

井穴放血对脑缺血再灌注损伤作用机制的实验研究进展

程旋¹, 马莉², 彭雅莉¹, 裴红旭¹, 耿帅¹, 刘浩宇¹

(1. 黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150040; 2. 黑龙江中医药大学附属第一医院, 哈尔滨 150040)

【摘要】 手十二井穴放血是中医学治疗中风昏迷、晕厥的常用急救疗法, 起效迅速, 疗效确切。该文就近 30 年井穴放血治疗脑缺血再灌注损伤实验研究的相关文章进行总结整理, 发现井穴放血在脑缺血再灌注的病理机制中发挥着调整离子稳态、降低兴奋性氨基酸毒性、减轻炎症反应、拮抗氧化应激、抑制细胞凋亡等作用, 进而起到减轻脑水肿、增强脑修复的脑保护功能, 为井穴放血在卒中的临床急救应用上提供更多的科学依据。

【关键词】 放血疗法; 穴, 井(五输); 脑缺血; 再灌注损伤; 综述

【中图分类号】 R246.6 **【文献标志码】** A

DOI: 10.13460/j.issn.1005-0957.2022.13.0060

卒中是中老年人常见的脑血管意外疾病, 其中缺血性卒中占大多数, 有高致残率、高死亡率等特点, 发病时多伴有脑功能的损伤、意识障碍。现代医学急救措施具有狭窄的时间窗限制, 急救时间紧迫且有诸多禁忌证。而井穴放血疗法操作简单, 无不良反应, 起效快速, 早期介入治疗对于卒中患者促醒、改善后遗症和减轻病死率等方面具有重要的临床意义^[1]。此法作为卒中的中医急救治疗措施, 有巨大的研究价值。

当脑供血中断时, 因糖氧剥夺, 数分钟内就会发生脑组织损伤和部分脑功能丧失^[2], 及时恢复缺血组织的血流, 保证氧及能量的供应, 对挽救半暗带区神经细胞起到至关重要的作用。但在缺血一定时间后恢复血流供应, 脑损伤程度不仅没有恢复反而会进一步加重的现象称脑缺血再灌注损伤 (cerebral ischemia reperfusion injury, CIRI), 其病理损伤机制十分复杂, 且不同的损伤机制和因素之间又相互交错, 相辅相成, 构成复杂信号网, 致使缺血脑组织发生瀑布级联损伤。在急性中风意识障碍的治疗中, 手十二井穴放血作为一种急救措施已被列为中医临床适宜技术在基层推广应用^[3]。笔者在已有的实验研究基础上, 归纳手十二井穴放血疗法治疗 CIRI 的作用机制, 现综述如下。

1 井穴放血对离子稳态的调整作用

脑组织代谢旺盛对缺氧十分敏感, 需要充足的血

液灌注, 提供脑对氧与营养物质的需求, 以维持正常的脑功能, 急性脑缺血发生时首先出现能量代谢紊乱, 线粒体结构损伤, 腺嘌呤核苷三磷酸 (adenosine triphosphate, ATP) 合成减少, 短时间内能量被消耗殆尽, 致使 ATP 依赖性离子泵功能障碍, 导致离子稳态失衡, 使钠 (Na)、钾 (K)、钙 (Ca) 离子平衡被打破, 细胞内 Na^+ 、 Ca^{2+} 浓度升高, 细胞外 K^+ 浓度升高, 大量水分子流入细胞内, 引起细胞毒性水肿。由于脑组织缺氧, 影响线粒体呼吸链功能, 无氧代谢产生大量乳酸, ATP 的消耗又生成过量氢 (H) 离子堆积, 缺血脑组织 pH 降低, 血管通透性增强, 使细胞酸中毒, 血管源性脑水肿。大量的 H^+ 又能促使自由基的产生, 加重脑应激损伤。

1.1 对 Na^+ 、 K^+ 、 H^+ 离子的调节作用, 减轻脑水肿、细胞酸中毒

马岩璠等^[4]以大脑中动脉闭塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 大鼠为实验模型, 观察脑缺血后细胞外 Na^+ 、 K^+ 浓度变化情况及针刺后对其浓度的影响, 结果观察到缺血后的 15 min 内细胞外 K^+ 浓度升高、 Na^+ 浓度降低, 针刺组细胞外 Na^+ 、 K^+ 浓度变化幅度较凝结组小, 表明手十二井穴放血能抑制脑缺血组织细胞外 Na^+ 内流、 K^+ 升高, 从而减轻脑水肿。何树权等^[5]以 MCAO 大鼠为动物模型, 观察缺血后手十二井穴放血对 H^+ 浓度的影响, 结果针刺组 H^+ 升高幅度在缺血后 5~8 min 较模型组低, 说明井穴放血对缺血组

作者简介: 程旋 (1990—), 女, 2020 级硕士生, Email: 1575139067@qq.com

通信作者: 马莉 (1972—), 女, 主任医师, 硕士生导师, Email: mary19720511@163.com

织升高的 H^+ 有一时性的抑制作用, 从而减轻了细胞酸中毒。但随着缺血时间延长, 抑制作用则不明显。

1.2 对 Ca^{2+} 超载的抑制作用, 缓解 Ca 损伤

因脑组织缺血、缺氧, ATP 被快速消耗, 能量代谢障碍引发一系列级联反应, 引起离子稳态失衡, 大量 Ca^{2+} 流入细胞内, 形成 Ca^{2+} 超载, 细胞膜去极化, 大量兴奋性氨基酸(excitatory amino acids, EAA) 被合成释放, 激活 N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl-D-aspartic acid receptor, NMDA) 受体, 促使 Ca 通道打开, 加重 Ca^{2+} 超载^[6]。 Ca^{2+} 超载与 EAA 的释放相互协同^[7-8], 形成恶性循环。 Ca^{2+} 超载还参与自由基、一氧化氮(nitric oxide, NO) 对脑组织的损伤过程。 Ca^{2+} 超载对脑组织的损伤主要见于, Ca^{2+} 超载可激活各种降解酶, 损伤细胞结构, 破坏神经元骨架, 使核酸解体; 激活一氧化氮合成酶(nitric oxide synthase, NOS), 使 NO 合成增加, 加重脑细胞毒性作用; 生物膜磷脂被降解生成大量自由基和其他降解产物, 自由基可导致膜的脂质过氧化, 其他降解产物可使白细胞聚集和血管痉挛、收缩, 进而形成微血栓, 加重脑缺血; 破坏血脑屏障, 使其通透性增加, 加重脑水肿; 使线粒体氧化磷酸化失偶联, 影响细胞呼吸^[9-11]。以阻断大鼠脑中动脉造成脑缺血的实验模型, 采用 Ca^{2+} 选择性针型塑料电极, 监测胞外 Ca^{2+} 活度^[12], 结果观察到针刺组胞外 Ca^{2+} 浓度下降趋势减弱, 井穴放血可阻止缺血脑细胞 Ca^{2+} 内流, 减轻 Ca^{2+} 超载, 起到神经细胞保护的作用。脑缺血的大鼠在针刺后 8 min 起, 胞外 Ca^{2+} 内流就开始被有效抑制, 至 20 min 时, Ca^{2+} 超载情况已有所缓解^[13]。井穴放血可以抑制缺血后的 Ca^{2+} 超载, 减轻其对脑组织的损伤。井穴放血可降低脑缺血大鼠升高的钙调素(calmodulin, CaM) 的含量, 与 Ca^{2+} 结合复合物, 使去甲肾上腺素、5-羟色胺释放, 引起血管痉挛, 加重脑缺血^[14]。降低细胞内 CaM 浓度可间接保护脑。

2 降低兴奋性氨基酸的毒性作用

脑缺血再灌注时, 大量氧自由基增多、钙离子紊乱, 神经元细胞膜发生快速去极化, 突触前的 EAA (主要是谷氨酸) 合成释放增加, 因能量代谢障碍, ATP 合成不足, EAA 的摄取减少, 导致谷氨酸聚集, 对神经系统造成兴奋毒性作用^[15]。大量的谷氨酸作用于 NMDA 受体, 进而激活了 Ca^{2+} 通道, 加重 Ca^{2+} 损伤^[16]; 谷氨酸与 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸受体结合, 引起 Ca^{2+}

通道开放, 继发水分子内流, 导致脑水肿。过量的谷氨酸还可以激活磷脂酰肌醇信号通路, 改变细胞膜的通透性, 引起细胞毒性水肿, 同时可介导氧自由基的产生, NO 的合成, 加重脑损伤。缺血脑组织的兴奋性氨基酸的浓度上升, 给予刺血后, 兴奋性氨基酸浓度下降趋势比凝组有显著差异; 表明手十二井穴放血可降低 EAA 浓度, 减轻 EAA 对脑组织的兴奋性毒性^[17]。

3 拮抗氧化应激, 减弱自由基损伤

脑组织内富含不饱和脂肪酸, 抗氧化能力弱。当恢复血流和供氧后, 机体内氧自由基产生增多, 不能被超氧化物歧化酶(superoxidedismutase, SOD) 和谷胱甘肽完全消除, 使大量的自由基堆积, 氧化还原平衡被打破, 活性氧簇发生蓄积, 进而产生一系列氧化应激反应, 对脑组织造成严重损伤。自由基损伤主要为过量的氧自由基会降解细胞内大分子物质, 使细胞结构功能受损; 可引起膜的脂质过氧化, 磷脂被降解而变性失能; 使线粒体结构破坏, 呼吸功能及 ATP 的合成障碍, 溶酶体裂解, 细胞发生自溶; 促使基质金属蛋白酶-9 的释放, 损伤内皮基底层细胞, 破坏血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)。自由基还介导炎症反应和细胞凋亡等病理机制。NOS 是 NO 生物合成的关键酶, 不同类型的 NOS 合成的 NO 作用不同, NO 对缺血组织具有保护和损伤双重作用。神经元型、诱导型 NOS 参与脑组织损伤的过程。脑缺血的急性期神经元型 NOS 产生过量的 NO, 以自由基形式对神经细胞产生毒性, 在缺血后期, 诱导性 NOS 活性增强, NO 合成增加, 过量的 NO 可破坏 BBB。NO 与超氧阴离子结合形成亚硝酸盐, 因具有很强的毒性可损伤线粒体膜, 使 DNA 氧化, 最终导致细胞凋亡。

予脑缺血实验大鼠手十二井放血治疗, 可降低脑组织中因缺血而致病理性增高的 NO 浓度, 减轻 NO 对脑组织的神经毒性作用, 缓解脑损伤^[18]。急性脑缺血实验性大鼠每日予井穴放血治疗, 3 d 后测得 NOS 活性明显降低; 说明井穴放血可以降低 NOS 的活性, 进而抑制 NO 的合成, 减轻脑组织神经毒性^[19]。SOD 具有清除自由基、防止过氧化的作用, 是机体内源性抗氧化防御系统的主要酶之一。通过 MCAO 实验大鼠予十二井穴放血后, 观察脑内 SOD 的活性及丙二醛(malonic dialdehyde, MDA) 的含量变化情况^[20], 结果证明井穴放血可能通过增加 SOD 的活性, 提高了机体清除自由基的能力, 降低体内自由基的含量, 减轻自由基对脑细胞的损伤过程。

4 减轻炎症级联损伤

炎症反应是机体遇到坏死组织的一种正常免疫应答,促炎和抗炎反应之间存在着动态平衡,使机体发挥对坏死组织的清除作用。脑组织缺血、缺氧时,能量耗竭,中心坏死区诱导白细胞发生浸润过程^[21],产生大量的炎症介质及炎症细胞因子,如白细胞介素[白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)和白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)]、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等,引发一系列炎症级联反应,缺血再灌注后,进入缺血组织新鲜血液中的中性粒细胞、炎症趋化因子又释放出更多的炎症介质^[22],进一步加重炎症反应;Ca²⁺超载及EAA兴奋性毒性使大量细胞凋亡,激活星形胶质细胞与小胶质细胞释放具有神经毒性促炎介质,破坏血脑屏障,造成脑水肿。

转化生长因子 β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)可拮抗炎症细胞因子的表达,进而减轻炎症反应。针刺十二井穴可促进脑缺血组织神经元和胶质细胞 TGF- β 1 的表达,进而发挥脑保护的功能^[23]。TNF- α 是一种促炎性细胞因子,在脑缺血急性期 TNF- α 的表达异常增加,诱导促进炎症反应和血栓形成。马惠芳等^[24]实验研究证明针刺井穴可有效抑制 TNF- α 的表达,降低 TNF- α 含量,减轻炎症反应带来的脑损伤。石会^[25]发现井穴放血可降低中风患者血清中 TNF- α 及 IL-6 表达水平,证明了井穴放血可减轻中风后炎症反应,有助于临床症状的恢复。

5 抑制神经元细胞凋亡

在脑缺血再灌注中,半暗带区细胞死亡以细胞凋亡为主,韩江全等^[26]总结了3种细胞凋亡的途径,线粒体途径,主要分两方面,其一是破坏呼吸链,使线粒体跨膜电位崩解,呼吸链解耦联,使凋亡诱导因子转出,最终使细胞凋亡;其二是促凋亡因子通过线粒体通透性转换孔被大量释放,诱导细胞凋亡。通过细胞外信号途径介导细胞凋亡。过度的内质网应激反应导致细胞凋亡。脑损伤时大量自由基可激活 TRPM7 通道,引起级联反应,最终也可导致细胞凋亡^[27]。有研究表明脑缺血再灌注后细胞凋亡与自由基有关^[28]。

脑缺血后的炎症反应、氧化应激等因素可破坏端

粒使其缩短^[29],诱导 P53 基因表达,进而激活线粒体凋亡通路,使细胞发生水肿、凋亡^[30]。张旭等^[31]以脑梗死小鼠为实验模型,观察小鼠的端粒长度变化及相关基因表达情况,实验结果表明给予小鼠手十二井穴放血可以延长其端粒长度,进一步升高 TRET、TRF1 和 TRF2 基因表达水平,促进端粒的生物合成,抑制细胞凋亡,减轻脑水肿及神经功能缺损症状。早反应基因 c-fos 与热休克蛋白 HSP70 共同参与缺血后脑损伤的修复与重建过程,对细胞凋亡起决定性的作用。王秀云等^[32]研究发现在急性脑缺血的大鼠脑组织中 c-fos 基因和应激 HSP70 蛋白表达增加,以抵抗细胞凋亡,早期给予井穴放血后缺血区 c-fos 和 HSP70 的表达水平进一步增加,表明尽早给予井穴放血治疗可延缓急性脑缺血大鼠神经细胞的凋亡进程,增强脑保护的作用。

6 对其他方面的影响

有研究^[33-34]发现,井穴放血可减轻脑缺血大鼠的脑水肿损伤,其效果与甘露醇的疗效相当。王艳等^[35]实验研究表明,井穴放血可能通过促进线粒体生物合成,提供了能量供应,减轻脑水肿,改善神经功能损伤,起到脑保护作用。陈宇岑等^[36]发现手十二井放血可降低脑缺血大鼠的血脑屏障的通透性,从而保护了 BBB,减轻脑损伤。张秀花等^[37]实验证明早期给予井穴放血可减小大鼠脑组织梗死体积,缓解神经功能缺损症状。黄雅倩等^[38]观察到井穴放血可增加高原缺氧大鼠血清中低氧诱导因子-1 α 、血管内皮生长因子含量,促进海马组织 Beclin-1、LC3 II 蛋白的表达,进一步证明了对高原缺氧脑损伤的大鼠井穴放血可提高脑组织缺氧耐受能力,具有明显的抗缺氧作用,另一方面激活线粒体自噬,减少自由基损伤,起到脑保护作用。姜小秋等^[39]研究发现给予健康大鼠井穴放血治疗,可以延长大脑的耐缺氧时间,且不同井穴之间具有相对特异性。马岩番等^[40]实验亦表明手十二井穴放血可减缓脑缺血大鼠氧分压下降趋势,抑制了低氧状态发展,起到脑保护作用。

7 讨论

井穴为经脉之气的起始部位,又为阴阳经交接的地方,根据“根结、标本”理论、经络循行,井穴可作为脑部病变治疗的关键穴位,井穴放血可起到祛瘀泻热、通经接气、交通阴阳、醒脑开窍的作用,切中中风

病病机。井穴放血可能是通过改变了局部微循环的血流动力学的原因,产生的剪切力影响内皮细胞功能蛋白的表达,进而影响脑缺血的病理机制^[41-42]。将井穴放血的起效机制归纳为“感、效、传”3个部分^[43]，“感”是井穴接受针刺刺激并将其信号转换的启动过程,相当于西医的“感受器”;“传”是针刺信号的响应和传导,通过躯体神经和交感神经传入;“效”为相关因子及其功能通路的应答。早期研究^[44]发现只有放血、疼痛和腧穴共同作用于机体,才会起到应有的疗效,改变任何一个因素均会减弱其效果,提出手十二井穴放血可简化为井穴放血,且以脑组织病变侧刺络效果好。

总结以上井穴放血对各种病理生理机制的影响,概括其主要是通过缓解脑水肿、修复血脑屏障、抑制细胞凋亡等而起到脑保护的作用。现对于急性脑缺血患者最有效的急救措施是溶栓疗法,但具有明显的时间限制,多数患者入院时已错过时间窗,故临床医生也更多关注后遗症的治疗,对中风初起患者中医急救治疗临床研究甚少,井穴放血从多方面影响其病理环节对缺血性卒中的治疗是多途径、多机制、多疗效的,其操作简单、安全性高,作为中风急救的治疗具有重要的临床研究的价值,下一步希望可以深入开展相关的高质量的研究,为中医急救体系的建立添砖加瓦。

参考文献

- [1] 郭义,周智良,周国平,等. 中风初起的急救措施——手十二井穴刺络放血法的临床与实验研究[J]. 上海针灸杂志, 1997, 16(2): 13-14.
- [2] LIU F, LU J, MANAENKO A, et al. Mitochondria in ischemic stroke: new insight and implications[J]. *Aging Dis*, 2018, 9(5): 924-937.
- [3] 于文明. 中医临床基层适宜技术[M]. 长春: 吉林科学技术出版社, 2008: 36.
- [4] 马岩璠, 郭义, 张艳军, 等. 手十二井穴刺络放血对实验性脑缺血大鼠缺血组织 K^+ 、 Na^+ 浓度影响的动态观察[J]. 中国针灸, 1997, 17(9): 562-564.
- [5] 何树泉, 郭义, 马岩璠, 等. 手十二井穴刺络放血对实验性脑缺血大鼠缺血区 H^+ 浓度影响的实验研究[J]. 针灸临床杂志, 2002, 18(2): 45-47.
- [6] ZHANG Y F, FAN X J, LI X, et al. Ginsenoside Rg1 protects neurons from hypoxic-ischemic injury possibly by inhibiting Ca^{2+} influx through NMDA receptors and L-type voltage-dependent Ca^{2+} channels[J]. *Eur J Pharmacology*, 2008, 586(1): 90-99.
- [7] FISHER M, SCHAEBITZ W. An overview of acute stroke therapy: past, present, and future[J]. *Arch Intern Med*, 2000, 160(21): 3196-3206.
- [8] LO E H, DALKARA T, MOSKOWITZ M A. Mechanisms, challenges and opportunities in stroke[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2003, 4(5): 399-415.
- [9] YANG G Y, SCHIELKE G P, GONG C, et al. Expression of tumor necrosis factor-alpha and intercellular adhesion molecule-1 after focal cerebral ischemia in interleukin-1 beta converting enzyme deficient mice[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1999, 19(10): 1109-1117.
- [10] TYMIANSKI M, TATOR C H. Normal and abnormal calcium homeostasis in neurons: a basis for the pathophysiology of traumatic and ischemic central nervous system injury[J]. *Neurosurgery*, 1996, 38(6): 1176-1195.
- [11] 胡维铭, 王维治. 神经内科主治医师 700 问[M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2000: 424-426, 479.
- [12] 郭义, 胡利民, 张艳军, 等. 手十二井穴刺络放血对实验性脑缺血大鼠缺血区细胞外 Ca^{2+} 浓度影响的动态观察[J]. 针灸临床杂志, 1999, 15(6): 50-52.
- [13] 姚凯, 郭义, 胡利民, 等. 针刺对大鼠脑缺血超早期脑细胞内外游离钙离子浓度的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2005, 12(5): 303-305.
- [14] 马岩璠, 郭义, 王秀云, 等. “手十二井穴”刺络放血对实验性脑缺血大鼠缺血区脑组织钙调素活性影响的实验观察[J]. 针刺研究, 1999, 24(2): 105-107.
- [15] HURTADO O, MORO M A, CÁRDENAS A, et al. Neuroprotection afforded by prior citicoline administration in experimental brain ischemia: effects on glutamate transport[J]. *Neurobiol Dis*, 2005, 18(2): 336-345.
- [16] ARRANZ A M, GOTTLIEB M, PÉREZCERDÁ F, et al. Increased expression of glutamate transporters in subcortical white matter after transient focal cerebral ischemia[J]. *Neurobiol Dis*, 2010, 37(1): 156-165.
- [17] 任秀君, 图娅, 郭义, 等. 手十二井穴刺络放血法对脑缺血大鼠局部兴奋性氨基酸的动态观察[J]. 北京中医药大学学报, 2001, 24(6): 48-51.
- [18] 任秀君, 图娅, 郭义, 等. 手十二井穴刺络放血法对实验

- 性脑缺血组织一氧化氮浓度的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2001, 24(4):51-53.
- [19] 李芳, 黄爱华, 王海琴. 十二井穴点刺放血对急性实验性脑缺血大鼠 NOS 的影响[J]. 河南中医学院学报, 2008, 23(6):26-27.
- [20] 黄碧兰, 余良主, 刘寿仙, 等. “手十二井穴”刺络放血对大鼠局灶性脑缺血后 SOD 活性和 MDA 含量的影响[J]. 咸宁学院学报(医学版), 2005, 19(1):4-6.
- [21] WANG L, DENG S, LU Y, *et al.* Increased inflammation and brain injury after transient focal cerebral ischemia in activating transcription factor 3 knockout mice[J]. *Neuroscience*, 2012, 220:100-108.
- [22] YE X H, WU Y, GUO P P, *et al.* Lipoxin A4 analogue protects brain and reduces inflammation in a rat model of focal cerebral ischemia reperfusion[J]. *Brain Res*, 2010, 1323(8):174-183.
- [23] 郝晋东, 孟宏, 金智秀, 等. “十二井穴”针法对局灶性脑缺血大鼠 TGF- β 1 的时效性影响[J]. 针刺研究, 2003, 28(2):89-93.
- [24] 马惠芳, 图娅, 马文珠, 等. “十二井穴”针法对局灶性脑缺血大鼠脑皮质及血清肿瘤坏死因子- α 含量的影响[J]. 针刺研究, 2006, 31(1):35-37, 42.
- [25] 石会. 循经井穴放血疗法治疗丘脑中风后遗症的临床疗效及其对患者血清 TNF- α 、IL-6 和 IGF-II 水平的影响[J]. 河北中医药学报, 2017, 32(3):39-41.
- [26] 韩江全, 吴俊雄. 脑缺血再灌注损伤机制的研究进展[J]. 内科, 2011, 6(6):523-526.
- [27] NICOTERA P, BANO D. The enemy at the gates. Ca²⁺ entry through TRPM7 channels and anoxic neuronal death[J]. *Cell*, 2003, 115(7):768-770.
- [28] 孙运娟, 孙运芝, 王纪佐. 脑缺血再灌注后脑组织一氧化氮水平变化及其与细胞凋亡的关系[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2001, 8(1):26-28.
- [29] HEHAR H, MYCHASIUK R. The use of telomere length as a predictive biomarker for injury prognosis in juvenile rats following a concussion/mild traumatic brain injury[J]. *Neurobiol Dis*, 2016, 87:11-18.
- [30] SAHIN E, DEPINHO R A. Axis of ageing: telomeres, p53 and mitochondria[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(6):397-404.
- [31] 张旭, 涂悦. 十二井穴放血对脑梗死小鼠脑水肿及端粒生物合成的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2019, 17(18):2754-2756.
- [32] 王秀云, 李积胜, 刘公望, 等. 井穴放血法对急性脑缺血大鼠缺血区脑组织凋亡相关蛋白的影响[J]. 天津中医药, 2004, 21(2):123-125.
- [33] LU X, CHEN Z L, GUO Y, *et al.* Blood-letting punctures at twelve Jing-Well points of the hand can treat cerebral ischemia in a similar manner to mannitol[J]. *Neural Regen Res*, 2013, 8(6):532-539.
- [34] 卢轩. 手十二井穴刺络放血对局灶性脑缺血大鼠血脑屏障通透性影响的初步研究[D]. 天津:天津中医药大学, 2012.
- [35] 王艳, 陈旭义, 涂悦, 等. 井穴刺络放血对脑缺血再灌注小鼠线粒体生物合成的影响[J]. 贵州医科大学学报, 2018, 43(9):1038-1041.
- [36] 陈宇岑, 王振国, 陈泽林. 手十二井穴放血对 pMCAO 大鼠脑组织血脑屏障通透性的影响[J]. 上海针灸杂志, 2016, 35(12):1466-1468.
- [37] 张秀花, 孙世晓, 徐博佳. 井穴点刺出血对局灶性脑缺血大鼠脑梗塞体积影响的基础研究[J]. 针灸临床杂志, 2004, 20(12):47-48.
- [38] 黄雅倩, 李梦馨, 王超, 等. 井穴放血对急性高原缺氧脑损伤大鼠海马线粒体自噬相关蛋白表达的影响[J]. 针刺研究, 2021, 46(4):301-305.
- [39] 姜小秋, 卢轩, 张静莎, 等. 井穴刺络放血对健康小鼠耐缺氧时间的影响[J]. 上海中医药大学学报, 2012, 26(1):56-58.
- [40] 马岩番, 郭义, 张艳军, 等. 手十二井穴刺络放血对实验性脑缺血大鼠缺血区脑组织氧分压影响的动态观察[J]. 上海针灸杂志, 2000, 19(1):40-42.
- [41] 王广军, AYATI M H, 张宇沁. 从微循环角度探讨放血疗法的机理[J]. 陕西中医, 2010, 31(6):709.
- [42] 胡佳, 张本贵, 吴江. 流场压力变化对体外培养内皮细胞合成与表达功能蛋白的影响[J]. 生物医学工程学杂志, 2010, 27(4):795-800.
- [43] 祝秋梅, 余楠楠, 刘宝虎, 等. 井穴刺络放血治疗急性中枢神经损伤的研究进展[J]. 针刺研究, 2019, 44(11):854-857.
- [44] 郭义, 周智梁, 周国平, 等. 手十二井穴刺络放血疗法的临床与实验研究[C]. 中国针灸学会 2009 学术年会论文集, 2009:503-508. 收稿日期 2022-10-07