

基于GSK-3 β /CDK5信号通路介导的tau蛋白过度磷酸化探讨 人参皂苷Rg1改善七氟烷诱导的大鼠认知功能障碍机制

李磊, 王鹏程, 张国庆, 黄素霞, 王震

驻马店市中心医院麻醉科, 河南 驻马店 463000

[摘要] 目的: 探讨人参皂苷Rg1是否通过调控糖原合酶激酶-3 β (GSK-3 β)/周期蛋白依赖性激酶5 (CDK5) 通路抑制tau蛋白磷酸化, 改善七氟烷诱导的大鼠认知功能障碍。方法: 将40只SD大鼠随机分为对照 (Control) 组、七氟烷 (Sevo) 组、Rg1干预 (Sevo+Rg1) 组及GSK-3 β 抑制剂干预 (Sevo+Rg1+SB) 组, 每组10只。通过Morris水迷宫实验评估认知功能; 苏木素-伊红 (HE) 染色和末端脱氧核苷酸转移酶脱氧尿苷三磷酸 (dUTP) 缺口末端标记法 (TUNEL) 检测海马神经元病理及凋亡; 酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定神经损伤标志物神经元特异性烯醇化酶 (NSE)/S-100钙结合蛋白 β 亚型 (S-100 β); 蛋白质印迹法和免疫组化检测GSK-3 β /CDK5通路相关蛋白表达。结果: 与Control组比较, Sevo组大鼠逃避潜伏期延长, 穿越平台次数减少, 在目标象限的停留时间缩短, 海马神经元排列紊乱、凋亡率增加, NSE/S-100 β 升高, B细胞淋巴瘤-2基因 (Bcl-2) 及其相关X蛋白 (Bax)/Bcl-2比值、p-GSK-3 β (Tyr216)、P25及p-tau (Ser396) 表达均上调, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。与Sevo组比较, Sevo+Rg1组大鼠的逃避潜伏期缩短, 穿越平台的次数增加, 在目标象限的停留时间延长, 海马神经元排列紊乱改善、凋亡率降低, NSE/S-100 β 降低, Bax/Bcl-2比值、p-GSK-3 β (Tyr216)、P25及p-tau (Ser396) 表达均下调, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。与Sevo+Rg1组比较, Sevo+Rg1+SB组可逆转Rg1对上述指标的调控效应, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论: 人参皂苷Rg1可通过GSK-3 β /CDK5信号通路抑制tau蛋白磷酸化改善七氟烷诱导的大鼠神经元凋亡与认知功能障碍。

[关键词] 认知功能障碍; 七氟烷; 人参皂苷Rg1; GSK-3 β /CDK5; tau蛋白; 作用机制; 大鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2026) 11-0175-10

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2026.11.023

Exploration on Mechanism of Sevoflurane-Induced Cognitive Dysfunction in Rats by Ginsenoside Rg1 Based on the tau Protein Hyperphosphorylation Mediated by the GSK-3 β /CDK5 Signaling Pathway

LI Lei, WANG Pengcheng, ZHANG Guoqing, HUANG Suxia, WANG Zhen

Department of Anesthesiology, Zhumadian Central Hospital, Zhumadian Henan 463000, China

Abstract: **Objective:** To investigate whether ginsenoside Rg1 improves sevoflurane-induced cognitive dysfunction in rats by inhibiting tau protein phosphorylation through the regulation of the glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β)/cyclin-dependent kinase 5 (CDK5) signaling pathway. **Methods:** Forty SD rats were randomly divided into four groups: Control group, Sevoflurane (Sevo) group, Rg1 intervention (Sevo+Rg1) group, and GSK-3 β inhibitor intervention (Sevo+Rg1+SB) group, 10 rats in each group. Cognitive function was assessed using the Morris water maze test. Hippocampal neuronal pathology and apoptosis were detected by hematoxylin-eosin (HE) staining and

[收稿日期] 2025-12-03

[修回日期] 2026-03-13

[基金项目] 河南省医学学术技术带头人出国研修计划项目 (2025082)

[作者简介] 李磊 (1984-), 男, 主治医师。

[通信作者] 王震 (1979-), 男, 副主任医师。

terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labeling (TUNEL) assay. Levels of neuronal injury markers neuron-specific enolase (NSE) and S-100 calcium-binding protein β (S-100 β) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The expression of proteins related to the GSK-3 β /CDK5 pathway was detected by Western blot and immunohistochemistry. **Results:** Compared with the Control group, the Sevo group exhibited significantly prolonged escape latency, decreased number of platform crossings, shortened time spent in the target quadrant, disordered hippocampal neuron arrangement, increased apoptosis rate, elevated levels of NSE/S-100 β , and upregulated expression of B-cell lymphoma-2 (Bcl-2)-associated X protein (Bax)/Bcl-2 ratio, p-GSK-3 β (Tyr216), P25, and p-tau (Ser396) ($P < 0.05$). Compared with the Sevo group, the Sevo+Rg1 group showed significantly shortened escape latency, increased number of platform crossings, prolonged time spent in the target quadrant, improved hippocampal neuron arrangement, decreased apoptosis rate, reduced levels of NSE/S-100 β , and downregulated expression of Bax/Bcl-2 ratio, p-GSK-3 β (Tyr216), P25, and p-tau (Ser396) ($P < 0.05$). Compared with the Sevo+Rg1 group, the Sevo+Rg1+SB group reversed the regulatory effects of Rg1 on the above indicators, with statistically significant differences ($P < 0.05$). **Conclusion:** Ginsenoside Rg1 can improve sevoflurane-induced neuronal apoptosis and cognitive dysfunction by inhibiting tau protein phosphorylation via the GSK-3 β /CDK5 signaling pathway.

Keywords: Cognitive dysfunction; Sevoflurane; Ginsenoside Rg1; GSK-3 β /CDK5; tau protein; Mechanism of action; Rats

七氟烷作为临床常用吸入性麻醉剂,因起效迅速、可控性强等优势被广泛应用于各类手术,但其诱发的术后认知功能障碍(POCD)已成为不容忽视的临床问题^[1]。研究显示,七氟烷暴露后老年患者POCD发生率可达20%~40%,主要表现为记忆力减退、注意力不集中及执行功能下降,严重影响患者术后的生活质量^[2-3]。目前POCD的发病机制尚未完全明确,而麻醉药物诱发的神经毒性、突触可塑性损伤及神经炎症被认为是关键诱因^[4],其中tau蛋白过度磷酸化导致的神经元功能异常被证实与认知功能损伤密切相关^[5]。tau蛋白是维持神经元微管稳定性的重要结构蛋白,其磷酸化水平受激酶与磷酸酶的动态调控。当tau蛋白过度磷酸化时,会丧失对微管的结合能力,进而形成神经纤维缠结,破坏神经元信息传递^[6]。糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β)和细胞周期蛋白依赖性激酶5(CDK5)是调控tau蛋白磷酸化的核心激酶,二者异常激活可特异性催化tau蛋白

Ser396、Thr205等位点过度磷酸化,这一过程在阿尔茨海默病及POCD模型中均被观察到^[7-8]。然而,七氟烷是否通过激活GSK-3 β /CDK5信号通路诱导tau蛋白过度磷酸化,进而引发POCD,仍需深入验证。

人参皂苷Rg1作为人参的主要活性成分,已被证实具有神经保护作用,可通过抑制氧化应激、减轻神经炎症等改善认知功能^[9]。刘颖等^[10]研究发现,人参皂苷Rg1可通过调节神经营养因子、神经营养性酪氨酸激酶受体-1型(TrkA)和2型(TrkB)蛋白,降低氧化应激,改善小鼠低温致远期认知功能损伤。白雅林等^[11]研究也发现,人参皂苷Rg1能够改善脑出血大鼠神经炎症及血脑屏障损伤。但Rg1是否能调控GSK-3 β /CDK5信号通路介导tau蛋白磷酸化水平,从而缓解七氟烷诱导的POCD,尚未见明确报道。本研究旨在探讨人参皂苷Rg1对七氟烷诱发认知损伤的改善作用及分子机制,为POCD的防治提供新的实验依据和潜在

靶点。

1 材料与方法

1.1 实验动物 选用 SPF 级雄性 SD 大鼠 40 只, 体质量 280~320 g, 8~10 周龄, 购自维通利华实验动物技术有限公司, 生产许可证号: SCXK(粤)2022-0063。饲养于温度(23 ± 2)℃、湿度(55 ± 5)%的标准环境中, 12 h/12 h 光暗循环, 自由摄食饮水, 适应性喂养 1 周后进行实验。本实验经驻马店市中心医院动物伦理委员会审批(LLSC2023091501), 严格遵循实验动物伦理原则。

1.2 主要试剂及仪器 七氟烷(上海研生实业有限公司); 人参皂苷 Rg1(纯度 $\geq 98\%$, 成都曼思特生物科技有限公司); 兔抗 GSK-3 β 、磷酸化(p)GSK-3 β (Tyr216)单克隆抗体(CST 公司); 兔抗 p-tau(Ser396)多克隆抗体、兔抗 CDK5 单克隆抗体、兔抗 P25 单克隆抗体(Abcam 公司); β -肌动蛋白(β -actin)单克隆抗体、辣根过氧化物酶(HRP)标记山羊抗兔二抗(中杉金桥公司); 二喹啉甲酸法(BCA)蛋白定量试剂盒(碧云天生物技术有限公司)。密闭式动物麻醉箱(宁波海曙赛福实验仪器厂); 气体浓度监测仪(美国 Datex-Ohmeda 公司); 倒置荧光显微镜(日本 Olympus 公司); 全自动酶标仪、电泳仪、转膜仪、凝胶成像分析系统(美国 Bio-Rad 公司); 高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司)。

1.3 动物分组与处理方法 将 40 只 SD 大鼠随机分为 4 组, 每组 10 只。对照(Control)组大鼠吸入氧气 2.5 L/min+氮气 6 L/min 混合气体 2 h, 每天 1 次, 连续 5 天; 同时腹腔注射等体积生理盐水, 每天 1 次, 连续 7 天(从麻醉前 3 天开始至麻醉结束后 3 天)。模型(Sevo)组大鼠吸入 3% 七氟烷 2 h, 每天 1 次, 连续 5 天; 腹腔注射处理同 Control 组。人参皂苷 Rg1 干预(Sevo+Rg1)组大鼠七氟烷吸入处理同模型组; 腹腔注射人参皂苷 Rg1 10 mg/kg, 每天 1 次,

连续 7 天。GSK-3 β 抑制剂干预(Sevo+Rg1+SB)组大鼠在 Sevo+Rg1 组处理的基础上, 腹腔注射 GSK-3 β 抑制剂(SB216763)0.5 mg/kg, 每天 1 次, 连续 7 天。

1.4 七氟烷暴露的干预方法 在文献[12]中造模方法的基础上进行本研究模型构建。采用密闭式麻醉箱进行吸入麻醉, 麻醉箱体积 10 L。Sevo 组、Sevo+Rg1 组及 Sevo+Rg1+SB 组大鼠放入麻醉箱后, 先通入氧气 2.5 L/min+氮气 6 L/min, 随后加入七氟烷, 维持七氟烷目标浓度(3%)和氧气浓度(40%)持续暴露 2 h, 持续监测箱内温度和气体浓度, 连续 5 天。Control 组仅通入混合气体, 处理时间相同。麻醉过程中监测大鼠呼吸频率及体温, 维持体温(37 ± 0.5)℃。

1.5 Morris 水迷宫实验 于最后一次麻醉结束后 24 h 开始, 连续 5 天进行实验, 包括定位航行实验和空间探索实验。定位航行实验(第 1~4 天): 将水池分为 4 个象限, 平台置于目标象限(第 4 象限)水下 1 cm 处。每天从不同象限入水点将大鼠面向池壁放入水中, 记录 90 s 内找到平台的逃避潜伏期; 若 90 s 未找到平台, 引导其至平台停留 10 s, 潜伏期记为 90 s。每天每只大鼠训练 4 次, 取平均值。空间探索实验(第 5 天): 移除平台, 从平台对侧象限入水点放入大鼠, 记录 60 s 内穿越原平台位置的次数及在目标象限的停留时间。

1.6 样本采集及各指标检测方法

1.6.1 样本采集 行为学实验结束后 24 h, 各组大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛(3 mL/kg)麻醉, 断头取脑, 迅速分离海马组织, 一部分置于 4% 多聚甲醛中固定 24 h(用于后续病理检测), 另一部分立即放入液氮中冻存, 随后转移至-80℃冰箱保存(用于蛋白质印迹法检测)。

1.6.2 苏木素-伊红(HE)染色观察各组大鼠海马组织病理情况 取石蜡包埋的各组大鼠海

马组织,连续切片(厚度4 μm),脱蜡至水(二甲苯 I、II 各 10 min,梯度乙醇脱水)。苏木素染液染色 5 min,自来水冲洗后 1% 盐酸乙醇分化 30 s。伊红染液染色 2 min,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。光学显微镜下观察海马 CA1、CA3 和 DG 区神经元形态。

1.6.3 TUNEL 实验检测海马神经元凋亡 取石蜡包埋的各组海马组织,连续切片(厚度 4 μm)。脱蜡至水,3% H_2O_2 室温孵育 10 min 阻断内源性过氧化物酶,抗原修复后 5% 牛血清白蛋白(BSA)封闭 30 min。滴加 TUNEL 检测液,37 $^\circ\text{C}$ 避光孵育 1 h,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤后,4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)染核 5 min。荧光显微镜下观察,计数凋亡细胞(绿色荧光标记)与总细胞(蓝色荧光标记),计算凋亡率,每组至少观察 5 个视野。

1.6.4 酶联免疫吸附法(ELISA)检测海马组织神经元特异性醇化酶(NSE)、S-100 钙结合蛋白 β 亚型(S-100 β)水平 取海马组织,按 1:9 比例加入预冷 PBS(含 1% 蛋白酶抑制剂),冰上匀浆后 4 $^\circ\text{C}$ 、3 000 r/min,离心半径 8 cm,离心 10 min,取上清。采用 BCA 法检测蛋白浓度并调整至统一水平。严格按 NSE、S-100 β ELISA 试剂盒说明书操作:每孔加 100 μL 样本或标准品,37 $^\circ\text{C}$ 孵育 2 h;弃液洗板 3 次,加 100 μL 检测抗体,37 $^\circ\text{C}$ 孵育 1 h;洗板后加 100 μL 底物液,避光孵育 15 min;加终止液,用酶标仪测 450 nm 吸光度。

1.6.5 免疫组化实验检测海马组织 P25、p-GSK-3 β (Tyr216)表达 取 4% 多聚甲醛固定的海马组织,常规脱水、石蜡包埋后切片(厚度 4 μm)。脱蜡至水后,3% H_2O_2 室温孵育 10 min 阻断内源性过氧化物酶;抗原修复后 5% BSA 封闭 30 min。滴加一抗[P25、p-GSK-3 β (Tyr216)],4 $^\circ\text{C}$ 孵育过夜;PBS 洗 3 次,加二抗室温孵育 30 min;二胺基联苯胺(DAB)显色,苏木素复染,脱水透明后封片。显微镜下

观察,Image-Pro Plus 软件定量分析阳性细胞平均光密度值。

1.6.6 Western Blot 实验检测海马组织相关蛋白表达 取海马组织,按 100 mg 组织加 1 mL 含苯甲磺酰氟(PMSF)的放射免疫沉淀分析(RIPA)裂解液比例,冰上匀浆 10 min,4 $^\circ\text{C}$ 、12 000 r/min,离心半径 8 cm,离心 15 min,取上清液。采用 BCA 法测定蛋白浓度,调整各组蛋白浓度一致后,加入 5 $\times$ 上样缓冲液,95 $^\circ\text{C}$ 预变性 5 min。制备 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)凝胶,每孔上样 30 μg 蛋白,恒压电泳(浓缩胶 80 V,分离胶 120 V)。湿法转膜至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜,5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h。滴加一抗[GSK-3 β 、p-GSK-3 β (Tyr216)、CDK5、P25、tau、p-tau(Ser396)、B 细胞淋巴瘤(Bcl-2)、Bcl-2 相关蛋白(Bax)、 β -actin],4 $^\circ\text{C}$ 孵育过夜,TBST 洗膜 3 次(每次 10 min)。加入 HRP 标记二抗(1:5 000),室温孵育 1 h,洗膜后 ECL 显色。用 Image Lab 软件分析目的蛋白灰度值。

1.7 统计学方法 采用 SPSS26.0 统计学软件进行数据分析,计量资料符合正态分布以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA),组间两两比较采用 LSD- t 检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠认知功能比较 见图 1。与 Control 组比较,Sevo 组大鼠逃避潜伏期延长,穿越平台的次数减少,在目标象限的停留时间缩短;与 Sevo 组比较,Sevo+Rg1 组大鼠的逃避潜伏期缩短,穿越平台的次数增加,在目标象限的停留时间延长;与 Sevo+Rg1 组比较,Sevo+Rg1+SB 组大鼠逃避潜伏期延长,穿越平台的次数减少,在目标象限的停留时间缩短;以上差异均有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 各组大鼠海马组织病理情况比较 见图 2。

Control组大鼠海马组织CA1、CA3和DG区神经元细胞排列紧密、形态规则，细胞核清晰；Sevo组大鼠海马组织可见组织结构有所改变，细胞排列稍紊乱，部分细胞形态异常，细胞核

染色不均；Sevo+Rg1组相比Sevo组，组织结构有所改善，细胞排列相对整齐，细胞形态和细胞核状态有所恢复，而Sevo+Rg1+SB组能显著逆转Sevo+Rg1组的改善效果。

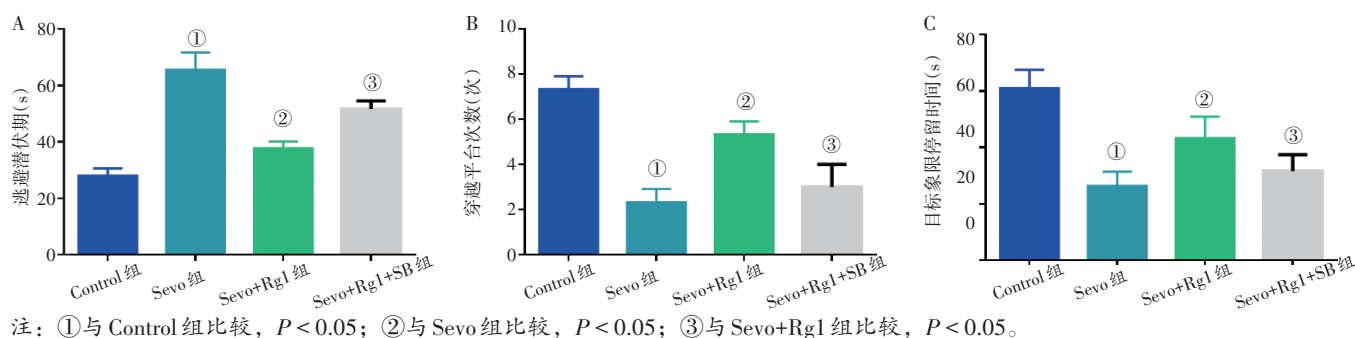


图1 各组大鼠认知功能比较

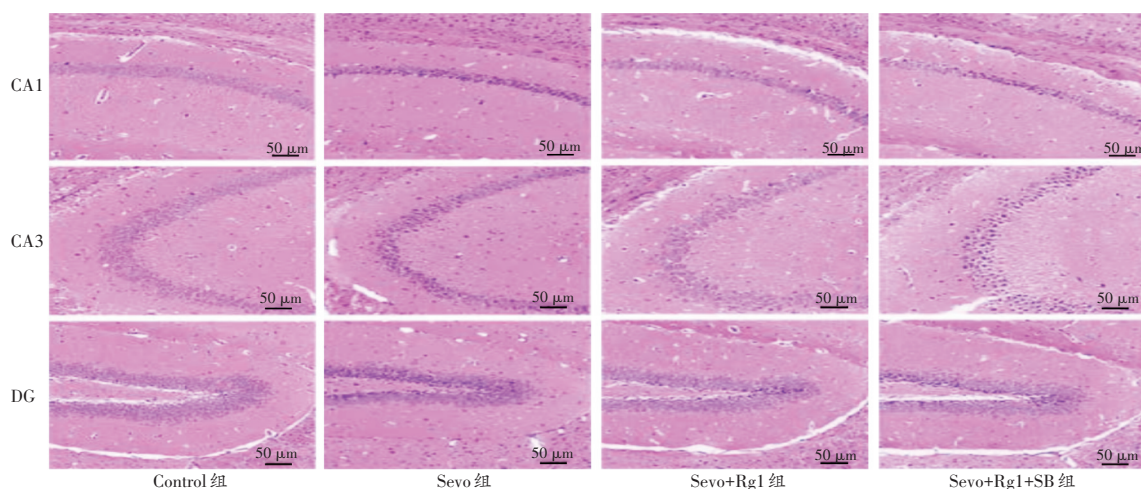


图2 各组大鼠海马组织病理HE染色图(×400)

2.3 各组大鼠大脑海马组织神经细胞凋亡情况比较 见图3。与Control组比较，Sevo组大鼠海马组织神经元细胞凋亡率显著增加；与Sevo组比较，Sevo+Rg1组大鼠海马组织神经元的凋亡率显著降低；与Sevo+Rg1组比较，Sevo+Rg1+SB组大鼠海马组织神经元细胞凋亡率显著增加；以上差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

2.4 各组大鼠海马组织NSE、S-100β水平比较 见图4。与Control组比较，Sevo组大鼠海马组织NSE、S-100β水平升高；与Sevo组比较，Sevo+Rg1组大鼠海马组织NSE、S-100β

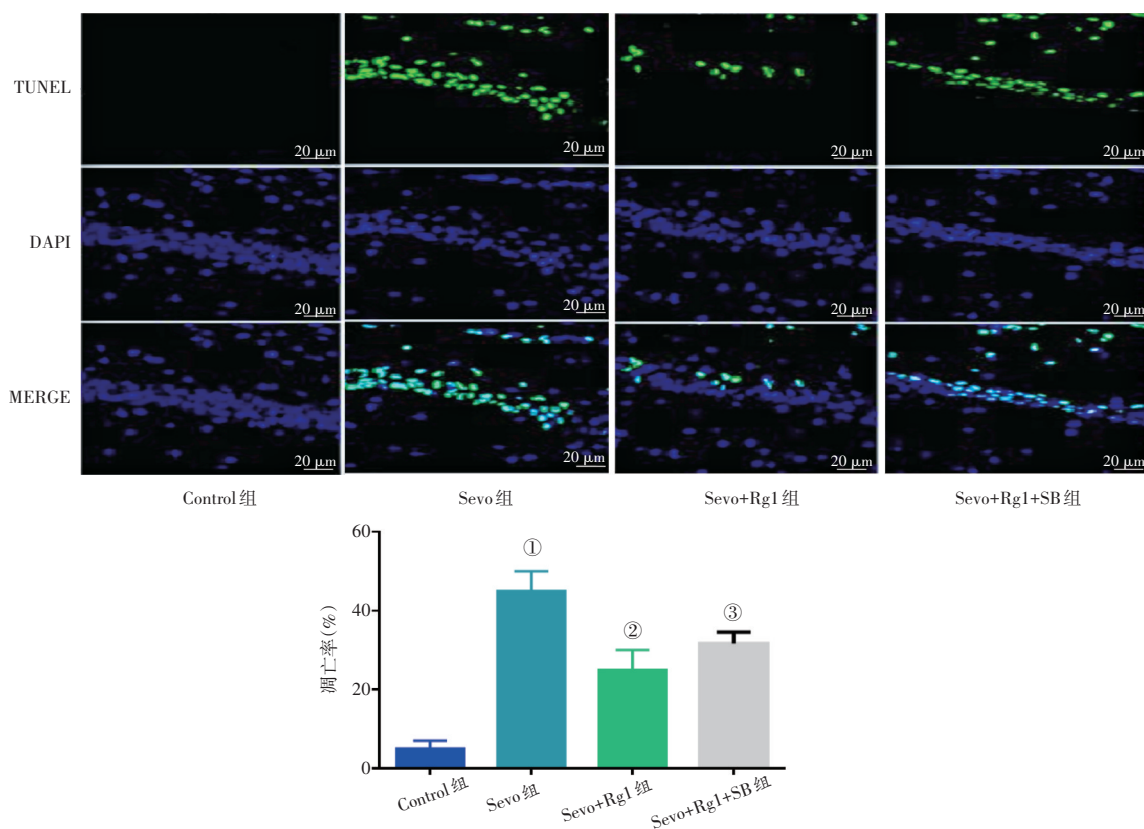
水平降低；与Sevo+Rg1组比较，Sevo+Rg1+SB组大鼠海马组织NSE、S-100β水平升高；以上差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

2.5 各组大鼠海马组织P25、p-GSK-3β(Tyr216)蛋白表达比较 见图5。免疫组化实验结果显示，与Control组比较，Sevo组大鼠海马组织P25、p-GSK-3β(Tyr216)蛋白表达水平升高；与Sevo组比较，Sevo+Rg1组大鼠海马组织P25、p-GSK-3β(Tyr216)蛋白表达水平降低；与Sevo+Rg1组比较，Sevo+Rg1+SB组大鼠海马组织P25、p-GSK-3β(Tyr216)蛋白表达水平升高；以上差异均有

统计学意义($P < 0.05$)。

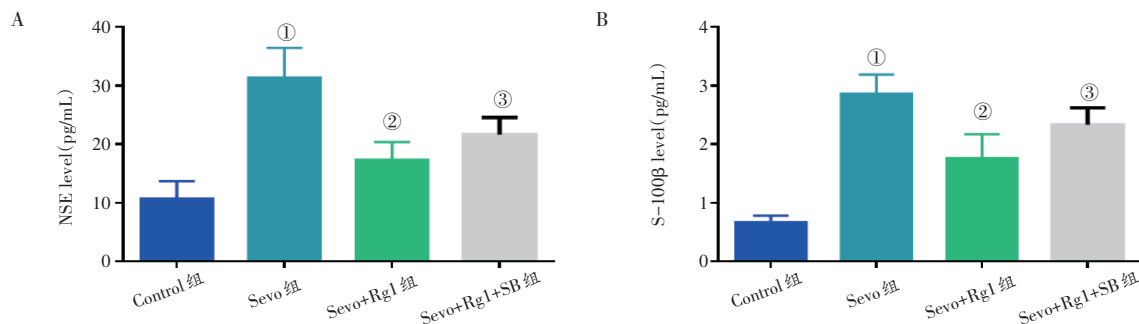
2.6 各组大鼠海马组织 Bax/Bcl-2、p-Tau(Ser396)、P25、Total-CDK5、p-GSK-3 β (Tyr216)蛋白表达比较 见图6。蛋白质印迹法检测结果显示,与Control组比较,Sevo组大鼠海马组织 Bax/Bcl-2、p-Tau(Ser396)、P25、p-GSK-3 β (Tyr216)蛋白表达水平均升高($P < 0.05$);与Sevo组比较,Sevo+Rg1组大

鼠海马组织 Bax/Bcl-2、p-Tau(Ser396)、P25、p-GSK-3 β (Tyr216)蛋白表达水平均降低($P < 0.05$);与Sevo+Rg1组比较,Sevo+Rg1+SB组大鼠海马组织 Bax/Bcl-2、p-Tau(Ser396)、P25、p-GSK-3 β (Tyr216)蛋白表达水平均升高($P < 0.05$)。各组 Total CDK5、Total-Tau、GSK-3 β 蛋白表达水平比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。



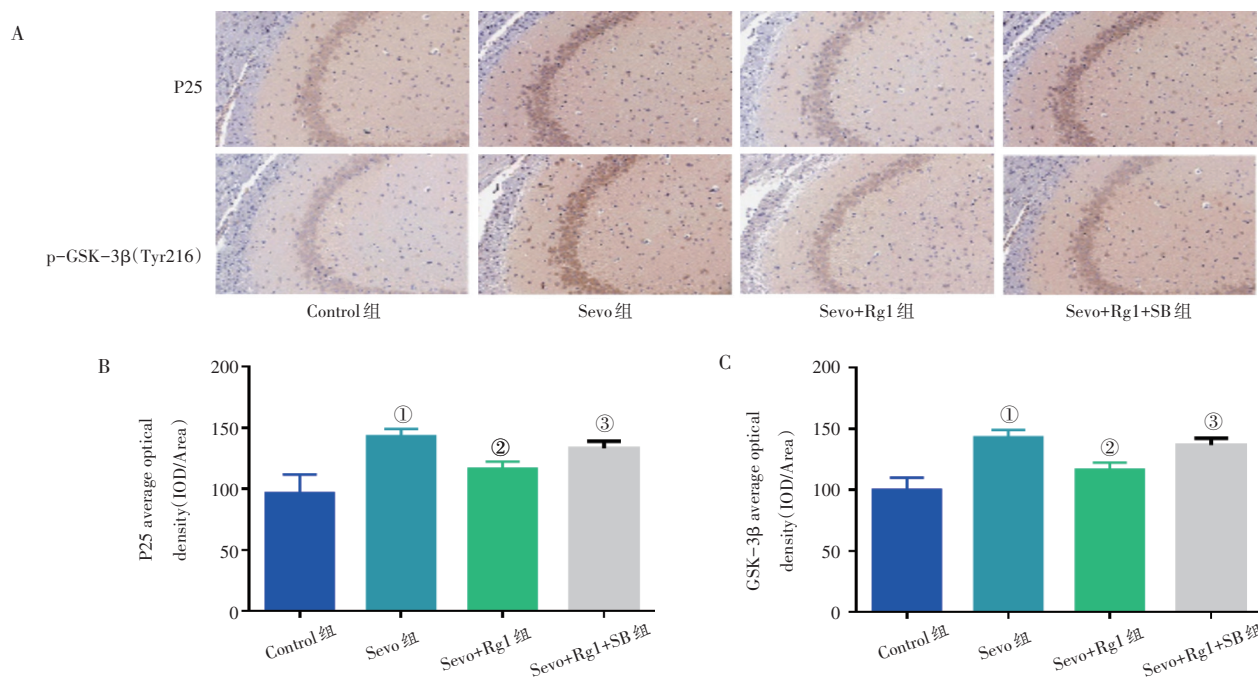
注: ①与Control组比较, $P < 0.05$; ②与Sevo组比较, $P < 0.05$; ③与Sevo+Rg1组比较, $P < 0.05$ 。

图3 各组大鼠海马组织神经元细胞凋亡情况比较



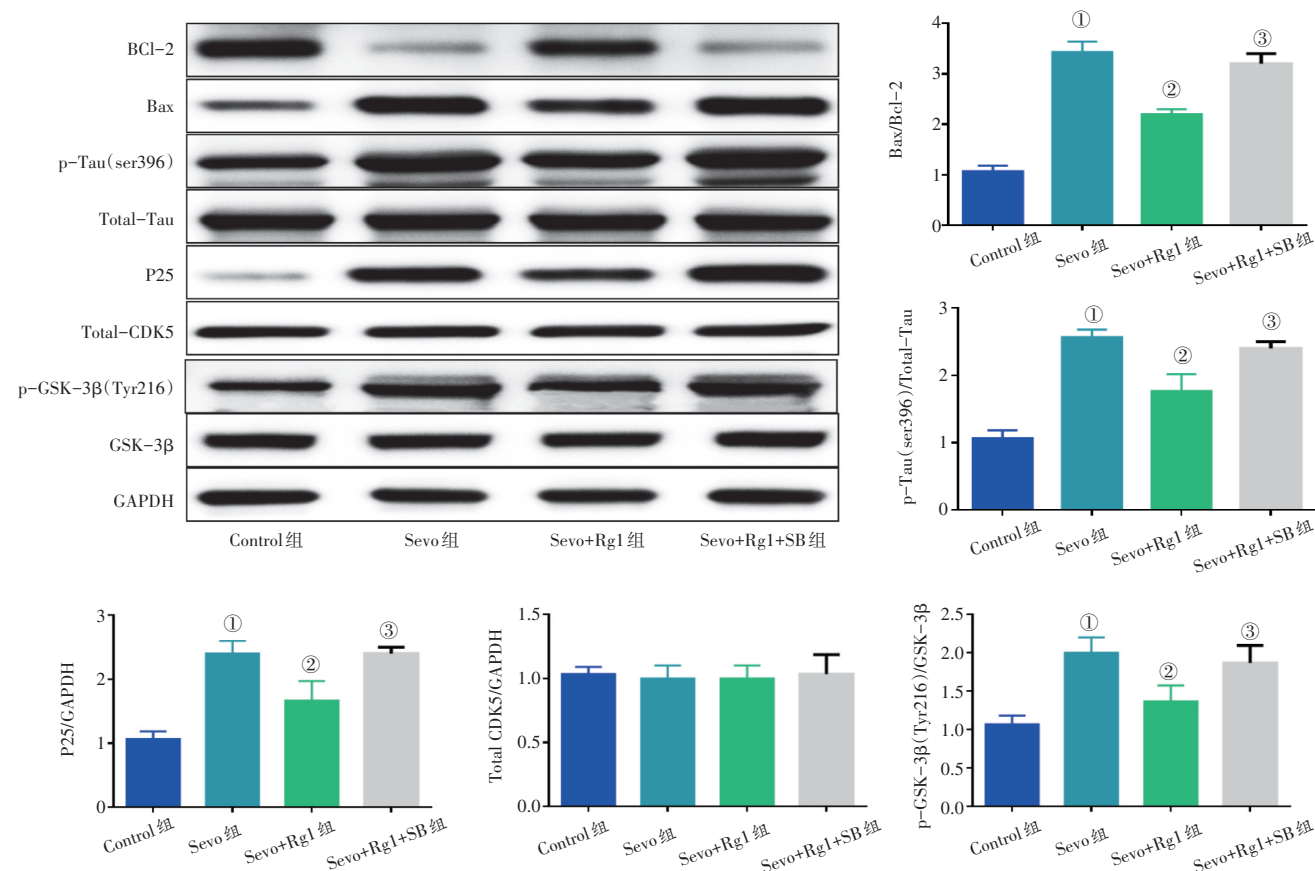
注: ①与Control组比较, $P < 0.05$; ②与Sevo组比较, $P < 0.05$; ③与Sevo+Rg1组比较, $P < 0.05$ 。

图4 各组大鼠海马组织NSE、S-100 β 水平比较



注：①与Control组比较， $P < 0.05$ ；②与Sevo组比较， $P < 0.05$ ；③与Sevo+Rg1组比较， $P < 0.05$ 。

图5 免疫组化实验检测各组大鼠海马组织P25、p-GSK-3β蛋白表达比较



注：①与Control组比较， $P < 0.05$ ；②与Sevo组比较， $P < 0.05$ ；③与Sevo+Rg1组比较， $P < 0.05$ 。

图6 蛋白印迹法检测各组大鼠海马组织Bax/Bcl-2、p-Tau(Ser396)、P25、Total-CDK5、p-GSK-3β(Tyr216)蛋白表达比较

3 讨论

七氟烷作为一种广泛应用的吸入麻醉药,因其诱导和苏醒迅速、呼吸道刺激性小等优点,在各类手术麻醉中占据重要地位,然而,随着人口老龄化和手术量的增加,以POCD为特征的并发症日益受到关注^[13]。本研究Sevo组大鼠在Morris水迷宫实验中表现出逃避潜伏期延长、穿越平台次数减少等认知功能损伤特征,与既往研究结果一致^[14]。研究表明,七氟烷可通过激活神经炎症反应、诱导氧化应激及破坏血脑屏障等多种途径导致认知功能障碍,而海马作为学习记忆的核心脑区,其神经元结构与功能的完整性对认知功能至关重要^[15]。本研究HE染色结果显示,七氟烷暴露导致大鼠海马CA1、CA3及DG区神经元排列紊乱、形态异常,同时TUNEL检测提示神经元凋亡率显著升高,这与七氟烷诱导的海马神经元毒性效应相符^[16]。此外,Sevo组大鼠海马组织中NSE和S-100 β 水平显著升高,进一步证实七氟烷可引发神经损伤,这两种标志物分别在神经元损伤和星形胶质细胞活化时释放,其水平变化可有效反映脑损伤程度^[17]。

Tau蛋白过度磷酸化是认知功能障碍的重要病理基础,本研究发现七氟烷暴露显著上调大鼠海马组织中p-tau(Ser396)的表达,该位点的磷酸化已被证实与微管解聚及神经纤维缠结形成密切相关^[18]。GSK-3 β 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,其活性受磷酸化状态严格调控:Tyr216位点磷酸化可激活GSK-3 β ,而Ser9位点磷酸化则抑制其活性^[19]。CDK5是一种非典型周期蛋白依赖性激酶,正常生理状态下与调节亚基P35结合,参与神经元迁移、突触形成等过程;而当P35被钙蛋白酶切割为稳定性更高的P25时,CDK5与P25结合并异常激活^[20]。GSK-3 β 和CDK5作为调控tau蛋白磷酸化(如

Ser396、Thr205位点)的关键激酶,在七氟烷诱导的认知损伤中可能发挥核心作用^[21]。本研究结果显示,Sevo组大鼠海马中p-GSK-3 β (Tyr216)和P25的表达显著增加,提示GSK-3 β 的激活和CDK5的异常活化。GSK-3 β 的Tyr216位点磷酸化是其激活的标志性事件,而P25作为CDK5的异常激活因子,可通过延长CDK5的激活时间导致tau蛋白过度磷酸化,这一过程在阿尔茨海默病模型中已被反复验证^[22-23]。此外,在细胞凋亡的分子调控网络中,Bax/Bcl-2比值变化直接反映细胞凋亡的活跃程度。Bcl-2作为抗凋亡蛋白,可通过稳定线粒体膜电位、抑制细胞色素c释放维持细胞存活;而Bax作为促凋亡蛋白,能与线粒体膜结合并形成孔道,促进促凋亡因子释放,启动半胱天冬酶级联反应^[24-25]。本研究Sevo组大鼠海马中Bax/Bcl-2比值升高,提示细胞凋亡通路被激活,这与TUNEL检测中神经元凋亡率升高的结果一致。进一步分析其机制,七氟烷诱导的GSK-3 β /CDK5通路异常激活,诱导tau蛋白过度磷酸化,导致Bax/Bcl-2失衡,这一失衡通过破坏神经元结构和功能,影响大脑的学习记忆相关神经通路,进而损害认知功能。

人参皂苷Rg1作为人参的主要活性成分,在神经系统疾病研究领域备受关注。研究表明,人参皂苷Rg1具有抗神经炎症、抗氧化应激、抗凋亡等多种神经保护特性^[26]。本研究Sevo+Rg1组大鼠的认知功能指标、海马神经元病理改变、神经损伤标志物水平及凋亡相关蛋白表达均较Sevo组显著改善,同时p-GSK-3 β (Tyr216)、P25和p-tau(Ser396)的表达水平显著降低,提示Rg1可能通过抑制GSK-3 β /CDK5信号通路减轻tau蛋白过度磷酸化。这一发现与Rg1在其他神经损伤模型中的作用机制相呼应^[27]。有研究发现Rg1可通过调

控磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)通路抑制GSK-3 β 活性,从而改善认知功能障碍^[28];另有研究表明Rg1可降低阿尔茨海默病模型小鼠脑内tau蛋白磷酸化水平^[29]。为进一步验证GSK-3 β /CDK5通路在Rg1神经保护作用中的核心地位,本研究引入GSK-3 β 特异性抑制剂SB216763,结果显示Sevo+Rg1+SB组大鼠的认知功能、神经元病理及tau蛋白磷酸化水平均较Sevo+Rg1组显著逆转,表明抑制GSK-3 β 可消除Rg1的保护效应,这进一步证实了Rg1的作用依赖于GSK-3 β /CDK5通路的活性调控。

综上,本研究结果显示,七氟烷可通过激活GSK-3 β /CDK5信号通路诱导tau蛋白过度磷酸化,进而引发海马神经元凋亡和认知功能障碍,而人参皂苷Rg1可通过抑制该信号通路改善上述病理过程。这一发现不仅揭示了七氟烷诱发POCD的新机制,还为Rg1在临床防治POCD中的应用提供了实验依据。

但本研究仍存在一定研究局限。首先,本研究中人参皂苷Rg1仅设置10 mg/kg单一干预剂量组,未开展剂量梯度筛选实验,无法明确其在该模型中发挥神经保护作用的量效关系,亦未能进一步确定最优干预剂量。其次,通路机制验证仅采用GSK-3 β 特异性抑制剂进行干预,未引入CDK5抑制剂开展单独或联合阻断实验,难以全面验证GSK-3 β 与CDK5在调控tau蛋白磷酸化过程中的协同作用,导致信号通路机制的论证体系不够完善。后续研究将增设人参皂苷Rg1剂量梯度,通过系统的剂量筛选实验明确其量效关系与最佳给药方案;同时补充CDK5抑制剂的干预实验,深入解析GSK-3 β 与CDK5的上下游调控关联及协同作用机制,进一步完善通路验证体系,为人参皂苷Rg1临床防治POCD提供更严谨的实验依据与理论支撑。

[参考文献]

- [1] YANG N S, ZHONG W J, SHA H X, et al. mtDNA-cGAS-STING axis-dependent NLRP3 inflammasome activation contributes to postoperative cognitive dysfunction induced by sevoflurane in mice[J]. *Int J Biol Sci*, 2024, 20(5): 1927-1946.
- [2] ZHOU Y, ZHANG Y, WANG H, et al. Microglial pyroptosis in hippocampus mediates sevoflurane-induced cognitive impairment in aged mice via ROS-NLRP3 inflammasome pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 116: 109725.
- [3] ZENG K, LONG J, LI Y, et al. Preventing postoperative cognitive dysfunction using anesthetic drugs in elderly patients undergoing noncardiac surgery: a systematic review and meta-analysis[J]. *Int J Surg*, 2023, 109(1): 21-31.
- [4] 王庆霞,周红梅,胡立. 丙泊酚复合七氟烷不同配伍麻醉对老年患者胃肠道肿瘤手术后认知功能及血清中枢神经特异性蛋白、神经元特异性烯醇化酶、兴奋性氨基酸水平的影响[J]. *中华实验外科杂志*, 2024, 41(8): 1827-1831.
- [5] ZHENG S, TENG Y, LIU H, et al. Syringaresinol attenuates Tau phosphorylation and ameliorates cognitive dysfunction induced by sevoflurane in aged rats[J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2024, 83(7): 596-605.
- [6] ZHU Y, ZHANG M, WANG J, et al. Lin28A Reduced Sevoflurane-Induced Nerve Injury and Cognitive Dysfunction by Inhibiting Tau Acetylation and Phosphorylation via Activating SIRT1 in Elderly Rats[J]. *Neurotox Res*, 2022, 40(6): 1913-1923.
- [7] YANG W, LIU Y, XU Q Q, et al. Sulforaphene Ameliorates Neuroinflammation and Hyperphosphorylated Tau Protein via Regulating the PI3K/Akt/GSK-3 β Pathway in Experimental Models of Alzheimer's Disease[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 4754195.
- [8] LIANG F, LI M, XU M, et al. Sevoflurane anaesthesia induces cognitive impairment in young mice through sequential tau phosphorylation[J]. *Br J Anaesth*, 2023, 131(4): 726-738.
- [9] HUANG Y, YANG D, LIAO S, et al. Ginsenoside Rg1 protects the blood-brain barrier and myelin sheath to prevent postoperative cognitive dysfunction in aged mice[J]. *Neuroreport*, 2024, 35(14): 925-935.
- [10] 刘颖,游平飞,程凤,等. 人参皂苷Rg1改善小鼠低温致认知功能损伤的作用机制研究[J]. *创伤与急危重病医学*, 2024, 12(5): 263-266.
- [11] 白雅林,方占海,丁晨哲,等. 人参皂苷Rg1调节miR-144-3p/FPR2/p38信号通路对实验性脑出血大鼠血脑屏障损伤和神经炎症的影响[J]. *中国免疫学杂志*, 2023, 39(12): 2534-2539.
- [12] 杜敏逸,刘毓和,吴新民. 反复吸入七氟烷对老年大鼠认知功能的影响[J]. *中华麻醉学杂志*, 2009, 29(3): 233-235.
- [13] 杨勇,陈仁军,葛建岭,等. 基于Wnt/ β -catenin信号通路研究

- 右美托咪定对七氟烷诱发认知功能损伤的保护作用[J]. 实用医学杂志, 2024, 40(15): 2063–2068.
- [14] CHAI G, WU J, FANG R, et al. Sevoflurane inhibits histone acetylation and contributes to cognitive dysfunction by enhancing the expression of ANP32A in aging mice[J]. Behav Brain Res, 2022, 431: 113949.
- [15] NIU Y, LIAO G, MIAO Z, et al. Role of Hippocampal Glutamatergic Synaptic Alterations in Sevoflurane-Induced Cognitive Dysfunction in Aged Mice[J]. CNS Neurosci Ther, 2024, 30(10): e70093.
- [16] WANG Y, WU D, LI D, et al. The role of PERK-eIF2alpha-ATF4-CHOP pathway in sevoflurane induced neuroapoptosis and cognitive dysfunction in aged mice[J]. Cell Signal, 2023, 110: 110841.
- [17] HUANG Y, YANG Y, YE C, et al. The m(6)A Reader YTHDF1 Improves Sevoflurane-Induced Neuronal Pyroptosis and Cognitive Dysfunction Through Augmenting CREB-BDNF Signaling[J]. Neurochem Res, 2023, 48(12): 3625–3638.
- [18] ZHU L, HOU X J, CHE X H, et al. Pseudoginsenoside-F11 attenuates cognitive dysfunction and tau phosphorylation in sporadic Alzheimer's disease rat model[J]. Acta Pharmacol Sin, 2021, 42(9): 1401–1408.
- [19] HE S, PENG W B, FU X J, et al. Deep Sea Water Alleviates Tau Phosphorylation and Cognitive Impairment via PI3K/Akt/GSK-3beta Pathway[J]. Mar Biotechnol (NY), 2022, 24(1): 68–81.
- [20] TANAKA T, OHASHI S, TAKASHIMA A, et al. Dendritic distribution of CDK5 mRNA and p35 mRNA, and a glutamate-responsive increase of CDK5/p25 complex contribute to tau hyperphosphorylation[J]. Biochim Biophys Acta Gen Subj, 2022, 1866(7): 130135.
- [21] LEI L, LUO Y, KANG D, et al. Gypenoside IX restores Akt/GSK-3beta pathway and alleviates Alzheimer's disease-like neuropathology and cognitive deficits[J]. Aging(Albany NY), 2023, 15(23): 14172–14191.
- [22] REQUEJO-AGUILAR R. Cdk5 and aberrant cell cycle activation at the core of neurodegeneration[J]. Neural Regen Res, 2023, 18(6): 1186–1190.
- [23] YANG W, XU Q Q, YUAN Q, et al. Sulforaphene, a CDK5 Inhibitor, attenuates cognitive deficits in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease via reducing Abeta Deposition, tau hyperphosphorylation and synaptic dysfunction[J]. Int Immunopharmacol, 2023, 114: 109504.
- [24] EL-GANAINY S O, SOLIMAN O A, GHAZY A A, et al. Intranasal Oxytocin Attenuates Cognitive Impairment, beta-Amyloid Burden and Tau Deposition in Female Rats with Alzheimer's Disease: Interplay of ERK1/2/GSK3beta/Caspase-3[J]. Neurochem Res, 2022, 47(8): 2345–2356.
- [25] 张琦, 李亚南, 尹春平, 等. 活性氧介导的线粒体途径细胞凋亡在多次七氟烷麻醉诱发新生大鼠远期认知功能障碍中的作用[J]. 中华麻醉学杂志, 2021, 41(10): 1212–1217.
- [26] WANG Y, WEI X, WANG H, et al. Ginsenoside Rg1 alleviates cognitive impairment in vascular dementia by modulating AduR-mediated cholinergic synapse and PI3K-AKT pathway[J]. Phytomedicine, 2025, 143: 156882.
- [27] SHEN F, WANG J, GAO F, et al. Ginsenoside Rg1 Prevents Cognitive Impairment and Hippocampal Neuronal Apoptosis in Experimental Vascular Dementia Mice by Promoting GPR30 Expression[J]. Neural Plast, 2021, 2021: 2412220.
- [28] ZHANG Y, ZHANG Z, WANG H, et al. Neuroprotective effect of ginsenoside Rg1 prevents cognitive impairment induced by isoflurane anesthesia in aged rats via antioxidant, anti-inflammatory and anti-apoptotic effects mediated by the PI3K/AKT/GSK-3beta pathway[J]. Mol Med Rep, 2016, 14(3): 2778–2784.
- [29] ZHANG H, SU Y, SUN Z, et al. Ginsenoside Rg1 alleviates Abeta deposition by inhibiting NADPH oxidase 2 activation in APP/PS1 mice[J]. J Ginseng Res, 2021, 45(6): 665–675.

[责任编辑: 钟志敏, 蒋维超(英文)]