

[文章编号] 1671-587X(2024)05-1243-07

DOI:10.13481/j.1671-587X.20240507

新型抗癫痫药 Q808 对颞叶癫痫大鼠的改善作用及其机制

郑微微, 高帆, 杨振林, 李佳芮, 郭晶晶, 李今子
(延边大学附属医院儿科, 吉林 延吉 133000)

[摘要] **目的:** 探讨新型抗癫痫药 6-(4-氯苯氧基)-四唑^(5,1-a) 酞嗪 (Q808) 对颞叶癫痫 (TLE) 大鼠神经元损伤的改善作用, 并阐明其作用机制。**方法:** 采用腹腔注射 Q808 的方法制备 TLE 大鼠模型。将 45 只造模成功大鼠随机分为模型组、低剂量 Q808 组和高剂量 Q808 组, 每组 15 只, 低剂量 Q808 组和高剂量 Q808 组大鼠分别采用 20 和 80 mg·kg⁻¹ Q808 灌胃, 模型组大鼠采用等量 0.3% 羧甲基纤维素钠灌胃, 另选 15 只健康 SD 大鼠作为对照组。持续灌胃治疗 4 周后, 观察各组大鼠行为表现, 采用 PONEMAH 6. X 实验动物遥测平台记录各组大鼠脑电图, 采用高尔基染色观察各组大鼠海马 CA1 神经元树突形态表现和神经元树突棘密度, 采用 Western blotting 法检测各组大鼠海马组织中突触可塑性特异性蛋白钙/钙调素依赖性蛋白激酶 II (CaMK II) 蛋白表达水平。**结果:** 对照组大鼠活动正常, 无抽搐等异常表现; 模型组、低剂量 Q808 和高剂量 Q808 组大鼠出现不同程度活动减少、震颤点头、失去平衡、肌肉强直和前肢的抽搐, 逐渐转变为全身肌肉强直和站立, 随后向后跌倒, 发作间期无抽搐发作。与对照组比较, 模型组、低剂量 Q808 和高剂量 Q808 组大鼠癫痫发作总持续时间明显延长 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 低剂量 Q808 和高剂量 Q808 组大鼠癫痫发作总持续时间明显缩短 ($P < 0.01$)。对照组大鼠海马组织 CA1 区神经元树突分布较为规律, 树突网密集有序; 模型组大鼠海马组织 CA1 区神经元树突排列紊乱, 大量树突缠结, 形成较粗大的神经纤维束; 与模型组比较, 低剂量 Q808 和高剂量 Q808 组大鼠海马组织 CA1 区神经元树突网络有所恢复, 排列相对规律。与对照组比较, 模型组大鼠海马组织 CA1 区神经元树突棘密度明显降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 低剂量 Q808 和高剂量 Q808 组大鼠海马组织 CA1 区神经元树突棘密度明显升高 ($P < 0.01$)。与对照组比较, 模型组、低剂量 Q808 组和高剂量 Q808 组大鼠海马组织中 CaMK II 蛋白表达水平明显降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 低剂量 Q808 组和高剂量 Q808 组大鼠海马组织中 CaMK II 蛋白表达水平明显升高 ($P < 0.01$)。**结论:** 新型抗癫痫药 Q808 对 TLE 模型大鼠有改善作用, 其机制可能与 Q808 能减轻海马组织 CA1 区神经元树突病变和增加突触可塑性相关蛋白 CaMK II 蛋白表达水平有关。

[关键词] 颞叶癫痫; 6-(4-氯苯氧基)-四唑^(5,1-a) 酞嗪; 突触可塑性; 钙/钙调素依赖性蛋白激酶 II; 长时程增强

[中图分类号] R742.1 [文献标志码] A

Ameliorative effect of novel antiepileptic drug Q808 on rats with temporal lobe epilepsy and its mechanism

ZHENG Weiwei, GAO Fan, YANG Zhenlin, LI Jiarui, GUO Jingjing, LI Jinzi

(Department of Pediatrics, Affiliated Hospital, Yanbian University, Yanji 133000, China)

ABSTRACT Objective: To discuss the ameliorative effect of a novel antiepileptic drug Q808 on neuronal

[收稿日期] 2023-11-12

[基金项目] 吉林省卫健委卫生健康科技能力提升项目 (2017J097)

[作者简介] 郑微微 (1991-), 女, 吉林省松原市人, 住院医师, 医学硕士, 主要从事小儿神经系统疾病方向的研究。

[通信作者] 李今子, 教授, 主任医师, 博士研究生导师 (E-mail: yjzli@ybu.edu.cn)

injury in temporal lobe epilepsy (TLE) rats, and to clarify its mechanism of action. **Methods:** TLE rat model was prepared by intraperitoneal injection of the innovative antiepileptic drug candidate 6-(4-chlorophenoxy)-tetrazolo^(5,1-a) phthalazine (Q808). Forty-five successfully modeled rats were randomly divided into model group, low dose of Q808 group, and high dose of Q808 group, and there were 15 rats in each group. The rats in low dose of Q808 group and high dose of Q808 group were gavaged with 20 and 80 mg·kg⁻¹ Q808, respectively, and the rats in model group were gavaged with an equal amount of 0.3% sodium carboxymethyl cellulose. Another 15 healthy SD rats were selected as control group. After 4 weeks of continuous gavage treatment, the morphology of the rats in various groups was observed; PONEMAH 6. X experimental animal telemetry platform was used to record the electroencephalogram of the rats in various groups; Golgi staining was used to observe the morphology of dendritic and dendritic spine density of hippocampal CA1 neurons of the rats in various groups; Western blotting method was used to detect the expression levels of synaptic plasticity-specific protein calcium/calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII) in hippocampus tissue of the rats in various groups. **Results:** The rats in control group showed normal activity without convulsions or other abnormal manifestations. The rats in model group, low dose of Q808 group, and high dose of Q808 group showed varying degrees of reduced activity, trembling and nodding, loss of balance, muscle rigidity and forelimb convulsions, gradually transforming into whole-body muscle rigidity and standing, followed by falling backwards, and there were no convulsions during the interictal period. Compared with control group, the total durations of epileptic seizures of the rats in model group, low dose of Q808 group, and high dose of Q808 group were significantly prolonged ($P < 0.01$). Compared with model group, the total durations of epileptic seizures in low dose of Q808 group and high dose of Q808 group were significantly shortened ($P < 0.01$). The hippocampal CA1 neurons of the rats in control group showed regular distribution of dendrites with dense and orderly dendritic networks. The hippocampal CA1 neurons of the rats in model group showed disordered arrangement of dendrites with massive dendritic entanglement, forming thicker nerve fiber bundles. Compared with model group, the dendritic networks of hippocampal CA1 neurons of the rats in low dose of Q808 group and high dose of Q808 group were partially recovered with relatively regular arrangement. Compared with control group, the dendritic spine density of hippocampal CA1 neurons of the rats in model group was significantly decreased ($P < 0.01$). Compared with model group, the dendritic spine densities of hippocampal CA1 neurons in low dose of Q808 group and high dose of Q808 group significantly increased ($P < 0.01$). Compared with control group, the expression levels of CaMK II protein in hippocampus tissue of the rats in model group, low dose of Q808 group, and high dose of Q808 group were significantly decreased ($P < 0.01$). Compared with model group, the expression levels of CaMK II protein in hippocampus tissue of the rats in low dose of Q808 group and high dose of Q808 group were significantly increased ($P < 0.01$). **Conclusion:** The novel antiepileptic drug Q808 has an ameliorating effect on the TLE model rats; its mechanism may be related to Q808's ability to reduce the dendritic lesions in hippocampal CA1 neurons and increase the expression level of synaptic plasticity-related protein CaMK II protein.

KEYWORDS Temporal lobe epilepsy; 6-(4-chlorophenoxy)-tetrazolo^(5,1-a) phthalazine; Synaptic plasticity; Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II; Long-term potentiation

癫痫是一种常见的神经系统疾病,全球患者约为6 500万^[1],以大脑神经元高度同步化异常放电为特征^[2],患病率约为0.76%^[3]。抗癫痫药物治疗后20%~30%的癫痫患者会发展为难治性癫痫,其中颞叶癫痫(temporal lobe epilepsy, TLE)最为常见^[4],严重影响患者的学习生活质量,寻找新

一代抗癫痫新药是当前需解决的问题之一。本研究采用的具有独立知识产权的国家级一类抗癫痫创新候选药物6-(4-氯苯氧基)-四唑^(5,1-a)酞嗪(Q808)是一种二氮杂萘四唑衍生物,由延边大学药学院合成,尚未应用于临床。动物研究^[5]显示:Q808对戊四唑、异烟肼、硫代氨基脲和3-巯基丙酸等化学

物质诱导的癫痫模型动物具有抗惊厥活性, 且神经毒性低。研究^[6]显示: 采用 Q808 治疗戊四唑诱导的癫痫模型大鼠后, 大鼠海马组织中乙酰胆碱水平升高, 3-甲氧酪胺、谷氨酰胺和 5-羟基吲哚乙酸水平降低。在最大休克诱导的癫痫模型小鼠中, Q808 具有明显的抗惊厥发作效果^[7], 但其作用机制尚未明确。

研究^[8]显示: 抗癫痫药物的作用机制与神经元突触可塑性密切相关, 抗癫痫药物拉莫三嗪、地西洋、左乙拉西坦和丙戊酸等可促进大鼠不同脑区的神经元突触可塑性。海马区神经元突触多数为兴奋性突触, 其突触后成分树突棘可塑性包括形态结构可塑性和功能可塑性, 后者表现为长时程增强(long-term potentiation, LTP)或长时程抑制(long-term depression, LTD)。突触后致密部分的主要成分钙/钙调素依赖性蛋白激酶 II (calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, CaMK II) 是参与 LTP 的重要因子, 对调节突触可塑性起关键作用^[9]。本研究基于突触可塑性和特异性相关蛋白 CaMK II 的作用, 探讨 Q808 改善 TLE 模型大鼠海马神经元损伤的可能机制, 为抗癫痫治疗药物的研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物、主要试剂和仪器 6~8 周无特定病原体级健康雄性 SD 大鼠 60 只, 体质量 220~280 g, 购自延边大学医学院实验动物中心, 动物使用许可证号: SYXK (吉) 2015-0007。氯化锂和匹罗卡品购自德国 Sigma 公司, Q808 由延边大学药学院提供, CaMK II- α 抗体购自上海 Abcam 公司, 荧光标记驴抗兔二抗购自美国 Jackson ImmunoResearch 公司, 高尔基染色试剂盒购自上海杰美基因医药科技有限公司。PONEMAH 6. X 实验动物遥测平台购自美国 Data Sciences International 公司, 蛋白质电泳分离和转移装置购自美国 Bio-Rad 公司。

1.2 TLE 模型制备、分组和给药 大鼠适应性饲养 1 周后开始实验。腹腔注射氯化锂 $127 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 20 h 后大鼠腹腔注射阿托品 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 30 min 后腹腔注射匹罗卡品 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。观察大鼠行为改变, 按照 Racine 癫痫发作分级标准^[10], 达到 IV 级或以上说明模型制备成功。未达标大鼠每 30 min 腹腔注射 1 次匹罗卡品 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 排除腹腔注射最大剂量匹罗卡品 ($\leq 60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 仍未达标的

大鼠。当大鼠癫痫发作超过 30 min 后, 腹腔注射 2% 戊巴比妥钠终止癫痫发作。将造模成功的 45 只大鼠随机分为模型组、低剂量 Q808 组和高剂量 Q808 组, 每组 15 只, 另设对照组 (15 只, 不给药)。低剂量 Q808 组和高剂量 Q808 组大鼠分别采用 20 和 $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Q808 灌胃, 模型组大鼠采用等量 0.3% 羧甲基纤维素钠灌胃, 各组大鼠每日灌胃给药 1 次, 连续 4 周。

1.3 各组大鼠行为表现观察 观察各组大鼠行为表现, 包括移动性、探索性行为 and 一般活动量, 记录大鼠是否出现异常行为 (如抽搐、震颤、头部或肢体失衡、摔倒或站立不稳)。

1.4 脑电图检查各组大鼠癫痫发作总持续时间

末次给药 1 d 后, 采用 PONEMAH 6. X 系统检测各组大鼠脑电图。将大鼠麻醉后固定于立体定位仪, 剃去头部沿两只眼睛向后的毛, 消毒后沿背部中线切开 3~4 cm, 沿切口向背部进行钝性分离, 直至背部出现 1 个口袋状切口, 将植入子置于其中。去除颅骨表面组织, 暴露颅骨进行定位: 负极导线置于前囟前方 2.0 mm 和左颞侧 1.5 mm 处, 正极导线置于前囟后方 7.0 mm 和右颞侧 1.5 mm 处。采用 1.0 mm 微型钻头在定位处对颅骨钻孔, 孔洞应完全穿过骨骼, 但不穿透硬脑膜。将植入子末端导线的绝缘层剥去 2 mm 后制成“U”形插入钻孔处, 采用牙科丙烯酸树脂正确固定, 缝合切口, 手术结束。待大鼠恢复, 连续记录脑电图 7 d, 采用 neuroscore 2.0 软件进行统计学分析, 统计各组大鼠癫痫发作总持续时间。

1.5 高尔基染色观察各组大鼠海马组织 CA1 区神经元树突形态表现和树突棘密度计算

提取各组大鼠海马组织, 严格按照 Golgi-Cox 染色试剂盒说明书操作。将 GENMED 染色液 A 和 B 混合均匀为 10 mL 溶液, 室温避光条件下浸泡大鼠海马组织 14 d。随后置于 30% 蔗糖中, 待海马组织沉淀后进行切片, 切片厚度为 100 μm 。采用清理液漂洗切片, 滴加 GENMED 染色液于室温下孵育。采用清理液漂洗后滴加 GENMED 显色混合液, 继续避光孵育。经清理液漂洗、脱水和透明化处理, 将切片采用中性树脂封装。光学显微镜采集各组大鼠 ($n=4$) 海马神经元 CA1 区神经元第 2~3 级树突棘, 每只大鼠采集 4 个神经元, 每个神经元选取长度约为 50 μm 的树突, 采用 Image J 软件计算神经元树突棘密度。

1.6 Western blotting法检测各组大鼠海马组织中

CaMK II 蛋白表达水平 取各组大鼠海马组织,加入裂解液和蛋白酶抑制剂,组织匀浆机均匀。将混合液在4℃下离心,收集上清液。采用二喹啉甲酸法对蛋白质进行定量。将蛋白质样本进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,采用甲醇激活聚偏氟乙烯膜进行蛋白质转印。随后将膜置入脱脂奶粉中封闭2 h,加入一抗CaMK II- α 4℃过夜孵育。洗膜后加入荧光驴抗兔二抗,室温孵育1.5 h。采用显影仪进行显影,以 β -肌动蛋白为内参,计算目的蛋白表达水平。目的蛋白表达水平=目的蛋白条带灰度值/ β -肌动蛋白条带灰度值。

1.7 统计学分析 采用SPSS 21.0统计软件进行统计学分析。各组大鼠癫痫发作总持续时间、海马组织中神经元树突棘密度和CaMK II蛋白表达水平符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间样本均数比较采用单因素方差分析,组间样本均数两两比较采用 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠行为学表现和癫痫发作情况 对照组大鼠活动正常,无抽搐等异常表现。模型组、低剂量Q808组和高剂量Q808组大鼠出现不同程度活动减少、流涎、震颤点头、失去平衡、肌肉强直和前肢抽搐,逐渐转变为全身肌肉强直和站立,随后向后跌倒,发作间期无抽搐发作。

2.2 各组大鼠脑电图表现 对照组大鼠脑电图未见明显异常,模型组大鼠脑电图可见明显的阵发性棘波和尖波等波形,低和高剂量Q808组大鼠脑电图棘波和尖波等波形波幅较模型组明显降低。见图1。与对照组比较,模型组、低剂量Q808组和高剂量Q808组大鼠癫痫发作总持续时间明显延长($P < 0.01$);与模型组比较,低剂量Q808组和高剂量Q808组大鼠癫痫发作总持续时间明显缩短($P < 0.01$);与低剂量Q808组比较,高剂量Q808组大鼠癫痫发作总持续时间明显缩短($P < 0.01$)。见图2。

2.3 各组大鼠海马组织CA1区神经元树突形态表现 对照组大鼠海马组织CA1区神经元树突分布较规律,树突网密集有序的状态。模型组大鼠海马组织CA1区神经元树突排列紊乱,大量树突缠结,形成较粗大的神经纤维束。与模型组比较,低剂量Q808组和高剂量Q808组大鼠海马组织CA1区神经元树突网络有所恢复,排列相对规律。见图3。高倍镜下对照组大鼠海马组织CA1区神经元的树

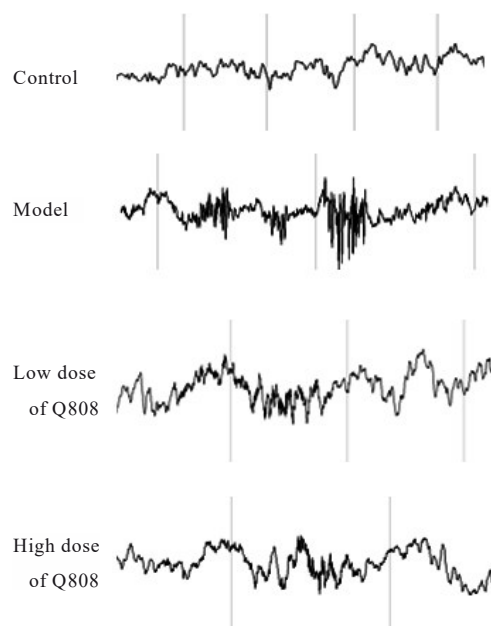
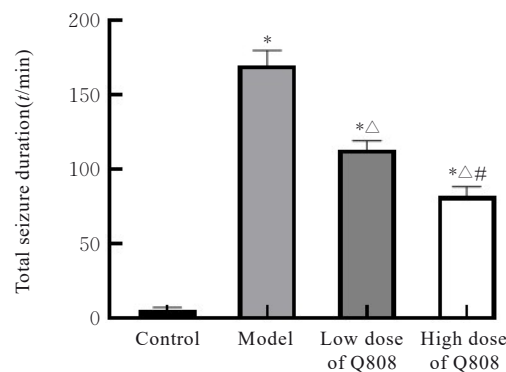


图1 各组大鼠脑电图波形

Fig. 1 Electroencephalogram waves of rats in various groups



* $P < 0.01$ compared with control group; $\Delta P < 0.01$ compared with model group; # $P < 0.01$ compared with low dose of Q808 group.

图2 各组大鼠癫痫发作总持续时间

Fig. 2 Total seizure durations of rats in various groups

突长,分支多,树突复杂性高。模型组大鼠海马组织CA1区神经元树突稀疏,分支少。与模型组比较,低剂量Q808组和高剂量Q808组大鼠海马组织CA1区神经元树突复杂性有所升高,树突增长,分支增多。见图4。与对照组比较,模型组大鼠海马组织CA1区神经元树突棘密度明显降低($P < 0.01$);与模型组比较,低剂量Q808组和高剂量Q808组大鼠海马组织CA1区神经元树突棘密度明显升高($P < 0.01$);与低剂量Q808组比较,高剂量Q808组大鼠海马组织CA1区神经元树突棘密度明显升高($P < 0.05$)。见图5。

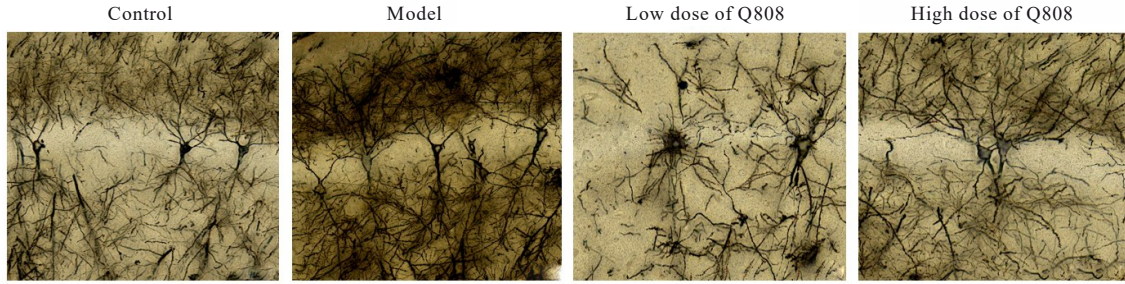


图3 各组大鼠海马组织 CA1 区高尔基染色树突形态表现和分布(×200)

Fig. 3 Morphology and distribution of Golgi-stained dendrites in hippocampus tissue in CA1 region of rats in various groups (×200)

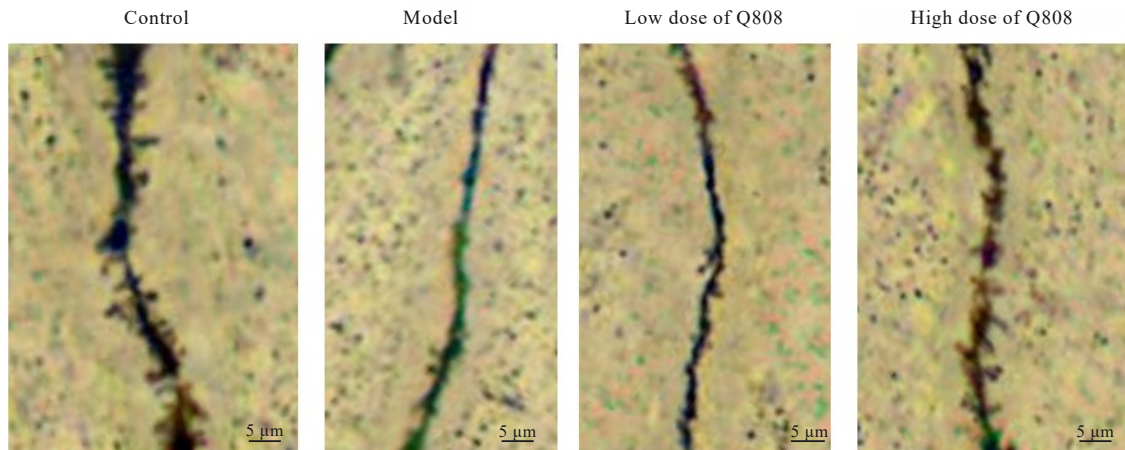
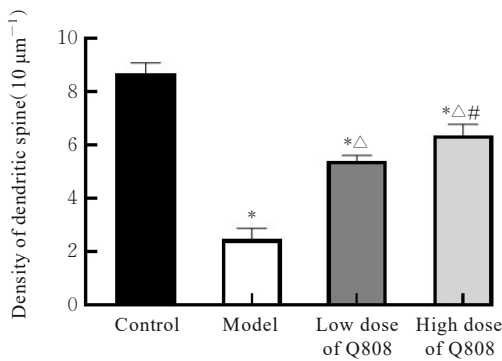


图4 各组大鼠海马组织 CA1 区高尔基染色神经元树突棘形态表现

Fig. 4 Morphology of Golgi-stained neuronal dendritic spines in hippocampus tissue in CA1 region of rats in various groups



* $P < 0.01$ compared with control group; $\Delta P < 0.01$ compared with model group; # $P < 0.05$ compared with low dose of Q808 group.

图5 各组大鼠海马组织 CA1 区神经元树突棘密度

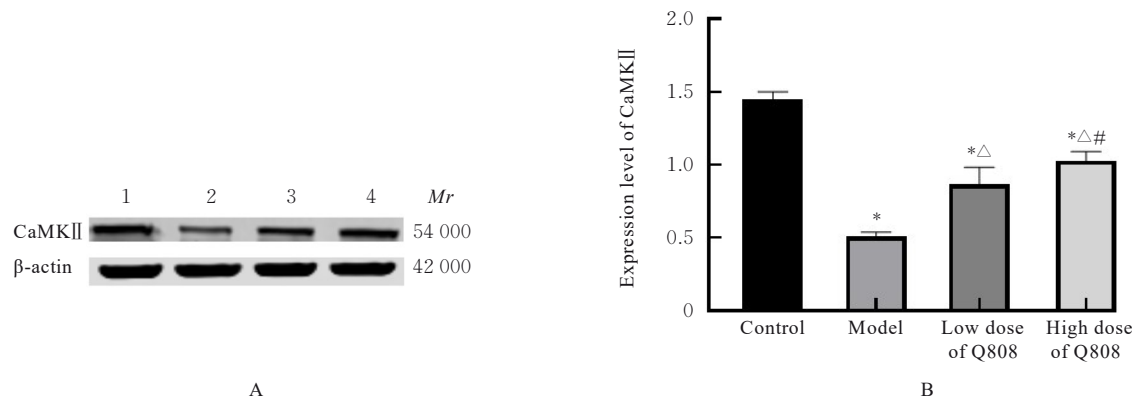
Fig. 5 Densities of dendritic spines of neurons in hippocampus tissue in CA1 region of rats in various groups

2.4 各组大鼠海马组织中 CaMK II 蛋白表达水平 与对照组比较, 模型组、低剂量 Q808 组和高剂量 Q808 组大鼠海马组织中 CaMK II 蛋白表达水

平明显降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 低剂量 Q808 组和高剂量 Q808 组大鼠海马组织中 CaMK II 蛋白表达水平明显升高 ($P < 0.01$); 与低剂量 Q808 组比较, 高剂量 Q808 组大鼠海马组织中 CaMK II 蛋白表达水平明显升高 ($P < 0.05$). 见图 6。

3 讨论

本实验采用腹腔注射氯化锂和匹罗卡品建立 TLE 大鼠模型。匹罗卡品是大脑主要的兴奋性神经递质, 刺激大鼠大脑胆碱能 M 受体会导致大鼠持续性肌肉强直和阵挛发作, 出现以海马为源头的痫样放电以及以海马和颞叶损害为特征的改变^[11]。本实验建模后, 大鼠癫痫发作均达到 Racine IV 级或以上, 脑电图显示异常放电癫痫波形, 且出现海马神经元结构和特定蛋白表达水平异常, 说明 TLE 建模成功; 经新型抗癫痫药 Q808 处理后, 大鼠癫痫发作总持续时间明显缩短, 提示 Q808 对



Lane 1: Control group; Lane 2: Model group; Lane 3: Low dose of Q808 group; Lane 4: High dose of Q808 group. * $P < 0.01$ compared with control group; $\Delta P < 0.01$ compared with model group; # $P < 0.05$ compared with low dose of Q808 group.

图6 各组大鼠海马组织中CaMK II蛋白表达电泳图(A)和直条图(B)

Fig. 6 Electrophoregram(A) and histogram(B) of expressions of CaMK II protein in hippocampus tissue of rats in various groups

TLE异常放电具有抑制作用。

研究^[12-13]显示: TLE患者和TLE模型动物海马组织中锥体神经元均会出现树突棘丢失。树突棘是神经元树突的基础结构, 突触活动动态可影响蛋白质合成和细胞骨架重组, 从而影响树突棘结构和功能^[14]。树突棘可塑性与大脑的学习和记忆等认知功能有密切关联。本研究结果显示: 与模型组比较, 低和高剂量Q808组大鼠海马神经元树突网络有所恢复, 大量树突缠绕和粗大神经纤维束也有所改善, 树突棘密度明显升高, 表明Q808可以减轻TLE模型大鼠海马CA1区神经元树突病变。CaMK II是钙调素结合蛋白家族中的重要成员^[15], 根据编码基因类型主要分为 α 、 β 、 γ 和 δ 4种亚型, 其中 α 和 β 亚型主要分布于中枢神经系统, γ 和 δ 亚型则主要分布于周围神经系统^[16], 故本课题组选用CaMK II- α 作为突触可塑性特异性蛋白, 结果显示Q808可以提高大鼠海马组织中CaMK II蛋白表达水平。

综上所述, 新型抗癫痫药Q808对TLE模型大鼠具有改善作用, 且高剂量Q808效果更加明显, 其机制可能与Q808能减轻海马组织CA1区神经元树突病变和增强突触可塑性相关蛋白CaMK II表达水平有关。

利益冲突声明:

所有作者声明不存在利益冲突。

作者奉献声明:

郑微微和李金子参与实验方案设计和论文撰写及审校, 郑微微、高帆、杨振林、李佳芮和郭晶晶参与实验操作。

[参考文献]

- [1] MAJEED C N, RUDNICK S R, BONKOVSKY H L. Review of antiepileptic medications for adults with epilepsy[J]. JAMA, 2022, 328(7): 680.
- [2] FALCO-WALTER J. Epilepsy-definition, classification, pathophysiology, and epidemiology [J]. Semin Neurol, 2020, 40(6): 617-623.
- [3] FIEST K M, SAURO K M, WIEBE S, et al. Prevalence and incidence of epilepsy: a systematic review and meta-analysis of international studies [J]. Neurology, 2017, 88(3): 296-303.
- [4] WIESER H G. ILAE Commission on Neurosurgery of Epilepsy. ILAE Commission Report. Mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis [J]. Epilepsia, 2004, 45(6): 695-714.
- [5] SUN X Y, WEI C X, DENG X Q, et al. Evaluation of the anticonvulsant activity of 6-(4-chlorophenoxy)-tetrazolo [5, 1-a] phthalazine in various experimental seizure models in mice [J]. Pharmacol Rep, 2010, 62(2): 273-277.
- [6] LI X, WANG Q, WU D, et al. The effect of a novel anticonvulsant chemical Q808 on gut microbiota and hippocampus neurotransmitters in pentylenetetrazole-induced seizures in rats [J]. BMC Neurosci, 2022, 23(1): 7.
- [7] 丁永强, 陈超, 李信晓, 等. 脑卒中后癫痫患者发生抗癫痫药物耐药的预测因素分析 [J]. 郑州大学学报(医学版), 2024, 59(4): 523-526.
- [8] DE SOUZA D L S, COSTA H M G E S, IDALINA NETA F, et al. Brain neuroplasticity after treatment

- with antiseizure: a review [J]. *Clin Psychopharmacol Neurosci*, 2023, 21(4): 665-675.
- [9] PRIBIAG H, PENG H S, SHAH W A, et al. Dystroglycan mediates homeostatic synaptic plasticity at GABAergic synapses [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(18): 6810-6815.
- [10] RACINE R J. Modification of seizure activity by electrical stimulation: II. Motor seizure [J]. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1972, 32(3): 281-294.
- [11] 徐圣洁, 席加秋, 于晓雯, 等. 内质网应激与胶质细胞激活介导的神经炎症在癫痫中的作用研究进展 [J]. *解放军医学杂志*, 2024, 49(4): 475-481.
- [12] URBAN P, REZAEI T V, DENKIEWICZ M, et al. The mixture of autoregressive hidden markov models of morphology for dendritic spines during activation process [J]. *J Comput Biol*, 2020, 27(9): 1471-1485.
- [13] BLAZEJCZYK M, MACIAS M, KOROSTYNSKI M, et al. Kainic acid induces mtorc1-dependent expression of elmo1 in hippocampal neurons [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(4): 2562-2578.
- [14] NAKAHATA Y, YASUDA R. Plasticity of spine structure: local signaling, translation and cytoskeletal reorganization [J]. *Front Synaptic Neurosci*, 2018, 10: 29.
- [15] BIAN H, YU L C. Intra-nucleus accumbens administration of the calcium/calmodulin-dependent protein kinase II inhibitor AIP induced antinociception in rats with mononeuropathy [J]. *Neurosci Lett*, 2015, 599: 129-132.
- [16] TAKEUCHI Y, YAMAMOTO H, FUKUNAGA K, et al. Identification of the isoforms of Ca²⁺/Calmodulin-dependent protein kinase II in rat astrocytes and their subcellular localization [J]. *J Neurochem*, 2000, 74(6): 2557-2567.