研究玛咖改善大鼠中枢疲劳的作用机制[J]. 中国比较医学杂志, 2025, 35(7): 36-43.
- [32] 翟春涛, 侯亚薇, 史林娟, 等. 基于 PI3K/Beclin1 信号通路探讨隔药灸改善慢性疲劳综合征大鼠认知功能的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(13): 149-158.
- [33] 王 晨, 金晨曦, 金 杰. 龟鹿益神颗粒对慢性疲劳大鼠骨骼肌中 PGC-1 α 的影响[J]. 新中医, 2017, 49(9): 16-19.
- [34] 南淞华, 彭超杰, 崔应麟. PGC-1 α 对线粒体功能的调控作用及机制[J]. 生理学报, 2025, 77(2): 300-308.
- [35] 董佳梓, 魏云涛, 许环宇, 等. 电针“足三里”对慢性疲劳综合征大鼠骨骼肌腺苷活化蛋白激酶/过氧化物酶体增殖物活化受体 γ 共激活因子 α 信号通路基因表达的影响[J]. 针刺研究, 2018, 43(6): 335-340.
- [36] 祁晓鸣. 毛蕊异黄酮调控 PGC-1 α /NRF1 促进线粒体生物发生抑制雷公藤甲素心脏毒性的作用及机制研究[D]. 太原: 山西医科大学, 2023.
- [37] 刘飞祥, 林子璇, 张怀亮, 等. 人参抗疲劳的作用机制和潜在靶点研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(24): 5479-5487.
- [38] 李钰雯. 人参益智颗粒研制及改善认知障碍的功效评价与作用机制研究[D]. 长春: 吉林大学, 2024.
- [39] 亓秉超, 胡 朗, 邱继欢, 等. 人参皂苷 Rb1 通过上调 PGC-1 α 缓解糖尿病心肌病[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(1): 19-23, 29.

(本文编辑 匡静之)