

本文引用:高静,石景鹤,王家勤,等.拉莫三嗪对癫痫大鼠海马组织中 Caspase-3 和热休克蛋白 70 表达的影响[J].新乡医学院学报,2018,35(4):272-276. DOI:10.7683/xyxyxb.2018.04.004.

【基础研究】

拉莫三嗪对癫痫大鼠海马组织中 Caspase-3 和热休克蛋白 70 表达的影响

高 静^{1,2}, 石景鹤^{1,2}, 王家勤^{1,3}, 张迎辉²

(1. 新乡医学院第三附属医院儿科,河南 新乡 453003;2. 郑州儿童医院儿科,河南 郑州 450053;3. 新乡医学院第三附属医院儿童康复科,河南 新乡 453003)

摘要: **目的** 探讨不同剂量拉莫三嗪对戊四氮所致癫痫大鼠的行为学、海马组织形态学及 Caspase-3 和热休克蛋白 70(HSP70)表达的影响。**方法** 选取清洁级健康 6 周龄雄性 Sprague-Dawley 大鼠 100 只,随机分为正常对照组、模型组和拉莫三嗪低、中、高剂量组,每组 20 只。正常对照组大鼠腹腔注射生理盐水($3.5\text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$),其余各组大鼠均腹腔注射戊四氮($35\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)并观察其行为学变化。以连续出现 3 次 IV 级及其以上发作作为点燃标准。全部点燃后,模型组和拉莫三嗪低、中、高剂量组大鼠给予戊四氮 $35\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 每日 1 次腹腔注射维持点燃,拉莫三嗪低、中、高剂量大鼠组分别给予拉莫三嗪 $20, 30, 60\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 灌胃,连续 2 周。在末次灌胃 24 h 内,对各组大鼠进行心脏灌注固定取海马组织,采用免疫组织化学法检测海马 CA3 区 Caspase-3 和 HSP70 蛋白表达。**结果** 除正常对照组外,其余各组大鼠均有痫性发作。正常对照组大鼠海马结构完整,其他组大鼠海马神经元体积缩小,与周围组织有脱离,细胞核深染,有核分裂及核溶解,具有凋亡特征,多数细胞质呈空泡状,海马区神经元细胞排列散乱,无层次感,尼氏体减少,部分神经元丢失,细胞密度小。与正常对照组比较,模型组大鼠海马 CA3 区 Caspase-3 和 HSP70 阳性细胞数增多($P < 0.01$);拉莫三嗪低、中、高剂量组大鼠海马 CA3 区 Caspase-3 阳性细胞数均少于模型组,HSP70 阳性细胞数均多于模型组($P < 0.05$);拉莫三嗪低、中、高剂量组大鼠海马 CA3 区 Caspase-3 阳性细胞数随着剂量的增加而减少,HSP70 阳性细胞数随着剂量的增加而增加,拉莫三嗪低、中、高剂量组大鼠海马 CA3 区 Caspase-3、HSP70 阳性细胞数两两比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与正常对照组比较,模型组大鼠海马 CA3 区 Caspase-3 及 HSP70 蛋白表达均增加($P < 0.05$)。拉莫三嗪低、中、高剂量组 Caspase-3 蛋白表达低于模型组($P < 0.05$),HSP70 蛋白表达高于模型组($P < 0.05$)。拉莫三嗪低、中、高剂量组大鼠海马 CA3 区 Caspase-3 蛋白表达随着剂量的增加而降低,HSP70 蛋白表达随着剂量的增加而增加,拉莫三嗪低、中、高剂量组大鼠海马 CA3 区 Caspase-3、HSP70 蛋白表达两两比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 拉莫三嗪对戊四氮所致癫痫大鼠的癫痫发作有保护作用,可以减轻大鼠癫痫发作的严重程度,其机制可能是通过降低海马组织中 Caspase-3 表达、增加 HSP70 表达来抑制癫痫过程中的神经元凋亡。

关键词: 拉莫三嗪;癫痫;大鼠;Caspase-3;热休克蛋白 70

中图分类号: R742.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2018)04-0272-05

Effect of lamotrigine on the expression of Caspase-3 and heat shock protein 70 in hippocampus of epilepsy rats induced by pentetrazole

GAO Jing^{1,2}, SHI Jing-he^{1,2}, WANG Jia-qin^{1,3}, ZHANG Ying-hui²

(1. Department of Pediatrics, the Third Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China; 2. Department of Pediatrics, Zhengzhou Children's Hospital, Zhengzhou 450053, Henan Province, China; 3. Department of Children Rehabilitation, the Third Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China)

Abstract: **Objective** To explore the effect of different dose of lamotrigine on ethology, hippocampus histomorphology, the expression of Caspase-3 and heat shock protein 70 (HSP70) in hippocampus of epilepsy rats induced by pentetrazole. **Methods** One hundred clean healthy 6 weeks old male Sprague-Dawley rats were selected and randomly divided into normal control group, model group, low-dose lamotrigine group, medium-dose lamotrigine group and high-dose lamotrigine group, with 20 rats in each group. The rats in normal control group were intraperitoneally injected saline ($3.5\text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$); the rats in the

DOI: 10.7683/xyxyxb.2018.04.004

收稿日期: 2016-12-10

基金项目: 河南省医学科技攻关计划项目(编号: 201003077)。

作者简介: 高 静(1986-), 女, 河南洛阳人, 硕士, 住院医师, 研究方向: 小儿神经系统疾病。

通信作者: 王家勤(1955-), 女, 河南新乡人, 学士, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 小儿神经系统疾病; E-mail: wangjiaqin2005@sina.com。

other group were intraperitoneally injected pentolone ($35\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) to establish the epilepsy model and then the change of ethology of rats were observed. Three times consecutive episodes (grade IV and above) were used as kindling criteria. The rats in model group, low-dose lamotrigine group, medium-dose lamotrigine group and high-dose lamotrigine group were intraperitoneally injected pentolone ($35\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) to sustain kindling At the same time, the rats in low-dose lamotrigine group, medium-dose lamotrigine group and high-dose lamotrigine group were given lamotrigine $20, 30, 60\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ respectively by intragastric administration for two weeks. Within 24 h after the last intragastric administration, the hippocampus specimens were taken from all rats by heart perfusion. The expression of Caspase-3 and HSP70 were detected by immunohistochemistry. **Results**

All rats had seizures except normal control group. The hippocampus formation of rats in normal control group was normal. In other four groups, the volume of neurons in hippocampus of rats were small, and the neurons were separated from surrounding tissue; the hyperchromatic nucleus, karyokinesis and karyolysis were observed and most of kytoplasm appeared vacuolus and disorder of arrangement; the nissl bodies were diminished, some neurons were lost, and the cell density was small. The number of Caspase-3 and HSP70 positive cells in CA3 zone of hippocampus of rats in model group was significantly more than that in the normal control group ($P < 0.01$). The number of Caspase-3 positive cells in CA3 zone of hippocampus of rats in low-dose lamotrigine group, medium-dose lamotrigine group and high-dose lamotrigine group was less than that in the model group ($P < 0.05$), but the number of HSP70 positive cells in CA3 zone of hippocampus of rats in low-dose lamotrigine group, medium-dose lamotrigine group and high-dose lamotrigine group was more than that in the model group ($P < 0.05$). There was statistic difference in the number of Caspase-3 and HSP70 positive cells in CA3 zone of hippocampus of rats among low-dose lamotrigine group, medium-dose lamotrigine group and high-dose lamotrigine group ($P < 0.05$); the number of Caspase-3 positive cells in CA3 zone of hippocampus of rats decreased with the increase of the dose of lamotrigine, the number of HSP70 positive cells in CA3 zone of hippocampus of rats increased with the increase of the dose of lamotrigine. The expression of Caspase-3 and HSP70 protein in CA3 zone of hippocampus of rats in model group was significantly higher than that in the normal control group. The expression of Caspase-3 protein in CA3 zone of hippocampus of rats in low-dose lamotrigine group, medium-dose lamotrigine group and high-dose lamotrigine group was significantly lower than that in the model group ($P < 0.05$), but the expression of HSP70 protein was significantly higher than that in the model group ($P < 0.05$). There was statistic difference in the expression of Caspase-3 and HSP70 protein in CA3 zone of hippocampus of rats among low-dose lamotrigine group, medium-dose lamotrigine group and high-dose lamotrigine group ($P < 0.05$); the expression of Caspase-3 protein in CA3 zone of hippocampus of rats decreased with the increase of the dose of lamotrigine, the expression of HSP70 protein in CA3 zone of hippocampus of rats increased with the increase of the dose of lamotrigine; there was statistic difference in the expression of Caspase-3 protein and HSP70 protein in CA3 zone of hippocampus of rats among low-dose lamotrigine group, medium-dose lamotrigine group and high-dose lamotrigine group ($P < 0.05$). **Conclusion** Lamotrigine can protect hippocampal neurons in epileptic rats induced by pentetrazole and decrease the degree of epileptic seizure, which may be achieved through inhibiting the apoptosis of neurons by increasing the expression of HSP70 protein and decreasing the expression of Caspase-3 protein in hippocampal tissues.

Key words: lamotrigine; epilepsy; rat; containing cysteine aspartic acid protease-3; heat shock protein 70

癫痫是一种由多种病因引起的、以大脑神经元异常同步过度放电而导致的突然、短暂并反复发作的中枢神经系统功能失常为特征的脑部疾患,是神经系统的常见疾病之一。全世界癫痫患病率约为 8‰,发展中国家的患病率高于发达国家,约 60% 的癫痫患者于儿童期起病,儿童癫痫患病率高达 0.40% ~ 0.58%^[1],其发病机制较为复杂,迄今为止尚未完全阐明。目前,癫痫仍以抗癫痫药物(antiepileptic drug, AED)治疗为主,AED 根据其作用靶标可分为影响钠离子通道的药物、影响钙离子通道的药物以及影响神经递质 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)激活的药物 3 类。拉莫三嗪是一种新型抗癫痫药物,其主要是选择性作用于电压门控钠离子通道,抑制病灶内神经元反复异常放电,同时抑制谷氨酸的病理性释

放,其作用机制异于其他常用的 AED^[2],尤其是对患儿的认知功能影响较小^[3]。Caspase-3 是介导细胞凋亡的核心蛋白酶,是 Caspases 家族的核心成员, HSP70 可维持神经元内蛋白自稳,对神经元有保护作用^[4]。拉莫三嗪剂量变化是否会对 Caspase-3 和热休克蛋白 70(heat shock protein 70, HSP70)水平造成影响,目前尚未见相关研究证实。基于此,本研究应用戊四氮建立癫痫大鼠模型后给予不同浓度的拉莫三嗪进行干预,观察拉莫三嗪对戊四氮致癫痫大鼠海马神经元的保护作用及对 Caspase-3 和 HSP70 表达的影响,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物 清洁级健康 6 周龄雄性 Sprague-

Dawley (SD)大鼠 100 只,体质量(180.0 ± 20.0)g,由新乡医学院实验动物中心提供。SD 大鼠饲养于新乡医学院人体解剖学与组织胚胎学重点实验室,于 12 h 光亮/黑暗、环境温度 $18 \sim 25$ °C 下分笼喂养,普通饲料,自由进食、进水,每 2 d 更换 1 次垫料。

1.2 主要试剂与仪器 戊四氮(美国 Sigma 公司),拉莫三嗪(波兰 GlaxoSmithKline Pharmaceuticals SA 公司,进口药品注册证号 H20140478),HSP70 一抗(bs-0126R)、Caspase-3 一抗(bs-0081R)(北京博奥森生物技术有限公司),SP-9001 免疫组织化学染色试剂盒、3,3'-二氨基联苯胺(3,3'-diaminobenzidine, DAB)辣根过氧化氢酶(北京中杉金桥生物技术有限公司),Z-H-9507285 显微镜(重庆光学仪器厂),切片机(德国 LEICA 公司)。

1.3 方法

1.3.1 实验分组及各组大鼠干预措施 将 100 只 SD 大鼠随机分为正常对照组、模型组和拉莫三嗪低、中、高剂量组,每组 20 只。模型组及拉莫三嗪低、中、高剂量组大鼠每天腹腔注射戊四氮 $35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,并观察其行为学变化 30 min;正常对照组大鼠腹腔注射等体积的生理盐水。行为学判断按 Racine 分级法^[5]:0 级:无任何反应;I 级:湿狗样抖动,面肌痉挛、眨眼、动须、抽搐及节律性咀嚼;II 级:颈部肌肉痉挛,点头和(或)甩尾;III 级:一侧前肢痉挛;IV 级:双侧前肢痉挛伴伸直站立;V 级:全身阵挛甚至失去平衡及摔倒。以连续出现 3 次 IV 级及以上发作为点燃标准,即癫痫动物模型建立成功。点燃后,正常对照组大鼠继续每日腹腔注射生理盐水;其余 4 组大鼠继续腹腔注射戊四氮维持点燃,在此基础上,拉莫三嗪低、中、高剂量组大鼠分别给予拉莫三嗪 20、30、60 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 灌胃,模型组大鼠给予生理盐水灌胃,共 2 周。

1.3.2 各组大鼠海马组织形态学观察 大鼠采用 $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 水合氯醛溶液按照 $3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 腹腔注射行全身麻醉,9 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 生理盐水及 40 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 多聚甲醛溶液灌注固定,断头取脑,剪除颅骨外软组织,完整取出大脑组织,置入 40 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 多聚甲醛溶液中固定 24 h,常规脱水、透明、浸蜡、包埋,在视交叉后海马区行连续冠状切片,切片厚度为 4 μm ,将切片在 37 °C 单蒸水中捞于多聚赖氨酸玻片上,置于 58 ~ 60 °C 烤箱中干燥 3 h 后取出。切片经尼氏染色后在光学显微镜于 400 倍视野下观察各组大鼠海马组织形态学表现。

1.3.3 免疫组织化学法检测各组大鼠海马 CA3 区 Caspase-3 和 HSP70 蛋白表达 取各组大鼠海马组

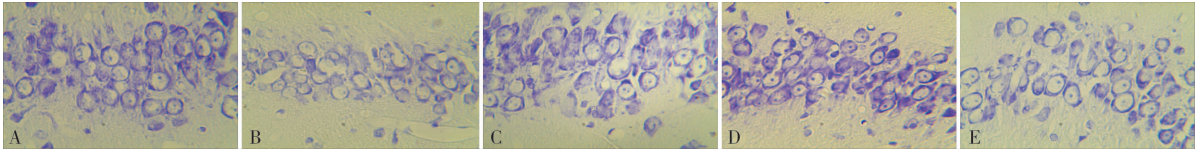
织,按照免疫组织化学染色步骤进行脱蜡、水化、去离子水孵育、滴加一抗、滴加生物素标记山羊抗兔 IgG、DAB 显色,其中正常对照组不加一抗,以 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲溶液代替一抗。每只大鼠随机选择 2 张切片,每个切片选定 CA3 区的任意 3 个高倍视野(400 倍)。阳性结果判断:Caspase-3 和 HSP70 阳性表达为细胞质中出现棕黄色颗粒。利用 Imagepro-plus 6.0 图像分析系统测量分析每个视野中 Caspase-3 和 HSP70 阳性细胞数目及平均吸光度值。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,若数据符合正态分布且方差齐,采用单因素方差分析对多组均数进行比较,多样本均数间两两比较采用最小显著性差异法,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 各组大鼠行为学表现 正常对照组大鼠均无痫性发作。模型组、拉莫三嗪低、中、高剂量组大鼠在给予戊四氮腹腔注射后 3 ~ 7 min 出现湿狗样抖动,面肌痉挛、眨眼、动须、面部抽搐,直至出现 3 次 IV 级及其以上发作。全部点燃后,模型组大鼠在腹腔注射戊四氮后 1 ~ 3 min 即出现面部及颈部肌肉痉挛、双侧前肢痉挛、全身痉挛及摔倒,部分发作形式表现为口鼻青紫、流出血性泡沫、强直阵挛,痫性发作达到 IV ~ V 级。拉莫三嗪各剂量组大鼠在腹腔注射戊四氮后 5 ~ 8 min 出现眨眼、节律性咀嚼、动须、一侧前肢痉挛、双侧前肢痉挛伴伸直站立等,多表现为 III ~ IV 级,个别发作表现为 V 级,但未出现全身阵挛强制发作。模型组及拉莫三嗪低、中、高剂量组分别有 14、18、16、18 只大鼠造模成功。

2.2 各组大鼠海马组织形态学表现 正常对照组大鼠海马神经元形态及结构完整,呈锥体形、梭形、三角形、长条形或多边形,细胞核多为椭圆形,淡染,细胞质染色清晰,齿状回(dentategyrus, DG)区神经细胞密度大,形态规则,排列整齐,为均匀紫蓝色,尼氏小体着蓝色,未见明显丢失(图 1A)。模型组大鼠海马区神经元肿胀,包膜皱缩,形态不规则,无层次感,密度增大,细胞核染色不均匀,大小不一,胞内尼氏小体明显减少,部分神经元丢失(图 1B)。拉莫三嗪低、中、高剂量组大鼠海马神经元皱缩,体积缩小, DG 区可见杂乱排列的神经元细胞,与周围组织有脱离,核深染,有核固缩、分裂及核溶解,具有凋亡特征,损伤细胞外可见多数细胞质呈水肿性空泡状(图 1C ~ E)。



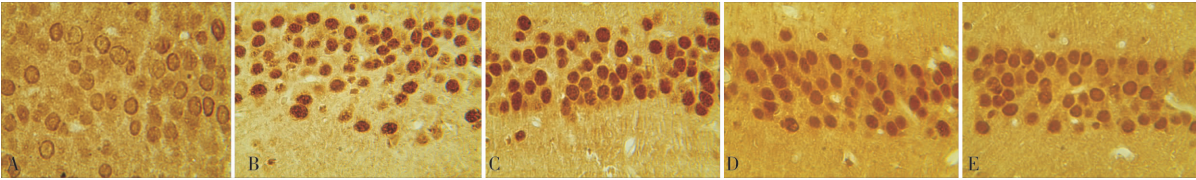
A:正常对照组;B:模型组;C:拉莫三嗪低剂量组;D:拉莫三嗪中剂量组;E:拉莫三嗪高剂量组。

图1 各组大鼠海马组织形态(尼氏染色,×400)

Fig.1 Hippocampal morphology of rats in each group(Nissl staining, ×400)

2.3 各组大鼠海马 CA3 区 Caspase-3 和 HSP70 阳性细胞数比较 结果见图2、图3 和表1。与正常对照组比较,模型组大鼠海马 CA3 区 Caspase-3 和 HSP70 阳性细胞数增多 ($P < 0.01$);拉莫三嗪低、中、高剂量组大鼠海马 CA3 区 Caspase-3 阳性细胞数均少于模型组,HSP70 阳性细胞数均高于模型组

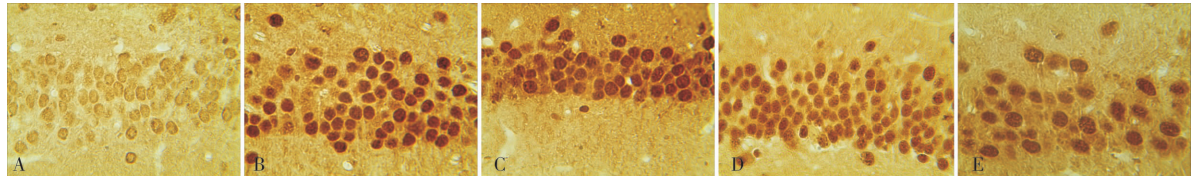
($P < 0.05$);拉莫三嗪低、中、高剂量组大鼠海马 CA3 区 Caspase-3 阳性细胞数随着剂量的增加而减少,HSP70 阳性细胞数随着剂量的增加而增加,拉莫三嗪低、中、高剂量组大鼠海马 CA3 区 Caspase-3、HSP70 阳性细胞数两两比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。



A:正常对照组;B:模型组;C:拉莫三嗪低剂量组;D:拉莫三嗪中剂量组;E:拉莫三嗪高剂量组。

图2 各组大鼠海马 CA3 区 Caspase-3 蛋白表达(DAB,×400)

Fig.2 Expressions of Caspase-3 protein in CA3 zone of hippocampus of rats in each group(DAB, ×400)



A:正常对照组;B:模型组;C:拉莫三嗪低剂量组;D:拉莫三嗪中剂量组;E:拉莫三嗪高剂量组。

图3 各组大鼠海马 CA3 区 HSP70 蛋白表达(DAB,×400)

Fig.3 Expressions of HSP70 protein in CA3 zone of hippocampus of rats in each group(DAB, ×400)

表1 各组大鼠海马 CA3 区 Caspase-3 和 HSP70 阳性细胞数比较

Tab.1 Comparison of the number of Caspase-3 and HSP70 positive cells in CA3 zone of hippocampus of rats in each group

组别	n	Caspase-3 阳性细胞数	HSP70 阳性细胞数
正常对照组	20	7.40 ± 3.25	3.20 ± 2.58
模型组	14	33.20 ± 3.94 ^a	19.50 ± 4.03 ^a
拉莫三嗪低剂量组	18	30.00 ± 1.83 ^b	21.20 ± 3.49 ^b
拉莫三嗪中剂量组	16	27.00 ± 3.40 ^{bc}	23.10 ± 3.73 ^{bc}
拉莫三嗪高剂量组	18	21.20 ± 4.52 ^{bcd}	26.10 ± 4.15 ^{bcd}

注:与正常对照组比较^a $P < 0.01$;与模型组比较^b $P < 0.05$;与拉莫三嗪低剂量组比较^c $P < 0.05$;与拉莫三嗪中剂量组比较^d $P < 0.05$ 。

2.4 各组大鼠海马 CA3 区 Caspase-3 和 HSP70 蛋白表达比较 结果见表2。与正常对照组比较,模型组大鼠海马 CA3 区 Caspase-3 及 HSP70 蛋白表达均增加,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。拉莫三嗪低、中、高剂量组 Caspase-3 蛋白表达低于模型组,HSP70 蛋白表达高于模型组,差异均有统计学意义

($P < 0.05$)。拉莫三嗪低、中、高剂量组大鼠海马 CA3 区 Caspase-3 蛋白的表达随着剂量的增加而降低,HSP70 蛋白表达随着剂量的增加而增加,拉莫三嗪低、中、高剂量组大鼠海马 CA3 区 Caspase-3、HSP70 蛋白的表达两两比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表2 各组大鼠海马 CA3 区 Caspase-3 和 HSP70 蛋白表达比较

Tab.2 Comparison of the expression of Caspase-3 and HSP70 protein in the CA3 zone of hippocampus of rats in each group

组别	n	Caspase-3 蛋白表达	HSP70 蛋白表达
正常对照组	20	0.321 ± 0.045	0.256 ± 0.022
模型组	14	0.546 ± 0.081 ^a	0.309 ± 0.019 ^a
拉莫三嗪低剂量组	18	0.484 ± 0.049 ^b	0.379 ± 0.056 ^b
拉莫三嗪中剂量组	16	0.462 ± 0.050 ^{bc}	0.428 ± 0.055 ^{bc}
拉莫三嗪高剂量组	18	0.377 ± 0.523 ^{bcd}	0.484 ± 0.090 ^{bcd}

注:与正常对照组比较^a $P < 0.01$;与模型组比较^b $P < 0.05$;与拉莫三嗪低剂量组比较^c $P < 0.05$;与拉莫三嗪中剂量组比较^d $P < 0.05$ 。

3 讨论

癫痫是儿童神经科的多发病,严重危害儿童的身心健康。拉莫三嗪作为广谱的新型抗癫痫药物,具有抗癫痫以及神经保护双重作用,目前已广泛应用于临床。癫痫反复发作所致的脑部不可逆性损伤一直是人们研究的焦点。目前,点燃动物模型主要分为急性点燃动物模型和慢性点燃动物模型^[6]。刘智良等^[7]研究证明,慢性点燃效应最符合人类癫痫发生机制。本实验采用不具有神经毒性的戊四氮制作慢性点燃癫痫大鼠模型,通过尼氏染色发现,模型组及拉莫三嗪低、中、高剂量组大鼠海马神经元皱缩、核分裂及核溶解,具有凋亡特征。经拉莫三嗪干预后损伤神经元较模型组减少,证实拉莫三嗪对癫痫损伤的脑功能改善作用与阻止神经元死亡及维持神经元结构完整性有关。

痫性发作可造成大量神经元凋亡,在神经元凋亡的级联反应中,Caspases 家族发挥了重要作用,其中Caspase-3是介导细胞凋亡的核心蛋白酶^[8-12],被称为死亡蛋白。KRAJEWSKA等^[13]发现,在脑损伤大鼠海马组织内存在大量表达的Caspase-3及凋亡神经元,推测Caspase-3可能在癫痫发作时表达增加,并促进细胞凋亡,最终使海马神经元凋亡。而有研究显示,HSP70的神经保护作用主要表现在抑制线粒体细胞色素C的释放,并阻止Caspase-3活化^[14],从而起到抗凋亡作用,通过对戊四氮制作的大鼠癫痫模型的研究发现,癫痫发作后海马区HSP70表达增加^[15]。本研究观察到正常对照组大鼠海马Caspase-3和HSP70蛋白均呈低表达,模型组大鼠海马Caspase-3和HSP70在海马神经元细胞中表达量开始较正常对照组增多,说明处于癫痫状态下,死亡蛋白Caspase-3和保护性蛋白HSP70表达均增多,拉莫三嗪低、中、高剂量组大鼠随着拉莫三嗪剂量逐渐增大,Caspase-3表达逐渐降低,HSP70表达逐渐增多,推测拉莫三嗪可能在癫痫发生过程中通过降低Caspase-3的表达、增加HSP70的表达来减少神经元凋亡,发挥神经保护的作用。拉莫三嗪可以降低癫痫大鼠海马Caspase-3的表达、增加HSP70的表达,减轻癫痫发作后大鼠海马神经元的凋亡,对戊四氮致痫大鼠海马神经元有保护作用。随着拉莫三嗪剂量的增加,Caspase-3蛋白表达逐渐降低,HSP70蛋白表达逐渐增多,说明拉莫三嗪对戊四氮致痫大鼠的神经保护作用随着剂量的增加而增强。

参考文献:

- [1] 张晓莉,曾皎,顾家鹏,等. 5种抗癫痫药物单药治疗初诊癫痫患儿2a单药保留率比较[J]. 新乡医学院学报,2016,33(4): 297-301.
- [2] SITGES M, GUAMEROS A, NEKRASSOV V, et al. Effects of carbamazepine, phenytoin, valproic acid, oxcarbazepine, lamotrigine topiramate and vinpocetine on the presynaptic Ca^{2+} channel mediated release of glutamate: comparison with the Na^{+} channel-mediated release[J]. *Neuropharmacology*, 2007, 53(7): 854-862.
- [3] VALENCIA I, PINOL-RIPOLL G, KHURANA D S, et al. Efficacy and safety of lamotrigine monotherapy in children and adolescents with epilepsy[J]. *Paediatr Neurol*, 2009, 13(2): 141-145.
- [4] 王劲,陈燕,王琳. 高体积分数氧对骨髓间充质干细胞含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3和增殖细胞核抗原表达的影响[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2016, 31(3): 217-220.
- [5] RACINE R J, STEINGART M, MEINTYRE D C. Development of kindlingprone and kindlingresistant rats: selective breeding and electrophysiological studies[J]. *Epilepsy Res*, 1999, 35(3): 183-195.
- [6] 谢学孔. 癫痫病学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1995: 233-239.
- [7] 刘智良,徐如祥,张新伟. 点燃效应癫痫动物模型研究状况及评价[J]. 第一军医大学学报, 2001, 21(8): 621-623.
- [8] LORENTE L, MARTÍN M M, ARGUESO M, et al. Serum caspase-3 levels and mortality are associated in patients with severe traumatic brain injury[J]. *BMC Neurology*, 2015, 15(1): 1-6.
- [9] 王怀立,陈继红,嵇志红,等. 甘草甜素通过抑制癫痫幼鼠高迁移率族蛋白1减轻神经元损伤的研究[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2017, 32(14): 1111-1115.
- [10] GLUSHAKOVA O, GLUSHAKOV A O, BORLONGAN C, et al. Role of Caspase-3-mediated apoptosis in chronic Caspase-3-cleaved tau accumulation and blood-brain barrier damage in the corpus callosum after traumatic brain injury in rats[J]. *J Neurotrauma*, 2018, 35(1): 157-173.
- [11] 蔡丽,周炼红,易贝茜,等. 提前光照刺激对早产近视小鼠视网膜中caspase-3表达的影响[J]. 眼科新进展, 2017, 37(9): 819-823.
- [12] 张婷婷,赵岩松,王海宇,等. N-乙酰-5-羟色胺(NAS)对视网膜缺血再灌注损伤(RI-RI)大鼠视网膜活性Caspase-3、Bcl-2、Bax表达的影响[J]. 眼科新进展, 2017, 37(8): 701-704, 708.
- [13] KRAJEWSKA M, YOU Z, RONG J, et al. Neuronal deletion of caspase 8 protects against brain injury in mouse models of controlled cortical impact and kainic acid-induced excitotoxicity[J]. *PLoS One*, 2011, 6(9): e24341.
- [14] LI C Y, LEE J S, KO Y G, et al. Heat shock protein 70 inhibits apoptosis downstream of cytochrome c release and upstream of Caspase-3 activation[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(33): 25665-25671.
- [15] EKIMOVA I V, NITSINSKAYA L E, ROMANOVA I V, et al. Exogenous protein HSP70/HSC70 can penetrate into brain structures and attenuate the severity of chemically-induced seizures[J]. *J Neurochem*, 2010, 115(4): 1035-1044.