

# 大鼠深低温停循环抑制 Akt 信号通路影响认知功能

刘金铎 高诗伦 时将 师恩祎 蒋璇 谷天祥

**【摘要】** 目的:探究大鼠深低温停循环(DHCA)术后脑损伤情况及作用机制。 方法:建立大鼠深低温停循环模型,16 只 SD 大鼠随机分成假手术组和 DHCA 组。再灌注 4 h 后 Western blot 法检测海马组织丝氨酸/苏氨酸激酶(Akt)、磷酸化丝氨酸/苏氨酸激酶(p-Akt)、B 淋巴细胞瘤/白血病-2(Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)和活化胱天蛋白酶-3(cleaved caspase-3)表达水平。HE 染色及尼氏染色评估术后第 7 天海马 CA1 区神经元损伤情况。Morris 水迷宫评价大鼠学习记忆、空间感知及运动能力。 结果:与假手术组相比,DHCA 组海马 CA1 区 p-Akt、Bcl-2 的蛋白表达水平降低,Bax、cleaved caspase-3 的蛋白表达水平升高( $P$  均 $<0.05$ ),两组 Akt 的蛋白表达水平无统计学差异。DHCA 组病理评分明显高于假手术组,正常神经细胞数量均明显低于假手术组,大鼠逃避潜伏期、跨越原平台次数及运动速度均明显弱于假手术组( $P$  均 $<0.05$ )。 结论:DHCA 通过抑制 Akt 信号通路介导神经细胞凋亡,对大鼠认知等功能造成损伤。

**【关键词】** 深低温停循环;认知功能;凋亡;丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2020.02.010

## Deep hypothermic circulatory arrest impairs cognitive function by inhibiting Akt signaling pathway in rats

LIU Jinduo, GAO Shilun, SHI Jiang, SHI Enyi, JIANG Xuan, GU Tianxiang Department of Cardiac Surgery, The First Hospital of China Medical University, Liaoning 110122, China

**【Abstract】 Objective:** To observe the brain injury after deep hypothermic circulatory arrest (DHCA) in rats, and to investigate the mechanism of it. **Methods:** A rat model of DHCA was established. Sixteen Sprague-Dawley rats were randomly divided into sham operation group (Sham group) and DHCA group. The expression of serine/threonine protein kinase (Akt), phosphorylation Akt (p-Akt), B-cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2), Bcl-2 associated X protein (bax) and cleaved cysteine aspartyl protease-3 (caspase-3) in hippocampus were detected by western blot analysis four hours after reperfusion. Hematoxylin-eosin (HE) staining and Nissl staining were used to evaluate the neuronal damage in hippocampal CA-1 sector on the 7th day after operation. Morris water maze was used to evaluate the learning, memorizing, space perception and exercise capacity in rats. **Results:** Compared with the Sham group, the expression of p-Akt and Bcl-2 in the hippocampus CA-1 sector of DHCA group was lower, while the expression of Bax and cleaved-caspase 3 was increased (all  $P<0.05$ ). And there was no statistically difference between the two groups in terms of the expression of Akt. The pathological score in the DHCA group was higher than that in the Sham group, while the number of survival neurons in the DHCA group was fewer than that in the Sham group. Comparing with the Sham group, in the DHCA group the escape latency was longer, and the times of crossing platform were shorter with slower movement (all  $P<0.05$ ). **Conclusions:** DHCA can mediate neuronal apoptosis by inhibiting Akt signaling pathway, and impair cognitive function in rats as result.

**【Key words】** Deep hypothermic circulatory arrest; Cognitive function; Apoptosis; Serine/threonine protein kinase

基金项目:国家自然科学基金(81770467)

作者单位:110122 沈阳,中国医科大学附属一院心脏外科

通信作者:谷天祥, E-mail: cmugtx@sina.com

深低温停循环(DHCA)作为心脏外科手术中的一项重要辅助方式,于1953年最早应用于成人心脏外科领域<sup>[1]</sup>。DHCA可为术者提供清晰视野,降低患者机体代谢率,延长缺血缺氧耐受时间,在主动脉弓部手术及复杂先天性心脏病的矫治手术中成为必不可少的辅助措施。近年来,随着DHCA技术的迅猛发展以及术者手术操作水平的提高,DHCA相关并发症的发生率及术后患者的死亡率明显下降。然而,脑神经系统并发症仍然是DHCA的严重并发症,DHCA辅助下半弓置换术新发脑血管事件的发生率为5.4%<sup>[2]</sup>,DHCA术后患者暂时性神经功能障碍的发生率高达25%<sup>[3]</sup>。DHCA心脏手术后12周内神经心理功能障碍的发生率更高可达55%<sup>[4]</sup>。本文通过建立大鼠DHCA模型,探究大鼠DHCA术后脑组织病理及认知功能等变化情况可能机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

成年雄性清洁级SD大鼠16只,体质量350~450 g。随机分为假手术组及DHCA组,每组8只。

### 1.2 DHCA模型构建

SD大鼠术前禁食12 h,应用1%戊巴比妥钠(50 mg/kg)通过腹腔注射麻醉。取颈部正中切口,用14G套管针经气管穿刺插管,连接呼吸机,调整呼吸频率在60~70次/min,潮气量2 mL/100 g,根据血气分析结果调整参数以维持 $\text{PaO}_2 > 60 \text{ mmHg}$ , $\text{PaCO}_2 30 \sim 50 \text{ mmHg}$ ,停循环期间暂停机械通气。左侧股部切开暴露股浅动脉,用24G静脉留置针穿刺置管,注射150 IU肝素抗凝,连接体外循环动脉灌注端。暴露右侧颈外静脉,用自制多孔14G套管针穿刺置管,连接体外循环静脉回流端。暴露右侧颈外动脉,用24G静脉留置针穿刺置管,连接多导生理监护仪监测生命体征,温度计润滑后插入大鼠肛门监测体温。

体外循环由储血器、小动物膜肺、蠕动泵、氧光源、硅胶管道、输液管、变温水箱组成。管道预充液:6%羟乙基淀粉8 mL、5%碳酸氢钠1 mL、肝素1 mL(100 IU/mL)<sup>[5]</sup>。管路自循环排气。体外循环30 min降温至18℃,停循环1 h,再灌注复温30 min使体温达到34℃,逐渐减少流量,停机撤除体外循环。继续机械通气至大鼠基本恢复正常自主呼吸,拔除气管插管,缝合各切口,置于富氧环境中观察。假手术组只进行插管操作,不进行体外循环及

DHCA。于体外循环前、降温20 min时、复温20 min时、停止体外循环前采集动脉血行血气分析。

### 1.3 Western blot法检测海马组织相关蛋白表达

再灌注4 h后,每组取4只SD大鼠处死,取脑组织保存于-80℃冰箱。分离出海马组织匀浆,采用BCA法进行蛋白定量,十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)后,转膜,孵育一抗过夜,孵育荧光二抗后分别检测两组海马组织中丝氨酸/苏氨酸激酶(Akt)、磷酸化Akt(p-Akt)、B淋巴细胞瘤/白血病-2(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)、活化胱天蛋白酶-3(cleaved caspase-3)的蛋白表达水平,以GAPDH为内参。

### 1.4 Morris水迷宫实验

每组取4只SD大鼠于术后第1天开始行Morris水迷宫实验,以评估空间学习记忆及运动功能。水迷宫由直径150 cm、高60 cm的圆形水池及相应摄像机和数据分析软件组成,向水池中注入适当清水,并加入墨汁使其呈不透明状态,将水池平均分为4个象限,每个象限内壁画有固定参照物,选择其中1个象限中央放入直径12 cm、高50 cm的黑色圆形平台,低于水面约2 cm,且保持位置不变<sup>[6]</sup>。水迷宫实验由两部分组成,术后第1天为预实验,选择一固定位置将大鼠放入水中,自由游泳120 s,使其适应环境并初步检验运动能力。术后第2~5天为定位航行实验,每天将大鼠面向池壁分别从4个不同象限参照物位置放入水中,记录大鼠找到隐藏平台的时间,该时间称为逃避潜伏期。如果找到平台,让其在平台上停留4 s,如果在120 s内未找到平台,则逃避潜伏期记为120 s,并由实验人员将其牵引至平台位置停留4 s。术后第6天为空间探索实验,撤去隐藏平台,任选同一象限,将大鼠面向池壁放入水中,记录其在120 s内跨越平台位置的次数及运动速度。

### 1.5 形态学检测海马组织病理损伤

每组取4只SD大鼠于术后第7天处死,经主动脉灌流后取完整脑组织于4%多聚甲醛中固定24 h,沿冠状面切取海马组织,经梯度乙醇脱水、二甲苯透明后石蜡包埋。制备成5 μm厚的石蜡切片用于HE染色及尼氏染色,光学显微镜下观察海马组织CA1区的病理形态学变化。HE染色后于400倍放大视野下观察异常细胞占总体的比例,病理学评分:0分=无损伤;1分=0%~12.5%损伤;2分=12.5%~25%损伤;3分=25%~50%损伤;

4 分=50%以上损伤<sup>[7]</sup>。尼氏染色后于 400 倍放大视野下计数存活神经元的个数。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 23.0 软件对数据进行统计学分析。计量资料以均数±标准差表示,符合正态分布的计量资料两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,偏态分布的计量资料采用秩和检验。逃避潜伏期组间比较采用两因素重复测量的方差分析。HE 染色病理学评分采用曼-惠特尼 *U* 检验。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组生理指标比较

DHCA 组 8 只大鼠均顺利脱离体外循环,并恢

复自主呼吸。各组生理指标如表 1 所示。两组大鼠术前体质量、平均动脉压、心率、体温、pH 值、PaO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub> 的差异无统计学意义。在降温及复温期间,DHCA 组的平均动脉压及心率低于假手术组(*P*均<0.05),在停机前,DHCA 组平均动脉压及心率仍低于假手术组(*P*均<0.05),可能因停循环对心功能产生影响,导致术后心率、血压未能立刻恢复至术前状态。在反映大鼠机体酸碱平衡的指标中,DHCA 组的 pH 值在降温及复温过程中均低于假手术组(*P*<0.05),呈现一定程度的酸中毒。DHCA 组 PaCO<sub>2</sub> 在体外循环期间低于假手术组(*P*均<0.05),停机前与假手术组无统计学差异。

表 1 假手术组与 DHCA 组大鼠生理指标比较

项目	假手术组	DHCA 组			
		体外循环前	降温 20min	复温 20 min	停机前
体质量/g	373.75±9.82	378.62±9.75			
平均动脉压/mmHg	76.00±4.04	76.25±4.06	43.00±3.07 <sup>(1)</sup>	50.50±2.93 <sup>(1)</sup>	65.13±3.31 <sup>(1)</sup>
心率/次·min <sup>-1</sup>	347.00±3.02	346.50±3.16	84.50±2.56 <sup>(1)</sup>	258.50±6.82 <sup>(1)</sup>	335.50±4.5 <sup>(1)</sup>
体温/℃	34.88±0.32	34.81±0.42	21.59±0.45 <sup>(1)</sup>	28.69±0.35 <sup>(1)</sup>	34.44±0.18 <sup>(1)</sup>
pH 值	7.44±0.04	7.45±0.04	7.32±0.02 <sup>(1)</sup>	7.29±0.02 <sup>(1)</sup>	7.39±0.04 <sup>(1)</sup>
PaO <sub>2</sub> /mmHg	135.25±8.01	134.00±8.28	262.75±21.28 <sup>(1)</sup>	187.00±9.29 <sup>(1)</sup>	169.88±11.83 <sup>(1)</sup>
PaCO <sub>2</sub> /mmHg	40.75±3.96	39.88±3.04	33.50±2.67 <sup>(1)</sup>	35.88±2.53 <sup>(1)</sup>	39.75±3.77

注:与假手术组比较,<sup>(1)</sup>*P*<0.05

2.2 两组海马组织相关蛋白表达水平的比较

在大鼠海马组织中,DHCA 组与假手术组 Akt 的蛋白表达水平无统计学差异,DHCA 组 p-Akt 蛋白表达水平、p-Akt/Akt 的比值较假手术组明显降低(*P*均<0.05)。DHCA 组抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达水平明显低于假手术组,促凋亡蛋白 Bax、cleaved caspase-3 的表达水平明显高于假手术组(*P*均<0.05)。见图 1、表 2。

2.3 两组 Morris 水迷宫结果比较

在定位航行实验的第 1、2、4 天,假手术组的逃避潜伏期均小于 DHCA 组(*P*均<0.05),第 3 天两组的逃避潜伏期无统计学差异。经过 4 d 的训练,两组第 4 天的逃避潜伏期均小于第 1 天(*P*均<0.05),假手术组第 4 天与第 1 天的差异较 DHCA 组更明显。空间探索实验中,DHCA 组大鼠跨越原有平台位置的次数较假手术组明显减少,运动速度明显低于假手术组(*P*均<0.05)。见表 3。

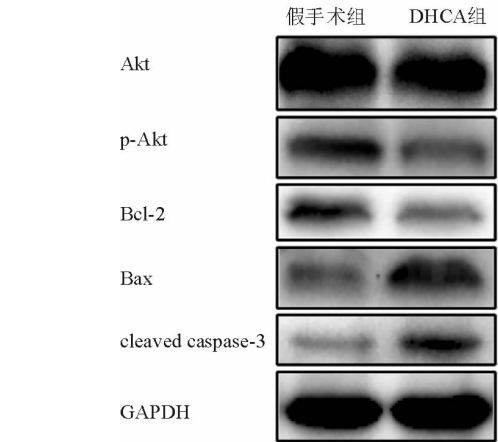


图 1 Western blot 检测两组大鼠海马组织相关蛋白表达情况

表 2 两组大鼠海马组织相关蛋白表达水平比较

蛋白	假手术组( <i>n</i> =4)	DHCA 组( <i>n</i> =4)
p-Akt/Akt	0.64±0.07	0.42±0.03 <sup>(1)</sup>
Bcl-2	0.79±0.08	0.48±0.05 <sup>(1)</sup>
Bax	0.46±0.09	0.81±0.08 <sup>(1)</sup>
cleaved caspase-3	0.32±0.07	0.60±0.13 <sup>(1)</sup>

注:与假手术组相比,<sup>(1)</sup>*P*<0.05

表 3 两组大鼠 Morris 水迷宫结果比较

项目	假手术组(n=4)	DHCA 组(n=4)
逃避潜伏期/s		
第 1 天	89.91±2.91	115.68±2.20 <sup>(1)</sup>
第 2 天	80.52±2.18	102.93±11.57 <sup>(1)</sup>
第 3 天	60.53±4.57	85.89±20.49
第 4 天	38.54±3.71	70.65±9.48 <sup>(1)</sup>
跨越原平台次数/次	10.25±1.50	3.00±0.82 <sup>(1)</sup>
运动速度/cm·s <sup>-1</sup>	18.94±2.77	12.72±2.78 <sup>(1)</sup>

注:与假手术组相比,<sup>(1)</sup>*P*<0.05

2.4 两组形态学结果比较

术后第 7 天对两组大鼠的脑组织海马 CA1 区进行组织病理学评估。HE 染色可见假手术组的神

经细胞形态正常,细胞核形态清晰,细胞膜及胞浆结构完整;DHCA 组部分神经元胞体肿胀,海马 CA1 区神经细胞呈现病理改变,主要包括核固缩、三角形形态、神经细胞皱缩、嗜酸细胞浆变化等,正常神经细胞比例低于假手术组,病理评分明显高于假手术组[(2.50±0.58)分对(0.50±0.58)分,*P*<0.05]。两组大鼠海马 CA1 区尼氏染色结果显示,假手术组海马神经细胞排列整齐,细胞形态及层次清晰,尼氏体染色较深、分布均匀;DHCA 组细胞排列紊乱,尼氏体淡染,正常神经细胞数目明显少于假手术组[(48.25±3.50)个对(68.25±2.63)个,*P*<0.05]。见图 2。

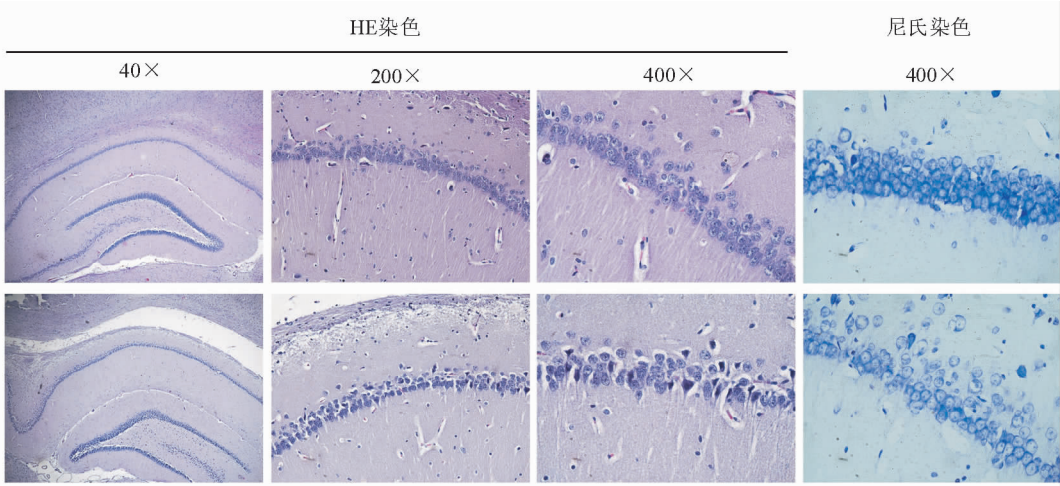


图 2 两组大鼠海马 CA1 区 HE 染色、尼氏染色结果

3 讨论

本研究通过建立大鼠 DHCA 模型评估术后脑损伤,在大鼠损伤程度最轻的情况下还原手术中 DHCA 的降温、停循环、复温过程,以减少其他因素对大鼠脑组织的影响。DHCA 脑损伤本质上是一种全脑的缺血再灌注损伤,海马是对缺血较敏感的区域<sup>[8]</sup>。本研究发现,在 DHCA 组大鼠中,显微镜下可见海马 CA1 区部分神经细胞出现病理形态学改变,正常神经细胞数目少于假手术组,提示 DHCA 对大鼠脑组织造成了损伤。

研究表明,低温可降低脑组织的氧消耗,相对减轻脑组织的能量消耗,DHCA 后脑神经元坏死并非主要病理改变,线粒体功能障碍和其触发的神经元凋亡才是脑缺血再灌注损伤的主要机制<sup>[9]</sup>。凋亡是细胞为维持内环境稳定而发生的程序性死亡,但凋亡过多则是病理现象,可引起持续性脑损伤,海马回、齿状回神经元凋亡与创伤后的认知缺陷、行为改变关系密切<sup>[10]</sup>。Bcl-2 家族在细胞凋亡中起重

要作用<sup>[11]</sup>,其成员包括抗凋亡因子 Bcl-2、Bcl-xL 和促凋亡因子 Bax、Bad、Bid<sup>[12]</sup>,Bcl-2 与 Bax 的相对平衡与细胞的凋亡和存活密切相关<sup>[13]</sup>,Bcl-2 通过抑制细胞凋亡促进细胞存活,Bax 则诱导细胞凋亡。下调 Bax/Bcl-2 的比值可以抑制脑缺血所致海马神经元损失,并提高认知功能<sup>[14]</sup>。Bax 可能是 Bcl-2 家族中最重要的促凋亡因子,Bax 与 Bcl-2 结合后形成的异二聚体是发挥 Bcl-2 抗凋亡作用的关键。Caspase 是导致细胞凋亡的蛋白酶家族,作为凋亡的执行者发挥重要作用<sup>[15]</sup>。脑缺血后,caspase-9 可激活线粒体介导的神经细胞凋亡<sup>[16]</sup>,在死亡受体介导的凋亡通路中,caspase-8 被激活<sup>[17]</sup>。二者均可使 caspase-3 前体裂解,产生具有活性的 caspase-3 片段,进而促进 DNA 修复蛋白、细胞骨架蛋白等裂解,最终导致细胞凋亡。本研究中,DHCA 组大鼠经过脑缺血再灌注损伤,海马中的 Bcl-2 蛋白表达减少,Bax 及 cleaved caspase-3 蛋白表达增加,提示 DHCA 组大鼠抗凋亡能力下降,DHCA 通过诱导细

胞凋亡引发脑损伤。

磷酸肌醇 3-激酶(PI3K)/Akt 信号通路与脑缺血再灌注损伤中的神经细胞凋亡密切相关。Akt 处于该信号通路的核心位置,介导多种生物学效应,是重要的抗凋亡调节因子<sup>[18]</sup>。Akt 磷酸化后成为 p-Akt,通过多条信号通路抑制细胞凋亡,促进细胞存活<sup>[19]</sup>。在脑神经系统中,p-Akt 可作用于下游的 Bcl-2 家族<sup>[20-21]</sup>、caspase 家族<sup>[22-23]</sup>等与凋亡直接相关的因子,使其磷酸化并失去活性,进而促使抗凋亡基因转录和表达,促进细胞存活。本研究中,DHCA 组海马组织中 p-Akt/Akt 减少,提示大鼠经过 DHCA 后,抗凋亡调节因子 p-Akt 表达减少,抗凋亡能力下降,进而加重术后神经细胞凋亡,引起脑损伤。p-Akt 表达的变化趋势与上述 Bcl-2、Bax、cleaved caspase-3 蛋白表达的变化趋势相对应,进一步说明 DHCA 通过 Akt 信号通路影响下游相关靶蛋白的表达,促使神经细胞凋亡,引起脑损伤。

记忆学习功能是大脑的高级功能之一,认知及学习能力下降是脑损伤的重要标志,而海马组织在学习、记忆、空间感知中发挥着极其重要的作用<sup>[24]</sup>。本研究利用 DHCA 对海马组织造成缺血再灌注损伤,采用 Morris 水迷宫测试大鼠在 DHCA 术后的学习记忆及空间感知功能。研究发现,DHCA 组大鼠的逃避潜伏期延长,说明 DHCA 组大鼠在学习记忆方面存在缺陷,有一定程度的损伤。在最后一天的空间探索实验中,DHCA 组大鼠经过原有平台的次数明显减少,运动速度下降,说明 DHCA 对大鼠的空间感知能力、运动能力有一定影响。

综上所述,本研究证实神经细胞凋亡是 DHCA 缺血再灌注后脑损伤的主要机制,DHCA 可能通过抑制 p-Akt,影响下游凋亡相关因子的表达,从而对大鼠的学习记忆、空间感知、运动能力造成损伤。增加 p-Akt 的表达可能抑制神经细胞凋亡,对 DHCA 的脑损伤产生保护作用。

### 参 考 文 献

- [1] Griep RB, Stinson EB, Hollingsworth JF, et al. Prosthetic replacement of the aortic arch[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 1975, 70(6):1051-1063.
- [2] Kaneko T, Aranki SF, Neely RC, et al. Is there a need for adjunct cerebral protection in conjunction with deep hypothermic circulatory arrest during noncomplex hemiarch surgery?[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2014, 148(6):2911-2917.
- [3] Ergin MA, Uysal S, Reich DL, et al. Temporary neurological dysfunction after deep hypothermic circulatory

- arrest: a clinical marker of long-term functional deficit[J]. Ann Thorac Surg, 1999, 67(6):1887-1890.
- [4] Harrington DK, Bonser M, Moss A, et al. Neuropsychometric outcome following aortic arch surgery: a prospective randomized trial of retrograde cerebral perfusion [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2003, 126(3):638-644.
- [5] Jiang X, Gu T, Liu Y, et al. A novel augmented venous-drainage model of cardiopulmonary bypass for deep hypothermic circulatory arrest without blood priming [J]. Perfusion, 2018, 33(4):297-302.
- [6] Morris RG. Synaptic plasticity and learning: selective impairment of learning rats and blockade of long-term potentiation in vivo by the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist AP5[J]. J Neurosci, 1989, 9(9):3040-3057.
- [7] Shen L, Wang J, Liu K, et al. Hydrogen-rich saline is cerebroprotective in a rat model of deep hypothermic circulatory arrest [J]. Neurochem Res, 2011, 36(8): 1501-1511.
- [8] Zhang X, Xue X, Zhao J, et al. Diosgenin attenuates the brain injury induced by transient focal cerebral ischemia-reperfusion in rats[J]. Steroids, 2016, 113:103-112.
- [9] Li P, Gu T, Wang C, et al. Neuregulin 1 attenuates neuronal apoptosis induced by deep hypothermic circulatory arrest through ErbB4 signaling in rats [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2015, 66(6):551-557.
- [10] Colicos MA, Dash PK. Apoptotic morphology of dentate gyrus granule cells following experimental cortical impact injury in rats: possible role in spatial memory deficits[J]. Brain Res, 1996, 739(1/2):120-131.
- [11] Tsujimoto Y. Bcl-2 family of proteins: Life-or-death Switch in mitochondria[J]. Biosci Rep, 2002, 22(1):47-58.
- [12] Murphy KM, Streips UN, Lock RB. Bcl-2 inhibits a Fas-induced conformational change in the Bax N terminus and Bax mitochondrial translocation [J]. J Biol Chem, 2000, 275(23):17225-17228.
- [13] Wei R, Zhang R, Xie Y, et al. Hydrogen suppresses hypoxia/Reoxygenation-Induced cell death in hippocampal neurons through reducing oxidative stress[J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 36(2):585-598.
- [14] Ji HJ, Hu JF, Wang YH, et al. Osthole improves chronic cerebral hypoperfusion induced cognitive deficits and neuronal damage in hippocampus[J]. Eur J Pharmacol, 2010, 636(1/3):96-101.
- [15] McIlwain DR, Berger T, Mak TW. Caspase functions in cell death and disease[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2015, 7(4):a026716.
- [16] Mehta SL, Manhas N, Raghubir R. Molecular targets in cerebral ischemia for developing novel therapeutics[J]. Brain Res Rev, 2007, 54(1):34-66.
- [17] Sugawara T, Fujimura M, Noshita N, et al. Neuronal death/survival signaling pathways in cerebral ischemia[J]. NeuroRx, 2004, 1(1):17-25.

- [18] Song G, Ouyang G, Bao S. The activation of Akt/PKB signaling pathway and cell survival[J]. J Cell Mol Med, 2005, 9(1):59-71.
- [19] Beaulieu JM, Sotnikova TD, Yao WD, et al. Lithium antagonizes dopamine-dependent behaviors mediated by an AKT/glycogen synthase kinase 3 signaling cascade[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(14):5099-5104.
- [20] Kim SY, Yoo SJ, Ronnett GV, et al. Odorant stimulation promotes survival of rodent olfactory receptor neurons via PI3K/Akt activation and Bcl-2 expression[J]. Mol Cells, 2015, 38(6):535-539.
- [21] Liang K, Ye Y, Wang Y, et al. Formononetin mediates neuroprotection against cerebral ischemia/reperfusion in rats via downregulation of the Bax/Bcl-2 ratio and upregulation PI3K/Akt signaling pathway[J]. J Neurol Sci, 2014, 344(1/2):100-104.
- [22] Zhang M, Yan H, Li S, et al. Rosmarinic acid protects rat hippocampal neurons from cerebral ischemia/reperfusion injury via the Akt/JNK3/caspase-3 signaling pathway[J]. Brain Res, 2017, 1657:9-15.
- [23] Chu J, Lauretti E, Praticò D. Caspase-3-dependent cleavage of Akt modulates tau phosphorylation via GSK3 $\beta$  kinase: implications for Alzheimer's disease[J]. Mol Psychiatry, 2017, 22(7):1002-1008.
- [24] Zahedi M, Hojjati MR, Fathpour H, et al. Effect of rheum ribes hydro-alcoholic extract on memory impairments in rat model of alzheimer's disease[J]. Iran J Pharm Res, 2015, 14(4):1197-1206.

(收稿:2019-05-18 修回:2019-12-10)

(本文编辑:胡晓静)



欢迎关注《国际心血管病杂志》公众号!