DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2026.02.038

通督调神针刺调控线粒体铁死亡对中风大鼠的作用机制

孙晓丽,高玉宝,陈冲,李延菊,曹二梅,张文,梁月光,孙善斌
(安徽中医药大学第二附属医院,安徽 合肥 230000)

摘要:目的 探讨通督调神针刺对中风大鼠学习记忆功能障碍的改善作用及其调控线粒体铁死亡的潜在分子机制。方法 70只大鼠随机分为正常对照组19只、假手术组19只、中风模型组16只、通督调神针刺组16只。正常对照组不进行干预,中风模型组采用线栓法制备中风大鼠模型,假手术组仅暴露颈部动脉但不进行线栓处理。通督调神针刺组大鼠针刺"百会"和"神庭"两穴,加电针仪,其余组大鼠在相同环境下只简单固定,不施加任何其他干预措施。Morris水迷宫位置航行实验评价学习记忆能力。TTC染色法检测脑梗死面积,生化方法测定脑组织中Fe^{2+}和谷胱甘肽(Glutathione,GSH)含量。Real-time PCR和Western blot分析线粒体铁代谢相关分子转铁蛋白受体(Transferrin receptor,TfR1)、铁调节蛋白(Iron regulatory protein 1,IRP1)和铁转运蛋白(Ferroportin,FPN)的表达变化。结果 与正常对照组相比,中风模型组大鼠学习记忆能力受损,脑梗死面积增大,脑组织Fe^{2+}含量升高,GSH含量降低,TfR1蛋白表达上调,IRP1和FPN表达下调。与中风模型组相比,通督调神针刺组大鼠上述指标均有改善,提示该疗法可维持细胞内铁离子平衡,抑制铁死亡。结论 通督调神针刺可改善中风大鼠的认知功能障碍,缩小脑梗死范围,其分子作用机制可能是通过调控铁代谢相关分子的表达,维持细胞内铁离子动态平衡,从而减轻线粒体铁死亡导致的神经元损伤。

关键词:中风;通督调神针刺;认知功能;铁死亡;线粒体铁代谢
中图分类号:R246.6 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2026)02-0221-05

Mechanisms of Dredging Du Meridian and Regulating Spirit Acupuncture in Regulating Mitochondrial Ferroptosis in Stroke Rats

SUN Xiaoli, GAO Yubao, CHEN Chong, LI Yanju, CAO Ermei, ZHANG Wen, LIANG Yueguang, SUN Shanbin
(The Second Affiliated Hospital of Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230000, Anhui, China)

Abstract: *Objective* To investigate the ameliorative effects of dredging Du meridian and regulating spirit acupuncture on cognitive impairment in stroke rats and its potential molecular mechanisms in regulating mitochondrial ferroptosis. *Methods* Seventy rats were randomly divided into a normal control group (19 rats), a sham operation group (19 rats), a stroke model group (16 rats) and dredging Du meridian and regulating spirit acupuncture group (16 rats). The normal control group did not receive any intervention, while the stroke model group used thread embolization to prepare a stroke rat model. The sham operation group only exposed the neck arteries, but did not receive the thread embolization treatment. The rats in the dredging Du meridian and regulating spirit acupuncture group were subjected to acupuncture at "Baihui (DU20)" and "Shenting (DU24)", with the addition of an electroacupuncture device. The other group were simply fixed in the same environment without any other intervention measures. The stroke model was established in rats by filament occlusion method. Morris water maze test was performed to evaluate the learning and memory abilities. Brain infarct area was detected by TTC staining. The levels of Fe^{2+} and glutathione (GSH) in brain tissues were measured biochemically. The expressions of transferrin receptor (TfR1), iron regulatory protein 1 (IRP1) and ferroportin (FPN) related to mitochondrial iron metabolism were analyzed by real-time PCR and Western blot. *Results* Compared with the normal controls, the stroke model rats exhibited significant cognitive impairment, increased brain infarct area, elevated Fe^{2+} level and reduced GSH level in brain tissues, up-regulated TfR1 expression and down-regulated expressions of IRP1 and FPN. Dredging Du meridian and regulating spirit acupuncture ameliorated these alterations, suggesting its role in maintaining cellular iron homeostasis and inhibiting ferroptosis. *Conclusion* Dredging Du meridian and regulating spirit acupuncture significantly improved cognitive dysfunction and brain infarction in stroke rats, likely by regulating the expressions of iron metabolism-related molecules to restore cellular iron homeostasis, thereby attenuating neuronal damage induced by mitochondrial ferroptosis.

基金项目:安徽省高等学校科学研究项目(2023AH040110);安徽省级名中医工作室和传承工作室项目(皖中医药发展秘〔2023〕23号)
作者简介:孙晓丽(1986-),女,安徽肥西人,副主任医师,硕士,研究方向:针灸康复治疗脑梗死、脑出血、脊髓损伤、颈肩腰腿痛等临床疾病。
通讯作者:孙善斌(1966-),男,安徽肥西人,主任医师,硕士,研究方向:针灸康复治疗脑血栓、脑出血、高血压、面瘫、颈椎病、腰椎病等临床疾病。E-mail:zjssb@sina.com。

Keywords: stroke; dredging Du meridian and regulating spirit acupuncture; cognitive function; ferroptosis; mitochondrial iron metabolism

中风是一种常见的严重脑血管疾病,发病率和病死率居各类疾病前列,给患者及家庭带来沉重负担[1]。据世界卫生组织统计,全球每年约有1500万人患中风,其中1/3会导致永久残疾[2]。目前临床上主要采用溶栓、介入和手术等治疗,但时间窗口有限且存在一定风险[3-5]。因此,探索新靶点和方法以最大限度挽救神经功能具有重要意义。中风后,脑组织缺氧缺血及能量代谢障碍会诱发一系列级联反应,其中线粒体铁死亡被认为是导致神经损伤的关键事件之一[6-7]。铁死亡是一种与铁离子密切相关的新型细胞死亡方式,以线粒体结构和功能异常为特征,如线粒体皱缩、双层膜增厚、线粒体嵴减少或消失[8]。在生化上,铁死亡过程中细胞内铁离子和活性氧累积,谷胱甘肽耗竭,脂质过氧化加剧[9-11]。铁是线粒体代谢的关键调节因子,细胞内铁氧化还原状态与铁死亡敏感性密切相关。调控线粒体铁代谢相关分子的表达和活性,可能为中风后神经保护提供新的靶向治疗思路。

中医药疗法具有整体调节、多靶点干预的独特优势,在中风临床治疗和功能康复中发挥了重要作用[12]。针刺疗法通过调节机体阴阳平衡、顺行气血发挥独特作用[13-14]。前期研究表明,以百会、神庭等穴位组成的通督调神针刺疗法,可显著改善中风后认知功能障碍、日常生活能力下降等临床症状,且安全性良好[15]。中风后能量代谢紊乱、线粒体功能障碍是导致神经元损伤的关键环节[16-17]。线粒体在铁代谢调控中发挥核心作用,过度铁离子聚集可诱发线粒体铁死亡,激活下游级联反应导致细胞凋亡或坏死[18]。铁死亡过程中,细胞内铁离子和活性氧大量累积,谷胱甘肽耗竭,脂质过氧化加重,从而破坏线粒体结构和功能[19-22]。因此,通督调神针刺可能通过整体调节,实现对谷氨酸能系统和线粒体代谢的多靶点干预,发挥神经保护和功能重建的协同作用,为中风后认知功能缺失等症状的改善提供新思路。基于此,本研究探讨通督调神针刺对中风大鼠学习记忆功能障碍的改善作用及其调控线粒体铁死亡的潜在分子机制,为临床治疗中风提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物

6~8周龄雄性SPF级SD大鼠70只,体质量为(260±20)g,购自济南朋悦实验动物有限公司。大鼠饲养于安徽中医药大学动物实验中心,环境温度(22±2)℃,相对湿度(50±10)%,12 h昼夜循环,自由摄食及饮水。所有实验操作均严格遵守《实验动物管理条例》相关要求。

1.2 主要试剂与仪器

实验所用主要试剂有:线栓(北京西浓科技有限公司);庆大霉素[上海现代哈森(商丘)药业有限公司];戊巴比妥钠(美国Sigma公司);Western免疫印迹相关试剂(中国Biosharp公司);RIPA组织裂解液、抗体(中国Solarbio公司);SYBR荧光定量PCR试剂盒(瑞士Roche公司);GSH/铁离子含量检测试剂盒(中国Solarbio公司);其他常规化学试剂(国药集团)。

主要仪器设备包括:DP73显微镜(日本Olympus公司);LightCycler 96荧光定量PCR仪(瑞士Roche公司);ChemiScope 6000化学发光成像系统(上海勤翔科学仪器有限公司);BV-2型电泳仪、BT-2型转膜仪(武汉赛维尔生物科技有限公司);MDF-382E超低温冰箱(日本三洋公司);H-600型透射电镜(日本日立公司);M200PRO酶标仪(瑞士Tecan公司)。

所有试剂均具有适当批号及检验合格报告,仪器设备定期保养维护,确保实验数据质量。

1.3 动物分组及实验方法

1.3.1 分组 70只大鼠随机分为正常对照组19只、假手术组19只、中风模型组16只、通督调神针刺组16只。

1.3.2 中风模型制备 中风模型组和通督调神针刺组采用经典线栓法制备中风大鼠模型。术中大鼠取仰卧位,经颈部正中切口暴露左侧颈动脉血管,结扎颈外动脉近心端并预备活结。用血管夹临时阻断颈内动脉血流,于颈总动脉近端作小切口插入线状栓塞物,松开血管夹令其进入颈内动脉顺流方向,结扎固定栓塞物防止滑出。2 h后拔除栓塞物实现再灌注。假手术组暴露出颈部动脉后,不进行线栓插栓造模。术毕缝合切口、预防感染,并给予适当营养支持。

1.3.3 学习记忆能力评定 造模24 h后进行Morris水迷宫位置航行实验,实验装置为一圆形水池[直径160 cm,深50 cm,水深30 cm,温度(25±2)℃]。水面下2 cm处第三象限放置一直径12 cm、高28 cm的不可见逃生平台,池壁四周悬挂视觉性线索供大鼠定位。连续5 d训练大鼠找到隐藏水面下的逃生平台。测试结束时撤去平台,观察90 s内大鼠穿越原平台区域次数。逃避潜伏期延长或穿越次数减少均提示学习记忆受损。

1.3.4 通督调神针刺干预 通督调神针刺组大鼠固定于自制针灸架,清醒状态下采用0.25 mm×13 mm一次性针刺"百会"和"神庭"两穴,针斜插入约2 mm,使用GM-01型电针仪(1~20 Hz疏密波,1 mA强度)隔日连续干预14 d,30 min/次。其余组大鼠在相同环境下只简单固定,不施加任何其他干预措施。

1.3.5 针刺后评价学习记忆功能 针刺后采用Morris水迷宫实验评估大鼠学习记忆能力的变化。实验分两部分进行:(1)定位航行实验:于针刺干预第9天开始,连续5 d每天4次将大鼠由4个不同象限的入水点放入池,记录90 s内大鼠寻找并到达平台的时间(逃避潜伏期)。若90 s内未到平台,人工将其引导至平台并停留10 s,计时记为90 s。(2)空间探索实验:于针刺干预第14天进行,撤去逃生平台。大鼠由固定入水点入池,记录其90 s内穿越原平台区域的次数及游泳轨迹。

1.4 试验动物处死及标本采集

所有大鼠在实验结束后腹腔注射戊巴比妥钠(Pentobarbital Sodium,50 mg/kg)进行深度麻醉,麻醉后将大鼠快速脱颅,使用生理盐水(0.9% NaCl)进行脑组织灌流,以移除血液,减少血液对样品测定的干扰。取出脑组织后,根据需要,将脑组织按照脑区分割并放入事先标记且冷冻的无菌收集管中。所有标本快速冷冻并储存于-80℃超低温冰箱中备用。

1.5 观察指标及检测方法

1.5.1 TTC染色评估脑梗死面积 每组3只大鼠脑组织用于TTC染色评价脑梗死范围。大鼠脑组织于冰浴条件下沿冠状

面连续切取5~6片2 mm厚脑组织块，置于2%三苯基氯化四氮唑(Triphenyl tetrazolium chloride，TTC)溶液中37 ℃避光染色30 min。用数码相机拍照后，使用Image-Pro Plus 6.0图像分析软件测算各组脑组织梗死面积并计算占全脑面积的百分比。

1.5.2 生化方法检测脑组织Fe^{2+}和GSH含量 每组6只大鼠全脑组织，加入9倍体积RIPA裂解液制备10%匀浆液，4 ℃条件下12 000 r/min离心20 min，收集上清液。分别采用GSH和Fe^{2+}检测试剂盒，按照说明书操作，使用酶标仪在450 nm波长处检测样品的吸光度值，并根据标准曲线计算各组织样本中GSH和Fe^{2+}的浓度。

1.5.3 RT-qPCR检测TFR1、IRP1、FPN基因表达水平 每组5只大鼠取0.1 g全脑组织，采用Trizol试剂提取总RNA，反转录合成cDNA模板。根据表1所示引物序列，配制PCR反应体系，使用SYBR Green荧光染料进行qPCR扩增。检测基因及内参基因GAPDH的CT值，计算$2^{-\Delta\Delta Ct}$值，分析目的基因的相对表达水平。引物见表1。

表1 qPCR引物序列

引物名称	引物序列(5′→3′)	目标长度/(bp)
TFR1	F:CGCGTCAAGAGCAATAACGAA	98
	R:AGTGCAGGGTCCGAGGTATT	98
FPN	F:TTGCTGTTCTTTGCCTTAGTTGT	148
	R:CCCTTGTTTGTTCGGATGCT	148
IRP1	F:TGTAGGCATGTTTCGAGACTTGAG	149
	R:AGTCCCTTTTCATCTCAGCACAG	149
GAPDH	F:CTCTCTGCTCCTCCCTGTTC	90
	R:TCACACCGACCTTCACCATC	90

1.5.4 Western blot检测TFR1、IRP1、FPN蛋白表达水平 各组剩余大鼠每只取0.2 g全脑组织，加入适量RIPA裂解液制备总蛋白提取液。使用BCA法测定蛋白浓度，等量加样并进行12% SDS-PAGE电泳分离。半干法将分离蛋白转膜至PVDF膜，5%脱脂牛奶封闭后，分别加入TfR1、IRP1、FPN和内参基因GAPDH的一抗捕获孵育过夜。次日加入相应HRP标记的二抗，ECL发光液曝光。使用ChemiDoc成像系统拍照，Image J软件semi-quter分析目的蛋白的灰度值。

1.6 统计学方法

采用SPSS 19.0软件对数据进行统计分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示，组间比较采用独立样本t检验，计数资料以例数(百分比)表示，组间比较采用卡方检验。当$P<0.05$时，差异有统计学意义。

2 结果

2.1 定位航行实验结果

如表2、表3所示，正常组和假手术组大鼠在连续5 d的定位航行训练中，各时间点游泳总路程和逃避潜伏期差异无统计学意义($P>0.05$)。与正常组和假手术组相比，中风模型组大鼠在各训练时间点的游泳路程、逃避潜伏期明显延长($P<0.01$)，提示学习记忆功能损害。与中风模型组相比，通督调神针刺组大鼠的游泳路程和逃避潜伏期均缩短($P<0.05$)，表明该疗法可部分改善大鼠学习记忆障碍。

2.2 空间探索实验结果

如表4所示，正常组和假手术组大鼠在空间探索实验中，穿越原平台区域次数差异无统计学意义($P>0.05$)。相较之下，中风模型组大鼠穿越次数减少($P<0.01$)，而通督调神针刺组大鼠的穿越次数较中风模型组有所增加($P<0.05$)，但低于正常水平。这一结果进一步验证了通督调神针刺可改善中风后学习记忆功能障碍。

2.3 TTC染色分析各组大脑梗死面积

正常组和假手术组大脑切片未见梗死灶，而中风模型组存在明显梗死区域，平均梗死面积占(22.4±2.6)%。通督调神针刺组梗死范围缩小，平均梗死面积为(8.6±1.4)%，低于中风模型组($P<0.01$)。

2.4 生化检测各组大脑组织中Fe^{2+}和GSH含量

与正常组和假手术组相比，中风模型组大鼠脑组织Fe^{2+}水平升高($P<0.01$)，通督调神针刺组大鼠脑组织Fe^{2+}水平差异无统计学意义($P>0.05$)。但通督调神针刺组大鼠脑组织Fe^{2+}水平明显低于中风模型组($P<0.05$)。与正常组和假手术组相比，中风模型组、通督调神针刺组大鼠脑组织GSH含量下降($P<0.01$)，且通督调神针刺组大鼠脑组织GSH水平高于中风模型组($P<0.05$)。具体见表5。

2.5 RT-qPCR检测各组TFR1、IRP1和FPN基因表达水平

与正常组和假手术组相比，中风模型组大鼠脑组织中IRP1和FPN的mRNA表达水平降低($P<0.01$)，而TFR1的mRNA表达升高($P<0.01$)。与中风模型组相比，通督调神针刺可上调IRP1和FPN的基因表达，下调TFR1的基因表达($P<0.05$)。具体见表6。

2.6 Western blot分析各组TFR1、IRP1和FPN蛋白表达水平

与正常组和假手术组相比，中风模型组大鼠脑组织中FPN

表2 各组大鼠定位航行实验不同时间游泳总路程比较($\bar{x}\pm s$) 单位:cm

组别	n	第1天	第2天	第3天	第4天	第5天
正常组	19	942.7±95.2	795.6±85.6	567.4±75.8	425.6±80.2	362.3±95.4
假手术组	19	957.1±89.9	805.3±89.1	602.3±86.4	409.8±83.7	388.6±88.9
中风模型组	16	1 285.2±152.1#	1 152.3±98.4#	1 048.5±96.1#	725.3±72.1#	615.8±71.5#
通督调神针刺组	16	1 102.7±120.3#*	985.1±98.6#*	754.9±85.7#*	575.6±65.4#*	495.4±65.7#*

注:#与正常组和假手术组同时间比较，$P<0.01$；*与中风模型组同时间比较，$P<0.05$。

表3 各组大鼠定位航行实验不同时间逃避潜伏期比较($\bar{x}\pm s$) 单位:s

组别	n	第1天	第2天	第3天	第4天	第5天
正常组	19	47.8±5.6	33.4±6.7	24.5±5.3	21.8±4.8	15.8±4.5
假手术组	19	47.5±4.7	35.2±7.0	25.4±5.7	20.9±4.2	17.1±4.2
中风模型组	16	61.6±7.5#	56.3±6.4#	46.8±6.2#	38.3±4.1#	30.5±5.3#
通督调神针刺组	16	54.4±7.1#*	43.7±5.6#*	36.6±5.3#*	30.1±5.3#*	24.5±5.1#*

注:#与正常组和假手术组同时间比较，$P<0.01$；*与中风模型组同时间比较，$P<0.05$。

表4 各组大鼠穿越平台次数比较($\bar{x}\pm s$) 单位:次

组别	n	穿越平台次数
正常组	19	7.1±1.3
假手术组	19	6.9±1.2
中风模型组	16	2.3±1.0#
通督调神针刺组	16	4.4±1.1#*

注:#与正常组和假手术组同时间比较,$P<0.01$;*与中风模型组同时间比较,$P<0.05$。

表5 各组大鼠大脑组织中 Fe^{2+} 和 GSH 含量比较($\bar{x}\pm s$)

单位:μg/g

组别	n	Fe^{2+}	GSH
正常组	19	10.2±1.8	104.6±11.5
假手术组	19	10.3±1.5	103.2±11.2
中风模型组	16	18.5±2.1#	53.8±8.7#
通督调神针刺组	16	10.7±2.0*	83.5±9.2#*

注:#与正常组和假手术组同时间比较,$P<0.01$;*与中风模型组同时间比较,$P<0.05$。

表6 各组大鼠脑组织中 TFR1、IRP1 和 FPN 基因相对表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	TFR1	IRP1	FPN
正常组	6	0.424±0.115	1.289±0.126	0.997±0.061
假手术组	6	0.425±0.124	1.296±0.125	0.999±0.068
中风模型组	6	0.862±0.113#	0.839±0.141#	0.621±0.057#
通督调神针刺组	6	0.485±0.107*	1.205±0.132*	0.892±0.032*

注:#与正常组和假手术组比较,$P<0.01$;*与中风模型组比较,$P<0.05$。

和 IRP1 蛋白表达降低($P<0.05$,$P<0.01$),而 TFR1 蛋白表达升高($P<0.01$)。与中风模型组相比,通督调神针刺可使 FPN 和 IRP1 蛋白表达升高、TFR1 蛋白表达降低($P<0.05$,$P<0.01$)。具体见表7。

表7 各组大鼠脑组织中 TFR1、IRP1 和 FPN 蛋白相对表达水平比较

组别	n	TFR1	IRP1	FPN
正常组	6	0.27±0.09	0.78±0.12	0.83±0.08
假手术组	6	0.31±0.08	0.84±0.11	0.81±0.08
中风模型组	6	0.65±0.14#	0.43±0.06#	0.40±0.05#
通督调神针刺组	6	0.40±0.05*	0.69±0.10*	0.74±0.05*

注:#与正常组和假手术组比较,$P<0.01$;*与中风模型组比较,$P<0.05$。

3 讨论

传统中医理论认为,中风病机主要是由于“气血瘀阻”所致[23]。“气血”是维持人体生命活动的根本,其顺畅与否关系着脏腑经脉的通利和阴阳平衡。一旦“气血”被“瘀阻”,脑组织便无法获得充足的营养和能量供给,从而导致神经功能受损。研究发现,中风后大鼠脑组织缺血缺氧,致使线粒体结构和功能发生严重紊乱,能量代谢障碍加重[24-25]。同时,细胞内铁离子过度聚集,激活线粒体铁死亡通路,导致神经元大量凋亡坏死,形成脑梗死灶[26-27]。因此,有的研究从分子水平上印证了中医“气血瘀阻”理论对中风病机的阐释。此外,中医还强调人体阴阳平衡对维持生理健康的重要性。中风后导致阴阳失调,气血运行失常,进而加重病情[28-30]。中风发病率和病死率居各类疾病前列,给家庭和社会带来沉重负担。现代医学虽然已经掌握了溶栓、介入和手术等治疗手段,但时间窗口狭小、存在一定风险,且远远不能彻底挽救神经功能。因此,探索新的靶点和治疗方法以最大限度保护神经元和恢复功能具有重要的临床价值,这也是本开展该研究的出发点和意义所在。

中医药在中风的临床治疗和功能康复中发挥了重要作用,其独特的整体观念和多靶点作用机制为探索神经保护新策略提供了思路[31-32]。针刺疗法源远流长,具有调节阴阳平衡、理气活血的独特优势。现代神经影像学研究发现,督脉循行多个与神经功能调节相关的脑神经核团,如缺血损伤时通督调神针刺可维持局部能量供给、改善微循环,从而减轻神经元损伤[33-34]。经临床验证,通督调神针刺法可改善中风后认知功能障碍[35]。

Morris 水迷宫实验结果显示,与正常对照组和假手术组相比,中风模型组大鼠在定位航行训练的各个时间点,游泳总路程、逃避潜伏期增加,在空间探索实验中穿越原平台区域次数减少,说明构建的中风大鼠模型存在明显的学习记忆功能障碍。值得关注的是,与中风模型组相比,通督调神针刺组大鼠的定位航行训练游泳路程和逃避潜伏期均缩短,空间探索中穿越平台次数也明显增加,提示该疗法可部分改善中风后认知功能损害。TTC 染色结果显示,中风模型组存在明显梗死灶,平均梗死面积达全脑的 22.4%,而通督调神针刺组的梗死面积仅为 8.6%。这说明通督调神针刺不仅改善了大鼠认知功能障碍,也在较大程度上减轻了脑组织损伤。生化检测发现,中风模型组大鼠脑组织中游离 Fe^{2+} 浓度升高、GSH 含量降低,提示中风后铁代谢紊乱和氧化应激加重。而在通督调神针刺组,Fe^{2+} 浓度明显下降接近正常水平,GSH 含量也有所升高。结合铁死亡的发生机制,上述结果初步揭示通督调神针刺可能通过稳定细胞内铁离子水平、缓解氧化应激反应,从而抑制铁死亡发生,进而减轻神经元损伤、改善认知功能障碍。进一步检测发现,与正常对照组和假手术组相比,中风模型组大鼠脑组织中铁调节蛋白 IRP1 和铁转运蛋白 FPN 的表达下调、转铁蛋白受体 TFR1 表达则升高,提示中风后细胞内铁流入过多、储存和外排阻力加重,不利于维持铁平衡。而经过针刺干预后,这些分子的表达发生逆转,IRP1 和 FPN 升高、TFR1 降低,有利于限制铁流入,促进储存池释放和外排,从而恢复铁代谢稳态。这些分子水平的变化为前期生化结果提供了直接的证据支持。

本研究在中风大鼠模型上,系统评价了通督调神针刺对改善中风后认知功能障碍的疗效及其潜在的分子作用机制,获得了以下几个主要研究发现:(1)行为学实验结果显示,与模型对照组相比,通督调神针刺组大鼠的学习记忆能力改善,提示该疗法对中风后认知功能保护和重建具有积极作用。(2)病理学检测发现,通督调神针刺可明显减轻中风后脑梗死损伤程度,大幅降低脑组织梗死面积比例,为神经功能的保护和重建奠定了组织学基础。(3)分子生物学实验结果揭示,通督调神针刺可调节线粒体铁代谢相关分子的表达,维持细胞内铁离子的动态平衡,抑制过度铁离子堆积;同时提高还原型谷胱甘肽水平,缓解中风后氧化应激反应。上述作用可能是减轻神经元铁死亡损伤、改善认知功能障碍的关键分子机制。(4)总体而言,本研究阐明了通督调神针刺对中风后神经功能障碍的保护作用,并从铁代谢和氧化应激两个角度初步探讨了其潜在的分子作用机制,为中医针刺改善中风后认知功能提供了新的理论依据。

需要指出的是,本研究也存在一些不足,主要体现在:仅检测了少数几种与铁代谢相关的分子,未能全面评价通督调神针刺对细胞内铁代谢通路的整体调控作用。同时缺乏对铁死亡

下游效应分子的检测，无法直接证明通督调神针刺可减轻铁死亡损伤的程度。因此，在后续研究中，有必要拓展并完善线粒体铁代谢调控网络分子的检测，检测铁死亡下游效应分子，阐明通督调神对铁代谢和抑制铁死亡的整体调控机制。并结合神经影像学、电生理和行为学评价，系统评估通督调神对谷氨酸能系统的影响及其与认知功能改善的关联。

本研究为中医针刺疗法改善中风后认知功能缺损的临床应用提供了新的行为学和病理学证据支持，具有一定的临床转化价值。且在分子水平上初步阐明了通督调神针刺的作用机制，为揭示针刺调节神经功能的分子本质提供了新的科学依据，具有理论创新意义。为进一步探索基于靶向铁死亡的新型神经保护策略提供了新思路和实验数据支持，对于开发新型治疗中风及其他神经系统疾病的药物具有启示意义。

参考文献

[1] 史卫卫，韦琴，赵晶晶，等. 2018—2019年河北省居民脑卒中发病流行病学特征分析[J]. 中国慢性病预防与控制，2023，31(4)：274－277.
[2] JANAS A M，BARRY M，LEE S. Epidemiology，causes，and morbidities of stroke in the young[J]. Current opinion in pediatrics，2023，35(6)：641－647.
[3] BATHLA G，AJMERA P，MEHTA P M，et al. Advances in acute ischemic stroke treatment：current status and future directions[J]. AJNR Am J Neuroradiol，2023，44(7)：750－758.
[4] WU X，GE Y，CHEN S J，et al. Thrombectomy with or without thrombolysis in patients with acute ischemic stroke：a systematic review and meta－analysis[J]. J Neurol，2022，269(4)：1809－1816.
[5] WIDIMSKY P，SNYDER K，SULZENKO J，et al. Acute ischaemic stroke：recent advances in reperfusion treatment[J]. Eur Heart J，2023，44(14)：1205－1215.
[6] 冷萧如，叶宇航，胡霞敏. 铁死亡在缺血性脑卒中的作用[J]. 生命的化学，2023，43(9)：1337－1345.
[7] 李佳，许玲，左益璇，等. 铁死亡参与脑卒中后缺血再灌注损伤的作用机制[J]. 临床神经病学杂志，2023，36(1)：68－71.
[8] 袁子阳，张艳，张伟. 基于铁稳态代谢探讨铁死亡在心血管疾病中的作用及中医药治疗进展[J]. 中国实验方剂学杂志，2023，29(18)：198－208.
[9] 韩拓，李盈，李成，等. 铁死亡的发生与调控机制及与动脉粥样硬化研究进展[J]. 心脏杂志，2024，36(1)：71－76，80.
[10] WANG N，WANG S，LU L，et al. Evaluating the underlying mechanisms of Bmal1/AKT/P53 signaling pathway－mediated cardiomyocyte ferroptosis and oxidative stress in acute myocardial infarction[J]. J Biol Regul Homeost Agents，2024，38(4)：3289－3297..
[11] YU Z R，CHENG X，PAN W X，et al. The ferroptosis activity is associated with neurological recovery following chronic compressive spinal cord injury[J]. Neural Regen Res，2023，18(11)：2482－2488.
[12] 庞伯通，南淞华，陈芳芳，等. 益气通脉方联合阿托伐他汀治疗缺血性中风恢复期气虚血瘀型合并颈动脉粥样硬化斑块[J]. 医药导报，2023，42(10)：1511－1516.
[13] 王丽平，王雅惠，王月，等. 基于磁共振技术的针刺在中风病神经可塑性研究中的应用[J]. 中医学报，2023，38(2)：306－311.
[14] 冯亚硕，吴毅，王念宏. 针刺影响细胞程序性死亡治疗缺血性脑卒中的研究进展[J]. 针刺研究，2023，48(7)：713－717.
[15] 强军，白冰超，万兆新. 针刺通督醒神穴在中风后意识障碍患者中的促醒作用及对脑血流动力学、体感诱发电位的影响[J]. 临床医学研究与实践，2023，8(27)：90－93.
[16] 吴海洋，王颖，韩为. 通督调神针刺联合小续命汤加减治疗气虚血瘀型中风临床研究[J]. 山东中医杂志，2022，41(2)：181－185.
[17] 韦梦真，刘丹红，曾劲松，等. 缺血性脑卒中的线粒体质量控制与铁死亡关联机制及中医药干预研究进展[J]. 湖南中医药大学学报，2023，43(8)：1522－1530.
[18] 顾雪彤，李晓宁. 线粒体动力学和线粒体自噬在缺血性脑卒中中的作用及机制研究进展[J]. 神经疾病与精神卫生，2023，23(5)：328－333.
[19] ZENG Y Q，HE Y Y，WANG L，et al. Dihydroquercetin improves experimental acute liver failure by targeting ferroptosis and mitochondria－mediated apoptosis through the SIRT1/p53 axis[J]. Phytomedicine，2024，128：155533.
[20] 刘辉，李佩芳，孙培养，等. 通督调神针刺法对缺血性卒中后轻度认知功能障碍患者血管内皮功能及炎症因子水平的影响[J]. 国际中医中药杂志，2024，46(2)：175－180.
[21] 谢荃，李艳青，陈均莉，等. 对卒中后认知障碍的中医病机认识[J]. 北京中医药大学学报，2022，45(10)：1077－1080.
[22] 肖雨倩，白艳杰，王岩，等. 线粒体转移在脑卒中后认知障碍中的研究进展[J]. 中国全科医学，2023，26(30)：3833－3840.
[23] 李顺，罗娟娟，刘桂荣. 张志远以调畅气血为主治疗中风后遗症经验[J]. 中医杂志，2023，64(24)：2495－2499.
[24] 周丽，寸勇丹，张四美，等. 线粒体自噬：缺血性卒中的潜在治疗靶点[J]. 国际脑血管病杂志，2022，30(11)：864－869.
[25] 谢晓云，刘竞丽. 线粒体质量控制在缺血性脑卒中的作用研究进展[J]. 2022(5)：538－542.
[26] 黄秋霞，邓秋媚，袁莉，等. 铁死亡在缺血性中风中的作用及中医药干预的研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志，2023，21(1)：89－92.
[27] 李丽琴，张鼎，袁莉，等. 温阳复元方联合miR－137模拟剂调控线粒体铁死亡对脑缺血再灌注损伤大鼠的作用机制[J]. 陕西中医，2023，44(10)：1354－1359.
[28] 李薇薇，武连仲，满斌，等. 武连仲教授对中风后痉挛性瘫痪阴阳分型探讨[J]. 天津中医药，2022，39(6)：701－705.
[29] 谢荣鑫，王晋平，莫雪妮. 基于扶阳思维与阴阳本体结构探讨“中风病”的中医药诊治[J]. 中国医药导报，2022，19(36)：131－134，152.
[30] 周亮，鲍春龄，石程，等. 东贵荣教授“阴阳调衡运动针法”诊治中风上肢瘫痪机制探析[J]. 中国医药导报，2021，18(34)：117－120，134.
[31] 付雪琴，兰瑞，张勇，等. 基于表观遗传学调控的中医药治疗中风研究进展[J]. 中国比较医学杂志，2023，33(12)：104－111.
[32] 李中，刘利娟，颜思阳，等. 生物节律调控缺血性中风及中医药的干预作用[J]. 中国中药杂志，2023，48(3)：569－578.
[33] 张震，何腾，王旭，等. 基于“督脉入络脑”探讨针刺督脉经穴治疗脑病的神经传导机制[J]. 山东中医杂志，2024，43(8)：795－803.
[34] 常赵家莹. 针刺任督脉经穴对脑干吞咽中间神经元的调节作用[D]. 广州：广州中医药大学，2015.
[35] 张立志，许能贵. 通督调神针刺法治疗缺血性中风的研究进展[J]. 上海针灸杂志，2018，37(9)：1096－1099.