

本文引用: 高莹, 杨建, 石江伟, 等. 针刺预处理对缺血性脑卒中神经细胞铁死亡的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2025, 33(1): 24-29. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2025.01.004.

· 实验研究 ·

[文章编号] 1007-3949(2025)33-01-0024-06

## 针刺预处理对缺血性脑卒中神经细胞铁死亡的影响

高莹<sup>1,2</sup>, 杨建<sup>1,2</sup>, 石江伟<sup>1,2</sup>, 薛静<sup>1,2</sup>, 尚晓玉<sup>1,2</sup>, 段洪涛<sup>1,2</sup>, 王海荣<sup>1,2</sup>

1. 天津中医药大学第一附属医院, 2. 国家中医针灸临床医学研究中心, 天津市 300183

[摘要] [目的] 研究针刺预处理对缺血性脑卒中大鼠神经细胞铁死亡的调控作用。[方法] 将60只SD大鼠随机分为假大脑中动脉栓塞(MCAO)组、MCAO组和针刺+MCAO组。针刺+MCAO组选取人中穴、内关穴、三阴交穴进行针刺预处理, 每天1次, 共5天; 预处理后行MCAO或假MCAO模型制备。Zausinger六分法对大鼠神经功能进行评分, TTC染色法计算脑组织梗死面积; 电镜下观察脑组织病理形态学改变; 比色法检测铁含量, ELISA法测定丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)的含量, 免疫荧光检测谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)表达。[结果] 与假MCAO组相比, MCAO组神经功能评分降低, 梗死面积显著增加, 电镜下线粒体数量减少, 线粒体内嵴结构断裂、空泡化, 脑组织铁蛋白、MDA含量升高, GSH含量和GPX4表达降低。与MCAO组相比, 针刺+MCAO组神经功能评分升高, 梗死面积降低, 电镜下线粒体数量增多, 结构清晰, 部分线粒体内嵴结构减少或排列紊乱, 脑组织铁蛋白、MDA含量降低, GSH含量和GPX4表达升高。[结论] 针刺预处理可减轻大鼠神经功能损伤, 其原因可能与调控铁蛋白、GSH、MDA含量和GPX4表达, 提高细胞抗氧化能力, 抑制神经细胞铁死亡有关。

[关键词] 针刺; 预处理; 缺血性脑卒中; 铁死亡; 神经细胞

[中图分类号] R245.31; R741

[文献标识码] A

### Effect of acupuncture pretreatment on nerve cell ferroptosis in ischemic stroke

GAO Ying<sup>1,2</sup>, YANG Jian<sup>1,2</sup>, SHI Jiangwei<sup>1,2</sup>, XUE Jing<sup>1,2</sup>, SHANG Xiaoyu<sup>1,2</sup>, DUAN Hongtao<sup>1,2</sup>, WANG Hairong<sup>1,2</sup>

1. The First Affiliated Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, 2. National Clinical Research Center for Chinese Medicine Acupuncture and Moxibustion, Tianjin 300183, China

[ABSTRACT] **Aim** To study the regulatory effect of acupuncture pretreatment on ferroptosis of nerve cells in rats with ischemic stroke. **Methods** Sixty SD rats were randomly divided into sham middle cerebral artery occlusion (MCAO) group, MCAO group, and acupuncture+MCAO group. In the acupuncture+MCAO group, the acupuncture points of DU26, PC6, and SP6, were selected for acupuncture pretreatment, once a day for a total of 5 days. After pretreatment, MCAO or sham MCAO models were prepared. The Zausinger sextintegral method was used to score the neurological function of rats, and the infarct volume of brain tissue was calculated by TTC staining. Electron microscopy was used to observe the pathomorphological changes of brain tissue. The iron content was detected by colorimetric method, the content of malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) was determined by ELISA, and the expression of glutathione peroxidase 4 (GPX4) was detected by immunofluorescence. **Results** Compared with the sham MCAO group, the MCAO group had a decrease in neurological function scores, a significant increase in infarct volume, a decrease in the number of mitochondria under electron microscopy, a rupture and vacuolization of the inner mitochondrial cristae, an increase in the contents of iron and MDA in brain tissue, and a decrease in GSH content and GPX4 expression. Compared with the MCAO group, the acupuncture+MCAO group had an increase in neurological function scores, a decrease in infarct volume, a large number of mitochondria under electron microscopy, a clear structure, a decrease or disordered arrangement of some mitochondrial crest structures, a decrease in the contents of iron and MDA in brain tissue, and an increase in GSH content and GPX4 expression. **Conclusion** Acupuncture pretreatment can alleviate neurological damage in rats, and its mechanism may be related to regulating iron, GSH and MDA contents in brain tissue, and GPX4 expression, improving

[收稿日期] 2024-04-29

[修回日期] 2024-07-30

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82104998)

[作者简介] 高莹, 博士, 主治医师, 从事针刺治疗脑血管病的临床与基础研究, E-mail: gy-queen@163.com。通信作者杨建, 硕士, 主治医师, 从事针刺治疗脑血管病的临床与基础研究, E-mail: yj-hero@163.com。

cell antioxidant capacity and inhibiting nerve cell ferroptosis.

[KEY WORDS] acupuncture; pretreatment; ischemic stroke; ferroptosis; nerve cell

研究显示,2021 年神经系统疾病对全球超过 1/3 的人造成影响,是致残的主要原因之一,而脑卒中是神经系统疾病之首,是全球第二大死因,第三大致残原因<sup>[1]</sup>。流行病学研究报告显示,缺血性脑卒中占有脑卒中病例的 80%<sup>[2]</sup>。因此,缺血性脑卒中已被联合国视为减轻非传染性疾病负担的优先目标。溶栓治疗与神经保护治疗是治疗急性缺血性脑卒中的首选,但溶栓疗法因其干预时间窗受限(<4.5 h),能够获益的患者不足 3%<sup>[3]</sup>。神经保护剂在改善急性缺血性脑卒中后的神经失用中未达到预期效果。

本院自 20 世纪 70 年代就开始进行针刺治疗缺血性脑卒中的临床与基础研究,其临床疗效显著,牵头制订的《国际中医技术操作规范 醒脑开窍针刺法治疗中风》已由世界中医药学会联合会向世界发布。基础研究证实针刺可通过调节侧支循环、促进血管新生<sup>[4]</sup>、改善脑血流量、降低炎症反应<sup>[5]</sup>、抑制细胞凋亡<sup>[6]</sup>、保护血脑屏障等方面发挥脑保护作用<sup>[7]</sup>。铁死亡是 2012 年提出的,以谷胱甘肽耗竭,谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 活性下降,脂质氧化物不能通过 GPX4 催化的谷胱甘肽还原酶反应代谢,Fe<sup>2+</sup> 氧化脂质产生活性氧为特点的细胞死亡方式<sup>[8]</sup>。近年来研究发现铁死亡与缺血性脑卒中的病理生理学过程密切相关<sup>[9]</sup>。铁死亡抑制剂可改善脑缺血后神经功能,发挥神经保护作用<sup>[10]</sup>。基于此,本研究旨在探讨针刺预处理防治缺血性脑卒中的铁死亡机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

成年雄性 SD 大鼠(240 ~ 300 g),购自北京华康生物科技股份有限公司[许可证号:SCXK(京)2019—0008]。本研究通过易生源基因科技(天津)有限公司动物伦理委员会批准(YSY-DWLL-2021015)。

### 1.2 主要仪器及试剂

丙二醛(malondialdehyde, MDA)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)及组织铁测定试剂盒(南京建成生物工程研究所);GPX4 抗体(武汉博士德生物工程有限公司);2% TTC 染色液(货号:R20618,上海源叶生物科技有限公司);酶标检测仪(美国伯滕仪器有限公司,型号:Synergy HT);全景扫描仪(匈牙

利 3DHISTECH 公司,型号:Pannoramic SCAN);病理切片机(徕卡仪器有限公司,型号:LEiCA HistoCore MULTICUT);透射电子显微镜(日本 HITACHI)等。

### 1.3 分组及干预

60 只 SD 大鼠随机分为假大脑中动脉栓塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)组、MCAO 组、针刺+MCAO 组。针刺+MCAO 组予针刺预处理;选取人中穴、内关穴、三阴交穴(图 1)<sup>[11]</sup>,根据中国针灸学会制定的“动物针灸穴位图谱”<sup>[12]</sup>,参考大鼠解剖结构和体表标志,人中穴位于鼻尖下 1 mm 唇裂正中;内关穴位于前肢内侧,腕关节上约 3 mm,尺、桡骨间隙中;三阴交穴位于后肢内踝尖直上 1 cm。针具选用华佗牌 0.25 \* 25 mm 针灸针。电针仪选用韩氏神经穴位刺激仪 HANS-200E 连接双侧内关穴、三阴交穴,疏密波强度 2 mA,频率 2/15 Hz,留针 20 min,每天 1 次,共 5 天。

假 MCAO 组、MCAO 组大鼠连续抓取干预 5 天,抓取方式、抓取时长同针刺+MCAO 组。

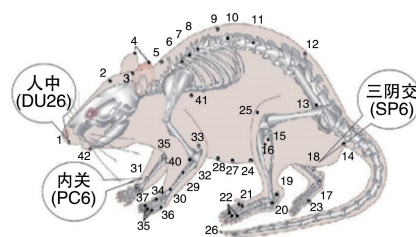


图 1. 醒脑开窍针刺法主穴示意图

1 ~ 42 穴位编号仅作本图谱标注。

Figure 1. Schematic diagram of the main acupoint of the awakening and opening acupuncture method

### 1.4 模型制备

MCAO 在体模型制备<sup>[13]</sup>:腹腔注射麻醉,由颈总动脉插入线栓,经颈内动脉插至大脑中动脉分叉处,导致血流明显阻断,脑区出现稳定的局灶性梗死。假 MCAO 组大鼠仅分离颈总、颈内和颈外动脉,不插入线栓。

### 1.5 神经功能评定

采用 Zausinger 六分法<sup>[14]</sup>对大鼠神经功能进行评分。0 分:不能自发行走;1 分:自由走动状态下向病变对侧旋转;2 分:抓住鼠尾,大鼠向病变对侧旋转;3 分:对于施向病变对侧的侧压力抵抗力下降;4 分:不能伸直病变对侧前爪,甚至全身向对侧屈曲;5

分:无神经功能缺损。

### 1.6 TTC 染色<sup>[15]</sup>

腹腔注射 10% 戊巴比妥钠 (30 mL/kg) 麻醉后,生理盐水灌注,断头取脑,速冻后用切片将脑组织切成 2 mm 薄片,2% TTC 溶液染色,IPP 软件计算脑组织梗死面积。

### 1.7 电镜观察<sup>[16]</sup>

腹腔注射 10% 戊巴比妥钠 (30 mL/kg) 麻醉后,生理盐水灌注,断头取脑,将海马组织切成 1 mm<sup>3</sup> 左右小块,2.5% 戊二醛固定液固定,4 ℃ 冰箱保存。电镜下观察各组大鼠脑组织病理形态学改变。

### 1.8 比色法测定铁蛋白含量

取脑组织步骤同前,将脑组织按 1:9 比例加入生理盐水中,冰水浴离心 (2 500 r/min) 10 min 后取全部上清液,沸水浴 5 min,冷却后按 3 500 r/min 离心 10 min,取上清液 1 mL,加入甘氨酸/盐酸缓冲液 2 mL,0.6% 亚铁啉显色液 0.1 mL,混合均匀,室温下静置 15 min,于波长 520 nm 条件下测定各管吸光度 (OD) 值。

### 1.9 ELISA 检测 MDA、GSH 的含量

分别按 ELISA 试剂盒说明书检测大鼠脑组织 MDA、GSH 的含量。

### 1.10 免疫荧光检测 GPX4 表达<sup>[11]</sup>

取脑组织步骤同前,石蜡切片厚度为 5 μm,依次将切片放入二甲苯 I 20 min、二甲苯 II 20 min、二甲苯 III 15 min、无水乙醇 I 5 min、无水乙醇 II 5 min、85% 乙醇 5 min、75% 乙醇 5 min,蒸馏水冲洗后置于柠檬酸抗原修复缓冲液 (pH6.0) 内进行抗原修复,在组化圈内滴加山羊血清均匀覆盖组织,室温封闭 30 min,加一抗后磷酸盐缓冲溶液洗涤浸泡 3 次,加二抗覆盖组织,室温避光孵育 1 h,滴加 DAPI 细胞核染液,室温染色 2 min,用防荧光淬灭封片剂封片,荧光显微镜下观察。

### 1.11 统计学分析

应用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析,经正态分布检验及方差齐性检验,符合正态分布的资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA),两两比较采用 LSD 检验,  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 神经功能评分

假 MCAO 组神经功能评分 5 分,提示假手术未

对大鼠的神经功能造成损伤;与假 MCAO 组比较, MCAO 组神经功能评分降低 64.4%,针刺+MCAO 组降低 34.6%,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),大鼠肢体活动障碍,提示造模成功;与 MCAO 组比较,针刺+MCAO 组神经功能评分升高,是 MCAO 组的 1.83 倍,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),提示针刺预处理可改善缺血性脑卒中大鼠神经功能障碍 (表 1)。

表 1. 各组大鼠神经功能评分比较

Table 1. Comparison of neurological function scores of rats in each group

分组	n	神经功能评分
假 MCAO 组	20	5.00±0.00
MCAO 组	20	1.78±0.23 <sup>a</sup>
针刺+MCAO 组	20	3.27±0.00 <sup>ab</sup>

注:a为  $P < 0.05$ ,与假 MCAO 组比较;b为  $P < 0.05$ ,与 MCAO 组比较。

### 2.2 TTC 检测结果

假 MCAO 组未发现梗死灶。与假 MCAO 组相比, MCAO 组脑梗死面积显著增加,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ );与 MCAO 组相比,针刺+MCAO 组脑梗死面积降低 33.51%,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ;表 2 和图 2)。

表 2. 各组大鼠脑梗死面积

Table 2. Cerebral infarction area of rats in each group

分组	n	脑梗死面积 单位:%
假 MCAO 组	6	0.00±0.00
MCAO 组	6	30.11±1.51 <sup>a</sup>
针刺+MCAO 组	6	20.02±1.20 <sup>ab</sup>

注:a为  $P < 0.05$ ,与假 MCAO 组比较;b为  $P < 0.05$ ,与 MCAO 组比较。

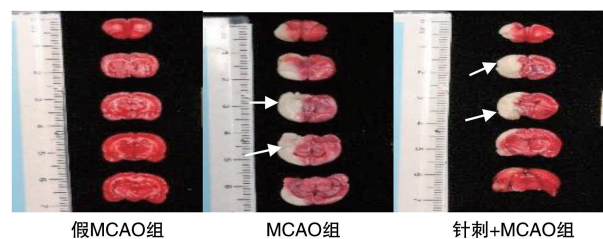


图 2. 各组大鼠 TTC 染色结果

白色部分为梗死区(白色箭头所指部分)。

Figure 2. TTC staining results of rats in each group

### 2.3 电镜检查结果

假 MCAO 组视野内组织结构紧密,细胞核核仁明显,细胞核较规则,核膜清晰,核周隙正常,核内

染色质略微边集化;胞质内线粒体数量丰富,结构完整,嵴结构清晰,排列整齐;神经元突触较多,突触前膜内可见大量突触小泡。MCAO 组视野内细胞膜破裂,组织结构散乱,细胞核形状不规则,凹凸不平,核膜清晰,核周隙正常,核内染色质分布均匀;胞质内可见大量脂滴;线粒体数量减少,部分线粒体内嵴结构断裂、空泡化;粗面内质网扩张明显。针刺+MCAO 组视野内组织水肿,电子基质密度降低,大量细胞器降解,细胞核形状规则,核膜清晰,核仁明显,核周隙正常,核内染色质略微凝集;胞质内线粒体数量较 MCAO 组增多,结构清晰,部分线粒体内嵴结构减少或排列紊乱(图 3)。以上结果提示缺血性脑卒中大鼠脑细胞发生了铁死亡,而针刺预处理可降低铁死亡。

2.4 铁蛋白含量

与假 MCAO 组相比,MCAO 组铁蛋白含量显著升高,是假 MCAO 组的 2.86 倍( $P<0.05$ );与 MCAO 组相比,针刺+MCAO 组铁蛋白含量降低 39.84%,差异有统计学意义( $P<0.05$ ;表 3)。

2.5 MDA、GSH 含量和 GPX4 表达

与假 MCAO 组相比,MCAO 组 MDA 含量升高 1.55 倍,GSH 含量降低 36.4%,GPX4 表达降低 29.85%,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与 MCAO 组相比,针刺+MCAO 组 MDA 含量降低 21.81%,GSH 含量升高 25.75%,GPX4 表达升高 39.94%,差异有统计学意义( $P<0.05$ ;表 3 和图 4)。

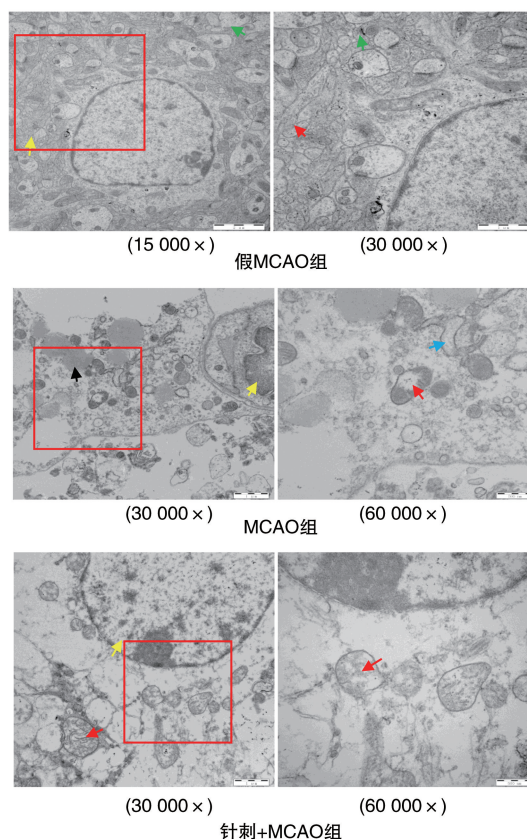


图 3. 电镜下各组大鼠脑组织病理形态学改变  
右图为左图框选部分放大 1 倍后的图像。黄色箭头表示细胞核,红色箭头表示线粒体,绿色箭头表示神经元突触,黑色箭头表示脂滴,蓝色箭头表示内质网。

Figure 3. Pathomorphological changes of rat brain in each group under electron microscopy

表 3. 各组大鼠脑组织铁蛋白、MDA 及 GSH 含量和 GPX4 表达

Table 3. The contents of ferritin, MDA and GSH, and GPX4 expression in the brain tissues of rats in each group

分组	n	铁蛋白/(mg/g)	MDA/( $\mu\text{mol/g}$ )	GSH/( $\mu\text{mol/g}$ )	GPX4/(IOD/SUM)
假 MCAO 组	8	0.43 $\pm$ 0.04	3.78 $\pm$ 1.12	35.47 $\pm$ 2.57	72.35 $\pm$ 4.84
MCAO 组	8	1.23 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	5.87 $\pm$ 0.93 <sup>a</sup>	22.56 $\pm$ 3.91 <sup>a</sup>	50.75 $\pm$ 6.76 <sup>a</sup>
针刺+MCAO 组	8	0.74 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	4.59 $\pm$ 0.99 <sup>b</sup>	28.37 $\pm$ 3.29 <sup>b</sup>	71.02 $\pm$ 5.92 <sup>b</sup>

注:a 为  $P<0.05$ ,与假 MCAO 组比较;b 为  $P<0.05$ ,与 MCAO 组比较。

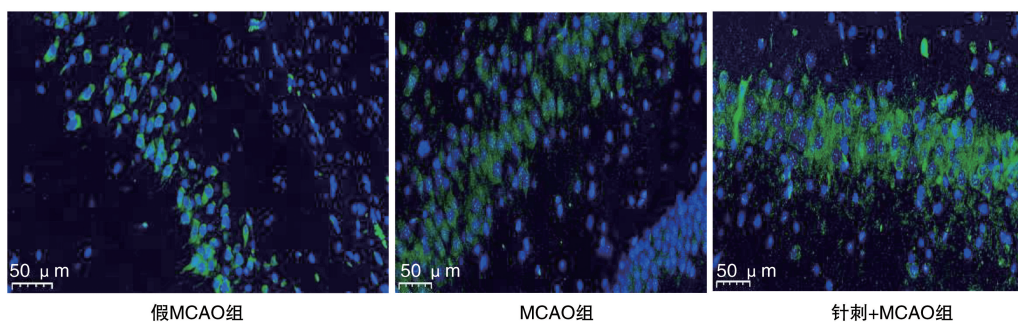


图 4. 免疫荧光法检测 GPX4 表达

细胞核呈蓝色荧光,目的蛋白 GPX4 呈绿色荧光。

Figure 4. Immunofluorescence detection of GPX4 expression

### 3 讨论

缺血性脑卒中是世界性难题,是我国居民的第一位死因,以高发病率、高复发率、高致残率和高死亡率为主要特点,70%~80%卒中后患者会出现各种功能障碍,其中40%左右成为重度残疾。有效的防治工作可降低脑卒中发生率、致残率,极大改善患者的生活质量,减少医疗成本的消耗,这使得防治工作刻不容缓。近年来中医,尤其是针灸在防治缺血性脑卒中的疗效优势引起了广泛关注。针刺预处理以中医“未病先防”理念为指导思想,通过在疾病未发阶段提前干预,可激发机体自身的保护机制,提高机体对脑卒中损伤的耐受性,降低脑卒中发生的风险或减轻其发作时的严重程度。研究发现,针刺预处理可通过促进受损神经的修复和再生、调节神经递质的释放与平衡、抑制炎症因子的释放、减轻机体炎症反应、调节血管舒缩功能、增加脑部血液供应、增加脑缺血耐受<sup>[17]</sup>等机制降低脑卒中发生后神经功能损伤<sup>[18]</sup>。

已知与神经细胞损伤相关的途径包括细胞凋亡、自噬、氧化应激、兴奋性毒性、能量代谢障碍、炎症反应等途径<sup>[19]</sup>,但抑制以上途径并不能完全挽救受损的脑组织和神经细胞<sup>[20]</sup>。因此加强缺血性脑卒中后细胞死亡机制及干预靶点的研究对防治缺血性脑卒中意义重大。铁死亡是一种以铁离子依赖性、胞内大量脂质过氧化物累积为特点的新型细胞程序性死亡方式,在基因水平、形态特征、生物化学改变等方面有别于凋亡、自噬等已知的死亡方式。近几年研究表明,铁死亡在脑卒中后神经功能损伤和干预方面发挥作用<sup>[21-22]</sup>。

本研究以针刺预处理为切入点,研究针刺预处理预防缺血性脑卒中的铁死亡机制,结果显示针刺预处理可降低缺血性脑卒中大鼠的神经功能损伤,降低脑梗死面积。电镜结果显示MCAO组大鼠脑组织有铁死亡征象<sup>[23]</sup>,针刺预处理可改善缺血性脑卒中大鼠的铁死亡程度,从病理形态学角度证实了针刺预处理预防缺血性脑卒中的铁死亡机制。缺血性脑卒中大鼠脑组织铁蛋白含量增加,MDA含量升高,GSH含量和GPX4表达降低,结果表明铁死亡是缺血性脑卒中的机制之一,而针刺预处理可降低缺血性脑卒中的铁死亡水平。铁死亡的实质是细胞内铁过载引发芬顿反应,导致细胞内活性氧簇产生过多,过多的活性氧簇与细胞膜发生脂质过氧化反应,脂质过氧化物积累促使细胞死亡,即为铁死亡。GPX4可利用GSH将细胞内的脂质过氧化物还

原为对醇类而在铁死亡过程中发挥抑制作用,当GPX4活性受到抑制或者表达降低,其对铁死亡的抑制效应下降<sup>[24]</sup>。GSH是由谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸组成的三肽化合物,能清除自由基,保护细胞免受氧化损伤,与GPX4协同,抑制铁死亡的发生。MDA是膜脂过氧化的产物,是衡量膜脂过氧化、膜系统受损程度的指标,当细胞受到氧化应激等刺激时,膜脂发生过氧化反应,MDA升高。本研究证实针刺预处理可通过抑制神经细胞铁死亡发挥脑保护效应。

2004年孙忠人教授团队<sup>[25]</sup>首次报道,在脑缺血前给予针刺预处理,可诱导脑缺血耐受、降低脑梗死面积及神经功能损伤。之后有关针灸预刺激/逆针灸的研究层出不穷,为针灸在未病先防、已病防变、病后防瘥领域开辟了新天地。近年来有关针灸在脑卒中先兆期、脑卒中超早期应用以降低神经功能损伤的证据越来越多,肯定了针刺的防治作用。针刺预刺激可通过改善脑血流量、降低炎症反应、抑制细胞凋亡等途径发挥脑保护效应,但鲜有研究从铁死亡角度分析其内在机制,结合本文研究结果可知,针灸预刺激可通过多途径、多环节、多靶点作用达到脑保护效应。

积极宣传疾病预防思想、开展预防相关的大样本多中心临床试验、优化临床试验设计、加强基础研究、探索预防机制,是推动预防工作临床应用的必经之路。目前有关针刺预处理在防治脑卒中的临床疗效未明,相关研究较少,针刺预处理的介入方案、介入时间、介入时长、介入频次、操作规范等都需要更多的研究提供证据支持。本研究仅能证实针刺预处理对缺血性脑卒中神经细胞铁死亡有影响,尚不能表明神经细胞铁死亡是针刺预处理干预缺血性脑卒中的特异性机制,后期我们将加入铁死亡抑制剂/激活剂,观察铁死亡在其中发挥的特异性作用,为揭示针刺预处理干预缺血性脑卒中的内在机制提供理论依据。此外本研究以大鼠全脑为研究对象,缺乏针对性,后期我们将聚焦关键脑区和核心靶点,进一步确证针刺预处理起效的关键神经环路。

#### [参考文献]

- [1] GBD 2021 Nervous System Disorders Collaborators. Global, regional, and national burden of disorders affecting the nervous system, 1990-2021: a systematic analysis for the global burden of disease study 2021[J]. *Lancet Neurol*, 2024, 23(4): 344-381.
- [2] POWERS W J, RABINSTEIN A A, ACKERSON T, et al. Guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke: 2019

- update to the 2018 guidelines for the early management of acute ischemic stroke; a guideline for healthcare professionals from the American heart association/American stroke association[J]. *Stroke*, 2019, 50(12): e344-e418.
- [3] 中国卒中学会, 中国卒中学会神经介入分会, 中华预防医学会卒中预防与控制专业委员会介入学组. 急性缺血性卒中血管内治疗中国指南 2023[J]. 中国卒中杂志, 2023, 18(6): 684-711. Chinese Stroke Association, Neurointerventional Division of Chinese Stroke Association, Interventional Subgroup of Stroke Prevention and Control Committee of Chinese Preventive Medicine. Chinese guideline for endovascular treatment of acute ischemic stroke 2023[J]. *Chin J Stroke*, 2023, 18(6): 684-711.
- [4] 李笑笑, 李姝洁, 董健健, 等. 电针大鼠血清对氧糖剥夺诱导的海马神经元铁死亡的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2023, 30(4): 77-81. LI X X, LI S J, DONG J J, et al. Effects of electroacupuncture serum of rats on oxygen-glucose deprivation-induced hippocampal neuronal ferroptosis[J]. *Chin J Inf Tradit Chin Med*, 2023, 30(4): 77-81.
- [5] WANG H, CHEN S, ZHANG Y, et al. Electroacupuncture ameliorates neuronal injury by Pink1/Parkin-mediated mitophagy clearance in cerebral ischemia-reperfusion[J]. *Nitric Oxide*, 2019, 91: 23-34.
- [6] SUN S, CHEN X, GAO Y, et al. Mn-SOD upregulation by electroacupuncture attenuates ischemic oxidative damage via CB1R-mediated STAT3 phosphorylation[J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(1): 331-343.
- [7] MAO C, LIU X, ZHANG Y, et al. DHODH-mediated ferroptosis defence is a targetable vulnerability in cancer[J]. *Nature*, 2021, 593(7860): 586-590.
- [8] DIXON S J, LEMBERG K M, LAMPRECHT M R, et al. Ferroptosis; an iron-dependent form of nonapoptotic cell death[J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072.
- [9] 王丽雯, 刘惠美, 李兰芳, 等. 铁死亡与动脉粥样硬化[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(2): 155-163. WANG L W, LIU H M, LI L F, et al. Ferroptosis and atherosclerosis[J]. *Chin J Arterioscler*, 2024, 32(2): 155-163.
- [10] MAO R, ZONG N, HU Y, et al. Neuronal death mechanisms and therapeutic strategy in ischemic stroke[J]. *Neurosci Bull*, 2022, 38(10): 1229-1247.
- [11] 高莹, 杨建. 醒脑开窍针刺法对出血性卒中大鼠神经细胞铁死亡的影响[J]. 广西中医药大学学报, 2023, 26(2): 40-45. GAO Y, YANG J. Effect of Xingnao Kaiqiao acupuncture on ferroptosis of nerve cells in rats with hemorrhagic stroke[J]. *J Guangxi Univ Chin Med*, 2023, 26(2): 40-45.
- [12] 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. Chinese Society of Acupuncture and Moxibustion. Common acupuncture point names and positioning in experimental animals part 2: rats[J]. *Acupunct Res*, 2021, 46(4): 351-352.
- [13] 陈国仙, 钱大青, 柴智明, 等. 三种线栓制备大鼠 MCAO 模型比较[J]. 包头医学院学报, 2018, 34(7): 72-74. CHEN G X, QIAN D Q, CHAI Z M, et al. Comparison of three types of nylon thread bolts to establish rat MCAO model[J]. *J Baotou Med Coll*, 2018, 34(7): 72-74.
- [14] 孙媛媛, 王舒, 马津全, 等. 电针人中穴改善大鼠中动脉闭塞模型大鼠神经功能评分的最优参数筛选研究[J]. 生物医学工程研究, 2013, 32(2): 88-90, 100. SUN Y Y, WANG S, MA J Q, et al. The research on screening the optimal parameters on EA renzhong( DU26) to improve the rats' neurological function of middle cerebral artery occlusion model (MCAO)[J]. *J Biomed Eng Res*, 2013, 32(2): 88-90, 100.
- [15] 程晓青, 李建瑞, 方晓堃, 等. 大鼠缺血性卒中模型 MRI 与 TTC 染色法测量脑梗死体积的对比研究[J]. 医学影像学杂志, 2015, 25(10): 1871-1873. CHENG X Q, LI J R, FANG X K, et al. Comparative study of MRI and 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) staining for quantification rat brain infarct volume[J]. *J Med Imaging*, 2015, 25(10): 1871-1873.
- [16] 张晓丽, 王立言, 郝晶, 等. 透射电镜样品制备及观察在本科实验教学中的应用[J]. 解剖学杂志, 2022, 45(2): 197-198. ZHANG X L, WANG L Y, HAO J, et al. Application of transmission electronic microscopy sample preparation and observation in undergraduate experiment teaching[J]. *Chin J Anat*, 2022, 45(2): 197-198.
- [17] 唐强, 秦萍, 李宏玉, 等. 针刺预处理与脑缺血耐受研究机制进展[J]. 世界中西医结合杂志, 2019, 14(4): 583-585, 589. TANG Q, QIN P, LI H Y, et al. Pretreatment with acupuncture and tolerance in cerebral ischemia[J]. *World J Integr Tradit West Med*, 2019, 14(4): 583-585, 589.
- [18] 宁文华, 李礼, 郭扬, 等. 电针预处理脑保护作用机制研究进展[J]. 中国康复理论与实践, 2019, 25(11): 1315-1319. NING W H, LI L, GUO Y, et al. Advance in brain protective mechanism of electroacupuncture preconditioning (review)[J]. *Chin J Rehabil Theory Pract*, 2019, 25(11): 1315-1319.
- [19] DATTA A, SARMAH D, MOUNICA L, et al. Cell death pathways in ischemic stroke and targeted pharmacotherapy[J]. *Transl Stroke Res*, 2020, 11(6): 1185-1202.
- [20] PAN Z, MA G, KONG L, et al. Hypoxia-inducible factor-1: regulatory mechanisms and drug development in stroke[J]. *Pharmacol Res*, 2021, 170: 105742.
- [21] GUO J, TUO Q Z, LEI P. Iron, ferroptosis, and ischemic stroke[J]. *J Neurochem*, 2023, 165(4): 487-520.
- [22] DENG X, CHU W, ZHANG H, et al. Nrf2 and ferroptosis: a new research direction for ischemic stroke[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2023, 43(8): 3885-3896.
- [23] CHEN X, COMISH P B, TANG D, et al. Characteristics and biomarkers of ferroptosis[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 637162.
- [24] LIU J, KANG R, TANG D. Signaling pathways and defense mechanisms of ferroptosis[J]. *FEBS J*, 2022, 289(22): 7038-7050.
- [25] 孙忠人, 唐伟, 单丽莉, 等. 针刺诱导脑缺血耐受的实验研究[J]. 中国临床康复, 2005, 9(1): 122-123. SUN Z R, TANG Q, SHAN L L, et al. Experimental study on the acupuncture induced brain ischemic tolerance[J]. *Chin J Clin Rehab*, 2005, 9(1): 122-123.