

藏红花素通过调控 cGMP/PKG 通路对癫痫大鼠的神经保护及对海马神经元兴奋性的影响

陈洁 赵松耀 李世泽 任仙

【摘要】 目的 观察藏红花素对癫痫大鼠的神经保护及对海马神经元兴奋性的影响。**方法** 取 45 只大鼠,随机选取 10 只设为健康组,剩余 35 只建立癫痫模型,成功 30 只。随机分为癫痫组(10 只)、藏红花素组(10 只)、抑制剂组(10 只);藏红花素组腹腔注射藏红花素(50 mg/kg);抑制剂组腹腔注射藏红花素(50 mg/kg),髓鞘注射 ODQ[1H (1,2,4) oxadiazolo (4,3 α) quinoxaline 1 one] [环磷酸鸟苷(Cyclic guanosine monophosphate,cGMP)/cGMP 依赖性蛋白激酶(cGMP-dependent protein kinase,PKG)通路抑制剂](10 μ g/只);健康组、癫痫组腹腔注射等体积生理盐水;1 次/d,干预 14 d;检测血清氧化应激反应水平指标;检测神经元钙离子水平;用原位末端标记法(Terminal deoxynucleotidyl transferase mediated nick end labeling,TUNEL)检测海马神经元凋亡率;用免疫印迹法检测海马组织 cGMP,PKG,磷酸化-PKG(Phosphorylation-PKG,p-PKG)蛋白表达水平。**结果** 与癫痫组比较,藏红花素组血清丙二醛(Malondialdehyde,MDA)水平、海马神经元内钙离子水平、海马神经元凋亡率降低,血清超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase,SOD)活性水平、海马组织 cGMP 蛋白表达水平、p-PKG/PKG 升高($P<0.05$);与藏红花素组比较,抑制剂组血清 MDA 水平、海马神经元内钙离子水平、海马神经元凋亡率升高,血清 SOD 活性水平、海马组织 cGMP 蛋白表达水平、p-PKG/PKG 降低($P<0.05$)。**结论** 藏红花素可抑制海马组织氧化应激,降低海马神经元兴奋性,保护神经功能,推测其作用机制可能与激活 cGMP/PKG 信号通路有关。

【关键词】 藏红花素 环磷酸鸟苷 cGMP 依赖性蛋白激酶 癫痫 神经元兴奋性

【中图分类号】 R743 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1007-0478(2022)04-0349-06

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2022.04.009

The neuroprotection of crocin on the rats with epilepsy and its effect on the excitability of hippocampal neurons by regulating cGMP/PKG pathway Chen Jie, Zhao Songyao, Li Shize, et al. Department of Neurology, Zhengzhou Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Zhengzhou Henan 450000

【Abstract】 Objective To observe the neuroprotection of crocin on epileptic rats and its effect on the excitability of hippocampal neurons. **Methods** 45 rats were randomly divided into, healthy group (10 mice) and epilepsy model (35 mice). 30 rats of the epilepsy model group were successfully modeling, and the 31 mice were randomly divided into the epilepsy group (10 rats), the crocin treatment group (10 rats), and the crocin-inhibitor treatment group (10 rats). The crocin group was intraperitoneally injected with crocin (50 mg/kg). In the crocin-inhibitor group, crocin (50 mg/kg) was injected intraperitoneally, and ODQ (cyclic guanosine phosphate (cGMP)/cGMP-dependent protein kinase (PKG) pathway inhibitor) (10 μ g each rat) was injected into the myelin sheath. The healthy group and the epilepsy group were intraperitoneally injected with an equal volume of normal saline (once/day for 14 days). Serum oxidative stress indicators, the neuronal calcium ion concentration was measured. Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL) was used to detect the apoptosis rate of hippocampal neurons. Western blotting was used to detect the expression of cGMP, PKG, and p-PKG in the hippocampus. **Results** Compared with the epilepsy group, serum malondialdehyde (MDA) level, calcium ion concentration in hippocampal neurons, the apoptosis rate of hippocampal neurons were decreased in the crocin treatment group ($P<0.05$). Serum superoxide dismutase (SOD) activity level, hippocampal cGMP expression, and p-PKG/PKG were increased in the crocin group ($P<0.05$). Com-

pared with the crocin group, serum MDA level, calcium ion concentration in hippocampal neurons, and the apoptosis rate of hippocampal neurons were increased; the serum SOD activity level, the hippocampal cGMP and p-PKG/PKG expression were decreased in the crocin-inhibitor treatment group ($P < 0.05$). **Conclusion** Crocetin can inhibit oxidative stress in the hippocampus, reduce the excitability of hippocampal neurons, and protect nerve function. It is speculated that its mechanism is related to the activation of cGMP/PKG signaling pathway.

【Key words】 Crocin Cyclic guanosine phosphate cGMP-dependent protein kinase Epilepsy Neuronal excitability

癫痫是神经内科常见慢性神经系统疾病,在各个年龄段均有发生,以反复性、治疗困难为主要特点,发作时易导致口舌咬伤、摔伤骨折,长时间发作可诱发大脑缺氧、脑萎缩,以致认知功能障碍、记忆力衰退,严重时出现循环衰竭、休克死亡^[1]。我国癫痫发病率超过1.0‰,且近年来呈上升趋势,年新增发患者超过40万人,已成为我国公共卫生安全重大难题之一^[2]。随着国内外对癫痫研究的日渐深入,其诊疗效果也有了重大进步,但仍有20%患者病情未能有效控制,且主流抗癫痫药物存在毒副作用强、损伤认知功能等缺点^[3]。藏红花素是中药藏红花主要活性成分之一,具有抗炎、抗肿瘤、降血脂、抑制动脉粥样硬化等多种生物学活性。有研究认为,藏红花素可抑制海马氧化应激反应、减少帕金森病大鼠旋转行为,具有修复记忆缺陷及神经保护作用^[4],但目前关于其对癫痫大鼠的神经保护作用及对海马神经元兴奋性影响的报道尚少,且缺乏对应的机制研究。本研究通过建立癫痫大鼠模型,观察藏红花素对其治疗作用,并探讨其相关机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

无特定病原体(Specific pathogen free, SPF)级SD大鼠45只,雄性,6周龄,体质量(220 ± 15)g,购自北京安凯毅博生物技术有限公司,生产许可SCXK(京)2017-0006。

1.2 药物、主要试剂、仪器

藏红花素(纯度99%,上海沪震实业有限公司),丙二醛(Malondialdehyde, MDA)试剂盒、超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)试剂盒、匹罗卡品(上海源叶生物科技有限公司),环磷酸鸟苷(Cyclic guanosine monophosphate, cGMP)/cGMP依赖性蛋白激酶(cGMP-dependent protein kinase, PKG)通路抑制剂ODQ(上海皓鸿生物医药科技有限公司),兔抗大鼠微管相关蛋白2(Microtu-

bu-associated proteins 2, MAP-2)、cGMP, PKG, p-PKG一抗(英国Santa公司),TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(上海抚生实业有限公司)。

SZX10显微镜(日本OLYMPUS株式会社),线粒体功能检测仪(上海然哲仪器设备有限公司)。

1.3 建立癫痫大鼠模型^[5]

大鼠适应性饲养1周后腹腔注射氯化锂(180 mg/kg溶于生理盐水),20 h后腹腔注射东莨菪碱(1 mg/kg溶于生理盐水)预防大鼠死亡,15 min后皮下注射匹罗卡品(30 mg/kg溶于生理盐水),30 min后若未发生癫痫,则继续注射匹罗卡品(10 mg/kg),观察记录大鼠癫痫发作表现,根据Racine评级标准判断发作等级:胡须抖动、嘴角抽搐为1级;头部规律晃动为2级;单侧肢体不规则抽搐为3级;双侧肢体不规则抽搐并站立为4级;双侧不规则抽搐站立即跌倒为5级。以发作等级4~5级作为建模成功标志。建模成功后注射地西洋缓解癫痫症状。

1.4 分组与干预方式^[6-7]

35只大鼠建立癫痫模型,成功30只,随机分为癫痫组、藏红花素组、抑制剂组,各10只。剩余10只大鼠腹腔注射等体积生理盐水,20 h后皮下注射等体积生理盐水,设为健康组。建模成功次日,藏红花素组腹腔注射藏红花素(50 mg/kg)生理盐水溶液5 mL,2 h后髓鞘注射生理盐水(10 μ g/只);抑制剂组腹腔注射藏红花素(50 mg/kg溶于生理盐水),2 h后髓鞘注射ODQ(10 μ g/只);健康组、癫痫组腹腔注射生理盐水5 mL,2 h后髓鞘注射生理盐水(10 μ g/只);1次/d,干预14 d。

1.5 组织取材

末次干预次日戊巴比妥钠麻醉大鼠,取腹主动脉血置于4℃冰箱保存,用于血清指标水平检测;取血后脊椎脱臼处死大鼠,冰上开颅取脑,迅速剥离海马组织,分成三份,一份剔除脑膜清洗,切分为1 mm³小块,注入离心管内,加入达尔伯克(氏)必需基本培养基(Dulbecco's modified eagle medium,

DMEM)/F12(Ham's F 12 nutrient medium) 培养液用于神经元原代培养;一份投入 4% 多聚甲醛固定液保存 24 h, 常规脱水、透明、浸蜡、包埋, 切为 4 μm 切片用于 TUNEL 染色及苏木精-伊红(He-matoxylin-eosin staining, HE) 染色;另一份投入液氮中保存, 用于蛋白水平检测。

1.6 检测血清氧化应激反应指标水平

取冰箱保存腹主动脉血, 离心机 3 000 r/min 离心 10 min(离心半径 8 cm), 取上清, 按照试剂盒要求设计实验步骤, 采用硫代巴比妥酸法检测 MDA 水平, 2-(2-甲氧基-4-硝苯基)-3-(4-硝苯基)-5-(2,4-二磺基苯)-2H-四唑单钠盐[2-(2-Methoxy-4-nitrophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfobenzene)-2H-tetrazolium monosodium salt, WST-8]法检测 SOD 活性水平。

1.7 海马神经元原代培养

将含有海马组织离心管拍打数次, 静置 5 min 后吸去上清, 1 000 r/min 离心 10 min(离心半径 5 cm), 吸去上清, 加入 DMEM/F12 培养基[含 10% 胎牛血清(Fetal bovine serum, FBS)]重悬细胞, 台盼蓝染色, 调整细胞密度为 1×10^9 个/L, 置于多聚赖氨酸包被培养板内, 标准条件(37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2) 培养 24 h, 后每 2 d 更换 1 次无血清培养液, 观察神经元生长及分化情况。

1.8 免疫荧光染色鉴定原代神经元

取培养 7 d 海马神经元培养板, 用磷酸盐缓冲液(Phosphate buffer saline, PBS)洗涤, 投入 4% 多聚甲醛固定 10 min, PBS 洗涤, 灭菌 0.3% 曲拉通 X-100 漂洗 8 min, PBS 洗涤, 膜封闭液封闭 30 min, 加入兔抗大鼠 MAP-2 一抗(1:500), 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, PBS 洗涤, 加入荧光标记二抗(1:2 000), PBS 洗涤, 避光静置 60 min, PBS 洗涤, 加入 4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)染色 5 min, PBS 洗涤, 滴入抗淬灭封片液封片, 经荧光显微镜鉴定神经元纯度, 胞体与突起为红色, DAPI 将细胞核染为蓝色的细胞为海马神经元;胞体与突起未被染为红色, 仅有细胞核为蓝色的是小胶质细胞或星形胶质细胞。

1.9 检测神经元钙离子水平

取各组海马神经元, 冲洗后加入钙离子探针液(3 $\mu\text{mol/L}$), 置于培养箱内, 标准条件(37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2) 避光培养 30 min, 冲洗后与 Hank's 平衡盐溶液(Hank's balanced salt solution, HBSS)混匀后平

衡 10 min, 经线粒体功能检测仪测定细胞内钙离子强度, 以 NIS-Element AR3.0 软件获取数据, 以 340 nm/380 nm 荧光强度比值(Ratio 340/380)表示钙离子水平。每次实验检测 10 个神经元, 取均值。

1.10 用 TUNEL 染色法观察海马神经元凋亡情况

取海马组织切片, 二甲苯脱蜡, 梯度酒精脱水, 按照 TUNEL 试剂盒说明书设计实验步骤, 加入蛋白酶 K 室温孵育 15 min, 微波修复抗原, 待其冷却加入反应混合液, 黑暗湿盒孵育 2 min, PBS 洗涤, 加入过氧化物酶, 同条件继续孵育 30 s, PBS 洗涤, 二氨基联苯胺(Diaminobenzidine, DAB)染色, 苏木素复染, 脱水、干燥后滴入中性树脂封固, 置于显微镜下观察海马神经元凋亡情况, 棕褐色细胞即为凋亡细胞, 计算神经元凋亡率=凋亡神经元数/神经元总数 $\times 100\%$ 。随机选取 5 个 200 倍不相邻均匀视野拍照记录, 取其均值。

1.11 用 HE 染色观察海马组织病理学变化

取海马组织切片, 二甲苯脱蜡, 梯度酒精脱水, 蒸馏水冲洗, 常规 HE 染色, 脱水、透明、干燥, 滴入中性树脂封固, 置于显微镜下观察海马组织病理学改变。

1.12 用免疫印迹法检测海马组织 cGMP, PKG, p-PKG 蛋白表达水平

取液氮中保存的海马组织, 充分研磨后匀浆, 用放射免疫沉淀法(Radio immuno precipitation assay, RIPA)裂解细胞, 注入离心管内, 9 000 r/min 离心 10 min(离心半径 12 cm), 用聚羧基丙烯酸正丁酯(Bicinchoninic acid, BCA)试剂盒定量蛋白。取 50 μg 待测蛋白, 加入 4 倍体积上样缓冲液, 电压 80 V 行凝胶电泳实验, 湿法转膜, 膜封闭液封闭 1 h, Tris 缓冲生理盐水(Tris-buffered saline and 0.1% Tween-20, TBST)清洗, 加入兔抗大鼠 cGMP, PKG, p-PKG 一抗(1:500), 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存过夜, TBST 清洗, 加入二抗(1:2 000), 室温孵育 2 h, 电化学发光(Electrochemiluminescence, ECL)暗室显影, 经成像分析仪分析各组蛋白灰度值, 以 cGMP, PKG, p-PKG 蛋白条带灰度值与内参 3 磷酸甘油醛脱氢酶(Glyceraldehyde phosphate dehydrogenase, GAPDH)条带灰度值比值代表 cGMP, PKG, p-PKG 蛋白相对表达水平, 计算 p-PKG/PKG。

1.13 统计学处理

采用 SPSS 23.0 统计学软件, 计量资料以均数

± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多样本均数比较采用多因素方差分析,两两样本比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 血清氧化应激反应指标水平比较

与健康组比较,癫痫组血清 MDA 水平升高, SOD 活性降低($P < 0.05$);与癫痫组比较,藏红花素组血清 MDA 水平降低, SOD 活性升高($P < 0.05$);与藏红花素组比较,抑制剂组血清 MDA 水平升高, SOD 活性降低($P < 0.05$)(表 1)。

表 1 各组血清 MDA 水平与 SOD 活性水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	MDA(nmol/mL)	SOD(U/mL)
健康组	10	0.49 ± 0.05	61.69 ± 8.12
癫痫组	10	1.23 ± 0.13*	85.36 ± 9.69*
藏红花素组	10	0.65 ± 0.07 Δ	67.48 ± 8.52 Δ
抑制剂组	10	0.87 ± 0.09 $\#$	71.53 ± 7.59 $\#$

注:与健康组比较, * $P < 0.05$;与癫痫组比较, $\Delta P < 0.05$;与藏红花素组比较, $\# P < 0.05$

2.2 海马神经元形态学变化

光学显微镜下可见,第 1 d 细胞生长旺盛,神经元突触增长、增粗,分支清晰可见,可观察到贴壁的死亡细胞呈现为透亮的小圆球;培养至第 5 d,神经元胞体饱满清晰,呈椎体状或椭圆状,树突与轴突茂盛粗壮,网状交叉生长,胶质细胞几乎消失(图 1)。

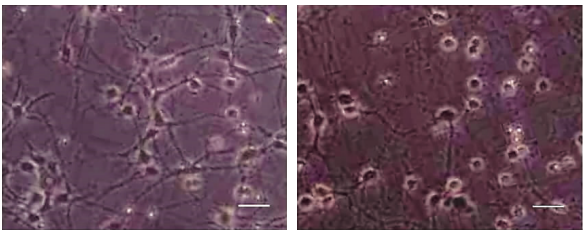
2.3 鉴定原代海马神经元

MAP-2 为成熟神经元特异性蛋白,可作为鉴定神经元纯度的标志性蛋白。当海马神经元培养至第 7 d 时免疫荧光染色显示,神经元成熟度高,纯度超过 90%(图 2)。

2.4 海马神经元内钙离子水平比较

与健康组比较,癫痫组海马神经元内钙离子水

平升高($P < 0.05$);与癫痫组比较,藏红花素组海马神经元内钙离子水平降低($P < 0.05$);与藏红花素组比较,抑制剂组海马神经元内钙离子水平升高($P < 0.05$)(表 2)。



培养第 1 d 培养至第 5 d

图 1 光学显微镜下观察海马神经元形态学变化($\times 200$ 倍,标尺 50 μm)

表 2 各组海马神经元钙离子水平比较 ($\bar{x} \pm s$, nmol/L)

组别	<i>n</i>	钙离子水平
健康组	10	80.22 ± 10.86
癫痫组	10	293.96 ± 31.86*
藏红花素组	10	123.25 ± 13.76 Δ
抑制剂组	10	175.86 ± 19.54 $\#$

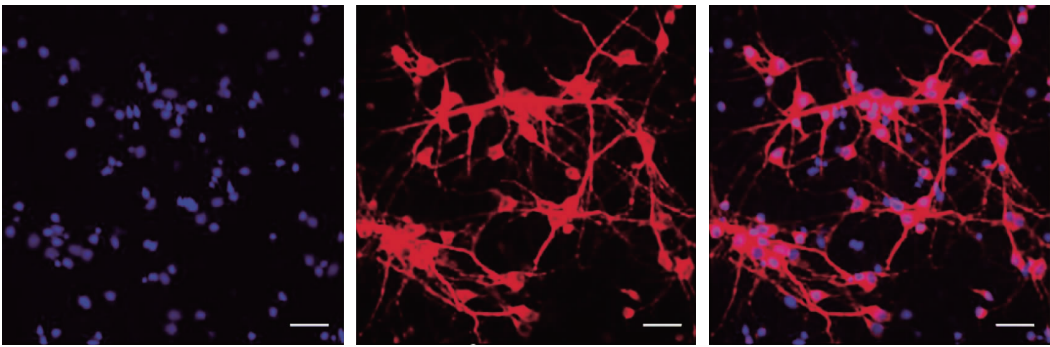
注:与健康组比较, * $P < 0.05$;与癫痫组比较, $\Delta P < 0.05$;与藏红花素组比较, $\# P < 0.05$

2.5 海马神经元凋亡率比较

与健康组比较,癫痫组海马神经元凋亡率升高($P < 0.05$);与癫痫组比较,藏红花素组海马神经元凋亡率降低($P < 0.05$);与藏红花素组比较,抑制剂组海马神经元凋亡率升高($P < 0.05$)(表 3、图 3)。

2.6 海马组织病理学变化

HE 染色显示,健康组海马组织结构正常,细胞完整、排列整齐,大部分神经元为圆形、轮廓清晰,细胞核圆且大,多分布于细胞中心位置,着色较浅,细胞质与细胞核边界明显;癫痫组海马组织疏松、水肿,大量神经元表现为不同程度的坏死或变性;相较



DAPI MAP-2 Merge

图 2 免疫荧光染色鉴定原代神经元($\times 200$ 倍,标尺 50 μm)

表 3 各组海马神经元凋亡率比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	<i>n</i>	凋亡率
健康组	10	4.20 ± 0.59
癫痫组	10	25.40 ± 6.39*
藏红花素组	10	10.60 ± 2.31 Δ
抑制剂组	10	16.65 ± 3.57 $^\#$

注:与健康组比较,* $P<0.05$;与癫痫组比较, $\Delta P<0.05$;与藏红花素组比较, $^\# P<0.05$

于癫痫组,藏红花素组、抑制剂组经干预后海马组织损伤程度减轻,表现为神经元胞体肿胀,胞核肿大,胞浆不规则淡染,其中藏红花素组病理学变化改善优于抑制剂组(图 4)。

2.7 海马组织 cGMP 蛋白表达水平、p-PKG/PKG 比较

与健康组比较,癫痫组海马组织 cGMP 蛋白表达水平、p-PKG/PKG 降低($P<0.05$);与癫痫组比较,藏红花素组海马组织 cGMP 蛋白表达水平、p-PKG/PKG 升高($P<0.05$);与藏红花素组比较,抑制剂组海马组织 cGMP 蛋白表达水平、p-PKG/PKG 降低($P<0.05$)(表 4、图 5)。

3 讨 论

癫痫是指脑部神经元突发性过度放电,引发大脑功能障碍的一种脑部疾病,先天性脑部疾病、围产

表 4 各组海马组织 cGMP 蛋白表达水平、p-PKG/PKG 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	cGMP	p-PKG/PKG
健康组	10	0.84 ± 0.08	0.89 ± 0.07
癫痫组	10	0.13 ± 0.01*	0.12 ± 0.01*
藏红花素组	10	0.61 ± 0.06 Δ	0.72 ± 0.07 Δ
抑制剂组	10	0.22 ± 0.02 $^\#$	0.24 ± 0.02 $^\#$

注:与健康组比较,* $P<0.05$;与癫痫组比较, $\Delta P<0.05$;与藏红花素组比较, $^\# P<0.05$

期疾病、头部外伤、病毒感染、脑部肿瘤等均是其发生的危险因素^[8]。癫痫以周期性反复发作及暂时性功能丧失为主要特征,海马组织不对称硬化、胶质细胞增生、神经元脱失、苔藓纤维出芽是癫痫主要病理表现^[9]。目前关于其发病机制尚未完全阐明,通常认为与神经递质异常、离子通道改变、星形胶质细胞异常及遗传等因素相关,这些因素均会导致海马神经元兴奋性增强,引发神经组织兴奋/抑制系统失衡,海马神经元过度持续性放电,从而诱发癫痫^[10]。因此,抑制海马神经元兴奋性是治疗癫痫的关键。

中枢神经系统细胞内外离子浓度与神经系统兴奋性密切相关,其中细胞内钙离子水平升高可显著降低海马神经元阈电位,使海马神经元兴奋性增强^[11]。中医治疗癫痫历史悠久,将其归为“痫证”范畴,俗称“羊痫风”,其病位在脑,但肝、肾、脾亦有涉

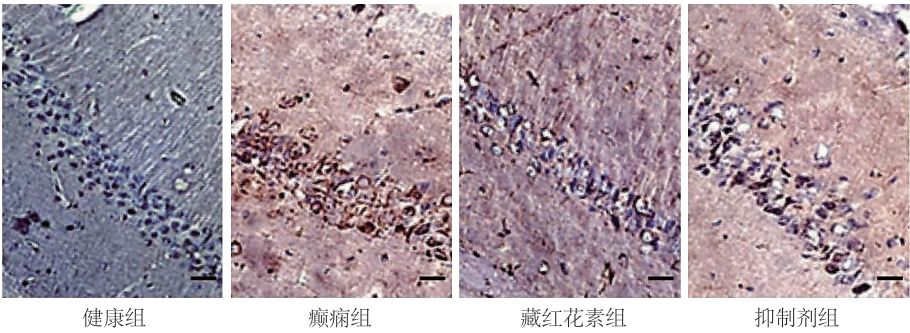


图 3 用 TUNEL 染色观察海马神经元凋亡情况($\times 200$ 倍,标尺 20 μm)

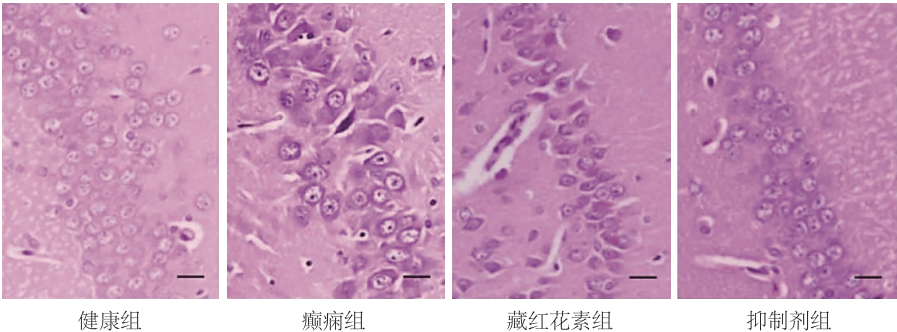


图 4 用 HE 染色观察各组海马病理学变化($\times 200$ 倍,标尺 50 μm)

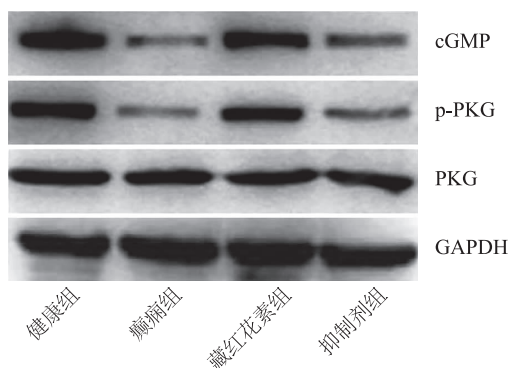


图5 海马组织 cGMP, PKG, p-PKG 蛋白免疫印迹

及,其病因多为禀赋不足、情志失调、金刃创伤、饮食不节,以致脏腑失调、肾气虚亏、脾气不足、痰结气郁,进而清窍蒙闭、逆气上犯、痹阻脉络、元神失控,发为痫证,故治疗应以益气活血、散郁祛瘀为主^[12]。番红花是世界名贵药用植物,被称为“花中黄金”,中药藏红花取自番红花干燥柱头,性平,味甘,归心经、肝经,可活血、解毒、祛瘀、散郁,明代医典《本草品汇精要》记载,其主散郁调血,宽胸膈,治发狂^[13]。藏红花素是提取自藏红花的天然花苷酯类化合物,作为胡萝卜素的一种,常被用于食品调色及风味添加。Mozaffari 等^[14]研究认为,藏红花素可抑制甲基苯丙胺诱导的海马神经变性,缓解大鼠认知功能障碍,发挥其神经保护作用,提示其可作为神经保护潜在药物。本研究结果显示,与癫痫组比较,藏红花素组血清 MDA 水平、海马神经元内钙离子水平、海马神经元凋亡率降低, SOD 活性升高,提示藏红花素可抑制海马组织氧化应激反应,降低海马神经元兴奋性,保护海马组织。

cGMP/PKG 信号通路是机体细胞信号传导重要靶点通路,在细胞增殖、细胞凋亡、内源性神经信号传递、血小板凝集等多个过程中扮演重要角色, cGMP, PKG 是该通路重要调控蛋白^[15]。cGMP 是细胞内信息传递第二信使蛋白, PKG 是其依赖性蛋白激酶, cGMP 在蛋白激酶刺激下活化, 将胞外信号转导至胞核内, 激活下游 PKG 使其磷酸化, 促进相关效应蛋白转录, 发挥其促进神经元增殖, 降低神经元兴奋性的功效^[16]。Mohan 等^[17]研究认为, 激活 cGMP/PKG 信号通路可抑制部分神经元兴奋性, 提升大鼠空间导航及学习、记忆能力。本研究结果显示, 与健康组比较, 癫痫组海马组织 cGMP 蛋白表达水平、p-PKG/PKG 降低, 经藏红花素干预后其水平均升高, 且在藏红花素的基础上增用 cGMP 通

路抑制剂 ODQ 可减弱藏红花素对癫痫大鼠的治疗作用, 提示 cGMP/PKG 通路在癫痫中被抑制, 藏红花素可能通过调节该通路而对癫痫产生治疗作用。

综上所述, 藏红花素可抑制海马组织氧化应激, 降低海马神经元兴奋性, 保护神经功能, 推测其作用机制可能与激活 cGMP/PKG 信号通路有关。

参 考 文 献

- [1] Liu DH, Agbo E, Zhang SH, et al. Anticonvulsant and neuroprotective effects of paeonol in epileptic rats[J]. *Neurochem Res*, 2019, 44(11): 2556-2565.
- [2] 马虹英, 朱武, 王灿, 等. 254 例中国癫痫患者丙戊酸和 2-丙基-4-戊烯酸浓度与不良反应的相关性[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2019, 44(7): 775-783.
- [3] Moezifar M, Sayyah M, Zendeheidi M, et al. Docosahexaenoic acid prevents resistance to antiepileptic drugs in two animal models of drug-resistant epilepsy[J]. *Nutr Neurosci*, 2019, 22(9): 616-624.
- [4] Shahidani S, Rajaei Z, Alaei H. Pretreatment with crocin a-long with treadmill exercise ameliorates motor and memory deficits in hemiparkinsonian rats by anti-inflammatory and antioxidant mechanisms[J]. *Metab Brain Dis*, 2019, 34(2): 459-468.
- [5] 都昇, 宋君浩, 刘丹琼, 等. 纳米金刚石对癫痫模型 P65 表达的影响[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2020, 49(4): 424-429.
- [6] 李三宝, 张伟. 藏红花素对视网膜缺血再灌注损伤大鼠视网膜组织的保护作用[J]. *中国临床药理学杂志*, 2020, 36(24): 3999-4001.
- [7] 张碧玉, 颜学军, 王军. 脊髓 NO/cGMP 信号通路在右美托咪定减轻大鼠神经病理疼痛中的作用[J]. *中华麻醉学杂志*, 2016, 36(4): 481-483.
- [8] Li BG, Wu WJ, Zheng HC, et al. Long noncoding RNA GAS5 silencing inhibits the expression of KCNQ3 by sponging miR-135a-5p to prevent the progression of epilepsy[J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2019, 35(9): 527-534.
- [9] Wong M. The role of glia in epilepsy, intellectual disability, and other neurodevelopmental disorders in tuberous sclerosis complex[J]. *J Neurodev Disord*, 2019, 11(1): 30.
- [10] Wang R, An X, Zhao S. Effect of miR-124 on PI3K/Akt signaling pathway in refractory epilepsy rats[J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2020, 66(2): 146-152.
- [11] Forsberg M, Seth H, Björefeldt A, et al. Ionized Calcium in human cerebrospinal fluid and its influence on intrinsic and synaptic excitability of hippocampal pyramidal neurons in the rat[J]. *J Neurochem*, 2019, 149(4): 452-470.
- [12] 孙宏, 王小荣, 陈松盛, 等. 定痫汤对癫痫大鼠海马 PPAR γ 及神经保护作用[J]. *中华中医药杂志*, 2020, 35(11): 5769-5771.
- [13] 赵永吉, 陆莹, 游志鹏. 藏红花酸对链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠视网膜神经上皮的保护作用[J]. *中国药理学通报*, 2020, 36(3): 399-403.
- [14] Mozaffari S, Ramezani YS, Motaghinejad M, et al. Crocin acting as a neuroprotective agent against methamphetamine-induced neurodegeneration via CREB-BDNF signaling pathway[J]. *Iran J Pharm Res*, 2019, 18(2): 745-758.
- [15] Song Y, Li D, Farrelly O, et al. The mechanosensitive ion Channel piezo inhibits Axon regeneration[J]. *Neuron*, 2019, 102(2): 373-389. e6.
- [16] Roy A, Groten J, Marigo V, et al. Identification of novel substrates for cGMP dependent protein kinase (PKG) through kinase activity profiling to understand its putative role in inherited retinal degeneration[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(3): 1180.
- [17] Mohan S, Tiwari MN, Stanojević M, et al. Muscarinic regulation of the neuronal Na⁺/K⁺-ATPase in rat hippocampus[J]. *J Physiol*, 2021, 599(15): 3735-3754.

(2021-11-19 收稿)