

# 艾司氯胺酮通过 AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$ 信号通路改善髋部骨折大鼠术后认知功能障碍的机制<sup>A</sup>

刘璇<sup>1\*</sup>, 张晓敏<sup>1</sup>, 刘进婷<sup>2</sup>, 郝岩<sup>3</sup>, 汪业铭<sup>1#</sup>, 陈丽星<sup>4</sup> (1. 河北北方学院附属第一医院麻醉科, 河北 张家口 075031; 2. 河北北方学院附属第一医院手术室, 河北 张家口 075031; 3. 河北北方学院附属第一医院药学部, 河北 张家口 075031; 4. 河北北方学院附属第一医院骨科, 河北 张家口 075031)

中图分类号 R614;R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2025)21-2674-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.21.10



**摘要** 目的 基于 AMP 活化蛋白激酶(AMPK)/沉默信息调节因子 1(SIRT1)/过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  共激活因子 1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) 信号通路, 探讨艾司氯胺酮改善髋部骨折大鼠术后认知功能障碍的机制。方法 将髋部骨折术后大鼠分为模型组、艾司氯胺酮组(10 mg/kg)、抑制剂组(250  $\mu$ g/mL AMPK 抑制剂 Compound C)、艾司氯胺酮+抑制剂组(10 mg/kg 艾司氯胺酮+250  $\mu$ g/mL Compound C), 并将执行假手术的大鼠作为对照组, 每组 12 只。采用新物体识别及巴恩斯迷宫实验评估大鼠认知功能; 检测血清肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、 $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)、多巴胺(DA)、谷氨酸(Glu)水平以及海马神经元细胞凋亡情况; 观察海马组织病理形态和线粒体超微结构的变化; 检测海马组织中 B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax) mRNA 表达水平, AMPK、SIRT1 和 PGC-1 $\alpha$  的 mRNA 和蛋白表达以及磷酸化(p)-AMPK 的蛋白表达。结果 与对照组比较, 模型组大鼠海马神经元排列较乱, 较多神经元坏死, 且线粒体肿胀; 新物体识别指数, SOD、GABA、DA 水平, Bcl-2、AMPK、SIRT1、PGC-1 $\alpha$  mRNA 表达水平以及 p-AMPK、SIRT1、PGC-1 $\alpha$  蛋白表达水平均显著降低, 而寻找未知洞的潜伏期、错误次数, TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、MDA、Glu 水平, 神经元细胞凋亡率以及 Bax mRNA 表达水平均显著升高/延长( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 艾司氯胺酮组大鼠海马组织病理损伤减轻; 新物体识别指数, SOD、GABA、DA 水平, Bcl-2、AMPK、SIRT1、PGC-1 $\alpha$  mRNA 表达水平以及 p-AMPK、SIRT1、PGC-1 $\alpha$  蛋白表达水平均显著升高, 而寻找未知洞的潜伏期、错误次数, TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、MDA、Glu 水平, 神经元细胞凋亡率以及 Bax mRNA 表达水平均显著下降( $P < 0.05$ ); 抑制剂组上述指标变化趋势则与艾司氯胺酮组相反( $P < 0.05$ )。AMPK 抑制剂可逆转艾司氯胺酮对大鼠髋部骨折术后上述指标的改善作用( $P < 0.05$ )。结论 艾司氯胺酮可能通过激活 AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$  信号通路改善大鼠髋部骨折术后炎症反应和氧化应激水平, 抑制神经元细胞凋亡, 改善线粒体结构, 促进术后认知功能恢复。

**关键词** 艾司氯胺酮; AMP 活化蛋白激酶; 沉默信息调节因子 1; 过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  共激活因子 1 $\alpha$ ; 髋部骨折; 认知功能障碍

## Mechanism by which esketamine improves postoperative cognitive impairment in rats with hip fracture through AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$ signaling pathway

LIU Xuan<sup>1</sup>, ZHANG Xiaomin<sup>1</sup>, LIU Jinting<sup>2</sup>, HAO Yan<sup>3</sup>, WANG Yeming<sup>1</sup>, CHEN Lixing<sup>4</sup> (1. Dept. of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Hebei Zhangjiakou 075031, China; 2. Operating Room, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Hebei Zhangjiakou 075031, China; 3. Dept. of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Hebei Zhangjiakou 075031, China; 4. Dept. of Orthopedics, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Hebei Zhangjiakou 075031, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE** To investigate the mechanism by which esketamine improves postoperative cognitive impairment in rats with hip fracture based on the AMP-activated protein kinase (AMPK)/silencing information regulatory factor 1 (SIRT1)/peroxisome proliferator activated-receptor- $\gamma$  coactivator-1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) signaling pathway. **METHODS** Rats with hip fracture surgery were assigned into model group, esketamine group (10 mg/kg), inhibitor group (250  $\mu$ g/mL AMPK inhibitor Compound C), and esketamine+inhibitor group (10 mg/kg esketamine + 250  $\mu$ g/mL Compound C), and rats undergoing sham surgery were used as the

<sup>A</sup> 基金项目 张家口市科技计划项目(No.2421055D)

\* 第一作者 主治医师, 硕士。研究方向: 临床麻醉与疼痛诊疗。

E-mail: 448231@163.com

# 通信作者 副主任医师, 副教授, 硕士。研究方向: 临床麻醉和疼痛诊疗。E-mail: aeqequ@163.com

control group, with 12 rats in each group. New object recognition and Barnes maze experiments were used to evaluate cognitive function in rats. The levels of serum tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA),

gamma-aminobutyric acid (GABA), dopamine (DA) and glutamate (Glu), and the apoptosis of hippocampal neurons were detected. The pathological morphology of the hippocampal tissue and the ultrastructure of mitochondria were observed. The mRNA expression of B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) and Bcl-2-associated X protein (Bax), the mRNA and protein expression of AMPK, SIRT1 and PGC-1 $\alpha$ , as well as the expression of phosphorylated (p)-AMPK in hippocampal tissue, were detected. **RESULTS** Compared with the control group, the hippocampal neurons in the model group of rats were disordered, with more neurons necrotic and swollen mitochondria; the new object recognition index, the SOD, GABA, DA levels, Bcl-2, AMPK, SIRT1 and PGC-1 $\alpha$  mRNA expression levels, and p-AMPK, SIRT1, PGC-1 $\alpha$  protein expression levels were significantly reduced, while the latency and number of errors for locating unknown holes, the TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , MDA and Glu levels, neuronal cell apoptosis rate, and Bax mRNA expression levels were significantly increased/prolonged ( $P<0.05$ ). Compared with the model group, the esketamine group showed reduced pathological damage to the hippocampal tissue of rats, and the new object recognition index, the SOD, GABA and DA levels, the Bcl-2, AMPK, SIRT1 and PGC-1 $\alpha$  mRNA expression levels, and p-AMPK, SIRT1, PGC-1 $\alpha$  protein expression levels were significantly increased, while the latency and error frequency for locating unknown holes, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , MDA and Glu levels, neuronal cell apoptosis rate, and Bax mRNA expression levels were significantly decreased ( $P<0.05$ ); the inhibitor group showed the opposite trend of changes in these indicators compared to the esketamine group ( $P<0.05$ ). AMPK inhibitor could reverse the improvement effect of esketamine on the above indicators after hip fracture surgery in rats ( $P<0.05$ ). **CONCLUSIONS** Esketamine may improve postoperative inflammatory response and oxidative stress levels in rats with hip fracture by activating the AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$  signaling pathway, inhibiting neuronal cell apoptosis, improving mitochondrial structure, and promoting postoperative cognitive function recovery.

**KEYWORDS** esketamine; AMP-activated protein kinase; silencing information regulator factor 1; peroxisome proliferator activated receptor- $\gamma$  coactivator-1 $\alpha$ ; hip fracture; cognitive impairment

髋部骨折是老年人中比较常见的严重损伤,可导致老年人身体机能大幅下降,其发生率和死亡率较高<sup>[1]</sup>。在世界范围内,由于人口老龄化等因素,髋部骨折发生率呈上升趋势<sup>[2]</sup>。髋部骨折术后认知功能障碍是老年患者比较常见的并发症,影响患者的记忆力、注意力、执行力等,对患者的正常生活造成极大影响,也给患者家庭及社会带来极大负担<sup>[3]</sup>。老年髋部骨折术后认知功能障碍的临床治疗常用胆碱酯酶抑制剂、N-甲基-D-天门冬氨酸受体拮抗剂等药物,但存在疗效有限、副作用多、适用范围窄、无法修复神经元等明显不足<sup>[4]</sup>。因此,开发能有效改善老年髋部骨折术后认知功能障碍的药物意义重大。

艾司氯胺酮是一种麻醉药物,具有镇痛、麻醉、抗抑郁等作用<sup>[5]</sup>。研究发现,艾司氯胺酮可改善抑郁症模型大鼠的认知功能<sup>[6]</sup>。一项临床研究表明,右美托咪定联合低剂量艾司氯胺酮可有效改善老年髋部骨折患者术后认知功能,同时保持血流动力学平稳,显著缓解疼痛并降低手术应激反应,且不良反应发生率较低<sup>[7]</sup>。然而,艾司氯胺酮改善髋部骨折术后认知功能障碍的作用机制尚未可知。AMP活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)是细胞能量传感器和线粒体生物发生的关键调节因子,其可通过激活沉默信息调节因子1(silencing information regulator factor 1, SIRT1)及其下游过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ 共激活因子1 $\alpha$ (peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  coactivator-1 $\alpha$ , PGC-1 $\alpha$ )调节线粒体功能<sup>[8]</sup>。研究发现,激活 AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$  信号通路可恢复线粒体功能,减轻炎症和氧化应激,从而改善阿尔茨海默病模型大鼠的认知功能障碍<sup>[9]</sup>。因此,本研究基于 AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$  信号

通路,探讨艾司氯胺酮改善髋部骨折大鼠术后认知功能障碍的机制,以期老年髋部骨折患者术后认知功能障碍的临床治疗提供新的作用靶点与实验依据。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

DM2500 型荧光显微镜购自北京创诚致佳科技有限公司;SS-150 型透射电镜购自深圳市善时仪器有限公司;Varioskan™ ALF 型酶标仪购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司;CFX Opus 96 型实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)仪购自上海旦鼎国际贸易有限公司;DYCZ-24FN 型蛋白电泳仪购自北京六一生物科技有限公司;ULTRA 型凝胶成像仪购自上海天能科技有限公司。

### 1.2 主要药品与试剂

艾司氯胺酮注射液(批号 H20193336,规格 0.1 mL:14 mg)购自江苏恒瑞医药股份有限公司;AMPK 抑制剂 Compound C 对照品(批号 HY-13418A,纯度 99.10%)购自美国 MCE 公司;肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、丙二醛(malondialdehyde, MDA)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(批号分别为 BGT-KET-13380、BGT-KET-13377、A-QEK13162-96wells)均购自武汉佰瑞得生物技术有限公司;超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、 $\gamma$ -氨基丁酸(gamma-aminobutyric acid, GABA)、谷氨酸(glutamate, Glu)ELISA 试剂盒(批号分别为 CB10258-Ra、CB10170-Ra、CB10387-Ra)均购自上海科艾博生物技术有限公司;多巴胺(dopamine, DA)ELISA 试剂盒(批号 JL12965-96T)购自上海江莱生物科技有限公司;TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒(批号

KTA2010)购自亚科因(武汉)生物技术有限公司;苏木精-伊红(HE)染色试剂盒(批号RC0062)购自上海慧蓝生物科技有限公司;Trizol试剂盒(批号R1472)购自上海远慕生物科技有限公司;qRT-PCR试剂盒(批号QPG-020)购自上海吉玛制药技术有限公司;兔抗大鼠磷酸化(p)-AMPK单克隆抗体、兔抗大鼠AMPK单克隆抗体、兔抗大鼠SIRT1单克隆抗体、兔抗大鼠PGC-1 $\alpha$ 多克隆抗体、兔抗大鼠 $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)多克隆抗体、山羊抗兔二抗(批号分别为ab271188、ab32047、ab189494、ab72230、ab8227、ab6721)均购自英国Abcam公司。

### 1.3 实验动物

SPF级SD雄性大鼠60只(体质量580~610 g,20月龄)购自石家庄市冀中饲料技术开发有限公司,生产许可证号:SCXK(冀)2022-002。大鼠饲养于河北北方学院附属第一医院动物实验室,自由摄食、饮水,饲养环境温度22~25℃、湿度50%~55%。本研究通过石家庄市冀中饲料技术开发有限公司动物伦理委员会批准(伦理号:202409557)。

## 2 方法

### 2.1 造模、分组与给药

根据文献[10]构建髌部骨折大鼠模型。将建模成功的大鼠分为模型组、艾司氯胺酮组、抑制剂组、艾司氯胺酮+抑制剂组,每组12只;将执行同样手术操作,但不采用砵码击打髌关节的12只大鼠作为对照组。艾司氯胺酮组大鼠腹腔注射10 mg/kg艾司氯胺酮<sup>[11]</sup>,抑制剂组大鼠每日经尾静脉注射250  $\mu$ g/mL Compound C<sup>[12]</sup>,艾司氯胺酮+抑制剂组大鼠每日腹腔注射10 mg/kg艾司氯胺酮的同时经尾静脉注射250  $\mu$ g/mL Compound C。对照组和模型组大鼠每日以同样方式给予等体积生理盐水。各组大鼠均在术后第1天开始给药,每日1次,持续给药1周。

### 2.2 新物体识别实验

给药结束后进行新物体识别实验。实验共分为3个阶段:(1)预适应阶段——将大鼠放入空箱内进行适应(时间10 min);(2)熟悉阶段——将2个相同物体(分别标记为A、B)放入箱子内,并将大鼠放进箱内,让大鼠观察物体(时间5 min);(3)检测阶段——将物体B换成完全不同的物体C,再次将大鼠放进箱内(时间5 min),记录大鼠对物体A和物体C的探索时间,分别记为旧物体时间和新物体时间,并计算新物体识别指数。新物体识别指数=新物体时间/(旧物体时间+新物体时间) $\times$ 100%。

### 2.3 巴恩斯迷宫实验

新物体识别实验结束后进行巴恩斯迷宫实验。实验分为2个阶段:(1)学习阶段——准备一个圆形平台,平台周边有12个孔洞,并在其中一个洞口(设为目标洞)放置一个暗箱,每次训练开始之前使大鼠适应30 s,之后将其放在迷宫中心位置进行探索(时间4 min),当大鼠进入暗箱内则训练结束,每天训练2次,共计训练4 d;

(2)测试阶段——将大鼠放在迷宫中心位置开始进行测试,每次测试时间设为4 min,记录其寻找目标洞的潜伏期、错误次数。

### 2.4 大鼠血清炎症因子、氧化应激及神经递质指标检测

巴恩斯迷宫实验结束12 h后,将各组大鼠麻醉,然后取腹主动脉血进行离心并取上清液,按照说明书操作步骤,采用ELISA试剂盒检测血清TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、SOD、MDA、GABA、DA、Glu水平。

### 2.5 大鼠海马组织病理形态观察

各组随机选择6只大鼠,将其麻醉后进行处死,然后取出大鼠海马组织分为两部分,其中一部分置于多聚甲醛(4%)溶液中固定24 h,经脱水、石蜡包埋后制成4  $\mu$ m厚切片。取部分切片,经脱蜡、水化后进行HE染色,封片后,显微镜下观察海马组织病理形态变化并拍照;另一部分置于戊二醛(5%)溶液中固定,用于后续实验。

### 2.6 大鼠海马神经元细胞凋亡检测

取“2.5”项下经多聚甲醛固定的各组大鼠剩余海马组织切片,经脱蜡与水化后,按TUNEL试剂盒进行孵育,DAPI复染细胞核。通过荧光显微镜观察细胞凋亡情况(凋亡细胞呈绿色荧光),并计算神经元细胞凋亡率。神经元细胞凋亡率(%)=凋亡细胞数/总细胞数 $\times$ 100%。

### 2.7 大鼠海马神经元线粒体超微结构观察

取出“2.5”项下用戊二醛固定的海马组织,经1%锇酸固定液固定2 h后,常规脱水、环氧树脂包埋并制备超薄切片。切片经醋酸铀与枸橼酸铅染色后,通过透射电镜观察大鼠海马神经元线粒体超微结构。每只大鼠随机选择3个非连续海马切片,每个切片在CA1区系统随机拍摄5个视野。

### 2.8 大鼠海马组织凋亡和AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$ 信号通路相关基因mRNA表达的检测

采用qRT-PCR法检测。将各组剩余6只大鼠进行麻醉并处死后,分离取出海马组织,其中一部分海马组织使用Trizol试剂盒提取RNA,检测总RNA浓度后,使用反转录试剂盒将其反转录为cDNA,并以此作为模板进行qRT-PCR反应。反应条件如下:95℃预变性5 min;94℃变性30 s,60℃退火30 s,72℃延伸20 s,共35个循环。以 $\beta$ -actin为内参,使用2<sup>- $\Delta\Delta$ CT</sup>法计算Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2-associated X protein, Bax)、B细胞淋巴瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)、AMPK、SIRT1、PGC-1 $\alpha$  mRNA的表达水平。每个独立样本均设置3个复孔。qRT-PCR引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,其引物序列及产物长度见表1。

### 2.9 大鼠海马组织AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$ 信号通路相关蛋白表达的检测

采用Western blot法检测。将“2.8”项下剩余海马组织取出,加入RIPA裂解液以提取蛋白,然后检测其蛋白浓度,接着取蛋白样品依次进行电泳和转膜,封闭后,加



表1 qRT-PCR引物序列及产物长度

基因	上游引物(5'-3')	下游引物(5'-3')	产物长度/bp
Bax	GGTTGTCGCCCTTTTCTACT	GGAGGAAGTCCAATGTCCA	164
Bcl-2	TGTGTGTGGAGAGCGTA	CAGCAGGAGAAATCAAACA	158
AMPK	TTGCGTGTGCGAAGGAAGAACC	CCGATCTCTGTGGAGTAGCAGTCC	215
SIRT1	TGATTGGCACCGATCCTCG	CCACAGCGTCATATATCCAG	203
PGC-1 $\alpha$	GGGGACATCTGTTCTTCCA	GCTTGACTGGGATGACCGAA	179
$\beta$ -actin	CACCCGCGAGTACAACCTTC	GTACATGGCTGGGGTGTGA	136

入 AMPK、p-AMPK、SIRT1、PGC-1 $\alpha$  和  $\beta$ -actin 一抗(稀释比例均为 1:1 000),孵育过夜后,加入相应二抗(稀释比例为 1:2 000)继续孵育;经 ECL 化学发光显影后,采用 Image J 软件分析,以目标蛋白灰度值与内参  $\beta$ -actin 灰度值比值表示目标蛋白的表达水平。上述实验重复 3 次。

### 2.10 统计学方法

采用 SPSS 25.0 软件进行数据分析,计量资料满足正态分布,以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用方差分析,进一步两两比较采用 SNK- $q$  检验。检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 3 结果

### 3.1 艾司氯胺酮对大鼠认知功能的影响

与对照组比较,模型组大鼠新物体识别指数显著降低,寻找目标洞的潜伏期和错误次数均显著延长/增加( $P<0.05$ )。与模型组比较,艾司氯胺酮组大鼠新物体识别指数显著升高,寻找目标洞的潜伏期及错误次数均显著缩短/减少( $P<0.05$ );而抑制剂组大鼠新物体识别指数显著降低,寻找目标洞的潜伏期、错误次数均显著延长/增加( $P<0.05$ )。与艾司氯胺酮组比较,艾司氯胺酮+抑制剂组大鼠新物体识别指数显著降低,寻找目标洞的潜伏期和错误次数均显著延长/增加( $P<0.05$ )。结果见表 2。

表2 各组大鼠新物体识别指数、潜伏期、错误次数比较( $\bar{x} \pm s, n=12$ )

组别	新物体识别指数/%	潜伏期/s	错误次数/次
对照组	74.22 $\pm$ 8.14	24.72 $\pm$ 2.68	0.85 $\pm$ 0.10
模型组	27.61 $\pm$ 3.06 <sup>a</sup>	82.35 $\pm$ 11.21 <sup>a</sup>	3.91 $\pm$ 0.45 <sup>a</sup>
艾司氯胺酮组	68.13 $\pm$ 7.57 <sup>b</sup>	33.84 $\pm$ 4.06 <sup>b</sup>	1.56 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>
抑制剂组	15.85 $\pm$ 1.72 <sup>b</sup>	127.42 $\pm$ 14.89 <sup>b</sup>	6.49 $\pm$ 0.71 <sup>b</sup>
艾司氯胺酮+抑制剂组	31.52 $\pm$ 3.38 <sup>c</sup>	78.26 $\pm$ 9.14 <sup>c</sup>	3.74 $\pm$ 0.40 <sup>c</sup>

a:与对照组比较, $P<0.05$ ;b:与模型组比较, $P<0.05$ ;c:与艾司氯胺酮组比较, $P<0.05$ 。

### 3.2 艾司氯胺酮对大鼠血清炎症因子及氧化应激指标的影响

与对照组比较,模型组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、MDA 水平均显著升高,SOD 水平显著降低( $P<0.05$ )。与模型组比较,艾司氯胺酮组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、MDA 水平均显著降低,SOD 水平显著升高( $P<0.05$ );而抑制剂组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、MDA 水平均显著升高,SOD 水平显著降低( $P<0.05$ )。与艾司氯胺酮组比较,艾司氯胺酮+抑制剂组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、MDA 水平均显著升高,SOD 水平显著降低( $P<0.05$ )。结果见表 3。

表3 各组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、SOD、MDA 水平比较( $\bar{x} \pm s, n=12$ )

组别	TNF- $\alpha$ /(ng/mL)	IL-1 $\beta$ /(ng/mL)	SOD/(U/mL)	MDA/( $\mu$ mol/L)
对照组	102.81 $\pm$ 12.25	84.03 $\pm$ 10.26	32.81 $\pm$ 3.94	0.52 $\pm$ 0.06
模型组	341.23 $\pm$ 36.74 <sup>a</sup>	372.41 $\pm$ 39.72 <sup>a</sup>	16.03 $\pm$ 2.06 <sup>a</sup>	1.67 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>
艾司氯胺酮组	145.37 $\pm$ 18.02 <sup>b</sup>	127.84 $\pm$ 14.51 <sup>b</sup>	28.62 $\pm$ 2.97 <sup>b</sup>	0.71 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>
抑制剂组	418.94 $\pm$ 39.86 <sup>b</sup>	447.45 $\pm$ 43.27 <sup>b</sup>	10.41 $\pm$ 1.32 <sup>b</sup>	2.34 $\pm$ 0.26 <sup>b</sup>
艾司氯胺酮+抑制剂组	301.46 $\pm$ 33.17 <sup>c</sup>	320.28 $\pm$ 35.45 <sup>c</sup>	20.27 $\pm$ 2.30 <sup>c</sup>	1.39 $\pm$ 0.15 <sup>c</sup>

a:与对照组比较, $P<0.05$ ;b:与模型组比较, $P<0.05$ ;c:与艾司氯胺酮组比较, $P<0.05$ 。

### 3.3 艾司氯胺酮对大鼠血清神经递质指标的影响

与对照组比较,模型组大鼠血清 GABA、DA 水平均显著降低,Glu 水平显著升高( $P<0.05$ )。与模型组比较,艾司氯胺酮组大鼠血清 GABA、DA 水平均显著升高,Glu 水平显著降低( $P<0.05$ );而抑制剂组大鼠血清 GABA、DA 水平均显著降低,Glu 水平显著升高( $P<0.05$ )。与艾司氯胺酮组比较,艾司氯胺酮+抑制剂组大鼠血清 GABA、DA 水平均显著降低,Glu 水平显著升高( $P<0.05$ )。结果见表 4。

表4 各组大鼠血清 GABA、DA、Glu 水平比较( $\bar{x} \pm s, n=12$ )

组别	GABA/(pg/mL)	DA/(ng/mL)	Glu/( $\mu$ mol/L)
对照组	281.84 $\pm$ 25.92	1 014.26 $\pm$ 127.85	54.68 $\pm$ 7.92
模型组	87.16 $\pm$ 9.54 <sup>a</sup>	496.80 $\pm$ 52.28 <sup>a</sup>	162.25 $\pm$ 18.07 <sup>a</sup>
艾司氯胺酮组	242.73 $\pm$ 24.61 <sup>b</sup>	908.43 $\pm$ 101.69 <sup>b</sup>	73.81 $\pm$ 9.48 <sup>b</sup>
抑制剂组	50.67 $\pm$ 5.83 <sup>b</sup>	313.74 $\pm$ 34.16 <sup>b</sup>	217.40 $\pm$ 26.51 <sup>b</sup>
艾司氯胺酮+抑制剂组	104.82 $\pm$ 12.76 <sup>c</sup>	422.05 $\pm$ 47.48 <sup>c</sup>	143.27 $\pm$ 16.85 <sup>c</sup>

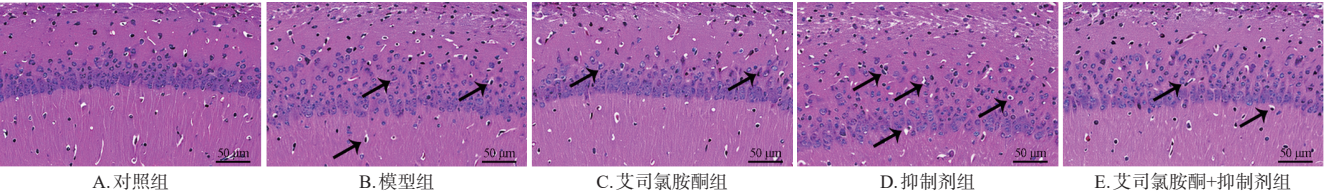
a:与对照组比较, $P<0.05$ ;b:与模型组比较, $P<0.05$ ;c:与艾司氯胺酮组比较, $P<0.05$ 。

### 3.4 艾司氯胺酮对大鼠海马组织病理形态的影响

对照组大鼠海马组织结构完整,神经元数量、形态和大小正常。与对照组比较,模型组大鼠海马神经元排列较为紊乱,大量神经元坏死、萎缩,且细胞间隙较大。与模型组比较,艾司氯胺酮组大鼠海马组织病理损伤改善明显,而抑制剂组大鼠海马组织病理损伤进一步加重。与艾司氯胺酮组比较,艾司氯胺酮+抑制剂组大鼠海马组织病理损伤加重,接近模型组。结果见图 1。

### 3.5 艾司氯胺酮对大鼠海马神经元细胞凋亡的影响

与对照组比较,模型组大鼠海马神经元细胞凋亡率及 Bax mRNA 表达水平均显著升高,Bcl-2 mRNA 表达水平显著降低( $P<0.05$ )。与模型组比较,艾司氯胺酮组大鼠海马神经元细胞凋亡率及 Bax mRNA 表达水平均显著降低,Bcl-2 mRNA 表达水平显著升高( $P<0.05$ );而抑制剂组大鼠海马神经元细胞凋亡率及 Bax mRNA 表达水平均显著升高,Bcl-2 mRNA 表达水平显著降低( $P<0.05$ )。与艾司氯胺酮组比较,艾司氯胺酮+抑制剂组大鼠海马神经元细胞凋亡率及 Bax mRNA 表达水平均显著升高,Bcl-2 mRNA 表达水平显著降低( $P<0.05$ )。结果见图 2、表 5。



注:箭头指向损伤神经元。

图1 各组大鼠海马组织病理形态变化 HE 染色显微图

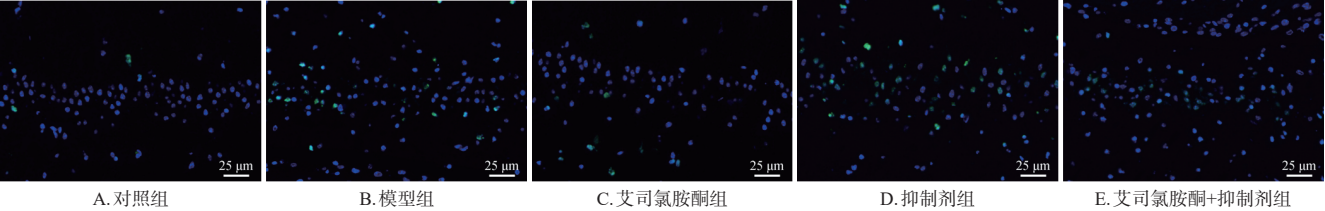


图2 各组大鼠海马神经元细胞凋亡情况 TUNEL 染色显微图

表5 各组大鼠海马神经元细胞凋亡率及 Bax、Bcl-2 mRNA 表达水平比较( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	神经元细胞凋亡率/%	Bax mRNA	Bcl-2 mRNA
对照组	2.61 ± 0.30	1.01 ± 0.11	0.98 ± 0.10
模型组	28.56 ± 3.25 <sup>a</sup>	1.76 ± 0.19 <sup>a</sup>	0.43 ± 0.05 <sup>a</sup>
艾司氯胺酮组	9.18 ± 1.22 <sup>b</sup>	1.24 ± 0.15 <sup>b</sup>	0.90 ± 0.10 <sup>b</sup>
抑制剂组	37.98 ± 4.04 <sup>b</sup>	2.38 ± 0.26 <sup>b</sup>	0.22 ± 0.03 <sup>b</sup>
艾司氯胺酮+抑制剂组	23.36 ± 2.87 <sup>c</sup>	1.71 ± 0.18 <sup>c</sup>	0.51 ± 0.06 <sup>c</sup>

a: 与对照组比较,  $P<0.05$ ; b: 与模型组比较,  $P<0.05$ ; c: 与艾司氯胺酮组比较,  $P<0.05$ 。

3.6 艾司氯胺酮对大鼠海马神经元线粒体超微结构的影响

对照组大鼠海马神经元线粒体膜完整, 且分布均匀。与对照组比较, 模型组大鼠海马神经元线粒体出现肿胀情况, 呈现空泡化。与模型组比较, 艾司氯胺酮组大鼠海马神经元线粒体肿胀程度及空泡化明显改善, 而抑制剂组大鼠海马神经元线粒体结构损伤进一步加重。与艾司氯胺酮组比较, 艾司氯胺酮+抑制剂组大鼠海马神经元线粒体结构损伤加重。结果见图3。

3.7 艾司氯胺酮对大鼠海马组织 AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$  信号通路相关基因 mRNA 表达的影响

与对照组比较, 模型组大鼠海马组织 AMPK、SIRT1、PGC-1 $\alpha$  mRNA 表达水平均显著降低 ( $P<0.05$ )。与模型组比较, 艾司氯胺酮组大鼠海马组织 AMPK、SIRT1、PGC-1 $\alpha$  mRNA 表达水平均显著升高 ( $P<0.05$ ); 而抑制剂组大鼠海马组织 AMPK、SIRT1、PGC-1 $\alpha$  mRNA 表达水平均显著降低 ( $P<0.05$ )。与艾司氯胺酮

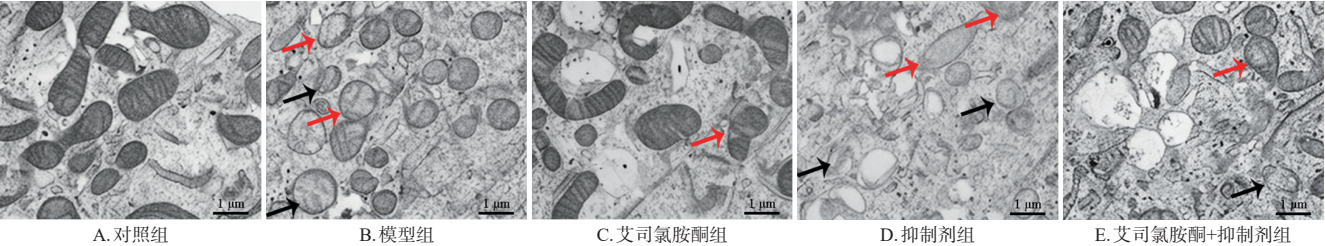
组比较, 艾司氯胺酮+抑制剂组大鼠海马组织 AMPK、SIRT1、PGC-1 $\alpha$  mRNA 表达水平均显著降低 ( $P<0.05$ )。结果见表6。

3.8 艾司氯胺酮对大鼠海马组织 AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$  信号通路相关蛋白表达的影响

与对照组比较, 模型组大鼠海马组织 p-AMPK、SIRT1、PGC-1 $\alpha$  蛋白表达水平均显著降低 ( $P<0.05$ )。与模型组比较, 艾司氯胺酮组大鼠海马组织 p-AMPK、SIRT1、PGC-1 $\alpha$  蛋白表达水平均显著升高 ( $P<0.05$ ); 而抑制剂组大鼠海马组织 p-AMPK、SIRT1、PGC-1 $\alpha$  蛋白表达水平均显著降低 ( $P<0.05$ )。与艾司氯胺酮组比较, 艾司氯胺酮+抑制剂组大鼠海马组织 p-AMPK、SIRT1、PGC-1 $\alpha$  蛋白表达水平均显著降低 ( $P<0.05$ )。结果见图4、表7。

4 讨论

髌骨骨折是老年人住院和致残的常见原因之一, 其中约有 98% 的患者需要手术治疗<sup>[13]</sup>。患者在接受髌骨骨折手术后可能会出现谵妄, 而谵妄患者也会出现偶发性痴呆或认知功能障碍<sup>[14]</sup>。认知功能障碍可能与多种因素有关, 如免疫炎症和细胞焦亡, 而髌骨手术可能引发大脑神经炎症, 神经炎症可进一步通过凋亡、坏死等机制导致神经细胞损伤, 参与认知功能障碍的发生发展<sup>[15]</sup>。线粒体动力学(分裂与融合的平衡)是调控神经元突触功能的核心环节。在海马等认知关键脑区, 线粒体形态可塑性更是维持正常突触效能的重要基础。值得注意的是, 阿尔茨海默病等认知功能障碍疾病特征性



注:红色箭头指向肿胀线粒体;黑色箭头指向空泡。

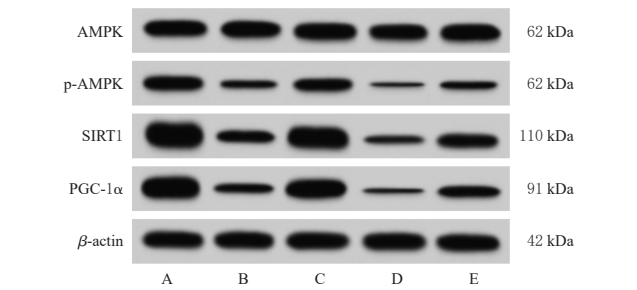
图3 各组大鼠海马神经元线粒体超微结构的透射电镜观察图



表6 各组大鼠海马组织 AMPK、SIRT1、PGC-1α mRNA 表达水平比较( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	AMPK	SIRT1	PGC-1α
对照组	1.04 ± 0.11	0.99 ± 0.10	1.02 ± 0.11
模型组	0.46 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.42 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.51 ± 0.06 <sup>a</sup>
艾司氯胺酮组	0.91 ± 0.10 <sup>b</sup>	0.87 ± 0.09 <sup>b</sup>	0.94 ± 0.10 <sup>b</sup>
抑制剂组	0.23 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.16 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.28 ± 0.03 <sup>b</sup>
艾司氯胺酮+抑制剂组	0.54 ± 0.06 <sup>c</sup>	0.50 ± 0.05 <sup>c</sup>	0.57 ± 0.06 <sup>c</sup>

a: 与对照组比较,  $P < 0.05$ ; b: 与模型组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与艾司氯胺酮组比较,  $P < 0.05$ 。



A: 对照组; B: 模型组; C: 艾司氯胺酮组; D: 抑制剂组; E: 艾司氯胺酮+抑制剂组。

图4 各组大鼠海马组织 AMPK、p-AMPK、SIRT1、PGC-1α 蛋白表达电泳图

表7 各组大鼠海马组织 AMPK、p-AMPK、SIRT1、PGC-1α 蛋白表达水平比较( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	AMPK/β-actin	p-AMPK/β-actin	SIRT1/β-actin	PGC-1α/β-actin
对照组	1.00 ± 0.09	0.85 ± 0.09	1.46 ± 0.17	1.34 ± 0.16
模型组	1.02 ± 0.11	0.37 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.68 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.59 ± 0.07 <sup>a</sup>
艾司氯胺酮组	1.03 ± 0.12	0.78 ± 0.08 <sup>b</sup>	1.31 ± 0.15 <sup>b</sup>	1.22 ± 0.14 <sup>b</sup>
抑制剂组	1.01 ± 0.10	0.12 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.37 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.24 ± 0.03 <sup>b</sup>
艾司氯胺酮+抑制剂组	1.05 ± 0.13	0.43 ± 0.05 <sup>c</sup>	0.81 ± 0.09 <sup>c</sup>	0.68 ± 0.07 <sup>c</sup>

a: 与对照组比较,  $P < 0.05$ ; b: 与模型组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与艾司氯胺酮组比较,  $P < 0.05$ 。

地表现为线粒体形态异常,提示线粒体动力学紊乱可能是认知功能障碍的关键病理机制<sup>[16]</sup>。本研究发现,髌部骨折术后,大鼠海马神经元排列较为杂乱,并可见大量坏死神经元,海马神经元线粒体明显肿胀、空泡化,新物体识别指数下降,寻找目标洞的潜伏期延长、错误次数增加,说明髌部骨折大鼠术后认知功能出现了障碍。

艾司氯胺酮是氯胺酮的 *S*-对映体,与氯胺酮比较具有更好的麻醉效果,作用于神经递质系统,是临床上广泛应用的一种有效镇静镇痛药物<sup>[17]</sup>。已有研究发现,艾司氯胺酮具有抗炎作用,有利于老年手术患者术后认知功能恢复<sup>[18]</sup>。王睿等<sup>[11]</sup>研究发现,艾司氯胺酮对胫骨骨折术后大鼠的认知功能障碍具有改善作用。本研究发现,经过艾司氯胺酮干预后,髌部骨折大鼠术后海马组织病理损伤及线粒体肿胀程度明显减轻,新物体识别指数升高,寻找目标洞的潜伏期缩短、错误次数减少,且 TNF-α、IL-1β、MDA 水平,神经元细胞凋亡率以及 Bax mRNA 表达水平均显著降低, SOD 水平和 Bcl-2 mRNA 表达水平均显著升高,提示艾司氯胺酮可改善髌部骨折术后大鼠炎症反应和氧化应激水平,减少神经元细胞凋亡,并改善其认知功能。术后认知功能障碍可导致神经

递质(包括氨基酸类 GABA、Glu 等和单胺类 DA 等)水平变化, GABA 与 DA 释放减少及 Glu 释放增加所致的神经递质失衡,是加重术后认知功能障碍的关键机制之一<sup>[19]</sup>。本研究结果显示,艾司氯胺酮的干预可升高 GABA 和 DA 水平,降低 Glu 水平,提示其可改善神经递质失衡,进而减轻髌部骨折大鼠的术后认知功能障碍。

AMPK 是调控细胞能量、凋亡与氧化应激的重要指标,它可通过间接激活 SIRT1,进而上调 PGC-1α 的表达<sup>[20]</sup>。PGC-1α 作为关键调控因子,能通过维持神经元存活、增强线粒体功能并抑制氧化应激与细胞损伤,从而发挥神经保护作用<sup>[21]</sup>。研究发现,激活 AMPK/SIRT1/PGC-1α 信号通路可促进线粒体生物发生,从而改善阿尔茨海默病小鼠记忆缺陷,减少海马神经元丢失和变性,并改善线粒体形态结构<sup>[22]</sup>。也有研究发现,激活 AMPK/SIRT1/PGC-1α 信号通路可改善 D-半乳糖诱导的衰老小鼠氧化应激和神经炎症,从而减轻其认知功能障碍<sup>[23]</sup>。本研究发现,髌部骨折术后,大鼠海马组织中 p-AMPK、SIRT1、PGC-1α 表达水平均显著下降,而经过艾司氯胺酮干预后,大鼠海马组织中 p-AMPK、SIRT1、PGC-1α 表达水平均显著升高,提示艾司氯胺酮可能是通过激活 AMPK/SIRT1/PGC-1α 信号通路发挥作用的。为进一步验证此猜想,本研究使用 AMPK 抑制剂干预髌部骨折大鼠,结果发现,艾司氯胺酮对髌部骨折大鼠术后认知功能障碍的减轻作用可被 AMPK 抑制剂所逆转,表明艾司氯胺酮可能通过激活 AMPK/SIRT1/PGC-1α 信号通路减轻髌部骨折大鼠术后认知功能障碍。结合相关文献,推测艾司氯胺酮可能通过提高 AMPK 磷酸化水平,上调烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD<sup>+</sup>)合成酶表达以增加 SIRT1 辅因子 NAD<sup>+</sup>水平,进而促进 PGC-1α 表达, PGC-1α 通过结合相关转录因子改善线粒体形态,并抑制神经元损伤,最终减轻术后认知功能障碍<sup>[20,24]</sup>。虽然本研究证实艾司氯胺酮可整体激活 AMPK/SIRT1/PGC-1α 信号通路,但 AMPK 对 SIRT1 的具体调控方式(如磷酸化修饰或 NAD<sup>+</sup>水平调节)以及 PGC-1α 下游靶基因谱的解析仍需进一步探索。

综上所述,艾司氯胺酮可能通过激活 AMPK/SIRT1/PGC-1α 信号通路改善大鼠髌部骨折术后炎症反应和氧化应激水平,抑制神经元细胞凋亡,改善线粒体结构,促进术后认知功能恢复。但艾司氯胺酮是否还可通过调控其他信号通路对大鼠髌部骨折术后认知功能产生影响还有待未来通过 SIRT1 抑制剂或 PGC-1α 敲除实验验证。同时,本研究仅设置单剂量药物组,尚无法充分反映药物的剂量-效应关系。因此,未来将进一步增设 3~5 个剂量组,以深入探讨这一问题。此外,本研究通过血清炎症及氧化应激指标评估机体的全身性反应,虽能间接反映中枢变化,但因血脑屏障的选择通透性,外周与脑组织因子水平可能存在差异,未来拟检测海马组织进一步验证神经炎症机制。

## 参考文献

- [1] SIMINIUC D, GUMUSKAYA O, MITCHELL R, et al. Rehabilitation after surgery for hip fracture: the impact of prompt, frequent and mobilisation-focused physiotherapy on discharge outcomes: an observational cohort study[J]. BMC Geriatr, 2024, 24(1):629.
- [2] MCDONOUGH C M, HARRIS-HAYES M, KRISTENSEN M T, et al. Physical therapy management of older adults with hip fracture[J]. J Orthop Sports Phys Ther, 2021, 51(2):CPG1-CPG81.
- [3] ZHENG H W, CHEN Q M, ZHANG J Y, et al. Postoperative serum CHI3L1 level is associated with postoperative cognitive dysfunction in elderly patients after hip fracture surgery: a prospective observational study[J]. Heliyon, 2023, 9(8):e18796.
- [4] 陈芳博, 冯洁, 詹媛媛, 等. 认知功能障碍药物治疗的研究进展[J]. 中国临床医生杂志, 2025, 53(6):681-684.
- [5] LUO T Y, DENG Z M, REN Q Y, et al. Effects of esketamine on postoperative negative emotions and early cognitive disorders in patients undergoing non-cardiac thoracic surgery: a randomized controlled trial[J]. J Clin Anesth, 2024, 95:111447.
- [6] ZHOU X H, ZHANG L, GAO W W, et al. Esketamine alleviates cognitive impairment signs induced by modified electroconvulsive therapy in a depression rat model via the KLF4/p38 MAPK pathway[J]. J Affect Disord, 2025, 376:302-312.
- [7] 张红军, 杨晋东, 逯焜, 等. 右美托咪定复合小剂量艾司氯胺酮对髋骨骨折老年患者术后早期认知功能和应激反应的影响[J]. 现代生物医学进展, 2023, 23(23):4573-4577.
- [8] ZHAO Z, YAN J, HUANG L, et al. Phytochemicals targeting Alzheimer's disease via the AMP-activated protein kinase pathway, effects, and mechanisms of action[J]. Biomed Pharmacother, 2024, 173:116373.
- [9] MOHANAD M, MOHAMED S K, ABOULHODA B E, et al. Neuroprotective effects of vitamin D in an Alzheimer's disease rat model: improvement of mitochondrial dysfunction via calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase 2 activation of Sirtuin1 phosphorylation[J]. Biofactors, 2024, 50(2):371-391.
- [10] 李东方, 李浩亮, 李光辉, 等. 芒果苷通过调控 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路对大鼠髌部骨折愈合的作用[J]. 吉林大学学报(医学版), 2024, 50(4):956-962.
- [11] 王睿, 李闯, 张明宇, 等. 艾司氯胺酮介导 AMPK/PAK2 信号通路调节内质网应激改善大鼠术后认知功能障碍[J]. 解剖科学进展, 2024, 30(2):157-160.
- [12] 罗聪, 钟岷, 邓敏敏, 等. 田蓟苷调节 AMPK/SIRT1/PGC1 $\alpha$  信号通路对脑出血大鼠认知功能和神经元损伤的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2024, 22(2):274-279.
- [13] YOO S H, LEE M J, BEAK M H, et al. Efficacy of supplemental ultrasound-guided pericapsular nerve group (PENG) block combined with lateral femoral cutaneous nerve block in patients receiving local infiltration analgesia after hip fracture surgery: a prospective randomized controlled trial[J]. Medicina (Kaunas), 2024, 60(2):315.
- [14] LEE S J, JUNG S H, LEE S U, et al. Postoperative delirium after hip surgery is a potential risk factor for incident dementia: a systematic review and meta-analysis of prospective studies[J]. Arch Gerontol Geriatr, 2020, 87:103977.
- [15] QIN X G, HE J B, CHEN H, et al. Exploring the potential role of dexmedetomidine in reducing postoperative cognitive dysfunction in elderly hip fracture patients[J]. Actas Esp Psiquiatr, 2024, 52(4):484-494.
- [16] WANG Y L, GE Y Z, HUA S Y, et al. Aloe-emodin improves mitophagy in Alzheimer's disease via activating the AMPK/PGC-1 $\alpha$ /SIRT3 signaling pathway[J]. CNS Neurosci Ther, 2025, 31(3):e70346.
- [17] WEN Y X, XU J W, SHEN J H, et al. Esketamine prevents postoperative emotional and cognitive dysfunction by suppressing microglial M1 polarization and regulating the BDNF-TrkB pathway in ageing rats with preoperative sleep disturbance[J]. Mol Neurobiol, 2024, 61(8):5680-5698.
- [18] XU G P, WANG Y, CHEN Z, et al. Esketamine improves propofol-induced brain injury and cognitive impairment in rats[J]. Transl Neurosci, 2022, 13(1):430-439.
- [19] 吴量, 陈晓辉, 林木玲. 罗哌卡因对老年大鼠胫骨骨折术后认知功能障碍和神经突触的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2024, 40(10):1478-1482.
- [20] XU W L, YAN J, OCAK U, et al. Melanocortin 1 receptor attenuates early brain injury following subarachnoid hemorrhage by controlling mitochondrial metabolism via AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$  pathway in rats[J]. Theranostics, 2021, 11(2):522-539.
- [21] RAKSHE P S, DUTTA B J, CHIB S, et al. Unveiling the interplay of AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$  axis in brain health: promising targets against aging and NDDs[J]. Ageing Res Rev, 2024, 96:102255.
- [22] ZHU C, ZHANG Z, ZHU Y S, et al. Study on the role of Dihuang yinzi in regulating the AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$  pathway to promote mitochondrial biogenesis and improve Alzheimer's disease[J]. J Ethnopharmacol, 2025, 337(Pt 2):118859.
- [23] CHEN F Y, WANG B T, SUN X, et al. Ergothioneine improves cognitive function by ameliorating mitochondrial damage and decreasing neuroinflammation in a D-galactose-induced aging model[J]. Food Funct, 2024, 15(23):11686-11696.
- [24] YU Y, ZHAO Y, TENG F, et al. Berberine improves cognitive deficiency and muscular dysfunction via activation of the AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$  pathway in skeletal muscle from naturally aging rats[J]. J Nutr Health Aging, 2018, 22(6):710-717.

(收稿日期:2025-07-07 修回日期:2025-10-18)

(编辑:舒安琴)