

依达拉奉预处理对惊厥持续状态幼年大鼠 海马神经元保护及 IL-1β 表达的影响

王海萍 李光乾

(浙江中医药大学附属第六医院、杭州市儿童医院神经科,浙江 杭州 310014)

[摘要] **目的** 观察依达拉奉预处理对幼年大鼠惊厥持续状态(SC)后脑组织海马神经元的保护作用及白介素-1β(IL-1β)表达的影响。**方法** 将195只Sprague-Dawley幼年雄性大鼠随机分为生理盐水对照组(NS组)、惊厥持续状态组(SC组)和依达拉奉干预组(ED组);各组又均按时间点分为4、12、24、48、72 h 5个亚组。采用氯化锂-匹鲁卡品化学点燃法制备幼年大鼠SC模型。ED组于惊厥前3 d予以ED腹腔注射,每天1次,连续3 d。观察大鼠海马病理学改变及细胞凋亡以及IL-1β蛋白表达情况。**结果** 电镜显示SC组惊厥后24 h海马少量神经元出现核固缩,大量内质网扩张;48 h以后内质网扩张较前有所减轻,但线粒体肿胀加重。ED组各时间点神经元改变均较SC组减轻。SC组在惊厥后12 h海马TUNEL阳性细胞数已显著高于NS组,48 h达高峰,而ED组TUNEL阳性细胞数均较SC组显著下降,但仍高于NS组。免疫组化法示12 h、24 h、48 h、72 h SC组大鼠海马中IL-1β表达增强,与NS组比较差异有统计学意义;与SC组比较,ED组IL-1β表达明显降低,差异有统计学意义。**结论** ED可下调匹鲁卡品致痫大鼠海马IL-1β的表达,减轻细胞凋亡,提示ED对SC引起的脑损伤有保护作用。

[中国当代儿科杂志,2010,12(3):205-210]

[关键词] 惊厥持续状态;白介素-1β;细胞凋亡;依达拉奉;大鼠

[中图分类号] R-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2010)03-0205-06

Protection of edravone on neurons and its effects on the expression of interleukin-1β in juvenile rat hippocampus following status convulsion

WANG Hai-Ping, LI Guang-Qian. Department of Neurology, Sixth Hospital Affiliated to Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine/Hangzhou Children's Hospital, Hangzhou 310014, China (Li G-Q, Email:lgqcn@yahoo.com.cn)

Abstract: **Objective** To study the possible protection of edaravone on neurons of the hippocampus after status convulsion (SC) and its effects on the expression of interleukin-1β (IL-1β) in juvenile rats. **Methods** One hundred and ninety-five juvenile male Sprague-Dawley rats were randomly divided into three groups: SC, edaravone pretreatment and normal saline control (control group). Each group was subdivided into five groups sacrificed at 4, 12, 24, 48 and 72 hrs after SC induction. SC model was prepared using lithium-pilocarpine. The edaravone pretreatment group received edaravone by intraperitoneal injection once daily three days before convulsion induction. Histopathologic changes in the hippocampus were viewed under a light microscope and an electron microscope. Expression of apoptosis cells was observed by TdT-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL). Expression of IL-1β protein was determined by immunohistochemistry. **Results** Under the electron microscope, a small quantity of neurons showed karyopycnosis and endocytoplasmic reticulum (ER) expanded remarkably 24 hrs after SC induction; at 48 hrs the ER expanding was alleviated somewhat but mitochondria swelling was more severe. The edaravone pretreatment group showed less severe neuronal changes compared with the SC group under the microscopes. The TUNEL positive cells in the hippocampus of the SC group were significantly more than those of the control group 12 hrs, and peaked at 48 hrs after SC induction. The edaravone pretreatment group showed decreased TUNEL positive cells in the hippocampus compared with the SC group, although the positive cells were more than those in the control group between 12 and 48 hrs after SC induction. The immunohistochemistry assay demonstrated that the expression of IL-1β in the hippocampus of the SC group increased significantly compared with that of the control group 12, 24, 48 and 72 hrs after SC induction. Edaravone pretreatment resulted in a significantly decreased IL-1β expression in the hippocampus as compared with the SC group. **Conclusions** Edaravone pretreatment may decrease the IL-1β expression and neuronal apoptosis in the hippocampus. This suggests that edaravone may have protective effects against the hippocampal damage caused by SC. **[Chin J Contemp Pediatr, 2010, 12 (3):205-210]**

Key words: Status convulsion; Interleukin-1β; Apoptosis; Edaravone; Rats

[收稿日期]2009-08-26;[修回日期]2009-11-26
[作者简介]王海萍,女,硕士,住院医师。
[通信作者]李光乾,教授。

动物实验证实,严重惊厥或惊厥反复发作可导致以海马区为主的选择性脑损伤,其细胞病理学基础为海马区神经元的坏死与凋亡两种形式^[1]。由于细胞凋亡是一个可调控的过程,故其在惊厥后脑损伤中的作用日益受到重视。有研究表明炎症介质在继发性脑损伤(如创伤、缺氧缺血、惊厥等)的病理机制中起着非常重要的作用^[2]。IL-1 β 是参与神经调节的重要细胞因子,越来越多的研究表明IL-1 β 与惊厥性脑损伤的关系密切^[3]。本实验以发育期大鼠制作惊厥持续状态(status convulsion, SC)模型,以对缺血缺氧性脑损伤有保护作用的依达拉奉(edaravone, ED)^[4]进行干预,从细胞形态学方面观察幼年大鼠SC后海马细胞病理改变及IL-1 β 表达的动态变化,旨在探讨IL-1 β 与惊厥性脑损伤的关系及ED对SC后海马神经细胞的保护作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

清洁级19日龄雄性Sprague-Dawley (SD)大鼠195只,体重50~75 g,由中国科学院上海分院试验动物中心提供。实验动物先置动物中心层流实验室饲养2 d,自由摄食、水,室内温度25℃,相对湿度70%,人工12 h昼/夜循环照明。

1.2 动物分组及模型的制作

将实验动物随机分为生理盐水对照组(NS组)、惊厥持续状态组(SC组)和依达拉奉组(ED组),每组65只。各组再按时间点随机分为4、12、24、48、72 h 5个亚组,每亚组13只。SC模型制作采用王海萍等^[5]的方法,具体如下:SC组按127 mg/kg剂量腹腔注射氯化锂(Aldrich Sigma公司, USA),18 h后按1 mg/kg剂量腹腔注射硫酸阿托品(浙江瑞新药业股份公司)以拮抗匹鲁卡品外周胆碱能反应,30 min后按100 mg/kg剂量腹腔注射匹鲁卡品(Aldrich Sigma公司, USA)。观察SC组大鼠出现惊厥发作的行为学表现。大鼠惊厥按Racine分级法分为5级。0级:无任何发作迹象;1级:凝视、咀嚼和须动;2级:点头、湿狗样抖动或搔抓;3级:前肢阵挛抽搐;4级:伴后肢站立的全身强直性发作;5级:伴有站立并摔倒的全身强直-阵挛性发作。惊厥发作达4~5级,持续时间达30 min以上,惊厥缓解后状态良好的大鼠为合格SC大鼠模型。当惊厥发作达30 min时,给予10%水合氯醛400 mg/kg、阿托品1 mg/kg腹腔注射,如不能缓解

惊厥,可重复给予水合氯醛1~2次,直至惊止。ED组于惊厥前3 d予以ED(江苏先声药业公司)腹腔注射(5 mg/kg),每天1次,连续3 d,其他处理同SC组。NS组用生理盐水代替氯化锂及匹鲁卡品,其他处理同SC组。

1.3 标本制备及检测

1.3.1 标本采集 采取水合氯醛(400 mg/kg)麻醉动物,断头处死。完整取出脑组织,置于冰盘上,采用高温(180℃)灭RNA酶的刀片和镊子沿矢状裂将脑组织切分;将其左半球在距额极2 mm和距尾极1 mm处各切一刀,取中间段置4%多聚甲醛溶液中,4℃固定24 h,脱水、石蜡包埋后,用振荡切片机从视交叉处开始作冠状连续切片,片厚5 μ m,留做光镜、TUNEL及免疫组化。每组取1只大鼠,快速分离右侧海马后在相同位置垂直于海马长轴方向切取一1 mm $\times$ 1 mm的横断面,置预冷的2.5%戊二醛固定,送做电镜标本。

1.3.2 光镜观察 每组任取2~3只大鼠石蜡切片,二甲苯脱蜡,酒精梯度脱水,苏木素-伊红染色,显微镜下观察海马CA1区神经元改变。

1.3.3 电镜观察 各组大鼠随机取1只海马标本,经2.5%戊二醛前固定,1%锇酸后固定,半薄切片定位海马CA1区,Epon812包埋,LKB-V型超薄切片机切片后,H-7500型透射电镜观察海马CA1区超微结构变化。

1.3.4 TUNEL法检测海马神经元凋亡 标记凋亡细胞按检测凋亡细胞试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司)设计程序进行:切片常规脱蜡逐级酒精至水化;蛋白酶K(20 μ g/mL)消化37℃, 15 min;PBS冲洗3次 $\times$ 5 min后,擦干样品周围的水分,滴加50 μ L TUNEL反应混合物(1:19),在湿盒中37℃孵育60 min;信号转化和分析:PBS冲洗3次 $\times$ 5 min后,擦干样品周围的水份,加入50 μ L转化剂-POD,在湿盒中37℃孵育30 min;PBS洗3次 $\times$ 5 min后,加入新鲜配制的DAB,显微镜下观察,自来水冲洗适时中止显色;苏木素复染,梯度酒精脱水、二甲苯透明中性树胶封片。光镜下分析结果,计算阳性细胞数,每组各选阳性细胞最集中的5个高倍视野,计算出每个高倍视野的阳性细胞数,取其平均值;结果判定:细胞核中有棕黄色颗粒者为阳性细胞。

1.3.5 链霉亲和素-生物素-过氧化物酶联结法(SABC法)检测IL-1 β 蛋白 每组各取8只大鼠的石蜡切片,常规二甲苯脱蜡,梯度酒精水化,入

0.3% H₂O₂ 处理 10 min, 高压修复(均为 5 min), 继而加入兔抗 IL-1 β (Santacruz 公司, USA), 孵育 24 h (4℃), 生物素化羊抗兔 IgG (上海晶美生物工程有限公司)、SABC 复合物(上海晶美生物工程有限公司)孵育 10 min。以上各步骤之间用 0.01 mol/LPBS 充分漂洗。然后用 DAB/H₂O₂ 溶液显色 5~10 min, 苏木素复染 1 min, 漂洗, 常规脱水, 透明, 封片。以胞浆中出现棕黄色颗粒细胞为 IL-1 β 阳性细胞, 使用 Olympus 自动图像采集系统, 应用 image pro plus 5.0 软件对各组海马 CA1 区随机抽取的 5 个不相重叠的高倍视野测量累积光密度值(integrated optical density, IOD)进行图像分析。

1.4 统计学处理

数据均采用 SPSS 15.0 软件处理, 数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组样本均数比较采用单因素方差分析, 均数的两两比较采用 LSD 检验, 方差不齐者采用 Tamhane's 检验。

2 结果

2.1 脑组织病理改变

2.1.1 光镜下脑组织形态学变化 苏木精-伊红染色显示 NS 组海马 CA1 区锥体细胞层次清晰, 排列整齐紧密, 染色均匀; 神经元轮廓清晰, 胞核大而圆, 异染色质少, 呈淡蓝色, 中央有一清楚核仁; 胞浆呈淡红色, 多有突起。SC 组各时间点大鼠脑组织切片上出现不同程度的神经元变性 & 丢失, 以海马 CA1 区最显著。惊厥后 4 h 即见少数神经细胞肿胀、核染色质肿胀、粗大, 但细胞排列仍整齐紧密, 神经元丢失较少; 12 h 见细胞排列欠整齐, 且受累神经元数目较前有增加; 24 h 时部分细胞核及胞浆出

现空泡; 以惊厥后 48 h 病理改变最明显, 可见胞浆浓缩, 细胞呈三角形或不规则形, 且排列紊乱, 空泡化细胞数较前增多, 可见红色神经元及“空穴”区; 惊厥后 72 h 仍见空泡化细胞, 但病理改变相对减轻。ED 组各时间点病理改变程度均较 SC 组明显减轻, 且神经元丢失也较少(图 1)。

2.1.2 电镜观察海马 CA1 区超微结构 NS 组大鼠海马 CA1 区神经元及神经胶质细胞结构清晰, 胞膜及核膜完整光滑, 核呈卵圆形或圆形, 核仁 1~2 个, 核染色质分布均匀, 核仁清楚, 基质均匀; 胞浆内线粒体, 高尔基体和内质网等细胞器丰富, 结构完整。SC 组惊厥后 4 h 海马 CA1 区神经元结构基本正常, 少数出现核膜边界不清或内陷, 皱缩, 核质不均匀; 胞浆内仅个别高尔基体和内质网轻度扩张, 线粒体未见明显改变; 12 h 后海马 CA1 区个别神经元出现核固缩, 核膜轻度皱折、不规则, 有增厚, 核仁变形边集, 染色质大小分布失调, 部分核膜间隙模糊, 胞浆内部分内质网轻度扩张, 个别线粒体轻度肿胀; 惊厥后 24 h 海马 CA1 区神经元肿胀, 胞浆密度低, 少量神经元出现核固缩, 核内异染色质增多, 凝集成团块状或新月体状并边集于核膜下; 核膜增厚, 节段性模糊; 胞浆内大量内质网扩张, 少数线粒体轻度肿胀; 胶质细胞核膜固缩, 染色质边集, 细胞质略水肿; 惊厥后 48 h 海马 CA1 区神经元轻度核固缩, 核膜模糊, 染色质块集, 胞浆密度低, 内质网扩张较前有减轻, 线粒体肿胀较前加重; 惊厥后 72 h 海马 CA1 区个别神经元核固缩, 核膜有轻度增厚, 线粒体仍肿胀, 内质网扩张较前减轻。与 SC 组相比, ED 组海马 CA1 区神经元线粒体、内质网等超微结构改变减轻, 受累神经元较少(图 2)。

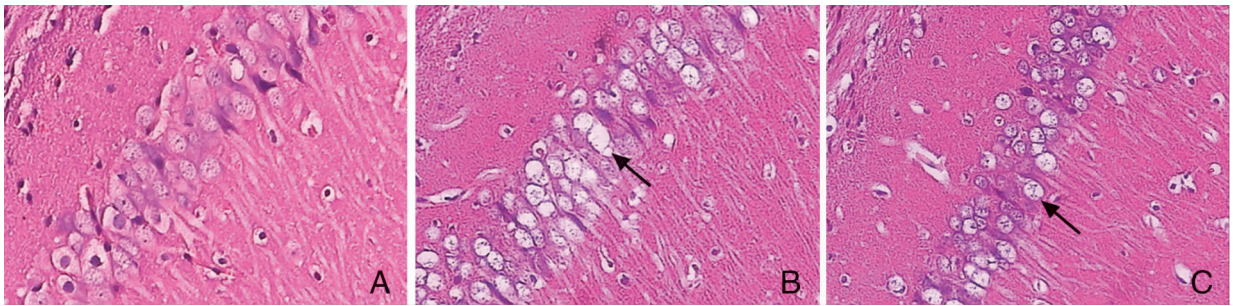


图 1 光镜下各组海马 CA1 区神经元结构(苏木精-伊红染色, $\times 200$) A: NS 组海马 CA1 区光镜下正常神经元结构; B: SC 组 48 h 海马 CA1 区光镜下神经元空泡化; C: ED 组 48 h 海马 CA1 区光镜下神经元空泡化程度减轻。

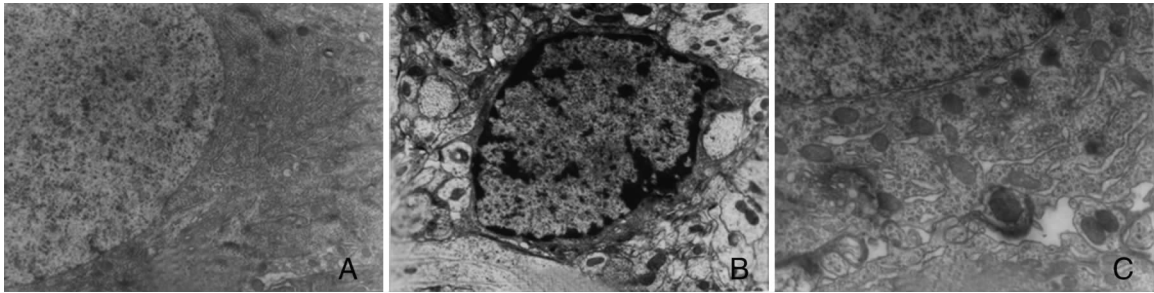


图2 电镜下各组海马CA1区神经细胞结构 A: NS组海马CA1区正常神经元超微结构(电镜×8 000); B: SC组24 h海马CA1区神经胶质细胞核膜固缩,染色质边集,细胞质略水肿(电镜×10 000); C: ED组24 h海马神经元线粒体肿胀减轻(电镜×20 000)。

2.2 大鼠海马CA1区TUNEL检测结果

NS组各时间点大鼠海马CA1区均可见极少量TUNEL阳性细胞。SC组于SC后12 h海马CA1区TUNEL阳性细胞数显著增加,48 h达高峰;与NS组相应时间点相比,在SC后12 h及以后各时间点海马CA1区TUNEL阳性细胞数均显著高于NS组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。ED组变化趋势与SC组相似,12 h、24 h、48 h各亚组TUNEL阳性细胞数均较SC组显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),

但仍显著高于NS组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表1和图3。

2.3 IL-1β免疫组化结果

NS组各时间点大鼠海马CA1区仅见少量IL-1β阳性细胞。SC组于SC后12 h海马CA1区IL-1β阳性细胞明显增多,以24 h最为显著,48 h开始减少;ED组中12 h、24 h和48 h组IL-1β阳性神经元细胞均较SC组明显减少,但仍高于NS组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表2和图4。

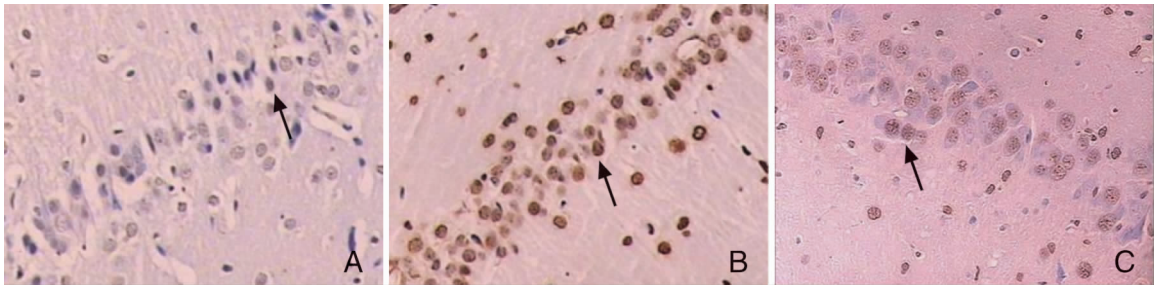


图3 各组海马CA1区TUNEL阳性细胞变化情况(DAB×400) A: NS组48 h海马CA1区见少量TUNEL阳性细胞; B: SC组48 h海马CA1区TUNEL阳性细胞显著增多; C: ED组48 h海马CA1区TUNEL阳性细胞较SC组有明显减少。

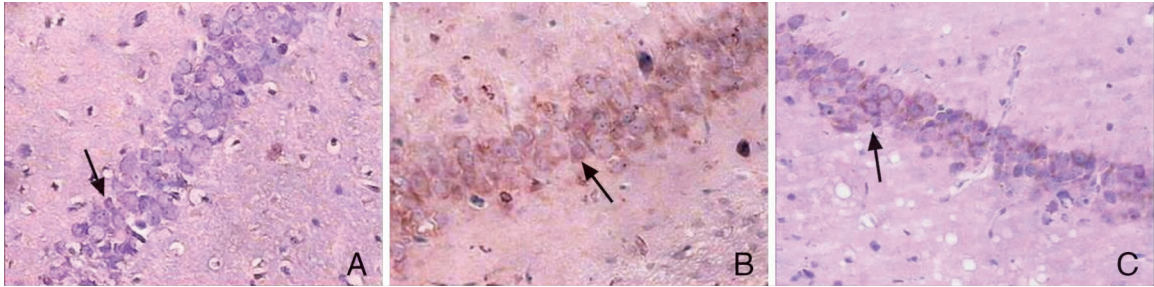


图4 免疫组化法观察各组海马CA1区IL-1β阳性细胞变化情况(DAB×200) A: NS组24 h海马CA1区见少量IL-1β阳性细胞; B: SC组24 h海马CA1区IL-1β阳性细胞显著增多; C: ED组24 h海马CA1区IL-1β阳性细胞较SC组有明显减少。

表 1 各组大鼠不同时间点海马 CA1 区 TUNEL 阳性细胞数的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	4 h	12 h	24 h	48 h	72 h
NS 组	8	6.3 ± 1.5	6.2 ± 1.5	6.6 ± 1.6	6.7 ± 1.1	6.4 ± 1.5
SC 组	8	6.6 ± 1.7	11.4 ± 2.4 ^b	19.7 ± 3.0 ^b	28.8 ± 5.1 ^b	25.5 ± 2.3 ^b
ED 组	8	5.8 ± 1.4	9.0 ± 2.2 ^{a,c}	13.1 ± 2.5 ^{b,d}	20.6 ± 4.9 ^{b,c}	18.4 ± 4.1 ^b
F 值		0.569	10.412	77.778	75.868	37.293
P 值		0.759	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

a: 与 NS 组比较, $P < 0.05$; b: 与 NS 组比较, $P < 0.01$; c: 与 SC 组比较, $P < 0.05$; d: 与 SC 组比较, $P < 0.01$

表 2 各组大鼠不同时间点海马区 IL-1 β 免疫反应累积光密度 (IOD) 值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	4 h	12 h	24 h	48 h	72 h
NS 组	8	12.9 ± 4.1	11.7 ± 2.3	12.9 ± 2.5	13.0 ± 2.8	13.0 ± 5.3
SC 组	8	17.2 ± 5.8	30.8 ± 3.8 ^a	41.0 ± 5.6 ^a	36.3 ± 6.8 ^a	28.5 ± 4.6 ^a
ED 组	8	16.6 ± 3.4	22.0 ± 4.5 ^{a,c}	28.3 ± 4.5 ^{a,c}	26.0 ± 5.3 ^{a,b}	23.5 ± 4.6 ^a
F 值		2.101	55.191	81.912	39.637	21.296
P 值		0.147	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

a: 与 NS 组比较, $P < 0.01$; b: 与 SC 组比较, $P < 0.05$; c: 与 SC 组比较, $P < 0.01$

3 讨论

大量实验研究证实,长程惊厥引起的神经元死亡包括凋亡和坏死两种形式,两者在超微结构上明显不同^[6]。光镜下坏死细胞表现为细胞体积胀大,胞浆内空泡形成,核膜破裂,细胞膜损害或裂解成碎片;凋亡细胞表现为体积变小、变形,细胞膜完整但出现空泡现象,且可见凋亡小体。在电镜下,坏死神经元的早期突出表现是线粒体肿胀扩大至破裂,内质网及高尔基体扩张,胞浆空化而透亮,核染色质碎裂、溶解,整个细胞体积增大,最后细胞崩解破坏;而细胞凋亡则表现为核膜皱缩、折迭和扭曲,染色质积聚成块、边集,粗面内质网肿胀,线粒体、高尔基体扩张,出现所谓“暗神经元”样改变,表现为胞核及胞质固缩,结构致密,但核膜完整。本实验通过光镜、电镜观察,发现幼年大鼠在 SC 后各时间点海马 CA1 区神经元出现不同程度的细胞变性、坏死改变,但未见上述典型的凋亡样改变。TUNEL 是检测凋亡的最常用的实验方法,本实验结果显示在惊厥后早期(4 h)即可见到 TUNEL 阳性细胞,随惊厥后时间延长凋亡细胞数增多,可证实 SC 后海马神经元存在凋亡。由此可见,本实验在氯化锂-匹罗卡品致幼年大鼠 SC 模型中,光镜、电镜和 TUNEL 检测从不同角度均证实 SC 后存在海马神经元病理损伤,且其病理变化过程是随时间的延长而逐步加重,提示虽然 SC 后,大鼠未再发惊厥,但其脑内损伤在 SC 后的 3 d 内仍呈现进行性加重过程。

IL-1 β 是 IL-1 家族的主要活性成员,是体内作

用最强的炎性介质之一,生物学作用非常广泛^[7]。IL-1 β 和它的受体在脑内广泛分布,其在海马的分布具有较高密度。中枢神经系统中 IL-1 β 主要来源于星形胶质细胞、少突胶质细胞、神经元和血管内皮细胞;此外活化的小胶质细胞和外周入侵的巨噬细胞也是脑损伤和血脑屏障受损后 IL-1 β 的主要来源。研究已证明,在正常情况下 IL-1 β 表达水平较低,在中枢神经系统受到损伤、感染、癫痫、脑缺血时均能使脑内 IL-1 β 合成显著增加^[8]。近年来,已经证实 IL-1 系统参与了多种形式的脑损伤,在海人酸 (KA) 和戊四氮 (PTZ)、匹鲁卡品 (PILO) 等致痫大鼠模型中,发现海马、丘脑、纹状体均出现神经元损伤,并且可见到 IL-1 β mRNA、IL-1ra mRNA 及其蛋白表达增加,提示 IL-1 β 在惊厥性脑损伤中发挥重要作用,可能是神经兴奋性损伤的重要介导者^[9-10]。

本实验结果显示 SC 后 12 h ~ 72 h 海马 CA1 区 IL-1 β 阳性细胞表达明显高于对照组,与文献报道基本相符^[11-12]。在 SC 后 12 h IL-1 β 的迅速升高的同时,海马 CA1 区神经元超微结构损伤亦对应地加重,凋亡细胞数量明显增多,提示 SC 后 12 h ~ 72 h IL-1 β 的增高可能促进了惊厥的发作,并与海马早期病理损伤的发生密切相关,与 Hailer 等^[9] 及 Patel 等^[13] 的研究结果相符。这或许是造成惊厥性脑损伤的机制之一,有待于更深入的研究。

ED 化学名为 3-甲基-1-苯基-2-吡唑啉-5-酮 (3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one, MCI-186), 是一种新型的自由基清除剂和抗氧化剂,分子量小,具有亲脂基团,其血脑屏障穿透率约高达 60%,可在脑内达到有效的治疗浓度;且其在体内以阴离子形式存

在,脂溶性高,容易穿过血脑屏障,故起效迅速。其药理作用较广泛,通过捕获羟自由基(OH)、抑制脂质过氧化作用、抑制脑细胞(血管内皮细胞、神经细胞)的过氧化作用,减轻脑水肿。ED对缺血缺氧性脑损伤具有很强的脑保护作用已被证实,最近研究发现ED对于脑缺血损伤有抗细胞凋亡的作用^[14]。

本实验以ED进行干预后显示,ED可使SC大鼠海马神经元病理损伤减轻和凋亡细胞减少、IL-1 β 表达下降。研究表明中枢神经系统受损时发生星型胶质细胞反应性增生,GFAP水平上调^[15];并产生如白细胞介素-1 β (IL-1 β)等^[16]多种细胞因子,从而加重了脑组织免疫炎症级联反应。因此,我们推测ED对SC大鼠具有脑保护作用的机理不仅与清除氧自由基有关,而且能通过抑制星型胶质细胞的激活、下调IL-1 β 的表达,从而有效抑制星型胶质细胞启动的炎症和免疫级联反应,改善SC的病理过程,但这有待于进一步的研究来证实。

[参 考 文 献]

[1] Araújo IM, Gil JM, Carreira BP, Mohapel P, Petersen A, Pinheiro PS, et al. Calpain activation is involved in early caspase-independent neurodegeneration in the hippocampus following status epilepticus[J]. *Neurochem*, 2008, 105(3):666-667.

[2] Vezzani A, Granata T. Brain inflammation in epilepsy: experimental and clinical evidence[J]. *Epilepsia*, 2005, 46(11):1724-1743.

[3] 王礼周,李树军,赵东菊,张贺,石太新,杨达胜,等. 新生儿缺氧缺血性脑病血清半胱氨酸蛋白酶-1、白细胞介素-1 β 、-18测定的意义[J]. *实用儿科临床杂志*, 2005, 20(2):127-128.

[4] Yasuoka N, Nakajima W, Ishida A, Takada G. Neuroprotection of edaravone on hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats[J]. *Brain Res Dev Brain Res*, 2004, 151(1-2):129-139.

[5] 王海萍,邓小龙,李光乾. 依达拉奉对惊厥持续状态幼年大鼠海马IL-1 β 、NF- κ B表达及细胞凋亡的影响[J]. *中华儿科杂志*, 2009, 47(8):575-580.

[6] André V, Dubé C, François J, Leroy C, Rigoulot MA, Roch C, et al. Pathogenesis and pharmacology of epilepsy in the lithium-pilocarpine model[J]. *Epilepsia*, 2007, 48(Suppl 5):41-47.

[7] Dinarello CA. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family[J]. *Annu Rev Immunol*, 2009, 27:519-550.

[8] Li B, Mahmood A, Lu O, Wu H, Xiong Y, Qu C, et al. Simvastatin attenuates microglial cells and astrocyte activation and decreases interleukin-1 beta level after traumatic brain injury[J]. *Neurosurgery*, 2009, 65(1):179-185.

[9] Hailer NP, Vogt C, Korf HW, Dehghani F. Interleukin-1beta exacerbates and interleukin-1 receptor antagonist attenuates neuronal injury and microglial activation after excitotoxic damage in organotypic hippocampal slice cultures[J]. *Eur J Neurosci*, 2005, 21(9):2347-2360.

[10] Sayyah M, Beheshti S, Shokrgozar MA, Eslami-far A, Deljoo Z, Khabiri AR, et al. Antiepileptogenic and anticonvulsant activity of interleukin-1 beta in amygdala-kindled rats [J]. *Exp Neuro*, 2005, 191(1):145-153.

[11] 毛定安,刘利群,薄涛,刘洁明,白海涛,熊洁. 幼年大鼠惊厥性脑损伤白细胞介素-1 β 和白细胞介素-18的表达及川弓嗉干预的影响[J]. *中国急救医学*, 2007, 27(1):42-45.

[12] De Simoni MG, Perego C, Ravizza T, Moneta D, Conti M, Marchesi F, et al. Inflammatory cytokines and related genes are induced in the rat hippocampus by limbic status epilepticus[J]. *Eur J Neurosci*, 2000, 12(7):2623-2633.

[13] Patel HC, Ross FM, Heenan LE. Neurodegenerative actions of interleukin-1 in the rat brain are mediated through increases in seizure activity[J]. *J Neurosci Res*, 2006, 83(3):385-391.

[14] 宋贵军,唐建武,尹琳,王乃昌,包礼平. 依达拉奉对脑缺血-再灌注损伤大鼠的抗细胞凋亡与神经保护作用[J]. *医药导报*, 2007, 26(6):582-585.

[15] Martinian L, Boer K, Middeldorp J, Hol EM, Sisodiya SM, Squier W, et al. Expression patterns of glial fibrillary acidic protein (GFAP)-delta in epilepsy-associated lesional pathologies [J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2009, 35(4):394-405.

[16] Sama MA, Mathis DM, Furman JL, Abdul HM, Artiushin IA, Kraner SD, et al. Interleukin-1beta-dependent signaling between astrocytes and neurons depends critically on astrocytic calcineurin/NFAT activity[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(32):21953-21964.

(本文编辑:黄 榕)