

# Progress in Investigating Pathways Related to Delayed Encephalopathy from Carbon Monoxide Poisoning

Siqin Bao<sup>1</sup> Baojun Wang<sup>2\*</sup>

1. Baotou Clinical Medical College, Inner Mongolia Medical University, Baotou, Inner Mongolia, 014040, China

2. Department of Neurology, Baotou Central Hospital, Baotou, Inner Mongolia, 014040, China

## Abstract

Late-onset encephalopathy (delayed encephalopathy after acute carbon monoxide poisoning, DEACMP) after acute CO poisoning has become a life-threatening extreme situation, the cause of the disease and its influencing factors are very complex, the disease duration is long, and the current treatment method is still unable to effectively control the condition. Activation and release of various factors that can affect the pathogenesis of DEACMP, The most prominent are P2Y (G protein coupled metabolism), Rho related coiled coil protein kinase 2 (ROCK 2), nuclear transcription factor 2 (nuclear transcription factor 2), heme oxygenase 1 (heme oxygenase 1), nuclear transcription factor- $\kappa$ B-matrix metalloproteinase-9, nuclear factor- $\kappa$ B / neural nitric oxide synthase, mitogen-activated protein kinase-c-Jun amino terminal kinase, TAM-Toll-like receptor, and a range of other factors. This paper aims to deeply explore the pathogenesis of DEACMP and relieve the financial pressure of patients and their loved ones.

## Keywords

acute carbon monoxide poisoning delayed encephalopathy; P2Y receptor; Rho related coiled coil protein kinase 2; nuclear transcription factor 2; heme oxygenase 1 nuclear transcription factor- $\kappa$ B

## 一氧化碳中毒迟发性脑病相关通路的研究进展

包斯琴<sup>1</sup> 王宝军<sup>2\*</sup>

1. 内蒙古医科大学包头临床医学院, 中国·内蒙古 包头 014040

2. 包头市中心医院神经内科, 中国·内蒙古 包头 014040

## 摘要

急性CO中毒后迟发性脑病 (delayed encephalopathy after acute carbon monoxide poisoning, DEACMP) 已成为一种危及生命的极端情况, 其发病原因及其影响因素十分复杂, 病情持续时间较长, 而目前的治疗方法仍然无法有效控制病情。激活和释放的各种因子可以影响DEACMP的发病过程, 其中最为显著的是P2Y (G蛋白偶联代谢性)、Rho相关卷曲螺旋蛋白激酶2 (ROCK2)、核转录因子2 (nuclear transcription factor 2)、血红素氧合酶1 (heme oxygenase 1)、核转录因子- $\kappa$ B-基质金属蛋白酶-9、核因子- $\kappa$ B/神经型一氧化氮合酶、丝裂原活化蛋白激酶-c-Jun氨基末端激酶、TAM-Toll-like受体以及其他一系列因子。论文旨在深入探讨DEACMP的发病通路做出系统性的分析, 并缓解患者及其亲人的经济压力。

## 关键词

急性一氧化碳中毒迟发性脑病; P2Y受体; Rho相关卷曲螺旋蛋白激酶2; 核转录因子2; 血红素氧合酶1核转录因子- $\kappa$ B

## 1 引言

急性一氧化碳中毒已成为全球范围内中毒造成死亡的首要缘由。DEACMP是指由吸入一氧化碳惹起的急性昏迷, 通过及时抢救医治, 部分患者中毒症状缓解、认知逐步恢复, 在2~60天的“潜伏期”后出现主要与神经系统功能障碍及帕金森综合征的一系列脑病症状<sup>[1]</sup>。至今, DEACMP的机理仍然是一个谜, 目前的观点基本上可以归纳为几种机理:

【作者简介】包斯琴 (1997-), 女, 蒙古族, 中国内蒙古兴安盟人, 硕士, 从事神经病学研究。

【通讯作者】王宝军 (1964-), 男, 中国内蒙古包头人, 博士, 主任医师, 从事脑血管病研究。

缺血性和缺氧性; 细菌坏死和自噬学说; 免疫损伤机理; 兴奋性氨基酸机理; TAU蛋白磷酸化机理; 胆碱能系统机制; 神经营养因子机理。近年来, 越来越多的研究表明, 许多信号传导途径的激活和炎性因子的释放可能是DEACMP的发生机制, 论文对DEACMP的有关信息作出全面的概括和综述<sup>[2]</sup>。

## 2 P2Y受体信号通路

P2Y受体作为一种重要的生物学受体, 其功能主要表现为激活星形胶质细胞, 从而引发一系列的后续反应, 可能诱导下游的一系列反应<sup>[3]</sup>。在中枢神经系统受到缺血应激的情况下, ATP的水平会升高, 从而激发P2受体的/蛋白激酶, 从而引发胶质细胞的晚期变化, 从而影响脑部的功能

和行为。这个信号可以激活星形胶质细胞内的 P2Y2 受体, 从而促进内质网的 IP3 受体的活性, 从而将 Ca<sup>2+</sup> 信号传递至细胞质, 导致 Ca<sup>2+</sup> 释放到细胞质中导致 Ca<sup>2+</sup> 信号上调<sup>[4]</sup>。通过 PPADS 早期阻断 P2Y 受体, 我们发现这种方法对于恢复长期存在的大脑动脉阻塞 (MCAO) 患者的神经元联系是非常有效的。这种方法不仅能够防止神经元损伤, 还能够缓解星形胶质细胞的损伤, 从而降低患者的梗死程度。最近的研究表明, P2Y 受体拮抗剂具有显著的疗效, 尤其是对于受到创伤的大鼠而言, 它能够显著减少神经元的流逝, 从而提高其空间记忆能力。经过大量的研究表明, P2Y 介导的星形胶质细胞具备潜在的抗血栓性疾病的能力, 并且能够为临床治疗带来新的思路 and 选择。

### 3 Rho/ROCK2 信号通路

RhoA 是一种小型的 GTP 酶蛋白, 它可以调控肌动蛋白骨架的重建、细胞的黏附、转运以至细胞的分化, DEACMP 的发病机制与 Rho/ROCK 通路的激活有关<sup>[5]</sup>, Y-27632 可能是治疗 DEACMP 诱导的脑损伤的潜在有效药<sup>[6]</sup>。RhoA 是一种小型的 GTP 酶蛋白, 它能够调节肌动蛋白细胞的骨架结构, 促进细胞的粘附、迁移以及细胞的分化, 因此具有重要的生物学意义。ROCK2 是 RhoA 的下游效应子, 研究发现, ROCK2 信号通路与多发性硬化症 (MS)、实验性自身免疫性脑脊髓炎 (EAE) 以及其他与此相关的自身免疫性中枢神经系统疾病有关<sup>[7]</sup>。未来应该加强对 Rho/ROCK 信号通路抑制剂的临床前和临床研究, 以实现该信号通路在神经可塑性调控和疾病治疗中的潜在应用。

### 4 Nrf2/HO-1 信号通路

Nrf2/HO-1 作为一种重要的转录因子, 其相应的蛋白质的比例介于  $6.6 \times 10^4$  之间, 其特殊的碱性亮氨酸拉链构造使其能够稳定地存在于细胞内, 并且其表达的程度与 keap1 的表达密切相关, 其半衰期也较短。Nrf2 遗传具有较强的遗传稳定性, 其中包括 6 个环氧丙氨酸 (EHC) 遗传同源结构域, 其中 Neh1 区拥有 1 个 bZ-IP 构造域, 它能够与 sMaf 蛋白构成双向的双环, 这样就可以检测到 ARE 上的相关序列, 进而激活后续的基因表达; Nrf2 可以调节多个靶基因。这些酶可以有效地抑制氧化应激、抗衰老和抗肿瘤等生物学反应。最近几年, DEACMP 的研究表明, Nrf2 通路具备多种功效, 它们可以协助多种损害机制的正常运行, 因此, 它们可期待地成为未来 DEACMP 治疗的核心目标, 本研究通过探讨 Nrf2 蛋白在 DEACMP 发病过程中的作用, 使其病理机制进一步明朗化, 力求为临床减少 DEACMP 的发生和研究其靶向治疗提供一定的基础和方向。

### 5 NF- $\kappa$ B-MMP-9

NF- $\kappa$ B 是一种快反应转录因子, 参与正常的免疫反应, 炎症反应, 可参与细胞凋亡、突触重塑等<sup>[8]</sup>。“ $\kappa$ ”是“P50/P65”的异源的两个聚体, 以无活性复合物的方式存在于静息细胞的中<sup>[9]</sup>。PDTC 是一个强大的抗氧化剂, 能够

特异性地抑制多巴胺 - 多巴酚 (NF- $\kappa$ B) 的活力。这种酶是一种内源性酶, 已有研究表明, MMP9 基因及蛋白过度表达, 进而发生神经系统疾病, 如癫痫、中风等<sup>[10]</sup>。由此发现 NF- $\kappa$ B 及其下游因子 MMP9 参与 DEACMP 发生, 在染毒早期起保护作用, 过量表达时产生损害作用, 在本课题中, 为未来研究 DEACMP 的临床应用带来了重要的科学参考, 指引着未来的发展。但这种抑制作用却明显地影响到 DEACMP 大鼠的认知活动, 从而为未来研究 DEACMP 的临床应用带来了重要的科学参考, 指引着未来的发展。

### 6 MAPKs-JNK

丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 属于丝氨酸苏氨酸蛋白激酶, 是一组能被多种细胞外刺激激活并将细胞外信号传递至胞内的重要分子, 其具有参与基因表达调控、细胞增殖和凋亡的重要机制。P38MAPK 信号转导通路为 MAPK 家族的重要成员, 不仅在炎症、应激反应中具有重要作用, 还参与细胞的生长、分化和凋亡等过程<sup>[11]</sup>, 介导真核细胞对外部细胞微环境中多种不同类型刺激的细胞内反应的重要分子, 且是维持机体健康及疾病状态的重要靶点之一; 同时这些信号分子又可通过一连串磷酸化事件将细胞外信号从细胞膜传递到细胞核中, 当细胞遭受炎症、渗透压改变、辐射、缺血缺氧刺激时, JNK 可由其上游双特异性激酶 MKK4/MKK7 经双磷酸化激活。一项 DEACMP 试验结果表明, 受到中毒影响的动物, 其海马组织 CA1 区的 p-JNK (尿素氮) 水平会大范围增加, 同时, 凋亡细胞总量也会大范围增加, 而随着试验的深入, 动物的学习和认知功能会受到严重影响。这种疾病的病理和生理特征还需进一步的深入研究。

### 7 TAM-TLRs 信号通路

TLRs 是一种关键的模式识别受体, 能够促进自身的免疫学功能, 对于宿主的免疫学识别、免疫学能力以及其他机制产生影响。它们既可以存活于多种细胞, 如小胶质细胞、树突状细胞, 又可以存活于多种细胞, 比如肺、肾、小肠以及生殖系统等。在身体的某些部位, TAM 可能会发生变化。它可能属于酪氨酸激酶的 20 种亚类中的一种。Axl 和 Mer 受体的构成非常类似, 它们的同源氨基酸分别占据了细胞的 31%~36% 和 54%~59%, 它们还能够激发多种宿主的免疫反应, 引起细胞的炎症反应, 小胶质细胞在神经体系中起着至关重要的免疫系统, 而 TLR 受体在这种功能中扮演着至关重要的角色, 它们参与和调节着小胶质细胞接受和释放信号, TAM 的表达水平显著提高, 从而激发 Gas6/ProS-TAM 信号转录系统, 后者诱导产生 TLR 的抑制物, 最终对炎症反应过程起到负性作用, 有研究证实, NO 对 NF- $\kappa$ B 介导的促炎细胞因子在巨噬细胞的转录中起关键作用, 两者之间存在较为密切的联系并成为影响发病机制的相关传导通路。

### 8 NF-KB/nNOS

NF- $\kappa$ B 作为一个神经元, 具有多种功能, 包括在静止

状态下与抑制蛋白相互作用,在受到外界刺激的情况下,它会将这些蛋白质磷酸化,然后运送至胞核,形成多种多样的转录复合物。核因子- $\kappa$ B/神经型一氧化氮合酶(NF- $\kappa$ B/nNOS)信号通路在所有中枢神经内有表达。尤其是海马区在,小胶质细胞中尤其突出。当遭受细胞外信号干扰,如毒素、炎性细胞因子和血氧应激,影响时,小胶质细胞中的NF- $\kappa$ B蛋白也会被快速活化,从而导致脑损伤。随着nNOS的表达水平的提高,nf- $\kappa$ b/nnos信息通道也被快速活性,从而导致神经胶质细胞的大规模凋亡。此外,这些信号通路还能够促进肿瘤坏死因子 $\alpha$ (Tumor necrosis factor- $\alpha$ , tNF- $\alpha$ )的发挥作用,从而导致其他细胞因子的高水平表现。可以进一步激活各种炎性因子及细胞因子,如肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )等,使它们的表达上调。

## 9 Keap1-Nrf2

Keap1在人类生物学中扮演着至关重要的角色,它可以与靶蛋白形成复杂的相互作用,从而促进靶蛋白的有效化学反应。另一方面,Nrf2则可以激活抗氧化应激反应,而Keap1则可以作为它的一种关键的调节机制。Nrf2蛋白的相对分子质量约为 $6.6 \times 10^4$ ,它以一种极其稳定的碱性亮氨酸拉链形式存在于正常的细胞中,并由Keap1进行调节,其表达水平较低,同时其半衰期也较短。Nrf2羧基末端区域为Neh3区,作为反式激活结构域激活下游相关基因的转录,Nrf2/HO-1信号通路与抗氧化应激密切相关,起到有效的防御氧化应激的功效,达到细胞保护作用。当人们的身体遭受氧化应激时,Nrf2/HO-1信号通路就会受到激活,这种激活会使得Nrf2和Keap1之间的结构失去稳定性,从而使得它们从细胞膜上分解出来,进而进一步释放出氧化还原酶,从而激活HO-1基因,从而增强人们的免疫系统,从而起到有效的防御氧化应激的功效,达到细胞保护作用。

## 10 JAK-STAT

酪氨酸激酶(JAK)拥有双重功效,它不仅可以将多个含有特定SH2结构域的信息分子进行磷酸化,而且还可以将这些信息分子的活性转移至可以进行酸性调节的细胞因子,从而使它们拥有双重功效。研究表明,目前已经出现了4种JAK家族成员:JAK1、JAK2、JAK3以及TYK2,这些JAK都拥有7种不同的JAK构造,其中JH1的结构域主要用于激酶活性,并且能够激活酪氨酸激酶受体(RTK),STAT的主要特征在于SH2功能区,这个区域的核心序列与酪氨酸激酶Src非常相似。尽管在中枢神经系统中,JAK-STAT表达较少,但在大脑特定区域中,如大脑皮质、海马、丘脑和小脑中仍有较高表达量。在生长发育过程中相应蛋白质表达量也发生变化,在胚胎发育阶段,JAK2、JAK1、STAT3、STAT6和STAT1均呈现高表达状态,而到成年阶段,其表达量逐渐减少,该通路涉及由激素、细胞生长因子、生长因子等多肽类物质造成受体激活导致JAK发生磷酸化,磷酸化的JAK导致STAT形成二聚体,STAT二聚体进入细胞核后与DNA序列相结合,并调节其转录过程。该传导通

路的调控过程涉及多种机制,包括JAK的磷酸化状态的调节、STAT蛋白的磷酸化修饰以及由胞因子信号抑制因子调控的JAK磷酸化。在中枢神经系统中,JAK-STAT信号传导通路的作用主要与生长发育过程中的基因调控、激素释放、免疫调节等有关。

## 11 展望

DEACMP发作通路的复杂化为临床科学治疗提供极大的困难,DEACMP发作进程十分复杂,其“假愈期”不能简单透过某一种机理来阐释,一般生理情况下,神经系统受到损害影响时eNOS合成的微量NO虽可起到保护,但当损害严重时,伴随NF- $\kappa$ B/nNOS信息通道的启动,巨量NO的堆集,可以诱发神经凋亡的产生,导致脑细胞的损害及各种神经精神症状,我们期待利用免疫炎症技术,把TAM和TLRs的功能作用结合在一起,以此作为DEACMP的治疗依托,从而获得更加全面的理解和支持。此外,我们还期待借助此类技术,开拓出一条有效的治疗和预防DEACMP的道路。

## 参考文献

- Guo D, Hu H, Pan S. Oligodendrocyte Dysfunction and Regeneration Failure: A Novel Hypothesis of Delayed Encephalopathy after Carbon Monoxide Poisoning[J]. Med. Hypotheses, 2020,47(4):14-18.
- 彭红艳.核转录因子- $\kappa$ B-基质金属蛋白酶中毒迟发性脑病中的作用[J].中国医药导报,2012,4(4):457-462.
- 项文平.基于P2Y受体信号通路的活化小胶质细胞介导的星形胶质细胞激活在一氧化碳中毒迟发性脑病中的作用及机制研究[J].包头市中心医院,2023,16(1):47-51.
- P2Y1受体介导星形胶质细胞的激活在急性一氧化碳中毒迟发性脑病中的作用[J].中风与神经疾病杂志,2023,15(9):1-12.
- Petrovic, M. G. Sirt1, A Negative Regulator of Matrix Metalloproteinase-9 in Diabetic Retinopathy. Investig[J]. Ophthalmology Vis. Sci,2014,55(9):56-61.
- 陈红梅.急性一氧化碳中毒迟发性脑病的相关危险因素分析[J].赣南医学院学报,2024,41(10):1.
- Bull. Inhibition of ROCK2 Kinase Activity Improved Behavioral Deficits and Reduced Neuron Damage in a DEACMP Rat Model[J]. Brain Res, 2022(180)24-30.
- 彭红艳.核转录因子- $\kappa$ B-基质金属蛋白酶-9信号通路在急性一氧化碳中毒迟发性脑病中的作用[J].实用医学杂志, 2019, 35(4):6.
- Chem. Molavi Pordanjani, S.; Jalal Hosseinimehr, S. The Role of NF- $\kappa$ B Inhibitors in Cell Response to Radiation[J]. Curr. Med, 2016,23(34):45-92.
- Elsevier. Neural ECM Proteases in Learning and Synaptic Plasticity[J]. In Progress in Brain Research, 2014,125(12):152-147.
- P38丝裂原活化蛋白激酶信号转导通路在免疫性疾病中的研究进展[J].免疫学杂志,2024,75(6):45-78.