

· 实验研究 ·

七氟醚激活海马线粒体自噬诱导老年小鼠 认知功能损伤

沈亚南 杜佳月 潘彩龙 蔡滕滕 斯妍娜 鲍红光

【摘要】 目的 探讨七氟醚对老年小鼠海马线粒体自噬和认知功能的影响。方法 雄性 C57BL/6J 小鼠 48 只, 18~20 月龄, 体重 35~40 g。采用随机数字表法将小鼠为三组: 对照组(C 组)、吸入 3% 七氟醚组(S 组)和吸入 3% 七氟醚+自噬抑制剂三甲基腺嘌呤组(3-MA 组), 每组 16 只。C 组小鼠吸入空氧混合气体 6 h。S 组和 3-MA 组吸入 3% 七氟醚 6 h。3-MA 组吸入七氟醚前 1 h 腹腔注射三甲基腺嘌呤 30 mg/kg。七氟醚吸毕 24 h 后采用 Morris 水迷宫实验观察小鼠行为学变化, 第 1~4 天训练, 第 5 天进行空间探索实验。行为学测试结束后立即处死小鼠。采用 HE 染色法观察海马组织病理学改变, 免疫荧光法观察海马组织中自噬情况, Western blot 法检测海马组织中 PINK1、Parkin、LC3 和 Beclin1 蛋白含量。**结果** 与 C 组比较, S 组、3-MA 组水迷宫实验第 2~4 天逃避潜伏期明显延长 ($P < 0.05$), 第 5 天目标象限停留时间明显缩短 ($P < 0.05$), 穿越次数明显减少 ($P < 0.05$), 海马组织出现病理形态学损伤, 海马组织中 LC3 阳性细胞数明显增多 ($P < 0.05$), 海马组织 PINK1、Parkin、Beclin1 蛋白含量和 LC3 II/LC3 I 比值明显升高 ($P < 0.05$)。与 S 组比较, 3-MA 组水迷宫实验第 2~4 天逃避潜伏期明显缩短 ($P < 0.05$), 第 5 天目标象限停留的时间明显延长 ($P < 0.05$), 穿越次数明显增多 ($P < 0.05$), 海马组织病理形态学损伤程度减轻, 海马组织中 LC3 阳性细胞数明显减少 ($P < 0.05$), 海马组织 PINK1、Parkin、Beclin1 蛋白含量和 LC3 II/LC3 I 比值明显降低 ($P < 0.05$)。**结论** 吸入 3% 七氟醚 6 h 的老年小鼠, 海马病理形态学发生改变, 伴随学习和记忆能力下降, 其机制可能与七氟醚激活线粒体自噬有关。

【关键词】 七氟醚; 老年; 认知功能; 线粒体自噬; 海马

Sevoflurane activates hippocampal mitophagy and thereby induces cognitive decline in aged mice

SHEN Yanan, DU Jiayue, PAN Cailong, CAI Mengmeng, SI Yanna, BAO Hongguang. Department of Anesthesiology, Nanjing First Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing 210001, China

Corresponding author: SI Yanna, Email: siyanna@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the effects of sevoflurane on hippocampal mitophagy and cognitive function in aged mice. **Methods** Forty-eight male C57BL/6J mice, aged 18–20 months, weighing 35–40 g, were randomly divided into three groups ($n = 16$ in each group): control group (group C), 3% sevoflurane group (group S) and 3% sevoflurane plus 3-MA group (group 3-MA). Mice in group C inhaled air for 6 hours. Mice in group S and group 3-MA inhaled 3% sevoflurane for 6 hours. Mice in group 3-MA received an intraperitoneal injection of 3-methyladenine (30 mg/kg) 1 hour before sevoflurane inhalation. The Morris water maze (MWM) test was performed 24 hours after sevoflurane inhalation in all groups. Training was performed on the 1st to 4th day and testing was performed on the 5th day. Mice were sacrificed immediately after the behavior test and the brains were taken out for hematoxylin-eosin staining and immunofluorescence. Hippocampal expressions of PINK1, Parkin, LC3 and Beclin1 were detected by Western blot. **Results** Compared with group C, the escape latency prolonged significantly on the 2nd to 4th day of MWM test, and the residence time and number of crossings in the target quadrant on the 5th day decreased significantly in groups S and 3-MA ($P < 0.05$); the pathomorphology of the hippocampus was obviously damaged in groups S and 3-MA; the hippocampal number of LC3 positive cells, the ratio of LC3 II/LC3 I and the expressions of PINK1, Parkin and Beclin1 in mice in groups S and 3-MA were higher ($P < 0.05$). Compared with group S, the escape latency shortened significantly on the 2nd to 4th day of MWM test, and the

DOI:10.12089/jca.2021.02.015

基金项目:国家自然科学基金(81873954,81971872);南京市医学科技发展项目(YKK18105);江苏省六大人才高峰项目(WSW-106)

作者单位:210001 南京医科大学附属南京医院(南京市第一医院)麻醉科[沈亚南、杜佳月、潘彩龙、蔡滕滕(现在南通市第一人民医院麻醉科)、斯妍娜、鲍红光]

通信作者:斯妍娜,Email: siyanna@163.com

residence time and number of crossings in the target quadrant on the 5th day increased significantly in group 3-MA; the pathomorphological damage of the hippocampus was attenuated in group 3-MA; the hippocampal number of LC3 positive cells, the ratio of LC3 II/LC3 I and the expressions of PINK1, Parkin and Beclin1 were decreased in group 3-MA ($P < 0.05$). **Conclusion** Aged mice inhaled 3% sevoflurane for 6 hours display hippocampal morphology damage and decline in the ability of learning and memory. The mechanism may be related to the activation of mitophagy.

【Key words】 Sevoflurane; Aged; Cognitive function; Mitophagy; Hippocampus

吸入麻醉药物引起的认知功能障碍日益受到重视,尤其是老年患者更容易在手术后出现认知功能障碍^[1-2]。七氟醚是一种具有较小血气分配系数、代谢较快、对呼吸道刺激较轻、对血流动力学影响较小等优点的吸入麻醉药,常作为麻醉诱导和维持药物用于老年患者^[3]。已有研究^[4-5]表明,七氟醚可导致老年患者出现术后认知功能障碍,然而具体机制尚不明确。有研究^[6]表明,在体外培养的新生大鼠海马神经元细胞与 3.4% 七氟醚孵育 1、2、3 或 4 h,细胞中自噬相关蛋白 LC3 II 和 Beclin1 的表达量以及细胞凋亡数呈时间依赖性增加。暴露于 3% 七氟醚的孕 20 d 大鼠,新生 1 d 的子代鼠海马组织内 LC3 和 P62 表达量增加,神经细胞肿胀明显,并且细胞数量减少^[7]。而线粒体自噬是否介导七氟醚引起的老年小鼠认知功能损伤,目前尚未见报道。本研究拟探讨七氟醚吸入麻醉对老年小鼠海马线粒体自噬及认知功能的影响。

材料与方法

实验动物与分组 雄性 C57BL/6J 小鼠 48 只,18~20 月龄,体重 35~40 g,由南京医科大学附属南京医院动物实验中心提供。分笼饲养,温度 22~25 °C,相对湿度 40%,每日 12 h 昼/夜交替,自由饮食、饮水。术前禁食 8 h,禁水 2 h。采用随机数字表法将小鼠为三组:对照组(C组)、3%七氟醚组(S组)、3%七氟醚组+自噬抑制剂三甲基腺嘌呤组(3-MA组),每组 16 只。S组和 3-MA组吸入 3%七氟醚 6 h,3-MA组吸入七氟醚前 1 h 腹腔注射三甲基腺嘌呤 30 mg/kg,C组吸入空气混合气体 6 h。

Morris 水迷宫实验 小鼠吸毕七氟醚 24 h 后行 Morris 水迷宫实验,第 1~4 天训练,第 5 天进行空间探索实验。水池直径为 120 cm,高 30 cm。池壁上有 N、E、S、W 四个等距离点,将水池分为 NE、SE、SW、NW 四个象限。在 SE 象限中央的液面下隐藏着一个圆形平台,由透明 PVC 材料制成,平台直径为 10 cm,距液面 1.5 cm。实验前,在水池中加入牛奶至 25 cm 左右。小鼠在训练期间,依次从 4 个人水点将小鼠面向池壁放入水中,记录小鼠寻找并爬

上平台所需时间,即逃避潜伏期,停留 30 s 后进行下一方向的训练,如果 60 s 内未找到平台,由实验者将其引至平台,并在平台上停留 30 s 后进行下一方向训练,逃避潜伏期记为 60 s。在水迷宫实验的第 5 天进行空间探索实验,撤除平台,从 NW 象限入水点将小鼠面向池壁放入水中。记录小鼠游泳速度、跨越目标平台位置的次数和目标象限停留的时间。

HE 染色 行为学测试结束后,取出小鼠脑组织,4%多聚甲醛固定,常规脱水,石蜡包埋,冠状切片。将石蜡切片(5 μm)平铺于染色架上,苏木素染色液染色 4 min 后用水冲洗 15 min。1%盐酸-乙醇溶分化切片 30 s 切片变红,用自来水冲洗 15 min,待切片返蓝后,用曙红染色液覆盖切片 90 s 后,自来水冲洗。乙醇溶液(80%、90%、95%、100%)梯度脱水,二甲苯透明 5 min。滴入 50%二甲苯-中性树脂封片液封片,显微镜下观察并拍照。

免疫荧光 行为学测试结束后,取出脑组织,4%多聚甲醛固定,常规脱水,石蜡包埋,冠状切片。将石蜡切片(5 μm)进行脱蜡处理,柠檬酸钠抗原修复液进行抗原修复。切片上加封闭液(10%驴血清加入 0.3% Triton)室温下封闭 30 min,加入 LC3(1:200,3868)一抗并于 4 °C 孵育过夜,次日用 PBS 洗 3 次,每次 5 min,加入相应二抗避光孵育 1 h。PBS 洗 3 次,每次 5 min,加入 DAPI 染液避光孵育 5 min。PBS 冲洗后滴加防荧光淬灭剂,封片后置于激光共聚焦显微镜下进行观察并拍照。

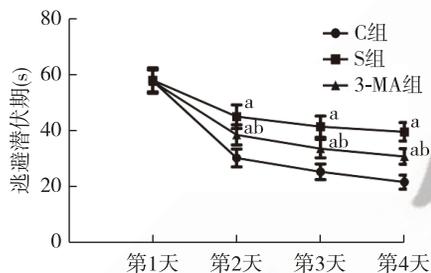
Western blot 检测 行为学测试结束后,取小鼠海马组织加入裂解液,匀浆后静置 10~15 min,4 °C 下 13 000 r/min 离心 10 min,吸取上清液,采用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。制胶后头尾加入 Marker,中间依次上样,SDS-PAGE 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,转膜时间 100 min。转膜结束后用 5%脱脂奶粉(TBST 稀释)室温下封闭 2 h,加入 GAPDH(1:2 000,ab 8245)、PINK1(1:500,ab 23707)、Parkin(1:200,ab 77924)、LC3(1:1 000,3868)和 Beclin1(1:2 000,ab 207612)一抗,4 °C 过夜。次日用 TBST 洗 3 次,每次 15 min,加入相应二抗,室温

反应 2 h。TBST 洗 3 次,每次 15 min。化学发光法对条带显影后,采用 Image J 软件分析蛋白含量。

统计分析 采用 SPSS 17.0 软件分析。正态分布计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,组内比较采用重复测量方差分析,并行 Tukey 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

行为学表现 三组水迷宫实验第 1 天逃避潜伏期差异无统计学意义。三组水迷宫实验第 2~4 天的逃避潜伏期逐渐缩短。与 C 组比较,S 组、3-MA 组水迷宫第 2~4 天逃避潜伏期明显延长,第 5 天目标象限停留时间明显缩短,穿越次数明显减少($P<0.05$)。与 S 组比较,3-MA 组水迷宫第 2~4 天的逃避潜伏期明显缩短,第 5 天目标象限停留时间明显延长,穿越次数明显增多($P<0.05$)。三组水迷宫训练期游泳速度差异无统计学意义(图 1,表 1)。



注:与 C 组比较,^a $P<0.05$;与 S 组比较,^b $P<0.05$

图 1 三组小鼠水迷宫训练期认知功能的比较

表 1 三组小鼠水迷宫探索期认知功能的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	目标象限停留时间 (s)	游泳速度 (m/min)	目标象限穿越次数 (次)
C 组	31.3±2.5	20.1±1.4	6.2±0.6
S 组	21.3±2.1 ^a	20.8±1.6	3.2±0.4 ^a
3-MA 组	25.4±1.9 ^{ab}	19.7±1.3	4.5±0.5 ^{ab}

注:与 C 组比较,^a $P<0.05$;与 S 组比较,^b $P<0.05$

病理学形态 C 组海马组织神经元细胞排列整齐,形态完整。与 C 组比较,S 组海马组织神经元细胞排列紊乱,出现大量核固缩。与 S 组比较,3-MA 组海马组织神经元细胞排列紊乱程度减轻,出现核固缩的细胞减少(图 2)。

LC3 阳性细胞数 与 C 组比较,S 组、3-MA 组海马组织 LC3 阳性细胞数明显增多($P<0.05$)。与

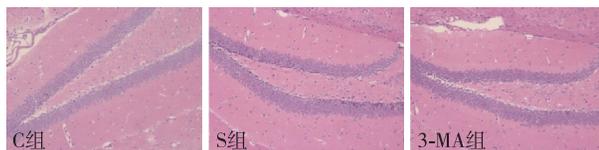


图 2 三组小鼠海马组织病理学 HE 染色图($\times 200$)

S 组比较,3-MA 组海马组织 LC3 阳性细胞数明显减少($P<0.05$)(图 3—4)。

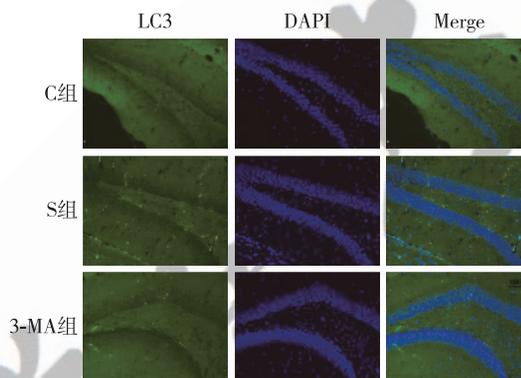
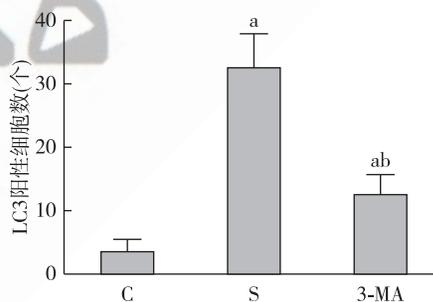


图 3 三组小鼠海马组织免疫荧光图($\times 200$)



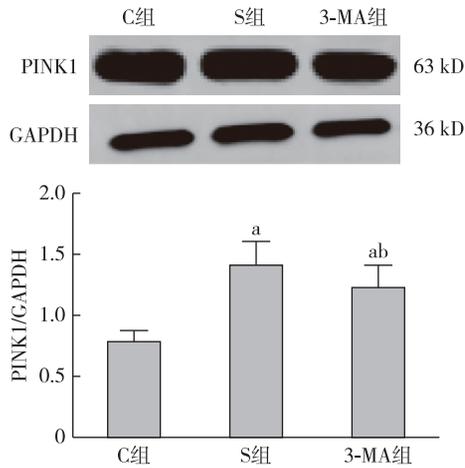
注:与 C 组比较,^a $P<0.05$;与 S 组比较,^b $P<0.05$

图 4 三组小鼠海马中 LC3 阳性细胞数的比较

PINK1、Parkin 和 Beclin1 蛋白含量以及 LC3 II/LC3 I 比值 与 C 组比较,S 组、3-MA 组海马组织 PINK1、Parkin、Beclin1 蛋白含量以及 LC3 II/LC3 I 比值明显升高($P<0.05$)。与 S 组比较,3-MA 组海马组织 PINK1、Parkin、Beclin1 蛋白含量以及 LC3 II/LC3 I 比值明显降低($P<0.05$)(图 5—8)。

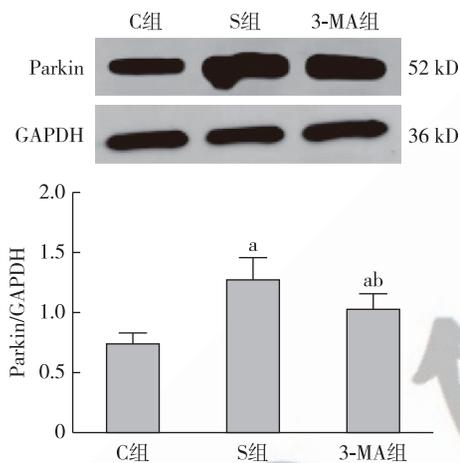
讨 论

七氟醚作为临床上最常用的吸入麻醉药之一,由于其对血流动力学影响较小,诱导及苏醒迅速而被广泛应用于老年患者。然而吸入七氟醚会明显增加老年患者术后认知功能障碍的发生率^[7]。与丙泊酚维持麻醉比较,择期行腹腔镜胆囊切除术的老年患者术中吸入 1~1.5 MAC 七氟醚,其术后认



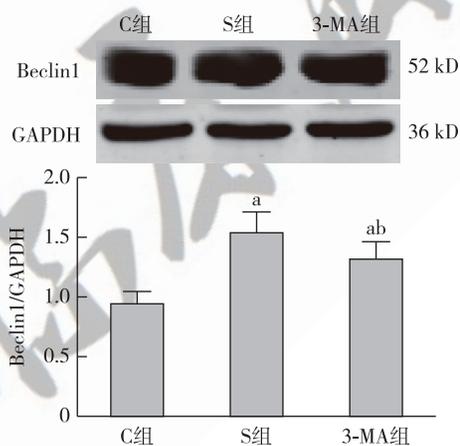
注:与 C 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 S 组比较, ^b $P < 0.05$

图 5 三组小鼠海马组织 PINK1 蛋白含量的比较



注:与 C 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 S 组比较, ^b $P < 0.05$

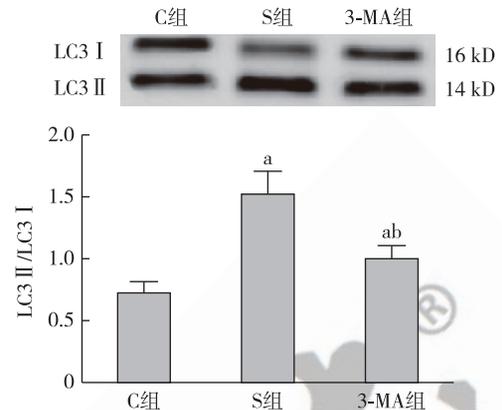
图 6 三组小鼠海马组织 Parkin 蛋白含量的比较



注:与 C 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 S 组比较, ^b $P < 0.05$

图 7 三组小鼠海马组织 Beclin1 蛋白含量的比较

知功能障碍的发生率增加了 20%^[4]。以往研究^[5]表明,老年大鼠分别吸入 1%、2%、3%或 4%浓度的



注:与 C 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 S 组比较, ^b $P < 0.05$

图 8 三组小鼠海马组织 LC3 II/LC3 I 比值的比较

七氟醚 6 h, 3%和 4%浓度的七氟醚麻醉可引起老年大鼠学习和记忆下降,而 1%和 2%浓度的七氟醚麻醉的大鼠未见明显认知功能损伤。因此,本实验研究选择 3%浓度的七氟醚吸入 6 h。与 C 组比较,老年小鼠吸入 3%七氟醚 6 h 后,水迷宫实验训练第 2~4 天的逃避潜伏期明显延长,第 5 天在目标象限中停留时间和穿越次数明显减少,提示七氟醚吸入小鼠学习和记忆能力下降,模型制作成功。

已有临床研究^[9]报道,七氟醚是引起老年患者术后认知功能损伤的主要因素。行食管癌切除术的老年患者术中吸入 1 MAC 七氟醚,术后 1、3、7 d 的简易智力状态检查量表 (MMSE) 和蒙特利尔认知评估量表评分 (MoCA) 较术前基础值显著下降;与术中丙泊酚维持麻醉比较,七氟醚麻醉的老年患者术后 1、3、7 d 的 MMSE 和 MoCA 评分下降,术后认知功能障碍发生率显著升高。另一项关于 84 例外科手术 (手术时间大于 2 h) 老年患者的临床研究^[10]表明,与地氟醚比较,麻醉维持期间吸入七氟醚的老年患者术后 1 h 的 MMSE 评分明显下降。动物实验^[5]也证实七氟醚麻醉的老年大鼠认知功能下降,同时海马形态学结构明显损伤^[11]。本实验研究采用 Morris 水迷宫检测老年小鼠的学习和记忆能力,结果显示:吸入 3%七氟醚 6 h 后老年小鼠学习和记忆能力下降,海马神经元细胞排列紊乱,出现大量核固缩。上述结果与以往报道相符^[5,11]。

已有研究^[12-14]证实七氟醚可引起新生或成年大鼠海马自噬激活和认知功能障碍。LC3 和 Beclin1 是经典自噬途径中的关键蛋白。LC3 位于自噬体外膜,当自噬激活时 LC3 表达量增加并由 I 型向 II 型转变。Beclin1 位于细胞质中,Beclin1 突变通过从负调节因子中释放 Beclin1 发挥作用,调节

自噬的活性^[13]。出生 7 d 大鼠每天吸入 3.4% 七氟醚 4 h, 连续 3 d, 其海马组织中自噬相关蛋白 LC3 和 Beclin1 表达量明显增加, 自噬被激活, 进而神经元凋亡增加^[12]。孕 14 d 大鼠暴露于 2% 或 3.5% 七氟醚 2 h, 出生 28 d 的子代大鼠均出现海马自噬相关蛋白 LC3、Beclin1 表达量增加, 神经干细胞凋亡增加, 神经元存活减少, 伴随学习和记忆能力下降; 母代大鼠吸入七氟醚前给予腹腔注射自噬抑制剂三甲基腺嘌呤, 可显著逆转子代大鼠海马自噬激活和认知损伤^[13]。4 月龄大鼠吸入 3% 七氟醚 50 min 后, 海马内线粒体自噬激活, 学习和记忆能力下降^[14]。本实验研究结果显示, 老年小鼠吸入 3% 七氟醚 6 h, 海马中 LC3 阳性细胞数和 LC3 II/LC3 I 比值增加, 同时 Beclin1 蛋白含量升高, 电镜下神经元细胞结构紊乱, 线粒体肿胀, 细胞内可见大量自噬空泡。自噬抑制剂三甲基腺嘌呤是经典的自噬抑制剂, 主要在自噬小体的形成和发展过程中起到抑制作用^[15]。腹腔注射三甲基腺嘌呤, 可抑制脑损伤疾病模型小鼠脑内线粒体自噬的活性, 减轻认知障碍^[15]。本实验研究中, 腹腔注射三甲基腺嘌呤, 逆转了七氟醚引起的小鼠海马线粒体自噬激活, 以及 LC3 阳性细胞数、LC3 II/LC3 I 比值和 Beclin1 蛋白含量改变。上述结果提示了七氟醚引起的老年小鼠认知功能损伤与海马内线粒体自噬激活相关。

PINK1/Parkin 介导的 Mfn 2 泛素化是线粒体自噬活化的经典途径。线粒体损伤时, 位于线粒体表面磷酸化的 PINK1 招募 Parkin 并激活 Parkin, 激活的 Parkin 泛素化多种线粒体外膜蛋白和磷酸化 Beclin1, 并被自噬受体蛋白识别。这些自噬受体蛋白有 LC3 相互作用区域, 通过与自噬囊泡膜上的 LC3 相结合, 构成线粒体自噬体, 线粒体自噬体与溶酶体结合, 在溶酶体中被降解^[16]。三甲基腺嘌呤通过抑制 PINK1、Parkin 的表达, 抑制线粒体自噬的激活^[17]。PINK1 和 Parkin 表达异常与神经系统疾病的认知功能损伤密切相关。尸体解剖发现, 与非神经系统疾病死亡患者比较, 阿尔茨海默病患者海马中 PINK1 和 Parkin 表达量明显增高, 电镜下线粒体自噬激活, A β 蛋白大量沉积^[18]。另一项关于帕金森病患者的尸体解剖研究^[19]中, 脑组织经全基因组筛选发现, 液泡蛋白质分选蛋白 VPS13C 突变, PINK1 和 Parkin 表达量明显增高, 透射电镜下可见线粒体自噬激活, 进一步的 Cos-7 和 HEK293T 细胞实验证实降低 VPS13C 表达通过上调 PINK1/Parkin 激活线粒体自噬。动物实验^[20]表明, PINK1 和

Parkin 介导线粒体自噬诱发认知功能损伤: 大脑中动脉闭塞脑损伤大鼠认知功能下降, 海马区神经元线粒体外膜中 PINK1 大量积累, Parkin/p62 线粒体易位显著增加, LC3 表达量明显升高, 线粒体自噬激活。腹腔注射三甲基腺嘌呤, 可抑制脑损伤疾病模型小鼠脑皮质的 PINK1/Parkin 信号, 抑制脑内线粒体自噬的活性, 减轻认知功能损伤^[15]。七氟醚是否通过 PINK1/Parkin 通路介导老年大鼠脑内的线粒体自噬目前尚未见报道。本实验研究结果显示, 七氟醚麻醉的老年小鼠海马内 PINK1 和 Parkin 蛋白含量明显升高, 线粒体自噬激活, 伴随学习和记忆下降; 腹腔注射三甲基腺嘌呤降低了七氟醚吸入小鼠海马内 PINK1 和 Parkin 蛋白含量, 抑制线粒体自噬活性, 最终改善学习和记忆能力。因此, 七氟醚导致老年小鼠认知功能损伤的机制可能与 PINK1/Parkin 介导的海马线粒体自噬激活密切相关。

综上, 3% 七氟醚吸入 6 h 可引起老年小鼠海马内线粒体自噬激活, Beclin1 表达上调, LC3 阳性细胞数和 LC3 II/LC3 I 比值升高, 病理形态学改变, 最终导致认知功能损伤。腹腔注射自噬抑制剂三甲基腺嘌呤可抑制七氟醚吸入小鼠海马内的线粒体自噬活性, 改善认知功能。以上结果表明, 七氟醚诱导老年小鼠认知功能损伤与海马线粒体自噬激活有关, 而这是是否由 PINK1/Parkin 通路所介导, 有待进一步研究证实。

参 考 文 献

- [1] Zhang Y, Shan GJ, Zhang YX, et al. Propofol compared with sevoflurane general anaesthesia is associated with decreased delayed neurocognitive recovery in older adults. *Br J Anaesth*, 2018, 121(3): 595-604.
- [2] Gross AF, Stern TA. Neuropsychiatric conditions associated with anesthesia exposure. *Psychosomatics*, 2014, 55(1): 21-28.
- [3] Yu X, Zhang F, Shi J. Sevoflurane anesthesia impairs metabotropic glutamate receptor-dependent long-term depression and cognitive functions in senile mice. *Geriatr Gerontol Int*, 2019, 19(4): 357-362.
- [4] Geng YJ, Wu QH, Zhang RQ. Effect of propofol, sevoflurane, and isoflurane on postoperative cognitive dysfunction following laparoscopic cholecystectomy in elderly patients: a randomized controlled trial. *J Clin Anesth*, 2017, 38: 165-171.
- [5] 李繁, 黎仕焯, 黄奕弟. 不同浓度七氟醚麻醉对大鼠氧化应激及 Caspase-9 表达的影响. *中国现代医学杂志*, 2018, 28(13): 22-28.
- [6] Xu L, Shen J, Yu L, et al. Role of autophagy in sevoflurane-induced neurotoxicity in neonatal rat hippocampal cells. *Brain Res Bull*, 2018, 140: 291-298.

- [7] Shan Y, Sun S, Yang F, et al. Dexmedetomidine protects the developing rat brain against the neurotoxicity wrought by sevoflurane: role of autophagy and Drp1-Bax signaling. *Drug Des Devel Ther*, 2018, 12: 3617-3624.
- [8] Yang ZY, Yuan CX. IL-17A promotes the neuroinflammation and cognitive function in sevoflurane anesthetized aged rats via activation of NF- κ B signaling pathway. *BMC Anesthesiol*, 2018, 18 (1): 147.
- [9] Zhang H, Wu Z, Zhao X, et al. Role of dexmedetomidine in reducing the incidence of postoperative cognitive dysfunction caused by sevoflurane inhalation anesthesia in elderly patients with esophageal carcinoma. *J Cancer Res Ther*, 2018, 14 (7): 1497-1502.
- [10] Meineke M, Applegate RL 2nd, Rasmussen T, et al. Cognitive dysfunction following desflurane versus sevoflurane general anesthesia in elderly patients: a randomized controlled trial. *Med Gas Res*, 2014, 4(1): 6.
- [11] Huang C, Chu JM, Liu Y, et al. Varenicline reduces DNA damage, tau mislocalization and post surgical cognitive impairment in aged mice. *Neuropharmacology*, 2018, 143: 217-227.
- [12] Xu L, Shen J, Yu L, et al. Autophagy is involved in sevoflurane-induced developmental neurotoxicity in the developing rat brain. *Brain Res Bull*, 2018, 140: 226-232.
- [13] Li X, Wu Z, Zhang Y, et al. Activation of autophagy contributes to sevoflurane-induced neurotoxicity in fetal rats. *Front Mol Neurosci*, 2017, 10: 432.
- [14] Ye JS, Chen L, Lu YY, et al. Honokiol-mediated mitophagy ameliorates postoperative cognitive impairment induced by surgery/sevoflurane via inhibiting the activation of NLRP3 inflammasome in the hippocampus. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 8639618.
- [15] 叶亮, 袁森, 肖文峰. 脑损伤模型大鼠 Pink1/Parkin 介导的线粒体自噬作用. *中国组织工程研究*, 2020, 24 (11): 1695-1700.
- [16] Wang Y, Liu N, Lu B. Mechanisms and roles of mitophagy in neurodegenerative diseases. *CNS Neurosci Ther*, 2019, 25(7): 859-875.
- [17] Wu X, Li X, Liu Y, et al. Hydrogen exerts neuroprotective effects on OGD/R damaged neurons in rat hippocampal by protecting mitochondrial function via regulating mitophagy mediated by PINK1/Parkin signaling pathway. *Brain Res*, 2018, 1698: 89-98.
- [18] Fang EF, Hou Y, Palikaras K, et al. Mitophagy inhibits amyloid- β and tau pathology and reverses cognitive deficits in models of Alzheimer's disease. *Nat Neurosci*, 2019, 22(3): 401-412.
- [19] Lesage S, Drouet V, Majounie E, et al. Loss of VPS13C function in autosomal-recessive parkinsonism causes mitochondrial dysfunction and increases PINK1/Parkin-dependent mitophagy. *Am J Hum Genet*, 2016, 98(3): 500-513.
- [20] Lan R, Wu JT, Wu T, et al. Mitophagy is activated in brain damage induced by cerebral ischemia and reperfusion via the PINK1/Parkin/p62 signalling pathway. *Brain Res Bull*, 2018, 142: 63-77.

(收稿日期:2020-04-15)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《临床麻醉学杂志》关于一稿两投问题的声明

为维护学术刊物的严肃性和科学性,也为了维护作者的名誉和向广大读者负责,本刊编辑部重申坚决反对一稿两投并采取以下措施:(1)作者和单位对来稿的真实性和科学性均应自行负责。刊出前需第一作者在校样首页亲笔签名,临床研究和实验研究来稿的通信作者也需亲笔签名。(2)来稿需附单位推荐信,并注明稿件无一稿两投,署名无争议,并加盖公章。(3)凡接到编辑部收稿回执后3个月内未接到退稿通知,系稿件仍在审阅中,作者欲投他刊,或将在他刊上发表,请先与编辑部联系撤稿,切勿一稿两投。(4)编辑部认为来稿有一稿两投嫌疑时,在认真收集有关资料和仔细核对后通知作者,并由作者就此问题作出解释。(5)一稿两用一经证实,将择期在杂志上刊出其作者单位和姓名以及撤销该文的通知;向作者所在单位和同类杂志通报;2年内拒绝发表该作者为第一作者所撰写的任何来稿。