·针灸经络·

电针激活Nrf2/HO-1通路抗帕金森病模型小鼠氧化应激的机制研究

包小立[1],李媛媛[1],汪 瑶[1],王彦春[2]

(1.湖北中医药大学针灸骨伤学院,湖北 武汉 430065;2.湖北中医药大学中医临床学院,湖北 武汉 430065)

[摘要]目的 观察电针"风府""太冲""足三里"穴对帕金森病(Parkinson's disease,PD)模型小鼠大脑纹状体中酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase,TH)、核因子E2相关因子2(nuclear factor-erythroid 2-related factor 2,Nrf2)、血红素加氧酶-1(heme oxygenase-1,HO-1)水平的影响,探讨电针治疗PD的可能机制。**方法** 将30只小鼠按随机数字表法分为对照组、模型组和电针组,每组10只。模型组、电针组小鼠按照30 mg/kg腹腔注射1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine,MPTP)制备PD小鼠模型。电针组小鼠给予"风府""太冲""足三里"穴电针干预,每日1次,每次30 min,连续干预12 d。其余两组小鼠不予任何干预。采用爬杆实验和悬挂实验观察3组小鼠行为学改变,旷场实验观察小鼠自主运动总路程,免疫组织化学法检测小鼠大脑纹状体中TH表达水平,实时荧光定量PCR法检测小鼠大脑纹状体中Nrf2、超氧化物歧化酶(super oxide dismutase,SOD)、过氧化氢酶(catalase,CAT)、谷胱甘肽过氧化酶(glutathione peroxidase,GSH-Px)mRNA表达水平;蛋白免疫印迹法检测小鼠大脑纹状体中TH、Nrf2、HO-1蛋白表达水平。**结果** 与模型组比较,电针组小鼠爬杆时间和悬挂时间显著缩短($P<0.05$),自主运动总路程显著增加($P<0.05$);小鼠大脑纹状体中TH阳性神经纤维较稠密;TH阳性纤维表达水平,Nrf2、SOD、CAT、GSH-Px mRNA表达水平,TH、Nrf2、HO-1蛋白表达水平均显著升高($P<0.05$)。**结论** 电针小鼠"风府""太冲""足三里"穴能上调大脑纹状体中Nrf2、HO-1表达水平,减轻PD小鼠氧化应激,从而提高纹状体中TH阳性纤维表达,这可能是电针治疗MPTP诱导的PD小鼠行为学障碍的作用机制。

[关键词]帕金森病;Nrf2/HO-1通路;氧化应激;电针

[中图分类号]R742.5 [DOI]10.3969/j.issn.2095-7246.2024.02.009

帕金森病(Parkinson's disease,PD)是全球第二大老年性神经退行性疾病,仅次于阿尔茨海默病,其主要运动症状为静止性震颤、动作迟缓、肌肉僵直和姿势平衡障碍等[1]。PD典型的神经病理特征是黑质纹状体通路多巴胺(dopamine,DA)能神经元变性坏死和嗜酸性路易小体(Lewy bodies,LB)的沉积[2]。PD发病例数逐年增多,在过去的30年里,PD的发病率增加了2.5倍,全球患病人数已达600万例[3],给家庭和社会带来了巨大压力。PD的具体发病机制尚不清楚,因此寻找该病的治疗靶点具有重要意义。氧化应激作为关键因素,在PD的发生和发展中起着关键作用[4],核因子E2相关因子2(nuclear factor-erythroid 2-related factor 2,Nrf2)/血红素加氧酶-1(heme oxygenase-1,HO-1)通路是氧化应激防御的关键途径。临床研究[5-6]表明,电针对PD患者具有显著的治疗作用,能减轻患者的运动症状和非运动症状,改善患者的生活质量。已有研究[7-8]证实,一些神经保护剂可以通过激活Nrf2/HO-1通路,对PD发挥神经保护作用。Nrf2/HO-1通路是改善PD症状的重要通路之一,但电针通过激活Nrf2/HO-1通路改善PD的报道较少。基于此,本实验建立PD小鼠模型,选取"风府""太冲""足三里"穴进行电针干预,以期探讨电针通过Nrf2/HO-1通路改善PD的作用机制,从而为电针治疗PD提供依据。

1 材料

1.1 动物 8周龄SPF级健康雄性C57BL/6小鼠30只,体质量为(18±2)g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司[生产许可证号:SCXK(鄂)2017-0067],饲养于湖北中医药大学实验动物中心SPF级动物房(室温为22~25℃,湿度为45%~50%,12 h交替照明,自然采光,通风良好),小鼠自由饮水摄食。实验过程中对小鼠的处理严格按照科学技术部颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》执行。实验动物伦理审查编号:HUCMS202302006。

基金项目:国家自然科学基金项目(81473788)

作者简介:包小立(1998-),女,硕士研究生

通信作者:王彦春(1971-),男,教授,博士研究生导师,wyanchun@hbtcm.edu.cn

1.2 试剂 1-甲基-4苯基-1,2,3,6-四氢吡啶盐酸盐(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP;批号M132847):上海阿拉丁生化科技有限公司);BCA蛋白浓度测定试剂盒(批号BL521A):Biosharp公司;抗兔二抗(批号GB23303)、抗鼠二抗(批号GB2330301):武汉赛维尔生物科技有限公司;Nrf2(批号NM-010902)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD;批号NM-013671)、过氧化氢酶(catalase,CAT;批号NM-007802)、谷胱甘肽过氧化酶(glutathione peroxidase,GSH-Px;批号008160)引物:武汉博尔夫生物科技有限公司;酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH;批号T55731S)、Nrf2(批号16396-1-AP)、HO-1(批号10701-1-AP)一抗:武汉三鹰生物技术有限公司。

1.3 仪器 Image Lab医学图像定量分析仪器、酶标仪、实时荧光定量PCR仪:美国Bio-Rad;JY92-IIN型超声波细胞破碎仪:宁波新芝生物科技有限公司;x-30r型台式冷冻离心机:美国贝克曼库尔特;HAN-200A型电针仪:南京济生医疗科技有限公司。

2 方法

2.1 动物分组及模型复制 小鼠适应性喂养1周后,经行为学评分确认无自发行为异常后,按照随机数字表法分为对照组、模型组、电针组,每组10只。采用腹腔注射MPTP制备PD小鼠模型[9]。将MPTP溶解在0.9%氯化钠注射液中配制成溶液,模型组、电针组按照30 mg/kg腹腔注射MPTP,每日1次,连续注射7 d。若小鼠出现自洁能力减弱、震颤、弓背、四肢僵硬和活动减弱现象,甚至一侧前肢或后肢瘫痪,体质量明显下降,濒死或死亡状态,提示模型复制成功。在相同条件下,对照组小鼠仅腹腔注射等量0.9%氯化钠注射液。实验过程中如果出现小鼠死亡则予以剔除并及时进行补充。

2.2 干预方法 电针组:电针小鼠“风府”“太冲”“足三里”穴进行治疗,参照《实验动物常用穴位名称与定位》[10]进行穴位选取。MPTP腹腔注射1 h后,将小鼠固定在小鼠固定台上,使用0.25 mm×15 mm一次性针灸针(北京中研太和医疗器械有限公司),于“风府”向下斜刺2 mm,“太冲”直刺1 mm,“足三里”直刺3 mm,SDZ-Ⅱ型电子针疗仪连接针柄,正极接“风府”,负极接“太冲”(双侧“太冲”隔日交替治疗),“足三里”不接电针仪(双侧“足三里”隔日交替治疗),采用连续波,频率2 Hz,电流强度1 mA,以穴位局部出现颤动为佳,每日1次,每次30 min,连续干预12 d。对照组、模型组:每日采用与电针组相同方法抓取、固定相同时间处理小鼠,不予治疗。

2.3 行为学实验

2.3.1 爬杆实验 将长50 cm、直径2 cm的铁杆外包裹防滑纱布,在铁杆顶端放置一个直径为2.5 cm的球作为小鼠的附着点,将底座固定于鼠笼中,鼠笼中覆盖垫料;实验时将小鼠头部朝下,记录小鼠从铁杆顶端爬到杆底所花费的时间。每只小鼠隔10 min测试1次,重复3次,取平均值。

2.3.2 悬挂实验 将一根长30 cm的细绳固定在距离地面约40 cm的位置,绳子下方鼠笼装有垫料,实验时将小鼠前肢悬挂于细绳中点上,分别记录每只小鼠从中点爬行至两端任一终点所需要的时间,每只小鼠重复3次,取平均值。

2.3.3 旷场实验 实验前让小鼠提前适应实验环境,然后将小鼠放在50 cm×50 cm×50 cm的白色箱子中心,用摄像机记录小鼠在箱中的活动情况,每只小鼠运动时间为5 min,记录每组小鼠自主运动总路程,每只小鼠测试结束后,清除实验箱中小鼠的残留物,并用75%乙醇消除气味,避免干扰实验结果。

2.4 实验室观察指标及方法 行为学实验结束后,立即对小鼠使用戊巴比妥钠(40 mg/kg)进行麻醉取材。每组中取4只小鼠用4%多聚甲醛心脏灌注后,断头取脑,放入4%多聚甲醛固定,用于后续免疫组织化学检测;其余6只小鼠于冰上取出新鲜脑组织,依次放入标记好的EP管中,置于-80 ℃冰箱中保存,以备用于实时荧光定量PCR法和蛋白免疫印迹法检测。

2.4.1 免疫组织化学法检测小鼠纹状体中TH阳性神经纤维表达水平 将固定于4%多聚甲醛的小鼠全脑组织进行脱水、透明、浸蜡、包埋、切片和烤片。挑选合适的片子,脱蜡水化后进行抗原修复,室温封闭后滴加浓度为1∶500的TH一抗,湿盒中4 ℃孵育过夜。滴加HRP标记的二抗,室温下孵育30 min,加入现配的DAB显色液,之后进行苏木精复染、脱水透明和封片,显微镜下观察TH阳性神经纤维表达情况并采集图像,用Image J软件计算平均吸光度(optical density,OD)值。

2.4.2 实时荧光定量PCR法检测小鼠纹状体中Nrf2、SOD、CAT、GSH-Px mRNA表达水平 取小鼠纹状体组织25 mg,Trizol法提取组织总RNA,使用微量分光光度计,计算RNA的纯度和浓度,取

2 μL RNA 反转录成 cDNA，将 cDNA 稀释 10 倍后，配制荧光定量 PCR 反应体系：1 μL cDNA、9 μL 正向引物。反应条件：95 ℃、30 s 预变性；60 ℃、30 s 变性，95 ℃ 、15 s 退火/延伸，共 40 个循环，扩增完毕后观察溶解曲线。以 GAPDH 作为内参进行检测，根据 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法计算目的基因相对表达量。引物序列见表 1。

表1 引物序列

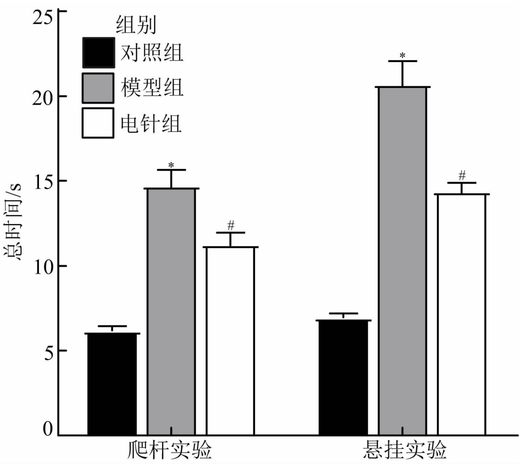
引物	引物序列(5′→3′)	引物长度/bp
Nrf2	上游：CAGCATAGAGCAGGACATGGAG	107
	下游：GAACAGCGGTAGTATCAGCCAG	
SOD	上游：TAACGCGCAGATCATGCAGCTG	133
	下游：AGGCTGAAGAGCGACCTGAGTT	
CAT	上游：AGCAGAACGGAGGCATTGACTC	101
	下游：CCCTCTGCATTTAGCTGCCTTTG	
GSH-Px	上游：CGCTCTTTACCTTCCTGCGGAA	120
	下游：AGTTCCAGGCAATGTCGTTGCG	
GAPDH	上游：ATGGGTGTGAACCACGAGA	229
	下游：CAGGGATGATGTTCTGGGCA	

2.4.3 蛋白免疫印迹法检测小鼠纹状体中 TH、Nrf2、HO-1 蛋白表达水平 取 25 mg 新鲜纹状体组织破碎、裂解，离心 15 min 后取上清。根据 BCA 法测定的蛋白浓度，加入相应的 5×上样缓冲液，95 ℃、10 min 煮沸变性后，进行 SDS-PAGE 电泳，蛋白样品分离后转移至 PVDF 膜；TBST 漂洗后，5%脱脂奶粉封闭 1 h；使 PVDF 膜分别浸泡于 Nrf2(1∶5 000)、TH(1∶1 000)、HO-1(1∶1 000)、β-actin(1∶1 000)一抗液体中，4 ℃孵育过夜。使用 HRP 羊抗鼠(1∶50 000)或羊抗兔(1∶2 000)二抗孵育 1 h，TBST 充分洗涤 PVDF 膜 3 次，每次 5 min；滴加适量 ECL 显影液曝光成像，Image J 软件分析条带结果并计算，定量分析时相对密度采用目的蛋白的灰度值(蛋白含量)/内参灰度值(β-actin 含量)表示。

2.5 统计学方法 采用 GraphPad Prism 8.0 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。多组间均数比较，采用单因素方差分析；组间均数多重比较，采用 LSD 检验(方差齐)或 Dunnett's T_3 检验(方差不齐)。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

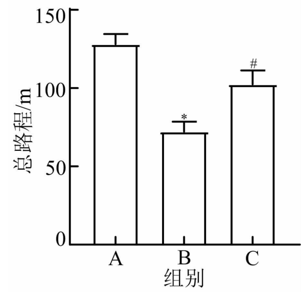
3.1 3组小鼠爬杆实验和悬挂实验结果比较 与对照组比较，模型组小鼠爬杆所需总时间、小鼠从前爪挂上细绳中点到爬行至任一终点所需总时间显著延长($P<0.05$)；与模型组比较，电针组小鼠爬杆所需总时间、小鼠从细绳中点爬行至任一终点所需总时间显著缩短($P<0.05$)。见图1。



注：与对照组比较，* $P<0.05$；与模型组比较，# $P<0.05$

图1 3组小鼠爬杆实验和悬挂实验结果比较($\bar{x}\pm s$，$n=10$)

3.2 3组小鼠旷场实验自主运动总路程比较 与对照组比较，模型组小鼠自主运动总路程显著减少($P<0.05$)；与模型组比较，电针组小鼠自主运动总路程显著增加($P<0.05$)。见图2。



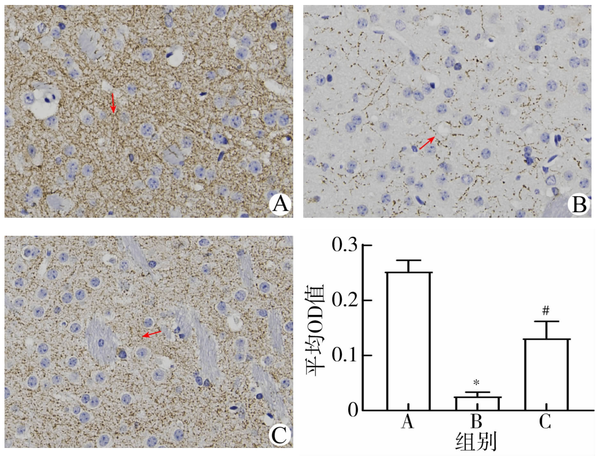
注：A. 对照组；B. 模型组；C. 电针组；* $P<0.05$；与模型组比较，# $P<0.05$

图2 3组小鼠旷场实验自主运动总路程比较($\bar{x}\pm s$，$n=10$)

3.3 3组小鼠大脑纹状体中 TH 阳性神经纤维表达水平比较 对照组小鼠纹状体中大量 TH 阳性神经纤维密集排列；与对照组比较，模型组小鼠纹状体中 TH 阳性神经纤维稀疏，TH 平均 OD 值显著降低($P<0.05$)；与模型组比较，电针组小鼠纹状体中 TH 阳性神经纤维较稠密但仍低于对照组，TH 平均 OD 值显著升高($P<0.05$)。见图3。

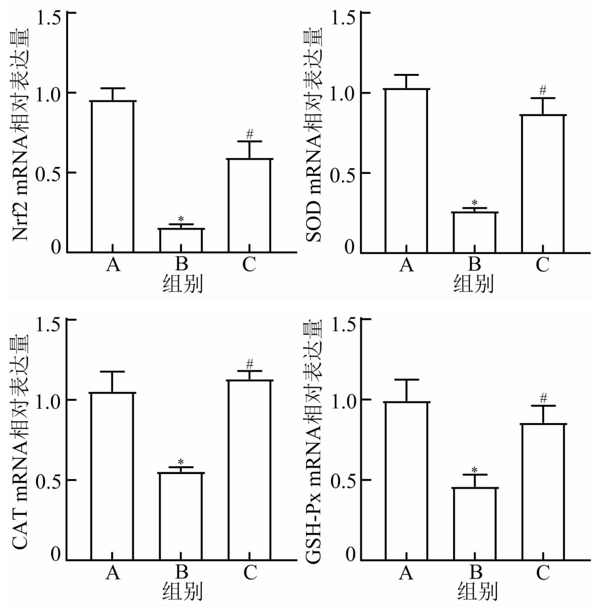
3.4 3组小鼠纹状体中 Nrf2、SOD、CAT、GSH-Px mRNA 表达水平比较 与对照组比较，模型组小鼠纹状体中 Nrf2、SOD、CAT、GSH-Px mRNA 表达水平显著降低($P<0.05$)；与模型组比较，电针组小鼠纹状体中 Nrf2、SOD、CAT、GSH-Px mRNA 表达水平显著升高($P<0.05$)。见图4。

3.5 3组小鼠纹状体中 TH、Nrf2、HO-1 蛋白表达水平比较 与对照组比较，模型组小鼠纹状体中



注：箭头所示为 TH 阳性神经纤维；A. 对照组；B. 模型组；C. 电针组；与对照组比较，* $P<0.05$；与模型组比较，# $P<0.05$

图 3 3 组小鼠纹状体 TH 阳性神经纤维表达水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=4$）



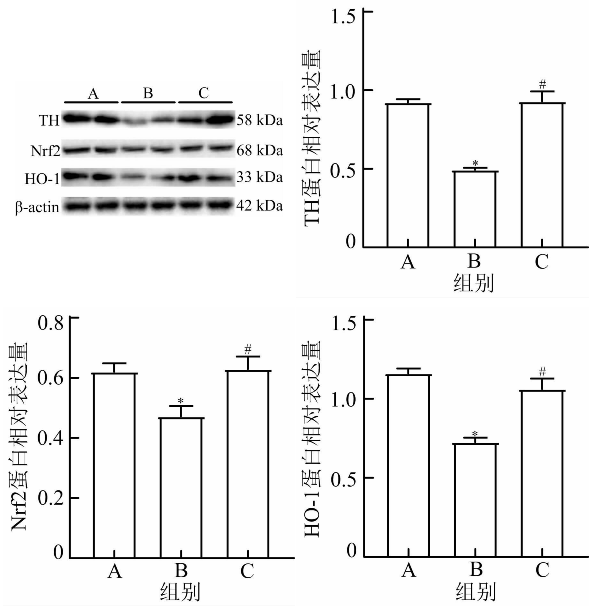
注：A. 对照组；B. 模型组；C. 电针组；与对照组比较，* $P<0.05$；与模型组比较，# $P<0.05$

图 4 3 组小鼠纹状体中 Nrf2、SOD、CAT、GSH-Px mRNA **表达水平比较**（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

TH、Nrf2、HO-1 蛋白表达水平显著降低（$P<0.05$）；与模型组比较，电针组小鼠纹状体中 TH、Nrf2、HO-1 蛋白表达水平显著升高（$P<0.05$）。见图 5。

4 讨论

PD 可归属中医“颤证”范畴。孙一奎在《赤水玄珠》中记载：“非寒禁鼓栗，乃木火上盛，肾阴不充，下虚上实，实为痰火，虚则肾亏。”阐述了 PD 是由于肝肾亏虚、髓海失养导致筋失濡养而引发肝风内动。



注：A. 对照组；B. 模型组；C. 电针组；与对照组比较，* $P<0.05$；与模型组比较，# $P<0.05$

图 5 3 组小鼠纹状体中 TH、Nrf2、HO-1 **蛋白表达水平比较**（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

《素问・至真要大论》曰：“诸风掉眩，皆属于肝。”该病病位在脑，与肝密切相关。治疗宜以通调脑络、滋补肝肾和息风止痉为主要原则。本研究选取的“风府”为督脉经穴，是诸阳之会，与脑密切相关。“太冲”为足厥阴肝经原穴，是脏腑原气留止的部位，与督脉会于头顶。“足三里”为足阳明胃经合穴，胃主受纳腐熟水谷，是后天气血生化之源，化生的气血精微物质能充养脑髓。本课题组前期研究[11]发现，电针“风府”“太冲”“足三里”对治疗 PD 具有较好的疗效。

PD 病理特征是脑黑质致密部 DA 能神经元变性坏死，导致纹状体 DA 减少，引起神经损伤[12]。TH 是 DA 合成的限速酶，常作为 DA 能神经元的特征性标志蛋白，因此 TH 在纹状体中的表达水平间接反映 DA 能神经元的活性[13-14]。本实验结果表明，模型组小鼠大脑纹状体中 TH 阳性神经纤维表达水平显著减少，纹状体病理改变明显。电针干预后，电针组小鼠大脑纹状体中 TH 阳性神经纤维较模型组增多，表明电针“风府”“太冲”“足三里”穴可显著改善 PD 小鼠大脑纹状体中 TH 阳性神经纤维表达，减轻纹状体神经元损伤，保护 DA 能神经元，治疗 PD 小鼠行为学障碍。氧化应激在 PD 的发病中起着关键作用[15-17]，氧化应激的发生是由于酶抗氧化系统功能出现异常而导致的；SOD、CAT 和 GSH-Px 是酶抗氧化防御系统中重要的物质，因此，SOD、CAT、GPH-Px 水平可反映机体氧化应激状

态[18]。研究[19]发现,PD大鼠降低氧化应激水平可以减轻神经元的损伤。本研究结果表明,模型组小鼠大脑纹状体中SOD、CAT、GPH-Px mRNA表达水平降低,提示小鼠大脑组织受到氧化损伤;电针“风府”“太冲”“足三里”穴可提高SOD、CAT、GPH-Px mRNA表达水平,表明针刺能减轻小鼠大脑组织纹状体氧化应激状态从而治疗PD。

Nrf2是调节机体抗氧化应激的重要转录因子,生理状态下与Kelch样ECH关联蛋白1(Kelch-like ECH-associated protein 1,Keap1)结合存在于细胞质中,当发生氧化应激时,Nrf2与Keap1解离,从细胞质转移到细胞核内结合抗氧化反应元件(antioxidant response element,ARE),激活下游HO-1抗氧化基因的表达,从而发挥抗氧化的作用[20-21]。Nrf2/HO-1通路与细胞抗氧化损伤有关。柳雪蕾等[22]研究显示,艾灸能激活Nrf2/ARE通路,增加下游因子HO-1蛋白表达水平,减轻6-羟基多巴胺盐酸盐诱导的模型大鼠大脑纹状体氧化应激损伤,保护DA能神经元。本研究结果表明,电针组小鼠纹状体中Nrf2和HO-1蛋白表达水平较模型组显著升高,提示电针能有效激活Nrf2/HO-1通路,减少氧化应激损伤,保护DA能神经元。

综上所述,电针“风府”“太冲”“足三里”穴可能通过激活Nrf2/HO-1通路改善PD模型小鼠氧化应激。但由于PD发病机制十分复杂,本研究中电针也可能通过其他信号通路共同发挥了治疗作用,因此,电针治疗PD的更为全面的作用机制有待后续研究继续发掘。

参考文献:

[1] CHEN X D,CHEN Y,YANG X,et al. Signaling pathways in Parkinson's disease:molecular mechanisms and therapeutic interventions[J]. Signal Transduct Target Ther,2023,8(1):73.

[2] BLOEM B R,OKUN M S,KLEIN C. Parkinson's disease[J]. Lancet,2021,397(10291):2284-2303.

[3] TOLOSA E,GARRIDO A,SCHOLZ S W,et al. Challenges in the diagnosis of Parkinson's disease[J]. Lancet Neurol,2021,20(5):385-397.

[4] TRIST B G,HARE D J,DOUBLE K L. Oxidative stress in the aging substantia nigra and the etiology of Parkinson's disease[J]. Aging Cell,2019,18(6):e13031.

[5] LU Q,GOUDA N A,QUAN G,et al. Novel cudraisoflavone J derivatives as potent neuroprotective agents for the treatment of Parkinson's disease via the activation of Nrf2/HO-1 signaling[J]. Eur J Med Chem,2022,242:114692.

[6] REHMAN I U,KHAN A,AHMAD R,et al. Neuroprotective effects of nicotinamide against MPTP-induced Parkinson's Disease in mice:impact on oxidative stress, neuroinflammation, Nrf2/HO-1 and TLR4 signaling pathways[J]. Biomedicines,2022,10(11):2929.

[7] 李磊,田壮伟,张欣. 电针联合美多芭治疗帕金森病睡眠障碍临床研究[J]. 新中医,2021,53(1):113-116.

[8] 李昆珊,徐世芬,李璟,等. 电针配合药物治疗帕金森病的临床研究[J]. 上海针灸杂志,2020,39(12):1564-1569.

[9] JACKSON-LEWIS V,PRZEDBORSKI S. Protocol for the MPTP mouse model of Parkinson's disease[J]. Nature Protocols,2007,2(1):141-151.

[10] 中国针灸学会. 实验动物常用穴位名称与定位第3部分:小鼠[J]. 针刺研究,2021,46(5):445-446.

[11] 汪瑶,马骏,王彦春,等. 电针对帕金森病小鼠结肠核转录因子-κB/白细胞介素-6信号通路的调控作用[J]. 针刺研究,2022,47(5):449-454.

[12] BARANYI M,PORCEDDU P F,GÖLÖNCSÉR F,et al. Novel (Hetero) arylalkenyl propargylamine compounds are protective in toxin-induced models of Parkinson's disease[J]. Molecular Neurodegeneration,2016,11:6.

[13] DENNE T,WINFREY L C,MOORE C,et al. Recovery of motor function is associated with rescue of glutamate biomarkers in the striatum and motor cortex following treatment with Mucuna pruriens in a murine model of Parkinsons disease[J]. Mol Cell Neurosci,2023,126:103883.

[14] FLYDAL M I,KRÄKENES T-A,TAI M D S,et al. Levalbuterol lowers the feedback inhibition by dopamine and delays misfolding and aggregation in tyrosine hydroxylase[J]. Biochimie,2021,183:126-132.

[15] DIONÍSIO P A,AMARAL J D,RODRIGUES C M P. Oxidative stress and regulated cell death in Parkinson's disease[J]. Ageing Res Rev,2021,67:101263.

[16] TRIST B G,HARE D J,DOUBLE K L. Oxidative stress in the aging substantia nigra and the etiology of Parkinson's disease[J]. Aging Cell,2019,18(6):e13031.

[17] ABORODE A T,PUSTAKE M,AWUAH W A,et al. Targeting oxidative stress mechanisms to treat Alzheimer's and Parkinson's disease:a critical review[J/OL]. Oxid Med Cell Longev,2022:7934442[2023-12-10]. https://doi.org/10.1155/2022/7934442.

[18] TELEANU D M,NICULESCU A G,LUNGU I I,et

al. An overview of oxidative stress, neuroinflammation, and neurodegenerative diseases[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(11): 5938.

[19] 李静,王丽娜,肖红玲,等.电针对帕金森病大鼠中脑黑质多巴胺能神经元氧化应激损伤的影响[J].针刺研究,2014,39(3):185-191.

[20] SUZEN S, TUCCI P, PROFUMO E, et al. A pivotal role of Nrf2 in neurodegenerative disorders: a new way for therapeutic strategies[J]. Pharmaceuticals (Basel), 2022, 15(6): 692.

[21] YANG X X, YANG R, ZHANG F. Role of Nrf2 in Parkinson's disease: toward new perspectives[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 919233.

[22] 柳雪蕾,芦娟,田叶,等.艾灸激活Nrf2/ARE通路抗帕金森病模型大鼠氧化应激损伤的机制研究[J].中国针灸,2020,40(8):857-862.

(收稿日期:2023-08-12)

Mechanism of Electroacupuncture Against Oxidative Stress in a Mouse Model of Parkinson's Disease by Activating the Nuclear Factor Erythroid 2-related Factor 2/Heme Oxygenase-1 Pathway

BAO Xiaoli[1], LI Yuanyuan[1], WANG Yao[1], WANG Yanchun[2]

(1. College of Acupuncture and Orthopedics, Hubei University of Chinese Medicine, Hubei Wuhan 430065, China; 2. College of Clinical Chinese Medicine, Hubei University of Chinese Medicine, Hubei Wuhan 430065, China)

[**Abstract**]**Objective** To investigate the effect of electroacupuncture at Fengfu, Taichong, and Zusanli points on the levels of tyrosine hydroxylase (TH), nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), and heme oxygenase-1 (HO-1) in the corpus striatum of mice with Parkinson's disease (PD), as well as the possible mechanism of electroacupuncture in the treatment of PD. **Methods** A total of 30 mice were divided into control group, model group, and electroacupuncture group using a random number table, with 10 mice in each group. The mice in the model group and the electroacupuncture group were given intraperitoneal injection of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) at a dose of 30 mg/kg to establish a mouse model of PD, and then the mice in the electroacupuncture group were given electroacupuncture at Fengfu, Taichong, and Zusanli points once a day for 30 minutes each time, for 12 consecutive days, while those in the other two groups were not given any treatment. The pole test and the wire hanging test were used to observe behavioral changes; immunohistochemistry was used to measure the expression of TH in the corpus striatum; quantitative real-time PCR was used to measure the mRNA expression levels of Nrf2, superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GSH-Px) in the corpus striatum; Western blotting was used to measure the protein expression levels of TH, Nrf2, and HO-1 in the corpus striatum. **Results** Compared with the model group, the electroacupuncture group had significant reductions in the time to descend and hanging time ($P<0.05$), a significant increase in the total distance traveled ($P<0.05$), dense TH-positive nerve fibers in the corpus striatum of mice, and significant increases in the expression level of TH-positive fibers, the mRNA expression levels of Nrf2, SOD, CAT, and GSH-Px, and the protein expression levels of TH, Nrf2, and HO-1 ($P<0.05$). **Conclusion** Electroacupuncture at Fengfu, Taichong, and Zusanli points can improve behavioral disturbance induced by MPTP in PD mice by upregulating the expression levels of Nrf2 and HO-1 in the corpus striatum, alleviating oxidative stress in PD mice, and increasing the expression of TH-positive fibers in the corpus striatum.

[**Key words**] Parkinson's disease; Electroacupuncture; Nuclear factor erythroid 2-related factor 2/heme oxygenase-1 pathway; Oxidative stress