

杏仁核点燃癫痫大鼠模型中BKCa通道β4亚基动态变化

李巷,王亚如,李润琪,何桂英,王成雅,汤博,董子康,杨春水

摘要 目的:观察杏仁核点燃癫痫大鼠BKCa通道β4亚基动态演变情况。方法:建立杏仁核点燃癫痫大鼠模型,随机分对照组、点燃24 h组、30 d组、60 d组。采用尼氏染色观察各组神经元损伤情况;采用实时定量PCR、蛋白质印迹、免疫组织化学检测发作后24 h、30 d、60 d大鼠脑内BKCa通道β4亚基表达的动态改变情况。结果:相比对照组,杏仁核点燃癫痫模型大鼠皮质及海马CA1、CA3区神经元均有明显缺失,且随着点燃时间增加,神经元计数呈下降趋势,各组差异有统计学意义($P<0.05$)。点燃后24 h,皮质及海马BKCa通道β4亚基表达下降,且随着点燃时间增加呈下降趋势,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论:杏仁核点燃可导致脑内神经元持续损伤,同时伴随相应部位BKCa通道β4亚基表达下降,推测β4亚基可能参与了杏仁核点燃癫痫模型发生发展的过程。

关键词 杏仁核点燃癫痫;大通道钙激活钾通道;β4亚基

中图分类号 R741;R741.02;R742 文献标识码 A DOI 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20230518

本文引用格式:李巷,王亚如,李润琪,何桂英,王成雅,汤博,董子康,杨春水.杏仁核点燃癫痫大鼠模型中BKCa通道β4亚基动态变化[J].神经损伤与功能重建,2024,19(2):69-72,85.

The Dynamic Changes of BKCa Channel β4 Subunit in Amygdala Kindled Epilepsy Rat Model

LI Xiang, WANG Yaru, LI Runqi, HE Guiying, WANG Chengya, TANG Bo, DONG Zikang, YANG Chunshui. Department of Neurology, Huazhong University of Science and Technology Union Shenzhen Hospital, Guangdong Shenzhen 518000, China

Abstract Objective: To determine the dynamic changes of BKCa channel β4 subunit in amygdala kindled epilepsy rat model. **Methods:** The animals were divided into control group, 24-hour group, 30-day group and 60-day group. Epilepsy rats were kindled by amygdala nuclear stimulation. The injury of neurons in each group was detected by Nissl's staining. Real-time quantitative PCR, western blot and immunohistochemistry were used to detect the dynamic changes of BKCa channel β4 subunit expression in the brain of rats 24 hours, 30 days and 60 days after being kindled. **Results:** Compared with the control group, the neurons in CA1 and CA3 regions of the hippocampus and cortex of rats in the amygdala kindled epilepsy model were significantly lost, and the number of neurons showed a decreasing trend with the increase of the kindling time ($P<0.05$). The expression of β4 subunit of BKCa channel in cortex and hippocampus decreased 24 hours after being kindled, and showed a downward trend with the increase of kindling time ($P<0.05$). **Conclusion:** The results suggested that amygdala kindling can cause the persistent damage of neurons which accompanied by the decrease of β4 subunit expression. It is speculated that β4 subunit may be involved in the development of amygdala kindled epilepsy rat model.

Keywords amygdala kindled epilepsy; large channel calcium activated potassium channel(BKCa); β4 subunit

癫痫是神经元异常兴奋导致的脑功能障碍,以自发性和反复发作作为特征;神经元细胞膜的变化可导致兴奋性增加而引发癫痫等疾病。钾(K^+)通道因其稳定细胞膜的能力在膜兴奋性调节中发挥重要作用。在各种膜钾通道中,大通道钙激活钾通道(large channel calcium activated potassium channel, BKCa)的钾离子电导最高^[1,2]。与其他钾离子通道不同, BKCa可以被电压和细胞内钙离子浓度升高激活,进而使膜复极化和快速超极化,影响神经元位放电,被

认为是控制中枢神经系统神经元兴奋性的内在决定因子之一^[3,4]。因此, BKCa表达和功能的变化在癫痫发病发生发展起着关键作用。本研究以具备颞叶癫痫典型病理改变的杏仁核点燃模型为对象,探讨癫痫发作过程中BKCa通道β4亚基的动态变化。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与材料

1.1.1 实验动物及分组 成年健康雄性清洁级SD大鼠26只,体质量200~300 g,标

作者单位

华中科技大学协和深圳医院神经内科
广东深圳518000

基金项目

南山区科技计划项目(BKCa通道介导突触传递功能异常在癫痫相关认知障碍中的作用及机制研究, No. NS2023032);广东省医学科研基金项目(腺苷激酶调控的腺苷-蛋白激酶C-cAMP信号通路激活BKCa通道:癫痫耐药的启动机制? No. A2020312)

收稿日期

2023-08-01

通讯作者

李巷

lixiang54120@163.

com

准实验条件下饲养,适应性喂养1周。其中6只大鼠为空白对照,20只大鼠用于癫痫模型制作,模型点燃成功后随机分为24 h、30 d、60 d组。所有的动物实验均经华中科技大学协和深圳医院伦理委员会批准。

1.1.2 主要试剂 主要包括MaxiK beta抗体(Affinity Biosciences, DF8571)、实时定量PCR(Quantitative Realtime-PCR, QPCR)试剂盒等;蛋白质印迹(Western Blot)、免疫组织化学、尼氏染色所需试剂为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 点燃模型制作 大鼠麻醉后,固定于立体定位仪。杏仁外侧核(右侧)坐标定位为^[9]:旁开右侧4.8 mm(X),前囟后2.2 mm(Y),颅骨表面下8.5 mm(Z),置入五芯电极。术后1周,每天固定时间开始电刺激(细电流、连续串刺激、串长100、波宽1 ms、波间隔19 ms、频率50 HZ、刺激强度500 μ A、1次/d),记录刺激后大鼠行为学变化。发作强度参照国际通用的Racine分级^[9]:0级:无反应;1级:不动,闭眼睛,耳朵和胡须颤搐,吸气及面部痉挛;2级:点头及更严重的面部痉挛;3级:前肢单肢阵挛;3.5级:双前肢阵挛,未直立;4级:双前肢阵挛伴身体直立;5级:强直阵挛发作伴随直立并背部倒地。连续10 d及以上出现4级以上发作视为成功点燃。根据分组在点燃24 h、30 d、60 d留取标本,制作石蜡切片或-80 $^{\circ}$ C冻存备用。

1.2.2 尼氏染色 石蜡切片经脱蜡、固定后将玻片置于尼氏染色液中8~10 min,根据染色深浅调整染色时间,用蒸馏水终止染色;70%、95%、100%酒精梯度脱水;二甲苯透明,中性树胶封片,镜下观察并进行白光全扫。CaseViewer软件进行神经元计数。

1.2.3 QPCR QPCR法检测BKCa通道 β 4亚基表达:取-80 $^{\circ}$ C冰箱中保存的新鲜冰冻大鼠脑组织,分别分离大鼠皮质及海马。提取RNA,逆转录成cDNA,QPCR检测。引物序列如下:

1.2.4 Western Blot 同1.2.3冰上剥离大鼠皮质及海马,提取组织总蛋白,测定蛋白浓度,蛋白变性。制备凝胶,进行蛋白质电泳、电转移,加一抗、二抗孵育,进

基因	引物	序列(5'-3')	产物大小
大鼠GAPDH	正义链	AGTCTACTGGC- GTCTTCACC	225bp
	反义链	CCACGATGC- CAAAGTTGTCA	
大鼠MaxiK- β 4	正义链	GTGTACGTGAA- CAACTCCGAG	218bp
	反义链	ACGTCCTCTG- GTCTTTGATGT	

行免疫印迹显色,曝光,晾干胶片,扫描,用BandScan分析GAPDH及MaxiK- β 4光灰度值,计算MaxiK- β 4/GAPDH比值。

1.2.5 免疫组织化学染色 石蜡切片脱蜡洗片,进行抗原修复;加入一抗、二抗,室温孵育;加显色液,根据染色深度控制染色时间(阳性为棕黄色或棕褐色);自来水终止,流水冲洗;苏木素复染后脱水、透明,中性树胶封片;显微镜下观察。Image-Pro Plus 6.0软件分析光密度值。

1.3 统计学分析

采用SPSS 26.0软件处理数据。符合正态分布以及方差齐性的计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 点燃癫痫模型制作及行为学检测

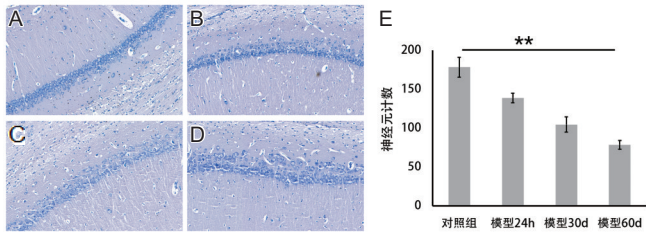
6只大鼠纳入对照组;20只大鼠纳入模型组,制作点燃模型。点燃过程中1只电极脱落,1只20 d仍未达到4级发作,18只成功点燃,首次达到Racine 4~5级发作的时间为(11.22 \pm 1.99)d。连续10次达到4~5级发视为模型成功。模型组大鼠随机分为点燃24 h、30 d、60 d组,每组6只。

2.2 点燃时间对大鼠神经元损伤的影响

尼氏染色结果显示:对照组染色最清晰,海马区神经元排列规则,胞膜、胞核边界清晰,胞体及轴突完整,可见大量尼氏小体。细胞胞质染色为浅蓝色,尼氏小体大而数量多,呈蓝紫色;随着癫痫模型时间的增加,海马区神经元排列稍紊乱。海马及皮质神经元数量减少,部分神经元形态不完整,胞体肿胀,胞质可见空泡,尼氏小体数量减少,染色欠清晰。400倍光镜下行神经元计数,结果显示,对照组、模型24 h组、模型30 d组和模型60 d组正常形态神经元计数分别为:海马CA1区(178.44 \pm 12.80)个、(138.89 \pm 6.15)个、(104.67 \pm 9.94)个和(78.44 \pm 5.50)个;海马CA3区(206.50 \pm 6.71)个、(174.83 \pm 5.42)个、(125.83 \pm 6.27)个和(89.83 \pm 8.86)个;皮质分别为(286.33 \pm 5.43)个、(198.33 \pm 9.54)个、(141.67 \pm 9.24)个和(98.67 \pm 4.32)个。模型组神经元计数显著低于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$),且随着模型点燃时间增加,神经元计数呈降低趋势。结果表明点燃癫痫动物模型神经损伤是持续的过程,可能跟反复痫性发作相关,见图1-3。

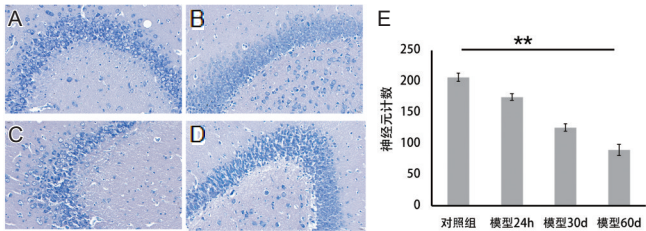
2.3 癫痫模型中BKCa通道 β 4亚基变化

2.3.1 皮质BKCa通道 β 4亚基动态变化 ①QPCR方



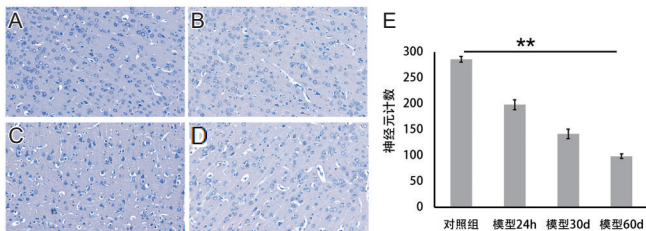
注:(A)对照组;(B)模型24 h组;(C)模型30 d组;(D)模型60 d组;(E)各组神经元计数比较,** $P<0.05$ 。

图1 海马CA1区尼氏染色(400×,光学显微镜)



注:(A)对照组;(B)模型24 h组;(C)模型30 d组;(D)模型60 d组;(E)各组神经元计数比较,** $P<0.05$ 。

图2 海马CA3区尼氏染色(400×,光学显微镜)

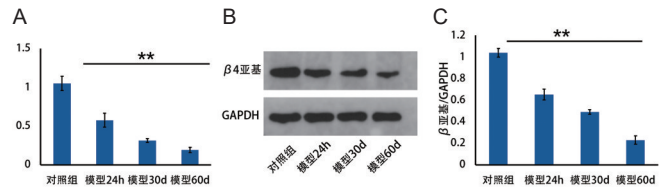


注:(A)对照组;(B)模型24 h组;(C)模型30 d组;(D)模型60 d组;(E)各组神经元计数比较,** $P<0.05$ 。

图3 皮质尼氏染色(400×,光学显微镜)

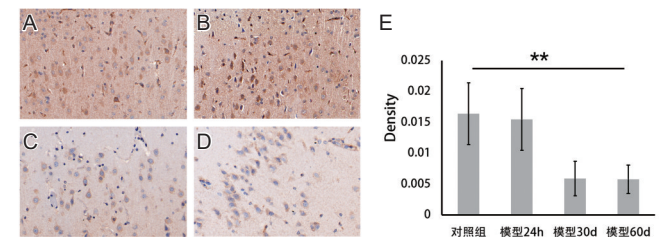
法分析点燃癫痫模型不同时间 $\beta 4$ 亚基的变化,可见模型组明显低于对照组,且随着点燃时间增加,呈降低趋势,见图4A。相对表达量计算结果显示,对照组、模型24 h组、模型30 d组和模型60 d组分别为 (1.05 ± 0.09) 、 (0.58 ± 0.09) 、 (0.31 ± 0.03) 和 (0.19 ± 0.04) ,各组差异有统计学意义($P<0.05$)。②Western blot分析 $\beta 4$ 亚基表达与QPCR结果一致,对照组及模型组均有表达,模型组明显低于对照组,且随着点燃时间增加,表达呈降低趋势,见图4B。相对光密度值分析示 $\beta 4$ 亚基/GAPDH在对照组、模型24 h组、模型30 d组和模型60 d组分别为 (1.04 ± 0.04) 、 (0.65 ± 0.05) 、 (0.49 ± 0.02) 和 (0.23 ± 0.04) ,各组差异有统计学意义($P<0.05$),见图4C。③免疫组化染色显示着色清晰度一般,但仍可见 $\beta 4$ 亚基在各组皮质均有表达,见图5A-D。高倍镜下可见 $\beta 4$ 亚基(棕褐色物质)主要表达部位为细胞质,对照组及模型24 h组可见大量棕褐色着色细胞,模型30 d组及模型60 d组棕褐色物质表达减少。光密度分析示其在对照组、模型24 h组、模型30d组和模型60 d组分别为 (0.016 ± 0.005) 、

(0.016 ± 0.005) 、 (0.006 ± 0.003) 和 (0.006 ± 0.003) ,模型组低于对照组,且随着模型点燃时间增加,表达呈降低趋势,与QPCR及Western blot结果趋势基本一致,统计分析示模型30 d/60 d组与对照组/模型24 h组,差异有统计学意义($P<0.05$);对照组和模型24 h组,模型30 d组和模型60 d组之间,差异无统计学意义,见图5E。



注:(A)QPCR结果分析,** $P<0.05$;(B-C)Western blot结果分析,** $P<0.05$ 。

图4 皮质BKCa通道 $\beta 4$ 亚基QPCR及Western blot检测结果



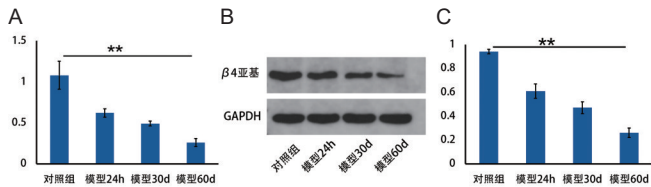
注:(A)对照组;(B)模型24 h组;(C)模型30 d组;(D)模型60 d组;(E)相对光密度值分析,模型30 d/60 d组较对照组显著降低,** $P<0.05$;对照组和模型24 h组,模型30 d组和模型60 d组之间差异无统计学意义。

图5 皮质BKCa通道 $\beta 4$ 亚基表达免疫组化染色结果(400×,光学显微镜)

2.3.2 海马BKCa通道 $\beta 4$ 亚基动态变化 ①QPCR方法分析点燃癫痫模型不同时间 $\beta 4$ 亚基的变化,可见模型组明显低于对照组,且随着点燃时间增加,呈降低趋势,见图6A;相对表达量计算示对照组、模型24 h组、模型30 d组和模型60 d组分别为 (1.08 ± 0.17) 、 (0.62 ± 0.05) 、 (0.49 ± 0.03) 和 (0.26 ± 0.05) ,各组差异有统计学意义($P<0.05$)。②Western blot方法分析 $\beta 4$ 亚基表达,可见对照组及模型组均有表达,模型组明显低于对照组,且随着点燃时间增加,表达呈降低趋势,见图6B;相对光密度值分析示 $\beta 4$ 亚基/GAPDH在对照组、模型24 h组、模型30 d组和模型60 d组分别为 (0.94 ± 0.02) 、 (0.61 ± 0.06) 、 (0.47 ± 0.05) 和 (0.26 ± 0.04) ,各组差异有统计学意义($P<0.05$),见图6C。③免疫组化染色可见 $\beta 4$ 亚基主要在海马齿状回区表达。对照组及模型组齿状回均可见棕褐色着色细胞,着色清晰度一般,见图7A-D。

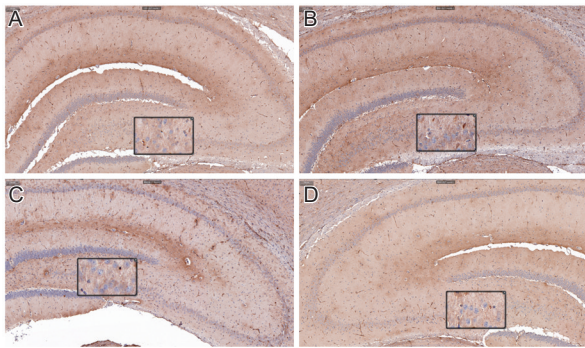
3 讨论

本研究结果表明,杏仁核点燃癫痫模型成功率较



注：(A)QPCR 结果分析，** $P<0.05$ ；(B-C)Western blot 结果分析，** $P<0.05$ 。

图6 海马BKCa通道 $\beta 4$ 亚基QPCR及Western blot检测结果



注：(A)对照组；(B)模型24 h组；(C)模型30 d组；(D)模型60 d组。

图7 海马BKCa通道 $\beta 4$ 亚基表达免疫组化染色结果
(100 \times ,光学显微镜)

高(18/20),与既往报道一致^[7]。在杏仁核点燃癫痫模型中,相对对照组,大鼠皮质及海马CA1、CA3区神经元均有明显的缺失,且随着点燃时间增加神经元计数呈下降趋势,表明点燃癫痫模型对神经元损伤是持续的过程。BKCa通道与癫痫的关系密切,实验结果还显示,点燃癫痫模型可以导致BKCa通道 $\beta 4$ 亚基表达降低,随着点燃时间增加,呈下降趋势,提示BKCa通道 $\beta 4$ 亚基可能参与了杏仁核点燃癫痫模型发生发展的过程。

与其他动物模型相比,电点燃癫痫模型有独特的优点:在点燃阶段,规律的低电流刺激,降低了脑组织的直接损伤;通过刺激电极及记录电极植入,可以同步记录到动物癫痫发作与相应脑区痫样放电;点燃成功后,有自发性发作,可以更好的模拟人类癫痫反复发作性的特点;多项研究也发现电点燃模型的神经元损失主要发生在海马CA1区、CA3区、DG区等与颞叶癫痫相关的区域。本实验中,在癫痫大鼠皮质及海马中均发现正常神经元计数减少,且随着点燃时间增加,神经元计数呈降低趋势。说明点燃癫痫动物模型可以导致神经元持续丢失。

BKCa通道基因最初是从果蝇中克隆出来,随后发现其广泛表达于神经元、平滑肌、心肌和外分泌细胞等^[8]。BKCa通道是一种特殊类型的钾通道,具有最大的单通道电导^[9]。生理条件下,除了有膜去极化和细胞内钙浓度2种独立的激活途径外,它还受细胞内镁

离子及氢离子影响^[2]。BKCa通道抑制和兴奋作用的机制非常复杂。功能研究表明,BKCa通道激活引起动作电位复极化和进一步超极化的形成,使神经元的兴奋性降低,发挥抑制性作用。但有证据表明,BKCa通道的激活还可以促进某些脑神经元(如海马CA1锥体细胞)的高频放电;考虑可能是细胞外 K^+ 水平的变化可以改变细胞膜电位,使其持续去极化,从而导致阵发性放电^[10]。BKCa通道的具体作用可能取决于它们的分布定位和不同类型通道表达。

BKCa通道是一种由成孔 α 亚基单独作为四聚体或与1~3个辅助 β 亚基,或辅助 γ -亚基组成的多聚体结构。 α 亚基广泛表达于中枢神经系统皮质和海马区;其在谷氨酸能神经末梢中的表达比在GABA能神经末梢中更丰富。 α 亚单位也存在于苔藓纤维中,这是齿状回颗粒细胞的轴突,支配CA3锥体神经元-海马区的主要兴奋性投射^[11]。与 α 亚基不同, β 亚基克隆出4种亚型: $\beta 1 \sim \beta 4$,分布于脑内神经元的主要是 $\beta 4$ 亚基,它以钙依赖的方式对BK通道产生双向效应。当局部钙离子浓度较低时, $\beta 4$ 亚基抑制BK通道的激活,而在高钙离子浓度时则促进激活^[12]。 $\beta 2$ 和 $\beta 3$ 亚基在脑内也有表达,而 $\beta 1$ 亚基则主要表达于大脑动脉平滑肌细胞。电生理和药理学证据表明, α 亚基与 β 亚基的相互作用决定了在中枢神经系统观察到的BK通道亚型及功能。中枢神经元BK通道有3种亚型: I型包括快速激活和N型失活($\alpha+\beta 2$),和单独只有 α 亚基的非失活BK通道; II型是非失活BK($\alpha+\beta 4$),是脑内主要表达的BK通道,参与兴奋性调控^[13]。

研究表明,BK通道在癫痫发作后早期增加神经元兴奋性,在单次癫痫发作后,阻断BK通道可防止随后的癫痫发作^[14]。Savina等^[15]报道,在听源性点燃的Krushinskii-Molodkin大鼠的齿状回神经元中,发现BKCa通道的 α 亚基上调和 $\beta 4$ 亚基下调。利用 $\beta 4$ 基因敲除小鼠也显示海马颗粒细胞BK通道的功能增强,从而使动作电位变得尖锐,放电频率增加。 $\beta 4$ 亚基敲除鼠表现出类似来自颞叶皮质的独特的癫痫发作形式,并且与齿状回的损伤相一致,表明 $\beta 4$ 亚基可能通过海马区同步化门控参与颞叶癫痫的发生^[16]。在匹罗卡品致病模型中发现,2 d后海马 $\beta 4$ 亚基表达下调,与表达减少一致的是,BK通道的亚型发生了转换,从II型BK通道($BK\alpha+\beta 4$),到I型通道(仅 $BK\alpha$);这种切换伴随着BK通道功能的改变及癫痫敏感性的增加^[17]。本实验利用杏仁核电刺激点燃模型,观察BK通道 $\beta 4$ 亚基在急性期和慢性期的变化,点燃后24 h即发现皮质及

Impulse Test (vHIT) of Semicircular Canal Function - Age-Dependent Normative Values of VOR Gain in Healthy Subjects[J]. *Front Neurol*, 2015, 6: 154.

[8] Nakashima T, Naganawa S, Sugiura M, et al. Visualization of endolymphatic hydrops in patients with Meniere's disease[J]. *Laryngoscope* 2007, 117(3): 415-420.

[9] Arbusow V, Derfuss T, Held K, et al. Latency of herpes simplex virus type-1 in human geniculate and vestibular ganglia is associated with infiltration of CD8+ T cells[J]. *J Med Virol*, 2010, 82(11): 1917-1920.

[10] Esaki S, Goshima F, Kimura H, et al. Auditory and vestibular defects induced by experimental labyrinthitis following herpes simplex virus in mice[J]. *Acta Otolaryngol*, 2011, 131(7): 684-691.

[11] Rujescu D, Hartmann AM, Giegling I, et al. Genome-Wide Association Study in Vestibular Neuritis: Involvement of the Host Factor for HSV-1 Replication[J]. *Front Neurol*, 2018, 9: 591.

[12] Jeong SH, Kim HJ, Kim JS. Vestibular neuritis[J]. *Semin Neurol*, 2013, 33(3): 185-194.

[13] Suzuki F, Furuta Y, Ohtani F, et al. Herpes virus reactivation and gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging in patients with facial palsy[J]. *Otol Neurotol*, 2001, 22(4): 549-553.

[14] Martin-Duverneuil N, Sola-Martínez MT, Miaux Y, et al. Contrast enhancement of the facial nerve on MRI: normal or pathological[J]? *Neuroradiology*, 1997, 39(3): 207-212.

[15] Naganawa S, Kawai H, Sone M, et al. Increased sensitivity to low concentration gadolinium contrast by optimized heavily T2-weighted 3D-FLAIR to visualize endolymphatic space[J]. *Magn Reson Med Sci*, 2010, 9(2): 73-80.

[16] Tagaya M, Yamazaki M, Teranishi M, et al. Endolymphatic hydrops and blood-labyrinth barrier in Ménière's disease[J]. *Acta Otolaryngol*, 2011, 131(5): 474-479.

[17] Venkatasamy A, Huynh TT, Wohlhuter N, et al. Superior vestibular

neuritis: improved detection using FLAIR sequence with delayed enhancement (1 h) [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2019, 276(12): 3309-3316.

[18] Byun H, Chung JH, Lee SH, et al. Clinical value of 4-hour delayed gadolinium-Enhanced 3D FLAIR MR Images in Acute Vestibular Neuritis [J]. *Laryngoscope*, 2018, 128(8): 1946-1951.

[19] 韩永平, 张俊义, 梁彩凤, 等. 前庭神经炎MRI钆造影所见及临床分析[J]. *中华耳科学杂志*, 2022, 20(5): 739-744.

[20] Simões J, Vlaminck S, Seiça R, et al. Vascular mechanisms in acute unilateral peripheral vestibulopathy: a systematic review[J]. *Acta Otorhinolaryngol Ital*, 2021, 41(5): 401-409.

[21] Navari E, Casani AP. Lesion Patterns and Possible Implications for Recovery in Acute Unilateral Vestibulopathy[J]. *Otol Neurotol*, 2020, 41(2): e250-e255.

[22] Han W, Wang D, Wu Y, et al. Correlation between vestibular neuritis and cerebrovascular risk factors[J]. *Am J Otolaryngol*, 2018, 39(6): 751-753.

[23] Oron Y, Shemesh S, Shushan S, et al. Cardiovascular Risk Factors Among Patients With Vestibular Neuritis[J]. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 2017, 126(8): 597-601.

[24] Şahin M, Kökoğlu K, Gülmez E. Mean platelet volume, neutrophil-and platelet to lymphocyte ratios are elevated in vestibular neuritis[J]. *J Clin Neurosci*, 2019, 67: 134-138.

[25] Kim JS, Lee H. Inner ear dysfunction due to vertebrobasilar ischemic stroke[J]. *Semin Neurol*, 2009, 29(5): 534-540.

[26] Goebel JA, O' Mara W, Gianoli G. Anatomic considerations in vestibular neuritis[J]. *Otol Neurotol*, 2001, 22(4): 512-518.

[27] Bird PA, Murray DP, Zhang M, et al. Intratympanic versus intravenous delivery of dexamethasone and dexamethasone sodium phosphate to cochlear perilymph[J]. *Otol Neurotol*, 2011, 32(6): 933-936.

(本文编辑:唐颖馨)

(上接第72页)

海马区β4亚基表达下降,与既往研究一致;除此以外,研究还发现β4亚基表达随着点燃时间的增加,呈下降趋势,与神经元损伤程度也相一致。

综上所述,杏仁核点燃癫痫模型中,随着发作增加,神经元缺失呈上升趋势,同时伴随BKCa通道β4亚基表达下降,且表达部位在与癫痫关系密切的皮质与海马部位,表明β4亚基可能在杏仁核癫痫模型点燃过程中发挥作用。

参考文献

[1] Al-Karaghali MA, Gram C, Nielsen CAW, et al. Targeting BKCa Channels in Migraine: Rationale and Perspectives[J]. *CNS Drugs*, 2020, 34(4): 325-335.

[2] N' Gouemo P. Targeting BK (big potassium) channels in epilepsy[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2011, 15(11): 1283-1295.

[3] N' Gouemo P. BKCa channel dysfunction in neurological diseases[J]. *Front Physiol*, 2014, 5: 373.

[4] Liu N, Yan F, Ma Q, et al. Modulation of TRPV4 and BKCa for treatment of brain diseases[J]. *Bioorg Med Chem*, 2020, 28(16): 115609.

[5] Paxinos G, Watson CR, Emson PC. AChE-stained horizontal sections of the rat brain in stereotaxic coordinates[J]. *J Neurosci Methods*, 1980, 3(2): 129-149.

[6] Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure[J]. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1972, 32(3): 281-294.

[7] Li X, Kang H, Liu X, et al. Effect of adenosine A2A receptor

antagonist ZM241385 on amygdala-kindled seizures and progression of amygdala kindling[J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2012, 32(2): 257-264.

[8] Contet C, Goulding SP, Kuljis DA, et al. BK Channels in the Central Nervous System[J]. *Int Rev Neurobiol*, 2016, 128: 281-342.

[9] Zhang J, Yan J. Regulation of BK channels by auxiliary γ subunits[J]. *Front Physiol*, 2014, 5: 401.

[10] Lebovitz RM. Quantitative examination of dynamic interneuronal coupling via single-spike extracellular potassium ion transients[J]. *J Theor Biol*, 1996, 180(1): 11-25.

[11] Martire M, Barrese V, D' Amico M, et al. Pre-synaptic BK channels selectively control glutamate versus GABA release from cortical and hippocampal nerve terminals[J]. *J Neurochem*, 2010, 115(2): 411-422.

[12] Wang B, Rothberg BS, Brenner R. Mechanism of beta4 subunit modulation of BK channels[J]. *J Gen Physiol*, 2006, 127(4): 449-465.

[13] Latorre R, Castillo K, Carrasquel-Ursulaez W, et al. Molecular Determinants of BK Channel Functional Diversity and Functioning[J]. *Physiol Rev*, 2017, 97(1): 39-87.

[14] Sheehan JJ, Benedetti BL, Barth AL. Anticonvulsant effects of the BK-channel antagonist paxilline[J]. *Epilepsia*, 2009, 50(4): 711-720.

[15] Savina TA, Levin SG, Poletaeva II, et al. Audiogenic kindling changes the subunit composition of BK-channels in dentate gyrus of Krushinskii-Molodkina rats[J]. *Biochemistry (Moscow) Supplement Series A: Membrane and Cell Biology*, 2014, 8: 111-115.

[16] Brenner R, Chen QH, Vilaythong A, et al. BK channel beta4 subunit reduces dentate gyrus excitability and protects against temporal lobe seizures[J]. *Nat Neurosci*, 2005, (12): 1752-1759.

[17] Whitmire LE, Ling L, Bugay V, et al. Downregulation of KCNMB4 expression and changes in BK channel subtype in hippocampal granule neurons following seizure activity[J]. *PLoS One*, 2017, 12(11): e0188064.

(本文编辑:唐颖馨)