

自噬在脑卒中中的作用及其可能的机制

李光香 张彭跃*

(昆明理工大学医学院, 昆明 650504)

摘要 脑卒中是一种危害极大的神经系统疾病,而卒中导致的神经元死亡和损伤是该病的直接原因,所以拯救神经元对于治疗脑卒中来说至关重要。一直以来,脑神经元的死亡被认为有坏死、凋亡和自噬三种死亡途径,前两者都导致细胞死亡。近年来的研究发现,过度自噬确实导致细胞死亡,但是适度激活的自噬可能是神经元存活的关键。

关键词 自噬; 凋亡; 脑卒中; 神经元

The Role of Autophagy in Stroke and Its Possible Mechanism

Li Guangxiang, Zhang Pengyue*

(Medical School of Kunming University of Science and Technology, Kunming 650504, China)

Abstract Stroke is a serious neurological disease, the direct cause of which is the death and injury of neurons, so it is essential to save neurons for treating stroke. All the time, the death of brain neurons has been recognized as necrosis, apoptosis and autophagy, meanwhile necrosis and apoptosis cause the destruction of cells. However, recent studies have found that excessive autophagy does cause cell death, but a moderately activated autophagy could be crucial to the neuron survival.

Keywords autophagy; apoptosis; stroke; neurons

脑卒中是一种以脑血管病变引起的脑组织损伤及相应的神经功能缺陷为主要临床表现的急性脑血管病,是世界第二常见的死亡原因和主要致残原因。大约80%病例为缺血性脑卒中。该病具有发病率高、致残率高和死亡率高的特点,我国每年有约800万急性脑卒中患者,其中,70%~80%的患者因为卒中造成的神经功能缺陷不能独立生活,严重影响患者生活质量,加大家庭和社会负担。在现代临床中对于缺血性脑卒中的治疗主要分为中医与西医治疗两部分。在传统的中医治疗中主要有中药汤剂疗法、针灸治疗以及导引及运动疗法,有扩张血管、减少血流阻力、增加血流量、降脂、降低血粘度等作用,根据临床案例治愈效果比较好,但具体的机制并不清楚。现代医学中将临床分为四期:复流时窗

期、脑水肿颅高压期、恢复期、后遗症期,主要的治疗措施有支持疗法、调整血压、抗凝治疗、降纤治疗、溶栓治疗和康复治疗等。尽管随着多年的基础和临床研究,我们对脑梗死发生发展机制的理解有了很大的进步,并且在动物实验中已经找到多种神经保护药物,然而这些药物在临床试验阶段均未得到理想效果^[1]。目前,唯一得到公认的缺血性脑卒中有效治疗药物tPA受制于其苛刻的使用时间窗,使得大多数缺血性脑卒中患者难以得到及时的溶栓治疗,进而发展为永久性的脑缺血^[2]。

脑缺血区神经元的损伤和死亡是急性脑缺血的直接后果。我们的前期研究结果表明,卒中过程中会同时激活神经元的自噬与凋亡,而自噬存在一个明显的转折点,提示自噬与凋亡可能存在共同分

收稿日期: 2017-12-21 接受日期: 2018-02-28

国家自然科学基金(批准号: 81460351、8166090139)资助的课题

*通讯作者: Tel: 18313909328, E-mail: zjdxbyxb@163.com

Received: December 21, 2017 Accepted: February 28, 2018

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81460351, 8166090139)

*Corresponding author: Tel: +86-18313909328, E-mail: zjdxbyxb@163.com

网络出版时间: 2018-05-15 18:18:05

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20180515.1817.036.html>

子通路, 其转换与调控决定神经元生死命运, 然而目前对此机制尚不清楚。因此, 深入阐明缺血区损伤神经元的命运及其调控机制, 进而寻求有效的神经元拯救方案是当前基础和临床研究共同面临的巨大挑战和难题。

1 缺血性脑卒中的发病机制

缺血性脑卒中的发病机制极其复杂, 其临床突出表现是由于脑血流供应障碍而导致脑组织缺血、缺氧、水肿而致脑代谢障碍及神经功能丧失^[3]。脑代谢因脑缺血、缺氧使其必需的糖、酶、神经体液、营养物质等缺乏。氧的缺乏使有氧代谢不能正常进行而代之以无氧酵解, ATP生成巨降, 细胞钠泵停运, 血脑屏障破坏, 产生脑水肿, 脑水肿又进一步导致血氧的弥散困难而加重缺氧、缺血而形成恶性循环。因血管的阻塞、麻痹而使代谢产物不能及时排出, 二氧化碳及乳酸蓄积从而造成病灶区的过度灌注现象(luxury perfusion)、盗血现象(inverse steal syndrome, 也即脑缺血时, 病变区脑血流量减少, 其他区域的脑血流量增加)、过氧化现象(oxidation), 进一步破坏颅内自动调节机制, 加重脑缺血、缺氧, 脑代谢异常及脑水肿成为脑血管病主要病理改变基础。

2 脑卒中后损伤神经元的命运

当细胞发生致死性代谢、结构破坏和功能障碍时, 便会引起细胞不可逆性损伤, 即细胞死亡。脑卒中直接造成神经细胞的死亡和损失, 减少神经元死亡对减轻脑卒中危害及促进功能恢复至关重要。现有研究表明, 脑缺血数分钟即可引发营养和能量耗竭、毒性氨基酸释放、活性氧类(reactive oxygen species, ROS)释放等一系列级联反应, 进而导致缺血核心区神经元不可逆的坏死性死亡^[1]。然而, 在围绕缺血核心区的周边区域, 由于侧枝循环等原因存在一个缺血半影区, 该区域内的神经元不同程度地受到缺血影响, 从而呈现不同的命运——坏死、凋亡和自噬。

2.1 神经元的死亡途径——坏死

最初的细胞坏死被认为是一种由于化学因素、物理因素以及病原体感染造成的被动细胞死亡。但有证据表明, 细胞坏死也可以是一个主动的、受到严格调控的过程, 即程序性细胞死亡(programmed

cell death, PCD)^[4], 是有机体在漫长的进化过程中发展起来的细胞自杀机制, 在清除无用的、多余的或癌变的细胞, 维持机体内环境稳态方面发挥重要的作用。细胞坏死主要是指被动进行的意外事故性的细胞死亡, 是属于他杀性的, 主要由病理性的刺激因子诱导发生^[5], 比如缺氧、感染和中毒等。死亡范围常为聚集的多个细胞, 此时细胞的主要的形态特征为: 细胞肿胀、核染色质呈现絮状、细胞膜及细胞器膜溶解破裂、溶酶体释放从而使细胞自溶^[5]。细胞坏死会引起周围组织的炎症反应和修复再生。

2.2 神经元的死亡途径——凋亡

与细胞坏死不同, 凋亡主要见于细胞的生理性死亡, 但有时也会见于某些病理过程中。细胞凋亡是由基因调控的程序化细胞死亡, 是属于自杀式的行为, 主要是由于生理性或轻微病理性刺激因子诱导发生, 例如生长因子的缺乏等。细胞凋亡的途径可分为两种, 一种是通过胞外信号激活细胞内凋亡酶caspase, 另一种是通过线粒体释放凋亡酶激活进而激活caspase^[6]。这些活化的caspase可将细胞内的重要蛋白质降解, 引起细胞凋亡。细胞在发生凋亡时形态特征主要有: 细胞固缩、核染色质边集、细胞膜与细胞器膜完整、膜可发泡成芽形成凋亡小体、凋亡小体逐渐被邻近的细胞或体内吞噬细胞所吞噬、凋亡细胞的残余物质被消化后重利用, 而不会出现炎症。细胞凋亡最少程度地减少了细胞死亡引发的组织炎症反应, 因此, 细胞凋亡与坏死之间有着本质区别。

基础和临床研究均表明, 脑缺血导致明显的神经元凋亡^[7]。脑卒中后通过康复运动、基因工程或药理学方法抑制凋亡已被证明具有神经保护作用^[8]。然而到目前为止, 还未有针对神经元凋亡通路为靶点的药物应用于临床脑卒中治疗。因此, 进一步理解损伤神经元死亡与存活机制, 寻求新的治疗靶点对临床脑卒中防治有着重要意义。

2.3 细胞死亡形式的新发现——自噬

近年来, 另一种程序性细胞死亡方式—自噬(autophagy)性程序性细胞死亡吸引了越来越多细胞生物学家的注意。自噬是普遍存在于真核细胞中的一种高度保守的代谢过程, 是细胞内的一种“自食(self eating)”现象^[9], 细胞利用溶酶体降解自身受损的细胞器和大分子物质的过程, 是真核细胞特有的生命现象。人们又将细胞的自噬称为II型程序性细

胞死亡, 这种形式的细胞死亡表现为, 细胞质中出现大量包裹着细胞质和细胞器的空泡结构和溶酶体对空泡内成分的降解^[10]。这些活化的caspase可将细胞内的重要蛋白质降解, 引起细胞自噬是细胞对抗恶劣环境的重要手段, 例如在营养缺乏或高温氧化等恶劣环境下, 细胞可以启动自噬, 达到应对细胞应激保护自身的目的。因此, 自噬在促进细胞存活中发挥重要作用, 故其在细胞的生长、发育和疾病发生中起着重要的作用。与细胞的凋亡相比, 自噬对细胞的影响并不局限于损害细胞自身的结构和物质, 相反, 对细胞有很好的保护作用, 是一种自我保护的主动措施, 比如清除衰老、受损细胞器, 清除细胞内感染的病原体, 在营养不足条件下重复利用营养物质和节约能量等。

3 自噬在脑卒中的作用

最近的研究及实验表明, 脑梗死半影区不仅仅存在细胞凋亡, 还存在自噬^[11]。与凋亡不同, 自噬是一种自噬小体介导的细胞降解途径, 该过程包括自噬小体的形成、延伸、闭合以及与溶酶体融合。在生理条件下, 细胞的基础自噬活性能清除细胞内由饥饿、能量缺乏等代谢应激引起的受损及错误折叠的生物大分子和细胞器等, 从中获得可供细胞再循环利用的氨基酸、单糖等小分子, 以维持细胞的基本生命活动。现有证据表明, 自噬在脑缺血性损伤后神经元命运决定中扮演着双重角色^[12]。一方面, 通过三甲基腺嘌呤(3-methyladenine)和渥曼青霉素(wortmannin)抑制自噬通路的激活促进神经元凋亡, 进而坏死, 增加新生大鼠缺血缺氧造成的梗塞灶体积和神经功能缺失。反之, 在缺血缺氧损伤前使用雷帕霉素(rapamycin)激活自噬通路可增加Akt和cAMP反应元件结合蛋白(cAMP response element binding protein, CREB)的磷酸化, 进而显著减少神经元死亡和脑损伤^[13], 并且目前已经证实的多种神经保护策略与增加的神经细胞自噬相关, 如缺血预处理和缺氧预处理^[14-15]诱导的内源性神经保护机制以及多种神经保护药物^[8,10,16-17]激活的神经保护。另一方面, 体内外研究也显示, 过度的细胞自噬也导致神经元死亡(自噬性细胞死亡)^[20-21]。同样在一些运动训练^[22-23]、缺血后处理^[24]和神经保护药物^[25-26]激发的神经保护中涉及到抑制神经自噬和线粒体自噬。因此, 自噬在脑缺血中的作用可能决定于其作用的

时间或激活/抑制的程度。Shi等^[21]利用体外神经元缺血缺氧模型探讨了自噬在神经元损伤不同时期的作用, 结果表明, 在缺血前24 h用3-MA抑制神经元基础自噬水平明显增加缺血缺氧带来的神经元死亡, 而在再灌注后48~72 h同样用3-MA抑制自噬却显著增加神经元存活。同样在动物模型中, 抑制自噬可消除缺氧预处理带来的神经保护作用, 而增加自噬可模拟除与缺氧预处理类似的神经保护作用^[25-26]。相反, 在缺血过程中或缺血再灌注后, 用3-MA抑制自噬则可明显减少梗死体积和提供神经保护^[27-28], 而用雷帕霉素增加自噬却减轻由缺血后处理带来的神经保护作用^[22]。

因此, 现有研究结果表明, 在缺血性损伤之前抑制内源性(基础性)的自噬水平可恶化接下来的缺血性损伤, 而激活内源性(基础性)的自噬水平可提供神经保护作用^[8,16]。反之, 在缺血性损伤发生后, 已经激活了神经元的自噬水平, 此时抑制自噬水平可提供神经保护作用, 而过度激活自噬水平反而恶化缺血性损伤。对于抑制或激活自噬水平的程度, 目前仍没有可靠的分子标志物作为判断标准, 仍需要进行更为深入的机制研究, 而自噬通路有极大的潜力成为脑卒中新的治疗靶点。

4 脑卒中后缺血半影区内神经元的自噬和凋亡的关系

尽管自噬与凋亡是细胞对环境应激和能量耗竭的两种不同反应, 具有不同的调控机制, 但是现有研究表明, 脑卒中同时引发缺血半影区的自噬和凋亡, 甚至两种途径共存于同一个细胞^[19-20]。进一步研究发现, 调控自噬和凋亡的分子机制存在共同通路^[17]。现有研究显示, 脑缺氧缺血后数小时即可检测到显著上调的凋亡和自噬^[29]。在大鼠脑缺血后6~24 h, caspase-3阳性和Beclin1阳性细胞显著上升, 通过免疫荧光检测显示, 约30%的细胞为凋亡和自噬共存^[29]。同样, 在新生鼠脑缺氧缺血模型中同样发现上升的caspase-3/Beclin1双标阳性细胞^[22,30]。前期研究结果也显示, 大鼠永久性缺血模型同时诱发了神经元凋亡与自噬^[22]。此外, 在缺血缺氧6 h后, 在部分濒死的神经元胞质内还检测到大量的自噬小体^[22]。Rami等^[31]还观察到, 缺血半影区内神经元表现出强烈自噬特征却并没有TUNEL表现的时候, 已经表现了一定程度的核固缩, 这个现象表

明, 自噬途径可能先于凋亡途径发生, 甚至有可能是自噬引发了凋亡。这些现象均表明, 脑卒中同时激活缺血半影区内神经元凋亡与自噬通路, 并且有大量细胞同时表现出凋亡和自噬特征。虽然目前仍然不清楚细胞自噬和凋亡的转换与调控机制, 但是一致的看法认为两者不仅共存于同样的实验模型甚至同一个细胞, 而且在分子通路上存在可能的关联^[32]。

因此现有研究结果表明, 脑卒中同时引发显著上调的神经元凋亡和自噬, 二者在损伤神经元命运决定中起着截然不同的作用(凋亡代表着死亡, 而自噬预示着可能的存活)^[26]。尽管关于自噬与凋亡的激活的上下游关系以及是否具有上下游关系目前仍难以定论, 但是可以确定的是, 它们在引发机制及发展进程中却存在着共同的分子通路, 多种蛋白同时参与到自噬和凋亡过程, 如Beclin2和Bax/Bak, 也同时涉及到重要的细胞器——线粒体。在一个受缺血损伤影响的神经元中可以同时激活自噬和凋亡通路, 但是这个神经元究竟是走向自噬(可能的存活)或者凋亡(必然的死亡)更多的是由自噬和凋亡激活通路之间的平衡和博弈来决定, 而这里面涉及的机制正是目前脑卒中和神经科学研究者急需阐明的。因此, 深入研究脑卒中后自噬与凋亡的表达谱及转换与调控机制, 在脑缺血后增加神经元自噬、减少凋亡可能是拯救缺血半影区内损伤神经元的潜在治疗靶点, 对脑卒中后神经保护及神经功能恢复有着重要意义。

5 脑卒中后自噬与凋亡间可能的转换与调控机制

尽管现已明确, 自噬和凋亡存在共同的调控通路, 然而对于脑卒中后损伤神经元最终走向自噬还是凋亡的转换与调控机制却缺乏深入研究。Beclin1(又名ATG6, 酵母自噬调控蛋白6在哺乳动物中的同源物), 是自噬引发阶段的关键调控分子, 脑缺血后其表达显著上调, 且与神经元自噬时程一致^[33]。Beclin1通过聚集自噬关键蛋白质到自噬小体前体结构上形成包括Beclin1、Vps34和Vps15复合物, 进而引发自噬小体的形成和启动自噬过程^[22]。Beclin1不仅聚集自噬相关蛋白质, 还通过其特有的BH3模式与重要的抗凋亡蛋白Bcl2相互作用, 形成Bcl2-Beclin1复合物, 进而阻断Beclin1引发自噬的作用^[23,34]。因而, Beclin1通过Bcl2-Beclin1复合物的形式在细胞走

向自噬或凋亡时起着重要的决定作用: 复合物稳定则抑制自噬而促进凋亡, 细胞进入凋亡通路; 复合物解离则促进自噬而抑制凋亡, 细胞进入自噬通路。Pattingre等^[35]研究表明, 通过基因敲除*Beclin1*或过表达Bcl2可使细胞在营养耗竭时更趋向于凋亡。因此, Bcl2-Beclin1复合物的稳定性可能是脑卒中后自噬与凋亡间转换的可能调控机制之一^[22]。

应激激活蛋白激酶JNK(c-Jun N-terminal kinase)是一个关键的神经元死亡调控激酶, 阻断JNK通路已被证明可减少脑梗死体积。但是最近的一项研究表明, JNK也可能与神经保护作用有关^[36]。利用大鼠大脑中动脉模型, Murata揭示了JNK的新作用, 即在急性期抑制JNK通路减少神经功能缺损和脑梗死体积, 然而在7天后抑制JNK通路却显示出相反的作用: 恶化神经功能和增加脑梗死体积^[36]。JNK的一个重要作用靶点就是磷酸化Bcl2与Beclin1相互作用的多个位点(Ser87、Ser70、Thr69), 最终导致Bcl2-Beclin1复合物的解离, 促使细胞进入自噬途径^[37]。突变*Bcl2*的这些磷酸化位点或敲除*JNK1*可阻断自噬发生。适度磷酸化的Bcl2可通过与促凋亡蛋白质如Bax结合从而抑制凋亡, 而过度磷酸化则引起Bcl2与促凋亡蛋白如Bax的解离, 从而导致Bax释放而促进凋亡^[38]。因此, JNK1介导的Bcl2磷酸化可能是调控Bcl2-Beclin1复合物的稳定性, 进而决定脑缺血后神经元选择自噬还是凋亡命运的重要调控与转换因子。

综上所述, 脑缺血后神经元面临着必死的凋亡和可能存活的自噬两种命运选择, 通过抑制凋亡, 适当地促进自噬可以拯救缺血半影区内损伤神经元。故推测自噬和凋亡间转换和调控的可能机制是JNK磷酸化Bcl2, 从而导致Bcl2-Beclin1复合物解离, 释放关键的自噬引发蛋白质Beclin1, 进而激活自噬通路, 抑制凋亡通路, 最终使损伤神经元走向自噬。

6 小结与展望

基础与临床工作者都非常重视缺血性脑卒中脑损伤研究中的缺血半暗带, 因为当血液供应恢复时, 细胞能量代谢保留在半暗带中, 有恢复的潜力。凋亡的途径可分为两种, 一种是通过胞外信号激活细胞内凋亡酶caspase, 另外一种是通过线粒体释放凋亡酶激活因子激活caspase。这些活化的caspase可将细胞内的重要蛋白质降解, 引起细胞凋亡脑缺血后的神经元面临着必死的凋亡和可能存活的自噬两

种命运选择,而这两种途径存在着交联和可能的转换,抑制凋亡和适当地促进自噬可能是拯救缺血半影区内损伤神经元的潜在治疗方案。因此,深入研究并阐明神经元自噬与凋亡相互转化的分子机制,可能为脑卒中治疗寻找新的治疗靶点和治疗方案提供理论依据和发展方向。

参考文献 (References)

- 1 Yu J, Bao C, Dong Y, Liu X. Activation of autophagy in rat brain cells following focal cerebral ischemia reperfusion through enhanced expression of Atg1/pULK and LC3. *Mol Med Rep* 2015; 12(3): 3339-44.
- 2 Kim J, Kundu M, Viollet B, Guan KL. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nat Cell Biol* 2011; 13(2): 132-41.
- 3 Swerdlow S, McColl K, Rong Y, Lam M, Gupta A, Distelhorst CW. Apoptosis inhibition by Bcl-2 gives way to autophagy in glucocorticoid-treated lymphocytes. *Autophagy* 2008; 4(5): 612-20.
- 4 Mukhopadhyay S, Panda PK, Sinha N, Das DN, Bhutia SK. Autophagy and apoptosis: where do they meet? *Apoptosis* 2014; 19(4): 555-66.
- 5 Carloni S, Buonocore G, Balduini W. Protective role of autophagy in neonatal hypoxia-ischemia induced brain injury. *Neurobiol Dis* 2008; 32(3): 329-39.
- 6 Li H, Qiu S, Li X, Li M, Peng Y. Autophagy biomarkers in CSF correlates with infarct size, clinical severity and neurological outcome in AIS patients. *J Transl Med* 2015; 13: 359.
- 7 Yun Q, Jiang M, Wang J, Cao X, Liu X, Li S, *et al.* Overexpression Bax interacting factor-1 protects cortical neurons against cerebral ischemia-reperfusion injury through regulation of ERK1/2 pathway. *J Neurol Sci* 2015; 357(3): 183-91.
- 8 Zhao G, Zhang W, Li L, Wu S, Du G. Pinocembrin protects the brain against ischemia-reperfusion injury and reverses the autophagy dysfunction in the penumbra area. *Molecules* 2014; 19(10): 15786-98.
- 9 Jain MV, Paczulla AM, Klonisch T, Dingba FN, Rao SB, Roberg K, *et al.* Interconnections between apoptotic, autophagic and necrotic pathways: implications for cancer therapy development. *J Cell Mol Med* 2013; 17(1): 12-29.
- 10 Jiang Z, Watts LT, Huang S, Shen Q, Rodriguez P, Chen C, *et al.* The effects of methylene blue on autophagy and apoptosis in MRI-defined normal tissue, ischemic penumbra and ischemic core. *PLoS One* 2015; 10(6): e0131929.
- 11 Murata Y, Fujiwara N, Seo JH, Yan F, Liu X, Terasaki Y, *et al.* Delayed inhibition of c-Jun N-terminal kinase worsens outcomes after focal cerebral ischemia. *J Neurosci* 2012; 32(24): 8112-5.
- 12 Sheng R, Qin ZH. The divergent roles of autophagy in ischemia and preconditioning. *Acta Pharmacol Sin* 2015; 36(4): 411-20.
- 13 Balduini W, Carloni S, Buonocore G. Autophagy in hypoxia-ischemia induced brain injury: evidence and speculations. *Autophagy* 2009; 5(2): 221-3.
- 14 Park HK, Chu K, Jung KH, Lee ST, Bahn JJ, Kim M, *et al.* Autophagy is involved in the ischemic preconditioning. *Neurosci Lett* 2009; 451(1): 16-9.
- 15 Zhan L, Chen S, Li K, Liang D, Zhu X, Liu L, *et al.* Autophagosome maturation mediated by Rab7 contributes to neuroprotection of hypoxic preconditioning against global cerebral ischemia in rats. *Cell Death Dis* 2017; 8(7): e2949.
- 16 Papadakis M, Hadley G, Xilouri M, Hoyte LC, Nagel S, McMenamin MM, *et al.* Tsc1 (hamartin) confers neuroprotection against ischemia by inducing autophagy. *Nat Med* 2013; 19(3): 351-7.
- 17 Yang Y, Gao K, Hu Z, Li W, Davies H, Ling S, *et al.* Autophagy upregulation and apoptosis downregulation in DAHP and triptolide treated cerebral ischemia. *Mediators Inflamm* 2015; 2015: 120198.
- 18 Shi RY, Zhu SH, Li V, Gibson SB, Xu XS, Kong JM. BNIP3 interacting with LC3 triggers excessive mitophagy in delayed neuronal death in stroke. *CNS Neurosci Ther* 2014; 20(12): 1045-55.
- 19 Shi R, Weng J, Zhao L, Li XM, Gao TM, Kong J. Excessive autophagy contributes to neuron death in cerebral ischemia. *CNS Neurosci Ther* 2012; 18(3): 250-60.
- 20 Zhang L, Niu W, He Z, Zhang Q, Wu Y, Jiang C, *et al.* Autophagy suppression by exercise pretreatment and p38 inhibition is neuroprotective in cerebral ischemia. *Brain Res* 2014; 1587: 127-32.
- 21 Zhang L, Hu X, Luo J, Li L, Chen X, Huang R, *et al.* Physical exercise improves functional recovery through mitigation of autophagy, attenuation of apoptosis and enhancement of neurogenesis after MCAO in rats. *BMC Neurosci* 2013; 14: 46.
- 22 Gao L, Jiang T, Guo J, Liu Y, Cui G, Gu L, *et al.* Inhibition of autophagy contributes to ischemic postconditioning-induced neuroprotection against focal cerebral ischemia in rats. *PLoS One* 2012; 7(9): e46092.
- 23 Baek SH, Noh AR, Kim KA, Akram M, Shin YJ, Kim ES, *et al.* Modulation of mitochondrial function and autophagy mediates carnosine neuroprotection against ischemic brain damage. *Stroke* 2014; 45(8): 2438-43.
- 24 Shao ZQ, Liu ZJ. Neuroinflammation and neuronal autophagic death were suppressed via Rosiglitazone treatment: New evidence on neuroprotection in a rat model of global cerebral ischemia. *J Neurol Sci* 2015; 349(1/2): 65-71.
- 25 Sheng R, Zhang LS, Han R, Liu XQ, Gao B, Qin ZH. Autophagy activation is associated with neuroprotection in a rat model of focal cerebral ischemic preconditioning. *Autophagy* 2010; 6(4): 482-94.
- 26 Yan W, Zhang H, Bai X, Lu Y, Dong H, Xiong L. Autophagy activation is involved in neuroprotection induced by hyperbaric oxygen preconditioning against focal cerebral ischemia in rats. *Brain Res* 2011; 1402: 109-21.
- 27 Puyal J, Clarke PG. Targeting autophagy to prevent neonatal stroke damage. *Autophagy* 2009; 5(7): 1060-1.
- 28 Puyal J, Vaslin A, Mottier V, Clarke PG. Postischemic treatment of neonatal cerebral ischemia should target autophagy. *Ann Neurol* 2009; 66(3): 378-89.
- 29 Yang Z, Zhong L, Zhong S, Xian R, Yuan B. Hypoxia induces microglia autophagy and neural inflammation injury in focal cerebral ischemia model. *Exp Mol Pathol* 2015; 98(2): 219-24.
- 30 Wang P, Guan YF, Du H, Zhai QW, Su DF, Miao CY. Induction

- of autophagy contributes to the neuroprotection of nicotinamide phosphoribosyltransferase in cerebral ischemia. *Autophagy* 2012; 8(1): 77-87.
- 31 Luo T, Liu G, Ma H, Lu B, Xu H, Wang Y, *et al.* Inhibition of autophagy via activation of PI3K/Akt pathway contributes to the protection of ginsenoside Rb1 against neuronal death caused by ischemic insults. *Int J Mol Sci* 2014; 15(1): 15426-42.
- 32 Yang X, Hei C, Liu P, Song Y, Thomas T, Tshimanga S, *et al.* Inhibition of mTOR pathway by rapamycin reduces brain damage in rats subjected to transient forebrain ischemia. *Int J Biol Sci* 2015; 11(12): 1424-35.
- 33 Fan J, Zhang Z, Chao X, Gu J, Cai W, Zhou W, *et al.* Ischemic preconditioning enhances autophagy but suppresses autophagic cell death in rat spinal neurons following ischemia-reperfusion. *Brain Res* 2014; 1562: 76-86.
- 34 Xu J, Wang Y, Tan X, Jing H. MicroRNAs in autophagy and their emerging roles in crosstalk with apoptosis. *Autophagy* 2012; 8(6): 873-82.
- 35 Han W, Fu X, Xie J, Meng Z, Gu Y, Wang X, *et al.* MiR-26a enhances autophagy to protect against ethanol-induced acute liver injury. *J Mol Med (Berl)* 2015; 93(9): 1045-55.
- 36 Xu F, Gu JH, Qin ZH. Neuronal autophagy in cerebral ischemia. *Neurosci Bull* 2012; 28(5): 658-66.
- 37 Descloux C, Ginet V, Clarke PG, Puyal J, Truttmann AC. Neuronal death after perinatal cerebral hypoxia-ischemia: Focus on autophagy-mediated cell death. *Int J Dev Neurosci* 2015; 45: 75-85.
- 38 Zhu Y, Bu Q, Liu X, Hu W, Wang Y. Neuroprotective effect of TAT-14-3-3epsilon fusion protein against cerebral ischemia/reperfusion injury in rats. *PLoS One* 2014; 9(3): e93334.