

# 人参皂苷 Rg1 调控癫痫大鼠海马 Bcl-2 和 Bax 的表达\*

边立功<sup>1</sup> 尚群竺<sup>2#</sup> 艾青龙<sup>2</sup> 郭家智<sup>1,3</sup> 许金美<sup>4</sup> 董书勤<sup>4</sup> 陆地<sup>1,3□</sup> 钟莲梅<sup>2△</sup>

(昆明医科大学, 1 基础医学院人体解剖学与组织学与胚胎学系, 2 第一附属医院神经内科,

3 生物医学工程研究中心, 4 2013 级临床医学, 昆明 650500)

**摘要 目的:**本研究通过建立氯化锂-匹罗卡品诱导大鼠癫痫模型,用人参皂苷 Rg1(Rg1)进行干预,检测癫痫大鼠海马中的 Bax、Bcl-2 的表达及 Rg1 对其的调控作用,初步探讨 Rg1 对癫痫可能的神经保护机制。**方法:**健康成年雄性 SD 大鼠随机分为 5 组,即空白对照组,模型组,低、中、高剂量 Rg1 治疗组,每组 20 只,观察行为学变化,并于点燃后 72 h 取脑,分别通过免疫荧光显色、免疫印迹和 RT-PCR 检测 Bax 和 Bcl-2 的蛋白和 RNA 表达情况。**结果:**空白组未出现癫痫发作及死亡,不同剂量的 Rg1 预处理组与模型组相比,大发作潜伏期时间延长。匹罗卡品诱导大鼠癫痫发作后,海马神经元的胞质内凋亡因子 Bax 免疫阳性反应增强,蛋白产物表达增多,抗凋亡因子 Bcl-2 表达减少。Rg1 预处理组促凋亡因子 Bax 及其 mRNA 表达减少,抗凋亡因子 Bcl-2 及其 mRNA 表达增加。**结论:**癫痫发作后可引起凋亡因子的表达变化,而人参皂苷 Rg1 可以通过下调促凋亡因子 Bax 的表达,上调抗凋亡因子 Bcl-2 的表达,从而发挥抗癫痫的神经保护作用。

**关键词** 人参皂苷 Rg1; 癫痫; 海马; 凋亡; Bcl-2; Bax

## Ginsenoside Rg1 regulates expression of Bcl-2 and Bax in the hippocampus of epileptic rats\*

Bian Ligong<sup>1</sup>, Shang Qunzhu<sup>2#</sup>, Ai Qinglong<sup>2</sup>, Guo Jiazhi<sup>1,3</sup>, Xu Jinmei<sup>4</sup>, Dong Shuqin<sup>4</sup>, Lu Di<sup>1,3□</sup>, Zhong Lianmei<sup>2△</sup>

(1. Department of Anatomy, Histology and Embryology, 2. First Affiliated Hospital, Department of Neurology,

3. Biomedical Engineering Research Center, 4. Clinical Medicine of 2013,

Kunming Medical University, Kunming 650500, China)

**Abstract Objective:** To explore the protective mechanism of ginsenoside Rg1 on epilepsy and detect the Bax and Bcl-2 expression in rats induced by intraperitoneal injection of pilocarpine combined with lithium chloride and treated with Rg1. **Methods:** Adult male SD rats were randomly divided into five groups: control group, model group and different doses of ginsenoside Rg1(Rg1) pretreatment group. The status of seizure after intraperitoneal injection with pilocarpine was observed, and then the heads of the rats were cut to take their brains 72 hours after seizure. Expression of Bcl-2 and Bax protein was detected with Western blotting and immunofluorescence method. The mRNA levels of Bax and Bcl-2 were detected by RT-PCR. **Results:** Seizure and death didn't appear in the control group. Compared with the model group, latent period of seizure increased obviously after treatment with different doses of Rg1. Western blotting showed that the expression of Bcl-2 protein and the Bcl-2 mRNA levels in Rg1 group were higher than that in the model group, and the expression of Bax protein and the Bax mRNA levels in Rg1 group were lower than that in the model group. Bcl-2 positive cells in the hippocampus in the model group increased than that in Rg1 group, while Bax positive cells of in Rg1 group decreased. **Conclusion:** Seizure can cause the activation of apoptosis factors. Rg1 may play a protective role on nervous system through down-regulating the expression of Bax and up-regulating the expression of Bcl-2.

**Key words** ginsenoside Rg1; epilepsy; hippocampus; apoptosis; Bcl-2; Bax

癫痫是一组由不同病因所引起的反复发作的慢性

神经系统疾病,主要表现为脑部神经元高度同步化异常放电,发病率为 5%~7%,全球约有 9 000 万的患者<sup>[1-2]</sup>。目前主要治疗手段仍以药物为主,大部分抗癫痫药物有一定的副作用,如认知功能障碍,精神改变以及癫痫的复发<sup>[3-4]</sup>。且 1/3 的患者对药物治疗并不敏感,进而发展成为难治性癫痫,严重影响了患者的生活质量,增加了家庭及社会的负担。研究表明,姜黄素和白藜芦醇可以减少癫痫大鼠 CA1 及 CA3 区的神经元凋亡<sup>[5]</sup>,人参皂苷 Rg1(ginsenoside Rg1, Rg1)是从三七中提取出的主要药理成分之一<sup>[6]</sup>,具有抗血小板、抗

doi: 10.3969/j.issn.1001-1633.2016.02.010

\* 国家自然科学基金(81460210,81460350,81260297,81360200);云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项(2013FB120, 2014FB004)

第 1 作者 E-mail: bianligong@163.com

# 共同第 1 作者 E-mail: shaquzh@sina.com

△ 通讯作者, E-mail: 13888967787@163.com

□ 共同通讯作者, E-mail: ludi20040609@126.com

收稿日期: 2015-06-29; 修回日期: 2015-12-24

炎、抗氧化、抗动脉粥样硬化等功能,对中枢神经系统可能是直接作用于血脑屏障上的靶点<sup>[7]</sup>发挥保护作用,本实验拟通过构建癫痫大鼠模型,初步探讨 Rgl 调控凋亡因子而起到的脑保护作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

氯化锂 (Sigma, USA); 匹罗卡品 (Pilocarpine, Sigma, USA); Rgl (昆明制药厂); 地西洋注射液 (安定, 上海旭东海普药业有限公司); BCA 蛋白含量测定试剂盒 (Thermo Scientific); Bax 小鼠单克隆抗体、Bcl-2 小鼠单克隆抗体、HRP 标记的山羊抗小鼠二抗 (Santa Cruz, USA); 兔抗 NeuN (英国 Abcam 公司); Cy3 标记的山羊抗小鼠 IgG、FITC 标记的山羊抗兔 IgG、DAPI (美国 Sigma 公司); RNAsimple Total RNA kit (天根); 垂直电泳系统 (Bio-Rad, USA); 冷冻切片机 (Leica CM1950, GER); 匀浆机 (宁波新芝生物科技股份有限公司 DY89-1 型)。

### 1.2 实验动物

SPF 级健康成年雄性 SD (Sprague-Dawley) 大鼠 100 只, 体质量为 (285±15) g, 由昆明医科大学实验动物中心提供, 分笼饲养于室温 22℃±2℃, 自由摄食和饮水, 各组间暴露因素无差异。对动物的处置符合 2006 年科技部《关于善待实验动物的指导性意见》的规定。

### 1.3 动物分组及癫痫模型制备

大鼠随机分为 5 组, 分别为空白对照组, 模型组, 50 mg/kg Rgl (低剂量) 治疗组, 100 mg/kg Rgl (中剂量) 治疗组, 200 mg/kg Rgl (高剂量) 治疗组, 每组 20 只。Rgl 预处理组于造模前 6 h 分别对大鼠使用不同浓度的 Rgl 腹腔注射进行预处理。空白组和模型组给予相同剂量的生理盐水, 模型组及各 Rgl 治疗组同时注射氯化锂 (127 mg/kg, i. p.)。18 h 后给予硫酸阿托品 (1 mg/kg, i. p.) 减轻匹罗卡品的胆碱能外周反应, 再过 30 min 注射匹罗卡品 (30 mg/kg, i. p.)。对照组则给予等剂量的生理盐水。

### 1.4 行为学观察及评分

行为学变化按目前国际较公认的 Racine 分级标准<sup>[8]</sup>分级: 0 级为无任何反应; I 级为凝视, 面肌抽搐; II 级为湿狗样点头动作; III 级为双侧前肢阵挛, 或一侧前肢/后肢频繁性抽搐; IV 级为双侧前肢阵挛, 后肢站立; V 级为四肢抽搐站立并跌倒、旋转。大鼠达到 III 级及以上发作可认为是癫痫发作。对照组无痫性发作, 模型组和 Rgl 组于观察达 III 级以上发作 90 min 后给予地西洋 (10 mg/kg) 终止发作, 后期给予精心护理以减少大鼠死亡率。

### 1.5 免疫印迹检测凋亡因子

各组随机取 10 只大鼠, 于癫痫发作后 72 h, 给予 3.6% 水合氯醛麻醉后, 灌注取脑, 迅速分离大鼠大脑

海马, 加入预冷 RIPA/PMSF 裂解液提取总蛋白, 在冰浴下制成脑组织匀浆, 低温离心取上清分装, BCA 蛋白定量试剂盒进行蛋白定量。置于 -80℃ 保存。SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 半干转印至 PVDF 膜, 在 TBST 配制的 5% 脱脂牛奶中室温封闭 2 h, 加入一抗 Bax 或 Bcl-2 (1:800), 4℃ 孵育过夜; TBST 溶液漂洗后加入标有辣根酶过氧化物酶的 IgG 二抗 (1:3000), 室温摇床摇动 90 min, TBST 漂洗, 免疫印迹化学发光试剂 (ECL, Millipore) 反应 5 min, 胶片显影, 成像, 扫描。应用 Image J 图像灰度分析系统对条带进行光密度 (optical density, OD) 分析。

### 1.6 Bax、Bcl-2 的免疫荧光染色检测

各组余下大鼠经生理盐水快速灌流 200 ml 后, 给予 4% 多聚甲醛缓冲液 (PFA), 取全脑置于 4% PFA 中后固定, 30% 蔗糖溶液中脱水直至沉底。用冷冻切片机 (Leica, CM1950) 切冠状位片, 片厚 15 μm, 随机选取每组各一张切片, PBST 漂洗, 10% 的山羊血清室温封闭 2 h。与一抗小鼠抗 Bcl-2/兔抗 NeuN 或小鼠抗 Bax/兔抗 NeuN, 1:100, 孵育 2 h, PBST 漂洗 (以下步骤避光), 加免疫荧光二抗 Cy3 标记的山羊抗小鼠 IgG/FITC 标记的山羊抗兔 IgG, 1:200, 孵育 2 h, PBST 漂洗, DAPI 反应 5 min, PBST 漂洗, 封片液封片。对照切片用 PBS 代替一抗, 其余步骤相同。尼康正置荧光显微镜观察, 同一条件拍片。重复 3 次。

### 1.7 Bax、Bcl-2 mRNA 的 PCR 检测

试剂盒提取海马总 RNA, 逆转录合成 cDNA, 按以下体系分别加入 4 μl 的 5×Reaction buffer (含 DTT), 1 μl 的 Rnase Inhibitor, 2 μl 的 10 mmol/L NTP Mix 和 1 μl 的 M-MLV Reverse Transcriptase (200 U), 轻轻混匀后离心甩壁。42℃ 温浴 60 min, 反应结束后置于冰上进行后续 PCR 实验。Bcl-2 引物序列 (240 bp): 5'-CTC GTC GCT ACC GTC GTG ACT TCG-3' (上游), 5'-CAG ATG CCC GTT CAG GTA CTC AGTC-3' (下游)。Bax 引物序列 (360 bp): 5'-AAG CTG AGC GAG TGT CTC CGG CG-3' (上游), 5'-GCC ACA AAG ATG GTC ACT GTC TGCC-3' (下游)。内参引物序列 (98 bp): 5'-CCA TTC TTC CAC CTT TGA TGCT-3' (上游), 5'-TGT TGC TGT AGC CAT ATT CAT TGT-3' (下游)。PCR 反应条件设置如下: 94℃ 预变性 4 min, 94℃ 变性 40 s, 退火 (Bcl-2: 58℃, 40 s; Bax: 60℃, 40 s), 72℃ 延伸 1 min, 32 个循环。琼脂糖电泳结果采用凝胶扫描分析仪扫描凝胶, 应用 Image J 图像灰度分析系统分析 Bcl-2、Bax 与 GAPDH 条带灰度值, 与 GAPDH 的比值 (即相对系数) 表示 Bcl-2 和 Bax mRNA 水平的相对表达量。

### 1.8 统计学处理

所有数据采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析, 分类资料采用  $\chi^2$  检验, 计量资料数据经正态检验 (normal test distribution) 均为正态分布 ( $P>0.05$ ), 用

$\bar{x} \pm s$  表示;经方差齐性检验(Homogeneity of Variance Test)方差均齐( $P>0.05$ ),组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),两两比较采用 Bonfferoni  $t$  检验, $P<0.05$  为有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠行为学观察

注射匹罗卡品后大鼠于 2~5 min 开始出现竖毛,流泪,结膜充血,流涎等外周胆碱能兴奋表现,5~10 min 后有 I~II 级发作。与模型组相比,各 Rg1 治疗组潜伏期明显延长,差异具有统计学意义( $P<0.05$ );发作率有所下降;低、中剂量治疗组死亡率较模型组明显降低( $P<0.05$ ),正常对照组未出现痫性发作及死亡。各组发作及死亡情况见表 1。

表 1 Rg1 对癫痫大鼠潜伏期、发作率和死亡率的影响( $n=20, \bar{x} \pm s$ )  
Tab 1 Effects of Rg1 on the latent period, incidence and mortality in epileptic rats ( $n=20, \bar{x} \pm s$ )

Group	Latent period (min)	Incidence rate (%)	Mortality rate (%)
Control	—	—	0
Model	26.79±9.69	95.0	31.6
50 mg/kg Rg1 treatment	33.41±9.78 <sup>△</sup>	85.0	23.5 <sup>△</sup>
100 mg/kg Rg1 treatment	36.38±7.99 <sup>△</sup>	80.0	18.8 <sup>△</sup>
200 mg/kg Rg1 treatment	31.56±10.45	80.0	31.3

<sup>△</sup> $P<0.05$  vs model group

2.2 Bax、Bcl-2 蛋白的表达

癫痫模型点燃 72 h 后,模型组 Bcl-2 的表达明显低于空白对照组( $P<0.05$ ),Bax 的表达显著高于空白对照组( $P<0.05$ );各 Rg1 治疗组上调 Bcl-2 的表达,下调 Bax 的表达(图 1)。

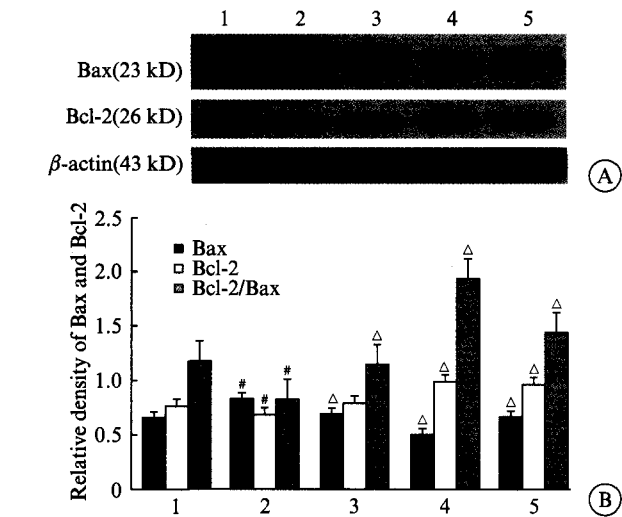


图 1 海马组织中 Bax、Bcl-2 的蛋白表达

Fig 1 Expression of Bax and Bcl-2 in the hippocampus

A: Western blotting; B: Relative density. 1: Control group; 2: Model group; 3: 50 mg/kg Rg1 treatment group; 4: 100 mg/kg Rg1 treatment group; 5: 200 mg/kg Rg1 treatment group; #  $P<0.05$  vs control group;  $\Delta P<0.05$  vs model group

2.3 Bcl-2、Bax 免疫荧光显色

免疫荧光显色显示,蓝色为 DAPI 标记的细胞核,绿色为 NeuN 标记的神经元,红色荧光为凋亡蛋白。模型组海马神经元中,Bcl-2 蛋白表达降低,Bax 增高,而天麻素治疗组上调癫痫模型抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达(图 2),下调促凋亡蛋白 Bax 的表达(图 3)( $P<0.05$ ),以 100 mg/kg 最为显著(图 2C 和图 3C)。

2.4 Bax、Bcl-2 mRNA 的表达

PCR 结果显示,模型组( $1.073 \pm 0.053$ )大鼠 Bax 的 mRNA 表达量与空白对照组( $0.285 \pm 0.063$ )相比明显增加,经不同剂量的 Rg1 治疗干预后,低剂量组( $0.957 \pm 0.087$ )与模型组比较,差异无统计学意义,中剂量及高剂量组均出现明显下降(分别为  $0.751 \pm 0.156, 0.779 \pm 0.138, P<0.05$ )。模型组( $0.263 \pm 0.074$ )大鼠 Bcl-2 的 mRNA 表达量与空白对照组( $1.400 \pm 0.206$ )相比显著下降( $P<0.05$ ),不同剂量的 Rg1 治疗组与模型组相比均出现明显升高(分别为  $0.711 \pm 0.107, 1.189 \pm 0.137, 0.980 \pm 0.232, P<0.05$ )(图 4)。

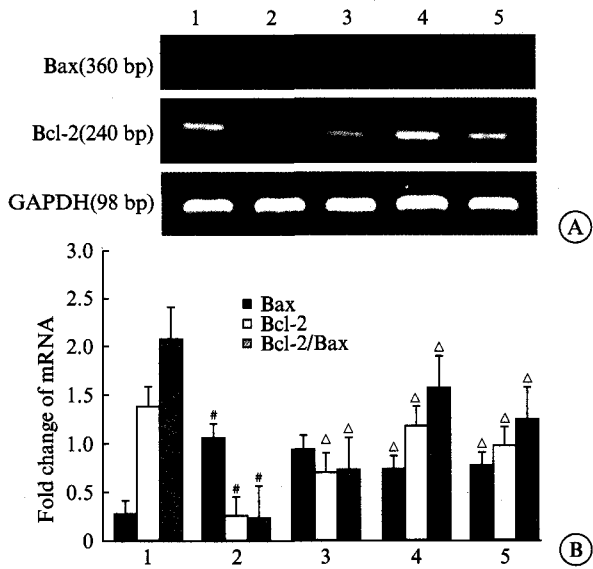


图 4 各组海马组织中 Bax、Bcl-2 的 mRNA 表达情况

Fig 4 Expression of Bax mRNA and Bcl-2 mRNA in the hippocampus in RT-PCR

A: RT-PCR; B: Fold change. 1: Control group; 2: Model group; 3: 50 mg/kg Rg1 treatment group; 4: 100 mg/kg Rg1 treatment group; 5: 200 mg/kg Rg1 treatment group. #  $P<0.05$  vs control group;  $\Delta P<0.05$  vs model group

3 讨论

匹罗卡品癫痫模型是目前国际上比较公认的一种造模方法,与人类慢性癫痫发作较为相似,通过注射匹罗卡品引起癫痫,进而引发一系列促癫痫事件的发生,最终引起自发性癫痫发作,造成慢性癫痫模型<sup>[9]</sup>。慢性癫痫形成的重要机制之一是胶质细胞的增生及神经元的丢失,有研究表明,在癫痫大鼠海马神经元中有线粒体凋亡蛋白的聚集,启动线粒体凋亡通路,释放凋亡

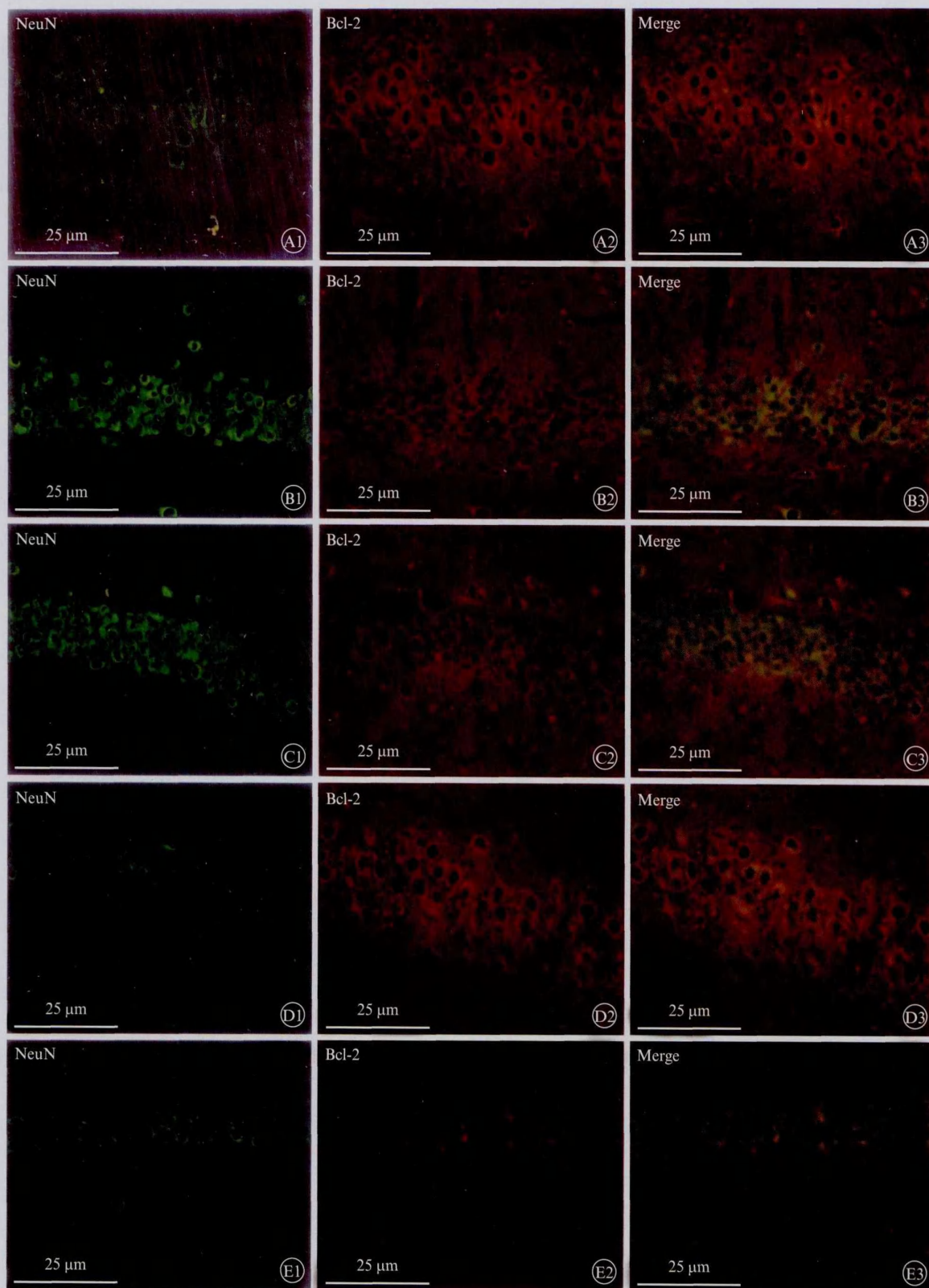


图 2 癫痫大鼠海马组织中 Bcl-2 的免疫荧光显色, 标尺=25 μm

Fig 2 Expression of Bcl-2 in the hippocampus neurons of epileptic rats by immunofluorescence staining, bar=25 μm

A: Control group; B: Model group; C: 50 mg/kg Rgl treatment group; D: 100 mg/kg Rgl treatment group;

E: 200 mg/kg Rgl treatment group. 1: NeuN; 2. Bcl-2; 3. Merge.

相关蛋白,导致海马神经元凋亡,而此又可加剧癫痫的发作<sup>[10]</sup>。

目前,癫痫的分子、细胞机制及其与脑损伤的联系尚不清楚,但神经元凋亡成为近年来癫痫领域的研究

热点,癫痫发作可引起神经元的凋亡,而神经元凋亡又可以反过来加重癫痫的进程<sup>[11]</sup>。有研究显示,在癫痫及神经退行性疾病中,过多的谷氨酸和谷氨酸离子通道的活化,可导致神经元的退行性改变<sup>[12]</sup>。谷氨酸盐



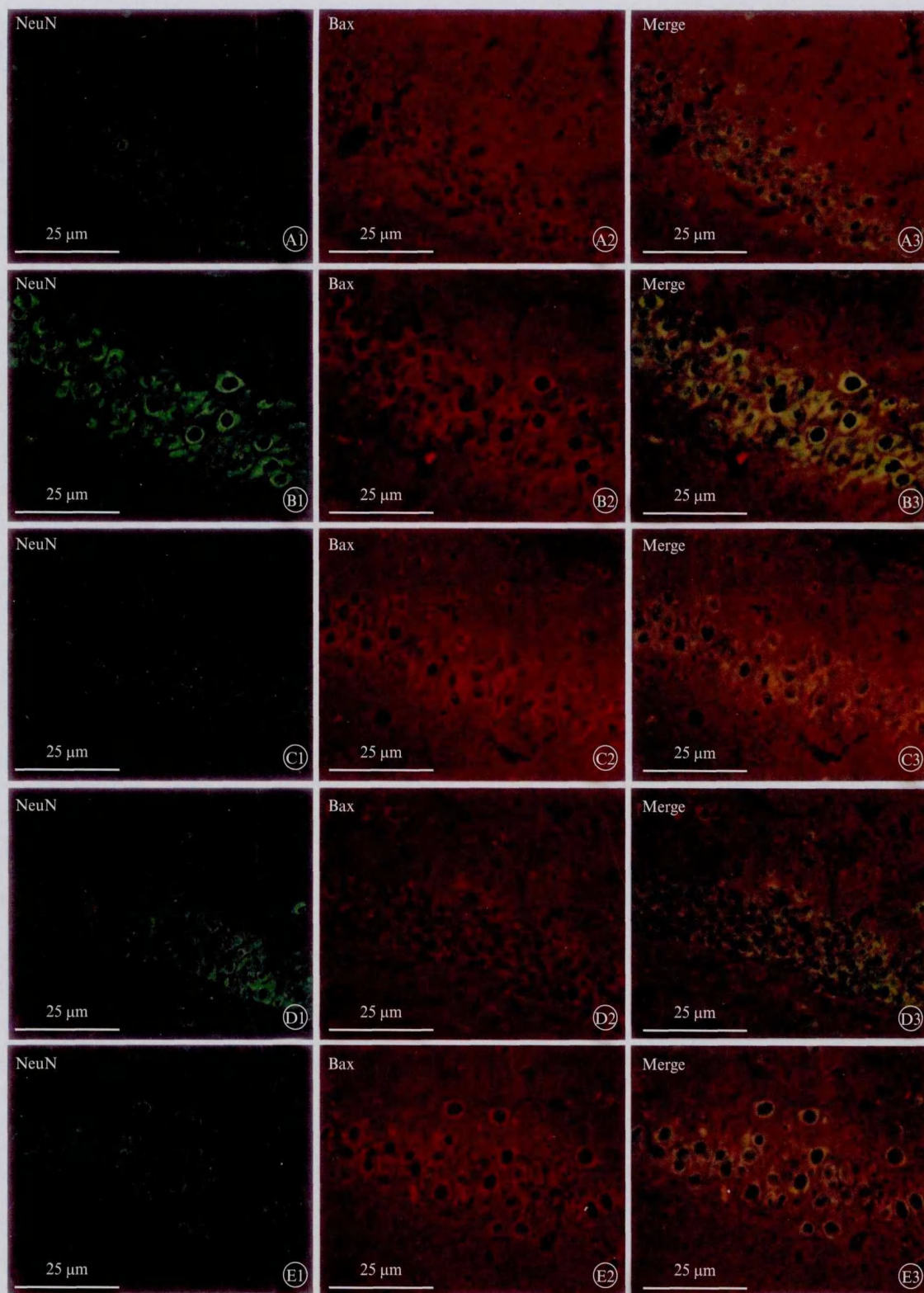


图3 癫痫大鼠海马组织中 Bax 的免疫荧光染色, 标尺=25 μm

Fig 3 Expression of Bax in the hippocampus neurons of epileptic rats by immunofluorescence staining, bar=25 μm

A: Control group; B: Model group; C: 50 mg/kg Rg1 treatment group; D: 100 mg/kg Rg1 treatment group;

E: 200 mg/kg Rg1 treatment group. 1: NeuN; 2: Bax; 3: Merge.

是大脑中主要的刺激性神经递质,在癫痫及神经退行性疾病中,它对谷氨酸受体 NMDAR 和 AMPAR 的过度刺激可能引起神经元的凋亡。神经元凋亡是癫痫发作的重要途径,癫痫发作可引起显著的大脑损伤,以海马神经元的丢失最为明显<sup>[13]</sup>,癫痫发作后神经元的丢

失参与了谷氨酸受体门控钙超载过度激活而导致细胞内细胞器的肿胀和破裂,启动蛋白水解酶,引起细胞凋亡,而这些神经元的损伤,又可导致癫痫的进展<sup>[14]</sup>。

Bcl-2 家族是调节细胞凋亡的主要蛋白,由抗凋亡蛋白 Bcl-2、Bcl-XL 与促凋亡蛋白 Bax、Bad 组成,这些

蛋白相互合作,通过对细胞线粒体刺激信号进行整合,调控 Caspase 而决定细胞的存活<sup>[15-16]</sup>。其中 Bcl-2 具有抑制细胞凋亡的作用,Bax 具有促进细胞凋亡的作用,Bax 与 Bcl-2 可各自构成同源二聚体,也可以相互结合构成异二聚体(Bcl-2/bax),存在于线粒体外膜,两者的比例决定着细胞到底该向存活还是死亡方向发展,当比例升高时促进细胞存活,反之致凋亡<sup>[17]</sup>。当 Bcl-2 家族中的成员 Bad 发生去磷酸化时,可使与 Bcl-2 相结合的 Bax 释放出来,形成同源二聚体,发挥其促凋亡作用,通过引起线粒体膜的通透性增加导致细胞色素 C(cytochrome C, cytC)等一系列物质的释放导致细胞凋亡<sup>[16]</sup>。Bcl-2 则主要通过抑制线粒体释放 cytC 对抗细胞凋亡。

人参皂苷 Rg1 具有广泛的药理学活性,其神经营养和神经保护作用越来越受到关注<sup>[18-19]</sup>。有研究表明,Rg1 的抗凋亡作用可能是与其可以上调脑源性神经营养因子及 Bcl 蛋白家族中抗凋亡因子的表达,同时下调促进促凋亡因子的表达有关<sup>[20]</sup>。Zhang 等<sup>[21]</sup>研究显示在海人酸致痫大鼠海马神经元中,Bcl-2 蛋白表达显著减少,Bax 蛋白表达显著增加。本研究结果显示,匹罗卡品致痫后大鼠的海马神经元出现凋亡,免疫荧光显色和免疫印迹显示 Bcl-2 的表达显著减少,Bax 表达增加,各 Rg1 治疗组 Bcl-2 的表达较模型组增多,Bax 表达较模型组减少。提示 Rg1 可能通过上调 Bcl-2 的表达、下调 Bax 的表达,从而抵抗匹罗卡品诱导的海马神经元的凋亡,而起到神经保护作用,但具体机制还有待于进一步深入研究,以期寻找癫痫治疗的新靶点,并为 Rg1 应用于临床治疗癫痫提供理论支持。

参考文献

[1] Fisher R S, Van Emde Boas W, Blume W, et al. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE)[J]. *Epilepsia*, 2005,46(4): 470-472.

[2] Nquqi A K, Kariuki S M, Bottomley C, et al. Incidence of epilepsy: a systematic review and meta-analysis[J]. *Neurology*, 2011,77(10): 1005-1012.

[3] Perucca E, French J, Bialer M. Development of new antiepileptic drugs: challenges, incentives, and recent advances[J]. *Lancet Neurol*, 2007,6(9): 793-804.

[4] Schmitz B. Effects of antiepileptic drugs on mood and behavior[J]. *Epilepsia*, 2006,47(S2): 28-33.

[5] Wu Z, Xu Q, Zhang L, et al. Protective effect of resveratrol against kainate-induced temporal lobe epilepsy in rats[J]. *Neuro-*

*chem Res*, 2009,34(8),1393-1400.

[6] Gao Y, Deng J, Yu X F, et al. Ginsenoside Rg1 inhibits vascular intimal hyperplasia in balloon-injured rat carotid artery by down-regulation of extracellular signal-regulated kinase 2 [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011,138(2),472-478.

[7] 王睿,李燕楠,王广基,等. 人参皂苷 Rg1 神经保护作用及脑部转运的研究[J]. *中国天然药物*, 2009,7(4): 315-320.

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

[9] Curia G, Longo D, Biagini G, et al. The pilocarpin model of temporal lobe epilepsy[J]. *J Neurosci Methods*, 2008, 172(2): 143-157.

[10] Engel T, Hatazaki S, Tanaka K, et al. Deletion of Puma protects hippocampal neurons in a model of severe status epilepticus[J]. *Neuroscience*, 2010,168(2): 443.

[11] Sharma A K, Jordan W H, Reams R Y, et al. Temporal profile of clinical signs and histopathologic changes in an F-344 rat model of kainic acid-induced mesial temporal lobe epilepsy[J]. *Toxicol Pathol*, 2008,36(7),932-943.

[12] Maragakis N J, Rothstein J D. Mechanisms of disease: astrocytes in neurodegenerative disease[J]. *Nat Clin Pract Neurol*, 2006,2(12),679-689.

[13] Mikati M A, Abi-Habib R J, E I Sabban M E, et al. Hippocampal programmed cell death after status epilepticus: evidence for NMDA-receptor and ceramide-mediated mechanisms [J]. *Epilepsia*, 2003,44(3): 282-291.

[14] Henshall D C, Murphy B M. Modulators of neuronal cell death in epilepsy[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2008, 8(1): 75-81.

[15] Hardwick J M, Soane L. Multiple functions of BCL-2 family proteins[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, 5(2): pii: a008722. doi: 10.1101/cshperspect. a008722.

[16] Niquet J, Wasterlain C G. Bim, Bad, and Bax: a deadly combination in epileptic seizures[J]. *J Clin Invest*, 2004,113(7): 960-962.

[17] Wu Z, Xu Q, Zhang L, et al. Protective effect of resveratrol against kainate-induced temporal lobe epilepsy in Rats [J]. *Neurochem Res*, 2009,34(8): 1393-1400.

[18] 王海波,李源莉. 人参皂苷 Rg1 神经保护作用的研究进展[J]. *白求恩医学院学报*, 2008,6(5): 291-293.

[19] 张均田. 人参研究的最新进展[J]. *江苏大学学报: 医学版*, 2009, 19(3): 185-191.

[20] Leung K W, Yung K K, Mak N K, et al. Neuroprotective effects of ginsenoside-Rg1 in primary nigral neurons against rotenone toxicity[J]. *Neuropharmacology*, 2007,52(3): 827-835.

[21] Zhang J, Yan H, Wu Y P, et al. Activation of GluR6-containing kainate receptors induces ubiquitin-dependent Bcl-2 degradation via denitrosylation in the rat hippocampus after kainite treatment [J]. *J Biol Chem*, 2011 286(9): 7669-7680.

(编辑: 蔺海燕)