doi:10.11659/jjssx.06E024078

·基础研究·

仙茅苷对癫痫大鼠海马神经元损伤的影响机制研究

张 墨,尚 杨,张俊娜,侯国盛,阮晓兰 (开滦总医院林西医院急诊科,河北 唐山 063000)

[摘 要] **目的** 探究仙茅苷(CUR)对癫痫大鼠海马神经元损伤的影响机制。**方法** 选取48只大鼠,采用35 mg/kg戊四氮诱导建立癫痫大鼠模型,并将癫痫大鼠随机分为癫痫组、癫痫+低剂量CUR组(癫痫+CUR-L组)、癫痫+高剂量CUR组(癫痫+CUR-H组)和癫痫+CUR-H+PI3K激活剂740Y-P组(癫痫+CUR-H+740Y-P组),每组12只;另取12只腹腔注射等量生理盐水的大鼠为对照组。给药4周后,观察各组大鼠的行为学变化。尼氏染色测定海马组织神经元变化,免疫组化法测定海马组织小胶质细胞数目,ELISA测定海马组织白细胞介素(IL)-6、IL-1β、γ氨基丁酸(GABA)水平,TUNEL染色分析海马组织神经元凋亡水平,Western blot测定海马组织PI3K、Akt、mTOR磷酸化水平。**结果** 与对照组比较,癫痫组大鼠Racine等级评分、癫痫发作频率、海马组织小胶质细胞数目、IL-6水平、IL-1β水平、神经元凋亡率及p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR水平显著升高/增多($P<0.05$),海马组织GABA水平显著降低($P<0.05$),海马组织神经元排列紊乱,出现神经元丢失。与癫痫组比较,癫痫+CUR-L组、癫痫+CUR-H组大鼠Racine等级评分、癫痫发作频率、海马组织小胶质细胞数目、IL-6水平、IL-1β水平、神经元凋亡率及p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR水平显著降低/减少($P<0.05$),海马组织GABA水平显著升高($P<0.05$),海马组织神经元丢失及坏死减少,细胞排列有所改善。与癫痫+CUR-H组比较,癫痫+CUR-H+740Y-P组大鼠Racine等级评分、癫痫发作频率、海马组织小胶质细胞数目、IL-6水平、IL-1β水平、神经元凋亡率及p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR水平显著升高/增多($P<0.05$),海马组织GABA水平显著降低($P<0.05$),海马组织神经元丢失及坏死增多,且细胞排列紊乱。**结论** CUR可能通过下调PI3K/Akt/mTOR信号通路减轻癫痫大鼠海马神经元损伤。

[关键词] 仙茅苷;PI3K/Akt/mTOR信号通路;癫痫;小胶质细胞;神经元损伤
[中图分类号] R742.1 [文献标志码] A [收稿日期] 2024-06-19

Study on the effect and mechanism of curculigoside on hippocampal neuron injury in epileptic rats

ZHANG Mo, SHANG Yang, ZHANG Jun-na, HOU Guo-sheng, RUAN Xiao-lan (Department of Emergency, Kailuan General Hospital Linxi Hospital, Tangshan Hebei 063000, China)

Abstract: Objective To investigate the effect and mechanism of curculigoside (CUR) on hippocampal neuron injury in epileptic rats. **Methods** Forty-eight rats were selected, and the epileptic rat models were established by induction with 35 mg/kg pentylenetetrazol. The epileptic rats were randomly divided into the epilepsy group, the epilepsy+low-dose CUR group (the epilepsy+CUR-L group), the epilepsy+high-dose CUR group (the epilepsy+CUR-H group), and the epilepsy+CUR-H+PI3K activator 740Y-P group (the epilepsy+CUR-H+740Y-P group), with 12 rats in each group. Another 12 rats that were intraperitoneally injected with the same amount of normal saline were taken as the control group. Four weeks after administration, the behavioral changes of rats in each group were observed. Nissl staining was applied to determine the neuronal changes in hippocampal tissue. Immunohistochemistry was applied to detect the number of microglia in hippocampal tissue. ELISA was applied to detect the levels of interleukin-6 (IL-6), IL-1β, and gamma-aminobutyric acid (GABA) in hippocampal tissue. TUNEL staining was applied to analyze the level of neuronal apoptosis in hippocampal tissue. Western blot was applied to detect the phosphorylation levels of PI3K, Akt and mTOR in hippocampal tissue. **Results** Compared with the control group, the Racine score and the frequency of epileptic seizures in rats, and the number of microglia, level of IL-6, level of IL-1β, the apoptosis rate of neurons, and levels of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, p-mTOR/mTOR in hippocampal tissue in the epilepsy group were obviously increased ($P<0.05$), while the level of GABA in hippocampal tissue was obviously reduced ($P<0.05$), and the arrangement of neurons in hippocampal tissue was disordered, with neuronal loss. Compared with the epilepsy group, the Racine score, and the frequency of epileptic seizures in rats, and the number of microglia, levels of IL-6, levels of IL-1β, the apoptosis rates of neurons, and levels of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, p-mTOR/mTOR in hippocampal tissue in the epilepsy+CUR-L group and the epilepsy+CUR-H group were significantly decreased ($P<0.05$), while the levels of GABA in hippocampus tissue were significantly increased ($P<0.05$), the loss and necrosis of neurons in hippocampus tissue were decreased, and the disorder of cell arrangement was improved. Compared with the epilepsy+CUR-H group, the Racine score and the frequency of epileptic seizures in rats, and the number of microglia, level of IL-6, level of IL-1β, the apoptosis rate of neurons, and levels of p-PI3K/PI3K,

[基金项目] 河北省2024年度医学科学研究课题计划(20241273)

p-Akt/Akt, p-mTOR/mTOR in hippocampal tissue in the epilepsy+CUR-H+740Y-P group were significantly increased (P<0.05), while the level of GABA in hippocampus tissue was significantly decreased (P<0.05), the loss and necrosis of hippocampal neurons increased, and the cell arrangement was disordered. **Conclusion** CUR may reduce hippocampal neuron damage in epileptic rats by downregulating the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway.

Keywords: curculigoside; PI3K/Akt/mTOR signaling pathway; epilepsy; microglia; neuronal injury

癫痫是一种慢性脑部疾病,癫痫患者临床常表现为反复或突然抽搐,且患者的神经功能会受到一定程度的损伤,导致记忆和学习产生一定障碍,严重影响患者的生活质量[1-2]。常规的抗癫痫药物对于大部分的癫痫具有缓解作用,成人中最常见的颞叶癫痫经药物治疗后约65%的患者可免于癫痫发作,但仍有一部分患者的病情难以控制,反复发作[3-4]。因此,临床迫切需要更深入地了解癫痫发作过程中大脑内的细胞和分子改变,以便开发新的药物来控制难治性癫痫[5-6]。

仙茅苷(curculigoside, CUR)是甲苯酸酯类衍生物,也是仙茅的主要活性成分,研究表明其具有抗氧化、保护心血管、提高免疫、缓解骨质疏松等多种功能[7-8]。还有研究显示,CUR能改善缺血性脑损伤大鼠的行为缺陷,通过发挥抗氧化、抗炎作用减轻脑缺血程度[9]。但目前关于CUR对癫痫的影响还鲜有报道。磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路可影响细胞存活和蛋白质的合成,且其在神经元凋亡、神经元兴奋性等过程中均具有重要作用[10]。据报道,PI3K/Akt/mTOR信号通路在癫痫发作过程中被异常激活,可影响癫痫的病情进展[11]。但CUR与PI3K/Akt/mTOR信号通路间的关联尚不明确。基于此,本研究就CUR以及PI3K/Akt/mTOR信号通路对癫痫大鼠海马神经元损伤的影响机制展开分析。

1 材料与方法

1.1 实验动物

雄性SD大鼠60只,6~7周龄,体质量230~250 g,由河北省实验动物中心提供[动物生产许可证号:SCXK(冀)2022-001]。大鼠在动物房内分笼饲养,环境温度为22~24 ℃,光照时间为12 h,相对湿度为40%~50%。适应性饲养1周后进行后续处理。本研究经河北中医大学实验动物伦理委员会审批(批准号:H202303006)。

1.2 主要试剂

CUR(HPLC≥98%)购自成都瑞芬思生物科技有限公司;PI3K激活剂740Y-P购自美国MedChemExpress公司;戊四氮购自美国Sigma公司;尼氏染色试剂盒、TUNEL染色试剂盒、白细胞介素(interleukin, IL)-6、IL-1β、γ氨基丁酸(gamma amino butyric acid, GABA)ELISA试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司;兔源PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR、CD11B一抗和辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG二抗购自美国Thermo Fisher Scientific公司。

1.3 癫痫大鼠模型的建立与分组处理

采用戊四氮诱导建立癫痫大鼠模型。随机选取48只大鼠,腹腔注射35 mg/kg戊四氮注射液,每日1次,连续4周[12]。若在注射期间大鼠出现连续3次Ⅳ级以上的痫性发作,则说明癫痫模型建立成功。另取12只腹腔注射等量生理盐水的大鼠为对照组。

将成功造模的48只大鼠随机分为癫痫组、癫痫+低剂量CUR组(癫痫+CUR-L组)、癫痫+高剂量CUR组(癫痫+CUR-H组)和癫痫+CUR-H+PI3K激活剂740Y-P组(癫痫+CUR-H+740Y-P组),每组12只。癫痫+CUR-H+740Y-P组大鼠每日以72 mg/kg CUR灌胃,并腹腔注射10 mg/kg 740Y-P[13];癫痫+CUR-L组、癫痫+CUR-H组大鼠每日分别以48 mg/kg、72 mg/kg CUR灌胃[14],并腹腔注射与740Y-P等量的生理盐水;癫痫组和对照组需每日以与CUR等量的生理盐水灌胃,并腹腔注射与740Y-P等量的生理盐水。各组大鼠均每日给药1次,连续4周。

1.4 大鼠行为学观察

末次给药结束后,观察大鼠的行为学变化,记录癫痫的发作频率。并根据癫痫Racine等级评分标准[15],评价各组大鼠癫痫发作情况。

1.5 尼氏染色观察大鼠海马组织神经元变化

行为学观察结束后,脱颈处死所有大鼠,解剖断头取脑。每组随机选取6只大鼠,将其海马组织制备石蜡切片,取部分切片进行尼氏染色,随后显微镜下观察海马神经元变化。将每组剩余6只大鼠的海马组织于-80 ℃冻存备用。

1.6 免疫组化法测定海马组织小胶质细胞数目

取1.5制备的部分海马组织石蜡切片,经脱蜡、抗原修复后,添加CD11B(1∶200)孵育过夜,加入IgG二

抗(1∶200)室温孵育2 h。DAB显色后HE复染,显微镜下观察并拍照。使用Image Pro软件分析阳性染色细胞数目,即小胶质细胞数目。

1.7 ELISA法检测大鼠海马组织中IL-6、IL-1β、GABA水平

取1.5中冻存的海马组织,在冰上制备海马组织匀浆,离心后取其上清液。根据IL-6、IL-1β、GABA的ELISA试剂盒说明书,检测各组大鼠海马组织中IL-6、IL-1β、GABA水平变化。

1.8 TUNEL染色分析海马组织神经元凋亡水平

取1.5制备的剩余海马组织石蜡切片,采用TUNEL试剂盒处理切片,以苏木精复染后,光镜下观察细胞凋亡情况,计算神经元凋亡率。

1.9 Western blot测定海马组织PI3K、Akt、mTOR磷酸化水平

采用RIPA蛋白裂解液提取大鼠海马组织蛋白。BCA法测定蛋白浓度后,取等量蛋白,经电泳分离,并将分离的蛋白转至PVDF膜上,膜在4 ℃下封闭2 h。将膜与兔源p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt、p-mTOR、mTOR、GAPDH(工作浓度均为1∶1 000)一抗于4 ℃孵育过夜。加入相应山羊抗兔IgG二抗(1∶5 000)孵育2 h后曝光,计算各组大鼠海马组织中目标蛋白的表达水平。

1.10 统计学分析

数据采用Graph Pad Prism7.0软件进行统计学分析,计量数据用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较行单因素方差分析,进一步两两比较采用*LSD-t*检验。以$P<0.05$表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CUR对大鼠行为学与Racine等级评分的影响

癫痫大鼠出现了频繁点头、前肢痉挛直立等行为。癫痫组大鼠Racine等级评分、癫痫发作频率较对照组显著升高($P<0.05$)。与癫痫组相比,癫痫+CUR-L组、癫痫+CUR-H组大鼠Racine等级评分、癫痫发作频率降低($P<0.05$);癫痫+CUR-H组大鼠的Racine等级评分、癫痫发作频率较癫痫+CUR-L组进一步降低($P<0.05$)。与癫痫+CUR-H组相比,癫痫+CUR-H+740Y-P组大鼠癫痫Racine等级评分、发作频率显著升高($P<0.05$),见表1。

表1 各组大鼠癫痫Racine等级评分及发作频率比较($\bar{x}\pm s$,$n=12$)

组别	Racine等级评分(分)	发作频率(次/天)
对照组	0.00±0.00	0.00±0.00
癫痫组	46.89±2.14*	12.74±1.03*
癫痫+CUR-L组	30.17±1.55#	7.86±0.54#
癫痫+CUR-H组	14.23±1.02#△	2.24±0.18#△
癫痫+CUR-H+740Y-P组	28.78±1.86▲	7.31±0.33▲

*:与对照组相比,$P<0.05$;#:与癫痫组相比,$P<0.05$;△:与癫痫+CUR-L组相比,$P<0.05$;▲:与癫痫+CUR-H组相比,$P<0.05$

2.2 CUR对大鼠海马组织神经元的影响

对照组大鼠海马组织神经元结构完整,排列整齐。癫痫组大鼠海马组织神经元排列紊乱,细胞肿胀、核染加深,有神经元丢失。与癫痫组相比,癫痫+CUR-L组、癫痫+CUR-H组大鼠海马组织的神经元丢失及坏死减少,细胞排列有所改善,其中癫痫+CUR-H组大鼠的改善更为明显。与癫痫+CUR-H组相比,癫痫+CUR-H+740Y-P组大鼠海马组织神经元丢失及坏死增多,且细胞排列紊乱加剧,见图1。

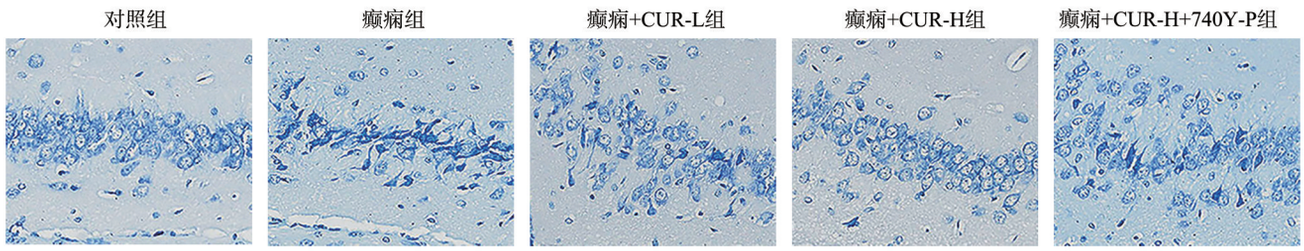


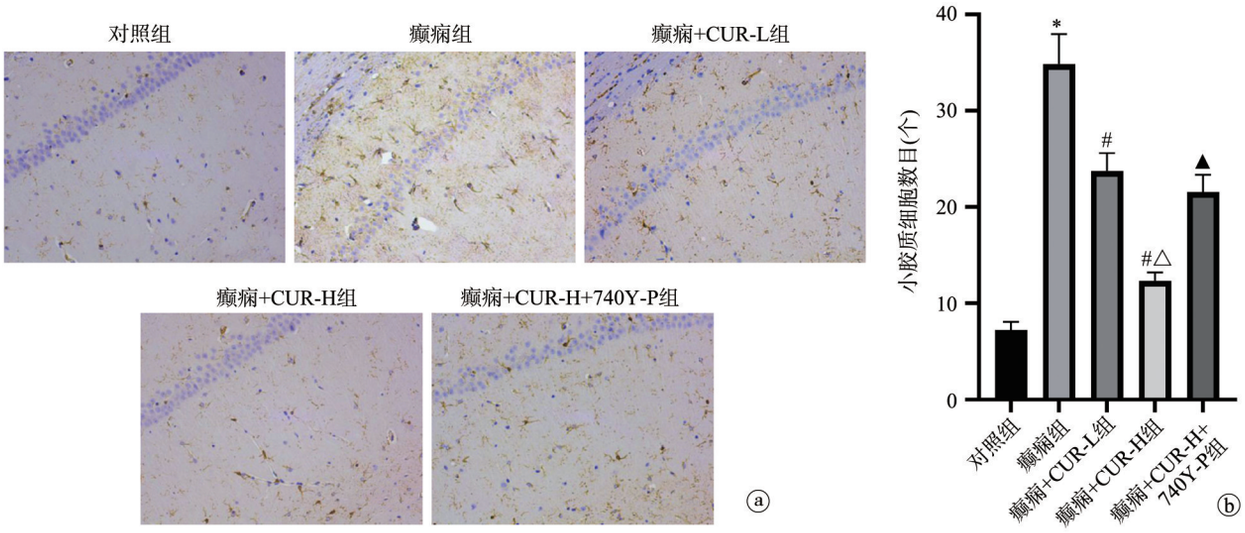
图1 尼氏染色观察大鼠海马组织神经元变化(×400)

2.3 CUR对大鼠海马组织小胶质细胞的影响

免疫组化结果显示,癫痫组大鼠海马组织小胶质细胞数目较对照组显著增多($P<0.05$)。与癫痫组相比,癫痫+CUR-L组、癫痫+CUR-H组大鼠海马组织小胶质细胞数目显著减少($P<0.05$);与癫痫+CUR-L组相比,癫痫+CUR-H组大鼠海马组织小胶质细胞数目进一步减少($P<0.05$)。与癫痫+CUR-H组相比,癫痫+CUR-H+740Y-P组大鼠海马组织小胶质细胞数目显著增多($P<0.05$),见图2。

2.4 CUR对大鼠海马组织IL-6、IL-1β、GABA水平的影响

与对照组相比,癫痫组大鼠海马组织IL-6、IL-1β水平升高($P<0.05$),GABA水平降低($P<0.05$)。与癫痫组相比,癫痫+CUR-L组、癫痫+CUR-H组大鼠海马组织IL-6、IL-1β水平降低($P<0.05$),GABA水平升高($P<0.05$);与癫痫+CUR-L组相比,癫痫+CUR-H组大



a:免疫组化法观察小胶质细胞变化(×200);b:各组小胶质细胞数目比较 *:与对照组相比,$P<0.05$;#:与癫痫组相比,$P<0.05$;△:与癫痫+CUR-L组相比,$P<0.05$;▲:与癫痫+CUR-H组相比,$P<0.05$

图2 各组大鼠海马小胶质细胞数目比较

鼠海马组织IL-6、IL-1β水平进一步降低($P<0.05$),GABA水平进一步升高($P<0.05$)。与癫痫+CUR-H组相比,癫痫+CUR-H+740Y-P组大鼠海马组织IL-6、IL-1β水平升高($P<0.05$),GABA水平降低($P<0.05$),见表2。

表2 各组大鼠海马组织IL-6、IL-1β、GABA水平比较($\bar{x}\pm s$,$n=6$)

组别	IL-6(pg/mg)	IL-1β(pg/mg)	GABA(ng/mg)
对照组	18.18±1.96	2.41±0.46	18.76±1.24
癫痫组	56.75±4.63*	7.49±0.96*	4.31±0.44*
癫痫+CUR-L组	40.52±2.54#	5.32±0.30#	8.87±0.75#
癫痫+CUR-H组	25.24±2.10#△	2.78±0.25#△	17.35±1.52#△
癫痫+CUR-H+740Y-P组	37.48±3.13▲	5.12±0.47▲	9.30±0.88▲

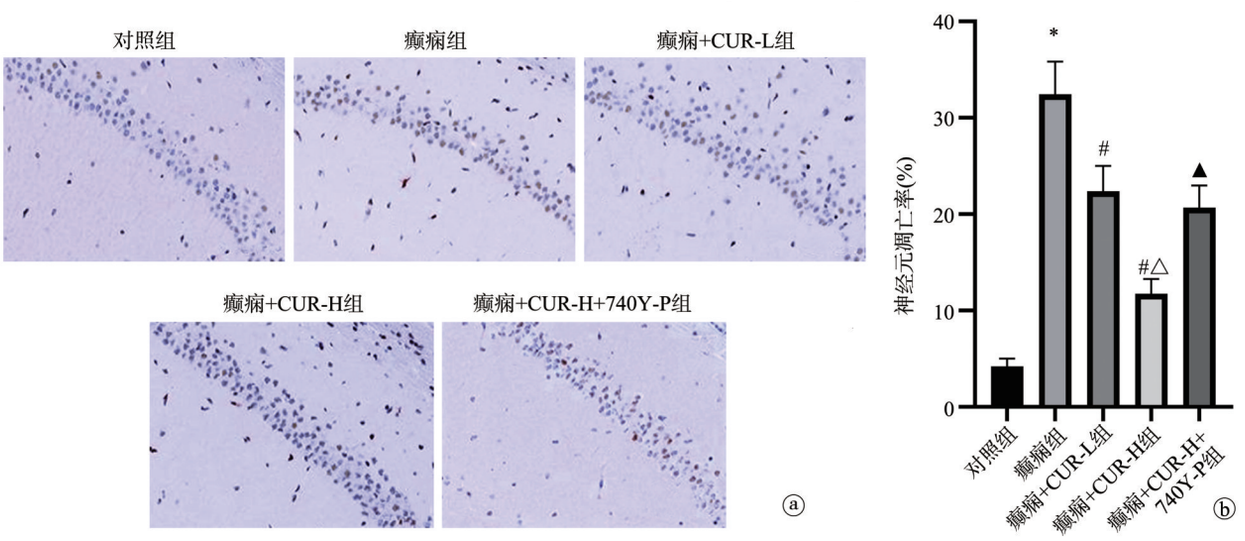
*:与对照组相比,$P<0.05$;#:与癫痫组相比,$P<0.05$;△:与癫痫+CUR-L组相比,$P<0.05$;▲:与癫痫+CUR-H组相比,$P<0.05$

2.5 CUR对大鼠海马组织神经元凋亡的影响

与对照组相比,癫痫组大鼠海马组织神经元凋亡率升高($P<0.05$)。与癫痫组相比,癫痫+CUR-L组、癫痫+CUR-H组大鼠海马组织神经元凋亡率降低($P<0.05$);与癫痫+CUR-L组相比,癫痫+CUR-H组大鼠海马组织神经元凋亡率进一步降低($P<0.05$)。与癫痫+CUR-H组相比,癫痫+CUR-H+740Y-P组大鼠海马组织神经元凋亡率升高($P<0.05$),见图3。

2.6 CUR对大鼠海马组织PI3K、Akt、mTOR磷酸化水平的影响

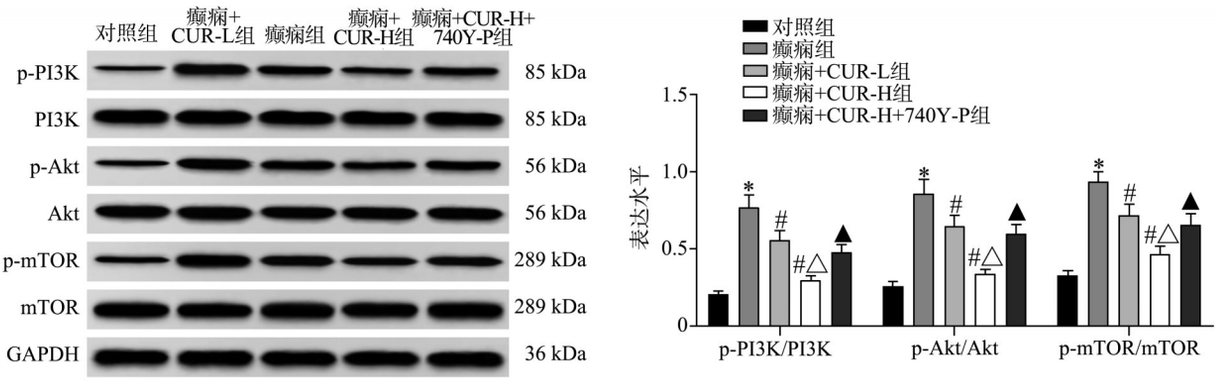
与对照组相比,癫痫组大鼠海马组织p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR水平升高($P<0.05$)。



a:TUNEL染色观察神经元凋亡情况(×200);b:各组神经元凋亡率比较 *:与对照组相比,$P<0.05$;#:与癫痫组相比,$P<0.05$;△:与癫痫+CUR-L组相比,$P<0.05$;▲:与癫痫+CUR-H组相比,$P<0.05$

图3 各组大鼠海马组织神经元凋亡率比较

与癫痫组相比，癫痫+CUR-L组、癫痫+CUR-H组大鼠海马组织p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR水平显著降低（$P<0.05$）；与癫痫+CUR-L组相比，癫痫+CUR-H组大鼠海马组织p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR水平进一步降低（$P<0.05$）。与癫痫+CUR-H组相比，癫痫+CUR-H+740Y-P组大鼠海马组织p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR水平显著升高（$P<0.05$），见图4。



*：与对照组相比，$P<0.05$；#：与癫痫组相比，$P<0.05$；△：与癫痫+CUR-L组相比，$P<0.05$；▲：与癫痫+CUR-H组相比，$P<0.05$

图4 各组大鼠海马组织PI3K、Akt、mTOR磷酸化水平比较

3 讨论

癫痫的特征是短暂的脑功能障碍，由神经元异常放电所致，目前全球约有7 000万例患者深受其扰，给家庭、社会带来了沉重的负担[16]。癫痫的发病机制较为复杂，研究发现，活性氧的增加以及活性氧诱发的神经元凋亡、炎症因子产生等均是癫痫发作的重要机制[17]。小胶质细胞是一种巨噬细胞，在癫痫状态下病灶周围的小胶质细胞被激活，刺激一系列炎症因子释放，与癫痫的病情进展密切相关[18]。小胶质细胞还具有调节干细胞增殖、组织重塑、突触修剪，促进神经再生和监测神经元活动等功能，CD11B作为小胶质细胞标志物，可以反映神经元的损伤情况[19-20]。本研究通过腹腔注射戊四氮进行癫痫大鼠造模，发现大鼠Racine等级评分明显升高，说明癫痫大鼠造模成功。本研究还发现，癫痫大鼠海马组织中IL-6水平、IL-1β水平、小胶质细胞数目、神经元凋亡率显著升高/增多，而神经递质GABA水平降低，且尼氏染色发现癫痫大鼠海马组织出现神经元丢失。这说明模型大鼠出现炎症症状和神经元损伤现象，与癫痫特征相符，进一步证实了大鼠癫痫模型的构建是成功的。IL-6、IL-1β水平增高可能与小胶质细胞向促炎的M1型极化有关，推测其原因为戊四氮注射可诱导小胶质细胞增殖并活化，进而释放大量促炎因子（如IL-6、IL-1β等），而这些炎性介质可能通过促进神经元凋亡及丢失，最终触发癫痫。

CUR是一种天然药物化学成分，已被证明能够改善脑缺血再灌注损伤大鼠的炎症和神经元凋亡[14]，并预防创伤后应激障碍引起的小鼠行为学改变和海马突触缺陷[21]，且对缺血性脑损伤大鼠具有一定的治疗作用[4]。本研究通过构建癫痫大鼠模型，并使用CUR干预发现，CUR可减轻癫痫大鼠神经元损伤，减少海马组织小胶质细胞数量，同时抑制促炎因子IL-6、IL-1β分泌和神经元凋亡，提高GABA水平，提示CUR可改善脑损伤、减少神经元凋亡，对癫痫大鼠也具有一定的治疗作用，与既往[4,14,21]研究一致。但其中的作用机制较为复杂。而PI3K/Akt/mTOR信号通路具有重要的生理功能，可抑制细胞凋亡，且该信号通路在癫痫发作时被异常激活，能够参与调节突触可塑性、神经系统发育及神经元兴奋性等过程[22]，提示CUR治疗癫痫大鼠的作用机制可能与PI3K/Akt/mTOR通路有关。

PI3K/Akt/mTOR信号通路的重要生理功能是抑制细胞凋亡，但该通路在癫痫发作时被异常激活，能够参与调节突触可塑性、神经系统发育及神经元兴奋性等过程[22]。研究发现，依维莫司通过阻碍PI3K/Akt/mTOR信号通路，对癫痫发作引起的脑损伤具有缓解作用[11]；霉酚酸酯能够通过减少PI3K/Akt/mTOR信号通路的过度激活抑制颞叶癫痫的反复发作，减轻认知缺陷和行为障碍[23]。本研究发现，p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR水平在癫痫大鼠海马组织中增高，证实该通路在癫痫发作过程中被异常激活。而CUR干预能够下调癫痫大鼠海马组织p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR水平。基于这些发现，推测CUR可能通过特异性抑制PI3K/Akt/mTOR信号通路的过度活化，进而抑制细胞凋亡、减轻炎症损伤，从而延缓癫痫的病理进程。为了验证该推测，本研究采用PI3K激

活剂740Y-P与CUR共同干预癫痫大鼠,结果发现,740Y-P减弱了CUR对癫痫大鼠海马神经元损伤的抑制作用。这说明CUR可能通过下调PI3K/Akt/mTOR信号通路改善癫痫大鼠的症状。

综上所述,CUR可能通过抑制PI3K/Akt/mTOR信号通路的激活进而减轻癫痫大鼠海马神经元损伤。本研究为寻找治疗癫痫的有效药物和靶点提供了科学参考。然而,CUR对癫痫大鼠的治疗作用可能还存在其他信号通路和途径,有待后续进行进一步探究。

[参考文献]

[1] Neri S, Mastroianni G, Gardella E, et al. Epilepsy in neurodegenerative diseases[J]. Epileptic Disord, 2022, 24(2): 249-273. doi: 10.1684/epd.2021.1406.

[2] Myers KA. Genetic epilepsy syndromes [J]. Continuum (Minneap Minn), 2022, 28(2): 339-362. doi: 10.1212/CON.0000000000001077.

[3] Kanner AM, Bicchi MM. Antiseizure medications for adults with epilepsy: a review [J]. JAMA, 2022, 327(13): 1269-1281. doi: 10.1001/jama.2022.3880.

[4] Falco-Walter J. Epilepsy-definition, classification, pathophysiology, and epidemiology [J]. Semin Neurol, 2020, 40(6): 617-623. doi: 10.1055/s-0040-1718719.

[5] Landucci E, Mazzantini C, Lana D, et al. Cannabidiol inhibits microglia activation and mitigates neuronal damage induced by kainate in an in-vitro seizure model [J]. Neurobiol Dis, 2022, 174: 105895. doi: 10.1016/j.nbd.2022.105895.

[6] Ji X, Zeng Y, Wu J. The CB2 receptor as a novel therapeutic target for epilepsy treatment[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(16): 8961. doi: 10.3390/ijms22168961.

[7] You WL, Xu ZL. Curculigoside promotes osteogenic differentiation of ADSCs to prevent ovariectomized-induced osteoporosis [J]. J Orthop Surg Res, 2021, 16(1): 279-288. doi: 10.1186/s13018-021-02389-3.

[8] Du P, Zhang X, Luo K, et al. Curculigoside mitigates hepatic ischemia/reperfusion-induced oxidative stress, inflammation, and apoptosis via activation of the Nrf-2/HO-1 pathway[J]. Hum Exp Toxicol, 2022, 41(1): 960-972. doi: 10.1177/09603271221087146.

[9] Xu Y, Wen K, Liu A, et al. Efficacy of curculigoside in protecting against ischemic brain injury through regulation of oxidative stress and NF-κB and PI3K/Akt expression[J]. J Ethnopharmacol, 2023, 301(1): 115-125. doi: 10.1016/j.jep.2022.115804.

[10] Sun X, Huang LY, Pan HX, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells and exercise restore motor function following spinal cord injury by activating PI3K/AKT/mTOR pathway [J]. Neural Regen Res, 2023, 18(5): 1067-1075. doi: 10.4103/1673-5374.355762.

[11] Huang XY, Hu QP, Shi HY, et al. Everolimus inhibits PI3K/Akt/mTOR and NF-kB/IL-6 signaling and protects seizure-induced brain injury in rats[J]. J Chem Neuroanat, 2021, 114(1): 101-111. doi: 10.1016/j.jchemneu.2021.101960.

[12] 陈 菲,陈 霞,黄财城. 星形胶质细胞外泌体对癫痫大鼠小胶质细胞及JAK2/STAT3通路的影响[J]. 卒中与神经疾病, 2022, 29(3): 267-273. doi: 10.3969/j.issn.1007-0478.2022.03.015.

[13] 王宏君,孙星星,张润莲. 基于PI3K/Akt/NF-κB信号通路探讨升阳益胃汤对肺癌大鼠免疫力的影响[J]. 天津医药, 2023, 51(7): 739-745. doi: 10.11958/20221626.

[14] 骆灵敏,郑 娅. 仙茅苷对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用及机制研究[J]. 中国中医药科技, 2022, 29(2): 213-217. doi: 10.3969/j.issn.1005-7072.2022.2.zgzyykj202202011.

[15] Van Erum J, Van Dam D, De Deyn PP. PTZ-induced seizures in mice require a revised Racine scale[J]. Epilepsy Behav, 2019, 95(1): 51-55. doi: 10.1016/j.yebeh.2019.02.029.

[16] Thijs RD, Surges R, O'Brien TJ, et al. Epilepsy in adults[J]. Lancet, 2019, 393(10172): 689-701. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32596-0.

[17] Pack AM. Epilepsy overview and revised classification of seizures and epilepsies[J]. Continuum (Minneap Minn), 2019, 25(2): 306-321. doi: 10.1212/CON.0000000000000707.

[18] Wang XJ, Hu R, Huang QY, et al. Gynostemma glycosides protect retinal ganglion cells in rats with chronic high intraocular pressure by regulating the STAT3/JAK2 signaling pathway and inhibiting astrocyte and microglia activation [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2022, 2022: 9963754. doi: 10.1155/2022/9963754.

[19] Zhu HX, Cheng LJ, Ou Yang RW, et al. Reduced amygdala microglial expression of brain-derived neurotrophic factor and tyrosine kinase receptor B (TrkB) in a rat model of poststroke depression[J]. Med Sci Monit, 2020, 26: e926323. doi: 10.12659/MSM.926323.

[20] 刘宗昱,庄文欣,王晓晓,等. 血管活性肠肽对帕金森病大鼠黑质多巴胺能神经元存活及小胶质细胞功能的影响[J]. 神经解剖学杂志, 2015, 31(4): 487-492. doi: 10.16557/j.cnki.1000-7547.2015.04.0020.

[21] Ji M, Zhang Z, Gao F, et al. Curculigoside rescues hippocampal synaptic deficits elicited by PTSD through activating cAMP-PKA signaling[J]. Phytother Res, 2023, 37(2): 759-773. doi: 10.1002/ptr.7658.

[22] Pottoo FH, Salahuddin M, Khan FA, et al. Combinatorial regimen of carbamazepine and imipramine exhibits synergism against grandmal epilepsy in rats: inhibition of pro-inflammatory cytokines and PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. Pharmaceuticals (Basel), 2021, 14(11): 1204-1214. doi: 10.3390/ph14111204.

[23] Mazumder AG, Patial V, Singh D. Mycophenolate mofetil contributes to downregulation of the hippocampal interleukin type 2 and 1β mediated PI3K/AKT/mTOR pathway hyperactivation and attenuates neurobehavioral comorbidities in a rat model of temporal lobe epilepsy [J]. Brain Behav Immun, 2019, 75(1): 84-93. doi: 10.1016/j.bbi.2018.09.020.

(编辑:魏 源)