

氧化应激-自噬反应在谷氨酰胺改善大鼠创伤性颅脑损伤后神经功能的作用

郭树凯 陈祥荣 李亚松 骆良钦 胡伟鹏

【摘要】 目的 探讨谷氨酰胺 (GLN) 对大鼠创伤性颅脑损伤后神经功能和氧化应激反应的影响及相关机制。**方法** 采用改良 Feeney 法建立大鼠脑外伤 (TBI) 模型, 将 80 只 Sprague-Dawley (SD) 大鼠按完全随机分为假手术组 (Sham 组), 创伤性颅脑损伤组 (TBI 组), Sham+GLN 处理组 (Sham+GLN 组), TBI+GLN 处理组 (TBI+GLN 组)。分别于伤后 1、3、7、14 d 进行神经行为学评分 (mNSS); TUNEL 染色检测神经细胞凋亡; ROS 试剂盒检测 ROS 含量; Western blot 方法测定氧化应激相关因子 (HO-1、NQO1、Nrf2) 和自噬相关因子 (LC3-II、Beclin-1) 蛋白的表达。**结果** 与 TBI 组比较, TBI+GLN 组治疗后 7 d 神经功能改善 [(8.43±0.30) 分比 (9.79±0.43) 分, $F=6.775$, $P=0.010$], 细胞凋亡率下降 (19.88%±1.60% 比 15.35%±1.28%, $P=0.013$)。与 Sham 组比较, TBI 组活性氧 (ROS) 蛋白表达明显上调 ($P=0.000$), 同时抗氧化应激因子 (HO-1、NQO1) 和 Nrf2 通路表达明显减少。GLN 处理后, TBI++GLN 组 ROS 表达减少, HO-1 和 NQO1 表达提升, 同时激活 Nrf2 通路和自噬反应, Nrf2、LC3-II 和 Beclin-1 表达明显增多。**结论** GLN 能抑制神经细胞凋亡, 改善 TBI 伤后神经功能行为, 具有神经保护作用。其机制可能是降低氧化应激反应, 提高抗氧化应激, 激活 Nrf2 通路和自噬反应起到神经保护作用。

【关键词】 创伤性颅脑损伤; 谷氨酰胺; 氧化应激; Nrf2 通路; 自噬反应

基金项目: 福建省卫生计生科研人才培养项目基金 (2018-1-61); 福建省科技创新联合基金项目 (2017Y9084)

Neuroprotective effect of glutamine supplementation by inhibiting oxidative stress and promoting autophagy responses after traumatic brain injury in rats Wu Shukai, Chen Xiangrong, Li Yasong, Luo Lianqin, Hu Weipeng. Department of Neurosurgery, the Second Affiliated Hospital, Fujian Medical University, Quanzhou 362000, Fujian, China

Corresponding author: Chen Xiangrong, E-mail: xiangrong_chen281@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the effects and mechanisms of glutamine (Gln) supplementation on oxidative stress, autophagy response and neurobehavioral outcome after traumatic brain injury (TBI) in rats. **Methods** TBI animal models were established using Feeney's method. Eighty SD rats were randomly divided into 4 groups: sham operation group (group Sham), Sham + glutamine supplementation group (group Sham+GLN), traumatic brain injury group (group TBI), and TBI + glutamine supplementation group (group TBI+GLN). We measured rat behavioral outcomes by modified neurologic severity score (mNSS) tests at day 1, 3, 7 and 14 after TBI. The apoptosis neurons in TBI cerebral cortex were determined by TUNEL staining. The expression of reactive oxygen species (ROS) was tested by ROS kits. Oxidative stress and autophagy related cytokines (HO-1, NQO1, Nrf2, LC3-II and Beclin-1) were tested with Western blotting. **Results** Compared with the TBI group, the neurological function was improved [(9.79±0.43) vs. (8.43±0.30), $F=6.775$, $P=0.010$] and the apoptosis rate decreased (19.88%±1.60% vs. 15.35%±1.28%, $P=0.013$) in the TBI+GLN group after 7-day treatment. Compared with the Sham group, the protein expression of ROS increased ($P=$

0.000), and the expression of anti-oxidative stress factors (HO-1, NQO1) and Nrf2 pathway significantly decreased in the TBI group. After glutamine supplementation was given, the expression of ROS decreased and the expressions of HO-1 and NQO1 increased. The Nrf2 pathway and autophagy response also were activated with the expressions of Nrf2, LC3-II and Beclin-1 increasing. **Conclusion** Glutamine supplementation can markedly reduce neuron apoptosis and improve neurological outcomes after TBI, thus has the protective effect on nerves by inhibiting TBI-induced oxidative stress response, activating Nrf2 pathway and autophagy response.

[Key words] Traumatic brain injury; Glutamine; Oxidative stress; Nrf2 pathway; Autophagy

Fund program: Fujian Province Health and Family planning scientific research Foundation (2018-1-61); Fujian Province Science and technology innovation Foundation (2017Y9084)

创伤性颅脑损伤 (traumatic brain injury, TBI) 伤后释放氧化自由基及兴奋性氨基酸毒性作用等一系列病理生理改变, 可诱导过激的氧化应激反应, 导致线粒体功能受损, 诱发 Caspase 依赖性细胞凋亡, 影响 TBI 伤后神经修复^[1-2]。有效地降低 TBI 伤后氧化应激, 提高抗氧化应激能力, 能明显改善 TBI 的预后^[1-2]。特殊免疫营养素谷氨酰胺 (glutamine, GLN) 是谷胱甘肽的前体物质, 具有具有抗氧化、抗炎和免疫调节作用, 可通过影响机体炎症反应和免疫功能, 影响颅脑损伤后神经修复^[3-5]。李亚松等^[2]研究证实 GLN 能通过调控内质网应激反应, 减轻创伤性颅脑损伤后脑水肿和神经细胞凋亡, 改善神经功能。但有关 GLN 后处理对创伤性颅脑损伤后氧化应激的作用及机制尚不清楚。而 Nrf2 通路和自噬反应参与了氧化应激反应^[6-7], 那么 GLN 后处理是否通过 Nrf2 通路和自噬反应参与创伤性颅脑损伤后神经元的氧化应激反应, 更有待于进一步研究。本研究拟利用大鼠 TBI 模型探讨 GLN 对颅脑损伤后神经功能保护中的作用, 为其在颅脑损伤临床应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

成年雄性清洁级 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 [福建医科大学实验动物中心, 合格证号: SCXK (闽) 2018-00423]; 微管相关蛋白轻链 3-II (LC3-II)、自噬相关基因-1 (Beclin-1)、HO-1 一抗 (1:5 000, CST 公司, 美国), NQO1 一抗 (1:1 000, CST 公司, 美国), Nrf2 一抗 (1:100, CST 公司, 美国); TUNEL 凋亡和 ROS 检测试剂盒 (武汉博士德公司); 蛋白酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测试剂盒 (美国 Sigma 公司); GLN (Sigma 公司, 美国)。

1.2 动物及分组

本研究经福建医科大学附属附属第二医院实验动物伦理委员会批准。80 只健康雄性成年 SD 大鼠, 体重 230~250 g; 按随机数字表法随机分为假手术组 (Sham 组), Sham+GLN 处理组 (Sham+GLN 组), 创伤性颅脑损伤组 (TBI 组), TBI+GLN 处理组 (TBI+GLN 组), 再按 1、3、7、14 d 时间点分设 4 个亚组, 每亚组均为 5 只。

1.3 动物实验干预及模型制作

大鼠颅脑损伤模型采用改良 Feeney DM 自由落体硬膜外撞击方法制成^[8-9]: 戊巴比妥钠 50 mg/kg 腹腔麻醉, 正中切开头皮, 于右侧冠状缝后 2 mm, 中线旁开 2 mm 处磨钻磨一个直径 5 mm 骨孔, 保持硬膜完整。30 g 的击重锤从 20 cm 处自由坠落冲击撞杆致大鼠颅脑损伤 (致伤冲击力为 600 g/cm), 骨蜡封闭骨孔, 缝合头皮。Sham 组仅开骨窗不打击。参照文献^[2,5], TBI+GLN 组和 TBI+GLN+3-MA 组经口灌胃 GLN 1 ml (2 g/kg), 每日一次, 术后连续 7 d, 其余组给予等容量 0.9% NaCl 溶液灌胃。造模后 1、3、7、14 d 进行神经功能评分, 抽取鼠尾静脉血后断头处死快速取脑, 用于分子机制研究。

1.4 神经功能损伤评分

利用改良神经功能评分 (modified neurological severity scores, mNSS) 对大鼠进行运动 (异常动作、肌肉状态)、感觉 (触觉、视觉、平衡觉) 和肢体反射功能检查。对大鼠运动 (肌肉状态、异常动作)、感觉 (视觉、触觉、平衡觉) 和反射检查评估神经功能损害。当大鼠不能正确完成某项任务或反射消失时得 1 分。分值越高说明神经功能损伤越重。于伤后 1、3、7、14 d 进行神经功能损伤评分测定。

1.5 TUNEL 染色检测神经细胞的凋亡

按凋亡试剂盒所示方法步骤, 脱氧核糖核苷

酸末端转移膜酶解,带有地高辛标志物标志, DAB 显色剂显示。细胞凋亡阳性:细胞胞体缩小、形状不规则、胞核固缩、呈棕黄色或棕褐色。采取双盲法方法计数,在光学显微镜高倍镜($\times 400$)下观察脑损伤皮质凋亡阳性细胞,随机采集 5 个视野,计数凋亡阳性细胞所在比率,取平均值用于统计。

1.6 ROS 试剂盒检测脑组织中 ROS 相对含量测定

ROS 测定采用二氯荧光素乙酰乙酸盐(dichlorofluorescein diacetate, DCFH-DA) 荧光分光光度法:0.5 g 挫伤灶脑皮质放入 3 ml 的 Tri-HCl 缓冲液 [10 mmol/L Tri-HCl, 0.8% (m/v) NaCl, 0.1 mmol/L EDTA-Na₂, 10 mmol/L sucrose, pH 7.4] 中剪碎,在冰上匀浆 1 min, 3 000 $\times g$ 冷冻离心 15 min 收集上清,并用双缩脲法测定上清蛋白浓度。提取上清液。再按照试剂盒说明书进行操作,ROS 的相对含量即为:荧光强度 (FI) /mg 蛋白。

1.7 Western blot 检测蛋白的表达

取骨窗边缘约 2 mm 脑挫伤皮质约 100 mg,置于冰上,研磨成匀浆,加入裂解液后收集并进行组织蛋白定量,离心后取上清液, -20 °C 保存备用。总上样蛋白量为 25 μg ,进行 SDS-PAGE,电压 125 V,电泳直至溴酚蓝到达分离胶底部上方约 0.5 cm;然后将蛋白印迹到硝酸纤维素膜上,于含 10% 脱脂奶粉的封闭液中室温封闭 2 h。加入 LC3-II 一抗 (1:200)、Beclin-1 一抗 (1:200)、HO-1 一抗 (1:5 000), NQO1 一抗 (1:1 000), 4 °C 过夜,加入相对应的山羊抗兔 IgG 或山羊抗鼠抗兔 IgG (1:3 000) 室温孵育 1 h, ECL 发光试剂对硝酸纤维素膜进行显色反应,拍照。Image

Quant Las 4000 mini 软件拍照,分析测定条带灰度值。以目的基因条带灰度值与 GAPDH 条带灰度的比值反映目的基因的表达水平。

1.8 统计学方法

实验数据利用 SPSS 18.0 进行统计分析,计量资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示,单因素方差分析 (one-way ANOVA) 进行比较各组间均数,SNK 法进行均数之间两两比较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠创伤性颅脑损伤后各时点 mNSS 评分的比较

Sham 组、Sham+GLN 组术后 mNSS 评分没有明显变化,1、3、7、14 d 评分多为 0~2 分;与 Sham 组、Sham+GLN 组比较,TBI 组各时点神经功能损伤评分明显升高 (P 均=0.000)。其中 TBI 组大鼠在脑损伤后第 1 天神经功能损害最为严重,mNSS 评分高,后神经功能逐渐恢复;TBI+GLN 组第 7、14 天,大鼠的神经功能恢复明显优于 TBI 组 ($P=0.010$) (表 1)。

2.2 各组大鼠创伤性脑损伤后各时点细胞凋亡率的比较

脑皮质切片 TUNEL 染色结果显示:Sham 组和 Sham+GLN 组凋亡百分率为 1%~3%,其余 2 组大鼠皮质在伤后细胞凋亡明显增多,且在伤后 14 d 仍维持在较高的水平。与 TBI 组比较,TBI+GLN 组从第 7 天起,细胞凋亡数开始下降 (15.35% \pm 1.28%比 19.88% \pm 1.60%, $P=0.013$),且 14 d 凋亡细胞数减少更为明显 (7.92% \pm 0.92%比 12.32% \pm 1.08%, $P=0.000$) (表 2)。

表 1 各组大鼠创伤性脑损伤后 mNSS 评分的比较 ($\bar{x}\pm s$, 分)

Table 1 Comparison of modified neurologic severity scores in the four groups after traumatic brain injury ($\bar{x}\pm s$, point)

组别	mNSS 评分			
	1 d	3 d	7 d	14 d
Sham 组 ($n=5$)	1.25 \pm 0.22	1.17 \pm 0.25	1.22 \pm 0.24	1.18 \pm 0.29
Sham+GLN 组 ($n=5$)	1.21 \pm 0.19	1.30 \pm 0.25	1.16 \pm 0.20	1.27 \pm 0.24
TBI 组 ($n=5$)	12.54 \pm 0.57	11.87 \pm 0.50	9.79 \pm 0.43	8.24 \pm 0.31
TBI+GLN 组 ($n=5$)	12.37 \pm 0.44	11.02 \pm 0.31	8.43 \pm 0.30 ^a	7.45 \pm 0.25 ^b
F 值	11.894	8.564	6.775	4.312
P 值	0.000	0.001	0.005	0.010

注:与 Sham 组、Sham+GLN 组比较,其余 2 组各时点 P 均=0.000;与 TBI 组比较,^a $P=0.010$,^b $P=0.010$

2.3 各组大鼠颅脑损伤后 ROS 含量变化及氧化应激反应表达情况

与 Sham 组和 Sham+GLN 组相比, TBI 组大鼠大脑皮质在伤后各时间点 ROS 含量均明显升高 ($P=0.000$), 与 TBI 组比较, TBI+GLN 组从第 3 天起, ROS 含量明显降低 (78.79 ± 4.24

比 87.93 ± 4.90 , $P=0.045$) (表 3)。同时 Western blot 检测结果显示: 与 Sham 组和 Sham+GLN 组相比, TBI 组抗氧化应激因子 (HO-1、NQO1) 和 Nrf2 通路表达明显减少, HO-1 和 NQO1 表达提升, 同时激活 Nrf2 通路 ($F=9.885$, $P=0.000$) (图 1)。

表 2 各组大鼠创伤性颅脑损伤后凋亡细胞百分率比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

Table 2 Comparison of apoptotic cell percentage in the four groups after traumatic brain injury ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	凋亡细胞百分率 (%)			
	1 d	3 d	7 d	14 d
Sham 组 ($n=5$)	2.34±0.56	2.52±0.43	2.82±0.48	2.19±0.42
Sham+GLN 组 ($n=5$)	1.98±0.46	2.63±0.55	2.39±0.52	2.50±0.58
TBI 组 ($n=5$)	30.35±2.32	25.79±2.21	19.88±1.60	12.32±1.08
TBI+GLN 组 ($n=5$)	29.92±2.40	22.67±2.06	15.35±1.28 ^a	7.92±0.92 ^b
F 值	13.341	10.894	8.764	5.894
P 值	0.000	0.000	0.001	0.008

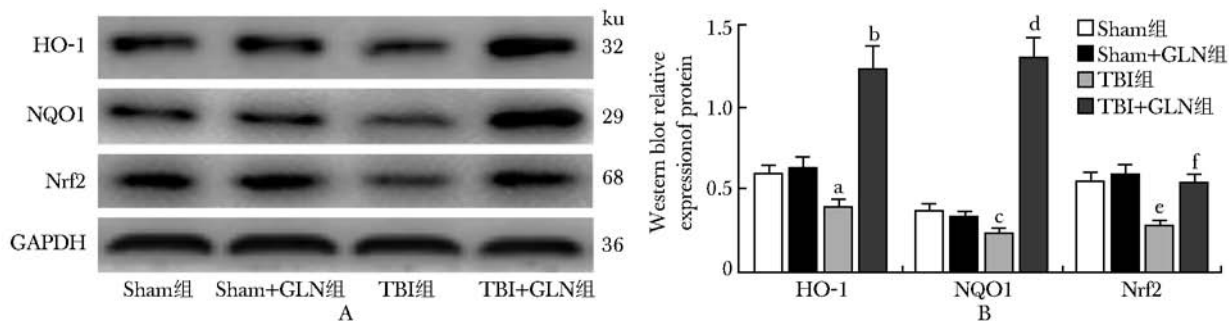
注: 与 Sham 组、Sham+GLN 组比较, 其余 2 组各时点, P 均=0.000; 与 TBI 组比较, ^a $P=0.013$, ^b $P=0.000$

表 3 各组大鼠创伤性颅脑损伤后 ROS 比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

Table 3 Comparison of active oxygen content in the four groups after traumatic brain injury ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	ROS (FI/mg)			
	1 d	3 d	7 d	14 d
Sham 组 ($n=5$)	34.07±1.72	34.08±1.66	33.65±1.82	34.20±1.68
Sham+GLN 组 ($n=5$)	35.24±1.67	32.08±1.53	33.07±1.71	32.25±1.55
TBI 组 ($n=5$)	115.87±5.29	87.93±4.90	67.33±3.50	54.81±3.00
TBI+GLN 组 ($n=5$)	106.27±4.96	78.79±4.24 ^a	58.52±3.81 ^b	47.69±2.24 ^c
F 值	8.141	6.880	4.253	2.997
P 值	0.002	0.007	0.025	0.038

注: 与 Sham 组、Sham+GLN 组比较, 其余 2 组各时点, P 均=0.000; 与 TBI 组比较, ^a $F=1.532$, $P=0.045$, ^b $F=2.641$, $P=0.029$, ^c $F=4.012$, $P=0.014$



注: A. Western blot 典型条带图; B. Western blot 检测表达相对量。与 Sham 组相比: ^a $P=0.032$, ^c $P=0.045$, ^e $P=0.010$; 与 TBI 组相比: ^b $P=0.000$, ^d $P=0.000$, ^f $P=0.015$

图 1 GLN 抑制大鼠颅脑损伤后氧化应激反应

Fig 1 Glutamine suppressed the activation of endoplasmic reticulum stress response after traumatic brain injury in rats

2.4 各组大鼠颅脑损伤后自噬反应表达情况

western blot 检测结果显示: 颅脑损伤后第 3 天, 与 TBI 组比较, TBI+GLN 组自噬反应明显升高, 自噬相关因子 LC3-II 和 Beclin-1 表达明显增多 ($F=11.237, P=0.000$) (图 2)。

3 讨论

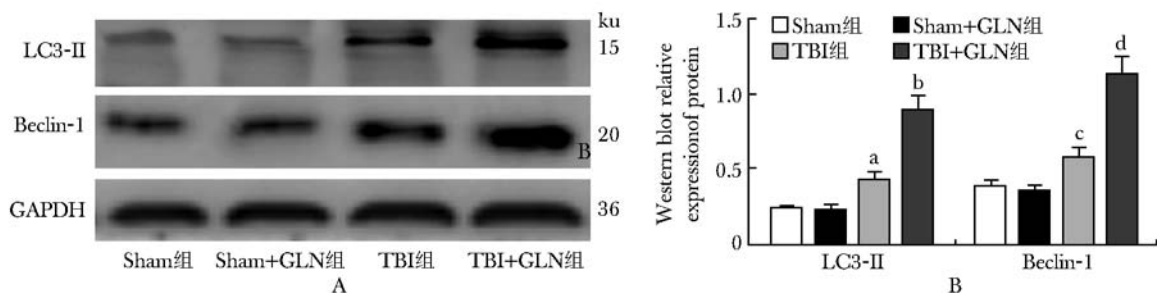
GLN 作为特殊营养素即免疫营养物质, 是机体免疫系统优先使用的能量来源, 同时是谷胱甘肽前体, 具有抗氧化和调节机体免疫因子的功能, 维持机体免疫稳态^[3-4]。李亚松等^[2]研究证实 GLN 能通过抑制 TBI 伤后内质网应激反应, 抑制中枢性神经炎症, 减轻大鼠创伤性颅脑损伤后脑水肿, 改善伤后神经功能行为, 起到神经保护作用。本实验在 Feeney 法建立大鼠 TBI 模型基础上, 同样发现 GLN 能减轻大鼠创伤后神经凋亡, 改善伤后神经功能。但 GLN 对创伤性脑损伤的神经保护作用机制仍有待进一步研究。

颅脑损伤伤后继发氧化应激反应, 释放过量高活性分子, 如活性氧自由基 (ROS) 和活性氮自由基 (RNS), 导致机体氧化和抗氧化系统失衡, 可激活内质网应激通路, 诱导 CHOP 转录和 Caspase 依赖性细胞凋亡^[10-11]。Nrf2 是细胞内重要的抗氧化反应调控因子, 调节机体氧自由基的平衡及炎症反应^[6,12]。炎症刺激和氧化应激状态下, 升高的 ROS 可促使 Keap1 上的巯基被氧化, Keap1 与 Nrf2 解耦联使得 Nrf2 转移入核, 与抗氧化反应元件 (antioxidant response element, ARE) 结合, 启动下游血红素氧合酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1), 醌氧化还原酶 1 [NAD (P) H: quinoneoxidoreductase 1, NQO1] 等抗氧化基因的表达, 提高细胞清除

ROS 和抗氧化应激能力^[6, 7, 12]。本研究结果提示: 大鼠创伤性颅脑损伤后, 损伤灶皮质神经细胞凋亡和凋亡因子表达明显增高, 同时氧化应激因子 ROS 表达明显上调, 而 Nrf2 通路及抗氧化应激因子 HO-1, NQO1 表达明显减少。颅脑损伤后神经细胞凋亡和氧化应激被均被激活, 提示了颅脑损伤后氧化应激诱导神经细胞凋亡。GLN 处理能激活 Nrf2 通路, 抑制伤后氧化应激, 提升清除 ROS 和抗氧化应激能力, 进而抑制神经细胞凋亡, 起到改善伤后神经功能的作用。

氧化应激状态下可使有核细胞继发内质网腔内未折叠/错误折叠蛋白异常聚集或细胞内 Ca^{2+} 平衡紊乱, 诱导线粒体自噬清除异常聚集的蛋白, 维持细胞内环境的稳态^[13-14]。创伤引起的颅脑损伤后升高的自噬水平与神经功能恢复密切相关^[5]。Nrf2 通路活化与自噬反应密切相关, 两者之间相互依存, Nrf2 通路的活性能诱导自噬反应^[1,12]。本研究已经证实, GLN 干预后能激活 Nrf2 通路, 起到抗氧化应激和改善伤后神经功能的作用。基于 Nrf2 通路, 进一步去探讨 GLN 对氧化应激-自噬反应在 TBI 伤后神经修复的作用有重要意义。研究表明, 与创伤性脑损伤组相比, GLN 能激活 Nrf2 通路, 诱导自噬反应去减少氧化应激导致的神经功能损害, 这些均提示 GLN 可通过激活 Nrf2 通路, 降低氧化应激反应, 提高抗氧化应激和伤后自噬反应起到神经保护作用。

综上所述, 本研究表明 GLN 能抑制神经细胞凋亡, 改善 TBI 伤后神经功能行为, 具有神经保护作用, 其机制可能是通过激活 Nrf2 通路, 降低氧化应激反应, 提高抗氧化应激和伤后自噬反应起到神经保护作用。



注: A. Western blot 典型条带图; B. Western blot 检测表达相对量。与 Sham 组相比: ^a $P=0.024$, ^c $P=0.016$; 与 TBI 组相比: ^b $P=0.001$, ^d $P=0.000$

图 2 GLN 抑制大鼠颅脑损伤后自噬反应

Fig 2 Glutamine increases the expression of autophagy relative cytokines after traumatic brain injury

参 考 文 献

- [1] Chen X, Wang H, Zhou M, et al. Valproic acid attenuates traumatic brain injury-induced inflammation in vivo: involvement of autophagy and the Nrf2/ARE signaling pathway [J]. *Front Mol Neurosci*, 2018, 11 (3): 147-152.
- [2] 李亚松, 陈祥荣, 邬树凯, 等. 谷氨酰胺抑制内质网应激反应改善大鼠创伤性颅脑损伤后神经功能 [J]. *中华临床营养杂志*, 2017, 25 (1): 47-52.
- [3] Jayakumar AR, Norenberg MD. Glutamine Synthetase: Role in Neurological Disorders [J]. *Adv Neurobiol*, 2016, 13: 327-350.
- [4] Shu X, Zhang J, Wang Q, et al. Glutamine decreases intestinal mucosal injury in a rat model of intestinal ischemia-reperfusion by downregulating HMGB1 and inflammatory cytokine expression [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12 (3): 1367-1372.
- [5] 蔡晓祯, 黄建辉, 曾海文, 等. 自噬反应在谷氨酰胺抑制大鼠创伤性颅脑损伤后炎症反应中的作用 [J]. *中华临床营养杂志*, 2018, 26 (2): 100-105.
- [6] Liang J, Wu S, Xie W, et al. Ketamine ameliorates oxidative stress-induced apoptosis in experimental traumatic brain injury via the Nrf2 pathway [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, 12: 845-853.
- [7] Yuan J, Wang D, Liu Y, et al. Effects of hydrogen rich water on the expression of Nrf 2 and the oxidative stress in rats with traumatic brain injury [J]. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*, 2015, 27 (11): 911-915.
- [8] Chen X, Chen C, Fan S, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acid attenuates the inflammatory response by modulating microglia polarization through SIRT1-mediated deacetylation of the HMGB1/NF- κ B pathway following experimental traumatic brain injury [J]. *J Neuroinflamm*, 2018, 15 (1): 116-131.
- [9] Chen X, Wu S, Chen C, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation attenuates microglial-induced inflammation by inhibiting the HMGB1/TLR4/NF- κ B pathway following experimental traumatic brain injury [J]. *J Neuroinflamm*, 2017, 14 (1): 143-155.
- [10] Cassano P, Petrie SR, Hamblin MR, et al. Review of transcranial photobiomodulation for major depressive disorder: targeting brain metabolism, inflammation, oxidative stress, and neurogenesis [J]. *Neurophotonics*, 2016, 3 (3): 31404.
- [11] Gao Y, Zhuang Z, Gao S, et al. Tetrahydrocurcumin reduces oxidative stress-induced apoptosis via the mitochondrial apoptotic pathway by modulating autophagy in rats after traumatic brain injury [J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9 (3): 887-899.
- [12] Zhang L, Wang H, Zhou Y, et al. Fisetin alleviates oxidative stress after traumatic brain injury via the Nrf2-ARE pathway [J]. *Neurochem Int*, 2018, 118: 304-313.
- [13] 陈祥荣, 汤志辉, 李亚松, 等. 自噬反应对大鼠创伤性颅脑损伤后神经功能的影响及机制研究 [J]. *中华神经医学杂志*, 2016, 15 (12): 1200-1205.
- [14] 陈祥荣, 谢宝缘, 骆良钦, 等. ω -3 多不饱和脂肪酸抑制自噬反应改善大鼠创伤性脑损伤后神经功能 [J]. *中华临床营养杂志*, 2015, 23 (2): 110-115.

(收稿日期: 2018-07-01)