

# 竹沥汤通过 PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$ 信号通路治疗一氧化碳中毒大鼠脑损伤的机制研究

宋慧平<sup>1,2</sup> 周翔栋<sup>1</sup> 赵伟伟<sup>3</sup> 刘相君<sup>3</sup> 韩伟<sup>1</sup> 李琴<sup>1</sup>

<sup>1</sup>深圳大学总医院急诊科,广东深圳 518071; <sup>2</sup>康复大学青岛中心医院中医科,山东青岛 266042; <sup>3</sup>山东中医药大学第一临床学院,山东济南 250199

通信作者:李琴,Email:liqin701015@163.com

**【摘要】** 目的 基于磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B/糖原合成激酶-3 $\beta$  (PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$ ) 信号通路探讨竹沥汤对急性一氧化碳中毒 (COP) 所致脑损伤的治疗作用及其分子机制。方法 将 225 只健康成年雄性 SD 大鼠按随机数字表法分为正常对照组、COP 模型组、丁苯酞 (NBP) 治疗组、竹沥汤治疗组及 NBP+竹沥汤治疗组,每组 45 只。采用高压氧舱二次吸入法复制 COP 大鼠模型。采用湿质量/干质量法观察各组大鼠脑组织含水量,苏木素-伊红 (HE) 染色观察各组大鼠脑组织皮质区结构形态改变;采用免疫组化法、蛋白质免疫印迹试验 (Western blotting) 检测脑皮质区磷酸化 PI3K (P-PI3K)、磷酸化 Akt (P-Akt)、磷酸化 GSK-3 $\beta$  (P-GSK-3 $\beta$ ) 蛋白表达水平的变化;采用尼氏染色、原位末端刻划标记试验 (TUNEL) 检测各组脑皮质区细胞凋亡情况;采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测炎症因子白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 水平。结果 与正常对照组比较,制模后 1 d, COP 模型组大鼠出现明显脑水肿,脑组织含水量明显升高 [(90.44 $\pm$ 1.36)% 比 (75.49 $\pm$ 1.00)%], 皮质区细胞核固缩,尼氏小体数量明显减少 (个:322.00 $\pm$ 14.92 比 418.00 $\pm$ 25.17), 凋亡细胞数增多 (个:38.01 $\pm$ 1.60 比 6.20 $\pm$ 0.80), 血清 IL-1 $\beta$  水平明显升高 (ng/L:221.50 $\pm$ 9.67 比 49.23 $\pm$ 4.50), 差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ )。随着中毒时间延长,3 个治疗组大鼠脑组织含水量均较 COP 模型组明显下降,皮质区细胞结构相对完整,尼氏小体数目增多,凋亡细胞明显减少,IL-1 $\beta$  的明显下降;P-PI3K、P-Akt、P-GSK-3 $\beta$  的蛋白表达水平明显升高,竹沥汤治疗组和 NBP 治疗组各时间点比较差异无统计学意义,但 NBP+竹沥汤治疗组的改善程度明显优于 NBP 治疗组和竹沥汤治疗组,而且在制模后 7 d 即出现统计学差异 [尼氏小体数量 (个):347.80 $\pm$ 14.11 比 310.00 $\pm$ 13.77、308.60 $\pm$ 11.52;P-PI3K 蛋白含量 (A 值):0.82 $\pm$ 0.05 比 0.70 $\pm$ 0.05、0.70 $\pm$ 0.04;P-Akt 蛋白含量 (A 值):0.87 $\pm$ 0.05 比 0.72 $\pm$ 0.05、0.74 $\pm$ 0.04;P-GSK-3 $\beta$  蛋白含量 (A 值):0.82 $\pm$ 0.06 比 0.71 $\pm$ 0.03、0.69 $\pm$ 0.02;皮质区细胞凋亡数 (个):32.19 $\pm$ 1.31 比 39.51 $\pm$ 1.23、40.20 $\pm$ 1.50, IL-1 $\beta$  (ng/L):71.60 $\pm$ 2.98 比 86.01 $\pm$ 3.82、90.10 $\pm$ 4.47,均  $P < 0.05$ ]。结论 竹沥汤能激活 PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$  信号通路,改善 COP 引起的脑水肿,减少细胞凋亡,抑制炎症反应,具有脑保护作用。竹沥汤与 NBP 联用效果更显著。

**【关键词】** 急性一氧化碳中毒脑损伤; 竹沥汤; 磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B/糖原合成激酶-3 $\beta$  信号通路; 细胞凋亡; 神经保护作用

**基金项目:** 国家自然科学基金 (82071465, 81571283); 广东省深圳市医疗卫生三名工程项目 (SZSM202411032); 广东省中医药局科研项目 (20251342); 医学救援关键技术装备应急管理部重点实验室开放基金项目 (YJBKFKT202416, YJBKFKT202528); 广东省深圳市高层次人才团队项目 (KQTD20240729102249044)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2026.01.09

## Mechanism of Zhuli decoction in treating brain injury induced by carbon monoxide poisoning in rats via the phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B/glycogen synthase kinase-3 $\beta$ signaling pathway

Song Huiping<sup>1,2</sup>, Zhou Xudong<sup>1</sup>, Zhao Weiwei<sup>3</sup>, Liu Xiangjun<sup>3</sup>, Han Wei<sup>1</sup>, Li Qin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Emergency Medicine, Shenzhen University General Hospital, Shenzhen 518071, Guangdong, China;

<sup>2</sup>Department of Traditional Chinese Medicine, Qingdao Central Hospital, University of Health and Rehabilitation Sciences, Qingdao 266042, Shandong, China; <sup>3</sup>First Clinical College, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250199, Shandong, China

Corresponding author: Li Qin, Email: liqin701015@163.com

**【Abstract】** Objective To investigate the therapeutic effect and molecular mechanism of Zhuli decoction on brain injury induced by acute carbon monoxide poisoning (COP) based on the phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B/glycogen synthase kinase-3 $\beta$  (PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$ ) signaling pathway. Methods A total of 225 healthy adult male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into five groups by a random number table: normal control group, COP model group, butylphthalide (NBP) treatment group, Zhuli decoction treatment group, and NBP+Zhuli decoction treatment group, with 45 rats in each group. The COP rat model was established using the hyperbaric oxygen chamber double-inhalation method. Brain tissue water content was measured using the wet weight/dry weight method. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the structural and morphological changes in the cerebral cortex. Immunohistochemistry and Western blotting were employed to detect the protein expression levels of phosphorylated

PI3K (P-PI3K), phosphorylated Akt (P-Akt), and phosphorylated GSK-3 $\beta$  (P-GSK-3 $\beta$ ) in the cerebral cortex. Nissl staining and terminal-deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) were used to assess neuronal apoptosis in the cerebral cortex. The level of the inflammatory factor interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** Compared with the normal control group, at 1 day after modeling, rats in the COP model group showed significant brain edema, with a marked increase in brain water content [(90.44  $\pm$  1.36)% vs. (75.49  $\pm$  1.00)%]. Nuclear pyknosis was observed in the cerebral cortex, a significant reduction in the number of Nissl bodies (number: 322.00  $\pm$  14.92 vs. 418.00  $\pm$  25.17), an increase in the number of apoptotic cells (number: 38.01  $\pm$  1.60 vs. 6.20  $\pm$  0.80), and elevated serum IL-1 $\beta$  levels (ng/L: 221.50  $\pm$  9.67 vs. 49.23  $\pm$  4.50), the differences were statistically significant (all  $P < 0.05$ ). With prolonged poisoning time, all three treatment groups showed decreased brain water content compared to the COP model group. The cortical cell structure was relatively intact, the number of Nissl bodies increased, a significant reduction in apoptotic cells, and IL-1 $\beta$  level was decreased. The protein expression levels of P-PI3K, P-Akt, and P-GSK-3 $\beta$  were significantly elevated. There were no statistically significant differences between the Zhuli decoction treatment group and the NBP treatment group at each time point. However, the degree of improvement in the NBP+Zhuli decoction treatment group was significantly better than that in either the NBP treatment group or the Zhuli decoction treatment group alone. Notably, statistically significant differences emerged as early as 7 days post-modeling [Nissl bodies (number): 347.80  $\pm$  14.11 vs. 310.00  $\pm$  13.77, 308.60  $\pm$  11.52; P-PI3K protein level (A value): 0.82  $\pm$  0.05 vs. 0.70  $\pm$  0.05, 0.70  $\pm$  0.04; P-Akt protein level (A value): 0.87  $\pm$  0.05 vs. 0.72  $\pm$  0.05, 0.74  $\pm$  0.04; P-GSK-3 $\beta$  protein level (A value): 0.82  $\pm$  0.06 vs. 0.71  $\pm$  0.03, 0.69  $\pm$  0.02; number of apoptotic cells in cortex (number): 32.19  $\pm$  1.31 vs. 39.51  $\pm$  1.23, 40.20  $\pm$  1.50; IL-1 $\beta$  (ng/L): 71.60  $\pm$  2.98 vs. 86.01  $\pm$  3.82, 90.10  $\pm$  4.47; all  $P < 0.05$ ]. **Conclusions** Zhuli decoction can activate the PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$  signaling pathway, ameliorate cerebral edema induced by COP, reduce neuronal apoptosis, and inhibit the inflammatory response, thereby exerting a neuroprotective effect. The combination of Zhuli decoction with NBP yields a more significant therapeutic effect.

**【Key words】** Acute carbon monoxide poisoning brain injury; Zhuli decoction; Phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B/glycogen synthase kinase-3 $\beta$  signaling pathway; Apoptosis; Neuroprotective effect

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (82071465, 81571283); Sanming Project of Medicine in Shenzhen Municipality, Guangdong Province (SZSM202411032); Scientific Research Project of Traditional Chinese Medicine Bureau of Guangdong Province (20251342); Open Fund Project of the Key Laboratory of Emergency Management of Ministry of Emergency Management for Key Technologies and Equipment for Medical Rescue (YJBKFKT202416, YJBKFKT202528); Shenzhen High-level Talent Team Project, Guangdong Province (KQTD20240729102249044)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2026.01.09

一氧化碳中毒(carbon monoxide poisoning, COP)是急性中毒事件中发病率和致死率较高的疾病类型之一。据统计,约 60% 的中毒相关死亡由 COP 导致<sup>[1]</sup>。COP 可引起机体各个组织缺氧,其中中枢神经系统耐缺氧能力差,在恢复氧供的时候又极易发生再灌注损伤,因此最易受到一氧化碳(carbon monoxide, CO)的毒性损害<sup>[2]</sup>。在 COP 治疗康复过程中,部分患者可经历 2~60 d 的“假愈期”,之后再次出现以神经系统损害为主要特征的后遗症(发生率约 12%~68%)<sup>[3]</sup>,临床称为 COP 后迟发性脑病(delayed encephalopathy after COP, DEACMP),常常表现为认知能力下降、运动障碍(如肌肉僵硬、震颤)、反应迟缓、情绪抑郁、自主神经功能失调以及行为异常等<sup>[4]</sup>,尤以认知功能障碍的发生率最高,严重影响患者的生活质量。

目前, COP 引发的急性脑损伤及 DEACMP 的具体机制尚未完全明确。现有研究表明,细胞凋亡可能是其中一种关键机制,并与患者出现的广泛认知功能减退和运动障碍密切相关<sup>[5-6]</sup>。磷脂酰肌醇 3-激酶 / 蛋白激酶 B(phosphatidylinositol 3 kinase/

protein kinase B, PI3K/Akt) 信号通路作为调控细胞存活的核心途径之一,参与包括细胞生长、增殖、生存及糖代谢在内的多种生命过程,对心血管疾病、神经系统病变乃至癌症的发生发展均有重要影响。该通路的下游效应分子——糖原合成激酶-3 $\beta$  (glycogen synthase kinase-3 $\beta$ , GSK-3 $\beta$ ) 可通过磷酸化修饰参与凋亡过程的调控,并在神经系统发育、学习记忆功能及神经退行性疾病中发挥重要作用<sup>[7]</sup>。在治疗方面,高压氧疗法是目前临床广泛应用且被认为对急性 COP (acute COP, ACOP) 最有效的治疗手段之一<sup>[8]</sup>。然而,该疗法能否减轻或改善 DEACMP 等神经系统后遗症,仍存在较大争议<sup>[9]</sup>。有研究者指出,高压氧对神经细胞凋亡的保护作用具有明显的时间窗口,超过特定时段可能不仅无益,甚至会加剧神经后遗症的发生<sup>[10]</sup>,并引起潜在的再灌注损伤<sup>[11]</sup>。因此,开发更为安全有效的药物治疗仍是该领域的重要研究方向。

中医药古籍中就有关于 COP 的记载,当时称之为“中煤炭毒”,后世医家也陆续提出了多种中毒后的救治方法,《千金翼方·卷第十七·中风下》记

载：“凡初得风，四肢不收，心神昏愤，眼不识人，言不出口……得患即服此竹沥汤方”，该方由竹沥、生姜汁和葛根汁组成。孙思邈以此方治疗中风早期所见意识模糊、言语障碍及运动功能受损，其病机可归纳为痰浊蒙窍、阻滞络脉，与 COP 所致神昏、功能障碍在症状与病机层面均有相似之处。本课题组前期通过动物实验和 Meta 分析表明，丁苯酞 (butylphthalide, NBP) 对 COP 所致脑损伤有显著疗效<sup>[12-14]</sup>。基于此，本研究以 NBP 作为阳性对照，通过动物实验评价竹沥汤单用及与 NBP 联用对 ACOP 大鼠脑损伤的干预效果，初步探讨其分子机制，为推进该方的临床应用提供实验依据。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物：**选择 225 只健康成年雄性 SPF 级 SD 大鼠，体质量 200~220 g，购自北京斯贝福生物技术有限公司，动物许可证号：SCXK(京)2019-0010，适应性喂养 7 d 后用于实验。

**1.2 COP 脑损伤动物模型的制备：**将大鼠置于 100 L 动物氧舱中，持续通入 CO 气体，首先使舱内 CO 浓度在 10 min 内逐渐升高至约 1 145 mg/m<sup>3</sup>，随后进一步提高至约 2 290 mg/m<sup>3</sup> 并维持 20 min。染毒结束后，立即将大鼠移出氧舱，使其呼吸新鲜空气<sup>[13]</sup>。制模过程中有 4 只大鼠死亡，后续补充 4 只符合条件的大鼠以保持各组样本量。整个染毒期间密切观察大鼠的意识状态及行为表现。出舱后，立即采集每只大鼠左侧股动脉血 0.3 mL，用血气分析仪测定碳氧血红蛋白 (carboxyhemoglobin, COHb) 水平。COHb ≥ 40%、出现短暂意识丧失并在 2 h 内恢复者，判定为 COP 模型复制成功。

**1.3 伦理学：**全过程严格遵守动物实验伦理准则，并获得深圳大学医学部伦理委员会批准 (审批号：A202200121)。

**1.4 研究分组及干预措施：**按随机数字表法将大鼠分为 5 组，每组 45 只。正常对照组、COP 模型组、NBP 治疗组、竹沥汤治疗组及 NBP+ 竹沥汤治疗组。每组按观察时间点划分为 1、7、14 和 30 d 4 个亚组，其中 1、7 和 30 d 亚组各 10 只，14 d 亚组为 15 只。NBP 治疗组给药方案参照本课题组前期研究方法<sup>[13]</sup>，每日给药 2 次，每次剂量为 60 mg/kg。竹沥汤治疗组的中药剂量依据成人每日用量 [竹沥 60 mL (约 60 g)、葛根 30 g、生姜 9 g，分 2 次服用] 进行换算，按人与大鼠药物等效剂量换算系数 6.2 计算<sup>[15]</sup>，得出大鼠每日生药用量为 9.73 g/kg。

NBP+ 竹沥汤治疗组每日早晚分别灌胃 NBP 和竹沥汤，给药间隔 2 h。正常对照组和 COP 模型组在同一时间灌胃等体积双蒸水。

## 1.5 检测指标及方法

**1.5.1 脑组织含水量检测：**采用湿质量 / 干质量法测定。分别于制模后 1、7、14 和 30 d 从每组随机取 5 只大鼠，经 3% 戊巴比妥钠 (50 mg/kg) 麻醉后迅速断头取全脑，立即称量获取湿质量，随后置于 100 °C 烘箱中干燥 24 h，再次称量得干质量。计算脑组织含水量 [脑组织含水量 = (湿质量 - 干质量) / 湿质量] × 100%。以 5 只大鼠计算结果的均值作为该组该时间点的最终数据。

**1.5.2 大鼠脑组织皮质区病理学观察：**于各设定时间点从每组取 5 只大鼠，麻醉后经心脏灌注并采集完整脑组织，制备石蜡切片。切片用苏木素 - 伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色后，在光学显微镜下观察各组大鼠脑组织皮质区结构形态的改变。

**1.5.3 尼氏染色观察尼氏小体数量和形态：**石蜡切片经尼氏染色液染色，阴性对照切片不滴加染色液，用磷酸盐缓冲液 (phosphate buffer saline, PBS) 代替；显微镜下观察各组尼氏小体数量和形态的变化。

**1.5.4 免疫组化法测定磷酸化 PI3K (phosphorylation-PI3K, P-PI3K)、磷酸化 Akt (phosphorylation Akt, P-Akt)、Ser9 抗体磷酸化 -GSK-3β (phosphorylation-GSK-3β, P-GSK-3β) 的蛋白含量：**参照本课题组前期的研究方法<sup>[13]</sup>。石蜡切片孵育 P-PI3K (Tyr458)、P-Akt (Ser473) 和 P-GSK-3β (Ser9) 抗体，随后进行显色反应，显微镜下观察目标蛋白的表达与分布情况，并利用 Image J 图像分析软件定量检测各染色区域的平均吸光度 (absorbance, A 值)，各组 A 值的统计结果均以正常对照组的均值进行归一化处理。

**1.5.5 采用蛋白质免疫印迹试验 (Western blotting) 检测脑皮质区 PI3K、P-PI3K (Tyr458)、Akt、P-Akt (Ser473)、GSK-3β、P-GSK-3β (Ser9) 的蛋白表达水平：**为了进一步印证免疫组化结果，本研究拟通过 Western blotting 验证制模后 14 d 每组上述指标的蛋白表达水平。每组取 5 只大鼠，于制模后 14 d 在冰上迅速断头取脑，采集脑组织样本。参照文献方法 [13]，以 3-磷酸甘油醛脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 为内参照，采用 Image J 软件对目标蛋白条带的灰度值进行定量分析，计算目的蛋白的相对表达水平。

**1.5.6 采用原位末端缺刻标记法 (terminal-**

deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick end labeling, TUNEL) 检测各组脑皮质区细胞凋亡情况: 石蜡切片经 TUNEL 反应液染色后, 使用含 4' 6 二脒基 -2- 苯基吲哚 (4'-6-diamidino-2-phenylindole, DAPI) 的抗荧光淬灭封片剂进行封片, 最后在荧光显微镜下观察并采用 Image J 软件进行图像分析。

**1.5.7 采用酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 检测各组大鼠血清中白细胞介素 -1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) 含量:** 将样本和标准品加入预包被抗体的酶标板, 经孵育、洗板后依次加入生物素化抗体、辣根过氧化物酶和 3, 3', 5, 5' - 四甲基联苯胺 (3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine, TMB) 底物, 终止反应后立即用酶标仪测定 450 nm 波长下的 A 值, 最后根据标准曲线计算得出各样本 IL-1 $\beta$  的水平。

**1.5.8 相关性分析:** 通过 Pearson 相关性分析法探究细胞凋亡与炎症因子 IL-1 $\beta$  之间的相关性。通过 Graphpad Prism 软件计算相关系数  $r$  值, 其绝对值越接近 1 表示相关性越强。

**1.6 统计学分析:** 使用 Graph Prism Program 8.0 统计软件进行分析。符合正态分布的计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组间比较采用独立样本  $t$  检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 并运用 Tukey 法进行事后检验。对涉及两个自变量的数据采用双因素方差分析。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组大鼠脑组织含水量的变化 (表 1):** 正常对照组脑组织含水量为 70% ~ 80%。COP 模型组各时间点脑组织含水量较正常对照组明显增加 (均  $P < 0.05$ ), 其中制模后 1 d 最高, 并随中毒时间延长而逐渐降低, 在制模后 30 d 接近正常水平。与相同时间点 COP 模型组比较, 制模后 1 ~ 14 d 各治疗组大鼠脑组织含水量持续降低, 制模后 14 d, NBP+ 竹沥汤治疗组大鼠脑组织含水量明显低于单药 NBP 治疗组和竹沥汤治疗组 (均  $P < 0.05$ )。NBP 治疗组和竹沥汤治疗组各时间点间比较差异均无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。说明 NBP 和竹沥汤治疗均能减轻 CO 中毒导致的脑水肿, 且二者联用效果更好。

**2.2 各组大鼠脑组织皮质区结构形态改变 (图 1):** 正常对照组大鼠皮质区结构层次排列整齐, 轮廓清晰, 组织间隙正常, 着色均匀; 细胞核呈蓝色, 清晰可见; 细胞质为紫红色。与正常对照组比较, COP 模型组大鼠脑组织中正常神经元数量减少, 排列紊

表 1 各组大鼠脑组织含水量的变化比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数 (只)	脑组织含水量 (%)	
		制模后 1 d	制模后 7 d
正常对照组	5	75.49 $\pm$ 1.00	74.99 $\pm$ 0.64
COP 模型组	5	90.44 $\pm$ 1.36 <sup>a</sup>	85.46 $\pm$ 0.93 <sup>ab</sup>
NBP 治疗组	5	86.98 $\pm$ 1.46 <sup>ac</sup>	80.75 $\pm$ 1.66 <sup>abc</sup>
竹沥汤治疗组	5	87.66 $\pm$ 2.18 <sup>ac</sup>	81.32 $\pm$ 1.52 <sup>abc</sup>
NBP+ 竹沥汤治疗组	5	84.73 $\pm$ 0.69 <sup>ace</sup>	78.59 $\pm$ 1.27 <sup>abc</sup>

组别	动物数 (只)	脑组织含水量 (%)	
		制模后 14 d	制模后 30 d
正常对照组	5	74.80 $\pm$ 1.76	75.08 $\pm$ 1.66
COP 模型组	5	81.48 $\pm$ 1.25 <sup>ab</sup>	79.85 $\pm$ 1.65 <sup>ab</sup>
NBP 治疗组	5	77.77 $\pm$ 0.95 <sup>abc</sup>	76.17 $\pm$ 1.21 <sup>bc</sup>
竹沥汤治疗组	5	78.22 $\pm$ 1.10 <sup>abc</sup>	75.92 $\pm$ 1.31 <sup>bc</sup>
NBP+ 竹沥汤治疗组	5	74.94 $\pm$ 0.76 <sup>acde</sup>	75.07 $\pm$ 1.04 <sup>bc</sup>

注: 与正常对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与本组治疗 1 d 比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与 COP 模型组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; 与 NBP 治疗组比较, <sup>d</sup> $P < 0.05$ ; 与竹沥汤治疗组比较, <sup>e</sup> $P < 0.05$

乱, 并出现细胞核固缩、胞体肿胀及边界模糊等结构形态变化。NBP 治疗组与竹沥汤组的损伤程度相近, 均较同时间点 COP 模型组减轻, 至制模后 30 d 时部分细胞形态逐渐恢复。NBP+ 竹沥汤治疗组表现出更明显的保护效应, 神经元排列较为整齐, 细胞水肿与核固缩现象显著减轻。

**2.3 各组大鼠脑皮质区尼氏小体的变化比较 (图 2; 表 2):** 正常对照组脑皮质区神经元内尼氏小体形态规则、排列整齐, 颗粒粗大且分布密集。ACOP 后, 大鼠大脑皮质区尼氏小体排列紊乱, 形态肿胀变形, 各组尼氏小体数量均明显低于正常对照组 (均  $P < 0.05$ )。制模后 1 ~ 30 d 内, COP 模型组尼氏小体数量随时间推移持续减少, 各治疗组尼氏小体数量均有不同程度回升, 其中 NBP+ 竹沥汤治疗组从制模后 1 d 起即显著高于 COP 模型组, 而 NBP 治疗组与竹沥汤组直至制模后 14 d 才表现出与 COP 模型组的统计学差异。自制模后 7 d 起, NBP+ 竹沥汤治疗组尼氏小体数量显著多于两种单药治疗组 (均  $P < 0.05$ ), NBP 治疗组和竹沥汤组各时间点尼氏小体数量比较差异均无统计学意义 (均  $P > 0.05$ ), 表明联合治疗优于单药应用。

**2.4 各组大鼠脑皮质区 P-PI3K、P-Akt、P-GSK-3 $\beta$  蛋白的变化比较 (图 3 ~ 6; 表 3 ~ 4):** 免疫组化染色结果显示, 正常对照组大鼠脑皮质中 P-PI3K (Tyr458)、P-Akt (Ser473) 及 P-GSK-3 $\beta$  (Ser9) 的阳性表达水平较高, 而 COP 模型组中各蛋白阳性表达水平均显著降低, 并于制模后 7 d 达到最低值。NBP 治疗组上述指标于制模后 7 d 升至峰值后趋于

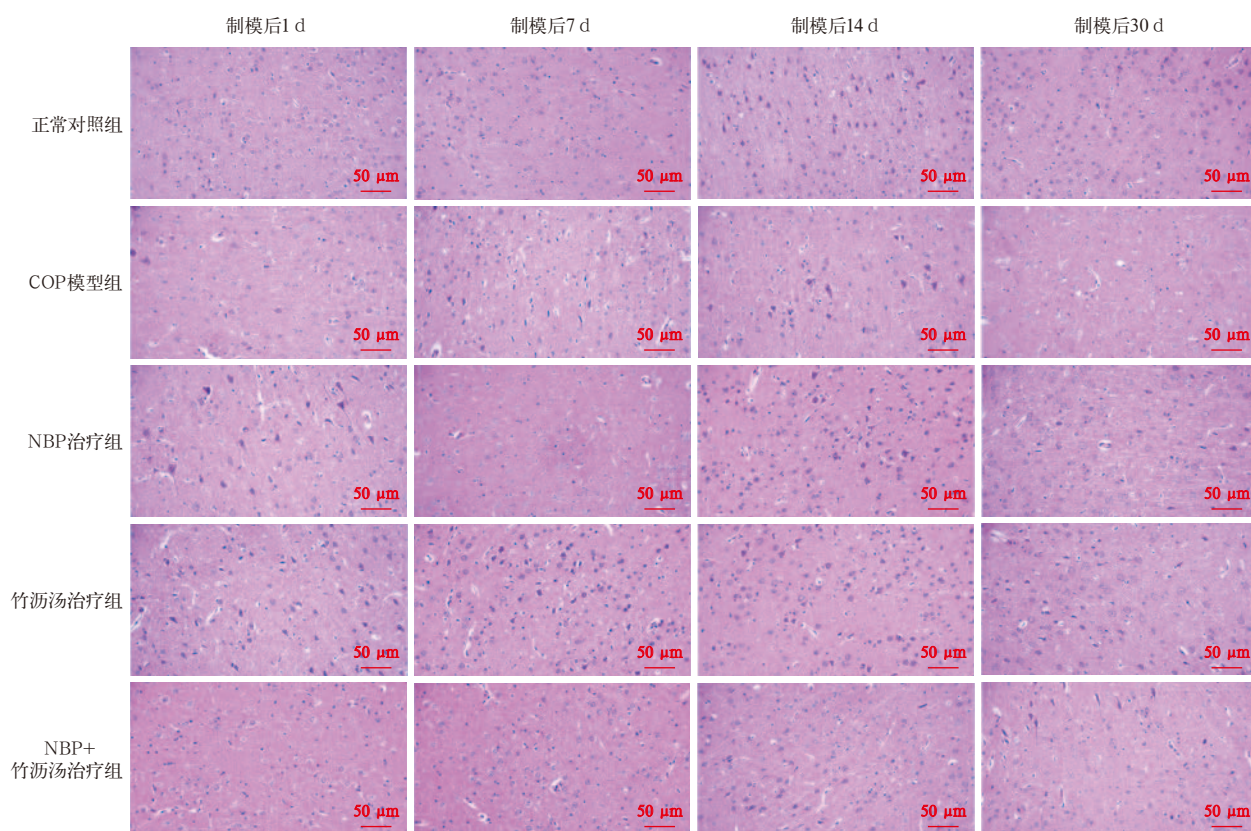


图1 各组大鼠脑皮质区结构形态的改变 HE染色 低倍放大

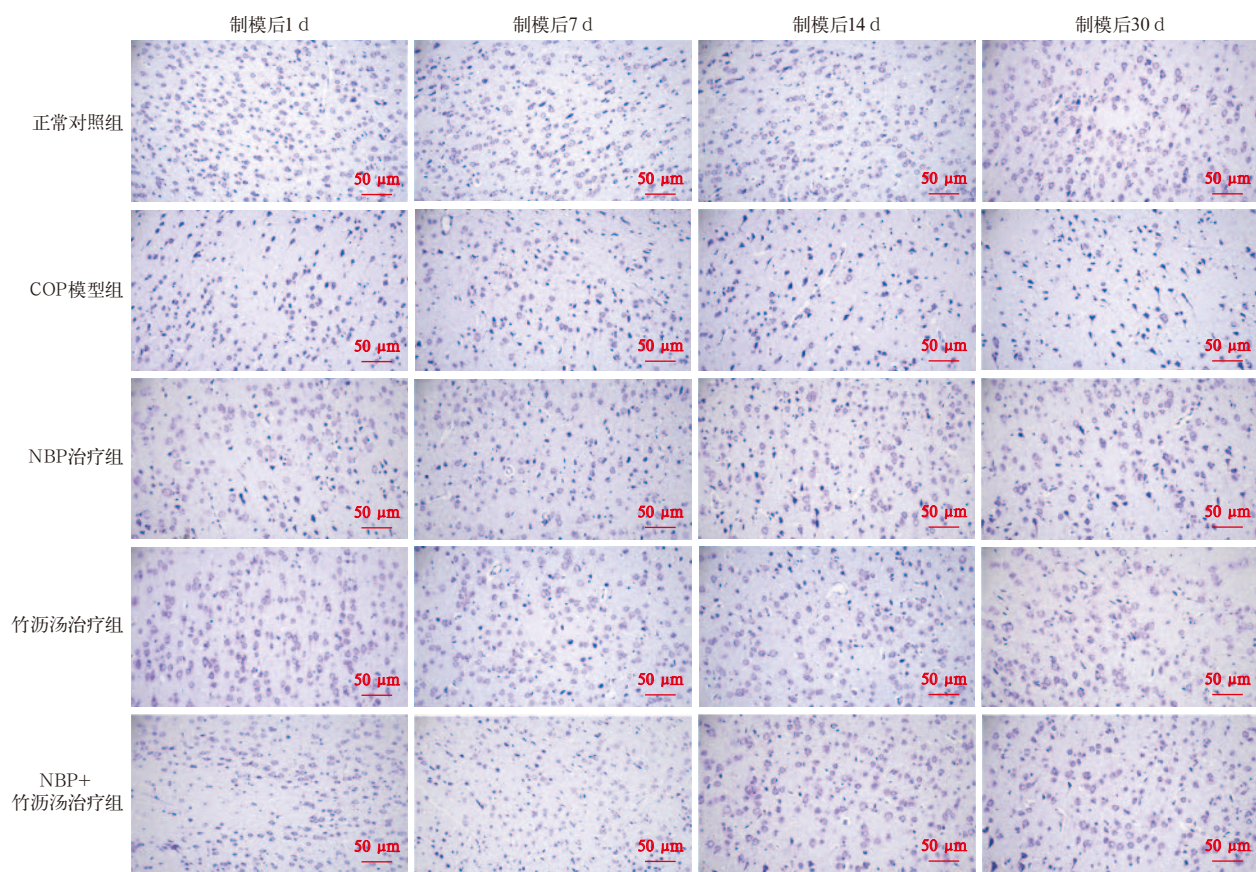


图2 各组大鼠脑皮质区尼氏小体的变化 尼氏染色 低倍放大

表 2 各组大鼠脑皮质区尼氏小体变化定量分析( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数 (只)	尼氏小体数量(个)	
		制模后 1 d	制模后 7 d
正常对照组	5	418.00 ± 25.17	414.20 ± 22.95
COP 模型组	5	322.00 ± 14.92 <sup>a</sup>	305.00 ± 13.87 <sup>a</sup>
NBP 治疗组	5	339.80 ± 16.21 <sup>a</sup>	310.00 ± 13.77 <sup>ab</sup>
竹沥汤治疗组	5	339.00 ± 8.69 <sup>a</sup>	308.60 ± 11.52 <sup>ab</sup>
NBP+ 竹沥汤治疗组	5	368.00 ± 14.78 <sup>ace</sup>	347.80 ± 14.11 <sup>abcde</sup>

组别	动物数 (只)	尼氏小体数量(个)	
		制模后 14 d	制模后 30 d
正常对照组	5	416.00 ± 24.14	411.00 ± 24.11
COP 模型组	5	245.20 ± 16.12 <sup>ab</sup>	239.20 ± 10.85 <sup>ab</sup>
NBP 治疗组	5	285.40 ± 13.74 <sup>abc</sup>	268.00 ± 11.81 <sup>abc</sup>
竹沥汤治疗组	5	290.80 ± 10.52 <sup>abc</sup>	275.00 ± 11.14 <sup>abc</sup>
NBP+ 竹沥汤治疗组	5	314.80 ± 9.04 <sup>abcde</sup>	313.60 ± 15.21 <sup>abcde</sup>

注：与正常对照组比较，<sup>a</sup> $P < 0.05$ ；与本组治疗 1 d 比较，<sup>b</sup> $P < 0.05$ ；与 COP 模型组比较，<sup>c</sup> $P < 0.05$ ；与 NBP 治疗组比较，<sup>d</sup> $P < 0.05$ ；与竹沥汤治疗组比较，<sup>e</sup> $P < 0.05$

稳定；竹沥汤治疗组与 NBP+ 竹沥汤治疗组于制模后 7~14 d 期间仍持续升高，其中 NBP+ 竹沥汤治疗组的高表达水平维持更久，提示 NBP+ 竹沥汤治疗组可增强治疗效果并延长作用时间。NBP 治疗组与竹沥汤治疗组各时间点比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。Western blotting 检测制模后 14 d 大

鼠皮质区 P-PI3K、P-Akt、P-GSK-3 $\beta$  蛋白表达的变化与免疫组化结果一致。

2.5 各组大鼠脑皮质区细胞凋亡的变化(图 7；表 5)：正常对照组大鼠脑皮质区仅见少量凋亡细胞，而 COP 模型组中可见大量形态各异、大小不等的凋亡细胞。COP 模型组在制模后 1 d 即出现大量凋亡细胞，制模后 7 d 进一步增加，至制模后 14 d 有所减少，但仍明显高于正常对照组( $P < 0.05$ )。各治疗组(NBP 治疗组、竹沥汤治疗组及 NBP+ 竹沥汤治疗组)在同一时间点的凋亡细胞数量均明显少于 COP 模型组( $P < 0.05$ )。NBP 治疗组与竹沥汤组各时间点凋亡细胞数比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )；而 NBP+ 竹沥汤组凋亡细胞数明显低于同期单药治疗组( $P < 0.05$ )。结果表明，NBP 和竹沥汤均能有效抑制 ACOP 所诱导的细胞凋亡，且联合用药效果优于单一药物治疗。

2.6 各组大鼠血清炎症因子的变化比较(表 6)：与正常对照组比较，COP 模型组血清中 IL-1 $\beta$  含量于制模后 1 d 即显著升高，说明 CO 中毒能成功诱导神经炎症的发生。各治疗组在不同时间点均能有效抑制 IL-1 $\beta$  的表达，其中 NBP 联合竹沥汤治疗组抗炎

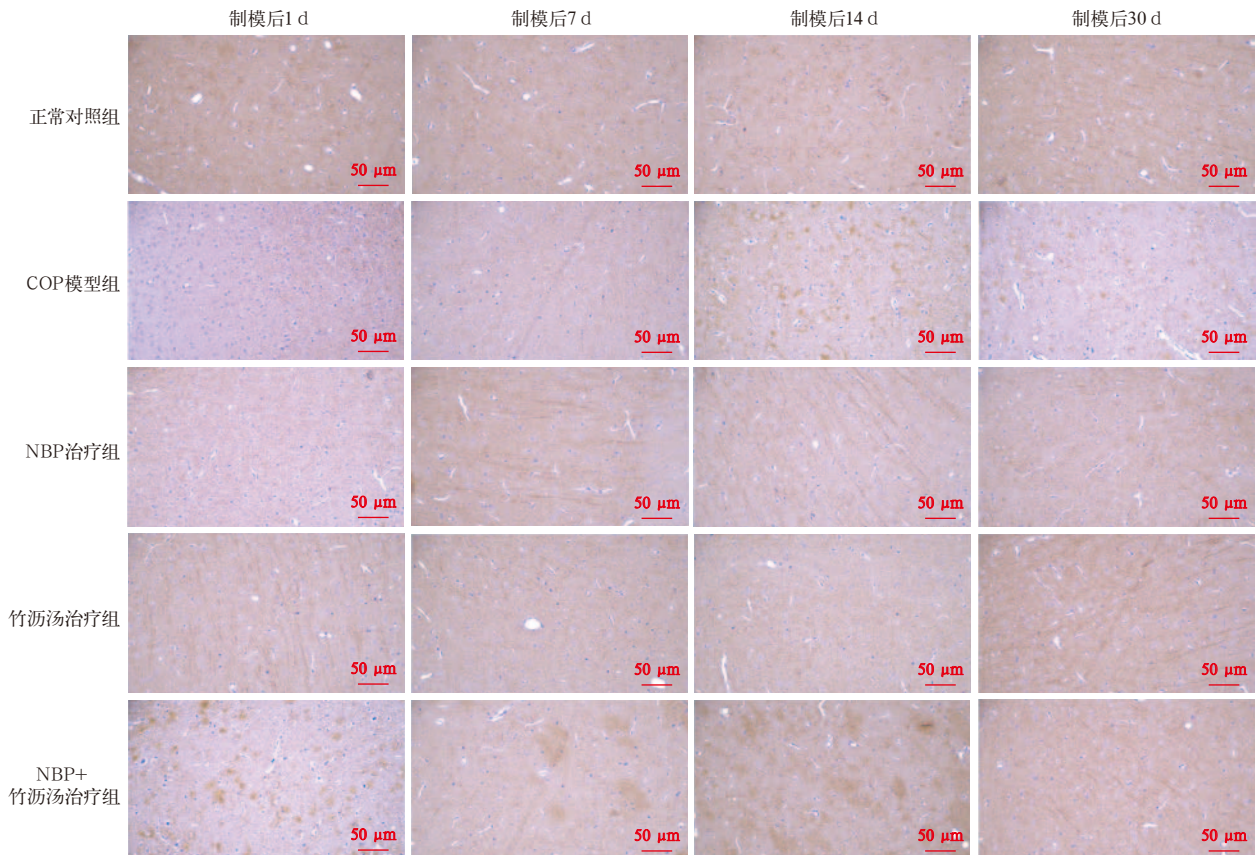


图 3 各组大鼠脑皮质区 P-PI3K 蛋白表达的变化 免疫组化 低倍放大

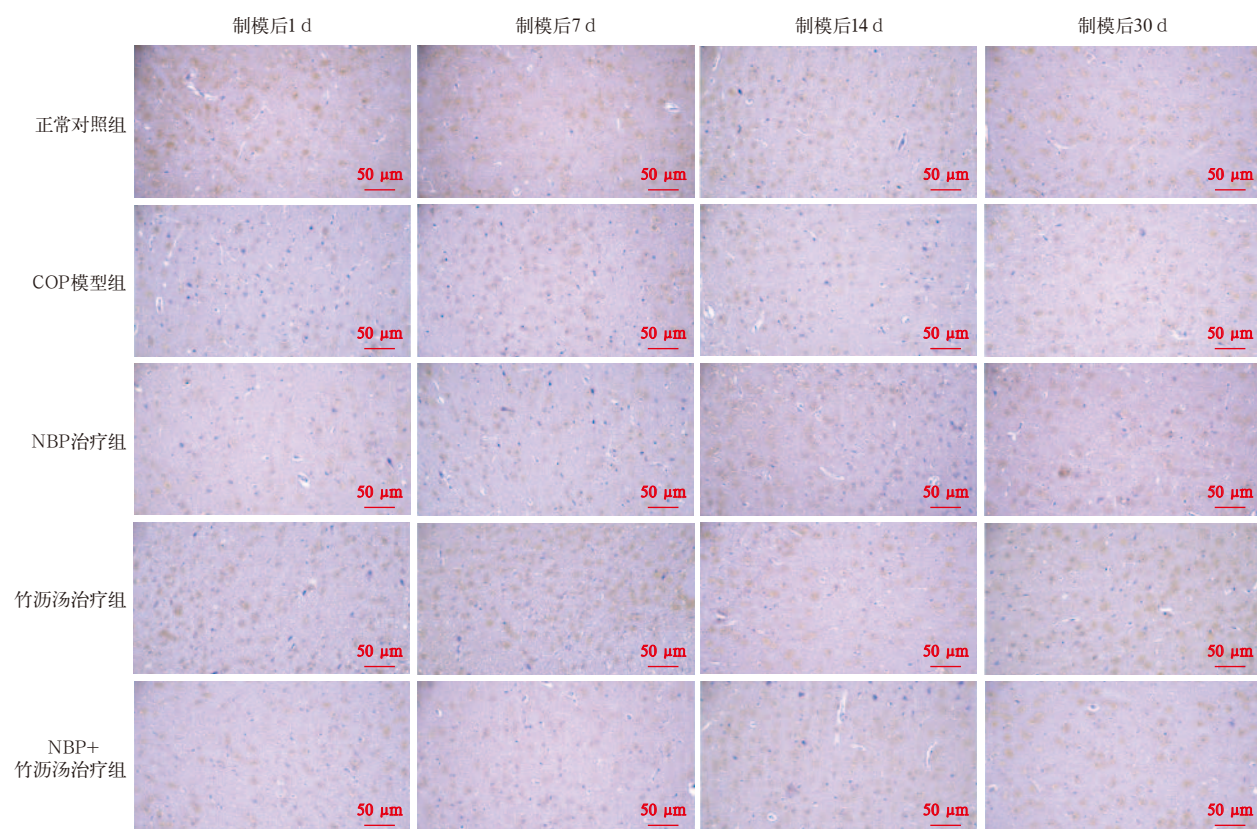


图4 各组大鼠脑皮质区 P-Akt 蛋白表达的变化 免疫组化 低倍放大

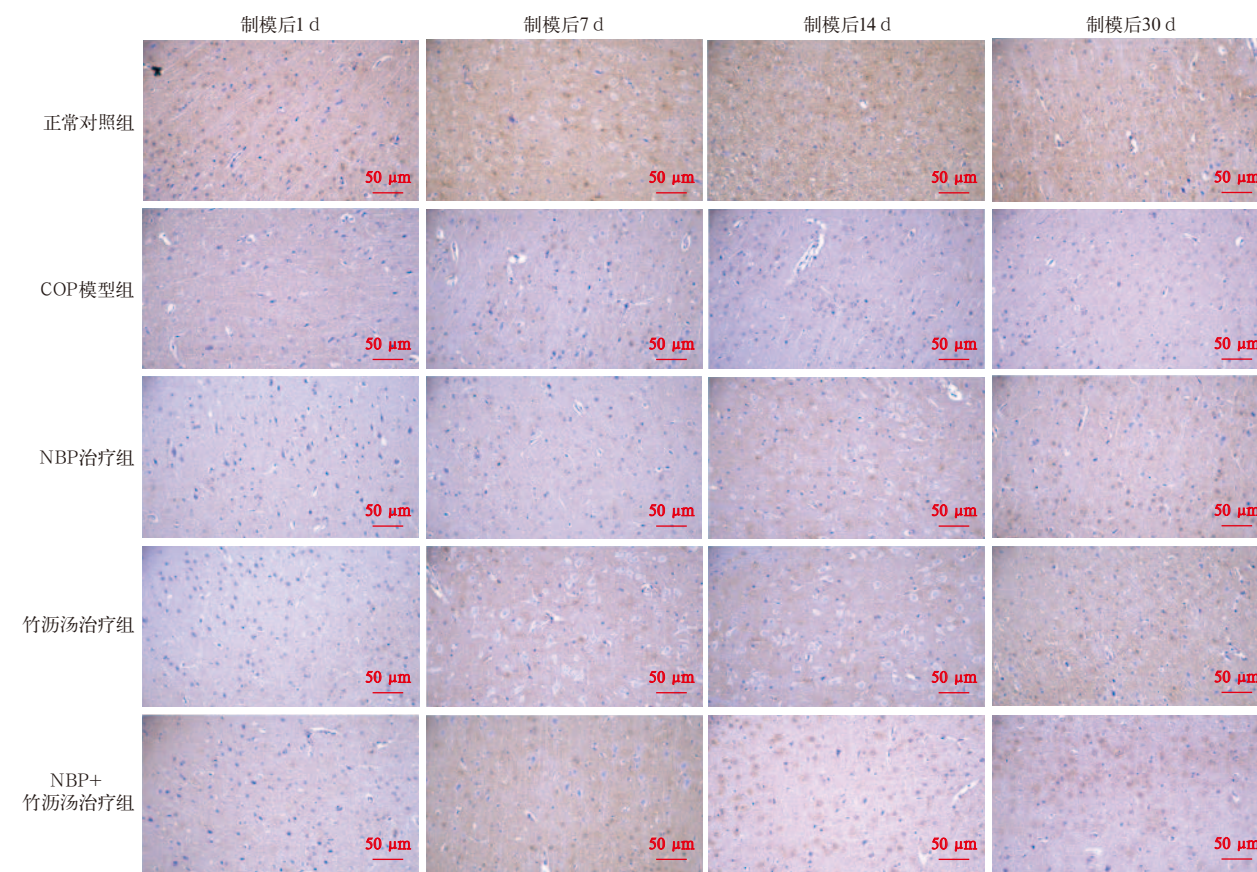


图5 各组大鼠脑皮质区 P-GSK-3β 蛋白表达的变化 免疫组化 低倍放大

效果最为显著,尤其在制模后 1 d 即表现出协同增效的作用,至制模后 14 d 所有治疗组 IL-1β 水平均恢复至与正常对照组比较差异无统计学意义(P>0.05)。

2.7 相关性分析: Pearson 相关性分析显示,大鼠血清中 IL-1β 的含量与细胞凋亡数呈显著正相关(r=0.580, P<0.001)。该结果表明,在 COP 所致脑损伤的病理进程中,促炎细胞因子 IL-1β 水平升高与神经元凋亡的严重程度之间存在密切的关联。各治疗组(尤其是 NBP+ 竹沥汤治疗组)在有效抑制 IL-1β 表达的同时,也显著降低了细胞凋亡水平,提示早期抗炎干预可能抑制细胞凋亡,发挥神经保护作用,为后续进一步研究提供了思路。

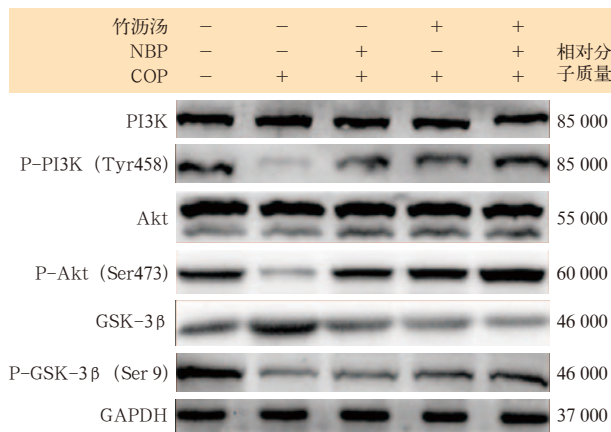


图 6 各组大鼠制模后 14 d 脑皮质区目标蛋白表达的变化

表 4 Western blotting 检测各组大鼠制模后 14 d 脑皮质区目标蛋白的表达水平比较(̄x ± s)

组别	动物数 (只)	脑皮质蛋白表达(灰度值)	
		P-PI3K/PI3K	P-Akt/Akt
正常对照组	5	1.00 ± 0.04	1.00 ± 0.04
COP 模型组	5	0.19 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.20 ± 0.04 <sup>a</sup>
NBP 治疗组	5	0.56 ± 0.03 <sup>ab</sup>	0.57 ± 0.05 <sup>ab</sup>
竹沥汤治疗组	5	0.55 ± 0.05 <sup>ab</sup>	0.55 ± 0.04 <sup>ab</sup>
NBP+ 竹沥汤治疗组	5	0.70 ± 0.05 <sup>abcd</sup>	0.82 ± 0.05 <sup>abcd</sup>

组别	动物数 (只)	脑皮质蛋白表达(灰度值)	
		GSK-3β/GAPDH	P-GSK-3β/GAPDH
正常对照组	5	1.00 ± 0.04	1.00 ± 0.06
COP 模型组	5	7.40 ± 0.11 <sup>a</sup>	0.25 ± 0.04 <sup>a</sup>
NBP 治疗组	5	4.00 ± 0.34 <sup>ab</sup>	0.53 ± 0.05 <sup>ab</sup>
竹沥汤治疗组	5	4.10 ± 0.23 <sup>ab</sup>	0.53 ± 0.04 <sup>ab</sup>
NBP+ 竹沥汤治疗组	5	1.90 ± 0.11 <sup>abcd</sup>	0.74 ± 0.05 <sup>abcd</sup>

注:与正常对照组比较,<sup>a</sup>P<0.05;与 COP 模型组比较,<sup>b</sup>P<0.05;与 NBP 治疗组比较,<sup>c</sup>P<0.05;与竹沥汤治疗组比较,<sup>d</sup>P<0.05

表 5 各组大鼠皮质区细胞凋亡数定量分析(̄x ± s)

组别	动物数 (只)	凋亡细胞数(个)		
		制模后 1 d	制模后 7 d	制模后 14 d
正常对照组	5	6.20 ± 0.80	6.50 ± 0.90	6.60 ± 0.82
COP 模型组	5	38.01 ± 1.60 <sup>a</sup>	57.99 ± 2.30 <sup>ab</sup>	50.51 ± 1.90 <sup>ab</sup>
NBP 治疗组	5	36.00 ± 1.19 <sup>a</sup>	39.51 ± 1.23 <sup>abc</sup>	32.01 ± 1.26 <sup>abc</sup>
竹沥汤治疗组	5	36.40 ± 1.21 <sup>a</sup>	40.20 ± 1.50 <sup>abc</sup>	32.00 ± 1.49 <sup>abc</sup>
NBP+ 竹沥汤治疗组	5	27.99 ± 1.29 <sup>acde</sup>	32.19 ± 1.31 <sup>abcde</sup>	24.50 ± 1.20 <sup>abcde</sup>

注:与正常对照组比较,<sup>a</sup>P<0.05;与本组制模后 1 d 比较,<sup>b</sup>P<0.05;与 COP 模型组比较,<sup>c</sup>P<0.05;与 NBP 治疗组比较,<sup>d</sup>P<0.05;与竹沥汤治疗组比较,<sup>e</sup>P<0.05

表 3 免疫组化检测各组大鼠脑皮质 P-PI3K、P-Akt、P-GSK-3β 蛋白含量的比较(̄x ± s)

组别	动物数 (只)	P-PI3K 蛋白含量(A 值)			
		制模后 1 d	制模后 7 d	制模后 14 d	制模后 30 d
正常对照组	5	1.00 ± 0.07	1.00 ± 0.07	1.00 ± 0.04	1.00 ± 0.06
COP 模型组	5	0.39 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.30 ± 0.04 <sup>ab</sup>	0.40 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.43 ± 0.04 <sup>a</sup>
NBP 治疗组	5	0.48 ± 0.04 <sup>ac</sup>	0.70 ± 0.05 <sup>abc</sup>	0.71 ± 0.03 <sup>abc</sup>	0.71 ± 0.05 <sup>abc</sup>
竹沥汤治疗组	5	0.49 ± 0.05 <sup>ac</sup>	0.70 ± 0.04 <sup>abc</sup>	0.74 ± 0.05 <sup>abc</sup>	0.73 ± 0.05 <sup>abc</sup>
NBP+ 竹沥汤治疗组	5	0.52 ± 0.04 <sup>ac</sup>	0.82 ± 0.05 <sup>abcde</sup>	0.87 ± 0.05 <sup>abcde</sup>	0.86 ± 0.05 <sup>acde</sup>

组别	动物数 (只)	P-Akt 蛋白含量(A 值)			
		制模后 1 d	制模后 7 d	制模后 14 d	制模后 30 d
正常对照组	5	1.00 ± 0.05	1.00 ± 0.06	1.00 ± 0.06	1.00 ± 0.07
COP 模型组	5	0.39 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.30 ± 0.04 <sup>ab</sup>	0.40 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.43 ± 0.05 <sup>a</sup>
NBP 治疗组	5	0.48 ± 0.04 <sup>ac</sup>	0.72 ± 0.05 <sup>abc</sup>	0.73 ± 0.05 <sup>abc</sup>	0.71 ± 0.05 <sup>abc</sup>
竹沥汤治疗组	5	0.49 ± 0.02 <sup>ac</sup>	0.74 ± 0.04 <sup>abc</sup>	0.77 ± 0.05 <sup>abc</sup>	0.77 ± 0.05 <sup>abc</sup>
NBP+ 竹沥汤治疗组	5	0.53 ± 0.04 <sup>ac</sup>	0.87 ± 0.05 <sup>abcde</sup>	0.92 ± 0.04 <sup>acde</sup>	0.91 ± 0.05 <sup>acde</sup>

组别	动物数 (只)	P-GSK-3β 蛋白含量(A 值)			
		制模后 1 d	制模后 7 d	制模后 14 d	制模后 30 d
正常对照组	5	1.00 ± 0.04	1.00 ± 0.03	1.00 ± 0.03	1.00 ± 0.04
COP 模型组	5	0.39 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.35 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.41 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.44 ± 0.05 <sup>a</sup>
NBP 治疗组	5	0.47 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.71 ± 0.03 <sup>abc</sup>	0.71 ± 0.04 <sup>abc</sup>	0.71 ± 0.05 <sup>abc</sup>
竹沥汤治疗组	5	0.47 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.69 ± 0.02 <sup>abc</sup>	0.73 ± 0.03 <sup>abc</sup>	0.72 ± 0.04 <sup>abc</sup>
NBP+ 竹沥汤治疗组	5	0.54 ± 0.04 <sup>ac</sup>	0.82 ± 0.06 <sup>abcde</sup>	0.87 ± 0.04 <sup>abcde</sup>	0.86 ± 0.04 <sup>abcde</sup>

注:与正常对照组比较,<sup>a</sup>P<0.05;与本组制模后 1 d 比较,<sup>b</sup>P<0.05;与 COP 模型组比较,<sup>c</sup>P<0.05;与 NBP 治疗组比较,<sup>d</sup>P<0.05;与竹沥汤治疗组比较,<sup>e</sup>P<0.05

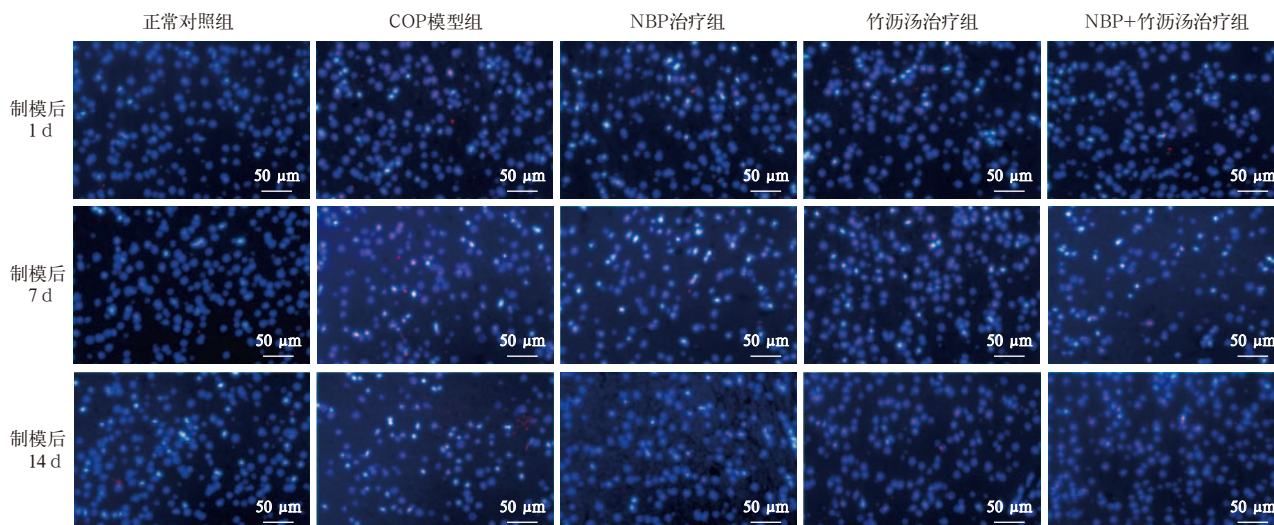


图7 各组大鼠脑皮质区细胞凋亡的变化 TUNEL 低倍放大

表6 各组大鼠外周血清中炎症因子 IL-1β 定量分析(̄x ± s)

组别	动物数 (只)	IL-1β (ng/L)		
		制模后 1 d	制模后 7 d	制模后 14 d
正常对照组	5	49.23 ± 4.50	48.32 ± 5.39	51.01 ± 5.11
COP 模型组	5	221.50 ± 9.67 <sup>a</sup>	188.30 ± 4.52 <sup>ab</sup>	93.88 ± 4.07 <sup>ab</sup>
NBP 治疗组	5	176.60 ± 7.24 <sup>ac</sup>	86.01 ± 3.82 <sup>abc</sup>	53.69 ± 3.50 <sup>bc</sup>
竹沥汤治疗组	5	186.80 ± 5.88 <sup>ac</sup>	90.10 ± 4.47 <sup>abc</sup>	52.74 ± 2.75 <sup>bc</sup>
NBP+竹沥汤治疗组	5	152.50 ± 6.85 <sup>acde</sup>	71.60 ± 2.98 <sup>abcde</sup>	49.63 ± 3.62 <sup>bcde</sup>

注：与正常对照组比较，<sup>a</sup>*P*<0.05；与本组制模后 1 d 比较，<sup>b</sup>*P*<0.05；与 COP 模型组比较，<sup>c</sup>*P*<0.05；与 NBP 治疗组比较，<sup>d</sup>*P*<0.05；与竹沥汤治疗组比较，<sup>e</sup>*P*<0.05

### 3 讨论

CO 在中医理论中被归为“秽浊毒邪”，其中毒后起病急骤、临床症状复杂、病势危重，易侵犯多个脏腑。该毒气直中心脑、壅滞气机，非峻烈豁透之药难以取效。中医学认为“痰浊热毒、蒙蔽清窍、阻滞络脉”是 COP 的核心病机，治疗应以清热涤痰、开窍通络为要。竹沥汤由竹沥、葛根、生姜 3 味药组成。方中竹沥用量最重，性寒滑利，能通达经络，为清热化痰、解毒开窍之主药；葛根可升阳解毒，既能从中焦助益脾肺、托邪外出，又能以其轻清之性宣通上焦气血，达于巅顶；生姜性温味辛，具有宣散透达之力，可化阴浊之痰、祛秽恶之气。三药配伍，共奏清热豁痰、解毒开窍、透邪扶正之效，使邪去而不伤正，有助于通窍安神、促进神明恢复。现代药理学研究显示，竹类提取物中所含的黄酮类及多糖等成分对缺血缺氧所致的脑损伤有一定保护作用，其机制可能与提高脑组织及血清中抗氧化酶活性、增强自由基清除能力并抑制脂质过氧化反应有关<sup>[16-17]</sup>。葛根提取物有抗炎、抗氧化和清除自由

基等多种药理学活性，其中葛根素能改善脑部缺血缺氧状态、减轻脑水肿、降低脑血管阻力并改善局部微循环，从而有助于增强学习记忆能力<sup>[18-19]</sup>。生姜及其活性成分表现出抗炎、抗氧化及凋亡调控等作用，对血管功能具有保护效应，并可改善神经功能相关症状<sup>[20-21]</sup>。本研究结果显示，COP 大鼠出现脑水肿、脑皮质结构紊乱，神经细胞呈现出皱缩、细胞质浓缩、核碎裂等凋亡细胞特征，细胞凋亡数增加。竹沥汤治疗能减轻 COP 后脑水肿，改善神经细胞病理学损伤程度，抑制细胞凋亡和炎症反应，说明竹沥汤在脑保护方面有较好的疗效。细胞凋亡是 COP 引发脑损伤的关键机制之一，神经元与神经胶质细胞凋亡和坏死可导致迟发性神经系统症状的出现<sup>[22]</sup>。PI3K/Akt 信号通路作为调控细胞存活的核心途径之一<sup>[23]</sup>，在抑制凋亡过程中发挥重要作用，并参与多种神经退行性疾病的进程<sup>[24]</sup>。该通路通常由生长因子或细胞因子等胞外信号通过膜受体激活，而 IL-1β 等炎症因子的过度释放则可拮抗这一激活过程。具体而言，通路激活促使 PI3K 催化磷脂酰肌醇-4, 5-二磷酸(phosphatidylinositol 4, 5-bisphosphate, PIP2)磷酸化，生成磷脂酰肌醇-3, 4, 5-三磷酸(phosphatidylinositol-3, 4, 5-trisphosphate, PIP3)。PIP3 可募集并激活磷酸肌醇依赖性激酶-1(phosphoinositide-dependent kinase-1, PDK-1)，后者进一步磷酸化 Akt 使其活化。作为 Akt 下游的关键效应分子，GSK-3β 属于丝裂素活化蛋白激酶家族，参与调控细胞存活与代谢过程<sup>[25]</sup>。Chauhan 等<sup>[26]</sup>指出，GSK-3β 在大脑功能中发挥着重要作用，其活化可破坏神经元突触活动，

并促使神经元斑块的形成,导致神经元损伤和阿尔茨海默病等神经退行性疾病,GSK-3 $\beta$  抑制剂或将成为改善阿尔茨海默病的重要治疗手段。

有研究显示,抑制 GSK-3 $\beta$  的活性有助于改善帕金森大鼠纹状体功能,促进运动功能的恢复<sup>[27]</sup>,对于阿尔茨海默病模型大鼠认知缺陷和神经炎症也有改善作用<sup>[28]</sup>。石秋艳等<sup>[29]</sup>认为,调控 PI3K/Akt 信号通路可有效保护缺血性脑卒中大鼠神经功能,减少海马区细胞凋亡。周雅慧等<sup>[30]</sup>研究表明,提高 GSK-3 $\beta$  磷酸化水平,能减轻大鼠脑缺血/再灌注损伤,改善神经功能缺损。本研究显示,COP 模型组 P-GSK-3 $\beta$  表达显著降低,给予竹沥汤干预后,升高了 P-GSK-3 $\beta$  水平,提示竹沥汤能激活 GSK-3 $\beta$  的磷酸化过程,抑制 GSK-3 $\beta$  的表达。与 NBP 联用后,这种作用更为显著,由此推测 PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$  信号通路是竹沥汤和 NBP 发挥脑保护作用的重要靶点通路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] Gozubuyuk AA, Dag H, Kacar A, et al. Epidemiology, pathophysiology, clinical evaluation, and treatment of carbon monoxide poisoning in child, infant, and fetus [J]. *North Clin Istanbul*, 2017, 4 (1): 100–107. DOI: 10.14744/nci.2017.49368.
- [2] 王淑丽,冯顺易,李勇.全身炎症反应指数对急性一氧化碳中毒迟发性神经后遗症的预测价值[J].*中国中西医结合急救杂志*, 2023, 30 (2): 170–174. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2023.02.009.
- [3] American College of Emergency Physicians Clinical Policies Subcommittee. Clinical policy: critical issues in the evaluation and management of adult patients presenting to the emergency department with acute carbon monoxide poisoning [J]. *Ann Emerg Med*, 2017, 69 (1): 98–107. e6. DOI: 10.1016/j.annemergmed.2016.11.003.
- [4] Huang YQ, Peng ZR, Huang FL, et al. Mechanism of delayed encephalopathy after acute carbon monoxide poisoning [J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15 (12): 2286–2295. DOI: 10.4103/1673-5374.284995.
- [5] Angelova PR, Myers I, Abramov AY. Carbon monoxide neurotoxicity is triggered by oxidative stress induced by ROS production from three distinct cellular sources [J]. *Redox Biol*, 2023, 60: 102598. DOI: 10.1016/j.redox.2022.102598.
- [6] Xue L, Wang WL, Li Y, et al. Effects of hyperbaric oxygen on hippocampal neuronal apoptosis in rats with acute carbon monoxide poisoning [J]. *Undersea Hyperb Med*, 2017, 44 (2): 121–131. DOI: 10.22462/3.4.2017.5.
- [7] Yu H, Xiong M, Zhang Z. The role of glycogen synthase kinase 3 beta in neurodegenerative diseases [J]. *Front Mol Neurosci*, 2023, 16: 1209703. DOI: 10.3389/fnmol.2023.1209703.
- [8] Sethuraman K, Thom SR. Hyperbaric oxygen should be used for carbon monoxide poisoning [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2023, 89 (3): 939–941. DOI: 10.1111/bcp.15605.
- [9] Marcinkowska AB, Mankowska ND, Kot J, et al. Impact of hyperbaric oxygen therapy on cognitive functions: a systematic review [J]. *Neuropsychol Rev*, 2022, 32 (1): 99–126. DOI: 10.1007/s11065-021-09500-9.
- [10] Ning K, Zhou YY, Zhang N, et al. Neurocognitive sequelae after carbon monoxide poisoning and hyperbaric oxygen therapy [J]. *Med Gas Res*, 2020, 10 (1): 30–36. DOI: 10.4103/2045-9912.279981.
- [11] Ho YW, Chung PY, Hou SK, et al. Should we use hyperbaric oxygen for carbon monoxide poisoning management? A network Meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *Healthcare (Basel)*, 2022, 10 (7): DOI: 10.3390/healthcare10071311.
- [12] Li Q, Cheng Y, Bi M, et al. Effects of N-butylphthalide on the activation of Keap1/Nrf-2 signal pathway in rats after carbon monoxide poisoning [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2015, 40 (1): 22–29. DOI: 10.1016/j.etap.2015.05.009.
- [13] 宋慧平.基于 PI3K/AKT/GSK-3 $\beta$  通路探讨竹沥汤联合丁苯酞治疗 CO 中毒脑损伤的作用机制 [D]. 山东中医药大学, 2024.
- [14] Song H, Yue A, Zhou X, et al. Evidence of clinical efficacy and pharmacological mechanism of N-butylphthalide in the treatment of delayed encephalopathy after acute carbon monoxide poisoning [J]. *Front Neurol*, 2023, 14: 1119871. DOI: 10.3389/fneur.2023.1119871.
- [15] Nair AB, Jacob S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human [J]. *J Basic Clin Pharm*, 2016, 7 (2): 27–31. DOI: 10.4103/0976-0105.177703.
- [16] 熊亮,彭成,郭力.竹类药材的药理作用研究进展 [J]. *中药与临床*, 2012, 3 (6): 52–55.
- [17] Cheng Y, Wan S, Yao L, et al. Bamboo leaf: A review of traditional medicinal property, phytochemistry, pharmacology, and purification technology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 306: 116166. DOI: 10.1016/j.jep.2023.116166.
- [18] 招志辉,李霁燕,关彩华.基于 IKK/I $\kappa$ B $\alpha$ /NF- $\kappa$ B 通路探讨葛根素对创伤后应激障碍大鼠行为学、单胺类递质、炎症的影响 [J]. *中华中医药学刊*, 2023, 41 (11): 230–237. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2023.11.043.
- [19] 陈艳,文佳玉,谢晓芳,等.葛根的化学成分及药理作用研究进展 [J]. *中药与临床*, 2021, 12 (1): 53–60. DOI: 10.3969/j.issn.1674-926X.2021.01.013.
- [20] Li C, Li J, Jiang F, et al. Vasculoprotective effects of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and underlying molecular mechanisms [J]. *Food Funct*, 2021, 12 (5): 1897–1913. DOI: 10.1039/d0fo02210a.
- [21] Choi JG, Kim SY, Jeong M, et al. Pharmacotherapeutic potential of ginger and its compounds in age-related neurological disorders [J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 182: 56–69. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2017.08.010.
- [22] Bagheri G, Rezaee R, Tsarouhas K, et al. Magnesium sulfate ameliorates carbon monoxide-induced cerebral injury in male rats [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19 (2): 1032–1039. DOI: 10.3892/mmr.2018.9771.
- [23] Manning BD, Toker A. AKT/PKB signaling: navigating the network [J]. *Cell*, 2017, 169 (3): 381–405. DOI: 10.1016/j.cell.2017.04.001.
- [24] He X, Li Y, Deng B, et al. The PI3K/AKT signalling pathway in inflammation, cell death and glial scar formation after traumatic spinal cord injury: mechanisms and therapeutic opportunities [J]. *Cell Prolif*, 2022, 55 (9): e13275. DOI: 10.1111/cpr.13275.
- [25] Kumar M, Bansal N. Implications of phosphoinositide 3-kinase-Akt (PI3K-Akt) pathway in the pathogenesis of Alzheimer's disease [J]. *Mol Neurobiol*, 2022, 59 (1): 354–385. DOI: 10.1007/s12035-021-02611-7.
- [26] Chauhan N, Paliwal S, Jain S, et al. GSK-3 $\beta$  and its Inhibitors in Alzheimer's disease: a recent update [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2022, 22 (22): 2881–2895. DOI: 10.2174/1389557522666220420094317.
- [27] Xie CL, Lin JY, Wang MH, et al. Inhibition of Glycogen Synthase Kinase-3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ ) as potent therapeutic strategy to ameliorates L-dopa-induced dyskinesia in 6-OHDA parkinsonian rats [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 23527. DOI: 10.1038/srep23527.
- [28] Yang W, Liu Y, Xu QQ, et al. Sulforaphane ameliorates neuroinflammation and hyperphosphorylated tau protein via regulating the PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$  pathway in experimental models of Alzheimer's disease [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 4754195. DOI: 10.1155/2020/4754195.
- [29] 石秋艳,李艳玲,李冬梅,等.他仑帕奈调控 PI3K/Akt 通路保护缺血性脑卒中大鼠神经功能的作用机制 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2022, 29 (1): 71–74. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2022.01.016.
- [30] 周雅慧,李泽,栗延伟,等.腺苷预处理通过增加 GSK-3 $\beta$  磷酸化水平减轻大鼠脑缺血再灌注损伤 [J]. *中国神经免疫学和神经病学杂志*, 2023, 30 (6): 423–427, 438. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2963.2023.06.007.

(收稿日期: 2024-04-17)

(责任编辑: 邸美仙)