

本文引用: 刘香楠, 李庭庭, 张 昕, 等. 氢分子通过减轻氧化应激损伤和上调能量代谢减轻重度创伤性脑损伤大鼠心肌损伤[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(9): 756-762. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2024.09.003.

• 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2024)32-09-0756-07

氢分子通过减轻氧化应激损伤和上调能量代谢减轻重度创伤性脑损伤大鼠心肌损伤

刘香楠^{1,2}, 李庭庭², 张 昕², 杨万超²

1. 首都儿科研究所附属儿童医院麻醉科, 北京市 100020; 2. 哈尔滨医科大学附属第二医院麻醉科, 黑龙江省哈尔滨市 150086

[摘要] **[目的]** 探究氢分子对重度创伤性脑损伤(TBI)大鼠心肌损伤的作用及机制。**[方法]** 利用液压冲击损伤(FPI)法诱导TBI模型。72只SD大鼠随机分为假手术组、TBI组和氢分子治疗组,每组24只,术后48h处死大鼠。HE染色观察心肌损伤及粒细胞浸润情况;ELISA检测超氧化物歧化酶(SOD)水平;Western blot检测髓过氧化物酶(MPO)和血红素加氧酶1(HO-1)蛋白的表达;RT-qPCR检测心肌钙蛋白T(cTnT)、抑制因子1(IF-1)、NADH/泛醌氧化还原酶核心亚基S7(NDUFS7)、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADP)和还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)水平。观察并记录大鼠创伤后超声心动图的变化、7天生存率和体质量的变化。**[结果]** 与假手术组相比,TBI组大鼠cTnT水平明显升高,超声心动图结果显示左心室舒张期末内径(LVEDD)升高,左心室射血分数(LVEF)、左心室短轴缩短率(LVFS)显著降低,经氢分子治疗后上述病理改变显著改善。TBI组心肌组织间存在心肌条索紊乱并伴随红细胞浸润,心肌纤维的切面粒细胞浸润显著,上述病理表征在氢分子治疗组中得到改善。大鼠术后体质量大幅降低,大约5天降至最低水平,后呈缓慢恢复趋势;mNSS评分结果显示,TBI后大鼠神经功能呈重度损伤,术后心肌组织MPO、HO-1蛋白表达增多,SOD的表达降低,氢分子治疗后上述病理改变得到显著改善。TBI组心肌细胞NADPH、IF-1和NDUFS7表达水平降低,氢分子治疗后上述指标表达水平显著提高。**[结论]** 氢分子可能通过协同增强线粒体氧化呼吸链上的IF-1和NDUFS7的蛋白表达来提高心肌细胞线粒体的能量代谢,降低心肌的氧化应激,提高TBI急性期的心脏功能和生存率。

[关键词] 氢分子; 创伤性脑损伤; 心肌损伤; 氧化应激; 能量代谢

[中图分类号] R74;R5

[文献标识码] A

Hydrogen molecule alleviates myocardial injury in rats with severe traumatic brain injury by alleviating oxidative stress damage and upregulating energy metabolism

LIU Xiangnan^{1,2}, LI Tingting², ZHANG Xin², YANG Wanchao²

1. Department of Anesthesiology, Affiliated Children's Hospital of Capital Institute of Pediatrics, Beijing 100020, China;

2. Department of Anesthesiology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang 150086, China

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect and mechanism of hydrogen molecule on myocardial injury in severe traumatic brain injury (TBI) rats. **Methods** Using the fluid percussion injury (FPI)-induced TBI model. 72 SD rats were randomly divided into sham group, TBI group and hydrogen molecule-treated group, with 24 rats in each group, and the rats were executed at 48 h after the operation. HE staining was used to observe the myocardial injury and the infiltration of granulocytes, ELISA was used to detect the level of superoxide dismutase (SOD), Western blot was used to detect the expression of inflammation-related factors myeloperoxidase (MPO) and heme oxygenase-1 (HO-1) protein, RT-qPCR was used to detect the levels of cardiac troponin T (cTnT), inhibitory factor-1 (IF-1), NADH/ubiquinone oxidoreductase core subunit S7 (NDUFS7), nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP) and reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH). The changes of post-traumatic echocardiography and the 7-day survival rate

[收稿日期] 2023-12-28

[修回日期] 2024-04-30

[基金项目] 中央支持地方高校改革发展资金青年骨干人才项目(黑财教[2021]137号)

[作者简介] 刘香楠, 硕士研究生, 住院医师, 研究方向为气体分子在器官保护中的基础研究与临床应用, E-mail: lxn3270080056@163.com. 通信作者杨万超, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为气体分子在器官保护中的基础研究与临床应用, E-mail: dachao_1980@126.com。

and body weight in the rats were observed and recorded. **Results** Compared with the sham group, rats in the TBI group had significantly higher troponin levels, and the echocardiographic results showed higher left ventricular end-diastolic diameter (LVEDD) and significantly lower left ventricular ejection fraction (LVEF), left ventricular fractional shortening (LVFS), and the above pathologic changes were significantly improved after treatment with the hydrogen molecule. Myocardial tissue was disorganized with erythrocyte infiltration, and myocardial fibers were infiltrated with granulocytes in the section, which were improved in the hydrogen molecule-treated group. The body weight of the rats decreased dramatically after the operation, and about 5 days later dropped to the lowest level, and then showed a trend of slow recovery. mNSS scores showed that the neurological function of the rats was severely impaired after TBI, and the postoperative myocardial tissues showed an increase in the expression levels of MPO and HO-1 proteins and a decrease in the expression levels of SOD, and the above pathologic changes were significantly improved by hydrogen molecule treatment. In the TBI group, the expression levels of NADPH, IF-1 and NDUFS7 were reduced, and the expression levels of the above indicators were significantly increased after hydrogen molecule treatment. **Conclusion** Hydrogen molecule may be able to increase mitochondrial energy metabolism in cardiomyocytes and reduce myocardial oxidative stress by synergistically enhancing the protein expression of IF-1 and NDUFS7 on the mitochondrial oxidative respiratory chain to increase cardiac function and survival rate in the acute phase of TBI.

[**KEY WORDS**] hydrogen molecule; traumatic brain injury; myocardial injury; oxidative stress; energy metabolism

创伤性脑损伤(trumatic brain injury, TBI)导致的心肌损伤是 TBI 急性期死亡的重要因素。有研究表明线粒体功能障碍是 TBI 继发损伤的关键环节,但目前尚缺乏对 TBI 继发心肌损伤的机制和治疗措施的深入探索^[1-2]。心脏是机体最大的耗能器官,心肌能量的供应离不开线粒体的正常功能^[3]。有研究证实通过协同促进线粒体复合体 I 和 ATP 合酶的活性来特异性地促进细胞的氧化磷酸化进而改善细胞的生存情况^[4]。氢分子作为目前最有潜力的医学气体,针对氢分子的能量代谢调节方面成为近年来创新应用点^[5-6]。已有研究证实氢分子治疗能够显著提高 TBI 后的生存率及神经转归,但针对心肌损伤方面机制不清楚^[7-8]。本研究通过构建 TBI 大鼠模型,探讨氢分子对大鼠心肌组织抑制因子 1 (inhibitory factor-1, IF-1)、NADH/泛醌氧化还原酶核心亚基 S7 (NADH/ubiquinone oxidoreductase core subunit S7, NDUFS7) 的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物

选择健康的 SPF 级雄性 SD 大鼠,体质量 250 ~ 300 g, 8 ~ 10 周龄,购于哈尔滨医科大学实验动物中心,严格遵循动物实验伦理,提供清洁舒适的生活环境,自由摄取保证健康的、充足的食物和饮用水。

1.2 主要的试剂和仪器

内参 β -actin、血红素加氧酶 1 (heme oxygenase-

1, HO-1) 抗体、髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO) 抗体、羊抗兔 IgG-HRP 购自沈阳万类科技有限公司,超敏 ECL 化学发光试剂、BCA 法测定蛋白浓度试剂盒、RIPA 裂解液、蛋白酶抑制剂、Western 一抗稀释液、Beyo RT II M-MLV 反转录酶购自江苏碧云天生物技术有限公司,TRI pure、RNase 抑制剂购自北京 BioTeke 公司,2 \times Taq PCR Master Mix、SYBR Green 购自北京索莱宝科技有限公司。

1.3 大鼠模型的制备及分组

以 1% 戊巴比妥钠 (40 mg/kg) 腹腔注射麻醉大鼠,气管插管,随后对大鼠脑部进行碘伏消毒,备皮,使用 2% 利多卡因进行头皮麻醉,使用手术器械暴露大鼠右侧颅骨,在距离冠状缝后 3 mm、矢状缝右 3 mm 处使用牙科磨钻一直径约 5 mm 的圆孔,在同时保证硬脑膜完整的同时,将颅骨圆孔与液压冲击装置相连,使用牙胶封闭连接处,防止压力外溢,待牙胶干涸后,将摆锤固定在 19° 的位置,松开摆锤,摆锤敲击液柱将无菌盐水冲入颅内,形成重度 TBI 模型。若大鼠丧失自主呼吸,将小动物呼吸机与气管插管连接并机械通气,直至大鼠恢复自主呼吸。假手术组大鼠只进行颅骨钻孔,不进行液压冲击。

通过 AMS H-01 氢氧气雾化机电解蒸馏水制备氢分子,使用氮气充盈呼吸回路。待 TBI 模型成功建立后,将氢分子治疗组大鼠放置在装有金属防爆箱的密闭空间中,通过二氧化碳吸收装置、氢分子浓度检测仪,使大鼠处于 42% H₂、21% O₂、37% N₂

的混合气体中。氢分子治疗组大鼠在损伤发生后立即开始氢分子吸入,吸入时间为 2 h,之后每天同一时间点吸入,持续 7 天。

1.4 ELISA 检测

术后 48 h,在腹腔注射致死量戊巴比妥钠后,穿刺颈动脉取血,4 ℃、3 000 r/min 离心 15 min,获得上清。在 ELISA 试剂盒说明书的指导下操作,检测外周血中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)水平,用于反应全身应激情况。

1.5 Western blot 检测

术后 48 h,在腹腔注射戊巴比妥钠(40 mg/kg)深麻醉下,无菌器械迅速打开胸腔,在冰板上取出完整心脏,迅速放入冰盒中,转运至-80 ℃冰箱内冻存。镊子取出适量心肌组织,按照蛋白质抽提和定量、制胶、上样、电泳、转膜、封闭、孵育一抗、孵育二抗、显影的步骤检测氧化应激相关蛋白 HO-1 和 MPO。

1.6 HE 染色

将术后 48 h 的大鼠心脏制备为石蜡组织块,利用石蜡切片机、展片机和烘片机制作石蜡心肌组织玻片;将玻片依次放入二甲苯Ⅱ、二甲苯Ⅰ、无水乙醇Ⅱ、无水乙醇Ⅰ、95%乙醇、90%乙醇、85%乙醇、75%乙醇浸泡,蒸馏水浸泡清洗 5 min,去除玻片多余水分,加入苏木精染色 5 min,蒸馏水漂洗 5 min 洗去多余染料,除去玻片多余的水分;加入伊红试剂染色 2 min,蒸馏水漂洗多余染料;将玻片依次放入 75%乙醇、85%乙醇、90%乙醇、95%乙醇、无水乙醇Ⅰ、无水乙醇Ⅱ、二甲苯Ⅰ、二甲苯Ⅱ浸泡脱水;取出玻片,滴加中性树胶,盖上盖玻片,在显微镜下进行观察。

1.7 RT-qPCR 检测

术后 48 h,在大鼠处于深麻醉下迅速打开胸腔取出心脏,将其置于冰板后快速转放至无酶 EP 管中,将无酶 EP 管置于冰中,随后快速转运至-80 ℃冰箱中冻存。在已经消毒好的无酶操作台上,严格按照试剂盒说明书进行如下操作:(1)总 RNA 提取;(2)RNA 浓度检测;(3)反转录;(4)实时荧光定量分析心肌肌钙蛋白 T(cardiac troponin T, cTnT)、IF-1、NDUFS7、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADP)和还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)水平。

1.8 超声心动图检测

术前 1 天、术后 24 h 行超声心动图检测。为保

证检测的准确性,检测前使用剃毛器和脱毛膏除去大鼠左胸部所有鼠毛。检测时在 40 mg/kg 戊巴比妥钠腹腔注射下,大鼠左侧卧位,将涂有耦合剂的超声探头放置于大鼠胸部,整个过程操作轻柔快速。

1.9 mNSS 评分、体质量变化及生存情况

记录大鼠术前体质量(初始体质量)、术后 7 天同一时间点体质量(当日体质量),体质量变化率=当日体质量/初始体质量×100%。术后 1~7 天中每天同一时间对入组大鼠进行改良的神经功能评分,包括运动试验,即将大鼠放置于地面,进行感觉试验、平衡木试验、反射丧失和反常运动等项目的评估,评分越高代表神经功能受损越严重。每日记录并观察大鼠的存活情况,计算生存率。

1.10 统计学分析

使用 SPSS 22.0 和 GraphPad Prism 9.5 对实验数据进行统计分析,正态分布数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用双尾 *t* 检测,非正态分布计量资料采用 *U* 检验,连续测量统计数据采用重复测量方差分析,单日组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 氢分子减轻心肌损伤

与假手术组相比,TBI 组 cTnT 水平升高约 1 倍,发生了心肌损伤;与 TBI 组相比,氢分子治疗组 cTnT 水平降低约 8 倍,可见心肌损伤减轻(均 $P < 0.001$;图 1A)。大鼠超声心动图检测结果显示:与假手术组相比,TBI 组左心室舒张期末内径(left ventricular end-diastolic diameter, LVEDD)升高 21.89% ($P < 0.05$),说明可能存在心室水肿;与 TBI 组相比,氢分子治疗组左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)、左心室短轴缩短率(left ventricular fractional shortening, LVFS)升高 12.43% 和 16.95% (均 $P < 0.01$;图 1B、1C、1D 和 1E)。表明 TBI 会引起大鼠的急性心功能障碍,氢分子治疗减轻了大鼠的急性心功能障碍。

2.2 氢分子减轻心肌病理损伤

对比假手术组的正常心肌结构,TBI 组心肌组织间存在紊乱的心肌条索并伴随红细胞浸润,且肌纤维的切面中发现粒细胞浸润;上述病理表征在氢分子治疗组中得到改善,氢分子治疗显著改善 TBI 后心肌病理损伤(图 2)。

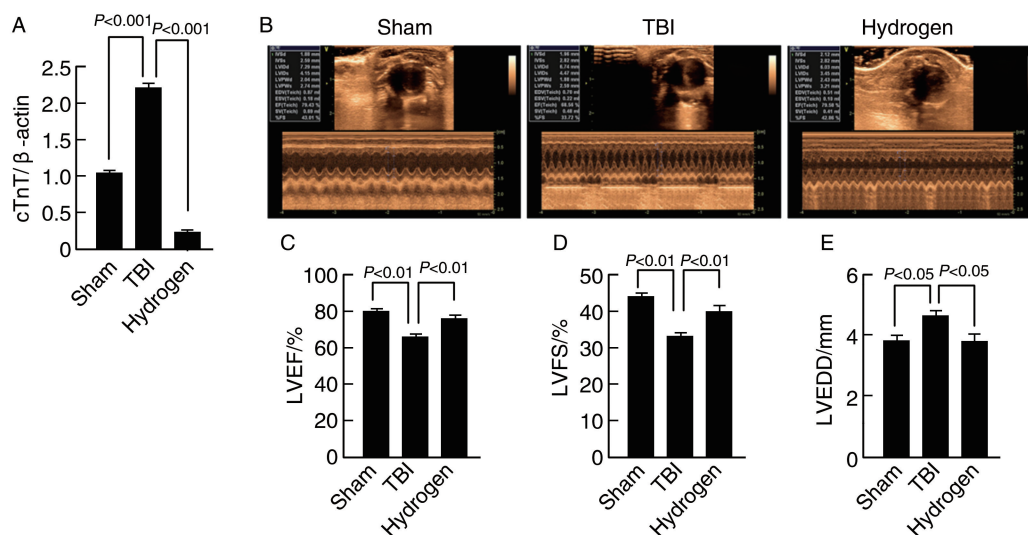


图 1. 氢分子治疗后 TBI 大鼠心肌损伤标志物及超声心动图变化 (n=24)

Figure 1. Myocardial injury markers and echocardiographic changes in TBI rats after hydrogen molecular treatment (n=24)

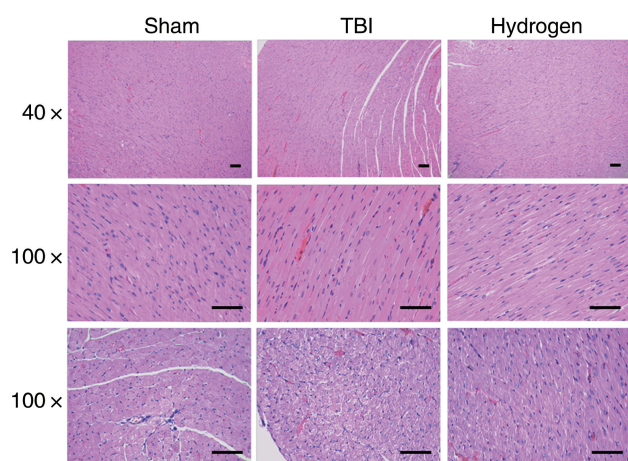


图 2. 氢分子治疗后 TBI 大鼠心肌组织病理切片 (n=24)
HE 染色, 图中第一、二行为心肌纵切片, 第三行为心肌横切片。

Figure 2. Histopathologic section of myocardium of TBI rats after hydrogen molecular treatment (n=24)

2.3 mNSS 评分、体质量及生存率变化

假手术组大鼠神经功能评分趋于一致, 未见明显异常; 与假手术组相比, TBI 组大鼠术后即刻显示神经功能明显异常 ($P<0.05$), 同时具有缓慢的自愈倾向; 与 TBI 组相比, 氢分子治疗组大鼠快速显示正向神经转归效应 ($P<0.05$), 并显著促进恢复速度, 加快自愈趋势 (图 3A)。假手术组大鼠体质量增长趋势较为平稳, TBI 组大鼠体质量在术后出现大幅度降低, 约 5 天降低至最低水平, 下降了 22.25%, 随后以缓慢的速度回升; 氢分子治疗组大鼠术后体质量减轻幅度较小, 且约 4 天左右降至最低点, 并以较快的速度回升 (图 3B)。TBI 组大鼠死亡时间主要在术后 24 h 或 48 h, 氢分子治疗组大鼠生存率高于 TBI 组 (图 3C)。

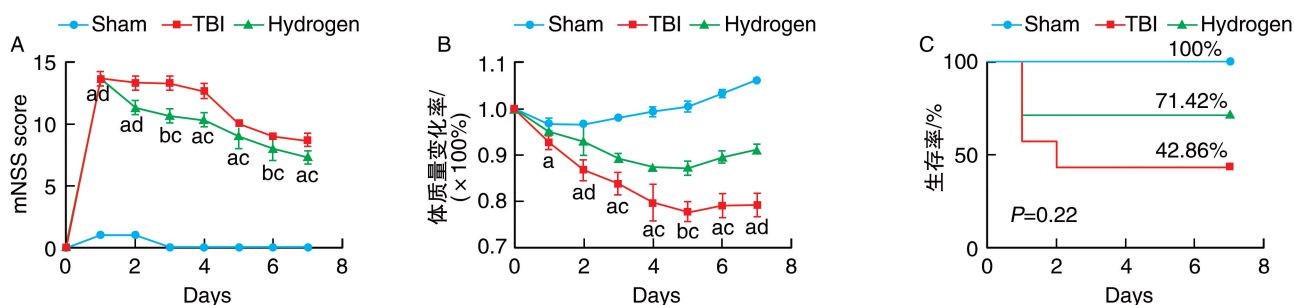


图 3. 氢分子治疗后 TBI 大鼠 mNSS 评分、体质量及生存率变化 (n=24)

a 为 $P<0.05$, b 为 $P<0.01$, 与假手术组比较; c 为 $P<0.05$, d 为 $P<0.01$, 与 TBI 组比较。

Figure 3. Changes in mNSS score, body weight and survival rate in TBI rats after hydrogen molecular treatment (n=24)

2.4 氧化应激水平变化

与假手术组相比, TBI 组大鼠术后心肌组织 MPO、HO-1 蛋白表达增多, 血液中的 SOD 水平降低 ($P<0.001$), 提示氧化应激水平较高; 与 TBI 组相

比, 氢分子治疗组大鼠心肌组织 MPO、HO-1 蛋白表达降低 ($P<0.001$ 或 $P<0.05$), 血液中的 SOD 水平升高 ($P<0.05$), 提示氧化应激水平得到显著改善 (图 4)。

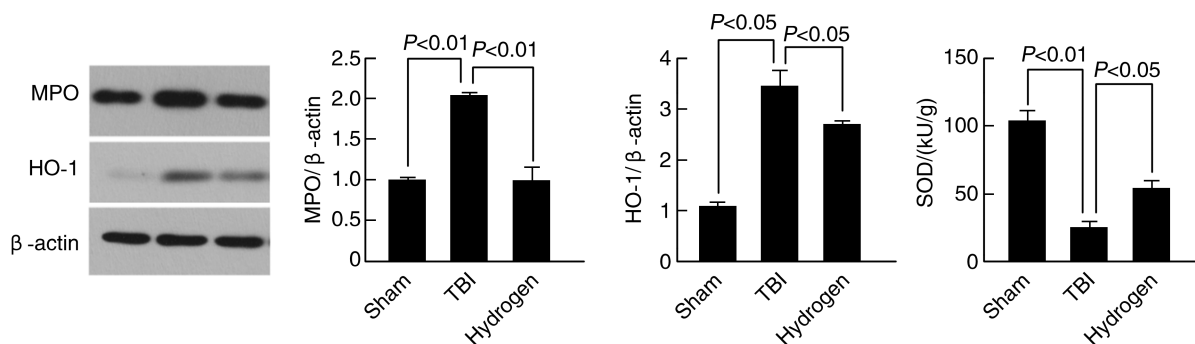


图 4. 氢分子治疗后 TBI 大鼠心肌组织氧化应激水平 ($n=24$)

Figure 4. Oxidative stress levels in myocardial tissue of TBI rats after hydrogen molecule treatment ($n=24$)

2.5 心肌能量变化及 IF-1、NDUFS7 表达

与假手术组相比, TBI 组大鼠心肌细胞 NADPH 表达水平差异无统计学意义, NADH、IF-1、NDUFS7 表达水平显著降低 ($P<0.01$); 与 TBI 组相比, 氢分

子治疗组心肌细胞 NADH、NADPH、IF-1、NDUFS7 表达水平显著升高 ($P<0.01$)。以上结果表明氢分子治疗可明显促进线粒体能量代谢水平 (图 5)。

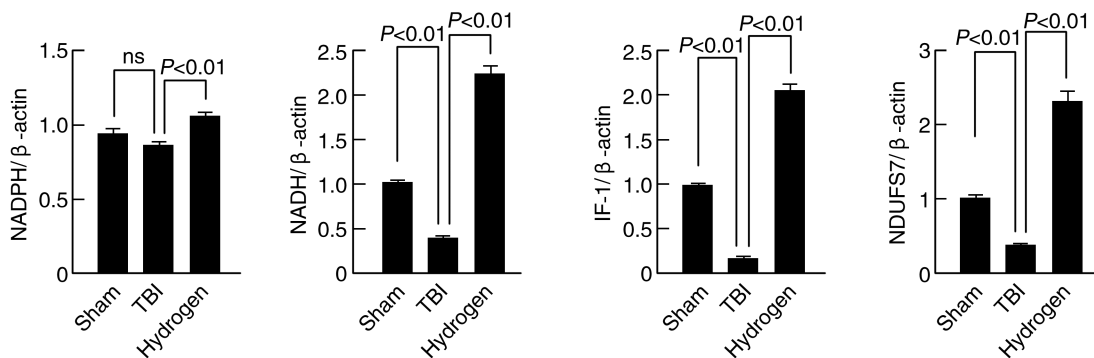


图 5. 氢分子治疗后 TBI 大鼠心肌组织能量相关指标表达水平 ($n=24$)

Figure 5. Expression levels of energy-related indexes in myocardial tissue of TBI rats after hydrogen molecule treatment ($n=24$)

3 讨论

TBI 是目前年轻人致死、致残的主要疾病之一, 为社会经济与社会生产力带来极大负担^[9]。中重度 TBI 后可继发心肌损伤, 引发心功能障碍, 与 TBI 急性期死亡率密切相关^[3]。既往研究表明, 氢分子可作为线粒体氧化呼吸链 Q 周期中电子和质子的供体, 增加心肌细胞内 ATP 的产生, 从而发挥预防或治疗心肌线粒体功能受损的疾病状态的作用^[10]。本研究证实, 氢分子治疗显著减轻大鼠 TBI 后继发

心肌损伤程度, 提高 LVEF, 上调心肌细胞内线粒体能量水平, 降低心肌组织的氧化应激水平, 降低大鼠急性期的死亡率; 同时, 氢分子上调心肌细胞内线粒体能量代谢水平, 其保护机制可能与氢分子通过协同促进 ATP 合酶中的 IF-1 和复合体 I 中的 NDUFS7 表达增加相关。

NADH 和 NADPH 作为线粒体内重要的辅酶, 参与三大物质代谢, 能量循环与氧化还原反应^[11-12], 且 NADH 可通过糖酵解及三羧酸循环等能量代谢途径与胞内的生物氢载体和电子供体形成

关联^[12]。与此同时,NADPH 是细胞内抗氧化系统的重要组成部分,可以通过抵御活性氧的损伤减轻细胞的氧化应激^[13]。故本研究选择 NADH 及 NADPH 作为衡量胞内氧化应激水平的指标。RT-qPCR 检测结果显示,氢分子可能通过提高心肌细胞能量代谢并加强心肌的抗氧化能力改善 TBI 继发心肌损伤的程度。

IF-1 可以调节 ATP 酶/合酶活性,是位于线粒体基质中的关键蛋白;在不同的生理或病理条件下,IF-1 发挥不同的能量调节作用。在缺氧等病理条件下,IF-1 抑制 ATP 合酶的水解活性,防止 ATP 耗竭造成细胞死亡^[14]。该项研究表明,在缺氧、交感神经兴奋等条件下,线粒体氧化磷酸化水平降低,导致线粒体膜电位下降,为了维持膜电位水平大量的 ATP 水解,最终导致细胞死亡^[15]。而 IF-1 的高表达抑制 ATP 合酶起到维持细胞内 ATP 水平的稳定,从而延缓损伤和细胞死亡的作用^[16]。在 TBI 继发心肌损伤的病理机制中,TBI 诱发交感神经亢进使儿茶酚胺分泌过多导致心肌微小状坏死,这种病理机制正是缺血导致缺氧进而造成心肌细胞损伤。此外,IF-1 的高表达还可以促进糖酵解通路上调,从而有效改善缺氧状态下的能量供应^[17]。在这种情况下,通过糖酵解通路来增加 ATP 合成弥补细胞能量的不足,从而提高细胞内 ATP 的利用率。因此,本研究对于 IF-1 的 PCR 结果证明,氢分子可能通过显著提高 IF-1 的表达,满足在该病理条件下心肌细胞对能量的需求进而降低心肌损伤。

同时,IF-1 还可能在对线粒体 ROS 产生的调节。mROS 是 OXPHOS 必不可少的副产物。研究表明,在严重缺氧条件下,IF-1 沉默的细胞中线粒体内和细胞质基质内 ROS 水平升高,这种结论揭示了 IF-1 与 ROS 水平之间可能存在较为复杂的关系^[18-19]。因此,本研究中氧化应激水平的下降可能是氢分子本身具有抗氧化应激的能力和通过 IF-1 间接调节的共同结果。

IF-1 还可能通过使 ATP 酶发生二聚化从而保护线粒体嵴结构这一途径进而提高线粒体的能量代谢^[19-20]。线粒体作为生物体产生能量的关键细胞器,由光滑的外膜和高度卷曲的内膜封闭而成。线粒体在真核细胞中表现出高度的动态性,并且能够维持机体的正常功能。线粒体内膜的皱褶构成了线粒体嵴,这种皱褶不仅扩大了内膜表覆盖面,而且还提高了线粒体能量代谢效率,从而改善了生物体的功能性能。嵴的形态发生和结构可受 ATP 合酶的协同调节,通过 ATP 酶的二聚体则可驱动线

粒体内膜的凹陷形成嵴并维持嵴的尖端形成带状,保持其曲率^[21]。IF-1 通过与 ATP 酶结合,稳定其二聚化作用,从而参与线粒体嵴结构的重塑^[22-23]。根据本研究结果,氢分子可能通过调节 IF-1 进而保护线粒体嵴超微结构这一途径来提高线粒体的能量代谢。

一项关于线粒体 IF-1 的能量方面的研究表明,IF-1 表达下调伴随线粒体复合体 I 上 NDUFS7 的表达改变,影响细胞的能量代谢^[4]。本研究结果证明,氢分子治疗协同增强了 IF-1 和 NDUFS7 的表达,进而促进线粒体能量代谢。

尽管本研究取得了一定的成果,但仍存有一些不足之处,比如由于仪器限制,本研究未能设计多种氢分子浓度,未能探究 TBI 继发心脏损伤的最优治疗浓度,也未能将呼吸机对心肺损伤的影响排除在外,这些都是本研究需要改进的地方。

综上所述,氢分子能够提高心肌细胞线粒体的能量代谢,降低心肌的氧化应激进而降低心肌损伤标志物 cTnT 的表达,提高 TBI 急性期的心脏射血分数和生存率,氢分子的治疗作用可能与协同促使线粒体氧化呼吸链上的 IF-1 和 NDUFS7 的表达升高有关。

[参考文献]

- [1] ZHU K J, HUANG H, CHU H, et al. Alterations in enterocyte mitochondrial respiratory function and enzyme activities in gastrointestinal dysfunction following brain injury [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(28): 9585-9591.
 - [2] IZZY S, GRASHOW R, RADMANESH F, et al. Long-term risk of cardiovascular disease after traumatic brain injury: screening and prevention [J]. *Lancet Neurol*, 2023, 22(10): 959-970.
 - [3] PRATHEP S, SHARMA D, HALLMAN M, et al. Preliminary report on cardiac dysfunction after isolated traumatic brain injury [J]. *Crit Care Med*, 2014, 42(1): 142-147.
 - [4] NUEVO-TAPIOLES C, SANTACATTERINA F, STAMATAKIS K, et al. Coordinate β -adrenergic inhibition of mitochondrial activity and angiogenesis arrest tumor growth [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 3606.
 - [5] PERVEEN I, BUKHARI B, NAJEEB M, et al. Hydrogen therapy and its future prospects for ameliorating COVID-19: clinical applications, efficacy, and modality [J]. *Bio-medicines*, 2023, 11(7): 1892.
 - [6] 邢恩桐, 郑盼盼, 周华成. 冷缺血期氢混合气膨肺对大鼠肺移植后的能量代谢保护作用 [J]. *临床麻醉学杂志*, 2020, 36(5): 473-478.
- XING E T, ZHENG P P, ZHOU H C. Protective effect of

- hydrogen mixture on energy metabolism of rat lung grafts during cold ischemia[J]. *J Clin Anesthesiol*, 2020, 36(5): 473-478.
- [7] 王跃振, 李庭庭, 曹红玲. 吸入高浓度氢气对大鼠创伤性脑损伤的影响[J]. *临床麻醉学杂志*, 2019, 35(10): 1011-1015.
- WANG Y Z, LI T T, CAO H L. Effects of inhaling high concentration hydrogen on traumatic brain injury in rats[J]. *J Clin Anesthesiol*, 2019, 35(10): 1011-1015.
- [8] PINTO S M, WRIGHT B, ANNASWAMY S, et al. Heart rate variability (HRV) after traumatic brain injury (TBI): a scoping review[J]. *Brain Inj*, 2024, 8: 1-22.
- [9] JIANG J Y, GAO G Y, FENG J F, et al. Traumatic brain injury in China[J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18(3): 286-295.
- [10] GVOZDJÁKOVÁ A, KUCHARSKÁ J, KURA B, et al. A new insight into the molecular hydrogen effect on coenzyme Q and mitochondrial function of rats[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2020, 98(1): 29-34.
- [11] BLACKER T S, DUCHEN M R. Investigating mitochondrial redox state using NADH and NADPH autofluorescence[J]. *Free Radic Biol Med*, 2016, 100: 53-65.
- [12] YING W H. NAD^+/NADH and $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ in cellular functions and cell death: regulation and biological Consequences[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2008, 10(2): 179-206.
- [13] LUNT S Y, VANDER HEIDEN M G. Aerobic glycolysis: meeting the metabolic requirements of cell proliferation[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2011, 27: 441-464.
- [14] GARCÍA-BERMÚDEZ J, SÁNCHEZ-ARAGÓ M, SOLDEVILLA B, et al. PKA phosphorylates the ATPase inhibitory factor 1 and inactivates its capacity to bind and inhibit the mitochondrial H^+ -ATP synthase[J]. *Cell Rep*, 2015, 12(12): 2143-2155.
- [15] SANTACATTERINA F, SÁNCHEZ-CENIZO L, FORMENTINI L, et al. Down-regulation of oxidative phosphorylation in the liver by expression of the ATPase inhibitory factor 1 induces a tumor-promoter metabolic state[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(1): 490-508.
- [16] SÁNCHEZ-ARAGÓ M, CHAMORRO M, CUEZVA J M. Selection of cancer cells with repressed mitochondria triggers colon cancer progression[J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(4): 567-576.
- [17] MARTÍNEZ-REYES I, SÁNCHEZ-ARAGÓ M, CUEZVA J M. AMPK and GCN2-ATF4 signal the repression of mitochondria in colon cancer cells[J]. *Biochem J*, 2012, 444(2): 249-259.
- [18] PALMEIRA C M, TEODORO J S, AMORIM J A, et al. Mitohormesis and metabolic health: the interplay between ROS, cAMP and sirtuins[J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 141: 483-491.
- [19] 郭茹, 蔺雪峰, 李阳, 等. ATP敏感性钾通道调控NADPH氧化酶2介导心肌缺血再灌注损伤的研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2021, 29(8): 725-731.
- GUO R, LIN X F, LI Y, et al. Research progress of ATP-sensitive potassium channel mediated myocardial ischemia reperfusion injury by regulating NADPH oxidase-2[J]. *Chin J Arterioscler*, 2021, 29(8): 725-731.
- [20] GORE E, DUPARC T, GENOUX A, et al. The multifaceted ATPase inhibitory factor 1 (IF1) in energy metabolism reprogramming and mitochondrial dysfunction: a new player in age-associated disorders? [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2022, 37(4/6): 370-393.
- [21] FERNÁNDEZ-CÁRDENAS L P, VILLANUEVA-CHIMAL E, SALINAS L S, et al. *Caenorhabditis elegans* ATPase inhibitor factor 1 (IF1) MAI-2 preserves the mitochondrial membrane potential ($\Delta\psi_m$) and is important to induce germ cell apoptosis[J]. *PLoS One*, 2017, 12(8): e0181984.
- [22] CUEZVA J M, DOMÍNGUEZ-ZORITA S. The ATPase inhibitory factor 1 (IF1) contributes to the warburg effect and is regulated by its phosphorylation in S39 by a protein kinase a-like activity[J]. *Cancers (Basel)*, 2024, 16(5): 1014.
- [23] DOMÍNGUEZ-ZORITA S, CUEZVA J M. The mitochondrial ATP synthase/IF1 axis in cancer progression: targets for therapeutic intervention[J]. *Cancers (Basel)*, 2023, 15(15): 3775.
- (此文编辑 文玉珊)