

穴位埋线调控氧化应激标志物水平改善血管性痴呆大鼠学习记忆功能

孙秋颖^{1*}, 布雨¹, 唐中生^{2#}, 李允争¹

¹贵州中医药大学基础医学院, 贵州 贵阳

²贵州中医药大学解剖学教研室, 贵州 贵阳

收稿日期: 2022年12月28日; 录用日期: 2023年1月21日; 发布日期: 2023年1月31日

摘要

目的: 观察穴位埋线(CIAA)治疗对血管性痴呆(VaD)大鼠氧化应激水平的影响。方法: VaD大鼠模型的建立采用改良的Pulsinelli's四血管阻断法(4-VO), 使用随机数字法将造模成功的大鼠分为3组: 模型组、穴位埋线组、尼莫地平组, 另设假手术组作为对照组。治疗20 d后, Morris水迷宫检测各组大鼠的学习和记忆功能, 苏木精-伊红(HE)染色观察海马CA1区神经细胞病理变化, 酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清中NOX2含量, 蛋白质印迹法(WB)检测海马中nNOS的蛋白表达, 比色法检测脑海马中MDA、SOD、NO的表达情况。结果: 与假手术组比较, 模型组大鼠平均逃避潜伏期延长、跨越平台次数减少, 统计学意义显著($P < 0.01$), 与模型组比较, 穴位埋线组平均逃避潜伏期缩短、跨越平台次数增加, 统计学意义显著($P < 0.05$); 与模型组比较, 穴位埋线组血清中NOX2含量降低, 脑海马中nNOS蛋白表达水平显著降低、SOD活力升高、MDA含量降低(均 $P < 0.05$), NO含量显著降低($P < 0.01$), 差异均有统计学意义。结论: 穴位埋线法可能通过上调脑海马中SOD活性, 降低MDA含量, 提高NO生物利用率, 从而降低VaD大鼠脑组织氧化应激水平, 延缓对神经细胞的损伤, 改善VaD大鼠学习记忆功能。

关键词

血管性痴呆, 穴位埋线, 氧化应激, 学习记忆

Catgut Implantation at Acupoint Improving the Learning and Memory Function of Vascular Dementia Rats by Regulating the Level of Oxidative Stress Markers

Qiuying Sun^{1*}, Yu Bu¹, Zhongsheng Tang^{2#}, Yunzheng Li¹

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 孙秋颖, 布雨, 唐中生, 李允争. 穴位埋线调控氧化应激标志物水平改善血管性痴呆大鼠学习记忆功能[J]. 临床医学进展, 2023, 13(1): 871-879. DOI: 10.12677/acm.2023.131126

¹School of Basic Medicine, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

²Department of Anatomy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

Received: Dec. 28th, 2022; accepted: Jan. 21st, 2023; published: Jan. 31st, 2023

Abstract

Objective: To investigate the effect of catgut implantation at acupoint on the level of oxidative stress in Vascular Dementia Rats. **Method:** VaD rat model was established by modified Pulsinelli's four vessel occlusion. They were randomly divided into 3 groups: Model group, Catgut implantation at acupoint group, Nimodipine group, and set up another sham operation group as a control group. After 20 days of treatment, Morris water maze was used to detect the learning and memory function of the rats in each group; HE staining was used to observe the pathological changes of neurons in the hippocampal CA1 area; ELISA was used to detect the content of NOX2 in the serum; Western blotting was used to detect the protein expression of nNOS in the hippocampus; colorimetric method was used to detect the expression of MDA, SOD and NO in the hippocampus. **Result:** Compared with the sham operation group, the average escape latency period of the model rats was extended, and the number of times exceeded the original platform decreased, which was statistically significant ($P < 0.01$). Compared with the model group, the average escape latency period of the burial line group was shortened, and the number of times exceeding the original platform increased, which was statistically significant ($P < 0.05$). Compared with the model group, the NOX2 content in serum decreased, the expression level of nNOS protein in the cerebral hippocampus decreased significantly, the SOD vitality increased, and the MDA content decreased in the catgut implantation at acupoint group. The differences were statistically significant (all $P < 0.05$), the content of NO was significantly reduced ($P < 0.01$). **Conclusion:** The method of catgut implantation at acupoint may enhance SOD activity, reduce MDA content and improve NO bioavailability, so as to reduce the level of oxidative stress in brain tissue of VaD rats, reduce nerve cell damage and apoptosis, and improve learning and memory function of VaD rats.

Keywords

Vascular Dementia, Catgut Implantation at Acupoint, Oxidative Stress, Learning and Memory

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

血管性痴呆(Vascular Dementia, VaD)是指由各种基础的脑血管疾病进一步发展导致的以学习记忆及认知障碍为主要症状的临床综合征。据流行病学调查,脑血管患者中继发 VaD 的概率为 26%,在 65 岁以上的痴呆患者中, VaD 患者占 20%左右[1] [2],且 VaD 是唯一临床可防治并且预后效果尚佳的痴呆性疾病。我国作为老龄化人口逐步增加的国家,对 VaD 进行科学的预防和治疗,无论是对患者还是其家人都有着重大的社会意义。穴位埋线(Catgut implantation at acupoint, CIAA)是传统针灸治疗的进一步拓展和延伸,通过在一定的穴位上埋入可吸收外科线,使其对穴位产生长达 2 周甚至更久的持续性刺激,从而起到疏经通络,调气和血的功能[3]。本课题组在之前的实验中验证了 CIAA 可以改善学习记忆功能,证

实了 VaD 与炎性细胞因子存在关联, 且 CIAA 可以通过缓解炎症反应改善 VaD 大鼠的症状[4] [5] [6]。在此基础上本实验通过观察 CIAA 治疗后 VaD 大鼠学习记忆与空间探索能力、血清 NOX2 含量、海马组织中 nNOS 蛋白的表达情况、MDA 含量及 SOD 活力, 探讨 CIAA 对 VaD 大鼠氧化应激水平的影响与改善学习记忆功能之间的机制, 为今后临床预防 VaD 的发生和发展提供实验室依据。

2. 实验材料与方法

2.1. 实验动物

健康 SD 大鼠 60 只, SPF 级, 雄性, 体重 180~200 g, 购自长沙市天勤生物技术有限公司, 许可证号: SCXK(湘)2019-0014。实验获得贵州中医药大学动物实验伦理委员会批准。

2.2. 主要实验仪器与试剂

可吸收外科缝合线(中国中医研究院众益科技有限公司); 微型动脉夹(安徽淮北正华生物仪器设备有限公司); 尼莫地平片(亚宝药业; 批号: 201803); NOX2/iNOS (诱导型一氧化氮合成酶) ELISA 检测试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司, 批号: E-EL-R0520c); BCA 蛋白定量试剂盒(康为世纪生物科技有限公司, 批号: CW0014); 一步法快速 WB 试剂盒(兔)、一步法快速 WB 试剂盒(鼠)、山羊抗兔工作液(康为世纪生物科技有限公司, 批号: CW02029、CW02030、CW0103); MDA 检测试剂盒、SOD 检测试剂盒、NO 检测试剂盒(南京建成, 型号: A001-1-1、A003-1-1、A012-1-2); 电镜固定液(Servicebio, 批号: G1102); 超薄切片机(Leica, 型号: Leica UC7); 透射电子显微镜(HITACHI, HT7800)。

2.3. 造模、分组及治疗方法

2.3.1. 造模方法及分组

VaD 大鼠模型的建立采用改良的 Pulsinelli's 四血管阻断法(four-vessel occlusion, 4-VO) [7], 术前 12 h 禁食, 不禁水。具体操作: 用 3% 戊巴比妥钠 40 mg/kg 给大鼠进行腹腔内注射麻醉, 固定在操作台上, 于背侧颈正中处将双侧第一颈椎横突翼小孔露出, 以向上穿行的神经作为标志物, 用电凝针将双侧椎动脉烧灼, 使其永久性闭塞。24 h 后再进行一次腹腔麻醉, 仰卧固定, 腹侧颈正中切口, 钝性分离双侧的颈总动脉, 微型动脉夹夹闭双侧颈总动脉 5 min, 间隔 1 h, 重复夹闭三次。以阻断血管后 1~2 min 内出现瞳孔散大, 虹膜变白为标准判定造模成功。将成活且造模成功的大鼠随机分为模型组、穴位埋线组、尼莫地平组。另设假手术组不进行椎动脉烧灼和颈总动脉夹闭, 其余处理同上, 保证每组至少 10 只。所有操作结束后, 给予适量青霉素预防感染, 注意术后保温, 待大鼠自然清醒, 常规饲养。

2.3.2. 治疗方法

造模成功后第 8 天进行治疗, 连续 20 天。穴位埋线组选取百会穴、膈俞穴、气海穴、三阴交穴、膻中穴, 选穴定位参考《大鼠穴位图谱的研制》[8]及《实验针灸学》[9], 将大鼠麻醉后, 穴位皮肤消毒, 使用埋线工具将可吸收外科缝线按常规埋线方法进行, 置于穴位内; 尼莫地平组给予尼莫地平溶液按照 20 mg/(kg·d)的治疗量进行灌胃, 每日 1 次; 模型组和假手术组均按照 1 ml/100g 的用量给予蒸馏水灌胃, 每日 1 次。

2.4. 观察指标及方法

2.4.1. Morris 水迷宫检测学习记忆

治疗结束后大鼠经过学习引导与环境适应后进行为期一周的水迷宫测试, 1~6 d 每日进行定向航行试验一次, 检测大鼠的学习记忆功能, 按照象限顺序, 从每个象限池壁中点到池壁依次将大鼠放入水中,

记录 60 s 内大鼠爬上平台的时间记为逃避潜伏期, 超过 60 s 记录为 60 s; 第 7 天撤掉平台进行空间探索试验, 记录 90 s 内大鼠在第三象限游泳时间和穿越平台次数。数据由电脑自动采集。

2.4.2. HE 染色观察海马 CA1 区神经细胞形态学

行为学检测后, 每组随机抽取 1 只大鼠, 腹腔注射麻醉, 暴露胸腔, 从心尖处将注射器插入升主动脉, 用 500 ml 生理盐水冲洗, 然后用 4% 多聚甲醛行灌注固定, 取出大鼠脑组织, 分离双侧海马, 将海马置于多聚甲醛溶中再固定 48 h, 经石蜡包埋、切片后行苏木精 - 伊红(HE)染色, 在光镜下观察各组大鼠海马 CA1 区的神经细胞形态学变化。

2.4.3. ELISA 检测血清 NOX2 含量

3% 戊巴比妥钠麻醉大鼠, 于腹股沟处消毒, 剪开皮肤, 行股动脉采血。全血样品于室温放置 2 h 后于 $1000 \times g$ 离心 20 min, 取上清并按照 ELISA 试剂盒说明书进行严格操作, 在 450 nm 波长处测量 OD 值, 带入标准曲线方程, 计算出各样本浓度, 以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示各组血清 NOX2 含量。

2.4.4. WB 检测脑海马中 nNOS 蛋白的表达

干预结束后, 各组大鼠经腹腔注射麻醉后, 迅速断头取脑, 于冰袋上分离出双侧海马组织, 放入 -80°C 冰箱冻存备用。用预冷放射免疫沉淀法(RIPA)裂解液提取总蛋白, 二喹啉甲酸(BCA)法定量上清液蛋白浓度。余后步骤严格按照试剂盒说明书操作。采用 Gel-Proanalyzer4 图像分析软件测定各带的灰度值做定量分析, 结果以目的蛋白与内参蛋白的比值表示。

2.4.5. 比色法检测脑海马中 MDA、SOD、NO 的表达

按 2.4.4 中方法取海马组织后, 分别用 MDA 检测试剂盒(硫代巴比妥酸法)、SOD 检测试剂盒(黄嘌呤氧化法)、NO 检测试剂盒, 按照说明书严格操作测定脑海马中 MDA、SOD、NO 水平。

2.4.6. 透射电镜观察大鼠脑海马 CA1 区超微结构

按 1.4.4 中方法取海马组织后, 用手术刀在培养皿的固定液中进行切割成 1 mm^3 的小组织块, 再 4°C 继续固定。PBS 冲液漂洗 3 次, 每次 15 min。1% 锇酸避光室温固定 2 h。冲洗后, 组织依次入 30% \rightarrow 50% \rightarrow 70% \rightarrow 80% \rightarrow 95% \rightarrow 100% \rightarrow 100% 酒精上行脱水, 每次 20 min; 100% 丙酮两次, 每次 15 min。树脂渗透包埋聚合, 于超薄切片机切片。2% 醋酸铀饱和和酒精溶液避光染色 8 min, 清洗; 2.6% 枸橼酸铅溶液避二氧化碳二次染色。透射电子显微镜下观察, 采集图像。

2.5. 统计学分析

应用 SPSS 25.0 统计分析软件进行统计学分析。多组间比较用单因素方差分析(one-way ANOVA)或非参数检验(Non parametric tests), 再进行两两比较, 计量资料均用数据用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. 各组定位航行及空间探索结果比较

与假手术组比较, 模型组大鼠平均逃避潜伏期延长、跨越平台次数减少, 统计学意义显著($P < 0.01$), 与模型组比较, 穴位埋线组平均逃避潜伏期缩短、跨越平台次数增加, 统计学意义显著($P < 0.05$), 穴位埋线组与尼莫地平组统计学无差异($P > 0.05$), 表明经过穴位埋线治疗后, 能够明显改善 VaD 大鼠学习和记忆能力, 如表 1。各组大鼠第 7 天空间探索情况图 1。

Table 1. The average escape latency, esidence time in target area, the times across platform of each group of rats ($\bar{x} \pm s$)
表 1. 各组大鼠平均逃避潜伏期、目标区域停留时间、穿越平台次数($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	平均逃避潜伏期(s)	目标区域停留时间(s)	穿越平台次数(次)
假手术组	10	23.46 ± 7.36	37.45 ± 7.03	7.42 ± 1.19
模型组	10	43.92 ± 3.42**	22.46 ± 7.45**	1.46 ± 0.87**
穴位埋线组	10	29.71 ± 6.09 [#]	29.36 ± 6.37 [#]	4.37 ± 1.06 [#]
尼莫地平组	10	27.47 ± 6.81	30.54 ± 8.25	4.94 ± 0.74

注：与假手术组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，[#] $P < 0.05$ ，^{##} $P < 0.01$ 。

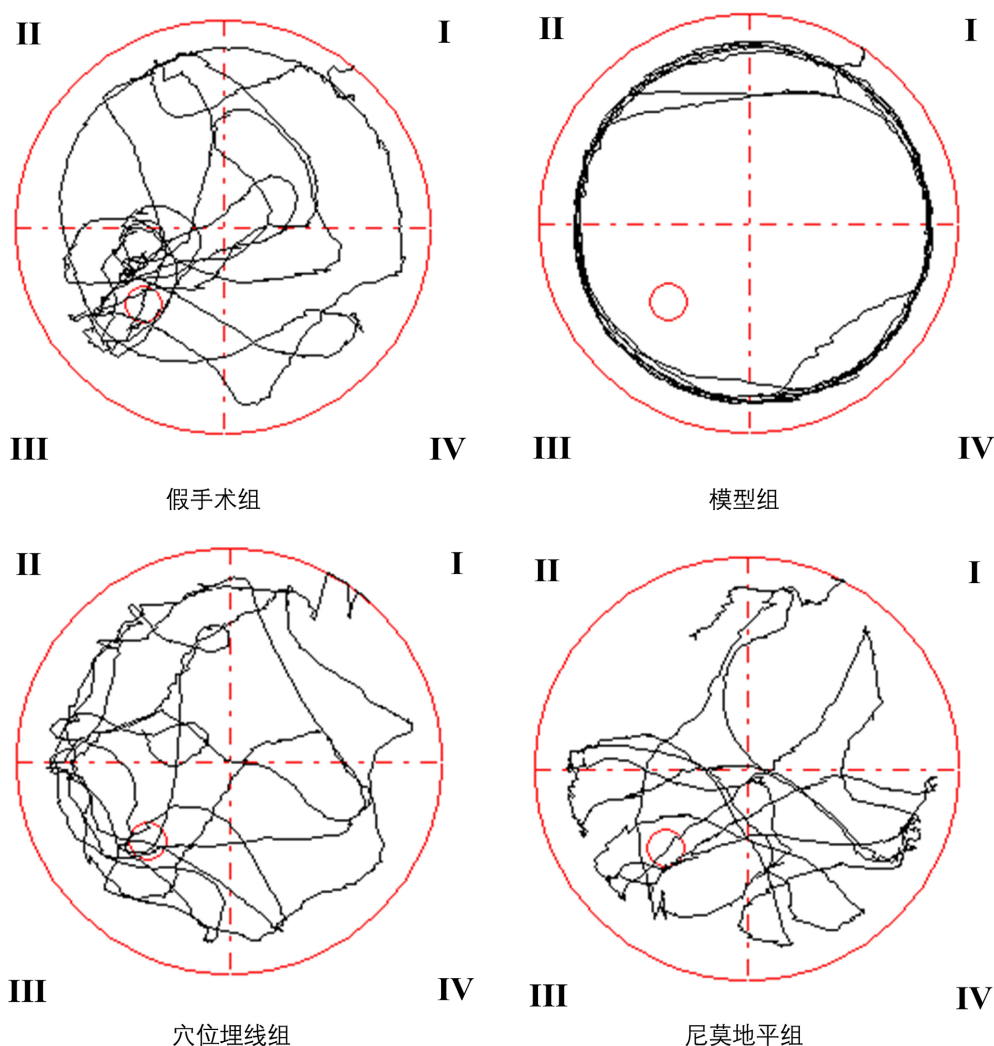


Figure 1. Space exploration of rats in each group
图 1. 各组大鼠空间探索情况

3.2. 各组大鼠海马 CA1 区神经细胞 HE 染色结果

假手术组神经细胞整体形态正常，边界清楚，结构完整，细胞质丰富，细胞核清晰，细胞排列整齐致密；模型组锥体细胞数量明显减少，并且大部分变性坏死，细胞结构模糊不清，核固缩深染；穴位埋

线组锥体细胞数目略微减少,少量锥体细胞变性坏死;尼莫地平组锥体细胞数目减少,排列疏松紊乱。结果见图 2。

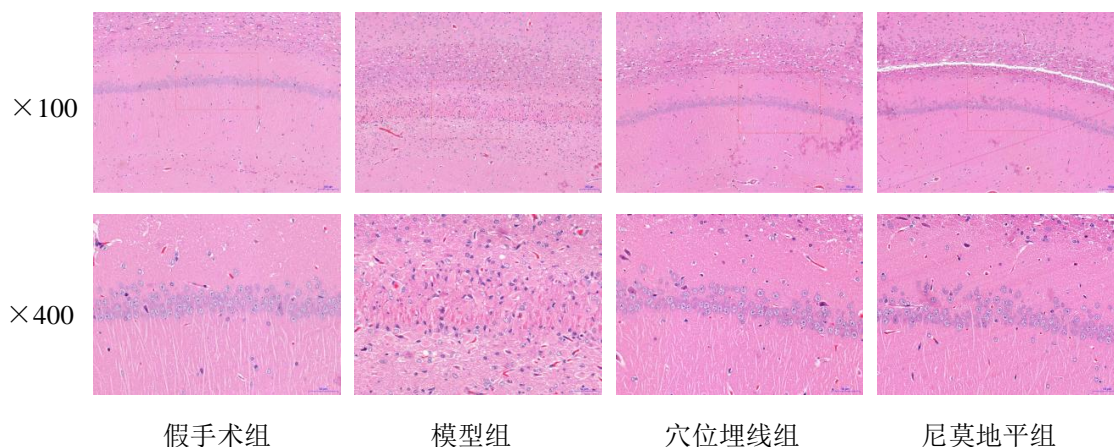


Figure 2. Rat hippocampal CA1 neurons morphological changes

图 2. 大鼠海马 CA1 区神经细胞形态学改变

3.3. 各组血清 NOX2 含量结果

模型组与假手术组比较血清 NOX2 含量显著升高($P < 0.01$),说明造模后出现氧化应激反应;经过治疗后,穴位埋线组血清中 NOX2 含量与模型组显著降低($P < 0.01$),证实了穴位埋线可以缓解氧化应激反应。结果见表 2。

Table 2. The levels of NOX2 in the serum ($\bar{x} \pm s$)

表 2. 血清中 NOX2 含量($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	NOX2 (ng/ml)
假手术组	6	2.15 ± 0.44
模型组	6	10.03 ± 0.35**
穴位埋线组	6	3.59 ± 0.27##
尼莫地平组	6	3.67 ± 0.27

注:与假手术组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$ 。

3.4. 各组海马中 nNOS 蛋白的表达情况

与假手术组比较,模型组海马中 nNOS 蛋白表达水平显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,尼莫地平组和穴位埋线组海马中 nNOS 蛋白表达水平显著降低($P < 0.05$);尼莫地平组和穴位埋线组之间蛋白表达水平无明显差异($P > 0.05$),说明穴位埋线治疗效果明确。结果见图 3。

3.5. 各组海马中 MDA、SOD、NO 的含量

与假手术组比较,模型组海马中 SOD 活力显著降低,MDA 含量、NO 含量显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,穴位埋线组海马中 SOD 活力升高、MDA 含量降低($P < 0.05$),NO 含量显著降低($P < 0.01$),尼莫地平组海马中 SOD 活力显著升高,MDA 含量、NO 含量显著降低($P < 0.01$);尼莫地平组和穴位埋线组之间水平无明显差异,说明穴位埋线可以改善海马中氧化应激反应。结果见表 3。

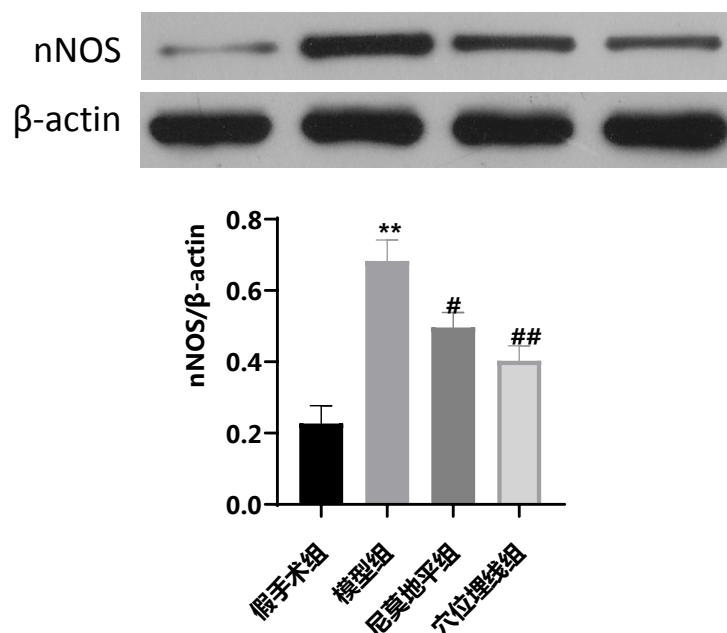


Figure 3. The expression of nNOS protein in hippocampal
图 3. 脑海马中 nNOS 蛋白的表达情况

Table 3. The expression of MDA, SOD, NO in hippocampal ($\bar{x} \pm s$)

表 3. 脑海马中 MDA、SOD、NO 含量($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	SOD 活力(U/mg)	MDA 含量(nmol/mg)	NO 含量($\mu\text{mol/L}$)
假手术组	3	494.40 \pm 19.70	0.53 \pm 0.16	4.73 \pm 2.70
模型组	3	376.34 \pm 2.29**	2.24 \pm 0.16**	36.26 \pm 9.00**
穴位埋线组	3	423.23 \pm 3.36#	1.61 \pm 0.22#	16.89 \pm 8.44##
尼莫地平组	3	441.18 \pm 19.71##	1.16 \pm 0.17##	10.13 \pm 6.19##

注：与假手术组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$ 。

4. 讨论

VaD 是由于年龄、遗传、吸烟、高血压等因素导致脑血管疾病进而发展为神经功能损伤，以学习记忆障碍为最典型也是最为严重的临床症状。传统医学上，VaD 属于痴呆症的范畴，病理性质为本虚标实，本虚为气血亏虚，标实为气、火、痰、瘀内阻于脑。本题组所选穴位中，百会穴为督脉、足太阳膀胱经的交会穴，属督脉，居巅顶部，而脑为髓海，故与大脑功能关系密切，又总督一身之阳，故可开窍醒神、通达阴阳。膈俞穴属足太阳膀胱经，为八会穴之血会，可理气通脉、活血补血。气海穴属任脉，生气之海，元气由存，故可培补元气、调理气机。三阴交穴属足太阴脾经，是足三阴经的交会处，经脉闭塞，泻之可通，故可健脾理血、益肾平肝。膻中穴属任脉，为心包之募穴，八会穴之气会，募集心包经气血，故可行气活血通络。五穴组合，共奏益气活血，补虚扶正，充髓养脑之功。

目前的研究尚不清楚 VaD 的发病机制，但可以确定氧化应激(Oxidative stress, OS)是其中之一，氧化和抗氧化之间的失衡也是 VaD 发生发展的重要因素。研究表明，OS 使抗氧化剂和活性氧(Reactive oxygen species, ROS)的比例失衡，组织中存在的大量氧自由基会产生不饱和脂肪酸导致神经元细胞膜通透性和包膜内外渗透压改变，进而发生细胞水肿，出现神经元坏死和功能障碍[10]。体内产生的氧自由基远远超过

内源性抗氧化能力,使细胞膜过氧化,也会导致内皮细胞、胶质细胞结构受损,神经血管解偶联,致使局部脑血流量降低,发生认知障碍[11]。过多的 ROS 又破坏线粒体功能,加重脑部缺血缺氧和 OS [12],进一步加重神经损伤和认知障碍。

NAPDH 氧化酶家族(NOXs)是 ROS 的主要来源之一,包括 NOX1~NOX5 等七种亚型。研究表明,在慢性低灌注、脑缺血再灌注等脑血管损伤模型中,NOX 活性和 NOX 亚型表达增加,认知功能受损,其中 NOX2 在神经血管中是 OS 的主要来源,通过在血管病理模型中调节内皮功能、血管张力发挥主导作用[13],NOX2 的过量产生可能导致 VAD 的海马神经元损伤、内皮功能障碍和神经血管偶联受损。一氧化氮合酶(NOS)有三种亚型,包括诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、内皮型一氧化氮合酶(eNOS)和神经型一氧化氮合酶(nNOS),其中具有神经毒性的 nNOS 可以催化产生内源性 NO,可负向调控神经干细胞的增殖与分化,主要表达在神经元中。本次实验中,与模型组相比,NOX2 和 nNOS 均在穴位埋线治疗后表达降低,可以表明脑内氧化应激损伤得到调节。

超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)和丙二醛(Malondialdehyde, MDA)都是重要的氧化应激指标之一。脑组织中 SOD 的含量代表组织的抗氧化能力,SOD 可清除机体内自由基,是一种作用于氧化和抗氧化之间的平衡的重要内源性抗氧化酶,抑制 OS,减轻过氧化物对内皮细胞及神经细胞的损伤[14]。MDA 是氧自由基和生物膜上多不饱和脂肪酸脂质过氧化的最终产物,是评估脑组织遭受氧自由基的损伤程度及氧化应激水平的重要指标[15] [16]。一氧化氮(NO)是一种调节多种生理通路的信号分子。NO 与动脉粥样硬化保护作用有关,作为细胞信使分子参与血管张力及局部血流的调节,可以舒张血管,减少血小板的聚集和活化[17]。NO 可以与体内超氧阴离子(O_2^-)反应,形成可以造成神经细胞严重的氧化应激损伤的氧化剂,超氧亚硝酸根离子(ONOO⁻),从而减少 NO 的生物利用度,破坏神经血管偶联功能,导致 VaD [18]。本次实验中,经过穴位埋线治疗后,与模型组比较,SOD 活力升高,MDA 含量降低,NO 含量降低,说明 CIAA 可以缓解氧化应激损伤。

综上所述,CIAA 可能通过抑制 NOX2 产生过量的 ROS,增强 SOD 的活性清除多余 ROS,降低 MDA 的含量,减少 nNOS 生成导致过量的 NO 产生,提高 NO 的生物利用率,来改善 VaD 大鼠学习记忆功能,提高体内抗氧化能力,减少氧化应激对 VaD 大鼠脑组织的损伤,平衡 ROS 与抗氧化剂,减轻神经细胞损伤,抑制凋亡,为开展进一步的临床防治研究提供了一定的实验基础。

基金项目

国家自然科学基金地区基金项目(81960811);贵州省教育厅创新群体重大项目(黔教合 KY 字[2018]023)。

参考文献

- [1] 彭丽霖,孙景波,程骁. 血管性痴呆的研究进展[J]. 解剖学研究,2020,42(5): 468-471.
- [2] Rizzi, L., Rosset, I. and Roriz-Cruz, M. (2014) Global Epidemiology of Dementia: Alzheimer's and Vascular Types. *BioMed Research International*, 2014, Article ID: 908915. <https://doi.org/10.1155/2014/908915>
- [3] 侯永超,王菊子,樊晶晶,等. 穴位埋线治疗脑卒中后早期肩手综合征的系统评价与 Meta 分析[J]. 循证护理,2021,7(2): 174-181+189.
- [4] 唐中生,谢高宇,陆莹,等. 穴位埋线对血管性痴呆大鼠学习记忆能力及血清白介素-1 β 、肿瘤坏死因子- α 表达的影响[J]. 中国老年学杂志,2014,34(22): 6407-6409.
- [5] 唐中生,吴春朋,罗亚非,等. 穴位埋线对血管性痴呆大鼠海马 CA1 区神经细胞凋亡的影响[J]. 解剖学报,2015,46(5): 602-608.
- [6] 李霞,唐中生,吴春朋,等. 穴位埋线对血管性痴呆大鼠海马 CA1 区 p53 蛋白表达的影响[J]. 中国老年学杂志,2017,37(21): 5236-5238.

- [7] 李欧, 沙中玮, 吴双, 等. 血管性认知功能障碍动物模型研究进展[J]. 中国中医基础医学杂志, 2018, 24(4): 567-570.
- [8] 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.
- [9] 李忠仁. 实验针灸学[M]. 第2版. 北京: 中国中医药出版社, 2007.
- [10] Qi, F.X., Hu, Y., Li, Y.W., *et al.* (2021) Levels of Anti-Oxidative Molecules and Inflammatory Factors in Patients with Vascular Dementia and Their Clinical Significance. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, **37**, 1509-1513. <https://doi.org/10.12669/pjms.37.5.3854>
- [11] Choi, D.-H. and Lee, J. (2017) A Mini-Review of the NADPH Oxidases in Vascular Dementia: Correlation with NOXs and Risk Factors for VaD. *International Journal of Molecular Sciences*, **18**, 2500. <https://doi.org/10.3390/ijms18112500>
- [12] Zhang, X.Z., Wu, B.Q., Nie, K., *et al.* (2014) Effects of Acupuncture on Declined Cerebral Blood Flow, Impaired Mitochondrial Respiratory Function and Oxidative Stress in Multi-Infarct Dementia Rats. *Neurochemistry International*, **65**, 23-29. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2013.12.004>
- [13] Tang, X.N., Cairns, B., Kim, J.Y., *et al.* (2012) NADPH Oxidase in Stroke and Cerebrovascular Disease. *Neurological Research*, **34**, 338-345. <https://doi.org/10.1179/1743132812Y.0000000021>
- [14] 谢先龙, 吴艳霞, 吴婷玉, 等. 老年血管性痴呆患者认知功能与血清 Hcy 和 SOD 水平的关系[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2018, 21(14): 1537-1540.
- [15] 卢军锋, 方芳. 血清 AGEs、sRAGE、SOD、MDA 对血管性痴呆的辅助诊断价值[J]. 中国现代医生, 2020, 58(15): 18-21.
- [16] 陆连第, 段伟松, 赵玉, 等. 黄精多糖对血管性痴呆模型大鼠干预作用的实验研究[J]. 中药材, 2018, 41(9): 2212-2215.
- [17] Corzo, L., Zas, R., Rodríguez, S., *et al.* (2007) Decreased Levels of Serum Nitric Oxide in Different Forms of Dementia. *Neuroscience Letters*, **420**, 263-267. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2007.05.008>
- [18] Zhao, X., Liu, J.Y., Yang, S.J., *et al.* (2018) Ling-Yang-Gou-Teng-Decoction Prevents Vascular Dementia through Inhibiting Oxidative Stress Induced Neurovascular Coupling Dysfunction. *Journal of Ethnopharmacology*, **222**, 229-238. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.03.015>