

# 普瑞巴林对慢性颞叶癫痫大鼠海马凋亡调控基因的影响

张译丹 武士京 陶华英 张秀娜

**【摘要】 目的** 通过观察普瑞巴林对匹罗卡品慢性癫痫大鼠海马区 Bcl-2 和 Bax 表达的影响,探讨普瑞巴林治疗癫痫的药理学机制及对大鼠海马神经元的抗凋亡作用。**方法** 采用氯化锂-匹罗卡品化学诱导方法建立慢性颞叶癫痫模型。经腹腔注射普瑞巴林 40 mg/(kg·d) 连续治疗 3 周,免疫组织化学染色和 Western blotting 法检测不同处理组大鼠海马区 Bcl-2 和 Bax 表达变化。**结果** 与生理盐水对照组比较,模型组大鼠海马区 Bcl-2 和 Bax 表达水平显著升高(均  $P=0.000$ );与模型组比较,普瑞巴林治疗组大鼠海马区 Bcl-2 表达水平升高、Bax 表达水平降低,组间差异具有统计学意义(均  $P=0.000$ )。**结论** 新型抗癫痫药物普瑞巴林可通过降低慢性颞叶癫痫大鼠海马区 Bax 表达、上调 Bcl-2 表达而抑制细胞凋亡,发挥神经元保护作用。

**【关键词】** 癫痫,颞叶; 细胞凋亡; 基因, bcl-2; bcl-2 相关 X 蛋白质; 抗惊厥药; 免疫组织化学; 印迹法,蛋白质

DOI: 10.3969/j.issn.1672-6731.2012.02.018

## Effect of pregabalin on apoptotic regulatory genes in hippocampus of rats with chronic temporal lobe epilepsy

ZHANG Yi-dan<sup>1</sup>, WU Shi-jing<sup>1</sup>, TAO Hua-ying<sup>2</sup>, ZHANG Xiu-na<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Neurology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

<sup>2</sup>Department of Electroneurophysiology, Tianjin Neurological Institute, Tianjin 300052, China

<sup>3</sup>Department of Neurology, Tianjin Teda Hospital, Tianjin 300457, China

Corresponding author: WU Shi-jing (Email: wsjkobe@yahoo.com)

**【Abstract】 Objective** To observe the effect of pregabalin on the expression of Bcl-2 and Bax in hippocampus of chronic epileptic rats induced by pilocarpine, to explore the anti-epileptic pharmacology mechanism of pregabalin, and its anti-apoptotic effect on hippocampal neurons of rats. **Methods** The model of chronic temporal lobe epileptic rats induced by lithium-pilocarpine was established, then the rats in pregabalin treatment group received intraperitoneal injection of pregabalin (40 mg/kg) once daily for three weeks. The expression of Bcl-2 and Bax in hippocampus of all rats was detected by immunohistochemical technique and Western blotting. **Results** Compared with normal saline group rats, the expression of Bcl-2 and Bax in hippocampus of rats with chronic temporal lobe epilepsy was significantly increased ( $P=0.000$ , for all). Pregabalin can down-regulate the expression of Bax and up-regulate the expression of Bcl-2 in hippocampus of rats compared to model group rats ( $P=0.000$ , for all). **Conclusion** Pregabalin may have the effects of inhibiting cell apoptosis and protecting neurons through lowering Bax level and increasing Bcl-2 level in hippocampus of chronic temporal lobe epileptic rats.

**【Key words】** Epilepsy, temporal lobe; Apoptosis; Genes, bcl-2; bcl-2-associated X protein; Anticonvulsants; Immunohistochemistry; Blotting, western

癫痫为脑神经元异常放电引起的以发作性、短暂性、重复性功能障碍为特点的慢性脑部疾患,

作者单位: 300052 天津医科大学总医院神经内科(张译丹、武士京),天津市神经病学研究所神经生理室(陶华英); 300457 天津市泰达医院神经内科(张秀娜)

通讯作者: 武士京 (Email: wsjkobe@yahoo.com)

约有 25% 的癫痫患者为难治性癫痫,成人最常见的难治性癫痫为颞叶癫痫。内侧颞叶癫痫的典型脑损害部位为海马,其主要病理改变表现为神经元缺失、苔藓纤维芽生和胶质增生,其中神经元凋亡是颞叶癫痫海马神经元缺失的重要途径<sup>[1]</sup>。近年研究报告,新型抗癫痫药物托吡酯、拉莫三嗪、奥卡西平

等不仅具有较好的抗癫痫疗效,而且对神经元有一定保护作用<sup>[2]</sup>。普瑞巴林为近年来研制的新型广谱抗癫痫药物,在多种癫痫动物模型及临床不同类型癫痫的治疗中均显示出良好的抗癫痫作用<sup>[3]</sup>,但对其抗癫痫作用的药理学机制及对神经元保护作用鲜有研究,本课题在建立慢性颞叶癫痫模型的基础上,研究普瑞巴林对颞叶癫痫的治疗作用,以及对癫痫大鼠海马组织 Bcl-2 和 Bax 表达的影响,以探讨普瑞巴林治疗癫痫的作用机制及对大鼠海马神经元的抗凋亡作用。

## 材料与方 法

### 一、材料

1. 实验动物 清洁级健康雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 30 只,平均体质量( $228.43 \pm 11.53$ ) g,由军事医学科学院实验动物中心提供,饲养于天津医科大学总医院神经病学研究所动物室,常规分笼饲养,室温、自然环境下给予充足的食物和水。按照大鼠体质量,采用非实验因素的完全随机分组方法分为正常对照组(对照组)、颞叶癫痫模型组(模型组)和普瑞巴林治疗组(治疗组),每组各 10 只动物。

2. 试剂与药品 实验用氯化锂(批号:100942660)购自北京东胜泰博科技有限公司。毛果芸香碱(批号:110101,规格:8 ml,80 mg)由沈阳兴齐制药有限公司提供。地西洋(批号:1107062,规格:10 mg/支)、阿托品(批号:1106211,规格:0.5 mg/支)由天津金耀氨基酸有限公司提供。免疫试剂中 I 抗[为兔抗大鼠 Bax 多克隆抗体(1:50 或 1:400)、小鼠抗-甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)单克隆抗体(1:1000)、兔抗大鼠 Bcl-2 多克隆抗体(1:50 或 1:500)]分别购自北京中杉金桥生物技术有限公司和美国 Santa Cruz 生物技术有限公司,即用型 PV-6001 二步法免疫组织化学检测试剂盒(含内源性过氧化物酶阻断剂、体积分数为 30% 过氧化氢和辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔 IgG II 抗多聚体)、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG II 抗(1:1000)、苏木素染液均购自北京中杉金桥生物技术有限公司,化学发光显色试剂盒、二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒分别由北京索来宝科技有限公司和武汉博士德生物工程有限公司提供。普瑞巴林胶囊(批号:9408423015,规格:75 mg/粒)由美国 Pfizer 公司进口分包装,应用时以 750 mg 普瑞巴林置于 100 ml 容量瓶中,生理盐水稀释至刻

度,混匀,即可获得质量浓度为 7.50 mg/ml 的普瑞巴林溶液。

3. 实验仪器 Western blotting 检测所采用的 Mini-PROTEAN Tetra System 蛋白质电泳槽购自美国 Bio-Rad 公司。GBO-X 高级化学发光荧光凝胶成像系统为英国 Syngene 公司产品。

### 二、实验方法

1. 颞叶癫痫模型制备 (1)制备方法:模型组和治疗组均按照 3 mmol/kg 剂量腹腔注射氯化锂,24 h 后同法注射毛果芸香碱 20 mg/kg。当大鼠出现癫痫发作时,按照 Racine<sup>[4]</sup>评分标准达 V 级且发作时间持续 1 h 者腹腔注射硫酸阿托品 1 mg/kg 和地西洋 10 mg/kg,以解除癫痫发作,发作仍未缓解者可重复予以地西洋 2~3 次,直至发作缓解即完成颞叶癫痫大鼠模型的制备。其中,每周至少出现 1~2 次 IV 级和(或) V 级发作大鼠即为慢性颞叶癫痫大鼠模型制备成功者。对照组动物以相同体积的生理盐水取代氯化锂和毛果芸香碱注射。治疗组大鼠癫痫持续状态(SE)3 周后腹腔注射普瑞巴林 40 mg/kg,连续治疗 3 周。对照组和模型组大鼠腹腔注射等体积生理盐水,疗程相同。(2)癫痫发作分级标准:根据 Racine 标准共分为 6 级:0 级,无抽搐发作;I 级,面部抽搐;II 级,节律性点头;III 级,双侧前肢抽搐;IV 级,全身强直阵挛发作,站立;V 级,全身强直阵挛发作,站立并跌倒。持续出现 V 级者被判定为癫痫持续状态。

2. 免疫组织化学检测海马 Bcl-2 和 Bax 表达变化 经普瑞巴林连续治疗 3 周后,不同处理组随机选择 5 只大鼠断头处死,即刻冰上剥离颅骨,分离完整脑组织,质量分数为 4% 多聚甲醛溶液固定 24 h;石蜡包埋,连续冠状脑组织切片,层厚 5~7  $\mu\text{m}$ ;置 60  $^{\circ}\text{C}$  烤箱中烘烤 1 h,二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化,水浴抗原修复法 95~98  $^{\circ}\text{C}$  修复 15 min,自然冷却至室温,磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗 5 min( $\times 3$  次);体积分数为 30% 的过氧化氢室温处理 10 min 灭活内源性过氧化物酶,磷酸盐缓冲液冲洗 5 min( $\times 3$  次)。玻片滴加正常山羊血清封闭液,室温封闭 40 min,去除多余液体、滴加 I 抗(1:50 稀释的兔抗大鼠 Bcl-2 多克隆抗体或 1:50 稀释的兔抗大鼠 Bax 多克隆抗体),置湿盒中 4  $^{\circ}\text{C}$  过夜。磷酸盐缓冲液冲洗 5 min( $\times 3$  次),加辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG II 抗,室温孵育 1 h,磷酸盐缓冲液洗 5 min( $\times 3$  次)。DAB 室温显色,光学显微镜下控制显色时间,流水冲洗

DAB, 苏木素复染 1 min, 盐酸乙醇分化、氨水返蓝, 流水冲洗 2 min; 梯度乙醇脱水、二甲苯透明、中性树脂封片。以已知的阳性图片作为阳性对照, 磷酸盐缓冲液替代 I 抗作为阴性对照, 同步进行上述免疫组织化学染色。每只大鼠选择 5 张脑组织切片, 每组共 25 张进行免疫组织化学图像分析, 于中倍镜 ( $\times 200$ ) 下对海马各区 Bcl-2、Bax 阳性细胞计数, 求其平均值进行数据分析。

3. Western blotting 法检测海马 Bcl-2、Bax 表达 经普瑞巴林连续治疗 3 周后, 不同处理组随机选择 5 只大鼠断头取脑, 迅速分离双侧海马组织, 切碎后置 800  $\mu\text{l}$  [放射免疫沉淀分析 (RIPA) 裂解液: 苯甲基磺酰氟 (PMSF) = 1 : 100] 裂解液中, 于冰上研钵充分研磨, 静置 30 min, 4  $^{\circ}\text{C}$ 、离心半径 8.70 cm、13 000 r/min 高速离心 20 min, 弃沉淀、取上清液, 其中 10  $\mu\text{l}$  以 NanoDrop 紫外分光光度计测量总蛋白, 共测量 3 次取其平均值。剩余上清液按照体积比为 3 : 1 的比例加入 4 $\times$  上样缓冲液, 混匀后煮沸 15 min, 缓慢冷却后分装并 -80  $^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存。将等量蛋白样品缓慢加入加样孔底部, 初始电压维持在 80 V, 待溴酚蓝进入分离胶时调至 150 V, 至溴酚蓝流出分离胶时终止电泳。以聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜转膜、80 V 电压转膜 80 min。转膜结束后磷酸盐缓冲液冲洗 5 min ( $\times 6$  次), 膜封闭液室温封闭 1 h, 滴加 I 抗 (1 : 500 稀释的兔抗大鼠 Bcl-2 多克隆抗体或 1 : 400 稀释的兔抗大鼠 Bax 多克隆抗体), 4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜。次日复温 1 h, 磷酸盐缓冲液冲洗 6 次, 滴加辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG II 抗 (1 : 1000) 孵育 1 h, 磷酸盐缓冲液冲洗 5 min ( $\times 3$  次)。采用化学发光检测系统, PVDF 膜平铺于平皿内, 发光液加于膜上, ChemGenius 凝胶成像系统成像。显影后的 PVDF 膜用磷酸盐缓冲液冲洗 5 min ( $\times 3$  次), 浸于 10 ml 洗脱缓冲液 [62.5 mmol/L Tris-HCl (pH 6.8)、2% 十二烷基硫酸钠 SDS、100 mmol/L 巯基乙醇] 中, 55  $^{\circ}\text{C}$  烤箱孵育 35 min, 磷酸盐缓冲液冲洗 3 次, 同法以 GAPDH 作为内参照检测。Quantity One 凝胶图像分析软件进行灰度值分析, 目的蛋白质灰度值与 GAPDH 进行对比。

### 三、统计分析方法

实验数据采用 SPSS 17.0 统计软件进行计算与分析。计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多个样本均数间的比较采用单因素方差分析, 两两比较行  $q$  检验。以  $P \leq 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 结 果

### 一、行为学观察

模型组大鼠于腹腔注射毛果芸香碱 20 min 后即出现节律性点头、四肢抽搐、竖尾、反复跌倒, 部分呈现强直阵挛发作, 伴喉鸣、肢端青紫、口鼻可见血性分泌物, 呈癫痫持续状态。给予地西洋治疗后癫痫发作逐渐减弱, 约 2 周后出现自发性反复发作。

### 二、颞叶癫痫大鼠海马 Bcl-2 和 Bax 表达变化

1. 免疫组织化学检测 海马区可见 Bcl-2、Bax 表达阳性的神经元, 其胞质、核膜呈棕黄色。与对照组比较, 模型组大鼠海马区 Bax 阳性细胞数目显著增加, 呈深棕黄色; 治疗组大鼠海马区 Bax 阳性细胞数目减少, 但仍高于对照组 (图 1), 各组之间差异具有统计学意义 ( $P = 0.000$ , 表 1); 对照组大鼠海马区 Bcl-2 阳性细胞极少, 模型组和治疗组大鼠海马区 Bcl-2 阳性细胞数目均增加, 但以治疗组增加更显著 (图 2), 两组差异有统计学意义 ( $P = 0.000$ , 表 2)。

2. Western blotting 检测 与对照组相比, 模型组大鼠海马区 Bcl-2 和 Bax 表达水平升高, 且两组之间差异具有统计学意义 ( $P = 0.000$ , 表 3); 与模型组相比, 经抗癫痫药物普瑞巴林治疗后, 大鼠海马区 Bax 表达水平较模型组降低但仍高于对照组, Bcl-2 表达水平较模型组升高 (图 3, 4), 各组之间差异有统计学意义 ( $P = 0.000$ , 表 3)。

## 讨 论

临床研究及动物实验发现, 在癫痫模型和癫痫患者脑组织致痫灶周围均存在细胞凋亡现象<sup>[5]</sup>, 在前颞叶切除患者的颞叶组织标本中也可见到凋亡细胞<sup>[6]</sup>。癫痫发作及癫痫持续状态可诱发神经元坏死, 并加剧神经元异常凋亡, 形成海马硬化等病理现象, 使病程迁延反复, 难以治愈。细胞凋亡的发生受基因调控, *bcl-2* 家族是目前用于研究细胞凋亡常用的一类调控基因, 包括 *bax*、*bcl-2*、*bak*、*bcl-xl* 等家族分子, 其中 *bcl-2* 为凋亡抑制基因, 而 *bax* 则为促凋亡基因<sup>[7]</sup>。在正常生理状态下, *bax* 与 *bcl-2* 相对平衡稳定, 以维持机体的正常生理功能。*bcl-2* 和 *bax* 基因表达水平的高低与凋亡调控直接相关, Bax 可形成同源二聚体, 构成跨线粒体外膜孔道, 导致线粒体外膜膜电位降低, 细胞色素 C 穿过线粒体外膜外流, 使 Caspase-9 激活, 继而激活 Caspase-3, 导

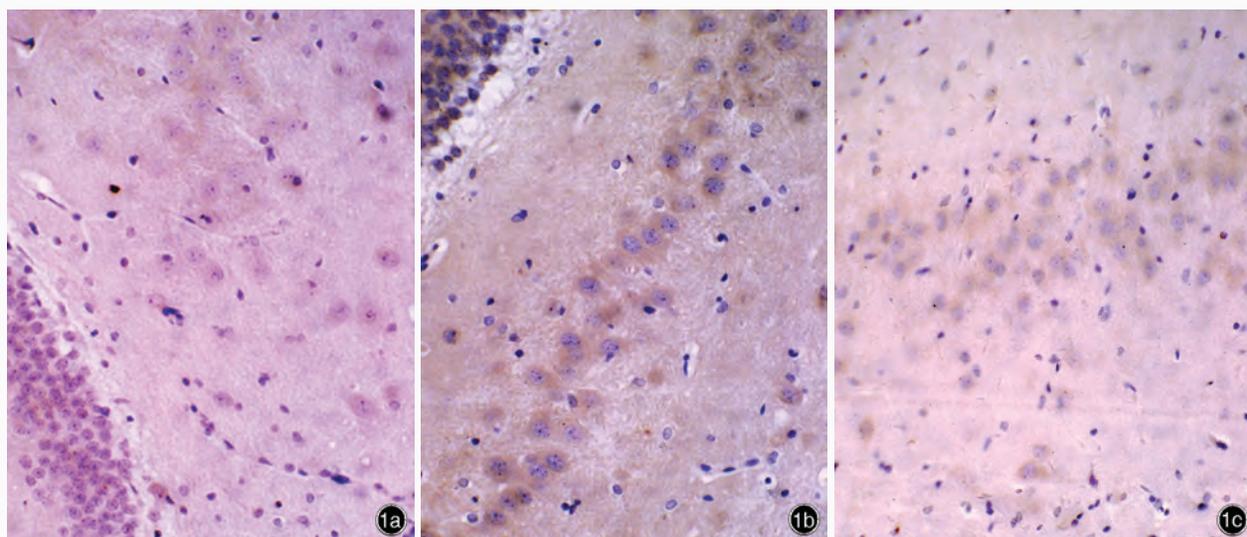


图 1 光学显微镜观察所见 免疫组织化学染色(中倍放大) 1a 对照组大鼠海马区少见 Bax 阳性细胞 1b 模型组大鼠海马区可见大量 Bax 阳性细胞 1c 普瑞巴林治疗组大鼠海马区 Bax 阳性细胞明显减少

Figure 1 Optical microscopy findings immunohistochemical staining (amplified by medium power). Fewer Bax positive cells in hippocampus of control group rats (Panel 1a). A lot of Bax positive cells in hippocampus of model group rats (Panel 1b). Bax positive cells in treatment group rats are significantly reduced (Panel 1c)

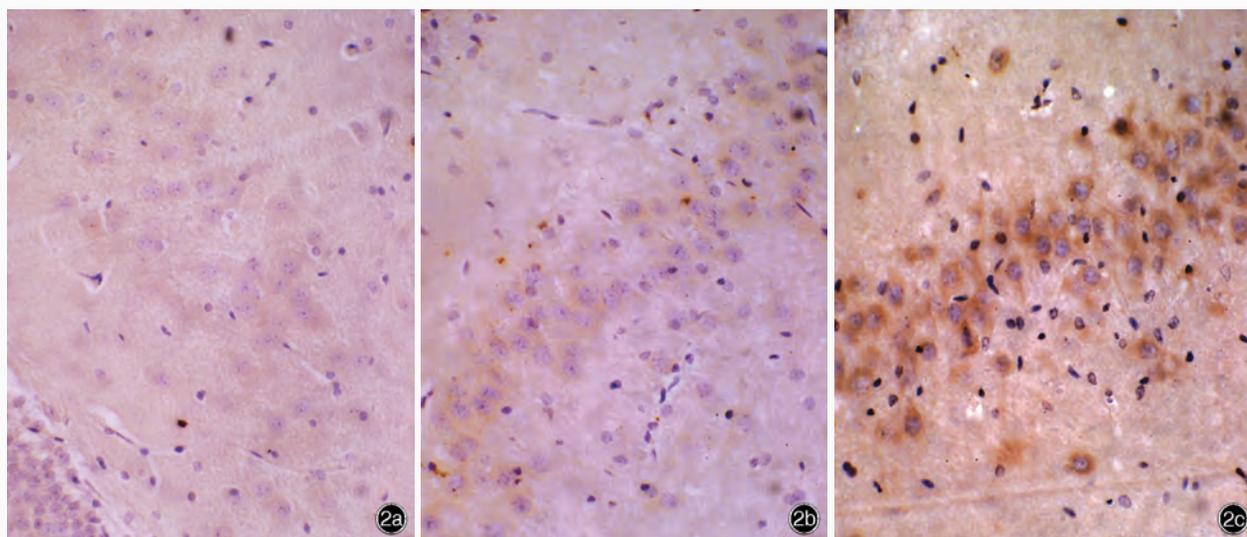


图 2 光学显微镜观察所见 免疫组织化学染色(中倍放大) 2a 对照组大鼠海马区仅见较少 Bcl-2 阳性细胞 2b 模型组大鼠海马区 Bcl-2 阳性细胞增多 2c 普瑞巴林治疗组大鼠海马区 Bcl-2 阳性细胞明显增加

Figure 2 Optical microscopy findings immunohistochemical staining (amplified by medium power). Fewer Bcl-2 positive cells in hippocampus of control group rats (Panel 2a). Bcl-2 positive cells in hippocampus of model group rats are increased (Panel 2b). Bcl-2 positive cells in hippocampus of treatment groups are significantly increased (Panel 2c)

表 1 不同处理组大鼠海马区 Bax 阳性细胞数目的比较( $\bar{x} \pm s$ , 细胞数/中倍视野)

Table 1. The expression of Bax positive cells in hippocampus of every group ( $\bar{x} \pm s$ , cells/number of medium-power field)

组别	样本例数	血管横截面积	F 值	P 值
对照组(1)	5	20.01 ± 4.45		
模型组(2)	5	42.79 ± 7.10	100.210	0.000
治疗组(3)	5	27.02 ± 5.03		

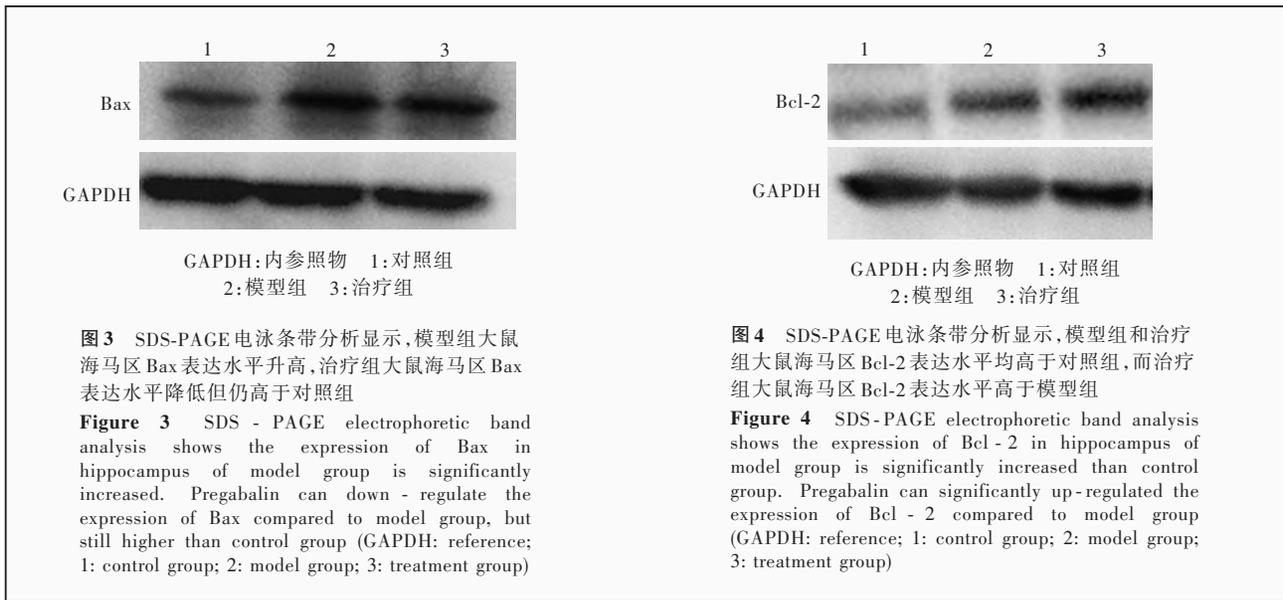
注:(1):(2)P=0.000;(1):(3)P=0.000;(2):(3)P=0.000

表 2 不同处理组大鼠海马区 Bcl-2 阳性细胞数目的比较( $\bar{x} \pm s$ , 细胞数/中倍视野)

Table 2. The expression of Bcl-2 positive cells in hippocampus of every group ( $\bar{x} \pm s$ , cells/number of medium-power field)

组别	样本例数	血管横截面积	F 值	P 值
对照组(1)	5	25.03 ± 5.17		
模型组(2)	5	36.61 ± 4.63	90.481	0.000
治疗组(3)	5	47.10 ± 7.27		

注:(1):(2)P=0.000;(1):(3)P=0.000;(2):(3)P=0.000



**表 3** 不同处理组大鼠海马区 Bax 和 Bcl-2 表达水平的比较 ( $\bar{x} \pm s$ , 灰度值)

**Table 3.** The expression of Bax and Bcl-2 in hippocampus of every group ( $\bar{x} \pm s$ , gray value)

组别	样本例数	Bax	Bcl-2
对照组(1)	5	0.25 ± 0.04	0.34 ± 0.04
模型组(2)	5	0.60 ± 0.04	0.53 ± 0.04
治疗组(3)	5	0.41 ± 0.04	0.67 ± 0.05
F 值		88.715	67.530
P 值		0.000	0.000

注: Bax, (1) : (2)  $P = 0.000$ ; (1) : (3)  $P = 0.000$ ; (2) : (3)  $P = 0.000$ 。 Bcl-2, (1) : (2)  $P = 0.000$ ; (1) : (3)  $P = 0.000$ ; (2) : (3)  $P = 0.000$

致细胞凋亡<sup>[8]</sup>。Bcl-2 可与 Bax 结合形成 Bcl-2/Bax 异源二聚体,阻止 Bax 插入线粒体外膜,调节细胞内钙离子外流,通过抗氧化和抑制氧自由基等多条途径抑制细胞凋亡。当 *bax* 相对表达水平高于 *bcl-2* 时,则 Bax 同源二聚体数量增加,促进细胞凋亡,如果 *bcl-2* 相对表达水平高于 *bax*,则促进形成 Bcl-2/Bax 异源二聚体,并使 Bcl-2 同源二聚体数量增多,从而抑制细胞凋亡<sup>[9]</sup>。本实验结果显示,模型组大鼠海马区 Bax 和 Bcl-2 表达水平均显著高于对照组,说明 *bax* 参与了癫痫大鼠海马区神经元的凋亡机制,促进了细胞凋亡。由此证明,反复癫痫发作可导致细胞凋亡,诱导神经元损伤。*bcl-2* 随着 *bax* 表达水平的升高而增高,可能得益于神经元的自我保护机制,在反复多次癫痫发作后,机体可通过反应性上调 *bcl-2* 表达水平以应对神经元损伤,抑制 *bax*

表达水平升高所引起的细胞凋亡。

普瑞巴林为一种新型抗癫痫药物,对多种癫痫类型均显示出了良好的治疗作用。在 Ryvlin 等<sup>[10]</sup>进行的一项随机双盲安慰剂对照临床试验中,共纳入 1396 例难治性癫痫患者,其结果表明普瑞巴林对难治性癫痫有效,最佳治疗剂量为 150 ~ 600 mg/d。近年来,有关癫痫发病机制的研究,仍然集中在离子跨膜运动、神经递质及其受体功能异常方面,研究发现  $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)能神经元功能下降可引起兴奋性神经环路过度活动,此为癫痫发作的重要原因<sup>[11]</sup>,而普瑞巴林为 3-氨基-5-甲基己酸的 S 型异构体<sup>[12]</sup>,是抑制性神经递质 GABA 的结构衍生物,其抗癫痫作用并不通过 GABA 机制直接发挥作用,不直接与 GABAA、GABAB 或苯二氮草类受体相结合,因此其确切的药理机制尚不明确。目前研究认为,普瑞巴林通过与 P/Q 型电压门控钙通道  $\alpha 2-\delta$  亚单位特异性结合<sup>[13]</sup>,减少钙离子内流,阻断电压依赖性钙通道,减少大脑皮质去甲肾上腺素的释放,使过度兴奋的神经元恢复常态而发挥抗癫痫、止痛、抗焦虑作用<sup>[14-15]</sup>。本实验通过对慢性颞叶癫痫大鼠模型观察,发现经普瑞巴林治疗后大鼠癫痫发作级别呈逐渐缓解趋势。提示普瑞巴林具有减轻癫痫发作次数、降低发作程度之作用,但对其具体药理作用机制尚有待进一步研究。

Das 等<sup>[2]</sup>的研究结果显示,新型抗癫痫药物拉莫三嗪、奥卡西平、唑尼沙胺、丙戊酸钠等均具有抗细胞凋亡和神经元保护作用,推测其作用机制可能与阻断 T 型钙通道和钠通道,减少钙离子和钠离子

内流有关。Kim 等<sup>[16]</sup>发现,局灶性脑缺血-再灌注模型大鼠经普瑞巴林治疗后,细胞凋亡减少,神经元损伤程度降低,具有较为明显的神经保护作用。推测可能与阻断辅助性电压依赖性钙通道、降低兴奋性氨基酸毒性有关。本实验通过免疫组织化学染色和 Western blotting 两种方法对大鼠海马 Bcl-2 和 Bax 表达水平进行分析,发现经普瑞巴林治疗后,颞叶癫痫大鼠海马区 Bax 表达水平明显降低,Bcl-2 表达水平升高,与模型组之间比较差异有统计学意义。提示普瑞巴林可能具有抑制细胞凋亡、保护神经元的作用,与以往的文献报道一致。我们推测,普瑞巴林是通过调控 *bcl-2* 和 *bax* 基因表达发挥其神经保护作用,*bcl-2* 表达水平升高能够抑制神经元凋亡,通过阻止细胞凋亡的早期环节而发挥作用,稳定线粒体膜,阻止或降低细胞皱缩、染色质浓缩和 DNA 裂解的发生等<sup>[17-18]</sup>,发挥抗癫痫、抗神经元凋亡作用。关于普瑞巴林调控 *bax* 和 *bcl-2* 表达水平,影响神经元凋亡的分子学机制,以及是否存在其他凋亡诱导基因的作用,尚有待以后的实验进一步研究加以证实。

综上所述,新型抗癫痫药物普瑞巴林不仅能够控制癫痫发作,还可抑制神经元凋亡,从而减轻因反复癫痫发作所引起的细胞损伤。

参 考 文 献

[1] Waxman S. Molecule neurology. Beijing: Science Press, 2008: 347-351. [Waxman S. 分子神经病学. 北京: 科学出版社, 2008: 347-351.]

[2] Das A, McDowell D, O'Dell CM, et al. Post-treatment with voltage-gated Na(+) channel blocker attenuates kainic acid-induced apoptosis in rat primary hippocampal neurons. *Neurochem Res*, 2010, 35:2175-2183.

[3] Delahoy P, Thompson S, Marschner IC. Pregabalin versus gabapentin in partial epilepsy: a meta-analysis of dose-response relationships. *BMC Neurol*, 2010, 10:104.

[4] Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1972, 32: 281-294.

[5] Sloviter RS, Dean E, Sollas AL, et al. Apoptosis and necrosis induced in different hippocampal neuron populations by repetitive perforant path stimulation in the rat. *J Comp Neurol*, 1996, 366:516-533.

[6] Shang W, Pang Q, Liu WH, et al. Neuron apoptosis and Bcl-2, Bax, P53 protein expression in human temporal lobe epilepsy. *Shandong Da Xue Xue Bao (Yi Xue Ban)*, 2005, 43:134-137. [尚伟, 庞琦, 刘伟红, 等. 神经元凋亡与颞叶癫痫患者海马硬化的关系. *山东大学学报(医学版)*, 2005, 43:134-137.]

[7] Liu XH, Zhang JP, He SY, et al. Expression of Bcl-2 and Bax proteins in the developing small intestine of human fetus. *Jie Pou Xue Bao*, 2007, 38:755-758. [刘学红, 张金萍, 何淑英, 等.

人胎发育过程中 Bcl-2 和 Bax 蛋白在小肠中的表达. *解剖学报*, 2007, 38:755-758.]

[8] Niquet J, Wasterlain CG. Bim, bad, and bax: a deadly combination in epileptic seizures. *J Clin Invest*, 2004, 113:960-962.

[9] Zhang T. The regulation of topiramate on the expression of bcl-2 and bax genes in hippocampal neurons in pentetrazole-induced epileptic rats. Shandong: Shandong University, 2003. [张涛. 托吡酯对戊四氮诱导的癫痫大鼠脑神经元 bcl-2、bax 基因表达的调控. 山东: 山东大学, 2003.]

[10] Ryvlin P, Perucca E, Rheims S. Pregabalin for the management of partial epilepsy. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2008, 4:1211-1224.

[11] Wang XF, Wang LY, Peng X. Ten-year advance in the study on pathologic mechanism and treatment of epilepsy. *Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi*, 2010, 10:64-70. [王学峰, 王琳媛, 彭希. 癫痫药物治疗及发病机制研究: 十年进展及展望. *中国现代神经疾病杂志*, 2010, 10:64-70.]

[12] Li JC, Wang WW, Wu X. New type antiepilepsy drug, pregabalin. *Zhongguo Lin Chuang Yao Li Xue Za Zhi*, 2009, 25: 145-148. [李建川, 王薇薇, 吴逊. 一种新型抗癫痫药普瑞巴林. *中国临床药理学杂志*, 2009, 25:145-148.]

[13] Taylor CP, Angelotti T, Fanman E. Pharmacology and mechanism of action of pregabalin: the calcium channel alpha 2-delta (alpha 2-delta) subunit as a target for antiepileptic drug discovery. *Epilepsy Res*, 2007, 73:137-150.

[14] Kavoussi R. Pregabalin: From molecule to medicine. *Eur Neurosychopharmacol*, 2006, 16 Suppl 2:128-133.

[15] Rogawski MA, Bazil CW. New molecular targets for antiepileptic drugs: alpha(2)delta, SV2A, and K(v)7/KCNQ/M potassium channels. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2008, 8:345-352.

[16] Kim YK, Leem JG, Sim JY, et al. The effects of gabapentin pretreatment on brain injury induced by focal cerebral ischemia/reperfusion in the rat. *Korean J Anesthesiol*, 2010, 58:184-190.

[17] Xu H, Sun CY, Yang J, et al. Effects of lamotrigine on the electroencephalogram and the expression of Bax and Bcl-2 in epileptic rats. *Shandong Da Xue Xue Bao (Yi Xue Ban)*, 2007, 45: 681-684. [许虹, 孙超艳, 杨佳, 等. 拉莫三嗪对癫痫大鼠的脑电图及 Bax、Bcl-2 表达的影响. *山东大学学报(医学版)*, 2007, 45: 681-684.]

[18] Kitahara Y, Taga K, Abe H, et al. The effects of anesthetics on cortical spreading depression elicitation and c-fos expression in rats. *J Neurosurg Anesthesiol*, 2001, 13:26-32.

(收稿日期:2012-02-28)

本期广告目次

申捷(齐鲁制药有限公司) .....	前插 1
波立维(赛诺菲-安万特中国公司) .....	前插 2
欧来宁(石药集团欧意药业有限公司) .....	前插 3
玄宁(石药集团欧意药业有限公司) .....	前插 4
必存(南京先声东元制药有限公司) .....	前插 5
银杏达莫注射液(贵州益佰制药股份有限公司) .....	前插 6
凯时(北京泰德制药股份有限公司) .....	前插 7
步长倍通(菏泽步长制药有限公司) .....	封三
赛捷康(珠海赛隆药业有限公司) .....	封四