

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2302099

综述

## 褪黑素联合亚低温治疗新生儿缺氧缺血性脑病的研究进展

刘一勋<sup>1,2</sup> 综述 夏世文<sup>2</sup> 审校

(1. 武汉科技大学医学院, 湖北武汉 430065;

2. 华中科技大学同济医学院附属湖北妇幼保健院新生儿科, 湖北武汉 430070)

**[摘要]** 新生儿缺氧缺血性脑病 (hypoxic-ischemic encephalopathy, HIE) 是足月儿死亡和远期神经发育障碍的主要病因之一, 尚无根治措施。亚低温治疗 (therapeutic hypothermia, TH) 是新生儿监护病房中 HIE 的标准疗法, 但在偏远地区的安全性和有效性尚不确定。褪黑素 (melatonin, MT) 是一种主要由松果体分泌的吲哚类内分泌激素, 能够轻易穿透血脑屏障。通过受体和非受体机制, MT 发挥抗氧化、抗炎效果, 参与调控细胞器功能、抑制细胞死亡。可靠的安全性及临床 (前) 结果使 MT 被认为是治疗 HIE 有前景的药物之一。该文就 MT 联合 TH 治疗 HIE 的研究进展进行综述。 [中国当代儿科杂志, 2023, 25 (8): 864-869]

**[关键词]** 缺氧缺血性脑病; 褪黑素; 治疗; 新生儿

### Research research on the use of melatonin in combination with therapeutic hypothermia for the treatment of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy

LIU Yi-Xun, XIA Shi-Wen. Department of Neonatology, Maternal and Child Health Hospital of Hubei Province, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430070, China (Xia S-W, Email: shiwenxia66@163.com)

**Abstract:** Neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE) remains one of the leading causes of death and long-term neurodevelopmental disorders in full-term neonates, and there is currently no curative treatment. Therapeutic hypothermia is now a standard therapy for HIE in the neonatal intensive care unit, but its safety and efficacy in remote areas remains unclear. Melatonin is an indole endocrine hormone mainly produced by the pineal gland and it has the ability to easily penetrate the blood-brain barrier. Through receptor and non-receptor mechanisms, melatonin exerts antioxidative and anti-inflammatory effects and participates in the regulation of organelle function and the inhibition of cell death. Melatonin is considered one of the most promising drugs for the treatment of HIE based on its reliable safety profile and clinical/preclinical results. This article reviews the recent research on the use of melatonin in combination with therapeutic hypothermia for the treatment of neonatal HIE.

[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2023, 25(8): 864-869]

**Key words:** Hypoxic-ischemic encephalopathy; Melatonin; Treatment; Neonate

新生儿缺氧缺血性脑病 (hypoxic-ischemic encephalopathy, HIE) 是围生期缺氧缺血 (hypoxia-ischemia, HI) 导致的新生儿急性脑损伤, 中-重度 HIE 严重影响神经系统预后, 或造成死亡。全球活产儿 HIE 发生率约 1.5%, 发达国家为

1%~8%, 欠发达国家高达 25%, 对家庭和社会造成沉重负担<sup>[1]</sup>。亚低温治疗 (therapeutic hypothermia, TH) 是目前国际上唯一公认有效治疗 HIE 的方法, 降低 27% 的死亡和神经系统伤残风险, 改善神经系统结局<sup>[2]</sup>。中国一项纳入 273 家

[收稿日期] 2023-02-17; [接受日期] 2023-06-21

[基金项目] 中国疾病预防控制中心“母婴营养与健康研究”项目 (2022FYH002)。

[作者简介] 刘一勋, 男, 硕士研究生。

[通信作者] 夏世文, 男, 主任医师, 教授。Email: shiwenxia66@163.com。

医院的调查发现, TH 指南的认知率为 78%, 开展率为 54%, 部分患儿未能受益<sup>[3]</sup>。因此, 方便可靠的新疗法尤为必要。

褪黑素 (melatonin, MT) 又称 N-乙酰-5-甲氧基色胺, 是一种色氨酸衍生物, 在人体内主要由松果体分泌, 经肝脏代谢后由肾脏排出。MT 高度亲脂, 在胎儿体内能轻易穿透血脑屏障, 通过海马、丘脑、脑干等区域的 MT1、MT2、MT3 受体, 调控生长发育, 维持生命体征。MT 具有抗氧化、抗炎、保护细胞器、对抗细胞死亡等特点, 降低 HIE 病死率, 改善预后, 具有良好应用前景<sup>[4-7]</sup>。现本文就 MT 联合 TH 治疗 HIE 的研究进展进行综述, 以期 HIE 救治提供新参考。

## 1 MT 治疗 HIE 的机制

### 1.1 对抗自由基损伤

HI 发生后, 有氧呼吸中断, 氧分子与电子、一氧化氮 (nitric oxide, NO) 等结合并产生大量自由基, 攻击细胞膜、蛋白、核酸, 导致神经元分化障碍或死亡。新生儿脑组织耗氧高、抗氧化能力弱、不饱和脂肪酸丰富, 极易发生自由基损伤<sup>[8]</sup>。MT 促进超氧化物歧化酶、过氧化氢酶等抗氧化酶的活性和表达, 或在 N1-乙酰-N2-甲酰-5-甲氧基犬尿胺、N1-乙酰-5-甲氧基犬尿胺等代谢产物协同下, 消除自由基。陈亚敏等<sup>[9]</sup>通过新生大鼠 HIE 模型, 证明 MT 活化核因子 E2 相关因子 2/血红素加氧酶 1 通路, 减轻氧化应激和脑水肿。临床研究表明, 在新生儿窒息 6 h 内口服 MT 80 mg 能有效降低丙二醛、NO、硝酸盐等氧化标志物的血清水平, 提高存活率<sup>[10]</sup>。

### 1.2 调节线粒体功能

线粒体既产生三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 为细胞供能, 又是自由基产生最多的部位。HI 发生后, MT 对抗自由基损伤, 保护线粒体。Sinha 等<sup>[11]</sup>通过氧糖剥夺制备新生小鼠海马、皮质原代神经元 HIE 模型, 发现 MT 结合 MT1 受体, 维持线粒体膜电位正常, 减少线粒体通透性转换孔开放及内容物外流。此外, MT 不仅缓解缺血再灌注导致的呼吸控制率和磷氧比值降低, 提高 ATP 生成效率, 还可增加还原型谷胱甘肽含量<sup>[12]</sup>。也有研究表明 MT 在新生大鼠 HI 发生 1 h 后并未改善神经元线粒体能量代谢<sup>[13]</sup>, 提示 MT 调控线粒体功能的机制有待研究。

### 1.3 抑制神经炎症反应

HI 发生后, 海马、白质等处的小胶质细胞迅速活化并释放白细胞介素 (interleukin, IL) -1、IL-6、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 等炎症介质, 与脑损伤程度相关<sup>[14]</sup>。低氧条件下的动物研究表明, MT 通过下调 Toll 样受体 4/胱天蛋白酶 (cysteine aspartic acid specific protease, caspase) -3 信号通路, 抑制小胶质细胞释放 TNF、IL-1 $\beta$ 、诱导型一氧化氮合酶, 并抑制核因子 (nuclear factor, NF) - $\kappa$ B 炎症通路<sup>[15]</sup>。Merlo 等<sup>[16]</sup>利用永生型原代小胶质细胞 (BV2 细胞) 和新生大鼠 HIE 模型, 发现 MT 结合 MT1 受体, 使沉默信息调节因子 1 (silent information regulator 1, Sirt1) 活化并转入细胞核。活化的 Sirt1 使缺氧诱导因子和 NF- $\kappa$ B 去乙酰化并向细胞质转移, 最终改变小胶质细胞的炎症表型。可见, MT 能够通过减轻神经炎症保护脑组织。

### 1.4 对抗细胞死亡

MT 通过调控细胞自噬、凋亡、焦亡和坏死, 对抗细胞死亡, 发挥神经保护作用。自噬是由 HI 等因素触发, 通过溶酶体降解受损细胞器, 维持稳态的过程, 广泛存在于脑损伤<sup>[17]</sup>。在 HIE 模型中, MT 提高 Sirt1 水平与活性, 降低下游 p53 表达, 同时伴有自噬标志物 LC3- II 表达升高和 p62 表达降低, 提示 MT 可能通过活化 Sirt1 促进自噬并保护脑组织。该研究还提示 MT 可能活化 Sirt1 并促进神经分化<sup>[18]</sup>。此外, MT 还能增加线粒体自噬蛋白 Bnip3、LC3- II 表达, 减轻梗死面积, 并可以被线粒体自噬抑制剂阻断, 提示 MT 通过增强线粒体自噬保护脑组织<sup>[19]</sup>。MT 对自噬的调节不完全是正向的, 可能根据缺血灶自噬程度决定调节方向<sup>[20]</sup>, 具体机制有待研究。

HI 发生后, MT 还通过作用于线粒体和内质网对抗细胞凋亡。Sinha 等<sup>[11]</sup>发现 MT 结合 MT1 受体并抑制线粒体通透性转换孔开放, 对抗新生小鼠神经元凋亡, 而敲除 *MT1* 基因使小鼠病死率升高 9 倍。Carlioni 等<sup>[18]</sup>在新生大鼠 HIE 发生 1 h 后, 发现 MT 抑制促凋亡因子 Bax 向线粒体外膜转位, 减少内容物渗漏, 并在 6 h 后抑制凋亡因子 caspase-3 活化, 证实 MT 在损伤早期即可通过调节线粒体对抗凋亡。严重的 HI 活化内质网未折叠蛋白反应及下游通路, 而 C/EBP 同源蛋白 (C/EBP homologous protein, CHOP) 作为下游通路交汇点, 参与细胞凋亡<sup>[21]</sup>。Carlioni 等<sup>[22]</sup>发现 MT 通过抑制

新生大鼠神经元 PERK/eIF2 $\alpha$ /CHOP、IRE1/XBP-1/CHOP、ATF6/HSP70/CHOP 信号通路对抗凋亡，同时伴有 Sirt1 水平恢复，提示 MT 通过作用于内质网对抗凋亡，且可能与 Sirt1 相关。

焦亡是由核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 炎症小体活化 caspase-1，继而剪切消皮素 D、IL-1 和 IL-18 前体，形成膜孔并释放促炎因子的细胞死亡方式。在新生大鼠 HIE 模型中，MT 抑制海马 CA1 区炎症小体、消皮素 D、IL-1 和 IL-18 活化，继而抑制焦亡，并且可能与 PI3K/Akt 通路有关<sup>[23]</sup>。MT 抑制细胞坏死并减轻脑损伤也已被证实<sup>[24]</sup>。

## 2 TH 治疗 HIE 的机制

TH 治疗 HIE 的机制与其病理生理过程相关。

HIE 病理生理过程分为 4 个阶段。(1) 原发能量衰竭期：有氧呼吸中断，钠钾泵活性降低。谷氨酸激活离子通道，促进离子内流，导致细胞水肿和“钙超载”。(2) 潜伏期：HI 发生 1~6 h 后，线粒体供能恢复“正常”，此时若不干预，则细胞损伤不可逆转。(3) 继发性能量衰竭期：缺血 6 h 至数日，氧化应激、线粒体损伤、神经炎症和细胞死亡相继发生。(4) 修复期：持续数周至数年，严重影响神经预后<sup>[14]</sup>。TH 主要在继发性能量衰竭发生前起效，一般是 HI 发生 6 h 内，机制包括：抑制谷氨酸蓄积和离子通道活性、NO 产生；改善能量代谢；减轻细胞水肿和坏死；减轻氧化应激；抑制细胞凋亡；缩小脑损伤范围<sup>[8]</sup>。MT 和 TH 治疗 HIE 的具体机制见图 1。

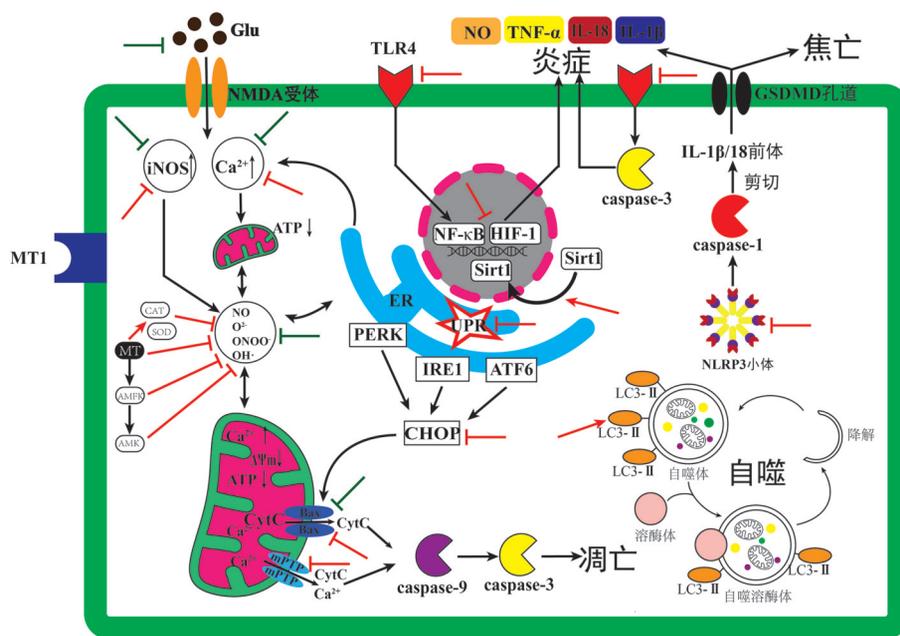


图 1 MT 和 TH 治疗 HIE 的机制 红色“T”代表 MT 参与抑制，红色箭头代表 MT 参与促进，绿色“T”代表 TH 参与抑制。[Glu] 谷氨酸；[NMDA] N-甲基-D-天冬氨酸；[iNOS] 诱导型一氧化氮合酶；[Ca<sup>2+</sup>] 钙离子；[ATP] 三磷酸腺苷；[NO] 一氧化氮；[O<sup>2-</sup>] 过氧根离子；[ONOO<sup>-</sup>] 过氧亚硝酸根离子；[OH<sup>·</sup>] 羟基；[CAT] 过氧化氢酶；[SOD] 超氧化物歧化酶；[MT] 褪黑素；[MT1] 褪黑素受体 1；[AFMK] N1-乙酰-N2-甲酰-5-甲氧基犬尿胺；[AMK] N1-乙酰-5-甲氧基犬尿胺；[ΔΨ<sub>m</sub>] 膜电位；[CytC] 细胞色素 C；[Bax] B 淋巴瘤细胞瘤-2 相关 X 蛋白；[mPTP] 线粒体通透性转换孔；[caspase] 胱天蛋白酶；[ER] 内质网；[UPR] 未折叠蛋白反应；[PERK] 蛋白激酶 R 样内质网激酶；[IRE1] 肌醇需要酶 1；[ATF6] 活化转录因子 6；[CHOP] C/EBP 同源蛋白；[NF-κB] 核因子-κB；[HIF-1] 缺氧诱导因子；[Sirt1] 沉默信息调节因子 1；[TLR4] Toll 样受体 4；[TNF-α] 肿瘤坏死因子-α；[IL] 白细胞介素；[GSDMD] 消皮素 D；[NLRP3] 核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3；[LC3-II] 微管相关蛋白 1 轻链 3-II。MT 与 AFMK、AMK 能直接消除自由基，或抑制 iNOS 和钙内流，或提高 SOD 和 CAT 活性而间接消除自由基，保护线粒体结构和功能，改善能量供应。MT 抑制 UPR 并下调 CHOP、Bax 表达，减少 mPTP 孔道开放，对抗内质网和线粒体相关的细胞凋亡；MT 可通过上调 LC3-II 表达促进自噬；MT 通过抑制 NLRP3 避免 caspase-1 活化，抑制细胞焦亡和炎症因子释放；MT 抑制 TLR4/caspase-3 通路，改变 NF-κB、HIF-1、Sirt1 在细胞内的分布，抑制炎症反应。TH 减少谷氨酸蓄积，抑制 NO 产生和离子内流，减少自由基，改善能量供应，抑制细胞凋亡。

### 3 MT联合TH治疗HIE

#### 3.1 疗效

Robertson等<sup>[25]</sup>利用猪仔证明MT联合TH的疗效。在HI发生2h后以33.5℃为目标温度，行全身TH 24h，在HI发生10min和24h后静脉注射MT 5mg/(kg·h)，持续6h，发现MT协同TH显著改善丘脑能量代谢，减少海马、内囊及尾核等脑区细胞死亡，通过促进鞘氨醇激酶-1表达，降低细胞因子信号抑制因子-3和小胶质细胞活化标志物CD86表达，调节小胶质细胞炎症表型。另有研究在HI发生2h后以33.5℃为目标温度，行全身TH 24h，在HI发生2h和26h后予MT 5mg/kg或15mg/kg静脉注射持续6h，发现仅MT 15mg/kg可抑制感觉运动区皮质细胞死亡，提示MT疗效有剂量依赖性<sup>[26]</sup>。有研究在HI发生1h后以33.5℃为目标温度，行全身TH 12h，在HI发生1h和25h后予MT 18mg/kg静脉滴注2h，发现实验动物的脑电图恢复速度在HI发生19~24h后加快<sup>[27]</sup>。Aridas等<sup>[28]</sup>在小羊出生4h后以(35±0.5)℃为目标温度，行全身TH 12h，并从生后0.5h开始，间隔2h静脉推注MT 5mg(共60mg)，发现MT将TH抗凋亡、抗氧化、抗炎效果扩大覆盖到纹状体等脑区，协同改善神经元线粒体功能，让小羊更早恢复进食及站立能力，减少痫样发作。

MT联合TH治疗HIE的临床研究较少，Aly等<sup>[29]</sup>在一项前瞻性随机对照研究(randomized controlled trial, RCT)中，在HIE患儿生后6h内以33~34℃为目标肛温行全身TH 72h，并予MT 10mg/(kg·d)口服5d后，发现联合治疗使超氧化物歧化酶水平提升和NO降低更明显。随访至2周龄时，联合治疗组脑电图痫样放电更少、磁共振成像检查白质正常者占比更高。随访至6月龄时，联合治疗组神经检查和丹佛发育筛查量表评分正常者占比更高。另有研究在HIE患儿生后6h内以33~34℃为目标温度行全身TH治疗72h，同时连续3d静脉注射MT 5mg/(kg·d)，在18月龄随访时发现联合治疗组贝利婴儿发展量表认知评分高于单纯HT组(101.25 vs 85.56,  $P=0.05$ )<sup>[30]</sup>。

上述研究提示MT协同TH可能发挥更好疗效，与TH联用的神经保护剂还包括氙气、促红细胞生成素(erythropoietin, Epo)、托吡酯等。一项新生儿窒息相关的多中心RCT表明，与单纯TH相比，生后6h内持续24h吸入30%氙气，同时接受TH

72h(目标温度35℃)未能改善丘脑能量代谢及内囊白质发育，提示氙气可能无法增强TH疗效，原因可能是氙气作用机制、起效时间与TH不同<sup>[31]</sup>。Pang等<sup>[32]</sup>在HI发生1h后以33.5℃为目标温度行TH 12h，在HI发生1h、24h和48h后静脉注射MT 20mg/kg或Epo 3000U/kg并达到治疗浓度，发现MT联合TH在HI发生25~30h后加快脑电活动恢复，并抑制感觉运动区皮质细胞死亡，但Epo对MT联合TH治疗无增益效果，原因可能是研究时长不足，只展现MT近期作用，而Epo远期疗效尚未产生。有研究在HIE患儿生后6h内行TH 72h(目标温度未提及)，同时口服托吡酯10mg/(kg·d) 3d，发现该疗法安全且减少痫样发作，但未能降低病死率和严重神经发育障碍发生率，原因可能与该研究样本量( $n=21$ )不足有关<sup>[33]</sup>。

综上所述，相较于其他联合方案，MT联合TH治疗HIE可能具有独特优势，这可能与各种神经保护剂的作用机制、起效时间不同有关。

#### 3.2 安全性

动物研究中MT几乎无不良反应，剂量可达800mg/kg<sup>[4]</sup>。MT水溶性差，在静脉输注时常需要助溶剂。Robertson等<sup>[25]</sup>在MT联合TH时，发现当MT借乙醇助溶且输注速度 $\geq 10$ mg/(kg·h)时，猪仔出现需要药物干预的低血压。当研究者以2.5mg/(kg·h)<sup>[26]</sup>和10mg/(kg·h)<sup>[32]</sup>静脉输注无乙醇的MT新配方(PCT/EP2018/056423)时，猪仔却无不良反应，提示乙醇可能导致严重低血压。Robertson等<sup>[27]</sup>在MT联合TH时，发现少量乙醇(0.28g/kg)能加快脑电活动恢复，减少内囊、脑室周白质损伤，促进少突胶质细胞存活。上述结果差别可能与乙醇使用、研究设计差异相关。后续研究应保持方案一致性，或者避免使用乙醇。动物研究常用助溶剂还有二甲亚砜，该药生物毒性较高，临床使用少<sup>[34]</sup>。

临床研究中，MT未见近期不良反应。TH可能导致心律失常、低血压、凝血异常等不良事件<sup>[2]</sup>。为探究MT联合HT的安全性，同时消除助溶剂干扰，研究者在HIE患儿生后6h内行全身TH 72h，达到目标温度33.5℃后予以MT新配方(PCT/IB2016/051235) 0.5mg/kg口服。患儿治疗期间生命体征稳定，无呕吐、腹胀等消化道症状，嗜睡及过度镇静的发生率无明显增加，初步表明近期安全性良好<sup>[35]</sup>，仍需更多RCT探究更高剂量MT联合HT治疗HIE的中远期安全性。

### 3.3 药物代谢动力学及剂量

动物研究表明, MT 疗效具有时间-剂量依赖性, 在 HI 发生 3 h 内将血清浓度维持在 15~30 mg/L 的超生理水平能发挥神经保护作用<sup>[14]</sup>。而 MT 联合 TH 治疗 HIE 的药物代谢临床研究仍较缺乏。

Merchant 等<sup>[36]</sup>发现早产儿 MT 血清基础浓度极低, 在对早产儿静脉输注微量 MT 0.1 μg/(kg·h) 2 h 后, 发现血药浓度峰值 203 pg/L 接近成人生理水平, 半衰期 (15.8 h) 较成人 (45~60 min) 延长。Carloni 等<sup>[37]</sup>参考 MT 在新生儿疾病的用量 (每次 10 mg 或每次 10 mg/kg), 制定 3 种早产儿鼻饲用量: 0.5 mg/kg、1 mg/kg、5 mg/kg, 发现半衰期为 8~11 h, 达峰时间为 2.9~4.7 h, 均较成人延长; 血药浓度峰值为 0.44~7 mg/L, 升高明显; 口服吸收良好; 间隔 12 h 或 24 h 给药可维持较高血药浓度。综上所述, 早产儿代谢 MT 能力有限, 原因可能是早产儿肝肾功能不成熟, 代谢能力有限; MT 血清转运蛋白不足等。

对于 HIE 足月儿, Balduini 等<sup>[35]</sup>在其生后 6 h 内, 以 33.5℃ 为目标温度行全身 TH 72 h, 并予 MT 0.5 mg/kg 口服, 发现半衰期为 26 h, 达峰时间为 6.8 h, 血药浓度峰值 0.25 mg/L, 清除率为 0.16 L/h, 表现出清除慢、血药浓度升高明显的特点, 与早产儿相关研究<sup>[36-37]</sup>结论一致, 表明 TH 并不影响 MT 的药物代谢动力学。该研究还建议 MT 用量不应超过 5 mg/kg, 可在达到脑保护疗效的同时减少溶剂干扰。但该研究不涉及疗效, 也未确定有效血药浓度。

## 4 结语

HIE 是造成新生儿远期神经发育障碍最常见的病因。MT 因具有多种神经保护效能、良好透过性及安全性, 有望成为治疗 HIE 的新疗法。MT 的药物代谢动力学用药方案、中远期安全性均有待更多临床研究阐明。不同神经保护剂治疗 HIE 的起效时间、作用机制和临床疗效不尽相同, 所以 HT 联合多种神经保护剂使脑保护疗效最大化的治疗方案, 也有待研究。

利益冲突声明: 所有作者均声明无利益冲突。

### 【参 考 文 献】

- [1] Papazian O. Neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. *Medicina (B Aires)*, 2018, 78 Suppl 2: 36-41. PMID: 30199363.
- [2] 王铮, 王颖雯, 程国强, 等. 亚低温治疗中重度新生儿缺氧缺血性脑病系统评价/Meta 分析[J]. *中国循证儿科杂志*, 2022, 17(2): 81-89. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5501.2022.02.001.
- [3] Wang Z, Zhang P, Zhou W, et al. Neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy diagnosis and treatment: a national survey in China[J]. *BMC Pediatr*, 2021, 21(1): 261. PMID: 34090355. PMCID: PMC8178820. DOI: 10.1186/s12887-021-02737-6.
- [4] Pluta R, Furmaga-Jabłońska W, Januszewski S, et al. Melatonin: a potential candidate for the treatment of experimental and clinical perinatal asphyxia[J]. *Molecules*, 2023, 28(3): 1105. PMID: 36770769. PMCID: PMC9919754. DOI: 10.3390/molecules28031105.
- [5] Sun Y, Ma L, Jin M, et al. Effects of melatonin on neurobehavior and cognition in a cerebral palsy model of *plppr5*<sup>-/-</sup> mice[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, 12: 598788. PMID: 33692754. PMCID: PMC7937640. DOI: 10.3389/fendo.2021.598788.
- [6] Ahmad QM, Chishti AL, Waseem N. Role of melatonin in management of hypoxic ischaemic encephalopathy in newborns: a randomized control trial[J]. *J Pak Med Assoc*, 2018, 68(8): 1233-1237. PMID: 30108392.
- [7] Aridas JDS, Yawno T, Sutherland AE, et al. Systemic and transdermal melatonin administration prevents neuropathology in response to perinatal asphyxia in newborn lambs[J]. *J Pineal Res*, 2018, 64(4): e12479. PMID: 29464766. PMCID: PMC5947141. DOI: 10.1111/jpi.12479.
- [8] Martini S, Castellini L, Parladori R, et al. Free radicals and neonatal brain injury: from underlying pathophysiology to antioxidant treatment perspectives[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(12): 2012. PMID: 34943115. PMCID: PMC8698308. DOI: 10.3390/antiox10122012.
- [9] 陈亚敏, 文政芳, 王国霞. 褪黑素对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠皮层氧化应激的影响[J]. *神经解剖学杂志*, 2021, 37(3): 305-309. DOI: 10.16557/j.cnki.1000-7547.2021.03.009.
- [10] Fulia F, Gitto E, Cuzzocrea S, et al. Increased levels of malondialdehyde and nitrite/nitrate in the blood of asphyxiated newborns: reduction by melatonin[J]. *J Pineal Res*, 2001, 31(4): 343-349. PMID: 11703564. DOI: 10.1034/j.1600-079x.2001.310409.x.
- [11] Sinha B, Wu Q, Li W, et al. Protection of melatonin in experimental models of newborn hypoxic-ischemic brain injury through MT1 receptor[J]. *J Pineal Res*, 2018, 64(1): e12443. PMID: 28796402. DOI: 10.1111/jpi.12443.
- [12] Martini S, Austin T, Aceti A, et al. Free radicals and neonatal encephalopathy: mechanisms of injury, biomarkers, and antioxidant treatment perspectives[J]. *Pediatr Res*, 2020, 87(5): 823-833. PMID: 31655487. DOI: 10.1038/s41390-019-0639-6.
- [13] Berger HR, Morken TS, Vettukattil R, et al. No improvement of neuronal metabolism in the reperfusion phase with melatonin treatment after hypoxic-ischemic brain injury in the neonatal rat[J]. *J Neurochem*, 2016, 136(2): 339-350. PMID: 26526584. DOI: 10.1111/jnc.13420.
- [14] Pang R, Advic-Belltheus A, Meehan C, et al. Melatonin for neonatal encephalopathy: from bench to bedside[J]. *Int J Mol*

- Sci, 2021, 22(11): 5481. PMID: 34067448. PMCID: PMC8196955. DOI: 10.3390/ijms22115481.
- [15] Yao L, Lu P, Ling EA. Melatonin suppresses toll like receptor 4-dependent caspase-3 signaling activation coupled with reduced production of proinflammatory mediators in hypoxic microglia[J]. *PLoS One*, 2016, 11(11): e0166010. PMID: 27812200. PMCID: PMC5094586. DOI: 10.1371/journal.pone.0166010.
- [16] Merlo S, Luaces JP, Spampinato SF, et al. SIRT1 mediates melatonin's effects on microglial activation in hypoxia: *in vitro* and *in vivo* evidence[J]. *Biomolecules*, 2020, 10(3): 364. PMID: 32120833. PMCID: PMC7175216. DOI: 10.3390/biom10030364.
- [17] Li W, He P, Huang Y, et al. Selective autophagy of intracellular organelles: recent research advances[J]. *Theranostics*, 2021, 11(1): 222-256. PMID: 33391472. PMCID: PMC7681076. DOI: 10.7150/thno.49860.
- [18] Carloni S, Riparini G, Buonocore G, et al. Rapid modulation of the silent information regulator 1 by melatonin after hypoxia-ischemia in the neonatal rat brain[J]. *J Pineal Res*, 2017, 63(3): e12434. PMID: 28708259. DOI: 10.1111/jpi.12434.
- [19] 战美芹, 顾燕, 李梅, 等. 褪黑素在缺氧缺血性脑损伤新生大鼠线粒体自噬中的作用[J]. *中华新生儿科杂志*, 2018, 33(6): 456-462. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2096-2932.2018.06.014.
- [20] Gao Q, Guo X, Cao Y, et al. Melatonin protects HT22 hippocampal cells from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced injury by increasing beclin1 and Atg protein levels to activate autophagy[J]. *Curr Pharm Des*, 2021, 27(3): 446-454. PMID: 32838711. DOI: 10.2174/1381612826666200824105835.
- [21] Singh-Mallah G, Nair S, Sandberg M, et al. The role of mitochondrial and endoplasmic reticulum reactive oxygen species production in models of perinatal brain injury[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2019, 31(9): 643-663. PMID: 30957515. PMCID: PMC6657303. DOI: 10.1089/ars.2019.7779.
- [22] Carloni S, Albertini MC, Galluzzi L, et al. Melatonin reduces endoplasmic reticulum stress and preserves sirtuin 1 expression in neuronal cells of newborn rats after hypoxia-ischemia[J]. *J Pineal Res*, 2014, 57(2): 192-199. PMID: 24980917. DOI: 10.1111/jpi.12156.
- [23] 苟知贤, 胡兴, 王幽梦, 等. 褪黑素对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠海马区细胞焦亡的影响[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2020, 35(18): 1416-1420. DOI: 10.3760/cma.j.cn101070-20190306-00162.
- [24] Pang R, Han HJ, Meehan C, et al. Efficacy of melatonin in term neonatal models of perinatal hypoxia-ischaemia[J]. *Ann Clin Transl Neurol*, 2022, 9(6): 795-809. PMID: 35413154. PMCID: PMC9186150. DOI: 10.1002/acn3.51559.
- [25] Robertson NJ, Faulkner S, Fleiss B, et al. Melatonin augments hypothermic neuroprotection in a perinatal asphyxia model[J]. *Brain*, 2013, 136(Pt 1): 90-105. PMID: 23183236. DOI: 10.1093/brain/awt285.
- [26] Robertson NJ, Martinello K, Lingam I, et al. Melatonin as an adjunct to therapeutic hypothermia in a piglet model of neonatal encephalopathy: a translational study[J]. *Neurobiol Dis*, 2019, 121: 240-251. PMID: 30300675. DOI: 10.1016/j.nbd.2018.10.004.
- [27] Robertson NJ, Lingam I, Meehan C, et al. High-dose melatonin and ethanol excipient combined with therapeutic hypothermia in a newborn piglet asphyxia model[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 3898. PMID: 32127612. PMCID: PMC7054316. DOI: 10.1038/s41598-020-60858-x.
- [28] Aridas JD, Yawno T, Sutherland AE, et al. Melatonin augments the neuroprotective effects of hypothermia in lambs following perinatal asphyxia[J]. *J Pineal Res*, 2021, 71(1): e12744. PMID: 34032315. DOI: 10.1111/jpi.12744.
- [29] Aly H, Elmahdy H, El-Dib M, et al. Melatonin use for neuroprotection in perinatal asphyxia: a randomized controlled pilot study[J]. *J Perinatol*, 2015, 35(3): 186-191. PMID: 25393080. DOI: 10.1038/jp.2014.186.
- [30] Jerez-Calero A, Salvatierra-Cuenca MT, Benitez-Feliponi Á, et al. Hypothermia plus melatonin in asphyctic newborns: a randomized-controlled pilot study[J]. *Pediatr Crit Care Med*, 2020, 21(7): 647-655. PMID: 32168305. DOI: 10.1097/PCC.0000000000002346.
- [31] Azzopardi D, Chew AT, Deierl A, et al. Prospective qualification of early cerebral biomarkers in a randomised trial of treatment with xenon combined with moderate hypothermia after birth asphyxia[J]. *EBioMedicine*, 2019, 47: 484-491. PMID: 31451436. PMCID: PMC6796501. DOI: 10.1016/j.ebiom.2019.08.034.
- [32] Pang R, Avdic-Belltheus A, Meehan C, et al. Melatonin and/or erythropoietin combined with hypothermia in a piglet model of perinatal asphyxia[J]. *Brain Commun*, 2021, 3(1): fcaa211. PMID: 33604569. PMCID: PMC7876304. DOI: 10.1093/braincomms/fcaa211.
- [33] Filippi L, Fiorini P, Catarzi S, et al. Safety and efficacy of topiramate in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy treated with hypothermia (NeoNATI): a feasibility study[J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2018, 31(8): 973-980. PMID: 28274169. DOI: 10.1080/14767058.2017.1304536.
- [34] Jiang B, Li W, Stewart S, et al. Sand-mediated ice seeding enables serum-free low-cryoprotectant cryopreservation of human induced pluripotent stem cells[J]. *Bioact Mater*, 2021, 6(12): 4377-4388. PMID: 33997514. PMCID: PMC8111032. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2021.04.025.
- [35] Balduini W, Weiss MD, Carloni S, et al. Melatonin pharmacokinetics and dose extrapolation after enteral infusion in neonates subjected to hypothermia[J]. *J Pineal Res*, 2019, 66(4): e12565. PMID: 30734962. DOI: 10.1111/jpi.12565.
- [36] Merchant NM, Azzopardi DV, Hawwa AF, et al. Pharmacokinetics of melatonin in preterm infants[J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2013, 76(5): 725-733. PMID: 23432339. PMCID: PMC3853531. DOI: 10.1111/bcp.12092.
- [37] Carloni S, Proietti F, Rocchi M, et al. Melatonin pharmacokinetics following oral administration in preterm neonates[J]. *Molecules*, 2017, 22(12): 2115. PMID: 29194416. PMCID: PMC6149762. DOI: 10.3390/molecules22122115.

(本文编辑: 王颖)

(版权所有©2023 中国当代儿科杂志)