

中图分类号: R932; R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)21-0061-07
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.21.014



三七茎叶总皂苷抑制七氟醚诱导的海马神经元凋亡机制研究

文艳¹, 温旭², 李靖³, 李洋¹, 黄先全¹, 刘康⁴

(1. 四川省南充市中医医院, 四川 南充 637000; 2. 四川绵阳四〇四医院, 四川 绵阳 621000; 3. 四川省仪陇县人民医院, 四川 南充 637600; 4. 四川省南充市中心医院, 四川 南充 637000)

摘要:目的 探讨三七茎叶总皂苷(PNSLS)调节七氟醚诱导海马神经元凋亡的作用机制。方法 以不同剂量七氟醚(0, 4.1%, 8%)干预小鼠海马神经元细胞系 HT22, 使用不同质量浓度的 PNSLS(1.5, 3.0, 6.0, 12.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)预处理神经元。将 HT22 细胞分为对照组、暴露于 4.1% 七氟醚的细胞组(4.1% Sev 组)、使用 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ PNSLS 对细胞进行预处理 1 h 后将细胞暴露于 4.1% 七氟醚组(4.1% Sev + PNSLS 组)、在 PNSLS 处理前 1 h 加入丝裂原激活蛋白激酶(MAPK)激活剂 anisomycin(An)再暴露于七氟醚和 PNSLS 的共培养组(4.1% Sev + PNSLS + An 组)。通过 CCK-8 法检测神经元活力, 流式细胞术及免疫印迹(Western blot)法检测海马神经元凋亡, 比色活性测定试剂盒测定胱天蛋白酶-3(caspase-3)活性, Western blot 法测定内质网应激相关蛋白及 p38 MAPK / 核转录因子- κB p65(p38 MAPK / NF- κB p65)信号通路相关蛋白的表达水平。结果 4.1% 七氟醚显著抑制海马神经元活力($P < 0.05$), 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ PNSLS 显著升高神经元活力并抑制海马神经元凋亡($P < 0.05$)。与 Sev 组比较, Sev + PNSLS 组细胞中凋亡蛋白 Bax 表达水平显著降低($P < 0.05$), B 细胞淋巴瘤 2 家族蛋白(Bcl-2)表达水平显著升高($P < 0.05$), caspase-3 活性显著降低($P < 0.05$); Sev + PNSLS 组内质网应激诱导的凋亡信号通路相关蛋白 78 000 葡糖调节蛋白(GRP78)、内质网应激相关蛋白(CHOP)表达水平均显著降低($P < 0.01$), p38 和 I $\kappa\text{B}\alpha$ 的磷酸化水平均显著降低($P < 0.01$), 细胞质中 NF- κB p65 水平显著升高($P < 0.01$), 细胞核中 NF- κB p65 水平显著降低($P < 0.01$)。与 Sev + PNSLS 组比较, Sev + PNSLS + An 组 p38 和 I $\kappa\text{B}\alpha$ 的磷酸化水平均显著升高($P < 0.01$), 细胞质中 NF- κB p65 水平显著降低($P < 0.01$), 细胞核中 NF- κB p65 水平显著升高($P < 0.01$), 海马神经元活力显著降低($P < 0.01$), 凋亡率显著升高($P < 0.01$)。结论 PNSLS 通过激活 p38 MAPK / NF- κB p65 信号通路抑制七氟醚诱导的神经元凋亡。

关键词:七氟醚; 三七茎叶总皂苷; p38 丝裂原激活蛋白激酶; 核转录因子- κB p65; 胱天蛋白酶-3; 神经元凋亡; 内质网应激

Mechanism of Stem-Leaf Saponins from *Panax Notoginseng* Inhibiting Sevoflurane-Induced Neuronal Apoptosis

WEN Yan¹, WEN Xu², LI Jing³, LI Yang¹, HUANG Xianquan¹, LIU Kang⁴

(1. Nanchong Traditional Chinese Medicine Hospital, Nanchong, Sichuan, China 637000; 2. Mianyang 404 Hospital, Mianyang, Sichuan, China 621000; 3. People's Hospital of Yilong County, Nanchong, Sichuan, China 637600; 4. Nanchong Central Hospital, Nanchong, Sichuan, China 637000)

Abstract: Objective To investigate the mechanism of stem-leaf saponins from *Panax notoginseng* (PNSLS) regulating the apoptosis of sevoflurane (Sev)-induced neuronal apoptosis. **Methods** Different doses of sevoflurane (0, 4.1%, 8%) were used to intervene in the mouse hippocampal neuronal cell line HT22, and different concentrations of PNSLS (1.5, 3.0, 6.0, 12.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$) were used to pre-treat the neurons. HT22 cells were divided into the control group, 4.1% Sev group (cells were exposed to 4.1% Sev), and 4.1% Sev + PNSLS group (cells were pre-treated with 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ PNSLS for 1 h, and then they were exposed to 4.1% Sev), and 4.1% Sev + PNSLS + An group [MAPK activator anisomycin (An) was added 1 h before PNSLS treatment, and then the cells were co-cultured with Sev and PNSLS]. Neuronal activity was detected by the CCK-8 assay, the hippocampal neuronal apoptosis was detected by flow cytometry and Western blot, the activity of caspase-3 was determined by the colorimetric activity assay kit, and the expression levels of endoplasmic reticulum stress-related proteins and p38 mitogen-activated protein kinase / nuclear transcription factor- κB p65 (p38 MAPK / NF- κB p65) signaling pathway-related proteins were determined by Western blot. **Results** 4.1% Sev could significantly inhibit hippocampal neuronal activity ($P < 0.05$), 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ PNSLS could significantly increase neuronal activity and inhibit hippocampal neuronal apoptosis ($P < 0.05$). Compared with those in the Sev group, the expression level of PNSLS apoptotic protein Bax showed a significant decrease ($P < 0.05$), the expression level of Bcl-2 showed a significant increase ($P < 0.05$), and the caspase-3 activity showed a significant decrease in the Sev + PNSLS group ($P < 0.05$); the expression levels of apoptosis signaling pathway-related proteins GRP78 and CHOP induced by endoplasmic reticulum stress in the Sev + PNSLS group significantly reduced ($P < 0.01$); the phosphorylation levels of p38 and I $\kappa\text{B}\alpha$ significantly reduced ($P < 0.01$), the levels of NF- κB p65 in the cytoplasm significantly increased ($P < 0.01$), and the levels of NF- κB p65 in the nucleus significantly reduced in the Sev + PNSLS group ($P < 0.01$). Compared with those in the Sev + PNSLS group, the

第一作者: 文艳, 女, 大学本科, 主治医师, 研究方向为神经病理学, (电子信箱)470543039@qq.com。

phosphorylation levels of p38 and IB significantly increased ($P < 0.01$), the levels of NF- κ B p65 in the cytoplasm significantly reduced ($P < 0.01$), the levels of NF- κ B p65 in the nucleus significantly increased ($P < 0.01$), the hippocampal neuronal activity significantly reduced ($P < 0.01$), while the apoptosis rate significantly increased in the Sev + PNSLS + An group ($P < 0.01$). **Conclusion** PNSLS can inhibit sevoflurane-induced neuronal apoptosis by activating the p38 MAPK / NF- κ B p65 signaling pathway.

Key words: sevoflurane; stem-leaf saponins from *Panax notoginseng*; P38 mitogen-activated protein kinase; nuclear transcription factor- κ B p65; aspartate cysteine aspartate specific protease-3; neuronal apoptosis; endoplasmic reticulum stress

七氟烷诱导和恢复时间快,血/气分配系数低,临床常用作吸入式小儿和成人麻醉剂^[1-2]。两项前瞻性随机平行临床试验表明,七氟醚暴露可加重成人患者术后认知功能障碍^[3-4],甚至可能直接改变患儿脑结构和神经认知发育^[5-6]。最常见的七氟醚诱导的损伤为细胞凋亡,机制复杂多样^[7]。为此,临床中一直在寻找对抗神经元凋亡以减轻七氟醚诱导的神经认知障碍的方法^[8]。三七叶作为一种高效低毒的中草药^[9],其根和茎已用于治疗心血管疾病^[10]。三七及其提取物三七皂苷具有神经保护、抗炎、抗凋亡等作用^[11]。三七总皂苷主要从三七根中提取、纯化获得;三七茎叶中的主要活性成分为皂苷,化学结构主要为原人参二醇型,具有镇静催眠、镇痛、调血脂、抗炎、延缓衰老等作用^[12]。目前,三七茎叶总皂苷(PNSLS)已被证实具有保护神经的作用^[13-14]。本研究中探讨了PNSLS对七氟醚诱导神经元凋亡的调控机制。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与细胞

仪器:气密塑料室(AbbVie Inc.);PM 8060型气体监测器(德国Drager公司);NovoCyte型流式细胞仪(美国ACEA Biosciences公司);Model 680型酶标仪(美国Bio-Rad公司)。

试剂:PNSLS(吉林省中医药研究院,批号为2018-05-08);七氟醚(Merck Millipore, CAS号28523-86-6);100 U / mL青霉素和100 μ g / mL链霉素的Dulbecco's改良eagle培养基(DMEM,美国Gibco公司);丝裂原激活蛋白激酶(MAPK)激活剂anisomycin(批号为SC0132, 10 mmol / L), Annexin V-FITC / PI凋亡试剂盒(批号为C1075M), CCK-8试剂盒(批号为C0037), 胱天蛋白酶-3(caspase-3)活性检测试剂盒(批号为C1115), BCA蛋白质测定试剂盒(批号为P0009),均购于碧云天生物科技有限公司;抗Bax(ab32503, 1:1 000, 21 000), B细胞淋巴瘤2家族蛋白(Bcl2, ab32124, 1:1 000, 26 000), p38(ab170099, 1:1 000, 42 000), p-p38(ab4822, 1:1 000, 38 000), p65(ab32536, 1:1 000, 65 000), I κ B α (ab32518, 1:1 000, 36 000), p-I κ B α (1:1 000, ab133462, 36 000), 78 000葡糖调节蛋白(GRP78,

ab21685, 1:1 000, 78 000), β -微管蛋白(β -tubulin, ab6046, 1:500, 50 000), Histone H₃(ab1791, 1:2 000, 15 000),均购于美国Abcam公司;内质网应激相关蛋白(CHOP, Cell Signaling Technology, # 5554S, 1:1 000, 27 000)。

细胞:小鼠海马神经元细胞系HT22(rocell Life Science & Technology Co., Ltd., 批号为CL-0697, 以下简称HT22细胞)。

1.2 方法

细胞处理与分组:使用含10%胎牛血清、100 U / mL青霉素和100 μ g / mL链霉素的DMEM于37 $^{\circ}$ C、5% CO₂加湿培养温箱中培养HT22细胞,在具有入口和出口连接器的气密塑料室中进行细胞培养暴露。气密塑料室的入口用于调节七氟醚的浓度,与七氟醚蒸发器相连;用载气(95%空气、5% CO₂)中0, 4.1%, 8%七氟醚对气密塑料室充气15 min,利用气体监测器监测气密塑料室出口的七氟醚浓度,直至达到目标浓度。37 $^{\circ}$ C温度下保持密封6 h,对照细胞在37 $^{\circ}$ C、5% CO₂潮湿环境中生长,且不暴露于七氟醚。将HT22细胞分为对照组(Control组);暴露于4.1%七氟醚的细胞组(Sev组);使用6 μ g / mL PNSLS对细胞进行预处理1 h,再将细胞暴露于4.1%七氟醚组(Sev + PNSLS组);于PNSLS处理前1 h加入MAPK激活剂anisomycin(An)再暴露于七氟醚和PNSLS的共培养组(Sev + PNSLS + An组)。

CCK-8法测定细胞活力:取HT22细胞(1×10^4 个/孔),接种于96孔板中,培养过夜,使细胞附着在板底部,向每孔加入10 μ L CCK-8试剂,放回培养箱中继续培养2 h。从96孔板取出,并置多功能酶标仪中,于450 nm波长处测量每个孔的吸光度(OD),计算HT22细胞的相对活力。

细胞凋亡个数检测:为验证三七茎叶总皂苷对七氟醚诱导的神经元凋亡的保护作用,将质量浓度分别为1.5, 3, 6, 12 μ g / mL的PNSLS与先前暴露于4.1%七氟醚的HT22细胞进行孵化。将不同处理组细胞接种至12孔板(8×10^4 个/孔)中,48 h后用不含乙二胺四乙酸(EDTA)的胰酶消化并收集细胞,根据Annexin V-FITC / PI凋亡试剂盒说明书进行操作。于37 $^{\circ}$ C避光孵

育30 min,用流式细胞仪检测细胞凋亡个数。

比色活性测定试剂盒测量 caspase - 3 活性:收集 HT22 细胞,并在冰上的裂解缓冲液中孵育 15 min,取裂解物,离心(15 000 g 、4 $^{\circ}C$) 15 min,用 BCA 蛋白质测定试剂盒测定蛋白质浓度。取 10 μ L 裂解物,置 80 μ L 反应缓冲液中(含 10 μ L 0.2 mmol/L Ac - DEVD - pNA),于 37 $^{\circ}C$ 温度下孵育 2 h。用酶标仪于 405 nm 波长处测定 OD。

免疫印迹(Western Blot)法测定内质网应激反应相关蛋白表达水平:为探讨七氟醚诱导的内质网应激反应对 HT22 细胞的影响,在处理细胞 6 h 后,评估内质网应激相关蛋白。用 RIPA 裂解液提取 HT22 细胞蛋白,离心(10 000 g) 10 min,提取上清液,用双辛烷酸蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度;将 20 μ g 蛋白质样品在 10% 十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS - PAGE)上分离,并转移至聚偏二氯乙烯(PVDF)膜上;将 PVDF 膜置阻断缓冲液中孵育 1 h,加入抗 Bax, Bcl2, p38, p - p38, p65, I κ B α , p - I κ B α , GRP78, CHOP, β - tubulin, Histone H $_3$, 并孵育过夜;第 2 天,用 Tris - 缓冲盐水 / Tween 20 清洗膜,用相应辣根过氧化物酶(HRP)结合的第二抗体孵育 1 h。用高效化学发光(ECL)溶液测量成像发展系统中蛋白质的表达水平,以 β - tubulin 和 Histone H $_3$ 为内参蛋白计算细胞或细胞核蛋白的相对表达水平。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 21.0 统计学软件分析。检验符合正态分布且方差齐时,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,行独立样本 t 检验;多组间比较采用 One - Way ANOVA 分析;事后检验采用 Tukey's multiple comparisons test。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

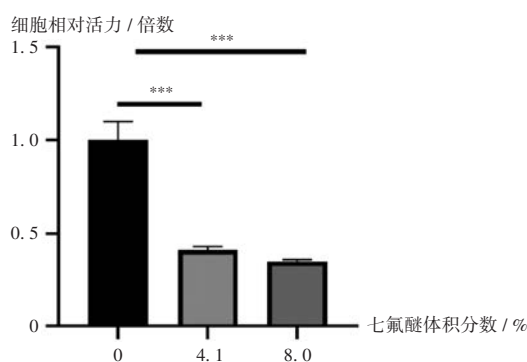
2.1 七氟醚抑制神经元活力

与七氟醚体积分数为 0 时比较,暴露于 4.1% 或 8% 七氟醚后,细胞活力均显著降低($P < 0.001$),详见图 1。用 8% 七氟醚的培养基处理神经元时,未发现神经元活力与 4.1% 七氟醚处理发生显著变化,故选取 4.1% 七氟醚处理神经元 6 h。

2.2 PNSLS 增加神经元活力并抑制神经元凋亡

结果显示,与 Sev + 3 μ g / mL PNSLS 组比较,Sev + 6 μ g / mL PNSLS 组细胞活力显著升高($P < 0.01$),详见图 2。故选取 6 μ g / mL PNSLS 作为治疗浓度。流式细胞术结果显示,PNSLS 可显著抑制神经元凋亡($P < 0.01$),详见图 3。Western blot 法结果显示,与 Sev 组比较,Sev + PNSLS 组细胞中凋亡蛋白 Bax 表达水平显著降低,抗凋亡蛋白 Bcl - 2 表达水平显著升高($P < 0.01$),详见图 4。且七氟醚处理后 caspase - 3 活性显著增加,而 PNSLS 可逆转

这一现状($P < 0.01$),详见图 5。可见,PNSLS 能增加神经元活力。



注:* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$ 。图 2 至图 9 同。

图 1 CCK - 8 法检测七氟醚对 HT22 细胞神经元活力的影响

Note:* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$ (for Fig. 1 - 9).

Fig. 1 Effect of sevoflurane on neuronal activity of HT22 cells detected by the CCK - 8 assay

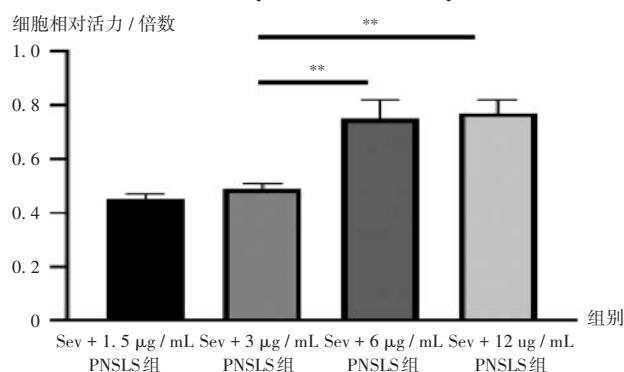


图 2 CCK - 8 法检测三七茎叶总皂苷对 HT22 细胞神经元活力的影响

Fig. 2 Effect of PNSLS on the neuronal activity of HT22 cells detected by the CCK - 8 assay

2.3 PNSLS 抑制七氟醚触发的内质网应激反应

Western blot 法结果显示,与 Control 组比较,Sev 组和 Sev + PNSLS 组的 GRP78 和 CHOP 表达水平均显著升高;与 Sev 组比较,Sev + PNSLS 组的 GRP78 和 CHOP 表达水平均显著降低($P < 0.01$),详见图 6。可见,七氟醚可能通过触发内质网应激反应诱导的凋亡信号通路促进 HT22 细胞凋亡,而 PNSLS 能部分逆转此凋亡。

2.4 PNSLS 介导 p38 MAPK / 核转录因子 - κ B (NF - κ B) p65 信号通路调节七氟醚诱导的神经元凋亡

结果显示,七氟醚可升高 p38 及 I κ B α 的磷酸化水平,以及 NF - κ B p65 向细胞核的核转位,而 PNSLS 可逆转以上现象($P < 0.01$),详见图 7。为进一步验证 PNSLS 介导 p38 MAPK / NF - κ B p65 信号通路逆转七氟醚诱导的神经元凋亡现象,在使用 PNSLS 及七氟醚的 HT22 细胞中额外添加 MAPK 激活剂 anisomycin 对 p38 MAPK / NF - κ B p65 通路进行激活。结果显示,MAPK 激活剂 anisomycin 使 p38 和细胞质中 I κ B α 的磷

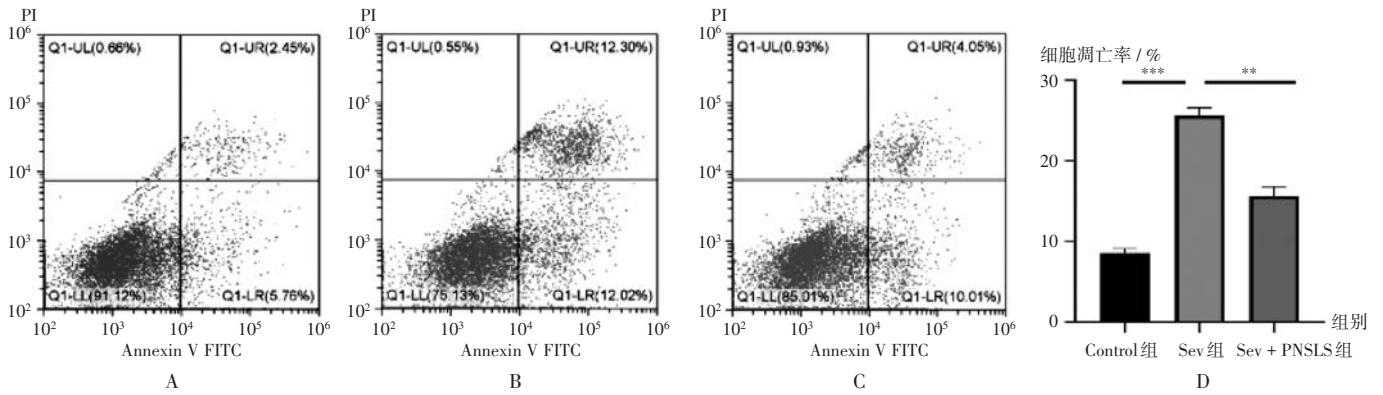


图3 AnnexinV - FITC / PI法检测三七茎叶总皂苷对HT22细胞神经元凋亡率的影响
A - C. Flow cytometry (Control group, Sev group, Sev + PNSLS group) D. Histogram

Fig. 3 Effect of PNSLS on neuronal apoptosis of HT22 cells detected by the AnnexinV - FITC / PI method

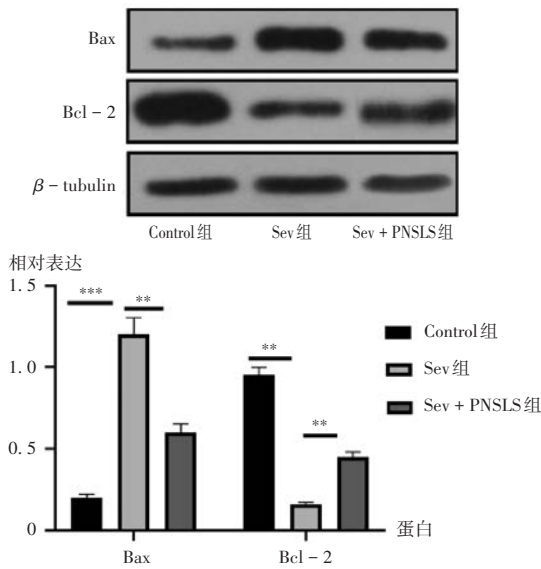


图4 Western blot法检测三七茎叶总皂苷对神经元凋亡相关蛋白表达水平的影响

Fig. 4 Effect of PNSLS on the expression level of neuronal apoptosis - related proteins detected by the Western blot

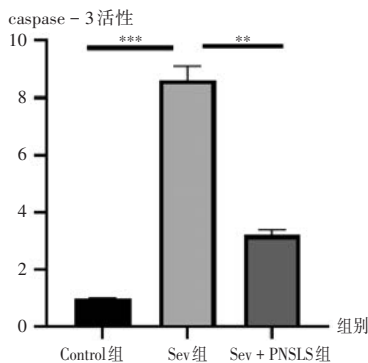


图5 比色法检测三七茎叶总皂苷对caspase - 3活性的影响
Fig. 5 Effect of PNSLS on caspase - 3 activity detected by the colorimetric assay

酸化水平显著升高($P < 0.01$),细胞质中NF - κ B p65水平显著降低($P < 0.01$),详见图7。CCK - 8法及流式细胞术结果显示,激活p38 MAPK / NF - κ B p65通路,

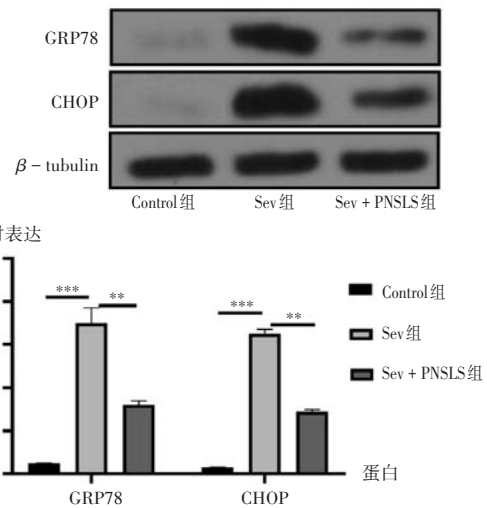


图6 Western blot法检测三七茎叶总皂苷对七氟醚触发的内质网应激反应相关蛋白表达水平的影响

Fig. 6 Effect of PNSLS on the expression level of sevoflurane - triggered endoplasmic reticulum stress - related proteins detected by the Western blot

可抑制神经元活力,促进神经元凋亡($P < 0.05$),详见图8和图9。可见,PNSLS通过介导p38 MAPK / NF - κ B p65信号通路而调节七氟醚诱导的神经元凋亡。

3 讨论

七氟醚为常用吸入性麻醉剂^[15],七氟醚麻醉的神经保护作用或神经毒性作用尚存在争议^[16]。研究表明,神经炎症、钙失衡、神经元凋亡和氧化应激反应增强与七氟醚诱导的认知障碍密切相关^[17-19]。据报道,4.1%七氟醚处理6h可显著诱导海马神经元凋亡;七氟醚可引发内质网应激反应,并可能导致神经元细胞凋亡^[20]。内质网在超过1/3蛋白质的合成、折叠和结构成熟中起重要作用^[21],其应激诱导的凋亡是神经疾病过程和神经元细胞死亡中的重要病理事件^[22-23]。本研究结果显示,4.1%七氟醚显著抑制HT22细胞的增殖并促进

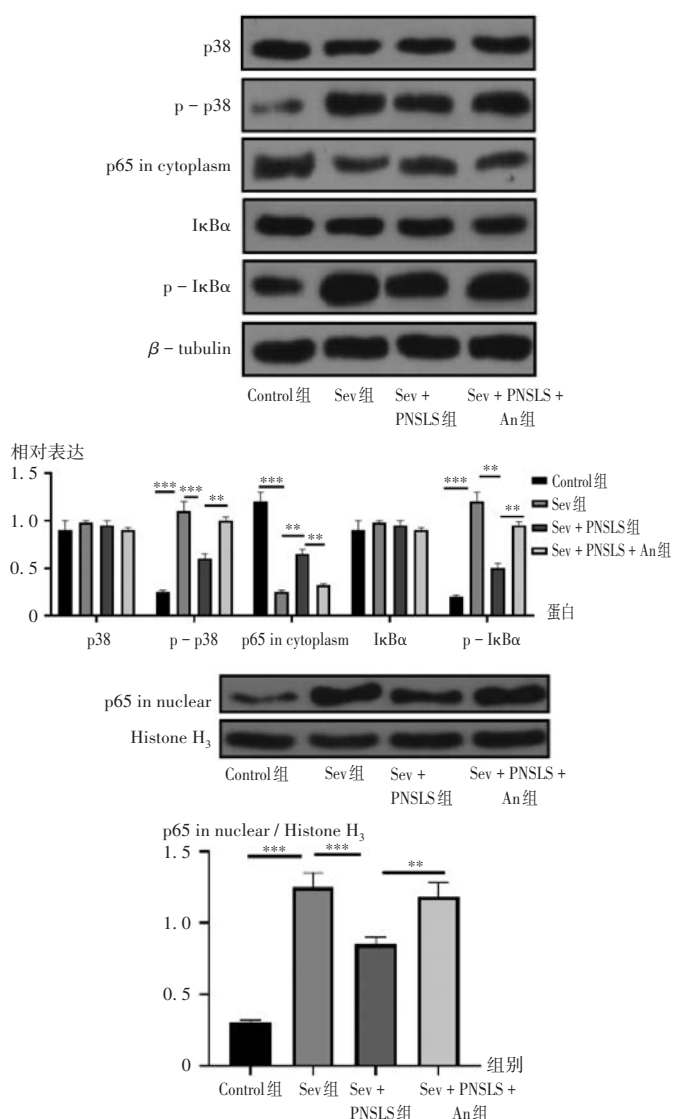


图7 Western blot法检测三七茎叶总皂苷对p38 MAPK/NF-κB p65信号通路相关蛋白表达水平的影响

Fig. 7 Effect of PNSLS on the expression levels of p38 MAPK/NF-κB p65 signaling pathway-related proteins detected by the Western blot

细胞凋亡; 4.1% 七氟醚暴露可增加 HT22 细胞中 GRP78 和 CHOP 蛋白表达水平及 caspase - 3 活性, 而 PNSLS 可逆转上述现象。

MAPK 家族是细胞表面受体和基因表达决定簇之间的重要信号调节酶^[24], 包括胞外信号调节激酶 1 / 2 (ERK1 / 2)、c - Jun 氨基端蛋白激酶 (JNK)、p38、ERK5^[25], 控制着几乎所有的生理功能和过程, 如细胞适应、增殖、分化、存活和程序性细胞死亡^[26]。p38 MAPK 是丝氨酸 / 苏氨酸 MAPK 家族中高度保守的成员, 其主要功能是向细胞传递细胞外信号^[27], 可调节细胞增殖、分化、炎症反应、氧化应激反应、凋亡等病理生理过程^[28 - 29]。p38 MAPK 信号通路参与缺血性脑损伤后大量神经元的晚期凋亡^[26], 是缺血再灌注损伤诱

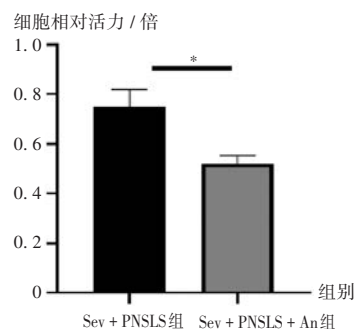
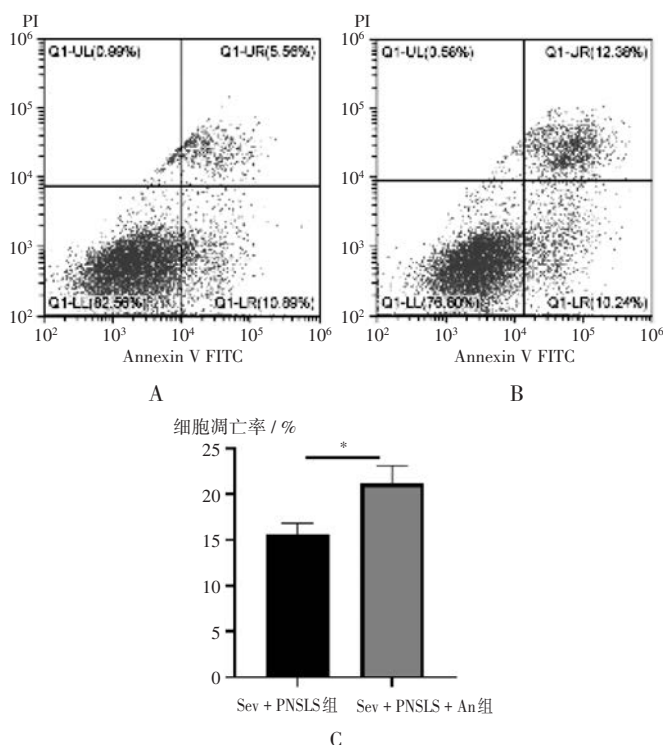


图8 CCK - 8法检测MAPK激活剂对HT22细胞神经元活力的影响

Fig. 8 Effect of MAPK activator on neuronal activity of HT22 cells detected by the CCK - 8 assay



A - B. 流式细胞图 (分别为 Sev + PNSLS 组、Sev + PNSLS + An 组) C. 柱状图

图9 Annexin V - FITC / PI法检测MAPK激活剂对HT22细胞凋亡率的影响

A - B. Flow cytometry (Sev + PNSLS group, Sev + PNSLS + An group) C. Histogram

Fig. 9 Effect of MAPK activator on apoptosis of HT22 cells detected by the Annexin - V FITC / PI method

导细胞凋亡的重要信号转导途径之一, 与内质网应激激活有关^[30 - 31], 在严重或持续的内质网应激反应下, p38 MAPK 磷酸化导致细胞功能障碍^[32]。本研究结果显示, PNSLS 可减弱七氟醚诱导 HT22 细胞 p38 MAPK 磷酸化及内质网应激反应。

NF - κB 是一种常见的核转录因子, 广泛存在于细胞质中, 并在细胞受到刺激时充当信号通路^[33]。作为一种经典的炎症反应和氧化应激反应信号通路, NF - κB p65 信号通路通过调节趋化细胞因子、黏附分子、生长因子和

各种酶的基因表达,在机体的炎症反应、免疫调节和细胞凋亡中发挥重要作用^[34-35]。本研究结果显示,七氟醚可激活 p38 MAPK / NF - κ B p65 通路,促使 NF - κ B p65 向细胞核的核转位,而 PNSLS 可抑制该通路活性,经额外的 MAPK 激活剂处理 HT22 细胞的细胞活力显著下降,细胞凋亡显著上升。

综上所述,PNSLS 通过介导 p38 MAPK / NF - κ B p65 信号通路而抑制七氟醚诱导的神经元凋亡。但本研究仅探讨了细胞进程,未来研究中应开展动物体内实验。

参考文献

- [1] 句仁华. 七氟烷吸入诱导麻醉的临床研究进展[J]. 中国处方药, 2017, 15(12): 27 - 28.
- [2] BRIONI JD, VARUGHESE S, AHMED R, et al. A clinical review of inhalation anesthesia with sevoflurane: From early research to emerging topics[J]. J Anesth, 2017, 31(5): 764 - 778.
- [3] LIU YZ, PAN NL, MA YQ, et al. Inhaled sevoflurane may promote progression of amnesic mild cognitive impairment: A prospective, randomized parallel - group study[J]. Am J Med Sci, 2013, 345(5): 355 - 360.
- [4] 刘婷婷, 赵 鹤, 白瑞平, 等. 小剂量右美托咪定、氯胺酮复合七氟烷对儿童尿道下裂修补术后脑指数及认知功能影响[J]. 临床军医杂志, 2022, 50(9): 915 - 918.
- [5] BACKELJAUW B, HOLLAND SK, ALTAYE M, et al. Cognition and brain structure following early childhood surgery with anesthesia[J]. Pediatrics, 2015, 136(1): e1 - e12.
- [6] SUN L. Early childhood general anaesthesia exposure and neurocognitive development[J]. Br J Anaesth, 2010, 105(Suppl 1): i61 - i68.
- [7] XIANG J, PAN J, CHEN FJ, et al. L - 3 - N - butylphthalide improves cognitive impairment of APP / PS1 mice by BDNF / TrkB / PI3K / AKT pathway [J]. Int J Clin Exp Med, 2014, 7(7): 1706 - 1713.
- [8] YUE HY, HU B, LUO ZK, et al. Metformin protects against sevoflurane - induced neuronal apoptosis through the S1P1 and ERK signaling pathways [J]. Exp Ther Med, 2019, 17(2): 1463 - 1469.
- [9] XIE WJ, MENG XB, ZHAI YD, et al. *Panax notoginseng* saponins: A review of its mechanisms of antidepressant or anxiolytic effects and network analysis on phytochemistry and pharmacology[J]. Molecules, 2018, 23(4): 940.
- [10] WANG DD, LV LY, XU Y, et al. Cardioprotection of *Panax notoginseng* saponins against acute myocardial infarction and heart failure through inducing autophagy[J]. Biomed Pharmacother, 2021, 136: 111287.
- [11] 刘明瑜. 三七总皂苷对脑缺血再灌注大鼠神经血管单元超微结构的影响[J]. 基因组学与应用生物学, 2019, 38(5): 2375 - 2381.
- [12] XIE WJ, ZHU T, DONG X, et al. HMGB1 - triggered inflammation inhibition of notoginseng leaf triterpenes against cerebral ischemia and reperfusion injury via MAPK and NF - κ B signaling pathways[J]. Biomolecules, 2019, 9(10): 512.
- [13] 林 军, 梁 萍, 黄 清, 等. 三七总皂苷对脑缺血再灌注大鼠神经血管单元的影响[J]. 中国药业, 2019, 28(13): 10 - 14.
- [14] XIE W, ZHU T, ZHOU P, et al. Notoginseng leaf triterpenes ameliorates OGD / R - Induced neuronal injury via SIRT1 / 2 / 3 - Foxo3a - MnSOD / PGC - 1 α signaling pathways mediated by the NAMPT - NAD pathway [J]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 2020: 7308386.
- [15] ZHOU ZB, YANG XY, TANG Y, et al. Subclinical concentrations of sevoflurane reduce oxidative stress but do not prevent hippocampal apoptosis[J]. Mol Med Rep, 2016, 14(1): 721 - 727.
- [16] 蔚海霞, 史文文, 闫怀军, 等. 丙泊酚与七氟醚对胃癌根治术患者免疫功能的影响对比[J]. 中国药业, 2018, 27(17): 37 - 39.
- [17] MA HM, YAO L, PANG L, et al. Tetrandrine ameliorates sevoflurane-induced cognitive impairment via the suppression of inflammation and apoptosis in aged rats [J]. Mol Med Rep, 2016, 13(6): 4814 - 4820.
- [18] WANG Y, YIN CP, TAI YL, et al. Apoptosis inhibition is involved in improvement of sevoflurane - induced cognitive impairment following normobaric hyperoxia preconditioning in aged rats[J]. Exp Ther Med, 2021, 21(3): 203.
- [19] 王 硕, 熊万霞. 细胞自噬在七氟醚致老年小鼠海马区神经元细胞凋亡中的保护作用[J]. 国际麻醉学与复苏杂志, 2022, 43(5): 459 - 464.
- [20] LIU AJ, PANG CX, LIU GQ, et al. Ameliorative effect of sevoflurane on endoplasmic reticulum stress mediates cardioprotection against ischemia - reperfusion injury (1) [J]. Can J Physiol Pharmacol, 2019, 97(5): 345 - 351.
- [21] JONIKAS MC, COLLINS SR, DENIC V, et al. Comprehensive characterization of genes required for protein folding in the endoplasmic reticulum[J]. Science, 2009, 323(5922): 1693 - 1697.
- [22] MATUS S, GLIMCHER LH, HETZ C. Protein folding stress in neurodegenerative diseases: A glimpse into the ER [J]. Curr Opin Cell Biol, 2011, 23(2): 239 - 252.
- [23] OGAWA S, KITAO Y, HORI O. Ischemia - induced neuronal cell death and stress response [J]. Antioxid Redox Signal, 2007, 9(5): 573 - 587.
- [24] ZHANG Y, GU X, LI D, et al. METTL₃ regulates osteoblast differentiation and inflammatory response via smad signaling and MAPK signaling[J]. Int J Mol Sci, 2019, 21(1): 199.
- [25] 房尚萍, 袁 冉, 孙任珂, 等. 敲除 S1PR3 可缓解小鼠的急性肺损伤: 基于抑制 MAPK 信号通路[J]. 南方医科大学学报, 2022, 42(12): 1815 - 1821.
- [26] GHASEMI R, ZARIFKAR A, RASTEGAR K, et al. Insulin protects against A β - induced spatial memory impairment, hippocampal apoptosis and MAPKs signaling disruption [J].