

舒芬太尼调节 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 信号通路对新生大鼠缺血缺氧性脑损伤的保护作用

王 静*, 唐 玲, 肖 婷

(湖南省儿童医院麻醉手术科, 湖南长沙 410007)

*通讯作者: wj1984ww@163.com

【摘要】目的 探究舒芬太尼对新生大鼠缺血缺氧性脑损伤的保护作用及对 AMP 激活的蛋白激酶 (AMPK) /沉默信息调节因子 2 相关酶 1 (SIRT1) /过氧化物酶体增殖物激活受体- γ 共激活因子-1 α (PGC-1 α) 信号通路的调节机制。**方法** 将 SPF 级 Wistar 大鼠 90 只, 随机分为假手术组、模型组、AMPK 激活剂 AICAR 组、SUF 低、高剂量组、SUF 高剂量+AMPK 抑制剂组。评估神经功能缺损评分; TTC 染色法检测脑梗死情况; HE 染色观察海马组织形态学变化; TUNEL 法检测海马组织细胞凋亡率; ELISA 测定血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、脑源性神经营养因子 (BDNF)、神经生长因子 (NGF) 水平; Western blot 检测海马神经元 AMPK、p-AMPK、SIRT1、PGC-1 α 蛋白表达水平。**结果** 与假手术组相比, 模型组大鼠海马组织可见细胞紊乱、坏死、肿胀等损伤, 神经功能缺损评分、脑梗死面积、凋亡率、TNF- α 水平均升高, BDNF、NGF 水平及 p-AMPK/AMPK、SIRT1、PGC-1 α 表达降低; 与模型组相比, AICAR 组和 SUF 低、高剂量组大鼠海马组织水肿等损伤减轻, 神经功能缺损评分、脑梗死面积、凋亡率、TNF- α 水平均降低, BDNF、NGF 水平及 p-AMPK/AMPK、SIRT1、PGC-1 α 表达升高; SUF 高剂量+AMPK 抑制剂组中 AMPK 抑制剂消除了 SUF 对上述指标的影响。**结论** 舒芬太尼可能通过激活 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 信号通路保护新生大鼠免受缺血缺氧性脑损伤。

关键词: 舒芬太尼; AMPK/SIRT1/PGC-1 α 通路; 新生大鼠; 缺血缺氧; 脑损伤

DOI:10.13404/j.cnki.cjbhh.2023.02.002

Protective effect of sufentanil on ischemic hypoxic brain injury in neonatal rats by modulating AMPK/SIRT1/PGC-1 α signaling pathway

WANG Jing, TANG Ling, XIAO Ting

(Department of Anesthesia and Surgery, Hunan Children's Hospital, Changsha, Hunan 410007, China)

ABSTRACT Objective To explore the protective effect of sufentanil on ischemic hypoxic brain injury in neonatal rats and the regulatory mechanism of AMP-activated protein kinase (AMPK)/silent information regulator 2-related enzyme 1 (SIRT1)/peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 alpha (PGC-1 α) signaling pathway. **Methods** Ninety SPF Wistar male neonatal rats were randomly divided into sham operation group, model group, AMPK activator AICAR group, low-dose SUF, high-dose SUF group, high-dose SUF+AMPK inhibitor group. Neurological deficit scores were assessed. Cerebral infarction was detected by TTC staining, The morphological changes of hippocampus were observed by HE staining. The apoptosis rate of hippocampal tissue was detected by TUNEL method. The levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), brain-derived neurotrophic factor (BDNF), and nerve growth factor (NGF) in serum were detected by ELISA. The protein expression levels of AMPK, p-AMPK, SIRT1, and PGC-1 α in hippocampal neurons were detected by Western blot. **Results** Compared with the sham-operation group, the hippocampal tissue of the model group showed cell disorder, necrosis, swelling and other injuries, the neurological deficit score, cerebral infarction area, apoptosis rate, and TNF- α level increased, the BDNF, NGF levels, and the expression of p-AMPK/AMPK, SIRT1, PGC-1 α decreased. Compared with the model group, the hippocampal tissue edema and other injuries of the AICAR group and the low-and high-dose SUF groups were alleviated, the neurological deficit score, cerebral infarction area, apoptosis rate, and TNF- α level decreased, the BDNF, NGF levels, and the expression of p-AMPK/AMPK, SIRT1, PGC-1 α increased. In the SUF high-dose+AMPK inhibitor group, the AMPK inhibitor eliminated the effects of SUF on the above indicators. **Conclusion** Sufentanil may protect neonatal rats from hypoxic-ischemic brain injury by activating AMPK/SIRT1/PGC-1 α signaling pathway.

KEY WORDS sufentanil; AMPK/SIRT1/PGC-1 α pathway; neonatal rats; ischemia and hypoxia; brain injury

新生儿缺氧缺血性脑病 (hypoxic-ischemic encephalopathy, HIE) 是由于新生儿缺氧缺血发生的神经

系统综合征, 是造成新生儿脑损伤的重要原因之一^[1]。HIE 会造成脑瘫、智力下降、抽搐等脑损伤后遗症, 具有较高的发病率和死亡率^[2]。目前, 唯一可以改善 HIE 预后并能够保护神经的治疗方法是低温治疗, 但此方法在有炎症感染的情况下是无效的甚至是有损的^[3]。因此, 仍然需要探索 HIE 的发病机制以及有效的治疗方案。舒芬

基金项目: 2021 年度湖南省卫生健康委科研立项课题 (202104111245)

太尼 (sufentanil, SUF) 为芬太尼的一种衍生物, 是对阿片受体有较高亲和力的一种激动剂, 具有较强的镇痛作用, 已被广泛用于心血管外科手术^[4]。研究可知, SUF 能够通过抑制炎症、氧化应激及细胞凋亡等减轻脑缺血再灌注损伤并保护神经功能^[5]。AMP 激活的蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 是稳定机体能量的传感器, 能够通过激活沉默信息调节因子 2 相关酶 1 (silent information regulator 2-related enzyme 1, SIRT1) 间接促使过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子 1 (peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1 α , PGC-1 α) 去乙酰化^[6]。有研究证明 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 信号通路的活化能够减轻 HIE 诱导的氧化应激和神经元凋亡^[7]。基于先前的研究, 本实验建立 HIE 新生大鼠模型, 探讨 SUF 对新生大鼠缺血缺氧性脑损伤是否有保护作用, 以及对 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 信号通路的调节作用。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级 Wistar 大鼠 90 只, 8 d 体质量 (10~14) g, 购于辽宁长生生物技术股份有限公司, 许可证号: SCXK (辽) 2020-0002。饲养温度 24~26 °C, 湿度 60%, 本研究经湖南省儿童医院动物伦理委员会批准 (编号: 2021-0975)。

1.2 药品及试剂

舒芬太尼, 购自于宜昌人福药业有限责任公司, 国药准字 H20054256; AMPK 激活剂 AICAR、抑制剂 Compound C 均购自于美国 MedChemExpress (MCE) 公司; TTC 染色液、苏木素、伊红染液均购自于南京森贝伽生物科技有限公司; TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒、BSA 检测试剂盒均购自于翌圣生物科技 (上海) 股份有限公司; TNF- α 、NGF、BDNF ELISA 试剂盒均购自于武汉赛培生物科技有限公司; AMPK、p-AMPK、SIRT1、PGC-1 α 一抗购自于英国 Abcam 生物公司; 山羊抗大鼠 IgG 二抗购自于北京义翘神州科技股份有限公司; 荧光显微镜购自于日本 Olympus 公司; 凝胶成像仪购自于美国伯乐 BIO-RAD 公司。

1.3 方法

1.3.1 新生大鼠缺血缺氧性脑损伤模型制备 参照文献^[8]建立新生 HIE 大鼠模型, 以 40 mg/kg 的剂量腹腔注射 1% 戊巴比妥钠麻醉幼鼠, 将其仰卧放置, 在左侧颈总动脉做切口, 再用外科缝合线双重结扎, 在两次结扎之间切断动脉。在幼鼠缺血后放入笼中恢复 2 h, 然后放入锥形瓶的缺氧环境中 (8% O₂ 和 92% N₂), 并放在 37 °C 水浴中 2.5 h。缺氧后将所有幼鼠都放回原来的笼中饲养。假手术组只接受麻醉和暴露左颈总动脉, 不进行结扎和缺氧。

1.3.2 动物分组和给药 将造模成功后的大鼠随机分为假手术组、模型组、AMPK 激活剂组 (AICAR 组)、SUF 低、高剂量组、SUF 高剂量+AMPK 抑制剂组 (SUF 高+

Compound C 组), 每组 15 只。AMPK 激活剂以 50 mg/kg 尾静脉注射 AICAR^[9], SUF 低、高剂量组分别以 10 μ g/kg、25 μ g/kg 尾静脉注射给药^[5], SUF 高剂量+AMPK 抑制剂组先注射 25 μ g/kg 的 SUF, 再注射 Compound C 250 μ g/kg。假手术组和模型组均注射等量的生理盐水。每天 1 次, 持续给药 10 d。

1.3.3 神经功能缺损评分的评估 在实验结束后, 参照文献^[10]中的评分标准对所有大鼠神经功能进行评估。0 分: 正常活动; 1 分: 损伤对侧的前肢轻微弯曲; 2 分: 损伤对侧前肢完全弯曲, 行动时易向对侧转圈; 3 分: 行动时易向损伤对侧倒; 4 分: 无意识, 不能自主活动。分数越高代表大鼠神经缺损越严重。

1.3.4 采用 TTC 染色法检测大鼠脑梗死情况 在每个实验组中随机选取 5 只, 用 1% 戊巴比妥钠麻醉大鼠后断头处理并取全脑组织, 然后在 -20 °C 冰箱冻存 30 min, 用切片机沿冠状位置切片。取脑组织切片在 4% 多聚甲醛中固定, 再放入 TTC 染色液中, 室温避光孵育并不断翻动切片以便染色均匀, 30 min 后染色结束, 拍照保存并采用 Image J 软件进行分析处理, 计算大鼠脑梗死面积。

1.3.5 H-E 染色观察海马组织形态学变化 实验结束后, 在剩余大鼠中每组随机选取 5 只, 解剖并摘取海马组织, 固定在 4% 多聚甲醛溶液中, 制备石蜡切片, 将切片依次放入二甲苯和不同浓度梯度的乙醇中脱蜡; 然后用苏木素浸泡 10 min, 1% 的盐酸进行分化, PBS 洗涤后再用伊红染液复染 5 min, 染色结束, 分别用不同浓度的乙醇和二甲苯脱水, 中性树脂进行封片, 并在显微镜下观察组织的病理形态。

1.3.6 TUNEL 试剂盒检测海马组织的细胞凋亡率 将 1.3.5 中的石蜡切片进行脱蜡浸洗, 放入湿盒中加入平衡液平衡, 然后按照 TUNEL 试剂盒说明书加入配置的 TUNEL 工作液, 在暗盒中 37 °C 孵育 1 h, PBS 清洗后用 PI 染液室温染色 5 min, 清洗切片后用抗荧光淬灭封片液进行封片, 荧光显微镜下观察绿色荧光。每只大鼠观察一个切片, 每个切片选取四个视野计算平均凋亡率。

1.3.7 ELISA 检测血清中 TNF- α 、BDNF、NGF 的水平 结束给药后, 将所有大鼠进行腹主动脉采血置于离心管中, 3000 \times g 离心 10 min, 取上清保存于 -20 °C。然后利用 ELISA 试剂盒分别检测血清中 TNF- α 、BDNF、NGF 的表达水平, 所有步骤严格按照试剂盒说明书操作。

1.3.8 Western blot 检测大鼠海马神经元 AMPK、p-AMPK、SIRT1、PGC-1 α 蛋白表达水平 将剩余大鼠 ($n=5$) 处死后断头, 冰上解剖取海马组织置于匀浆器中, 加入蛋白裂解液进行匀浆, 制备蛋白样品。利用 BCA 试剂盒检测蛋白浓度, 进行 SDS-PAGE 凝胶电泳, 并将目的条带转到 PVDF 膜, 转膜结束后, 封闭液 4 °C 过夜孵育, 然后加入一抗稀释液, 室温震荡孵育 2 h, 洗膜后加入山羊抗鼠二抗稀释液, 同条件孵育 2 h, 洗膜后加入发光试剂显色, 利用凝胶成像仪拍照, 以 GAPDH 为内参蛋白,

分析蛋白含量。

1.4 统计学分析

本研究中的实验数据均使用 SPSS 22.0 软件分析,数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较用单因素方差分析,两两比较用 SNK-*q* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SUF 对 HIE 新生大鼠神经功能的影响

与假手术组相比,模型组中大鼠的神经功能缺损评分升高 ($P < 0.05$),表现为行走时倾倒甚至不能自主活动;与模型组相比,AICAR 组和 SUF 低、高剂量组神经功能缺损评分下降 ($P < 0.05$),表现为右前肢弯曲或者活动时向右侧转圈;与 SUF 高剂量组相比,SUF 高+Compound C 组神经功能缺损评分升高 ($P < 0.05$)。见图 1。

2.2 SUF 对 HIE 新生大鼠脑梗死面积的影响

与假手术组相比,模型组新生大鼠脑梗死面积增大 ($P < 0.05$);与模型组相比,AICAR 组和 SUF 低、高剂量组大鼠脑梗死面积减小 ($P < 0.05$);与 SUF 高剂量组相

比,SUF 高+Compound C 组大鼠脑梗死面积增大 ($P < 0.05$)。见图 2、图 3。

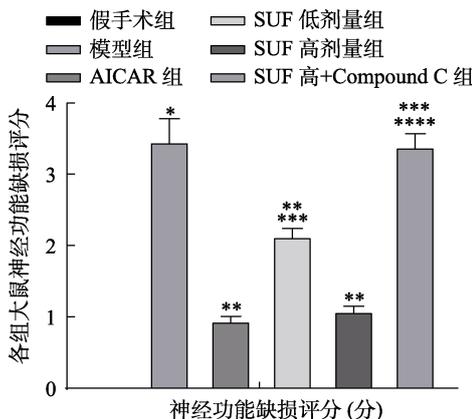


图 1 各组大鼠神经功能缺损评分
注: *表示与假手术组相比, $P < 0.05$; **表示与模型组 $P < 0.05$; ***表示与 AICAR 组 $P < 0.05$; ****表示与 SUF 高剂量 $P < 0.05$ 。

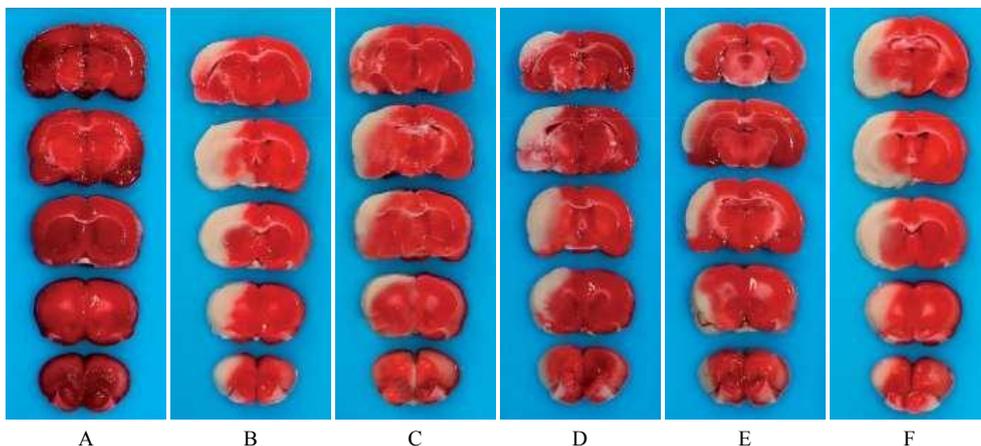


图 2 SUF 对 HIE 新生大鼠脑梗死面积的影响 (TTC 染色)

注: A: 假手术组; B: 模型组; C: AICAR 组; D: SUF 低剂量组; E: SUF 高剂量组; F: SUF 高+Compound C 组。

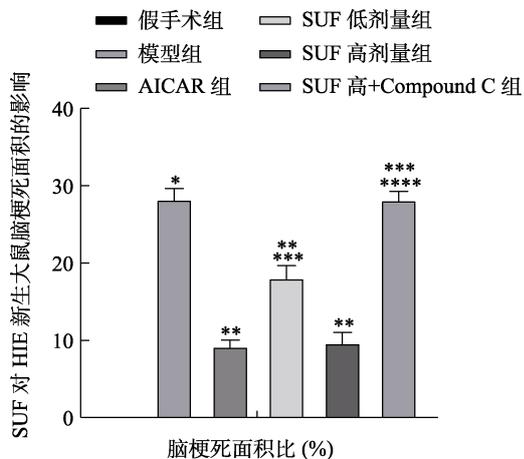


图 3 SUF 对 HIE 新生大鼠脑梗死面积的影响

注: *表示与假手术组相比, $P < 0.05$; **表示与模型组 $P < 0.05$; ***表示与 AICAR 组 $P < 0.05$; ****表示与 SUF 高剂量 $P < 0.05$ 。

2.3 SUF 对 HIE 新生大鼠海马组织形态的影响

假手术组的大鼠中海马组织无异常形态,细胞排列有序,未见明显的病理损伤;与假手术组相比,模型组大鼠海马组织细胞紊乱,数量减少,且间隙增大,明显可见细胞坏死、肿胀;与模型组相比,AICAR 组和 SUF 低、高剂量组海马组织形态逐渐恢复正常,细胞数量明显增多,且只有轻微水肿;与 SUF 高剂量组相比,SUF 高+Compound C 组的海马组织形态与模型组相似。见图 4。

2.4 SUF 对 HIE 新生大鼠海马组织细胞凋亡的影响

与假手术组相比,模型组大鼠的细胞凋亡率升高 ($P < 0.05$);与模型组相比,AICAR 组和 SUF 低、高剂量组大鼠的细胞凋亡率降低 ($P < 0.05$);与 SUF 高剂量组相比,SUF 高+Compound C 组大鼠的细胞凋亡率升高 ($P < 0.05$)。见图 5、图 6。

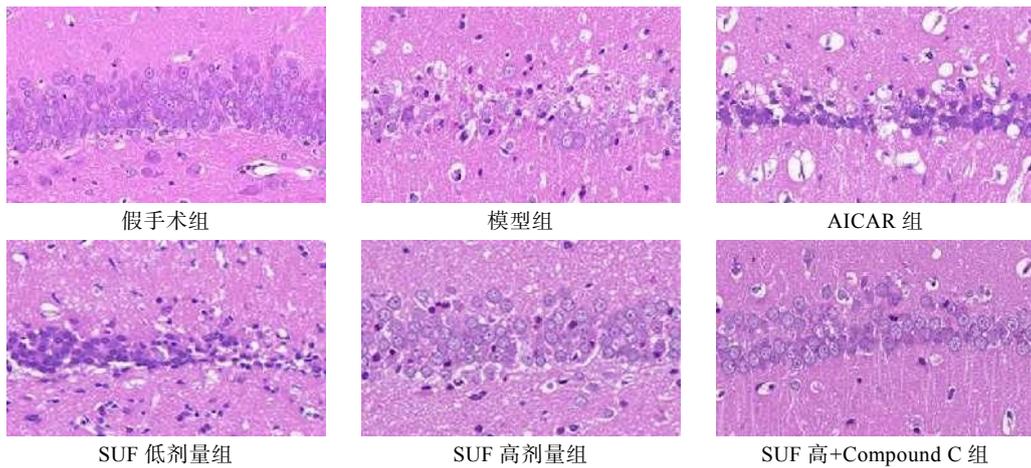


图 4 SUF 对 HIE 新生大鼠海马组织形态的影响 (H-E 染色, 400×)

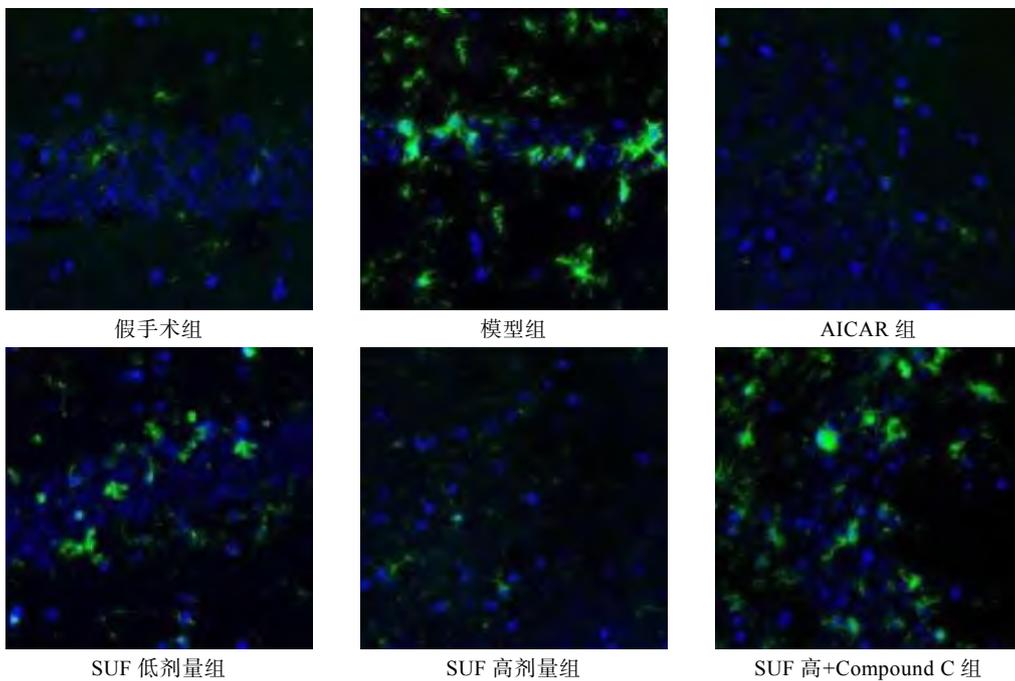


图 5 SUF 对 HIE 新生大鼠海马中细胞凋亡的影响 (绿色荧光, 200×)

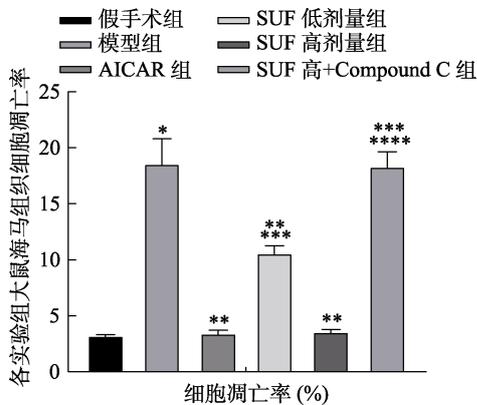


图 6 各实验组大鼠海马组织细胞凋亡率

注: *表示与假手术组相比, $P < 0.05$; **表示与模型组 $P < 0.05$; ***表示与 AICAR 组 $P < 0.05$; ****表示与 SUF 高剂量 $P < 0.05$ 。

2.5 SUF 对 HIE 新生大鼠血清中 TNF- α 、BDNF、NGF 水平的影响

与假手术组相比, 模型组大鼠血清中 TNF- α 水平升高, BDNF、NGF 水平降低 ($P < 0.05$); 与模型组相比, AICAR 组和 SUF 低、高剂量组大鼠血清中 TNF- α 水平降低, BDNF、NGF 水平升高 ($P < 0.05$); 与 SUF 高剂量组相比, SUF 高+Compound C 组血清中 TNF- α 水平升高, BDNF、NGF 水平降低 ($P < 0.05$)。见图 7。

2.6 SUF 对 HIE 新生大鼠海马组织中 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 通路的影响

与假手术组相比, 模型组新生大鼠海马组织中 p-AMPK、p-AMPK/AMPK、SIRT1、PGC-1 α 蛋白表达降低 ($P < 0.05$); 与模型组相比, AICAR 组和 SUF 低、高

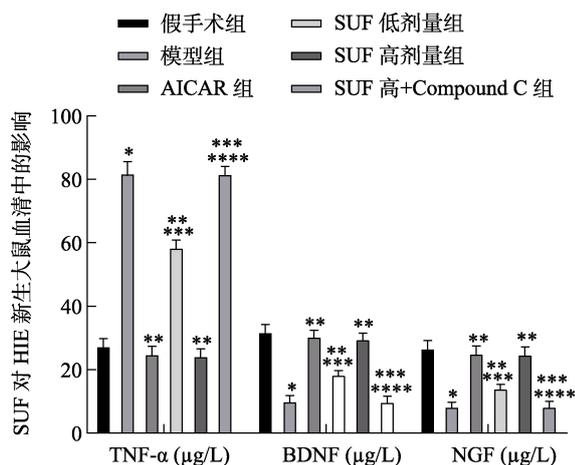


图 7 SUF 对 HIE 新生大鼠血清中 TNF-α、BDNF、NGF 水平的影响

注：*表示与假手术组相比， $P < 0.05$ ；**表示与模型组 $P < 0.05$ ；***表示与 AICAR 组 $P < 0.05$ ；****表示与 SUF 高剂量 $P < 0.05$ 。

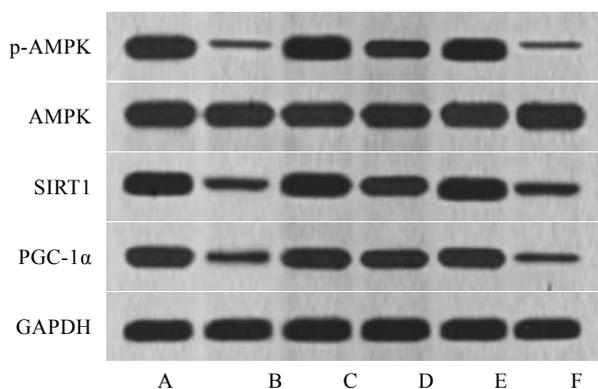


图 8 不同实验组 HIE 大鼠海马组织中蛋白的表达情况
注：A：假手术组；B：模型组；C：AICAR 组；D：SUF 低剂量组；E：SUF 高剂量组；F：SUF 高+Compound C 组。

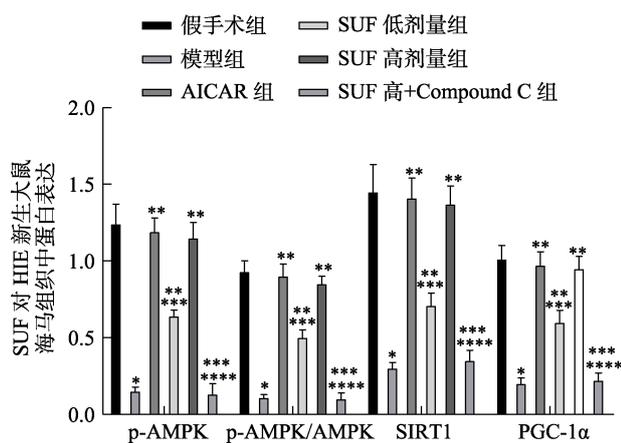


图 9 SUF 对 HIE 新生大鼠海马组织中蛋白表达量的影响

注：*表示与假手术组相比， $P < 0.05$ ；**表示与模型组 $P < 0.05$ ；***表示与 AICAR 组 $P < 0.05$ ；****表示与 SUF 高剂量 $P < 0.05$ 。

剂量组大鼠海马组织中 p-AMPK、p-AMPK/AMPK、SIRT1、PGC-1α 蛋白表达升高 ($P < 0.05$)；与 SUF 高剂量组相比，SUF 高+Compound C 组 p-AMPK、p-AMPK/AMPK、SIRT1、PGC-1α 蛋白表达降低 ($P < 0.05$)。见图 8、图 9。

3 讨论

HIE 是一种由于缺氧和缺血引起的脑损伤，造成新生儿神经功能异常，包括脑瘫、癫痫、视听障碍、智力低下等^[11]。HIE 是新生儿发病率和死亡率升高的主要疾病之一，且目前没有统一的治疗标准和方法^[12]。因此深入研究 HIE 的发病机制对治疗 HIE 有潜在作用。HIBD 可导致新生儿智力低下、运动缺陷、免疫功能紊乱等继发性损害^[13]。这些病变可能由神经元凋亡、炎症反应、氧化应激和 caspase 依赖性细胞死亡引起^[14]。本研究通过建立 HIE 新生大鼠模型发现，模型组大鼠行走时多表现为摔倒，甚至无法自主行动，神经功能缺损评分较高，脑梗死面积较大，海马组织细胞紊乱、数量减少，明显可见细胞坏死、肿胀，且细胞凋亡率升高，与 Liu 等^[15]的研究一致，提示大鼠 HIE 模型建立成功。已知 SUF 可以通过抑制炎症和细胞凋亡来保护心肌缺血再灌注损伤和脑缺血再灌注的神经损伤^[5,16]。本研究中，SUF 给药后，大鼠的神经损伤评分降低，脑梗死面积减小，海马组织细胞数量明显增多，只有轻微水肿，损伤明显减轻，且细胞凋亡率降低。表明 SUF 可以减轻 HIE 新生大鼠的神经损伤，降低脑组织的病理损伤和海马细胞凋亡。

AMPK 和 SIRT1 能够维持能量代谢稳定，AMPK/SIRT1 信号通路在炎症反应、细胞代谢、氧化应激以及癌症中存在重要调节作用^[17]。PGC-1α 能够诱导线粒体的代谢，在多种疾病中都有关键作用^[18]。PGC-1α 是 AMPK/SIRT1 通路的下游调节因子之一，AMPK 磷酸化可以增加细胞内 NAD⁺水平，从而增强 SIRT1 活性，导致 PGC-1α 的去乙酰化被激活^[19]。大量研究表明，AMPK/SIRT1/PGC-1α 通路可通过改善线粒体功能，减轻机体产生的氧化应激和炎症反应^[20-21]。TNF-α 是一种促炎性细胞因子，调节多种炎症介质的表达，参与疾病的发病机制^[22]。BDNF 和 NGF 是神经系统发育过程中不同的感觉神经元所需的营养因子，是调节神经存活、发育和功能的生长因子^[23]。本研究结果显示，模型组中 HIE 大鼠血清中 TNF-α 水平升高，BDNF、NGF 水平降低，海马组织中 p-AMPK/AMPK、SIRT1、去乙酰化 PGC-1α 蛋白表达降低，与 Huang 等^[7]的研究结果一致，提示神经营养因子水平的降低和 AMPK/SIRT1/PGC-1α 通路的抑制是导致 HIE 大鼠脑损伤的可能原因。AMPK 激活剂 AICAR 组和低、高剂量 SUF 处理后，大鼠血清中 TNF-α 水平降低，BDNF、NGF 水平升高，海马组织中 p-AMPK/AMPK、SIRT1、PGC-1α 蛋白表达升高，表明 AMPK 激活剂和 SUF 均能够抑制 HIE 大鼠海马组织中炎

症因子, 保护神经系统, 减轻 HIE 新生大鼠脑损伤, 同时也提示 SUF 对 HIE 新生大鼠脑损伤的保护作用可能通过激活 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 信号通路实现。进一步用 AMPK 抑制剂 Compound C 和高剂量 SUF 同时处理 HIE 大鼠, 结果发现各指标水平接近模型组, 再次证明 SUF 通过激活 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 信号通路保护新生大鼠免受 HIE 脑损伤。

综上所述, SUF 可能通过激活 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 信号通路, 促进神经系统营养因子的表达, 从而减轻 HIE 导致的脑损伤。本研究发现 SUF 对 HIE 的治疗有潜在作用, 但是 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 信号通路还涉及线粒体功能、自噬等多种调节方式, 因此, SUF 缓解 HIE 脑损伤的具体机制还有待进一步深入研究。

参 考 文 献

- [1] Greco P, Nencini G, Piva I, et al. Pathophysiology of hypoxic-ischemic encephalopathy: A review of the past and a view on the future[J]. *Acta Neurol Belg*, 2020, 120(2): 277-288.
- [2] Sato Y, Tsuji M. Diverse actions of cord blood cell therapy for hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. *Pediatr Int*, 2021, 63(5): 497-503.
- [3] Victor S, Rocha-Ferreira E, Rahim A, et al. New possibilities for neuroprotection in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. *Eur J Pediatr*, 2022, 181(3): 875-887.
- [4] Poterman M, Kalmar AF, Buisman PL, et al. Improved haemodynamic stability and cerebral tissue oxygenation after induction of anaesthesia with sufentanil compared to remifentanil: A randomised controlled trial[J]. *BMC Anesthesiol*, 2020, 20(1): 258-269.
- [5] Wang Z, Du X, Yu D, et al. Sufentanil alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibiting inflammation and protecting the blood-brain barrier in rats[J]. *Eur J Histochem*, 2022, 66(1): 3328.
- [6] Yang X, Liu Q, Li Y, et al. The diabetes medication canagliflozin promotes mitochondrial remodelling of adipocyte via the AMPK-Sirt1-Pgc-1 α signalling pathway[J]. *Adipocyte*, 2020, 9(1): 484-494.
- [7] Huang J, Liu W, Doycheva DM, et al. Ghrelin attenuates oxidative stress and neuronal apoptosis via GHSR-1 α /AMPK/Sirt1/PGC-1 α /UCP2 pathway in a rat model of neonatal HIE[J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 141(1): 322-337.
- [8] Li B, Dasgupta C, Huang L, et al. MiRNA-210 induces microglial activation and regulates microglia-mediated neuroinflammation in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. *Cell Mol Immunol*, 2020, 17(9): 976-991.
- [9] Shen Z, Chen Q, Jin T, et al. Theaflavin 3,3'-digallate reverses the downregulation of connexin 43 and autophagy induced by high glucose via AMPK activation in cardiomyocytes[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(10): 17999-18016.
- [10] Li Y, Xiang L, Wang C, et al. Protection against acute cerebral ischemia/reperfusion injury by Leonuri Herba total alkali via modulation of BDNF-TrkB-PI3K/Akt signaling pathway in rats[J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 133(1): 1-14.
- [11] Machie M, Weeke L, Vries LSD, et al. MRI score ability to detect abnormalities in mild hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. *Pediatr Neurol*, 2021, 116(1): 32-38.
- [12] Wang Q, Lv H, Lu L, et al. Neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy: Emerging therapeutic strategies based on pathophysiologic phases of the injury[J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2019, 32(21): 3685-3692.
- [13] Millar LJ, Shi L, Hoerder-Suabedissen A, et al. Neonatal hypoxia ischaemia: Mechanisms, models, and therapeutic challenges[J]. *Front Cell Neurosci*, 2017, 11: 78.
- [14] Fang M, Jiang H, Ye L, et al. Metformin treatment after the hypoxia-ischemia attenuates brain injury in newborn rats[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(43): 75308-75325.
- [15] Liu Y, Wang H, Liu N, et al. Oxymatrine protects neonatal rat against hypoxic-ischemic brain damage via PI3K/Akt/GSK3 β pathway[J]. *Life Sci*, 2020, 254: 116444.
- [16] Wu Q, Shang Y, Bai Y, et al. Sufentanil preconditioning protects against myocardial ischemia/reperfusion injury via miR-125a/DRAM2 axis[J]. *Cell Cycle*, 2021, 20(4): 383-391.
- [17] Han Y, Lu Z, Chen S, et al. Abdominal massage alleviates skeletal muscle insulin resistance by regulating the AMPK/SIRT1/PGC-1 α signaling pathway[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2021, 79(4): 895-903.
- [18] Gao J, Qian T, Wang W. CTRP3 activates the AMPK/SIRT1-PGC-1 α pathway to protect mitochondrial biogenesis and functions in cerebral ischemic stroke[J]. *Neurochem Res*, 2020, 45(12): 3045-3058.
- [19] Yap KH, Yee GS, Candasamy M, et al. Catalpol ameliorates insulin sensitivity and mitochondrial respiration in skeletal muscle of type-2 diabetic mice through insulin signaling pathway and AMPK/SIRT1/PGC-1 α /PPAR- γ activation[J]. *Biomolecules*, 2020, 10(10): 1360.
- [20] Yin J, Zhang B, Yu Z, et al. Ameliorative effect of dietary tryptophan on neurodegeneration and inflammation in d-galactose-induced aging mice with the potential mechanism relying on AMPK/SIRT1/PGC-1 α pathway and gut microbiota[J]. *J Agric Food Chem*, 2021, 69(16): 4732-4744.
- [21] Ou HC, Chu PM, Huang YT, et al. Low-level laser prevents doxorubicin-induced skeletal muscle atrophy by modulating AMPK/SIRT1/PCG-1 α -mediated mitochondrial function, apoptosis and up-regulation of pro-inflammatory responses[J]. *Cell Biosci*, 2021, 11(1): 200-215.
- [22] Wei S, Qiu CY, Jin Y, et al. TNF- α acutely enhances acid-sensing ion channel currents in rat dorsal root ganglion neurons via a p38 MAPK pathway[J]. *J Neuroinflammation*, 2021, 18(1): 92-102.
- [23] Meng L, Liu B, Ji R, et al. Targeting the BDNF/TrkB pathway for the treatment of tumors[J]. *Oncol Lett*, 2019, 17(2): 2031-2039.

收稿日期: 2022-10-20