

艾灸“关元”对脊髓损伤后尿潴留大鼠脊髓组织线粒体铁代谢的影响

段淑婷¹, 柏承婕¹, 杨淑惠¹, 卢如愿¹, 高 静², 刘承梅²

[¹河南中医药大学护理学院(智慧康养护理行业学院), 郑州 450000; ²河南中医药大学第一附属医院康复中心, 郑州 450000]

【摘要】目的:观察艾灸“关元”对脊髓损伤后尿潴留大鼠尿流动力学及脊髓组织线粒体铁代谢的影响, 探讨艾灸治疗脊髓损伤后尿潴留的部分机制。**方法:**将44只Wistar大鼠随机分成假手术组(12只)和造模组(32只), 造模组采用Allen's打击法构建脊髓损伤后尿潴留模型, 将造模成功的24只大鼠随机分成模型组和艾灸组各12只。艾灸组艾灸“关元”, 每次15 min, 每日1次, 持续14 d。干预结束后, 采用尿流动力学分析仪检测大鼠膀胱最大容量、膀胱漏尿点压力和膀胱顺应性; HE染色法观察大鼠受损节段脊髓组织形态; 普鲁士蓝染色法观察大鼠受损节段脊髓组织铁沉积; 透射电镜观察大鼠脊髓神经元线粒体超微结构; 比色法检测大鼠脊髓线粒体呼吸链复合物Ⅰ酶活性; Western blot法检测大鼠脊髓组织铁蛋白重链1(FTH1)、铁蛋白轻链(FTL)及线粒体中电压依赖性阴离子通道蛋白2(VDAC2)、线粒体铁蛋白(FTMT)、CDGSH含铁硫结构域蛋白1(CISD1)及CDGSH含铁硫结构域蛋白(CISD2)蛋白相对表达水平。**结果:**与假手术组相比, 模型组大鼠膀胱最大容量、膀胱顺应性增高($P<0.01$), 漏尿点压力降低($P<0.01$); 脊髓组织出现大量空泡, 存在大量红细胞浸润和铁沉积; 线粒体形态肿胀, 嵴消失, 伴随部分膜破裂; 线粒体呼吸链复合物Ⅰ酶活性下降($P<0.01$); 脊髓组织FTH1、FTL及线粒体FTMT、CISD1、CISD2蛋白表达降低($P<0.01$), 线粒体VDAC2蛋白表达升高($P<0.01$)。与模型组相比, 艾灸组大鼠膀胱最大容量、膀胱顺应性下降($P<0.05$), 漏尿点压力增高($P<0.05$); 脊髓组织相对正常, 红细胞浸润减少, 铁沉积减少; 线粒体形态较完整, 正常线粒体增多; 线粒体呼吸链复合物Ⅰ酶活性升高($P<0.05$); 脊髓组织FTH1、FTL及线粒体FTMT、CISD1、CISD2蛋白表达升高($P<0.05$, $P<0.01$), 线粒体VDAC2蛋白表达降低($P<0.05$)。**结论:**艾灸“关元”可以改善脊髓损伤后尿潴留大鼠膀胱功能, 其作用机制可能与调节脊髓组织线粒体铁代谢, 修复损伤脊髓, 促进排尿反射有关。

【关键词】 艾灸; 脊髓损伤; 尿潴留; 线粒体铁代谢

Effect of moxibustion at “Guanyuan” (CV4) on mitochondrial iron metabolism in spinal cord tissue of rats with urinary retention after spinal cord injury

Duan Shuting¹, Bai Chengjie¹, Yang Shuhui¹, Lu Ruyuan¹, Gao Jing², Liu Chengmei² (¹School of Nursing [School of Smart Health and Nursing Industry]), Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China; ²Rehabilitation Center, The First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000)

【ABSTRACT】 Objective To observe the effect of moxibustion at “Guanyuan” (CV4) on urodynamics and mitochondrial iron metabolism in spinal cord tissue of rats with urinary retention after spinal cord injury (SCI), investigate the mechanism of moxibustion in treating urinary retention after spinal cord injury. **Methods** Forty-four Wistar rats were randomly divided into a sham operation group ($n=12$) and a modeling group ($n=32$). The urinary retention model after SCI was established using Allen's impact method in the modeling group. Twenty-four successfully modeled rats

[DOI] 10.13702/j.1000-0607.20251082

引用格式: 段淑婷, 柏承婕, 杨淑惠, 等. 艾灸“关元”对脊髓损伤后尿潴留大鼠脊髓组织线粒体铁代谢的影响[J]. 针刺研究, 2026, 51(11): 1522-1530.

项目来源: 国家自然科学基金项目(No.82474613); 河南省中医药科学研究专项(No.2023ZXZX1037); 2023年度河南省中医学“双一流”创建科学研究专项(No.HSRP-DFCTCM-2023-2-22);

通信作者: 刘承梅, E-mail: lcm0428@163.com

were then randomly divided into a model group ($n=12$) and a moxibustion group ($n=12$). Rats in the moxibustion group received moxibustion at CV4 for 15 min once daily for 14 consecutive days. After the intervention, urodynamic parameters including bladder maximum capacity, bladder leak point pressure, and bladder compliance were measured. HE staining was used to observe the morphology of the injured spinal cord segment. The ultrastructure of spinal cord neuronal mitochondria was observed by transmission electron microscopy (TEM). Iron deposition in the injured spinal cord segment was detected by Prussian blue staining. The activity of mitochondrial respiratory complex I in spinal cord tissue was measured by colorimetric assay. Western blot was used to detect the relative protein expression levels of ferritin heavy chain 1 (FTH1), ferritin light chain (FTL), voltage-dependent anion channel 2 (VDAC2), mitochondrial ferritin (FTMT), CDGSH iron-sulfur domain-containing protein 1 (CISD1), and CDGSH iron-sulfur domain-containing protein 2 (CISD2) in spinal cord tissue and mitochondria. **Results** Compared with the sham operation group, the model group exhibited significantly increased bladder maximum capacity and bladder compliance ($P<0.01$), and decreased leak point pressure ($P<0.01$). Histologically, the spinal cord tissue displayed extensive vacuolization, severe erythrocyte infiltration, and significant iron deposition. TEM revealed swollen mitochondria with vanished cristae and partial membrane rupture. Moreover, the activity of mitochondrial respiratory complex I was significantly reduced ($P<0.01$). Protein expressions of FTH1 and FTL, as well as mitochondrial FTMT, CISD1, and CISD2, were significantly down-regulated ($P<0.01$), whereas VDAC2 expression was significantly up-regulated ($P<0.01$). Compared with the model group, the moxibustion group showed decreased bladder maximum capacity and bladder compliance ($P<0.05$), and increased leak point pressure ($P<0.05$). The histopathological damage was notably alleviated, with reduced erythrocyte infiltration and iron deposition. Mitochondrial morphology was largely intact, with an increased number of normal mitochondria. The activity of mitochondrial respiratory complex I was significantly elevated ($P<0.05$). Furthermore, the protein expressions of FTH1, FTL, FTMT, CISD1, and CISD2 were significantly up-regulated ($P<0.05$, $P<0.01$), while VDAC2 was significantly down-regulated ($P<0.05$). **Conclusion** Moxibustion at CV4 can improve bladder function in rats with urinary retention after SCI. The mechanism may be related to its function in regulating mitochondrial iron metabolism in spinal cord tissue, thereby repairing the injured spinal cord and promoting the micturition reflex.

【KEYWORDS】 Moxibustion; Spinal cord injury; Urinary retention; Mitochondrial iron metabolism

脊髓损伤是一种主要由外伤引起的神经系统创伤,通常会导致损伤部位下方支配的运动、感觉及自主神经功能部分或完全丧失^[1],全球每年新发患者数约为90万人,并呈逐年上升趋势^[2-3]。脊髓作为控制储尿和排尿的初级神经中枢参与排尿反射^[4],脊髓受损后,排尿反射神经传导异常,导致排尿反射消失,膀胱功能障碍,从而产生尿潴留^[5],其以膀胱胀满、排尿不畅等为特点,易继发尿路感染、肾积水甚至肾衰竭,给脊髓损伤患者的日常生活带来极大的不便,严重降低患者的生活质量并增加社会医疗负担^[6-7]。因此,如何修复受损脊髓组织,重建排尿反射,从而改善膀胱功能,是治疗脊髓损伤后尿潴留的根本策略与难点。

本团队前期研究^[8-9]结果显示,艾灸可改善脊髓损伤后尿潴留患者的膀胱功能障碍,降低感染风险,但具体机制尚未明确。线粒体作为人体细胞内的能量工厂,在三磷酸腺苷产生、氧化应激、细胞凋亡、离子稳态中起着至关重要的作用^[10],线粒体功能障碍也被认为是脊髓损伤病理改变中的重要环

节^[11]。研究^[12]表明,铁代谢与脊髓损伤密切相关,而线粒体作为细胞内铁代谢的重要场所,是铁代谢、利用和积累的主要枢纽^[13-14]。因此本研究将在前期研究基础上以线粒体铁代谢为切入点,探讨艾灸“关元”对脊髓损伤后尿潴留大鼠脊髓组织线粒体铁稳态及膀胱功能的影响,为艾灸改善该疾病提供部分科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

8周龄 SPF 级 Wistar 雌性大鼠 44 只,体质量(240 ± 20)g,购自山东朋悦实验动物科技有限公司[生产许可证号:SCXK(鲁)2022-0006],饲养于河南中医药大学动物实验中心[使用许可证号:SYXK(豫)2021-0015],室温 24~26℃,相对湿度 50%~60%,12h/12h 明暗交替,自由摄食饮水,噪声<60 dB。适应性喂养 1 周后,采用随机数字表法随机抽取 12 只作为假手术组,剩余 32 只作为造模组进行造模,其中 3 只造模失败,5 只术后感染死亡。将造模成功的大鼠随机分为模型组(12 只)和艾灸组

(12只)。本实验通过河南中医药大学动物伦理审查委员会批准(批准编号:IACUC-202412014),并严格遵守动物伦理规定进行实验。

1.2 主要试剂与仪器

戊巴比妥钠(上海氟德),硫酸庆大霉素(河南华畜),4%多聚甲醛固定液、Gluta固定液、HE染色试剂盒、普鲁士蓝染色试剂盒、PAGE凝胶试剂盒(武汉赛维尔),线粒体呼吸链复合物I比色法测试盒(武汉Elabscience),组织线粒体提取试剂盒(上海碧云天),BCA蛋白定量试剂盒(北京索莱宝),铁蛋白重链1(FTH1)一抗(武汉Abclonal),铁蛋白轻链(FTL)一抗(美国Affinity),线粒体铁蛋白(FTMT)一抗(武汉云克隆),电压依赖性阴离子通道蛋白2(VDAC2)一抗、CDGSH含铁硫结构域蛋白1(CISD1)一抗、CDGSH含铁硫结构域蛋白2(CISD2)一抗、 β -actin一抗、山羊抗兔IgG二抗、ECL显色液(武汉三鹰)。

精密打击仪68099(深圳瑞沃德),尿流动力学分析仪(成都维信),低温高速离心机(上海卢湘仪),酶标仪(美国赛默飞),冰冻研磨仪、垂直电泳仪、转膜仪(武汉赛维尔),凝胶成像系统(法国VILBER),脱水机、切片机(深圳达科为),漂片机(常州瑞斯星),光学生物显微镜(日本尼康),透射电子显微镜(日本Hitachi),艾条(25g,直径为1cm,河南绿禾)。

1.3 造模方法

采用Allen's打击法构建脊髓损伤模型^[15]。造模前大鼠禁食12h,不禁水,采用3%戊巴比妥钠(30mg/kg)腹腔注射麻醉,随后将大鼠俯卧位固定于操作台上,以腰(L)2棘突为中心^[16]进行备皮、消毒,纵向逐层分离皮肤、筋膜、肌肉,直至暴露出椎板,用咬骨钳咬除L2节段椎板,暴露脊髓。用打击器打击脊髓,参数调整为:速度1.2m/s,深度4mm,停留时间5s。撞击成功可见大鼠尾部痉挛样摆动,撞击部位脊髓充血水肿。术后逐层缝合伤口,大鼠清醒后表现为双后肢由前肢带动呈拖行状态,提示脊髓损伤造模成功^[17];脊髓休克期(5d)后造模组大鼠下腹部仍可触及充盈膀胱,不能自主排尿,且结合尿流动力学分析显示,与假手术组比较其膀胱漏尿点压力降低、膀胱最大容量增加、膀胱顺应性增加,提示尿潴留模型制备成功^[17-18]。每日人工挤压膀胱排尿2次并用碘伏棉球消毒外阴及双下肢,直至取材。假手术组不进行打击,仅暴露脊髓10min后进行缝合。术后各组大鼠均每日腹腔注射硫酸庆大

霉素4000U,连续3d,以预防术后感染。

1.4 干预方法

脊髓休克期后开始治疗。艾灸组艾灸“关元”,参照文献^[19]进行定位。将大鼠仰卧位固定,施灸过程中调整艾条燃着端与穴区的距离,以大鼠皮肤温热为宜。艾灸后局部皮肤发红,无发泡。每次15min,每日1次,持续14d。假手术组和模型组给予与艾灸组同时时间段的抓握与辅助排尿,不进行其他治疗。

1.5 观察指标及检测方法

尿流动力学分析仪检测各组大鼠膀胱功能:在脊髓休克期后和干预结束后进行检测。用三通管将牵引灌注控制器、F3导尿管和尿流动力学分析仪连接,排空管内空气,确保压力正常,检测前排空大鼠膀胱。大鼠用3%戊巴比妥钠(30mg/kg)腹腔注射进行麻醉,仰卧位固定,碘伏棉球消毒会阴部,将导尿管用石蜡棉球润滑后缓慢插入尿道,有落空感提示进入膀胱。灌注速率设置为1mL/min恒速灌注0.9%氯化钠溶液,观察尿道口,直至有液体漏出,停止灌注。此时得到的灌注溶液容量即为膀胱最大容量(mL),显示压力即为膀胱漏尿点压力(cmH_2O , $1\text{cmH}_2\text{O} \approx 0.098\text{kPa}$)。膀胱顺应性=膀胱最大容量(mL)/膀胱漏尿点压力(cmH_2O)。

HE染色法观察受损节段脊髓组织形态:干预结束后,每组取3只大鼠腹腔注射3%戊巴比妥钠(30mg/kg)麻醉后用4%多聚甲醛经心脏灌注,取以打击点为中心上下5mm脊髓节段,置于4%多聚甲醛固定管中固定48h后脱水,石蜡包埋、切片(厚度5 μm)。将切片放入二甲苯中脱蜡2次,梯度乙醇(100%、95%、85%、75%)复水,苏木精-伊红染色,梯度乙醇再次脱水、二甲苯透明,中性树胶封片,于光学显微镜下观察脊髓组织形态变化。

普鲁士蓝染色观察受损节段脊髓组织铁沉积:石蜡切片常规脱蜡、水化后,放入2%亚铁氰化钾和2%盐酸等比例混合液中染色30min,蒸馏水洗涤2次,DAB显色液滴染5~10min,显微镜下控制显色程度,用PBS溶液浸洗1次,蒸馏水洗3次,苏木精染色1min,自来水洗,盐酸水溶液分化,自来水洗,氨水返蓝,自来水洗,切片用梯度乙醇脱水、二甲苯透明,中性树胶封片。于光学显微镜下观察褐色铁沉积变化。

透射电镜观察受损节段脊髓组织线粒体超微结构:干预结束后,每组随机取3只大鼠,腹腔注射3%戊巴比妥钠(30mg/kg)麻醉后立即以损伤区为

中心将脊髓切成 $1\text{ mm} \times 1\text{ mm} \times 1\text{ mm}$ 的小块,修整规整后置于 2% 戊二醛 ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$) 固定过夜, PBS 漂洗 $15\text{ min} \times 3$ 次。1% 锇酸后固定 2 h 后脱水, 80 nm 超薄切片, 醋酸铀-柠檬酸铅双染色, 于透射电镜下观察受损脊髓组织神经元及线粒体变化。

比色法检测脊髓组织中的线粒体呼吸链复合物 I 酶活性: 取每组 3 只大鼠受损节段脊髓组织 0.1 g, 加入 0.9 mL 提取液 A 和 0.01 mL 试剂三后匀浆, $600 \times g$ 低温离心 5 min, 弃沉淀取上清。上清液 $15\,000 \times g$ 低温离心 10 min, 弃上清取沉淀。沉淀加入 200 μL 试剂二与 2 μL 试剂三混匀, 超声 1 min。 $15\,000 \times g$ 低温离心 10 min, 弃沉淀取上清待测, 按照说明书步骤加样, 酶标仪于 340 nm 波长处测定对照孔和测定孔的吸光度值, 3 min 后测定对照孔和测定孔的吸光度值, 计算组织样本中线粒体呼吸链复合物 I 酶活性。

Western blot 法检测脊髓组织中 FTH1、FTL 及线粒体中 VDAC2、FTMT、CISD1、CISD2 蛋白相对表达: 每组取 3 只大鼠脊髓组织 100 mg, 加入 1 000 μL RIPA 裂解液和 10 μL 蛋白酶抑制剂, 组织研磨后离心取上清, 采用 BCA 法测量组织总蛋白浓度。 每组取 3 只大鼠新鲜脊髓组织 100 mg, PBS 冲洗 1 次, 加入 1 000 μL 线粒体分离试剂一进行匀浆后离心, 去除上清, 沉淀即为线粒体, 随后加入 150 μL 添加蛋白酶抑制剂的线粒体裂解液裂解线粒体, 裂解后的线粒体蛋白样品即可用于检测。使用 SDS-PAGE 凝胶电泳, 溴酚蓝达到分离胶底时结束, 根据蛋白分子量裁胶, 转膜, 5% 脱脂奶粉封闭 2 h, $1 \times \text{TBST}$ 漂洗 $6\text{ min} \times 5$ 次, 分别放入一抗 FTH1 (1: 2 000)、FTL (1: 1 000)、VDAC2 (1: 4 000)、

FTMT (1: 1 000)、CISD1 (1: 5 000)、CISD2 (1: 5 000) 和 $\beta\text{-actin}$ (1: 10 000), $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱过夜孵育, 次日 $1 \times \text{TBST}$ 漂洗 $6\text{ min} \times 5$ 次, 放入二抗 (1: 10 000) 室温摇床 1 h, $1 \times \text{TBST}$ 漂洗 $6\text{ min} \times 5$ 次, ECL 显色液显影, Image J 软件分析各条带灰度值, 以 $\beta\text{-actin}$ 为内参蛋白, 将目的蛋白与内参蛋白条带灰度值的比值作为目的蛋白相对表达量。

1.6 统计学分析

采用 SPSS25.0 软件进行数据分析, Image J 软件对图片进行分析, GraphPad Prism10 软件绘图。符合正态分布的计量资料, 用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较用单因素方差分析, 进一步两两比较, 方差齐采用 LSD 检验, 方差不齐用 Dunnett's t 检验。以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义的标准。

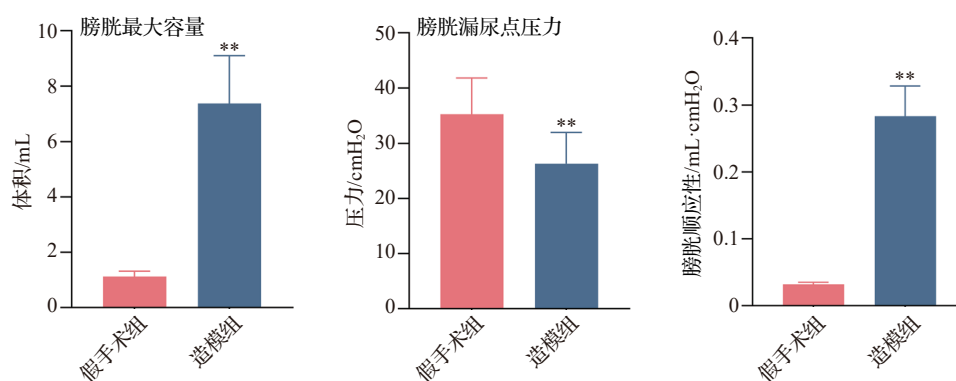
2 结果

2.1 各组大鼠造模后一般情况比较

假手术组 12 只大鼠生命体征平稳, 膀胱功能正常。造模组 32 只大鼠中 3 只造模不成功, 5 只大鼠死于术后感染。造模后初期, 大鼠出现体质量下降、血尿、肠梗阻等, 每日手法排尿 2 次, 脊髓休克期后大鼠生命体征基本平稳, 经尿流动力学检测评估, 有 24 只大鼠造模成功。与假手术组比较, 造模组大鼠膀胱最大容量和膀胱顺应性升高 ($P < 0.01$), 膀胱漏尿点压力降低 ($P < 0.01$)。见图 1。

2.2 各组大鼠尿流动力学比较

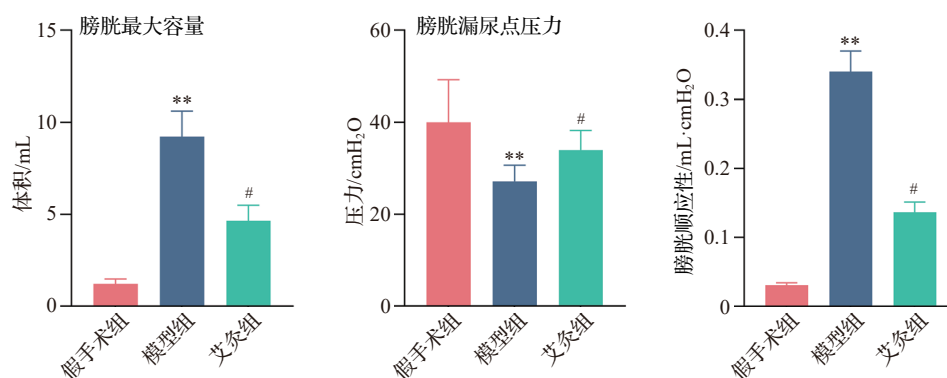
治疗后, 与假手术组相比, 模型组大鼠膀胱最大容量、膀胱顺应性增高 ($P < 0.01$), 膀胱漏尿点压力降低 ($P < 0.01$)。与模型组相比, 艾灸组膀胱最大容量、膀胱顺应性降低 ($P < 0.05$), 膀胱漏尿点压力增高 ($P < 0.05$)。见图 2。



注: $1\text{ cmH}_2\text{O} \approx 0.098\text{ kPa}$ 。与假手术组相比, ** $P < 0.01$

图1 假手术组与造模组大鼠膀胱最大容量、膀胱漏尿点压力及膀胱顺应性比较 ($\bar{x} \pm s$, 假手术组 12 只大鼠, 造模组 24 只大鼠)

Fig. 1 Comparison of maximum bladder capacity, bladder pressure at the leak point, and bladder compliance between sham operation and modeling groups ($\bar{x} \pm s$, 12 rats in the sham operation group, 24 rats in the modeling group)



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

图2 各组大鼠膀胱最大容量、膀胱漏尿点压力及膀胱顺应性比较($\bar{x}\pm s$,12只鼠/组)

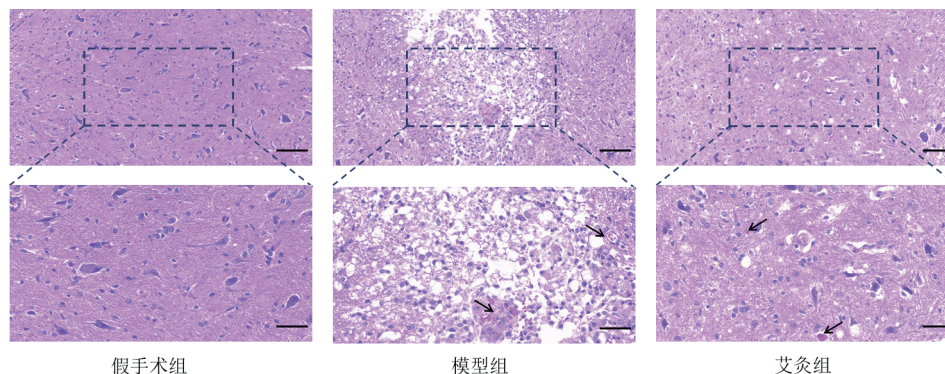
Fig. 2 Comparison of maximum bladder capacity, bladder pressure at voiding threshold, and bladder compliance of rats in the three groups ($\bar{x}\pm s$,12 rats/group)

2.3 各组大鼠脊髓组织形态学比较

假手术组大鼠脊髓组织结构完整致密,神经元形态饱满,细胞核呈圆形,多位于胞体中央,未见明显空泡、形变等。模型组大鼠脊髓神经元皱缩,组织结构疏松,出现大量空洞,并可见红细胞、炎性细胞浸润。与模型组相比,艾灸组可见空洞减少,神经元形态完整,红细胞浸润减少。见图3。

2.4 各组大鼠脊髓神经元线粒体超微结构比较

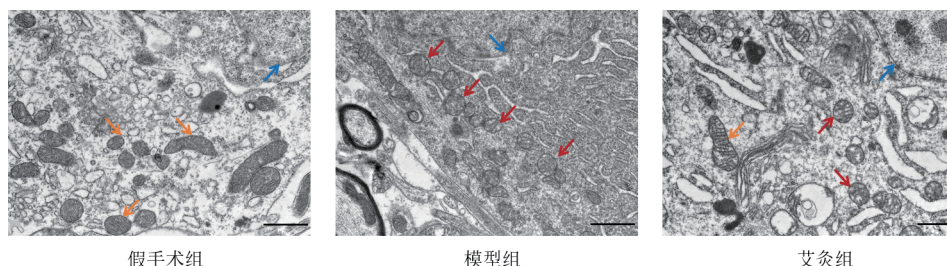
假手术组大鼠脊髓神经元线粒体结构完整,呈椭圆形,双层膜结构明显,嵴清晰。模型组线粒体结构紊乱,线粒体固缩,膜破裂,出现基质肿胀伴随嵴消失。与模型组相比,艾灸组线粒体形态完整,线粒体膜和嵴多未破裂,正常线粒体增多。见图4。



注:上排标尺=100 μm ,下排标尺=50 μm ,下排图片为上排图片框选处放大图。黑色箭头示红细胞浸润。

图3 各组大鼠脊髓组织形态的比较(HE染色)

Fig. 3 Morphological comparison of spinal cord tissues of rats in the 3 groups (HE staining)



注:标尺=1 μm 。蓝色箭头示核膜,橙色箭头示正常线粒体,红色箭头示受损线粒体。

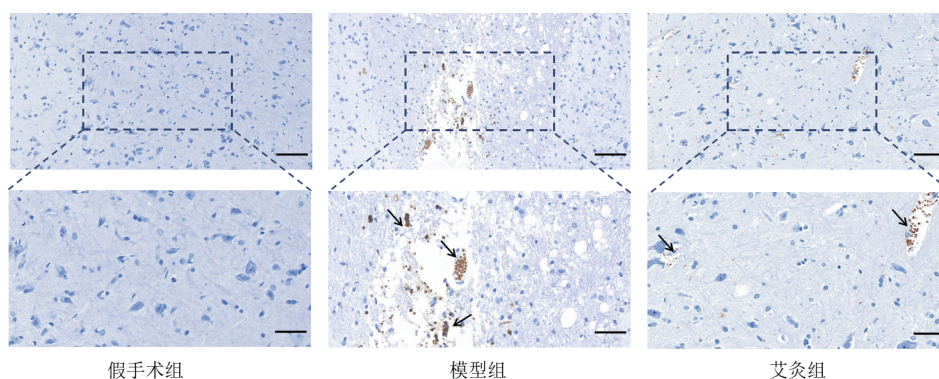
图4 各组大鼠脊髓神经元线粒体超微结构的比较(透射电镜)

Fig. 4 Comparative analysis of mitochondrial ultrastructure in spinal neurons of rats in the 3 groups (transmission electron microscopy)

2.5 各组大鼠脊髓组织铁沉积情况比较

假手术组大鼠脊髓组织几乎没有铁沉积,未见明显棕色沉积,表明正常情况下,脊髓组织铁离子

水平较低。模型组中,可见大量棕色沉积,表明脊髓损伤后铁离子沉积明显增加。与模型组比较,艾灸组中铁离子沉积减少。见图5。



注:上排标尺=100 μm ,下排标尺=50 μm ,下排图片为上排图片框选处放大图。黑色箭头示铁离子沉积。

图5 各组大鼠脊髓组织铁离子沉积的比较(普鲁士蓝染色)

Fig. 5 Comparison of iron ion deposition in the spinal cord tissues of rats in the 3 groups (Prussian blue staining)

2.6 各组大鼠脊髓组织线粒体呼吸链复合物 I 酶活性比较

与假手术组相比,模型组线粒体呼吸链复合物 I 酶活性下降($P<0.01$);与模型组相比,艾灸组线粒体呼吸链复合物 I 酶活性升高($P<0.05$)。见图6。

2.7 各组大鼠脊髓组织 FTH1、FTL 和线粒体 VDAC2、FTMT、CISD1、CISD2 蛋白相对表达量比较

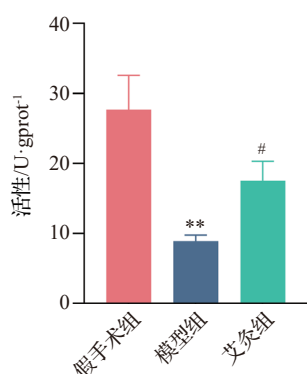
与假手术组相比,模型组脊髓组织 FTH1、FTL 及线粒体 FTMT、CISD1、CISD2 蛋白表达降低($P<0.01$),线粒体 VDAC2 蛋白表达升高($P<$

0.01);与模型组相比,艾灸组脊髓组织 FTH1、FTL 及线粒体 FTMT、CISD1、CISD2 蛋白表达升高($P<0.05, P<0.01$),线粒体 VDAC2 蛋白表达降低($P<0.05$)。见图7。

3 讨论

脊髓损伤后尿潴留在中医学上属于“癃闭”范畴,其病位在膀胱,病机为督脉受损、气滞血瘀以致膀胱、三焦气化不利,肾阳亏虚、二便失司。临床以温阳补气、通利小便为治疗原则。艾灸,古称灸焫,具有温热、温通及温补等作用。临床研究^[9,20-21]也证实艾灸可减少患者膀胱残余尿量、改善膀胱顺应性,且安全有效。关元属任脉穴位,是人体元阴元阳关藏之所,为强壮要穴,独具固本培元、助阳化气、补益下焦之功,是治疗该疾病的要穴。因此,本实验在前期研究基础上选取艾灸“关元”。

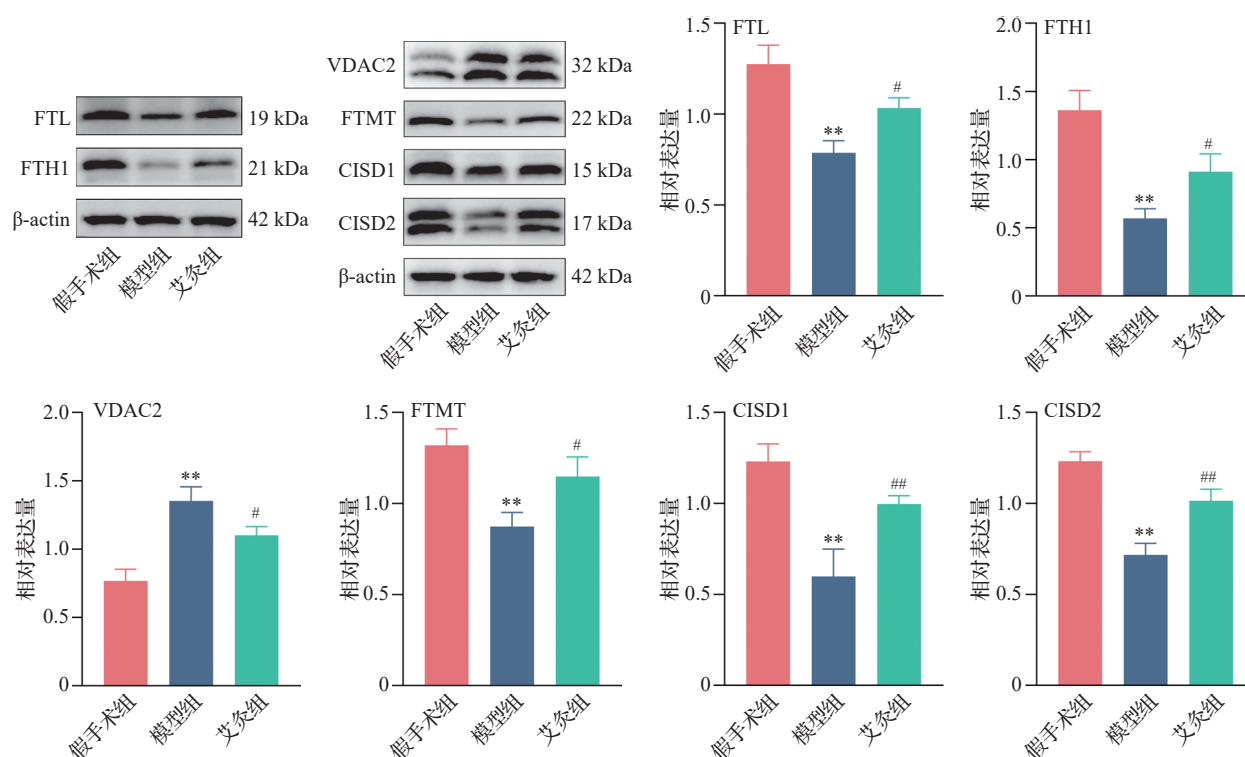
研究^[22]表明排尿过程主要来自腰骶部脊髓的副交感神经(对应大鼠的 L2~L3 节段)调控逼尿肌收缩、尿道内括约肌松弛完成,而脊髓损伤后自主控制和协调膀胱及括约肌功能的正常反射途径被破坏,导致膀胱无反射和尿潴留^[23]。实验研究^[24]也表明,脊髓损伤后膀胱功能的恢复依赖于外周和中枢神经系统反射通路的重组。因此本研究采用 Allen's 打击法打击大鼠 L2~L3 节段建立脊髓损伤后尿潴留模型。造模后,大鼠膀胱充盈,无自主排尿,尿流动力学显示模型组大鼠膀胱最大容量、膀胱顺应性升高,漏尿点压力降低;HE 染色显示模型组脊髓组织神经元形态紊乱,有大量空泡及红细胞



注:与假手术组相比,** $P<0.01$;与模型组相比,# $P<0.05$

图6 各组大鼠脊髓组织线粒体呼吸链复合物 I 酶活性的比较($\bar{x}\pm s$,3只鼠/组)

Fig. 6 Comparison of mitochondrial respiratory complex I enzyme activity in spinal cord tissues of rats in the 3 groups ($\bar{x}\pm s$, 3 rats/group)



注:FTL为铁蛋白轻链,FTH1为铁蛋白重链1,VDAC2为电压依赖性阴离子通道蛋白2,FTMT为线粒体铁蛋白,Cisd1为CDGSH含铁硫结构域蛋白1,Cisd2为CDGSH含铁硫结构域蛋白2。与假手术组相比,** $P<0.01$;与模型组相比,* $P<0.05$, $^{##}P<0.01$ 。

图7 各组大鼠脊髓组织FTH1、FTL及线粒体VDAC2、FTMT、Cisd1、Cisd2蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s$,3只鼠/组)
Fig. 7 Comparison of protein expression levels of FTH1, FTL in the spinal cord tissues and mitochondrial VDAC2, FTMT, Cisd1, and Cisd2 of rats in the 3 groups ($\bar{x}\pm s$,3 rats/group)

浸润,与既往研究^[25]结果一致,提示造模成功。经干预后,艾灸组大鼠脊髓组织空泡减少,形态相对完整;且尿流动力学显示膀胱最大容量、膀胱顺应性降低,漏尿点压力升高,提示艾灸“关元”可有效减轻脊髓损伤后尿潴留大鼠脊髓组织神经元损伤,改善膀胱功能。

铁作为必需微量元素,其稳态对于维持广泛的细胞功能至关重要^[26]。位于血浆中的铁可与转铁蛋白结合形成转铁蛋白结合铁,再通过细胞表面的转铁蛋白受体经过内吞的方式进入细胞被还原成二价铁,随后通过二价金属离子转运体1转运至细胞质,其中一部分会以铁蛋白的形式存储,以达到细胞铁稳态^[14,27-28]。既往研究^[29]提示脊髓损伤后会发​​生铁代谢紊乱,受损组织存在大量铁沉积,FTH1、FTL含量降低,使得脊髓神经元结构和功能受损。而线粒体作为细胞铁代谢的中心细胞器,各种铁代谢通路紊乱严重影响线粒体功能导致各种疾病^[30]。铁离子通过位于线粒体外膜上的VDAC2,进入线粒体内^[31],参与Fe-S簇和血红素合成,还有一部分以线粒体铁蛋白的形式储存,以维持铁平衡^[13]。

Cisd1、Cisd2和线粒体呼吸链复合物I是细胞内常见的铁硫簇蛋白,其含量高低与线粒体铁稳态密切相关。研究^[32]结果显示,脊髓损伤后Cisd2表达降低,并且敲低Cisd2可诱导氧化应激、铁代谢紊乱,并且也有研究表明胞内铁积累诱发芬顿反应后会并发线粒体呼吸链复合物I功能障碍^[33]。而线粒体铁蛋白作为线粒体内的储铁蛋白,能通过调控细胞氧化应激、细胞胞质铁的平衡,进而影响线粒体铁含量,其水平高低是反映组织线粒体铁稳态的常用指标^[34]。本研究结果显示,模型组大鼠脊髓组织形态紊乱伴大量铁离子沉积,线粒体固缩、基质肿胀、嵴断裂并且FTH1、FTL、FTMT、Cisd1及Cisd2蛋白表达减少,VDAC2蛋白表达升高,线粒体呼吸链复合物I酶活下降,均提示模型组大鼠脊髓组织线粒体铁代谢发生紊乱;而艾灸组大鼠脊髓组织铁沉积减少,线粒体形态相对正常,受损线粒体数量减少,嵴损伤较轻,与模型组相比,FTH1、FTL、FTMT、Cisd1及Cisd2蛋白表达升高,VDAC2蛋白表达相对下降,线粒体呼吸链复合物I酶活相对升高,提示艾灸可能通过减轻线粒体铁

代谢紊乱,改善脊髓组织形态,减轻脊髓损伤,促进脊髓对排尿反射的神经调控,改善脊髓损伤后尿潴留症状。

综上所述,本文在前期研究基础上,进一步深入研究艾灸对脊髓神经元线粒体铁代谢的影响,结果表明艾灸“关元”改善脊髓损伤后尿潴留大鼠的膀胱功能可能与改善线粒体铁稳态,进而修复受损脊髓以促进排尿反射有关。本文仅从线粒体铁代谢单一角度探讨,后期可进一步观察线粒体铁代谢是如何调控神经元死亡的,将氧化应激、线粒体功能障碍与之结合起来,对艾灸改善脊髓损伤后尿潴留的机制进行更深入探索。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] Hu X, Xu W, Ren Y L, et al. Spinal cord injury: molecular mechanisms and therapeutic interventions [J]. *Sig Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 245.
- [2] Quadri S A, Farooqui M, Ikram A, et al. Recent update on basic mechanisms of spinal cord injury [J]. *Neurosurg Rev*, 2020, 43(2): 425-441.
- [3] Sun H Y, Deng H, Liu Y X, et al. Research on complications and bladder management of the chronic phase spinal cord injury in China [J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1): 15718.
- [4] 展立芬, 艾坤, 曾学究, 等. 脊髓损伤后重建膀胱排尿反射在神经源性膀胱中的运用与展望 [J]. *中国组织工程研究*, 2024, 28(18): 2925-2931.
Zhan L F, Ai K, Zeng X J, et al. Application and prospect of reconstructing bladder micturition reflex in neurogenic bladder after spinal cord injury (in Chinese) [J]. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2024, 28(18): 2925-2931.
- [5] Panicker J N. Neurogenic bladder: epidemiology, diagnosis, and management [J]. *Semin Neurol*, 2020, 40(5): 569-579.
- [6] Dong L Y, Tao X, Gong C, et al. Effects of central-peripheral FMS on urinary retention after spinal cord injury: a pilot randomized controlled trial protocol [J]. *Front Neurol*, 2023, 14: 1274203.
- [7] Jiang Y Y, Li X, Guo S H, et al. Transcutaneous electrical stimulation for neurogenic bladder after spinal cord injury: a systematic review and meta-analysis [J]. *Neuromodulation*, 2024, 27(4): 604-613.
- [8] 刘承梅, 高玲莉, 冯晓东. 益元灸治疗不完全性脊髓损伤后膀胱功能障碍的临床研究 [J]. *中国康复医学杂志*, 2017, 32(10): 1148-1151.
Liu C M, Gao L L, Feng X D. Clinical effect of Yi-Yuan moxibustion on the bladder dysfunction after incomplete spinal cord injury (in Chinese) [J]. *Chinese Journal of Rehabilitation Medicine*, 2017, 32(10): 1148-1151.
- [9] 孙伟娟, 冯晓东, 李瑞青, 等. 益元灸治疗脊髓损伤后神经源性膀胱的临床疗效观察 [J]. *时珍国医国药*, 2018, 29(5): 1134-1136.
- [10] Sun W J, Feng X D, Li R Q, et al. Clinical observation of Yiyuan moxibustion on neurogenic bladder after spinal cord injury (in Chinese) [J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2018, 29(5): 1134-1136.
- [11] Klemmensen M M, Borrowman S H, Pearce C, et al. Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative disorders [J]. *Neurotherapeutics*, 2024, 21(1): e00292.
- [12] Andrabi S S, Yang J, Gao Y, et al. Nanoparticles with antioxidant enzymes protect injured spinal cord from neuronal cell apoptosis by attenuating mitochondrial dysfunction [J]. *J Control Release*, 2020, 317: 300-311.
- [13] 范筱, 陶经纬, 蒋昇源, 等. 川芎嗪对大鼠脊髓损伤后铁代谢的影响 [J]. *中国组织工程研究*, 2023, 27(22): 3561-3566.
Fan X, Tao J W, Jiang S Y, et al. Effect of tetramethylpyrazine on iron metabolism after spinal cord injury in rats (in Chinese) [J]. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2023, 27(22): 3561-3566.
- [14] Cheng R Y, Dhorajia V V, Kim J, et al. Mitochondrial iron metabolism and neurodegenerative diseases [J]. *NeuroToxicology*, 2022, 88: 88-101.
- [15] Gao J Y, Zhou Q L, Wu D, et al. Mitochondrial iron metabolism and its role in diseases [J]. *Clin Chim Acta*, 2021, 513: 6-12.
- [16] Shao R X, Zhang L, Yang H J, et al. Autophagy activation promotes the effect of iPSCs-derived NSCs on bladder function restoration after spinal cord injury [J]. *Tissue Cell*, 2021, 72: 101596.
- [17] 尚云龙, 李一帆, 宁云峰, 等. 大鼠脊髓损伤模型的解剖学参考定位 [J]. *解剖学研究*, 2013, 35(6): 412-414, F0003.
Shang Y L, Li Y F, Ning Y F, et al. Anatomy reference location for model of SCI rats (in Chinese) [J]. *Anatomy Research*, 2013, 35(6): 412-414, F0003.
- [18] 张彦, 王啸轶, 卓越, 等. 脊髓损伤后神经源性膀胱动物模型研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2025, 33(9): 1329-1339.
Zhang Y, Wang X Y, Zhuo Y, et al. Research progress in animal models of neurogenic bladder following spinal cord injury (in Chinese) [J]. *Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica*, 2025, 33(9): 1329-1339.
- [19] 韦慧麟, 张芝兰, 黄晓萌, 等. 益元灸对脊髓损伤后神经源性膀胱大鼠尿流动力学及膀胱组织 TRPV4/ATP/P2X5 信号通路的影响 [J]. *针刺研究*, 2023, 48(10): 959-968.
Wei H L, Zhang Z L, Huang X M, et al. Effect of Yiyuan moxibustion on urodynamics and TRPV4/ATP/P2X5 signal pathway of bladder tissue in rats with neurogenic bladder after sacral cord injury (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2023, 48(10): 959-968.
- [20] 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.
China Association of Acupuncture-Moxibustion. Nomenclature and location of acupoints commonly used in laboratory

- animals .Part 2: rats (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2021, 46(4): 351-352.
- [20] 孙伟娟, 刘承梅, 王磊, 等. 基于“穴位敏化”热敏灸治疗脊髓损伤后神经源性膀胱的临床随机对照研究[J]. *时珍国医国药*, 2022, 33(11): 2688-2690.
- Sun W J, Liu C M, Wang L, et al. Effect of heat sensitive moxibustion on neurogenic bladder after spinal cord injury clinical randomized controlled study (in Chinese) [J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2022, 33(11): 2688-2690.
- [21] 韦慧麟, 任亚峰, 张芝兰, 等. 电针和艾灸治疗脊髓损伤后神经源性膀胱疗效差异: 随机对照试验[J]. *中国针灸*, 2023, 43(9): 1036-1041.
- Wei H L, Ren Y F, Zhang Z L, et al. Efficacy differences between electroacupuncture and moxibustion for neurogenic bladder after spinal cord injury: a randomized controlled trial (in Chinese) [J]. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 2023, 43(9): 1036-1041.
- [22] De Groat W C, Griffiths D, Yoshimura N. Neural control of the lower urinary tract[J]. *Comprehensive Physiology*, 2014, 5(1): 327-396.
- [23] Perez N E, Godbole N P, Amin K, et al. Neurogenic bladder physiology, pathogenesis, and management after spinal cord injury[J]. *J Pers Med*, 2022, 12(6): 968.
- [24] de Groat W C, Yoshimura N. Mechanisms underlying the recovery of lower urinary tract function following spinal cord injury[M]//*Autonomic Dysfunction After Spinal Cord Injury*. Amsterdam: Elsevier, 2006: 59-84.
- [25] 徐振华, 李彦杰, 任亚峰, 等. 加味春泽汤调控 NF- κ B/TGF- β 1 信号通路对脊髓损伤神经源性膀胱尿潴留大鼠膀胱纤维化及逼尿肌功能的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, 31(5): 95-103.
- Xu Z H, Li Y J, Ren Y F, et al. Effect of modified chunzetang on bladder fibrosis and detrusor function in rats with neurogenic bladder urinary retention induced by spinal cord injury via regulating NF- κ B/TGF- β 1 signaling pathway (in Chinese) [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2025, 31(5): 95-103.
- [26] Mu Q D, Chen L Y, Gao X T, et al. The role of iron homeostasis in remodeling immune function and regulating inflammatory disease[J]. *Sci Bull*, 2021, 66(17): 1806-1816.
- [27] Levi S, Ripamonti M, Moro A S, et al. Iron imbalance in neurodegeneration[J]. *Mol Psychiatry*, 2024, 29(4): 1139-1152.
- [28] Ward D M, Cloonan S M. Mitochondrial iron in human health and disease[J]. *Annu Rev Physiol*, 2019, 81: 453-482.
- [29] Tao J W, Zhou J Y, Zhu H J, et al. Tetramethylpyrazine inhibits ferroptosis in spinal cord injury by regulating iron metabolism through the NRF2/ARE pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1503064.
- [30] 杨硕菲, 夏海燕, 周迪, 等. 线粒体铁代谢与人类疾病的研究进展[J]. *生命科学*, 2012, 24(8): 742-752.
- Yang S F, Xia H Y, Zhou D, et al. Recent progress on mitochondrial iron metabolism and human diseases (in Chinese) [J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2012, 24(8): 742-752.
- [31] Dietz J V, Fox J L, Khalimonchuk O. Down the iron path: mitochondrial iron homeostasis and beyond[J]. *Cells*, 2021, 10(9): 2198.
- [32] Tan Y H, Wang Q, Guo Y B, et al. Dexmedetomidine mitigates lidocaine-induced spinal cord injury by repressing ferritinophagy-mediated ferroptosis by increasing C1SD2 expression in rat models[J]. *J Bioenerg Biomembr*, 2024, 56(5): 517-530.
- [33] Liu X, Luo Q, Zhao Y L, et al. The ferroptosis-mitochondrial axis in depression: unraveling the feedforward loop of oxidative stress, metabolic homeostasis dysregulation, and neuroinflammation[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2025, 14(5): 613.
- [34] 邵哲, 郭大闯, 孙榕, 等. 线粒体铁蛋白在神经系统疾病的研究进展[J]. *海南医学院学报*, 2024, 30(5): 390-394.
- Shao Z, Guo D C, Sun R, et al. Research advance of mitochondrial ferritin in nervous system disease (in Chinese) [J]. *Journal of Hainan Medical University*, 2024, 30(5): 390-394.

收稿日期: 2025-10-09 修回日期: 2025-12-15