

## 大黄素对海人酸致病小鼠海马神经细胞的保护作用

欧阳龙强<sup>1</sup>, 夏文燕<sup>2</sup>, 杨少春<sup>1</sup>, 姜建云<sup>1</sup>, 邹连生<sup>1</sup>, 高志强<sup>1</sup>

1. 赣南医学院第一附属医院神经外科, 江西省赣州市 341000

2. 赣南医学院第一附属医院内分泌科, 江西省赣州市 341000

**摘要:**目的 探讨大黄素对海人酸诱导的小鼠癫痫持续状态后海马神经细胞的保护作用。方法 90 只 ICR 雄性小鼠随机分为对照组、癫痫持续状态组、大黄素治疗组(分为 100、200 和 400 mg/kg 组), 每组 18 只。采用海人酸建立小鼠癫痫持续状态模型。通过 HE 染色和 TUNEL 染色观察大黄素对癫痫鼠海马神经细胞的形态学变化和凋亡情况; 比色法测定谷胱胱肽(GSH)和丙二醛(MDA)的含量以及超氧化物歧化酶(SOD)的活力; RT-PCR 和 Western blot 检测海马组织中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、caspase-3 mRNA 和蛋白的表达。结果 大黄素(200 和 400 mg/kg 组)可显著减轻癫痫所致的大脑神经细胞的损伤和凋亡, 提高 GSH 和 SOD 的活性, 降低 MDA 的活性( $P < 0.05$ ); 同时抑制海马中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  及 caspase-3 mRNA 和蛋白的表达量( $P < 0.05$ )。结论 大黄素对小鼠癫痫持续状态后海马神经细胞具有抗氧化、抗炎和抗凋亡等神经保护作用, 其作用机制可能与提高 GSH 和 SOD 的活性, 降低 MDA 的含量, 并抑制 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  及 caspase-3 的表达有关。

**关键词:** 大黄素; 癫痫持续状态; 神经保护; 凋亡; 小鼠

DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.2018.05.007

## Protective effect of emodin on hippocampal neural cells in mice with epilepsy induced by kainic acid

OUYANG Long-Qiang, XIA Wen-Yan, YANG Shao-Chun, LOU Jian-Yun, ZOU Lian-Sheng GAO Zhi-Qiang. Department of Neurosurgery, The first Affiliated Hospital of Gannan Medical College, Ganzhou, Jiangxi 341000, China

Corresponding author: XIA Wen-Yan, E-mail: 571526245@qq.com

**Abstract:** **Objective** To investigate the protective effect of emodin on hippocampal neural cells in mice with epilepsy induced by kainic acid. **Methods** A total of 90 male ICR mice were randomly divided into control group, status epilepticus (SE) group, and emodin treatment groups (at doses of 100, 200, and 400 mg/kg), with 18 mice in each group. Kainic acid was used to establish a mouse model of SE. HE staining and TUNEL staining were used to observe the effect of emodin on the morphological changes and apoptosis of hippocampal neural cells in mice with epilepsy; colorimetry was used to measure the content of glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) and the activity of superoxide dismutase (SOD); RT-PCR and Western blot were used to measure the mRNA and protein expression of interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), and caspase-3. **Results** Emodin (200 and 400 mg/kg) significantly alleviated the injury and apoptosis of hippocampal neural cells induced by epilepsy, increased the activities of GSH and SOD, and reduced the activity of MDA ( $P < 0.05$ ). It also reduced the mRNA and protein expression of IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , and caspase-3 in the hippocampus ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** Emodin has antioxidant, anti-inflammatory, and anti-apoptotic effects on hippocampal neural cells in mice after SE, possibly by increasing the activities of GSH and SOD, reducing the content of MDA, and inhibiting the expression of IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , and caspase-3.

**Key words:** emodin; status epilepticus; neuroprotective effect; apoptosis; mouse

基金项目: 江西省赣州市指导性科技计划项目(GZ2016ZSF020)

收稿日期: 2018-03-02; 修回日期: 2018-07-12

作者简介: 欧阳龙强(1983-), 男, 主治医师, 硕士研究生, 主要从事脑血管病、颅脑外伤及功能神经外科方面研究。

通信作者: 夏文燕(1985-), 女, 主治医师, 硕士研究生, 主要从事内分泌代谢疾病方面研究。E-mail: 571526245@qq.com。

癫痫是神经科的常见疾病,对于每次不可避免的癫痫发作,发作后引起神经元损伤并因癫痫发作的停止而终止<sup>[1]</sup>,于发作后尽快采取有效的脑保护措施是非常重要的。大黄素是中药大黄的主要成分之一,有泻下攻积,清热泻火,解毒,活血祛瘀和抗癌等功效<sup>[2]</sup>。近期有文献报道大黄素可有效降低脑缺血再灌注损伤和颅脑爆震伤所引发的二次损伤<sup>[3,4]</sup>,但在癫痫防治中是否同样具有此功能,目前报道甚少。本研究采用海人酸建立小鼠癫痫持续状态(SE)模型,研究大黄素对癫痫后海马神经细胞的保护作用,并初步探讨其作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物分组

由上海斯莱克实验动物中心提供的 ICR 健康雄性小鼠 90 只(许可证号:SCXK(沪)2007-0005),体重 23~28 g。随机分对照组、癫痫持续状态(SE)组和大黄素治疗组(分为 100、200 和 400 mg/kg 组)共 5 个组,每组 18 只。

### 1.2 主要药品、试剂与仪器

海人酸(美国 BIOMOL 公司);大黄素(美国 sigma 公司);TUNEL 试剂盒(Roche 试剂公司);RT-PCR 试剂盒(美国 Promega 公司);TBARS 试剂盒(CAYMAN 公司);谷胱甘肽(glutathione, GSH)含量和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活力测定试剂盒(南京建成生物公司);兔抗鼠 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、caspase-3 多克隆抗体(Santa Cruz 公司)。

### 1.3 方法

**1.3.1 制模与给药** 采用腹腔内注入海人酸(12 mg/kg)建立小鼠癫痫持续状态模型。按 Racines<sup>[5]</sup>分级标准评价癫痫行为:0 级:正常行为;I 级:面部肌肉痉挛表现为咀嚼运动、眨眼和动须等,湿狗样颤动。II 级:颈部肌肉痉挛表现为点头运动。III 级:一侧前肢阵挛。IV 级:站立伴双前肢阵挛。V 级:在 IV 级的基础上身体向后倒下失去平衡,四肢抽动。达到 III 级改变以上者定为癫痫发作,连续的病性发作超过 30 min 以上者为 SE。

制模成功后大黄素治疗组分别以 100、200 和 400 mg/kg 的剂量(溶于生理盐水)腹腔注射大黄素。癫痫持续状态组和对照组注入等量的生理盐水。

**1.3.2 标本制备** 制模 24 h 后各组取 6 只 ICR 小鼠,麻醉后,心脏灌注 4% 多聚甲醛,取脑并浸泡过夜。常规石蜡切片,用于 HE 和 TUNEL 染色;每

组另取 12 只 ICR 小鼠,麻醉后断头取双侧海马,分别用于 Western blot 和 RT-PCR 对 GSH、SOD 和 MDA 的测定。

**1.3.3 HE 染色** 石蜡切片常规脱蜡脱水,HE 染色观察海马 CA1 和 CA3 区神经细胞的病理形态学变化。

**1.3.4 TUNEL 法检测神经元凋亡** 按 TUNEL 试剂盒说明书进行染色与检测。光镜下选择海马 CA3 区比较观察各个视野棕黄色 TUNEL 阳性细胞,并计数连续 3 张脑切片整个 CA3 区 TUNEL 阳性细胞数,在 200 倍视野计算平均阳性细胞百分数。

**1.3.5 海马组织 GSH 和 MDA 含量及 SOD 活力的测定** 取海马组织组织块重量 9 倍体积的匀浆介质加入海马组织并研碎。将制备好的 10% 的匀浆用低温离心机离心 12 min,取上清。严格按试剂盒说明书检测上清液中 GSH 量、MDA 含量和 SOD 的活力。

**1.3.6 RT-PCR 检测 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  mRNA 表达**

IL-1 $\beta$  引物序列(291 bp):5' - GCT ACC TGT GTC TTT CCC GTG G - 3' (上游),5' - TTG TCG TTG CTT GGT TCT CCT TG - 3' (下游)。TNF- $\alpha$  引物序列(413 bp):5' - CCC CAA GTG ACA AGC CAG TA - 3' (上游),5' - CAA AGT CCA GAT TAG GCA GAT - 3' (下游)。内参  $\beta$ -actin 引物序列(198 bp):5' ATC GTG CGT GAC ATC AAA GAGA3' (上游),5' TGC CAC AGG ATT CCA TAC CCAA3' (下游)。操作步骤根据 RT-PCR 试剂盒说明进行。PCR 反应条件设置如下:94℃ 预变性 4 min,94℃ 变性 40 s,退火(IL- $\beta$ : 58℃ 40 s;TNF- $\alpha$ : 55℃ 40 s),72℃ 延伸 1 min,30 个循环。PCR 结果采用 CT 值比较相对定量法, $\beta$ -actin 为内参照。

**1.3.7 Western blot 检测 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  及 caspase-3 蛋白表达** 匀浆后提取总蛋白,二喹啉甲酸(BCA)法测定蛋白浓度。常规电泳,转膜,封闭后加入 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、caspase-3 一抗抗体(TNF- $\alpha$  为 1:600;IL-1 $\beta$  和 caspase-3 为 1:800 用 TBST 稀释),4℃ 静置过夜,洗膜,加入辣根过氧化物酶标记二抗(1:2500 用 TBST 稀释),TBST 洗膜三次,吸取等量 SuperSignal-WestPico 超灵敏型检测试剂盒 A 液、B 液,均匀滴于 NC 膜上进行化学发光胶片显影,用 Quantity One (version 4.6) 分析软件计算 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  及 caspase-3 蛋白的表达水平。

### 1.4 统计学方法

数据统计采用 SPSS 17.0 软件, 实验结果以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 采用单因素方差分析进行组间差异的显著性检验, 再用 Bonferroni 法进行两两比较, 检测水准  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 HE 染色

对照组海马组织 CA1 和 CA3 区结构正常, 锥体细胞排列整齐, 形态正常, 细胞着色均匀, 胞浆

呈淡红色, 胞核呈蓝色且较清亮。SE 组结构明显异常, 细胞排列紊乱, 神经元肿胀、呈梭形或三角形、有的细胞体积缩小、细胞深染与皱缩、细胞与周围分界不清等神经元坏死改变。大黄素 100 mg/kg 组仍可见神经细胞排列紊乱, 细胞皱缩和胞核固缩浓染, 呈梭形或三角形等现象, 但程度较 SE 组略减轻, 大黄素 200 mg/kg 组和 400 mg/kg 组细胞形态则改善明显。见图 1。

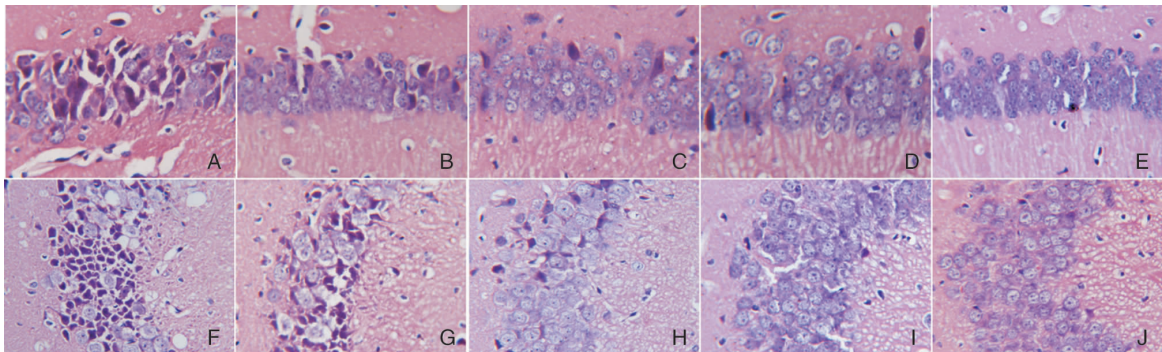


图 1 HE 染色观察小鼠海马 CA1、CA3 区锥体细胞的病理形态学变化 ( $\times 200$ )

注: A-E: CA1 区; F-J: CA3 区。A、F: SE 组; B、G: 大黄素 100 mg/kg 治疗组; C、H: 大黄素 200 mg/kg 治疗组; D、I: 大黄素 400 mg/kg 治疗组; E、J: 对照组

### 2.2 TUNEL 染色

对照组 CA3 区基本未见棕褐色的阳性颗粒细胞; SE 组 CA3 区, 呈棕褐色的 TUNEL 阳性颗粒细胞显著增加 ( $P < 0.01$ )。大黄素 (200 和 400 mg/kg) 治疗组较 SE 组 CA3 区 TUNEL 阳性细胞明显减

少, 二者之间的差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。100 mg/kg 治疗组海马 CA3 区 TUNEL 阳性细胞数较 SE 组有所减少, 但二者之间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见图 2 和表 1。

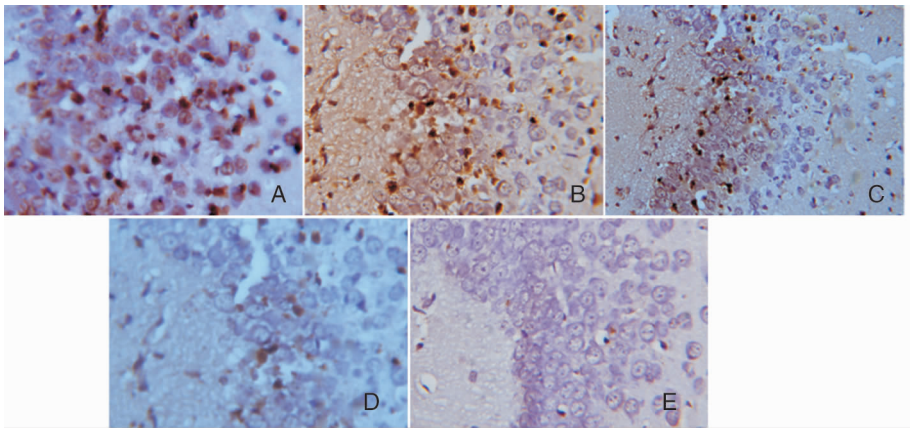


图 2 TUNEL 染色检测小鼠海马 CA3 区的细胞凋亡 ( $\times 200$ )

注: A: SE 组; B: 大黄素 (100 mg/kg) 治疗组; C: 大黄素 (200 mg/kg) 治疗组; D: 大黄素 (400 mg/kg) 治疗组; E 为对照组; 图中棕褐色颗粒为阳性表达

表1 大黄素对小鼠海马 CA3 区 TUNEL 染色细胞凋亡率 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数(n)	CA3 区细胞凋亡率
SE 组	6	0.6191 ± 0.0686 <sup>#</sup>
大黄素 100 mg/kg 治疗组	6	0.5230 ± 0.1067
大黄素 200 mg/kg 治疗组	6	0.4286 ± 0.0431 *
大黄素 400 mg/kg 治疗组	6	0.3593 ± 0.0390 *
对照组	6	0.0082 ± 0.0045

注: #为与对照组比较,  $P < 0.01$ ; \* 为与 SE 组比较,  $P < 0.05$

2.3 GSH、MDA 含量及 SOD 活力检测

与对照组相比, SE 组海马组织 GSH 含量和 SOD 活力显著下降, MDA 含量则显著增多, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。与 SE 组相比, 大黄素 200 mg/kg 治疗组及 400 mg/kg 治疗组海马组织 GSH 含量和 SOD 活力上升明显, MDA 含量显著降低, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 而在大黄素 200 mg/kg 治疗组与 400 mg/kg 治疗组之间相比, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。与 SE 组相比, 大黄素 100 mg/kg 治疗组 GSH 含量和 SOD 活力有所增加, MDA 含量略有降低, 但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 2。

表2 大黄素对小鼠海马 GSH 含量、MDA 含量、SOD 活力的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数(n)	SOD 活力(mU/mg)	GSH 含量(mU/mg)	MDA 含量(mU/mg)
SE 组	6	37.83 ± 5.22 <sup>#</sup>	10.33 ± 2.0 <sup>#</sup>	625.27 ± 26.15 <sup>#</sup>
大黄素 100 mg/kg 组	6	43.58 ± 5.85	12.03 ± 2.20	555.48 ± 32.70
大黄素 200 mg/kg 组	6	52.81 ± 2.83 *	15.94 ± 1.15 *	434.39 ± 55.23 *
大黄素 400 mg/kg 组	6	57.81 ± 5.25 *	17.95 ± 1.44 *	368.37 ± 41.36 *
对照组	6	65.97 ± 2.61	19.39 ± 3.87	298.97 ± 24.78

注: #为与对照组比较,  $P < 0.01$ ; \* 为与 SE 组比较,  $P < 0.05$

2.4 IL-1β 和 TNF-α mRNA 的表达

各组均有 IL-1β 和 TNF-α mRNA 的表达。对各组条带进行光密度分析, 可见对照组仅有微弱的 IL-1β 和 TNF-α mRNA 表达。SE 组 IL-1β 和 TNF-α mRNA 表达明显增多。大黄素 100 mg/kg 治疗组有降低 IL-1β 和 TNF-α mRNA 表达的趋势, 但与 SE 组相比, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。大黄素 200 及 400 mg/kg 治疗后可明显降低 IL-1β 和

TNF-α mRNA 的表达强度, 与 SE 组相比, 差异性具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。而大黄素 200 mg/kg 治疗组与 400 mg/kg 治疗组之间相比, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见图 3 和表 3。

2.5 IL-1β、TNF-α 及 caspase-3 蛋白的表达

Western blot 结果显示, 各组均有 IL-1β、TNF-α、caspase-3 蛋白的表达 (图 4), 对各组条带进行光密度分析, 可见对照组仅有较微弱的 IL-1β、TNF-α、caspase-3 蛋白表达, 而 SE 组 IL-1β、TNF-α、caspase-3 蛋白表达量则显著增加, 二者之间差异明显 ( $P < 0.01$ )。与 SE 组相比, 大黄素 200、400 mg/kg 组可显著降低 IL-1β、TNF-α、caspase-3 蛋白的表达量, 二者之间差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。200 mg/kg 与 400mg/kg 治疗组相比 ( $P > 0.05$ ), 无统计学意义。大黄素 100mg/kg 治疗组则有下降趋势, 但无统计学意义 (mg/kg)。(图 4)。

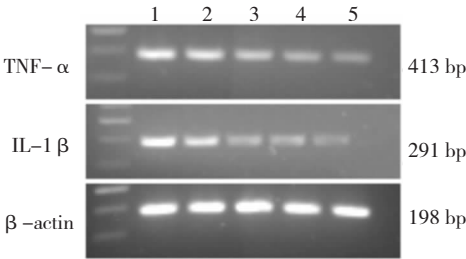


图3 RT-PCR 检测小鼠海马组织中 IL-1β 和 TNF-α mRNA 的表达水平

注: 1: SE 组; 2: 大黄素 100 mg/kg 治疗组; 3: 大黄素 200 mg/kg 治疗组; 4: 大黄素 400 mg/kg 治疗组; 5: 对照组

表3 RT-PCR 检测 IL-1β 和 TNF-α mRNA 在不同组别的相对表达 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数(n)	IL-1β/ β-actin mRNA	TNF-α/ β-actin mRNA
SE 组	6	2.2396 ± 0.2080 <sup>#</sup>	2.3560 ± 0.0741 <sup>#</sup>
大黄素 100 mg/kg 组	6	2.1170 ± 0.2290	2.2479 ± 0.1543
大黄素 200 mg/kg 组	6	1.6138 ± 0.1095 *	1.6345 ± 0.3334 *
大黄素 400 mg/kg 组	6	1.2157 ± 0.2560 *	0.9058 ± 0.1443 *
对照组	6	0.7802 ± 0.7802	0.7934 ± 0.1949

注: #为与对照组比较,  $P < 0.01$ ; \* 为与 SE 组比较,  $P < 0.05$



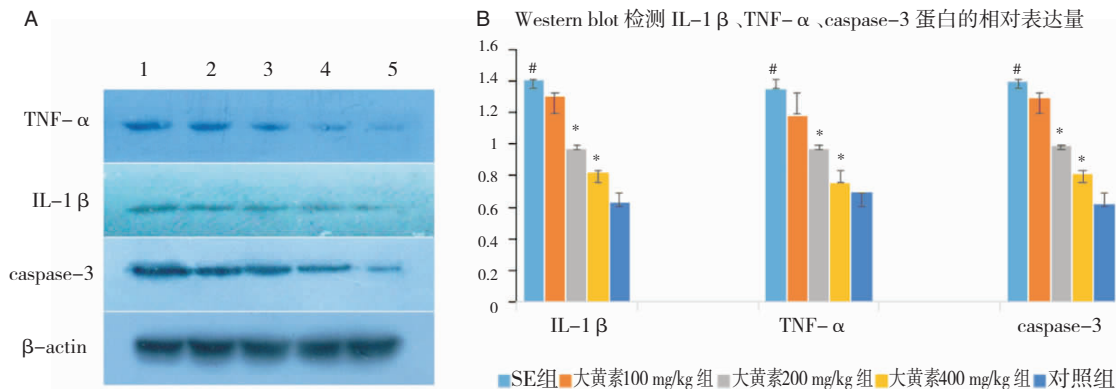


图4 Western blot 检测小鼠海马组织中 IL-1β、TNF-α 及 caspase-3 蛋白的表达水平

注:A:各组 IL-1β、TNF-α 及 caspase-3 蛋白表达水平电泳图;B:各组 IL-1β、TNF-α 及 caspase-3 蛋白表达水平柱形图;1:SE 组;2:大黄素 100 mg/kg 治疗组;3:大黄素 200 mg/kg 治疗组;4:大黄素 400 mg/kg 治疗组;5:对照组;#为与对照组比较, $P < 0.01$ ; \* 为与 SE 组比较, $P < 0.05$

### 3 讨论

癫痫持续状态 (status epilepticus, SE) 是严重的神经科急症,其中全面性惊厥性癫痫持续状态具有潜在致死性<sup>[6]</sup>。反复癫痫发作可激活神经细胞、神经胶质细胞释放大量的活性氧自由基和炎症介质,如白细胞介素类、干扰素类以及肿瘤坏死因子类等<sup>[7]</sup>,造成脑组织再次损伤。TNF-α 和 IL-1β 是两个重要的促炎细胞因子,它们不仅参与癫痫所致的脑内异常免疫炎症反应,还可调节神经元的兴奋性。高水平的细胞因子可导致海马苔藓纤维发芽及硬化,从而加剧癫痫的发作<sup>[8]</sup>。我们的研究证实,癫痫发作后海马神经元结构明显异常,细胞排列紊乱,核固缩深染等神经元坏死改变。通过 TUNEL 染色检测到,癫痫发作后海马神经元有大量凋亡现象出现。为进一步证实癫痫发作后引发神经细胞的凋亡,我们对处于细胞凋亡蛋白酶级联切割途径中核心位置的重要指标—caspase-3 进行了检测,癫痫发作后 caspase-3 含量较对照组显著增加。此外,我们分别对氧自由基 GSH、MDA、SOD 和炎症介质 IL-1β、TNF-α 进行了检测,癫痫发作后海马组织 GSH 含量和 SOD 活力显著下降,MDA 含量则显著增多,IL-1β 和 TNF-α 表达明显增多。说明癫痫发作可激活大量的氧自由基和炎症介质。在高炎症因子和高兴奋性的病理情况下,不仅增加神经元兴奋性、诱导神经细胞凋亡,还可破坏血脑屏障,使外周免疫细胞与炎性物质浸入到大脑,最终导致或加重癫痫,形成恶性循环<sup>[9]</sup>。

大黄素为蒽醌类衍生物,具有抗炎、止血、消

肿、止痛、抗肿瘤、免疫抑制和改善微循环等作用,临床主要用于治疗便秘、黄疸、消化道出血、颅脑损伤以及癌症等疾病<sup>[10]</sup>。最近文献报道大黄素可减轻脑缺血、心肌缺血所致再灌注损伤,能有效抑制脑缺血、心肌缺血后引起的氧化炎症反应,从而降低细胞的坏死与凋亡<sup>[3,11]</sup>。此外,研究显示<sup>[12]</sup>大黄素还可以减轻谷氨酸-NMDA 受体途径对神经元的兴奋毒性作用,即能抑制癫痫发生过程中谷氨酸引起的兴奋性增高,降低癫痫发作阈值。Gu 等<sup>[13]</sup>发现大黄素可以通过影响  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶等离子通道的活性减轻脑水肿,升高 SOD、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶活性,降低 MDA 水平。Yang 等<sup>[14]</sup>用海人酸建立大鼠颞叶癫痫模型,经大黄素处理后大鼠表现出癫痫发作级别降低,脑电图提示棘波和尖波等癫痫波发放减少。本实验研究采用海人酸建立小鼠癫痫模型,通过腹腔注射大黄素对其进行干预,发现大黄素 (200、400 mg/kg) 可显著减轻癫痫所致的大脑神经细胞的损伤和凋亡;提高 GSH 和 SOD 的活性,降低 MDA 的活性,从而减轻癫痫发作后所引起的氧化损伤;同时检测到海马组织中 IL-1β 和 TNF-α 及 caspase-3 的表达量下调。大黄素 200 mg/kg 与 400 mg/kg 治疗效果无显著差异。由此得出,大黄素 (其中以 200 mg/kg 为最佳治疗浓度) 对小鼠癫痫持续状态后海马神经细胞具有神经保护作用。

综上所述,大黄素可减轻癫痫所致的大脑神经细胞的损伤和凋亡,提高 GSH 和 SOD 的活性,降低 MDA 的含量,并抑制 IL-1β 和 TNF-α 及 caspase-3

的表达有关。具有抗氧化、抗炎和抗凋亡等神经保护作用,其具体作用途径与详尽机制有待进一步研究。

### 参 考 文 献

- [1] Vezzani A, Lang B, Aronica E. Immunity and Inflammation in Epilepsy [J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2015, 6 (2): a022699.
- [2] Hou X, Wei W, Fan Y, et al. Study on synthesis and bio-activity of biotinylated emodin [J]. Appl Microbio Biotechnol, 2017, 101 (13): 5259-5266.
- [3] Ahn SM, Kim HN, KIM YR, et al. Emodin from Polygonum multiflorum ameliorates oxidative toxicity in HT22 cells and deficits in photothrombotic ischemia [J]. J Ethnopharmacol, 2016, 188: 13-20.
- [4] Ma Y, Xia X, Cheng JM, et al. Emodin inhibits inducible nitric oxide synthase in a rat model of craniocerebral explosive injury [J]. Neurochem Res, 2014, 39 (9): 1809-1816.
- [5] Racine RJ, Steingart M, McIntyre DC. Development of kindling-prone and kindling resistant rats: selective breeding and electrophysiological studies [J]. Epilepsy Res, 1999, 35: 183-195.
- [6] 中国医师协会神经内科分会癫痫专委会. 成人全面性惊厥性癫痫持续状态治疗中国专家共识 [J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2018, 45 (1): 1-4.
- [7] Vezzani A, Robert S, Fujinami H, et al. Infections, inflammation and epilepsy [J]. Acta Neuropathologica, 2016, 131 (2): 211-234.
- [8] 欧阳龙强, 梁日生, 杨卫忠, 等. 黄芩苷对海人酸致痫小鼠海马白细胞介素-1 $\beta$ 及肿瘤坏死因子- $\alpha$ 表达的影响 [J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2012, 39 (1): 16-19.
- [9] Staley K. Molecular mechanisms of epilepsy [J]. Nature neuroscience, 2015, 18 (3): 367-372.
- [10] Park SY, Jin ML, Ko MJ, et al. Anti-neuroinflammatory Effect of Emodin in LPS-Stimulated Microglia: Involvement of AMPK/Nrf2 Activation [J]. Neurochem Res, 2016, 41 (11): 2981-2992.
- [11] Wu Y, Tu X, Lin G, et al. Emodin-mediated protection from acute myocardial infarction via inhibition of inflammation and apoptosis in local ischemic myocardium [J]. Life Sci, 2007, 81 (17-18): 1332-1338.
- [12] Gu JW, Hasuo H, Takeya M, et al. Effects of emodin on synaptic transmission in rat hippocampal CA1 pyramidal neurons in vitro [J]. Neuropharmacology, 2005, 49 (1): 103-111.
- [13] Gu JW, Zheng CX, Zhang AH, et al. Effects and wavelet spectral entropy analysis of hippocampal area in vitro [J]. Chinese medical journal, 2005, 118 (10): 817-823.
- [14] Yang T, Kong B, Kuang Y, et al. Emodin plays an interventional role in epileptic rats via multi-drug resistance gene 1 (MDR1) [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8 (3): 3418-3425.