

奥拉西坦对大鼠脑梗死的脑保护作用及机制

赵宗刚¹, 金辉², 王胜男¹

(1. 济南市第五人民医院神经内科, 山东省济南市 250022; 2. 山东省济南市中医医院妇科, 山东省济南市 250022)

[关键词] 脑梗死; 奥拉西坦; HIF-1 α /AMPK/HSP70; 氧化应激

[摘要] **目的** 研究奥拉西坦对大鼠脑梗死的脑保护作用及缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α)/AMP 依赖的蛋白激酶(AMPK)/热休克蛋白 70(HSP70)通路所起的作用。**方法** 选择成年雄性 SD 大鼠, 随机分为假手术组、脑梗死组、奥拉西坦组、奥拉西坦+YC-1 组、奥拉西坦+8-bAMP 组、奥拉西坦+Que 组。采用线栓法建立脑梗死模型, 奥拉西坦组给予 200 mg/kg 奥拉西坦尾静脉注射, 奥拉西坦+YC-1 组、奥拉西坦+8-bAMP 组、奥拉西坦+Que 组在奥拉西坦尾静脉注射的基础上分别给予 HIF-1 α 抑制剂 YC-1、AMPK 抑制剂 8-bAMP、HSP70 抑制剂 Quercetin 尾静脉注射。干预 14 天后, 测定其脑梗死体积、行为学指标及脑组织中氧化应激指标的含量、HIF-1 α /AMPK/HSP70 通路分子的表达情况。**结果** 与脑梗死组比较, 奥拉西坦组大鼠的脑梗死体积明显缩小, 平衡木站立时间、平衡木行走时间明显延长, 脑组织中活性氧簇(ROS)、丙二醛(MDA)、8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)的含量明显减少, 超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)的含量及核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)、HO-1、AMPK、HSP70 的表达水平明显增多。与奥拉西坦组比较, 奥拉西坦+YC-1 组、奥拉西坦+8-bAMP 组、奥拉西坦+Que 组大鼠脑组织中 ROS、MDA、8-OHdG 的含量明显增多, SOD、GPx 的含量及 Nrf2、HO-1 的表达水平均明显减少($P < 0.05$)。**结论** 奥拉西坦能够通过激活 HIF-1 α /AMPK/HSP70 通路减轻大鼠脑梗死的脑损伤。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Protective effect and mechanism of oxiracetam on rats with cerebral infarction

ZHAO Zonggang¹, JIN Hui², WANG Shengnan¹

(1. Department of Neurology, the 5th People's Hospital of Ji'nan, Ji'nan, Shandong 250022, China; 2. Department of Gynecology, Ji'nan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan, Shandong 250022, China)

[KEY WORDS] cerebral infarction; oxiracetam; HIF-1 α /AMPK/HSP70; oxidative stress

[ABSTRACT] **Aim** To study the protective effect and oxiracetam on rats with cerebral infarction and the role of HIF-1 α /AMPK/HSP70 signaling pathway. **Methods** Adult male SD rats were randomly divided into sham group, cerebral infarction group, oxiracetam group, oxiracetam+YC-1 group, oxiracetam+8-bAMP group and oxiracetam+Que group. The model of cerebral infarction was established by thread embolization. Oxiracetam group was given tail vein injection of 200 mg/kg oxiracetam, Oxiracetam+YC-1 group, Oxiracetam+8-bAMP group, Oxiracetam+Que group were given tail vein injection of HIF-1 α inhibitor YC-1, AMPK inhibitor 8-bAMP, HSP70 inhibitor Quercetin separately on the basis of Oxiracetam tail vein injection. After 14 days of intervention, cerebral infarction volume, behavioral parameters, oxidative stress index and HIF-1 α /AMPK/HSP70 pathway molecule in brain were measured. **Results** Compared with cerebral infarction group, the volume of cerebral infarction significantly reduced, the standing time of balance beam and walking time of balance beam significantly prolonged, the contents of ROS, MDA, 8-OHdG in brain tissue significantly decreased, the contents of SOD and GPx and the expressions of Nrf2, HO-1, AMPK and HSP70 in brain tissue significantly increased. Compared with the oxiracetam + YC-1 group, oxiracetam + 8-bAMP group and oxiracetam + Que group, the contents of ROS, MDA, 8-OHdG in brain tissue significantly increased, the contents of SOD, GPx and the expression of Nrf2, HO-1 significantly decreased($P < 0.05$). **Conclusion** Oxiracetam can alleviate cerebral infarction injury in rats by activating HIF-1 α /AMPK/HSP70 pathway.

急性脑梗死是颅内动脉血栓栓塞或血栓形成 引起的脑组织缺血缺氧损害,具有较高的致死率和

致残率。近年来静脉溶栓、介入机械取栓等再灌注治疗手段被越来越多的用于急性脑梗死的急诊治疗,及时进行再灌注治疗虽然能够缩短缺血缺氧对脑组织的损害时间,但由于中枢神经系统中的组织细胞对缺血缺氧的耐受能力差、在再灌注治疗前已经出现了不同程度的神经功能损害,进而造成神经后遗症^[1-2]。奥拉西坦是新型的吡咯烷酮衍生物,具有促进磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺合成的作用,已经被证实能够减轻缺血缺氧所造成的脑损害^[3],但具体的机制仍未阐明。

缺氧诱导因子 1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)/AMP 依赖的蛋白激酶 (AMP-dependent protein kinase, AMPK)/热休克蛋白 70 (heat shock protein 70, HSP70)是在缺氧状态下调节氧化应激、细胞凋亡、血管新生的信号通路,该通路在缺血缺氧环境下的活化是局部组织的自身代偿方式^[4]。一方面能够通过 HIF-1 α 诱导 VEGF 表达的方式来促进侧枝循环的形成,另一方面能够通过 AMPK 和 HSP70 来诱导 NF-E2 相关因子 2 (NF-E2-related factor 2, Nrf2) 表达来增强局部组织抗氧化的能力^[5-6]。为了明确奥拉西坦减轻缺血缺氧所致脑损害的机制,本研究具体分析了奥拉西坦是否通过激活 HIF-1 α /AMPK/HSP70 通路发挥对大鼠脑梗死的脑保护作用。

1 材料和方法

1.1 动物和主要试剂

成年雄性健康 SD 大鼠 72 只,体质量 250~300 g,动物许可证号 SCXK(鲁)2018-0006,购于济南金丰实验动物有限公司。

奥拉西坦、2,3,5-氯化三苯基四氮唑(2,3,5-Triphenyltetrazole Chloride, TCC)购自 Sigma 公司,核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2)、血红素加氧酶 1 (heme oxygenase-1, HO-1)、HIF-1 α 、AMPK、HSP70 的单克隆抗体购自 Abcam 公司,ROS 检测试剂盒及 BCA 蛋白定量试剂盒购自上海碧云天公司,丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、8-羟基脱氧鸟苷 (8-hydroxydeoxyguanosine, 8-OHdG)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GPx) 检测试剂盒购自南京建成公司。

1.2 分组

参照随机数字表法将 72 只大鼠分为假手术组 ($n=16$)、脑梗死组 ($n=16$)、奥拉西坦组 ($n=16$)、

奥拉西坦+HIF-1 α 抑制剂组 (奥拉西坦+YC-1 组) ($n=8$)、奥拉西坦+AMPK 抑制剂组 (奥拉西坦+8-bAMP 组) ($n=8$)、奥拉西坦+HSP70 抑制剂组 (奥拉西坦+Que 组) ($n=8$)。除假手术组外的其他组采用线栓法建立脑梗死模型。奥拉西坦组在造模后经尾静脉注射奥拉西坦 200 mg/kg (溶于 1 mL 生理盐水);奥拉西坦+YC-1 组在尾静脉注射奥拉西坦的同时给予 2 mg/kg HIF-1 α 抑制剂 YC-1 尾静脉注射;奥拉西坦+8-bAMP 组在尾静脉注射奥拉西坦的同时给予 15 μ mol/kg AMPK 抑制剂 8-bAMP 尾静脉注射;奥拉西坦+Que 组在尾静脉注射奥拉西坦的同时给予 5 mg/kg HSP70 抑制剂 Quercetin 尾静脉注射,每日 1 次、连续 14 天。

1.3 脑梗死模型的建立

采用线栓法建立脑梗死模型。10%水合氯醛腹腔注射麻醉后,在颈正中做一 0.5 cm 的切口,分离右侧颈外动脉、颈内动脉、颈总动脉,结扎颈外动脉并剪断,用动脉夹夹闭颈总动脉的近心端,而后在颈总动脉的分叉处做一小切口,将预先准备好的线栓伸入约 18~20 mm,遇到阻力后停止,固定线栓并松开颈总动脉的动脉夹,缝合切口。

1.4 脑梗死体积测定

干预 14 天后,假手术组、脑梗死组、奥拉西坦组每组随机选择 8 只大鼠,断头处死后迅速解剖脑组织,-20 $^{\circ}$ C 冷冻 20 min 后,将脑组织切 2 mm 厚脑片,用 2% TTC 溶液对脑片染色 30 min,用 4% 多聚甲醛对染色后的脑片固定 6 h,而后拍照并计算每张脑片的梗死面积 (A) 及总面积 (S),按照公式 $(A1+A2+\dots+A_n)/(S1+S2+\dots+S_n) \times 100\%$ 计算脑梗死体积 (%)。

1.5 行为学指标测定

干预 14 天后,取假手术组、脑梗死组、奥拉西坦组剩余的 8 只大鼠进行行为学指标测定。平衡木平衡试验:大鼠放置在长 35 cm、宽 1.5 cm、距地面高 10 cm 的水平横梁,测量在平衡木站立的时间。平衡木行走试验:大鼠放置在长 100 cm、宽 2.0 cm、距地面高 10 cm 的水平横梁,衡量一段放置黑箱子,记录大鼠穿行于衡量并达到黑箱子的时间。

1.6 脑组织指标测定

干预 14 天后,假手术组、脑梗死组、奥拉西坦组大鼠完成行为学指标测定后处死并解剖脑组织,奥拉西坦+YC-1 组、奥拉西坦+8-bAMP 组、奥拉西坦+Que 组大鼠直接处死并解剖脑组织,提取蛋白质后用 BCA 试剂盒测定总蛋白含量,用 ROS、MDA、8-OHdG、SOD、GPx 试剂盒检测相应指标的含,计算

每克蛋白中 ROS、MDA、8-OHdG、SOD、GPx 的含量；用 Western-blot 试剂进行电泳及抗体孵育，得到 Nrf2、HO-1、HIF-1 α 、AMPK、HSP70 的蛋白条带电泳图后扫描蛋白条带灰度值，计算 Nrf2/ β -actin、HO-1/ β -actin、HIF-1 α / β -actin、AMPK/p-AMPK、HSP70/ β -actin 作为蛋白表达水平。

1.7 统计学方法

用 SPSS20.0 软件进行统计学处理。计量资料符合方差齐性，采用方差分析进行组间的比较。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 奥拉西坦对脑梗死体积及行为学指标的调节作用

与假手术组比较，脑梗死组大鼠的脑梗死体积明显增加，平衡木站立时间、平衡木行走时间明显缩短；与脑梗死组比较，奥拉西坦组大鼠的脑梗死体积明显减少，平衡木站立时间、平衡木行走时间明显延长 ($P < 0.05$, 图 1、表 1)。

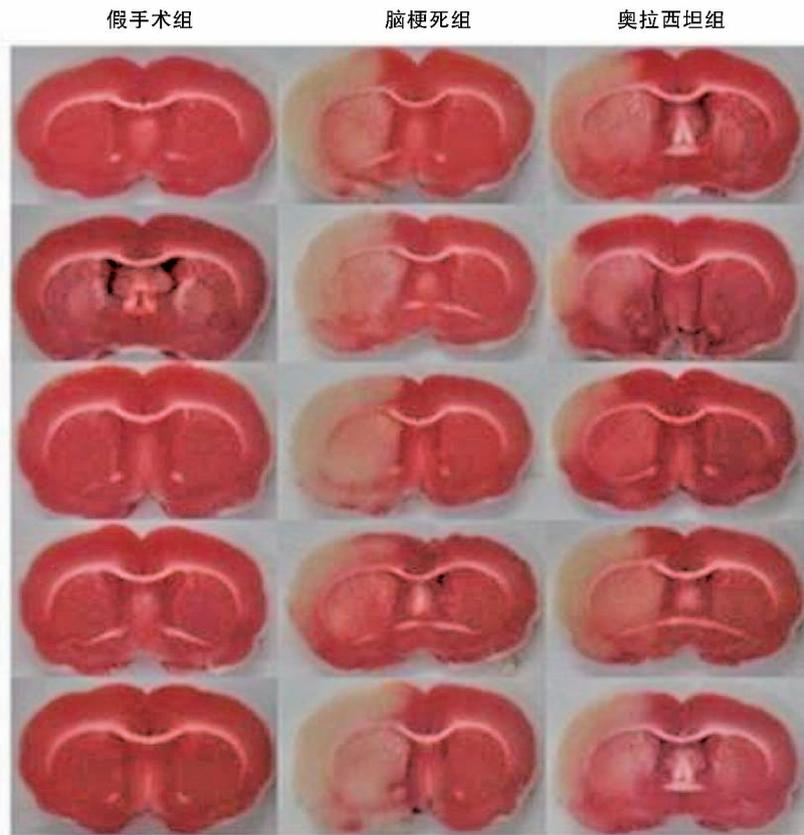


图 1. 三组大鼠脑梗死体积的大体图像

Figure 1. General image of cerebral infarction volume in three groups of rats

表 1. 三组大鼠脑梗死体积及行为学指标的比较

Table 1. Comparisons of cerebral infarction volume and behavioral indexes among three groups of rats

分组	n	脑梗死体积 (%)	平衡木站立时间 (s)	平衡木行走时间 (s)
假手术组	8	0	52.39 \pm 8.23	39.59 \pm 6.51
脑梗死组	8	47.79 \pm 8.92 ^a	10.47 \pm 1.86 ^a	8.38 \pm 1.27 ^a
奥拉西坦组	8	28.41 \pm 7.41 ^b	23.19 \pm 5.41 ^b	19.48 \pm 3.66 ^b

a 为 $P < 0.05$, 与假手术组比较; b 为 $P < 0.05$, 与脑梗死组比较。

2.2 奥拉西坦对脑梗死大鼠氧化应激反应的调节作用

与假手术组比较，脑梗死组大鼠脑组织中 ROS、MDA、8-OHdG 的含量及 Nrf2、HO-1 的表达水平明显增多，SOD、GPx 的含量明显减少。与脑梗死组比较，奥拉西坦组大鼠脑组织中 ROS、MDA、8-OHdG 的含量明显减少，SOD、GPx 的含量及 Nrf2、HO-1 的表达水平明显增多 ($P < 0.05$, 图 2、表 2)。

表 2. 三组大鼠脑梗死组织中 ROS、MDA、8-OHdG、SOD、GPx 含量的比较

Table 2. Comparisons of ROS, MDA, 8-OHdG, SOD, GPx contents in cerebral infarction tissues among three groups of rats

分组	n	ROS(U/g 蛋白)	MDA ($\mu\text{mol/g}$ 蛋白)	8-OHdG (pg/g 蛋白)	SOD (U/g 蛋白)	GPx(U/g 蛋白)
假手术组	8	0.83 \pm 0.11	2.04 \pm 0.52	8.39 \pm 1.27	26.59 \pm 4.52	18.48 \pm 3.29
脑梗死组	8	3.41 \pm 0.52 ^a	8.38 \pm 1.19 ^a	29.39 \pm 5.42 ^a	10.39 \pm 1.85 ^a	7.95 \pm 1.08 ^a
奥拉西坦组	8	1.52 \pm 0.25 ^b	3.68 \pm 0.78 ^b	16.65 \pm 2.85 ^b	17.62 \pm 3.28 ^b	14.12 \pm 2.31 ^b

a 为 $P < 0.05$, 与假手术组比较; b 为 $P < 0.05$, 与脑梗死组比较。

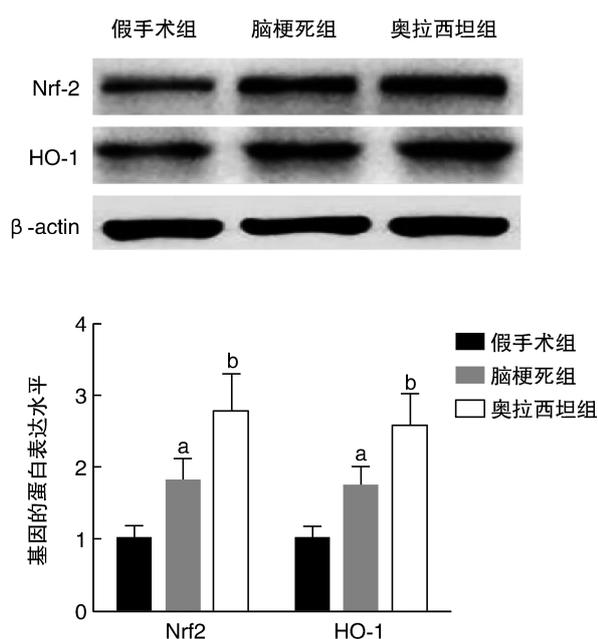


图 2. 三组大鼠脑梗死组织中 Nrf2、HO-1 蛋白表达的比较
上为蛋白电泳图。a 为 $P < 0.05$, 与假手术组比较; b 为 $P < 0.05$, 与脑梗死组比较。

Figure 2. Comparison of protein expression of Nrf2, HO-1 in cerebral infarction tissues among three groups of rats

2.3 奥拉西坦对脑梗死大鼠 HIF-1 α /AMPK/HSP70 通路的调节作用

与假手术组比较,脑梗死组大鼠脑组织中 HIF-1 α 、AMPK、HSP70 的表达水平明显增多;与脑梗死组比较,奥拉西坦组大鼠脑组织中 HIF-1 α 、AMPK、HSP70 的表达水平明显增多($P < 0.05$,图 3)。

2.4 HIF-1 α /AMPK/HSP70 通路在奥拉西坦调节氧化应激反应中的作用

与奥拉西坦组比较,奥拉西坦+YC-1 组、奥拉西坦+8-bAMP 组、奥拉西坦+Que 组大鼠脑组织中 ROS、MDA、8-OHdG 的含量明显增多,SOD、GPx 的含量及 Nrf2、HO-1 的表达水平均明显减少($P < 0.05$,图 4、表 3)。

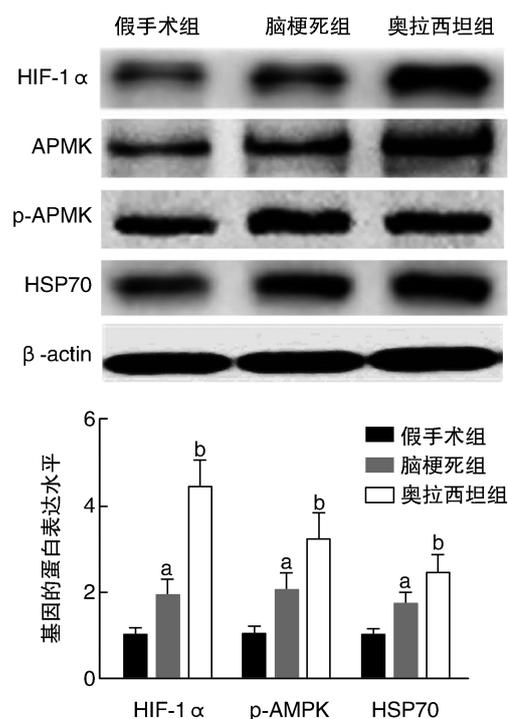


图 3. 三组大鼠脑梗死组织中 HIF-1 α 、AMPK、HSP70 蛋白表达的比较
上为蛋白电泳图。a 为 $P < 0.05$, 与假手术组比较; b 为 $P < 0.05$, 与脑梗死组比较。

Figure 3. Comparison of protein expression of HIF-1 α , AMPK, HSP70 in cerebral infarction tissues among three groups of rats

3 讨论

急性脑梗死发生后缺血缺氧可引起神经功能损害,具有较高的致死率和致残率。奥拉西坦是近年来新发现的神经保护药物,通过促进磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺的合成来增加中枢神经系统中的蛋白质、核酸的合成,进而有利于增强神经突触的可塑性、促进神经功能的恢复^[7-8]。Fan 等^[3]的研究表明,奥拉西坦对缺血性脑卒中大鼠的神经元损害具有保护作用。本研究通过线栓法建立脑梗死模

表 3. 四组大鼠脑梗死组织中 ROS、MDA、8-OHdG、SOD、GPx 含量的比较

Table 3. Comparisons of ROS, MDA, 8-OHdG, SOD, GPx contents in cerebral infarction tissues among four groups of rats

分组	n	ROS(U/g 蛋白)	MDA ($\mu\text{mol/g}$ 蛋白)	8-OHdG (pg/g 蛋白)	SOD (U/g 蛋白)	GPx(U/g 蛋白)
奥拉西坦组	8	1.52±0.25	3.68±0.78	16.65±2.85	17.62±3.28	14.12±2.31
奥拉西坦+YC-1组	8	2.93±0.52 ^a	7.04±0.94 ^a	24.41±4.12 ^a	12.37±1.86 ^a	9.31±1.21 ^a
奥拉西坦+8-bAMP组	8	3.17±0.61 ^a	7.71±1.03 ^a	25.78±5.42 ^a	13.02±2.41 ^a	10.03±1.34 ^a
奥拉西坦+Que组	8	3.24±0.57 ^a	7.32±0.91 ^a	27.12±4.95 ^a	11.83±1.44 ^a	8.98±1.09 ^a

a 为 $P < 0.05$, 与奥拉西坦组比较。

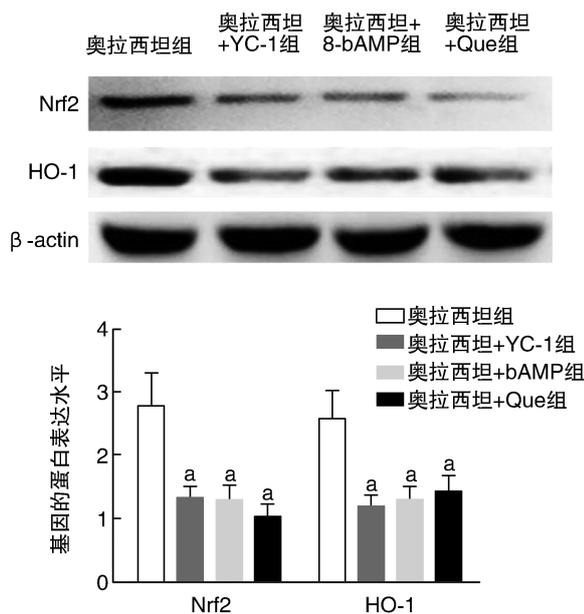


图 4. 四组大鼠脑梗死组织中 Nrf2、HO-1 的蛋白电泳图

上为蛋白电泳图。a 为 $P < 0.05$, 与奥拉西坦组比较。

Figure 4. Protein bands of Nrf2, HO-1 in cerebral infarction tissues of four groups of rats

型并在造模后给予奥拉西坦尾静脉给药,通过观察脑梗死体积及行为学指标的变化可知:脑梗死大鼠出现了明显的神经功能损害,脑梗死体积增加且平衡木站立时间、平衡木行走时间明显缩短;奥拉西坦干预能够明显改善脑梗死大鼠的神经功能,脑梗死体积缩小且平衡木站立时间、平衡木行走时间明显延长。这一结果与 Fan 等^[3]的研究结果一致,表明奥拉西坦能够在脑梗死大鼠中发挥脑保护作用。

氧化应激反应是急性脑梗死过程中缺血缺氧引起神经损害的重要病理环节,氧自由基大量生成是该环节的重要特征^[9]。ROS 是主要的氧自由基类型,具有极强的氧化性,脑梗死组织中大量生成的 ROS 能够引起神经元中的脂质、DNA 等成分发生氧化反应,导致神经元损伤的同时也生成相应的氧

化产物 MDA 和 8-OHdG^[10-11]。SOD、GPx 是中枢神经系统中重要的抗氧化酶,缺血缺氧状况下氧自由基的大量生成会使 SOD 和 GPx 的消耗增多、含量减少^[12-13]。本研究对脑梗死大鼠脑组织中氧化应激产物及抗氧化酶的分析显示:脑梗死组大鼠脑组织中 ROS、MDA、8-OHdG 的含量明显增多,而 SOD、GPx 的含量明显减少;奥拉西坦干预后脑梗死大鼠脑组织中 ROS、MDA、8-OHdG 的含量明显减少,而 SOD、GPx 的含量明显增多。这一结果提示奥拉西坦能够减轻脑梗死局部脑组织中的氧化应激反应。

Nrf2 是调节氧化应激的重要转录因子,缺血缺氧条件能够通过 HIF-1 α /AMPK/HSP70 通路的活化来促进 Nrf2 的代偿性表达增多,Nrf2 在细胞核内启动抗氧化酶 HO-1 表达并通过 HO-1 的抗氧化活性来增强局部组织耐受氧化应激损害的能力^[14-16]。本研究对脑梗死大鼠局部组织中 HIF-1 α /AMPK/HSP70 通路的分析发现:脑梗死组大鼠脑组织中 HIF-1 α 、AMPK、HSP70、Nrf2、HO-1 的表达均明显增加,而奥拉西坦干预后脑梗死大鼠脑组织 HIF-1 α 、AMPK、HSP70、Nrf2、HO-1 的表达进一步增加,提示脑梗死脑组织中 HIF-1 α /AMPK/HSP70 通路的活化可能是机体的自身代偿机制,而奥拉西坦能够进一步增强 HIF-1 α /AMPK/HSP70 通路的活化并起到抗氧化应激的作用。为了进一步明确 HIF-1 α /AMPK/HSP70 通路在奥拉西坦减轻脑梗死组织氧化应激中作用,本研究在奥拉西坦干预的基础上联合使用了 HIF-1 α 、AMPK、HSP70 的抑制剂,结果显示:奥拉西坦减轻脑梗死组织氧化应激反应、促进 Nrf2/HO-1 表达的作用被 3 种抑制剂逆转,进而提示奥拉西坦对脑梗死组织中氧化应激及 Nrf2/HO-1 的调控作用通过 HIF-1 α /AMPK/HSP70 通路来介导。

综上所述,奥拉西坦用于脑梗死大鼠的干预能够减轻脑损伤、抑制氧化应激并促进 Nrf2/HO-1 表达;HIF-1 α /AMPK/HSP70 通路的 3 种抑制剂能够削弱奥拉西坦的上述作用,进而也提示奥拉西坦通

过激活 HIF-1 α /AMPK/HSP70 通路减轻大鼠脑梗死的脑损伤。

[参考文献]

- [1] Kaesmacher J, Chaloulos-Iakovidis P, Panos L, et al. Clinical effect of successful reperfusion in patients presenting with NIHSS <8; data from the BEYOND-SWIFT registry [J]. *J Neurol*, 2019, 266(3): 598-608.
- [2] Gariel F, Lapergue B, Bourcier R, et al. Mechanical thrombectomy outcomes with or without intravenous thrombolysis[J]. *Stroke*, 2018, 49(10): 2383-2390.
- [3] Fan W, Li X, Huang L, et al. S-oxiracetam ameliorates ischemic stroke induced neuronal apoptosis through up-regulating $\alpha 7$ nAChR and PI3K/Akt/GSK3 β signal pathway in rats[J]. *Neurochem Int*, 2018, 115: 50-60.
- [4] Xia M, Ding Q, Zhang Z, et al. Remote limb ischemic preconditioning protects rats against cerebral ischemia via HIF-1 α /AMPK/HSP70 pathway[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2017, 37(6): 1105-1114.
- [5] Shen Y, Gu J, Liu Z, et al. Inhibition of HIF-1 α reduced blood brain barrier damage by regulating MMP-2 and VEGF during acute cerebral ischemia[J]. *Front Cell Neurosci*, 2018, 4(12): 288.
- [6] Wang Y, Huang Y, Xu Y, et al. A dual AMPK/Nrf2 activator reduces brain inflammation after stroke by enhancing microglia M2 polarization [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 28(2): 141-163.
- [7] Hu S, Shi J, Xiong W, et al. Oxiracetam or fastigial nucleus stimulation reduces cognitive injury at high altitude [J]. *Brain Behav*, 2017, 7(10): e00762.
- [8] 杨宏艳, 韩云峰. 奥拉西坦对血管性痴呆大鼠学习记忆的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2016, 36(16): 3923-3924.
- [9] Liu W, Guo Q, Zhao H. Oxidative stress-elicited YY1 potentiates antioxidative response via enhancement of NRF2-driven transcriptional activity: A potential neuronal defensive mechanism against ischemia/reperfusion cerebral injury[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 108: 698-706.
- [10] Pan L, Zhou Y, Li XF, Preventive treatment of astaxanthin provides neuroprotection through suppression of reactive oxygen species and activation of antioxidant defense pathway after stroke in rats [J]. *Brain Res Bull*, 2017, 130: 211-220.
- [11] Han Z, Gao LY, Lin YH, et al. Neuroprotection of taurine against reactive oxygen species is associated with inhibiting NADPH oxidases[J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 15(777): 129-135.
- [12] Singh V, Krishan P, Shri R. Antioxidant-mediated neuroprotection by *Allium schoenoprasum* leaf extract against ischemia reperfusion-induced cerebral injury in mice[J]. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 2018, 29(4): 403-410.
- [13] Tiwari HS, Misra UK, Kalita J, et al. Oxidative stress and glutamate excitotoxicity contribute to apoptosis in cerebral venous sinus thrombosis[J]. *Neurochem Int*, 2016, 100: 91-96.
- [14] Prasad S, Sajja RK, Kaisar MA, et al. Role of Nrf2 and protective effects of Metformin against tobacco smoke-induced cerebrovascular toxicity [J]. *Redox Biol*, 2017, 12: 58-69.
- [15] Finley J. Cellular stress and AMPK activation as a common mechanism of action linking the effects of metformin and diverse compounds that alleviate accelerated aging defects in Hutchinson-Gilford progeria syndrome [J]. *Med Hypotheses*, 2018, 118: 151-162.
- [16] Zhou F, Wang M, Ju J, et al. Schizandrin a protects against cerebral ischemia-reperfusion injury by suppressing inflammation and oxidative stress and regulating the AMPK/Nrf2 pathway regulation [J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(1): 199-209.

(此文编辑 朱雯霞)