

艾地苯醌对癫痫大鼠模型神经元线粒体功能、能量代谢及抗氧化作用机制研究

崔小丽, 孙 宁, 赵 瑞, 马 妮, 贾瑞华 (陕西省人民医院神经内一科, 西安 710068)

摘要: **目的** 建立癫痫模型, 研究艾地苯醌 (Idebenone) 的抗癫痫作用机制。**方法** 30只SD大鼠, 分为空白对照组 (正常大鼠)、建模组和建模+艾地苯醌干预组 (每组10只), 建模组和干预组均采用经典氯化锂-匹罗卡品的癫痫诱导方法建立癫痫大鼠模型, 艾地苯醌干预30天后检测大鼠血清、海马体组织中超氧化物歧化酶活性 (superoxide dismutase, SOD) 和丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量的变化, 通过Nissl染色评估艾地苯醌对神经元的保护作用。利用CCK-8明确艾地苯醌对癫痫细胞模型的最低适用浓度。在无镁诱导的癫痫细胞模型中检测ATP生成和线粒体膜电位, 评价艾地苯醌对神经元线粒体产能功能的影响。**结果** 建模组大鼠血清SOD活性为 190.25 ± 18.17 U/ml, 较对照组 (467.22 ± 23.43 U/ml) 降低, 建模组海马组织中SOD活性 (107.34 ± 9.33 U/ml) 较对照组 (298.77 ± 15.32 U/ml) 降低, 差异均具有统计学意义 ($t=-22.10, -16.30$, 均 $P < 0.05$); 艾地苯醌干预后大鼠血清和海马组织中SOD活性有所恢复 (384.79 ± 29.21 U/ml, 212.08 ± 24.32 U/ml), 与建模组相比升高, 差异具有统计学意义 ($t=21.06, 13.62$, 均 $P < 0.05$)。MDA的检测结果表明, 与对照组相比 (7.33 ± 0.87 nmol/L), 建模组大鼠血清中MDA含量增加 (14.01 ± 0.93 nmol/L), 海马组织中MDA含量 (23.47 ± 1.89 nmol/L) 也较对照组 (11.03 ± 1.28 nmol/L) 升高, 差异具有统计学意义 ($t=5.72, 9.19$, 均 $P < 0.05$); 艾地苯醌干预后癫痫鼠血清与海马组织中MDA含量均下降 (9.35 ± 0.83 nmol/L, 13.77 ± 1.34 nmol/L), 与建模组相比差异具有统计学意义 ($t=-17.68, -22.87$, 均 $P < 0.05$)。Nissl染色提示艾地苯醌干预后活性神经元数目增加 (1977 ± 200 个/ mm^2), 与建模组 (1387 ± 146 个/ mm^2) 相比差异具有统计学意义 ($t=3.32$, $P < 0.050$)。细胞学实验表明, 艾地苯醌干预能够提高线粒体ATP产能 (0.92 ± 0.14 vs 0.58 ± 0.04), 差异具有统计学意义 ($t=3.75$, $P=0.000$); 四甲基罗丹明甲酯 (TMRM) 荧光强度检测表明艾地苯醌干预后线粒体膜电位显著提高 (0.97 ± 0.1 vs 0.48 ± 0.06), 差异具有统计学意义 ($t=6.59$, $P=0.000$)。**结论** 适量艾地苯醌可能通过保护线粒体功能, 降低氧化应激对神经元的损伤发挥抗癫痫作用。

关键词: 癫痫; 艾地苯醌; 氧化应激; 神经元; 线粒体

中图分类号: R446.19 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2023) 01-044-06

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2023.01.009

Study on the Mechanism of Idebenone on Mitochondrial Function, Energy Metabolism and Antioxidation in Epileptic Rats Model

CUI Xiao-li, SUN Ning, ZHAO Rui, MA Ni, JIA Rui-hua

(Department of Neurology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, China)

Abstract: Objective To study the function of idebenone on neurons and the underlying mechanism in epileptic models. **Methods** 30 SD rats were divided into control group (normal rats), modeling group and modeling + idebenone intervention group (n=10 rats in each group). The classic lithium chloride-pilocarpine induced epilepsy model was established to detect the effects of idebenone on superoxide dismutase (SOD) activity and malondialdehyde (MDA) level in serum and hippocampus after 30 days of intervention. Function of idebenone on neurons was detected by Nissl staining. CCK-8 was used to determine the minimum appropriate concentration of idebenone for epilepsy cell models. ATP production and mitochondrial membrane potential were detected in the Mg-free epilepsy cell mode. **Results** The serum SOD activity in the modeling group was 190.25 ± 18.17 U/ml, which was lower than that in the control group (467.22 ± 23.43 U/ml), and the SOD activity in the hippocampus of the modeling group (107.34 ± 9.33 U/ml) was lower than that in the control group (298.77 ± 15.32 U/ml). The differences were statistically significant ($t=-22.10, -16.30$, all $P < 0.05$). SOD activity in serum and hippocampal tissue of rats recovered after intervention of idebenone, (384.79 ± 29.21 U/ml, 212.08 ± 24.32 U/ml), which was higher than that of the modeling group, with statistical difference ($t=21.06, 13.62$, all $P < 0.05$). Compared with the control group (7.33 ± 0.87

基金项目: 陕西省自然科学基金基础研究计划 (2021JQ-903): 艾地苯醌对癫痫持续状态大鼠学习记忆的影响及其机制的研究。

作者简介: 崔小丽 (1983-), 女, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 癫痫和神经重症, E-mail: lili6416669@126.com。

通讯作者: 贾瑞华 (1986-), 男, 博士, 主治医师, 研究方向: 癫痫, E-mail: jiarh8@163.com。

nmol/L), the content of MDA in serum in the modeling group was increased (14.01 ± 0.93 nmol/L). MDA content in hippocampus (23.47 ± 1.89 nmol/L) was higher than that in control group (11.03 ± 1.28 nmol/L), and the difference was statistically significant ($t=5.72, 9.19, \text{all } P < 0.05$). MDA in serum and hippocampal tissue of epileptic rats decreased (9.35 ± 0.83 nmol/L, 13.77 ± 1.34 nmol/L) after idebenone intervention, and the difference was statistically significant compared with the model group ($t=-17.68, -22.87, P < 0.05$). Nissl staining indicated that the number of active neurons increased after idebenone intervention ($1\,977 \pm 200$ cells/mm²), and the difference was statistically significant compared with the model group ($1\,387 \pm 146$ cells/mm²) ($t=3.32, P < 0.050$). Idebenone intervention could increase mitochondrial ATP productivity (0.92 ± 0.14 vs 0.58 ± 0.04), and the difference was statistically significant ($t=3.75, P=0.000$). TMRM fluorescence intensity assay showed that the mitochondrial membrane potential was significantly increased after the intervention of idebenone (0.97 ± 0.1 vs 0.48 ± 0.06), the difference was statistically significant ($t=6.59, P=0.000$). **Conclusion** Idebenone can inhibit the oxidative stress induced neuronal damage in epileptic seizures by protecting the capacity of mitochondria and play an antiepileptic role.

Keywords: epilepsy; idebenone; oxidative stress; neurons; mitochondria

线粒体是细胞重要的产能结构, 神经元线粒体功能对于维持神经元稳态和生理功能具有重要意义^[1-4]。癫痫常伴随有神经元异常激活^[5-8], 导致神经系统对能量的需求增加^[9-12], 线粒体是活性氧产生的主要位点, 极易发生氧化应激相关的损伤, 导致神经元缺少 ATP, 离子稳态失衡, 进一步加剧氧化应激, 因此癫痫的进展常伴随有氧化应激平衡的失调和线粒体功能损伤^[8, 13]。最新研究表明, 神经系统能量代谢稳态的恢复对于改善药物难治性癫痫患者的治疗现状具有重要作用^[14-17]。因此以线粒体为靶标的神经系统疾病的治疗越来越受到人们重视^[18]。我们前期的研究表明艾地苯醌可减少癫痫持续状态大鼠自发发作的次数及频率, 发挥抗癫痫作用^[19], 而作为一种可溶性辅酶 Q10 的结构类似物, 艾地苯醌在癫痫发作时对线粒体功能、抗氧化的影响仍有待研究^[20-21]。本研究拟从线粒体功能和能量代谢的角度研究艾地苯醌的抗癫痫作用, 为寻找新的抗癫痫药物提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

1.1.1 动物来源: 36 只健康清洁级别的 Sprague-Dawley (SD) 雄性大鼠购于西安交通大学实验管理中心, 动物合格证号: SCXK (陕) 2008-004。

1.1.2 细胞模型: 6 孔板在取样前一天用无菌 0.1mg/ml 多聚赖氨酸 (PDL) 进行包被。取孕 19 ~ 20 天 SD 大鼠的胎鼠海马组织, 分离纯化的细胞置于预处理的 6 孔板中, 用含 Neurobasal, 2ml/dl 50 × B27, 1ml/dl 100 × Glutamax 和 0.5ml/dl 200 × 双抗的培养液进行培养。

1.2 仪器与试剂 氯化锂, 匹罗卡品, 溴甲基东莨菪碱 (Sigma, 美国); 地西洋注射液 (西安利君精华药业有限公司); 艾地苯醌 (S2605, Selleck 中国); 无镁细胞外液 (14170112, Gibco™ HBSS); 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性检测试剂盒、丙二醛 (malonic dialdehyde, MDA) 含

量检测试剂盒 (上海 Beyotime 生物科技有限公司, 批号: S0103, S0131S); CCK-8 检测试剂盒 MCE (Cat. No: HY-K0301); ATP 分析检测试剂盒 (ab83355, Abcam); TMRM 染色工作液 (ab113852, Abcam); 多功能酶标仪 (Multiskan SkyHigh, 赛默飞世尔科技有限公司, 中国); 荧光倒置显微镜 (Nikon, 日本)。

1.3 研究方法

1.3.1 动物与细胞分组: 设置空白对照组 (正常大鼠)、建模组和建模 + 艾地苯醌干预组, 每组 10 只。采用此前研究使用的氯化锂 - 匹罗卡品诱导方式建模^[19]: 氯化锂 (3 mEq/kg) 注射于实验大鼠的腹腔, 17 ~ 20h 后腹腔注射匹罗卡品 (30 mg/kg)。使用匹罗卡品前 30min 将 1 mg/kg 剂量的溴甲基东莨菪碱皮下注射以减轻建模时胆碱能作用。艾地苯醌溶于含 5g/dl 羧甲基纤维素的生理盐水中。建模终止后 12 h 给予干预组艾地苯醌灌胃 (120 mg/kg), 模拟临床给药周期, 每天 1 次, 持续 30 天; 空白对照组、建模组大鼠平行给予 5g/dl 羧甲基纤维素灌胃。

原代神经细胞培养 7 ~ 10 天后分为三组: 常规培养 (对照组)、无镁细胞外液培养组 (诱导建模组)、无镁细胞外液 + 艾地苯醌组 (干预组)。诱导建模组与干预组均利用经典无镁细胞外液培养诱导方法培养细胞^[22], 两组细胞培养 2~4h 后更换常规培养液, 用于后续实验。

1.3.2 组织和血清样本制备: 实验结束后, 10g/dl 水合氯醛 (3.5 ml/kg) 麻醉大鼠, 血清用于测定 SOD 活性、MDA 水平。揭开颅骨取少量脑海马体组织, 使用匀浆仪匀浆, 4℃ 高速离心后取上清, 用于测定组织 SOD, MDA 水平。0.37g/dl 硫化钠生理盐水灌注, 4ml/dl 多聚甲醛 (4℃, pH = 7.4) 灌注固定剩余脑组织后包埋、切片。

1.3.3 超氧化物歧化酶活性、丙二醛水平检测: SOD 活性和 MDA 含量检测采用化学显色、比色方

法检测,具体操作严格按说明书流程进行,均为显色反应,反应结束后进行比色分析。

1.3.4 Nissl 染色:组织切片经常规脱蜡,1g/dl 甲苯胺蓝在 60℃孵箱中染色 15min,蒸馏水清洗后使用 95ml/dl 乙醇分化,100ml/dl 乙醇脱水,二甲苯透明后拍照,在 200 倍显微镜下,随机选择的 5 个视野中对 Nissl 阳性小体进行计数。

1.3.5 神经元细胞活力实验:细胞毒性检测实验选取 0, 1, 2, 5, 10, 20, 50 和 100 $\mu\text{mol/L}$ 艾地苯醌浓度梯度,药物处理 24h 后加入 CCK-8,酶标仪 470nm 波长检测各孔的吸光值。使用 Gene5 软件 (BioTech) 进行分析。

1.3.6 线粒体膜电位、ATP 产量的检测:采用 ATP 分析检测试剂盒检测上述各组的 ATP 产量,检测原理为甘油的磷酸化产物在 570 nm 处有吸收峰,以标准品 ATP 产量为对照,可通过分光光度法定量。反应全程避光。现配 PBS+detergent 工作液裂解细胞,黑色 96 孔板中各孔加入标准品、30 μl 细胞裂解液+10 μl ATP 底物,振荡混匀后于 570nm 测吸光度值。ATP 浓度 = $(A_{\text{样品}}/A_{\text{标准}}) \times \text{稀释倍数}$ [23]。

线粒体膜电位由 TMRM 染色法检测,TMRM (四甲基罗丹明甲酯)是一种能渗入细胞的、带正电荷的红橙色染料,能够标记具有活性的线粒体,很容易在活跃的线粒体中积累。而去极化或失活的线粒体膜电位会降低,表现为 TMRM 染色(阳性率)降低。实验步骤:消化离心收集细胞,用适量 TMRM 染色工作液重悬细胞,调整密度至 7×10^5 个/ml。细胞培养箱中孵育 30min,多功能酶标仪/检测分析结果 [24]。

1.4 统计学分析 定量数据采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,使用 GraphPad Prism8 进行数据统计分析与作图。活性比率卡方统计,组间比较采用单因素方差分析以及 t -Test 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 艾地苯醌对癫痫鼠血清、海马体中 SOD 活性和 MDA 含量的影响 与对照组大鼠相比,建模组(癫痫建模组)血清中 SOD 活性降低 (190.25 ± 18.17 U/ml vs 467.22 ± 23.43 U/ml),MDA 水平增加 (14.01 ± 0.93 nmol/L vs 7.33 ± 0.87 nmol/L),差异具有统计学意义 ($t=-22.10, 5.72$, 均 $P < 0.05$)。与建模组相比,艾地苯醌可以显著提高 SOD 活性 (384.79 ± 29.21 U/ml),并降低 MDA 含量 (9.35 ± 0.83 nmol/L),差异具有统计学意义 ($t=21.06, -17.68$, 均 $P < 0.05$)。上述结果表明艾地苯醌有助于提高癫痫鼠血清的抗氧化水平。

海马组织检测结果表明,与对照组大鼠相比,

建模组(癫痫建模组)SOD 酶活性下降 (107.34 ± 9.33 U/ml vs 298.77 ± 15.32 U/ml),MDA 水平增加 (23.47 ± 1.89 nmol/L vs 11.03 ± 1.28 nmol/L),差异具有统计意义 ($t=-16.30, 9.19$, 均 $P < 0.05$)。与建模组相比,艾地苯醌可提高大鼠海马组织 SOD 酶活性 (212.08 ± 24.32 U/ml),并降低 MDA 水平 (13.77 ± 1.34 nmol/L),差异均具有统计学意义 ($t=13.62, -22.87$, 均 $P < 0.05$)。提示艾地苯醌可提高癫痫模型海马体组织的抗氧化水平。

2.2 艾地苯醌对大鼠海马神经元的保护作用 海马组织尼氏染色结果表明,与正常组相比,癫痫建模组海马神经元密度降低 (1387 ± 146 个/ mm^2 vs 2128 ± 125 个/ mm^2),差异具有统计学意义 ($t=-6.78, P=0.000$);艾地苯醌组海马神经元密度 (1977 ± 200 个/ mm^2) 与正常组相比 (2128 ± 125 个/ mm^2),差异无统计学意义 ($t=22.08, P=0.193$);与癫痫组相比,艾地苯醌干预组神经元密度增加 (1977 ± 200 个/ mm^2 vs 1387 ± 146 个/ mm^2),差异具有统计学意义 ($t=3.32, P=0.000$)。

2.3 艾地苯醌对神经元活力的影响 见表 1。为了明确艾地苯醌的体外最低使用剂量,用 0, 1, 2, 5, 10, 20, 50 和 100 $\mu\text{mol/L}$ 艾地苯醌处理原代细胞 24h 后,进行 CCK-8 细胞活力检测。结果显示,0 ~ 50 $\mu\text{mol/L}$ 艾地苯醌对神经元细胞活性无影响,当浓度高至 100 $\mu\text{mol/L}$ 时神经元活力受到显著抑制。因此本研究采用 1 $\mu\text{mol/L}$ 艾地苯醌进行后续实验。

表 1 不同浓度艾地苯醌对神经元活性的影响

浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	细胞活力 (%)	t	P
0	100	1	-
1	98 \pm 6	0.28	0.532
2	98 \pm 12	0.18	0.694
5	91 \pm 11	0.03	0.066
10	91 \pm 18	0.02	0.103
20	89 \pm 5	0.03	0.067
50	90 \pm 3	0.02	0.072
100	25 \pm 5	0.00	0.000

2.4 艾地苯醌能够恢复癫痫细胞线粒体的产能功能 细胞学实验表明,与常规培养组相比,癫痫建模组 ATP 产量降低 (0.58 ± 0.04 vs 1),差异具有统计学意义 ($t=49.41, P=0.037$),使用 1 $\mu\text{mol/L}$ 艾地苯醌干预后神经元 ATP 产生水平与对照组 (0.92 ± 0.14 vs 1) 的差异无统计学意义 ($t=1.94, P=0.109$);艾地苯醌干预组能够恢复线粒体的产能功能,与癫痫建模组相比,艾地苯醌干预组 ATP 产量提高 (0.92 ± 0.14 vs 0.58 ± 0.04),差异具有统计学意义

($t=3.75, P=0.000$)。TMRM 染色法检测艾地苯醌对线粒体膜电位的影响的结果表明,与常规培养组相比,癫痫建模组 TMRM 染色强度降低(0.48 ± 0.06 vs 1),提示癫痫建模组线粒体膜电位降低,癫痫组线粒体功能较对照组显著降低,差异具有统计学意义($t=-22.08, P=0.000$)。与癫痫建模组相比,使用 $1 \mu\text{mol/L}$ 艾地苯醌干预组能够很好地保护线粒体膜电位,艾地苯醌干预组较癫痫建模组膜电位升高(0.97 ± 0.1 vs 0.48 ± 0.06),干预组与建模组之间的差异具有统计学意义($t=6.59, P=0.000$)。以上结果均提示,艾地苯醌能够对线粒体的产能功能进行有效保护。

3 讨论

癫痫的发作常由大脑神经元同步异常放电导致,尽管抗癫痫药物持续更新迭代,仍有超过 30% 患者进展为难治性癫痫^[25-26]。癫痫发作后大脑的组织结构、信号通路、物质代谢发生一系列变化,导致神经元的损伤凋亡、苔藓纤维芽生、胶质增生以及炎症发生等一系列反应^[27]。海马神经元的损伤和死亡会进一步促进癫痫进展,因此与神经元损伤有关的信号通路逐渐成为癫痫潜在的治疗靶点。

在红藻氨酸、匹罗卡品等经典化学诱导的癫痫模型中均检测到多个脑区脂质过氧化标记物的增加,及抗氧化物的活性降低^[28-30],提示癫痫过程中可能存在氧化还原状态的失衡。在遗传性癫痫易感大鼠中可检测到抗氧化酶活性的降低以及过氧化物的增加^[31-33]。而转基因动物模型进一步证实了氧化应激在癫痫发作以及发展中的作用^[34-36],过表达线粒体中的 SOD2 能发挥对海马神经元的保护作用。在药物难治性癫痫和癫痫持续状态患者的海马和血液中均检测到抗氧化酶活性的降低^[37-38],提示抗氧化或可能缓解癫痫发作。神经系统的代谢紊乱会扰乱神经元兴奋性以及突触功能,导致癫痫的发生^[39-40],艾地苯醌目前已被用来治疗神经退行性疾病和病因为线粒体功能障碍的患者,那么艾地苯醌是否能在治疗癫痫过程中通过保护线粒体功能发挥抗氧化及去除自由基的作用仍有待阐明。

艾地苯醌是可溶性辅酶 Q10 类似物,比辅酶 Q10 更易穿过血脑屏障,一系列临床前研究表明艾地苯醌可对抗 β 淀粉样蛋白产生的神经毒性,发挥神经保护作用。我们前期的研究亦表明艾地苯醌可以减少癫痫持续状态大鼠后期的反复自发作,与经典研究的结论一致,我们认为艾地苯醌可能通过减少苔藓纤维芽生发挥抗癫痫发生的作用。神经元活动需要大量 ATP 并维持很高的代谢转化效率^[41],但脑组织中几乎没有过氧化氢酶,而谷胱甘肽过氧化物酶,还原型谷胱甘肽和维生素 E 等抗氧

化物质的丰度也很低,因此脑组织极易受到氧化应激相关的损伤。癫痫发作会剧烈地扰动大脑能量代谢。有研究表明糖酵解产物丙酮酸可以发挥抗惊厥发作的功能^[42],癫痫患者及癫痫动物模型中常出现乳酸堆积^[43],表明癫痫发生过程存在能量代谢稳态失衡^[44],因此,以线粒体功能为靶标的癫痫治疗策略受到人们的重视。

线粒体呼吸链是细胞氧化磷酸化发生的重要场所,有研究报道癫痫发作后 ATP 的消耗增加,癫痫持续发作导致线粒体膜电位去极化以及线粒体衰竭。我们前期的研究表明艾地苯醌可减少大鼠自发癫痫发作的次数及频率,恢复大鼠的认知能力。艾地苯醌作为一类靶向线粒体的抗氧化剂,在癫痫发作后能否通过改善脑能量代谢和氧化应激状态发挥抗癫痫作用仍有待阐明。与维生素 E 等经典抗氧化物相比,艾地苯醌能够更有效地抑制活性氧以及过氧化物的生成,维持氧化还原稳态。SOD 在体内发挥修复细胞和减少过氧化物的作用,老年急性脑出血并发癫痫患者的血清中 SOD 降低、MDA 升高^[45],目前艾地苯醌对该酶活性影响的研究较少^[46-47]。本研究中,我们在癫痫大鼠模型中检测了使用艾地苯醌后大鼠血清与海马组织中 SOD 酶活性的变化,同时也检测了艾地苯醌对 MDA 生成的影响。我们通过经典的癫痫诱导细胞模型,研究和探索了艾地苯醌对恢复癫痫发生带来的能量调节紊乱的作用,结果提示艾地苯醌能够恢复海马组织中的氧化还原平衡,保护线粒体的产能功能,但其中的分子机制仍有待进一步阐释。阐明这一现象背后的线粒体功能机制将从能量代谢角度解释抗癫痫药物作用的理论依据,如可从根本上治疗药物难治性癫痫,将有良好的市场前景,同时也可减少癫痫共病的发生,降低国家与人民的经济负担。

本研究评价了艾地苯醌对癫痫动物模型和细胞神经元的抗氧化作用,并从能量代谢的角度探索了艾地苯醌对线粒体功能的保护作用。我们的研究表明艾地苯醌能够保护癫痫鼠的神经元,对大鼠血清及海马组织中 SOD 酶活性的恢复、MDA 的清除具有促进作用,在细胞模型中我们检测到艾地苯醌对线粒体产能具有保护作用。对于给药的时间窗、给药浓度、时长,仍在进一步研究中。

参考文献:

- [1] CARDOSO S. Special issue "mitochondria and brain disease"[J]. Biomedicine, 2022, 10(8):1854.
- [2] SEMINOTTI B, BRONDANI M, RIBEIRO R T, et al. Disturbance of mitochondrial dynamics, endoplasmic reticulum-mitochondria crosstalk, redox homeostasis, and inflammatory response in the brain of glutaryl-CoA dehydrogenase-deficient mice: Neuroprotective

- effects of bezafibrate[J]. *Molecular Neurobiology*, 2022, 59(8):4839-4853.
- [3] PAB T, WIESNER R J, PLA-MARTÍN D. Selective neuron vulnerability in common and rare diseases-mitochondria in the focus[J]. *Front Mol Biosci*, 2021,8:676187.
- [4] SUTHERLAND T C, SEFIANI A, HORVAT D, et al. Age-dependent decline in neuron growth potential and mitochondria functions in cortical neurons [J]. *Cells*,2021,10(7):1625.
- [5] LEROUX M, MILON-HARNOIS G, DELION M, et al. Added value of high-resolution electrical source imaging of ictal activity in children with structural focal epilepsy[J]. *Clinical Neurophysiology*, 2022,140:251-253.
- [6] LANG J, JESCHKE S, MÜLLER R M, et al. Knowledge and attitudes towards epilepsy: A survey of people with epilepsy [J]. *Epilepsy Res*, 2022,184:106964.
- [7] CHEN Peng, CHEN Fuchao, ZHOU Benhong. Understanding the role of Glia-Neuron communication in the pathophysiology of epilepsy: A review [J]. *J Integr Neurosci*,2022,21(4):102.
- [8] PARSONS A L M, BUCKNOR E M V, CASTROFLORIO E, et al. The interconnected mechanisms of oxidative stress and neuroinflammation in epilepsy [J]. *Antioxidants (Basel)*. 2022,11(1):157.
- [9] QIAO Qi, QU Zhenzhen, TIAN Shuang, et al. Ketogenic diet alleviates hippocampal neurodegeneration possibly via ASIC1a and the mitochondria-mediated apoptotic pathway in a rat model of temporal lobe epilepsy [J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2022,18:2181-2198.
- [10] KOVAC S, DINKOVA KOSTOVA A T, HERRMANN A M, et al. Metabolic and homeostatic changes in seizures and acquired Epilepsy-Mitochondria, Calcium dynamics and reactive Oxygen species[J]. *Int J Mol Sci*,2017,18(9):1935.
- [11] KUNZ W S, BIMPONG-BUTA N Y, KUDIN A P, et al. The role of mitochondria in epilepsy: implications for neurodegenerative diseases[J]. *Toxicol Mech Methods*,2004,14(1/2):19-23.
- [12] UYTTERHOEVEN V, KAEMPF N, VERSTREKEN P. Mitochondria re-set epilepsy[J]. *Neuron*, 2019, 102(5):907-910.
- [13] FABISIAK T, PATEL M. Crosstalk between neuroinflammation and oxidative stress in epilepsy [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10:976953.
- [14] DIENEL G A, GILLINDER L, MCGONIGAL A, et al. Potential new roles for glycogen in epilepsy[J]. *Epilepsia*, 2022. DOI: 10.1111/epi.17412.online ahead of Print.
- [15] LIU Ling, WANG Jing, LI Haiyu, et al. An intractable epilepsy phenotype of ASNS novel mutation in two patients with asparagine synthetase deficiency[J]. *Clin Chim Acta*, 2022, 531:331-336.
- [16] MOHI-UD-DIN R, MIR R H, MIR P A, et al. Dysfunction of ABC transporters at the surface of BBB: Potential implications in intractable epilepsy and applications of nanotechnology enabled drug delivery [J]. *Curr Drug Metab*. 2022, 23(9): 735-756.
- [17] YAMANAKA G, ISHIDA Y, KANOU K, et al. Towards a treatment for neuroinflammation in epilepsy: Interleukin-1 receptor antagonist, anakinra, as a potential treatment in intractable epilepsy[J]. *Int J Mol Sci*, 2021,22(12):6282.
- [18] ANGELOVA P R, ABRAMOV A Y. Role of mitochondrial ROS in the brain: from physiology to neurodegeneration[J]. *FEBS Lett*, 2018,592(5):692-702.
- [19] 崔小丽, 蒋锋, 山媛, 等. 艾地苯醌对癫痫大鼠反复自发癫痫发作的影响 [J]. *山西医科大学学报*, 2019, 50(7): 913-916.
- CUI Xiaoli, JIANG Feng, SHAN Yuan, et al. Effects of idebenone on the spontaneous recurrent seizures in epileptic rats[J]. *J Shanxi Med Univ*,2019,50(7): 913-916.
- [20] NALCACIOGLU P, KAVUNCU S, TASKIN TURKMENOLU T, et al. The effect of idebenone and corticosteroid treatment on methanol-induced toxic optic nerve and retinal damage in rats: biochemical and histopathological examination[J]. *Cutan Ocul Toxicol*, 2022,41(3):250-256.
- [21] AVCI B, GÜNAYDIN C, GÜVENÇ T, et al. Idebenone ameliorates rotenone-induced parkinson's disease in rats through decreasing lipid peroxidation[J]. *Neurochem Res*, 2021,46(3):513-522.
- [22] 姚敏怡, 王明建, 刘雪, 等. 丙戊酸钠对癫痫样放电海马神经元铁死亡的抑制作用及其机制 [J]. *精准医学杂志*, 2022,37(2):175-179.
- YAO Minyi, WANG Mingjian, LIU Xue, et al. Inhibitory effect of sodium valproate on ferroptosis in hippocampal neurons with epileptiform Discharge and its mechanism[J]. *Precis Med*, 2022, 37 (2):175-179.
- [23] ZHU Hang, TAN Ying, DU Wenjun, et al. Phosphoglycerate mutase 5 exacerbates cardiac ischemia-reperfusion injury through disrupting mitochondrial quality control[J]. *Redox Biol*. 2021,38:101777.
- [24] ROSENKRANZ S C, SHAPOSHNYOV A A, TRÄGER S, et al. Enhancing mitochondrial activity in neurons protects against neurodegeneration in a mouse model of multiple sclerosis[J]. *Elife*, 2021, 10: e61798.
- [25] THIJS R D, SURGES R, O'BRIEN T J, et al. Epilepsy in adults[J]. *Lancet*, 2019, 393 (10172): 689-701.
- [26] GOLYALA A, KWAN P. Drug development for refractory epilepsy: The past 25 years and beyond[J]. *Seizure*, 2017, 44:147-156.
- [27] GAN Jing, QU Yi, LI Jiao, et al. An evaluation of the links between microRNA, autophagy, and epilepsy[J]. *Rev Neurosci*, 2015, 26 (2):225-237.
- [28] YAZDANI M, ELGSTOEN K B P. Is oxidative stress an overlooked player in pyridoxine-dependent epilepsy? A focused review[J]. *Seizure*, 2021, 91:369-373.
- [29] YANG Nan, GUAN Qiwen, CHEN Fanghui, et al. Antioxidants targeting mitochondrial oxidative stress: Promising neuroprotectants for epilepsy[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020:6687185. (下转第 65 页)

- [18] NANDI S S, KATSURADA K, SHARMA N M, et al. MMP-9 inhibition increases autophagic flux in chronic heart failure[J]. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 2020, 319(6): H1414-H1437.
- [19] 陈俊, 廖应英, 孙泽群. 基质金属蛋白酶-9与心房颤动的关系及对持续性心房颤动患者复律治疗后复发的预测价值[J]. 中国循环杂志, 2017, 32(1): 67-71. CHEN Jun, LIAO Yingying, SUN Zequn, et al. Relationship between matrix metalloproteinase-9 level and atrial fibrillation with its predictive value of AF recurrence in persistent AF patients after cardio-version[J]. Chinese Circulation Journal, 2017, 32(1): 67-71.
- [20] YU Yang, WANG Leilei, LIU Tong, et al. MicroRNA-204 suppresses trophoblast-like cell invasion by targeting matrix metalloproteinase-9[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2015, 463(3): 285-291.
- 收稿日期: 2022-03-28
修回日期: 2022-09-14

(上接第48页)

- [30] MAES M, SUPASITTHUMRONG T, LIMOTAI C, et al. Increased oxidative stress toxicity and lowered antioxidant defenses in temporal lobe epilepsy and mesial temporal sclerosis: Associations with psychiatric comorbidities[J]. Mol Neurobiol, 2020, 57 (8):3334-3348.
- [31] LU Wei, WU Zhangze, ZHANG Chong, et al. Jujuboside A exhibits an antiepileptogenic effect in the rat model via protection against traumatic epilepsy-induced oxidative stress and inflammatory responses[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2022, 2022:7792791.
- [32] RAMAZI S, FAHANIK-BABAEI J, MOHAMADI-ZARCH S M, et al. Neuroprotective and anticonvulsant effects of sinomenine in kainate rat model of temporal lobe epilepsy: Involvement of oxidative stress, inflammation and pyroptosis[J]. J Chem Neuroanat, 2020, 108:101800.
- [33] PAULETTI A, TERRONE G, SHEKH-AHMAD T, et al. Targeting oxidative stress improves disease outcomes in a rat model of acquired epilepsy[J]. Brain, 2019, 142 (7):e39.
- [34] LIANG Liping, WALDBAUM S, ROWLEY S, et al. Mitochondrial oxidative stress and epilepsy in SOD2 deficient mice: attenuation by a lipophilic metalloporphyrin[J]. Neurobiol Dis, 2012, 45 (3):1068-1076.
- [35] WEN Fang, TAN Zhigang, XIANG Jun. Cu-Zn SOD suppresses epilepsy in pilocarpine-treated rats and alters SCN2A/Nrf2/HO-1 expression[J]. Epileptic Disord, 2022, 24 (4):647-656.
- [36] LIANG Liping, PATEL M. Mitochondrial oxidative stress and increased seizure susceptibility in Sod2(-/+) mice[J]. Free Radic Biol Med, 2004, 36 (5):542-554.
- [37] LORIGADOS PEDRE L, GALLARDO J M, MORALES CHACON L M, et al. Oxidative stress in patients with drug resistant partial complex seizure[J]. Behav Sci (Basel), 2018, 8 (6):59.
- [38] KALITA J, MISRA U K, SINGH L S, et al. Oxidative stress in status epilepticus: A clinical-radiological correlation[J]. Brain Res, 2019, 1704: 85-93.
- [39] ELKOMMOS S, MULA M. Current and future pharmacotherapy options for drug-resistant epilepsy[J]. Expert Opin Pharmacother, 2022, 23(18):2023-2034.
- [40] MCDONALD T S, NEAL E S, BORGES K. Fructose 1,6-bisphosphate is anticonvulsant and improves oxidative glucose metabolism within the hippocampus and liver in the chronic pilocarpine mouse epilepsy model[J]. Epilepsy Behav, 2021, 122:108223.
- [41] COBLEY J N, FIORELLO M L, BAILEY D M. 13 reasons why the brain is susceptible to oxidative stress[J]. Redox Biol, 2018, 15:490-503.
- [42] POPOVA I, MALKOV A, IVANOV A I, et al. Metabolic correction by pyruvate halts acquired epilepsy in multiple rodent models[J]. Neurobiol Dis, 2017, 106:244-254.
- [43] MINENKOVA A, JANSEN E E W, CAMERON J, et al. Is impaired energy production a novel insight into the pathogenesis of pyridoxine-dependent epilepsy due to biallelic variants in ALDH7A1? [J]. PLoS One, 2021, 16(9):e0257073.
- [44] FEI Yaqing, SHI Ruting, SONG Zhi, et al. Metabolic control of epilepsy: A promising therapeutic target for epilepsy[J]. Front Neurol, 2020, 11:592514.
- [45] 王丽丽, 张宁, 赵迎春, 等. 老年急性脑出血并发癫痫患者血清HP, SOD, MDA水平表达及其与认知功能损害的相关性研究[J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(2):108-111. WANG Lili, ZHANG Ning, ZHAO Yingchun, et al. Study on the correlation between serum haptoglobin, superoxide dismutase and malondialdehyde in elderly patients with epilepsy after acute cerebral hemorrhage and their correlation with cognitive impairment[J]. J Mod Lab Med, 2020, 35(2):108-111.
- [46] QIAN Xudong, XU Qianqian, LI Guoyun, et al. Therapeutic effect of idebenone on rats with vascular dementia via the microRNA-216a/RSK2/NF- κ B axis[J]. Neuropsychiatr Dis Treat. 2021, 17:533-543.
- [47] LIN Pengfei, LIU Junling, REN Ming, et al. Idebenone protects against oxidized low density lipoprotein induced mitochondrial dysfunction in vascular endothelial cells via GSK3 β / β -catenin signalling pathways[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 465(3):548-555.
- 收稿日期: 2022-10-11
修回日期: 2023-01-03