

. 综 述 .

星形胶质细胞连接蛋白 43 在癫痫中的研究进展

冯兰兰 高学军 马 磊

【摘要】 连接蛋白 43(CX43)是一种广泛表达的跨膜蛋白,通过缝隙连接(GJCs)和半通道(HCs)两种方式参与中枢神经系统的功能调节,使星形胶质细胞和神经元之间形成功能和代谢的偶联。GJCs 主要介导细胞间的通讯,HCs 介导胞内与胞外的物质交换。无论是癫痫病人致痫灶组织切片,还是癫痫动物模型组织切片,星形胶质细胞 CX43 的表达和功能偶联都发生改变。GJCs 减少和 HC 过度激活在癫痫的发生、同步和维持中发挥重要作用。癫痫动物模型研究发现,星形胶质细胞 CX43 的阻断剂可改善癫痫发作。这提示星形胶质细胞 CX43 可能是控制癫痫发作的一个新的治疗靶点。本文主要对星形胶质细胞 CX43 在癫痫中作用展开综述。

【关键词】 癫痫;星形胶质细胞;连接蛋白 43;缝隙连接;半通道

【文章编号】 1009-153X(2024)11-0690-06 **【文献标志码】** A **【中国图书资料分类号】** R 742.1

Research advances of connexin 43 in astrocytes in epilepsy

FENG Lan-lan^{1,2}, GAO Xue-jun³, MA Lei². 1. Medical College of Yan'an University, Yan'an 716000, China; 2. Department of Neurology, The First Affiliated Hospital of Air Force Medical University, Xi'an 710032, China; 3. Department of Neurology, The Affiliated Hospital of Yan'an University, Yan'an 716000, China

【Abstract】 Connexin 43 (CX43), a transmembrane protein ubiquitously present in the central nervous system, participates in the functional and metabolic coupling between neurons and astrocytes via two pathways, namely gap junction channels (GJCs) and hemichannels (HCs). GJCs primarily account for direct intercellular communication, while HCs mediate the exchange of substances between the intracellular and extracellular milieus. Research indicates that in tissue sections of epileptic foci from patients with epilepsy and in animal models of epilepsy, both the expression pattern and functional coupling of CX43 have undergone marked alterations. Specifically manifested as a reduction in the quantity of GJCs and excessive activation of HCs, these changes play a crucial role in the genesis, development, and perpetuation of epilepsy. Further studies have revealed that the application of CX43 blockers can effectively ameliorate the symptoms of epileptic seizures, suggesting that CX43 might be a potential therapeutic target for controlling epileptic seizures. This article aims to review the role of CX43 in astrocytes in the pathological mechanism of epilepsy and its potential as a therapeutic target.

【Key words】 Epilepsy; Astrocyte; Connexin 43; Gap junctions; Hemichannels

癫痫是神经系统常见的疾病之一,其中颞叶癫痫(temporal lobe epilepsy, TLE)最为常见^[1]。大多数抗癫痫药物(antiepileptic drugs, AEDs)主要针对神经元电压门控离子通道和 γ -氨基丁酸能受体来降低神经元的兴奋性。30%~40%的癫痫病人在规范化的 AEDs 治疗后,癫痫发作仍然无法得到控制,称为药物难治性癫痫(drug resistant epilepsy, DRE)^[2]。因此,探索新的治疗靶点对于癫痫的治疗尤为重要。

星形胶质细胞的功能异常在癫痫中具有重要作

用,其特异性蛋白的表达在癫痫发作时发生改变^[3]。星形胶质细胞对神经元兴奋性的调节的一个重要机制是通过连接蛋白(connexins, CXs)形成类似于合胞体样的功能网络并与神经元突触网络相重叠^[4]。此外, CXs 半通道(hemichannels, HCs)的过度激活也可促进癫痫的发生^[5]。研究表明,星形胶质细胞 CX43 在癫痫病人脑组织和动物实验模型中的表达和功能偶联发生改变,并且编码 CX43 蛋白的 GJA1 基因突变导致的眼颌指发育不良的病人中有 30% 的病人表现出癫痫发作^[6]。本文主要通过分析星形胶质细胞 CX43 的缝隙连接(gap junction channels, GJCs)和 HCs 在癫痫中的作用,探讨 CX43 作为癫痫治疗的潜在靶点的可能性。

1 星形胶质细胞 CX43 的 HCs/GJCs

CX43 作为人类 21 种连接蛋白家族之一,在中

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2024.11.012

基金项目:国家自然科学基金(82071449)

作者单位:716000 陕西延安,延安大学医学院(冯兰兰);710032 西安,空军军医大学第一附属医院神经内科(冯兰兰、马 磊);716000 陕西延安,延安大学附属医院神经内科(高学军)

通信作者:马 磊, Email: malei@fmmu.edu.cn

枢神经系统的神经元、小胶质细胞、血管内皮细胞以及星形胶质细胞中均有表达,但主要在星形胶质细胞中表达。CX43 具有四个跨膜结构域,包括两个细胞外环,一个细胞质环以及位于细胞内的 N 端和 C 端尾部^[7]。6 个 CX43 亚基通过寡聚作用形成 Cx43-HCs,允许 ATP、谷氨酸、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸和 D-丝氨酸等信号分子释放到细胞外^[8,9]。但是星形胶质细胞 Cx43-HCs 的开放受到不同机制的严格调节,包括细胞内游离 Ca²⁺ 浓度增加以及 CXs 翻译后的磷酸化、羧基化、s-亚硝基和细胞酸碱度的改变等,在生理情况下,星形胶质细胞 Cx43-HCs 大多处于关闭状态。而病理情况下,如脑缺血、炎症、氧糖剥夺、细胞外低钙时,Cx43-GJCs 功能受到抑制而 Cx43-HCs 开放,导致静息膜电位的紊乱,ATP 和谷氨酸等递质的释放,导致神经损伤及突触和神经网络兴奋性紊乱^[4]。目前认为,病理情况下 Cx43-HCs 过度开放可加剧细胞死亡,是决定细胞损伤传播的重要因素,而磷酸化是 Cx43-HCs 关闭的主要调控机制,因此 CX43-HCs 被认为是病理孔^[10]。但 CX43-HCs 在生理过程中也可发挥作用。研究表明,生理条件下位于基底外侧杏仁核的星形胶质细胞 CX43-HCs 的开放是记忆巩固的基础^[11],可能与胶质递质释放调节突触相关。此外,星形胶质细胞 CX43-HCs 通过增强自身活性,增加谷氨酸和 ATP 的释放,参与小鼠急性和慢性约束后的应激反应^[12]。星形胶质细胞 CX43-HCs 通过调节 d-丝氨酸的释放参与前额叶皮层 N-甲基-D-天冬氨酸受体依赖性突触的可塑性^[13]。另外,两个相邻细胞的 CX43-HCs 对接形成 GJCs,星形胶质细胞 GJCs 通过电连接形成功能网络,参与中枢神经系统的 K⁺ 和谷氨酸的缓冲与调控,促进葡萄糖和乳酸的分配,介导神经细胞之间的信号传递;还可以为高能量代谢的神经元提供 ATP 以及通过钙离子传递实现神经胶质网络的同步化,动态的与神经元之间相互作用,有利于维持神经元的正常微环境^[14]。

2 星形胶质细胞 CX43 与癫痫

2.1 癫痫病人脑组织 CX43 的表达及功能改变 Naus 等^[15]在 1991 年利用 RNA 印记分析法,首次发现难治性癫痫病人和脑肿瘤急性癫痫发作病人的新皮层 CX43 mRNA 表达增加。近年来,在结构性病因相关的癫痫病人的术后脑组织标本中,例如伴海马硬化的 TLE 病人手术标本、局灶性皮质发育不良(focal cortical dysplasia, FCD) II B 型的癫痫病人手术标本

等,同样存在星形胶质细胞 CX43 的转录产物和蛋白表达的增加^[16]。尽管,CX43 表达研究具有重要意义,但全面理解癫痫发作/癫痫诱导下 CX43 的改变,还需深入研究与其功能紧密相关的翻译后修饰和功能偶联等参数。在伴海马硬化的 TLE 病人手术切除的海马组织中发现 CX43 的蛋白表达水平没有改变,而 Ser255 和 Ser368 位点的磷酸化增加,这两个位点的磷酸化可以导致 CJC 的开放概率降低(Ser255)和单一电导降低(Ser368),最终导致星形胶质细胞的偶联被破坏,从而参与癫痫的发生^[17,18]。此外,在星形胶质细胞瘤中,CX43 具有复杂作用,既参与肿瘤微环境的构成,增强肿瘤向周边脑组织侵袭的能力,又与肿瘤相关癫痫的致痫灶密切相关^[19,20]。研究表明,胶质母细胞瘤 CX43 的高表达与病人的预后不良有关^[21]。由于 CX43 在全身组织广泛分布,表现出不同系统的综合征,主要表现为眼睛、手、牙齿、足部的异常,以及颅面和骨的畸形,但约有 30% 的病人有传导性听力损失、构音障碍、神经源性膀胱、痉挛或肌无力、共济失调和癫痫等神经系统的症状^[22]。由于癫痫病人组织标本的研究具有复杂性、癫痫异质性强、受多种因素影响,CX43 异常表达分析多基于难治性癫痫病人组织,其可用性有限,受癫痫类型、病人年龄、患病年龄、服用抗癫痫药物类型和数量等多因素差异影响。因此,CX43 表达变化与癫痫发作的直接关联尚不明确。同样,人体组织中星形胶质细胞偶联丧失是否诱发癫痫发作的疑问,需探究癫痫脑组织的早期病理变化,而人体组织标本只能从疾病的晚期慢性状态中获得,更深入的探索研究需借助模拟人体疾病环境的动物模型。

2.2 癫痫动物模型中 CX43 的表达及功能改变 海马组织在癫痫发生的过程中具有关键作用,其具有广泛的 GJCs 网络^[23]。Motaghi 等^[23]研究发现,雄性 Wistar 大鼠经匹罗卡品(pilocarpine, PILO)诱导癫痫持续状态(status epilepticus, SE)后,分别自发发生局灶性癫痫发作和全面性癫痫发作,相较于同龄假刺激的大鼠海马的解剖,CX36 蛋白表达较无显著变化,但 Cx43 在局灶性癫痫发作后表达显著增加。这表明在癫痫状态下,大鼠海马组织 Cx43 表达异常。同样,Liu 等^[24]通过 PILO 诱导的癫痫持续状态 SE 模型与 GJCs 抑制剂甘珀酸(carbenoxolone, CBX)预处理模型对比,发现 CBX 能够显著减少慢性癫痫大鼠在 SE 后 28 d 内的自发性复发性癫痫发作次数,而 CBX 预处理不影响正常大鼠海马 CXs 的表达,但能够抑制癫痫大鼠 CX43 的表达;并且 CX43 在癫痫慢性期

的表达增加与癫痫脑电高频振荡具有相关性。Andrioli 等^[25]研究 PILO 诱导 SE 后 24 h 内大鼠脑神经元 CX36 和星形胶质细胞 CX30、CX43 mRNA 的表达水平,结果显示,CX43 和 CX30 mRNA 水平在 SE 发作后 24 h 新皮质区域和海马以及大多数丘脑区域显著降低,而 CX36 mRNA 没有表现出明显的变化,同时相应脑区发现了进行性神经元死亡。因此,癫痫动物模型 CX43 异常表达与癫痫密切相关,且与癫痫病人组织的研究结果相一致。而星形胶质细胞 CX43 在癫痫动物模型中表达出现矛盾结果,可能与动物模型的年龄、诱导癫痫发作的方法、癫痫发作类型、持续时间以及所选取的脑组织区域不同相关。在动物模型中,诱导癫痫发生的潜伏期的 CX43 的表达具有更充足的证据阐明二者之间的因果关系。Altas 等^[26]研究发现,Nedd4-2 作为 E3 泛素连接酶,可以调控神经网络活动,并且 Nedd4-2 缺失或错义突变可能引发家族性癫痫;而 Nedd4-2 通过影响星形胶质细胞 Kir4.1 和 CX43 表达,调节细胞离子通透性和 GJCs 活性,影响 γ -振荡神经网络活性。Men 等^[27]研究瞬时受体电位香草素 4 (transient receptor potential vanilloid 4, TRPV4) 在 PILO 诱导的小鼠 SE 后 CXs 表达调节中的作用,发现 SE 后 TRPV4 蛋白水平在海马区显著增加,并且与 CX43 蛋白水平的增加存在时间上的相关性,而 TRPV4 拮抗剂 HC-067047 能够延长 PILO 诱导的癫痫发作潜伏期并降低 PISE 制备的成功率,同时显著减弱 CX43 蛋白水平的增加,表明 TRPV4 可能通过上调 CX43 表达参与癫痫的病理生理学过程。因此,星形胶质细胞 CX43 的异常表达和调控是促进癫痫发生的潜在原因。未来更需要构建靶向 CX43 蛋白敲除或缺陷的动物模型以进一步探索癫痫发生的复杂机制。

2.3 星形胶质细胞 CX43 参与癫痫的可能机制 目前的研究现状(癫痫病人、动物模型)表明星形胶质细胞 CX43 可能通过以下机制在癫痫的发生过程中发挥作用。一方面,星形胶质 CX43 通过 GJCs 形成的星形胶质细胞功能网络在许多方面影响神经元的兴奋性和同步性。首先,星形胶质功能网络具有空间 K^+ 缓冲作用,这一过程由局部 K^+ 平衡电位和神经胶质合胞体更负的膜电位之间的差异驱动,过量的神经元释放的 K^+ 通过 Kir4.1 通道被星形胶质细胞被动吸收,通过 GJCs 网络分布并在 K^+ 较低的位点释放。当偶联功能异常时,局部 K^+ 增加,神经元的兴奋性和去极化效应增强^[28]。其次,GJCs 偶联减少同样会导致 Na^+ 在星形胶质细胞的胞质积累,使得由 Na^+ 梯度

驱动的星形胶质细胞质膜谷氨酸转运蛋白清除突触期间过量谷氨酸的能力下降,从而增加了兴奋性神经递质的功能^[29]。此外,星形细胞胞质增加的 Na^+ 可以触发 Na^+/Ca^{2+} 交换机制的逆转,导致星形胶质细胞 Ca^{2+} 摄取增加,同样增加了与 Ca^{2+} 相关的异常的神经胶质的释放,有助于神经元的同步化活动的产生和扩散^[30-32]。最后,胞质 K^+/Na^+ 的积累还会增加水分子的流入,增加了星形胶质细胞肿胀程度,导致细胞外空间体积减少并增加了离子和神经递质的浓度,会对癫痫发生产生促进作用^[28]。同样,星形胶质细胞网络对于高能量需求的神经元的能量(ATP 等)供应和转运也至关重要,是影响癫痫活动维持的重要因素^[33,34]。因此,急性期 GJCs 偶联减少可能造成 K^+/Na^+ 和谷氨酸的缓冲减少,促进癫痫快速发作,但由于能量供应不足又会产生延迟癫痫发作的抑制作用^[34]。另一方面,在各种应激条件下,例如脑缺血、炎症、氧糖剥夺、细胞外低钙时,CX43 的 HCs 开放并释放谷氨酸、ATP 和 D-丝氨酸等增强神经元的兴奋性和同步性,也可能具有促癫痫作用^[4]。

3 CX43 抑制剂在癫痫中的作用

3.1 非选择性抑制剂 星形胶质细胞 CX43 阻断剂的非选择性抑制剂主要有甘珀酸、奎宁、甲氟喹、奎尼丁。既往研究表明甘珀酸和甲氟喹可以降低大鼠丘脑皮质切片中癫痫样活动的幅度和持续时间^[35,36]。Ross 等^[37]发现甘珀酸还可降低大鼠海马脑片自发性痫样活动的频率。甘珀酸也可减少颞叶癫痫病人大脑皮层切片中应用 4-氨基吡啶产生的自发同步事件^[38]。Volnova 等^[39]基于大鼠海马切片研究中表明,甘珀酸阻滞 GJCs 相关星形胶质细胞合胞体可能会影响体外星形胶质细胞癫痫活动的形成和癫痫发作的发生。奎宁作为一种强效 GJCs 阻滞剂,可抑制暴露于 GABA(B) 受体拮抗剂的大鼠海马切片中的 GABA 能发作样事件^[40]。奎宁在 TLE 病人的新皮层中也可以观察到与甘珀酸相似的作用^[38]。并且,奎尼丁也可消除 4-氨基吡啶诱导的大鼠丘脑皮质切片中的癫痫样活动^[41]。除了这些体外模型的研究外,体内实验也表明 GJCs 参与了癫痫样活动。Wu 等^[42]在红藻氨酸快速点燃大鼠癫痫模型中发现,甘珀酸、奎宁和奎尼丁逆转微管相关蛋白(microtubule-associated protein-2, MAP-2)和突触素(synaptophysin, SYP)的过度表达,使得癫痫发作活动传播受到抑制。此外,甘珀酸还可显著降低戊四唑(etrazale, PTZ)诱导的大鼠癫痫样活动的光谱功率和振幅^[43]。

同样,在PTZ诱导的大鼠癫痫模型中,奎宁可减轻癫痫发作严重程度和平均癫痫发作分期^[44]。奎宁还可通过降低癫痫样棘波的振幅和频率来抑制癫痫样活动^[45]。这些非选择性的抑制药物虽然可以在动物模型癫痫发作过程起到一部分作用,由于CX43在组织中表达广泛,而非选择性抑制药物特异性和选择性均较差会造成其他组织(心脏、肺部等)潜在损伤,其在癫痫中的应用还有待进一步的探索^[45]。

3.2 模拟肽 针对星形胶质细胞CX43通道的特异性靶向AED的研究发现新的途径,即以CXs蛋白特定序列相同短肽作为工具,特异性抑制CX43的功能,干扰GJCs的偶联,这类连接蛋白胞内、外环特定结构的类似物,即EL模拟肽,常见的类型有GAP26、GAP27、以及GAP19^[16]。Braet等^[46]表明GAP26可以选择性抑制CX43HCs从而抑制ATP的释放,阻断三磷酸肌醇诱发的融合内皮细胞间的Ca²⁺波,并且通过光漂白后荧光恢复检测并非是阻断GJIC的结果。Torres等^[47]表明Cx43-HCs通过在细胞外间隙释放ATP参与星形胶质细胞Ca²⁺传播。GAP27是第一个在体外测试其对癫痫活动影响的Cx43模拟肽。Samoilova等^[48]表明7 d龄大鼠的海马切片中,GAP27抑制自发性反复癫痫活动,但产生抑制作用所需的时间>10 h,远远超出了干扰CX43-HCs所需的时间(<30 min),可能是干扰了HCs对接和形成新的功能性的GJCs的能力。由于CXs的胞外序列具有保守性,GAP26/27也可能抑制神经元或血管内皮中的其他CXs。而GAP19是衍生于CX43细胞内L2结构域的合成九肽,可以特异性的干扰细胞质环和羧基末端尾部之间的分子内相互作用,并且对GJCs、pannexin通道均不造成影响。由于该序列位于细胞内的C末端结构域,不同CXs蛋白之间的序列各不相同,使得GAP19作用于CX43以外的连接蛋白机率大大降低。并且为了提高GAP19的细胞膜的穿透性,可与人类免疫缺陷病毒的转录反式激活因子序列相偶联^[49]。Walrave等^[50]在毛果芸香碱诱导小鼠和大鼠的癫痫模型中发现,TAT-GAP19还可以降低D-丝氨酸的水平,而星形胶质细胞释放的D-丝氨酸是除谷氨酸外的N-甲基-D-天冬氨酸受体的重要调节剂,在诱导癫痫病人神经元的兴奋中发挥重要作用。虽然模拟肽靶向阻滞GJCs具有良好的抗癫痫能力,但其生物利用度通常较低,还需要在未来进行更深入的研究^[51]。

3.3 小分子抑制剂 D4是一种新开发的有机小分子化合物,即(R)-2-(4-氯苯基)-2-氧代-1-苯基喹

啉-2-羧酸乙酯,可以通过选择性抑制CX43-HCs,可有效地减少病理性肌肉萎缩^[52,53];还可以通过减少神经炎症来减少小鼠抑郁样症状^[54]。Guo等^[52]在颞叶PILO小鼠模型中使用D4来阻断星形胶质CX43-HCs,发现在预先给予D4的情况下,利用200~300 mg/kg的毛果芸香碱诱导SE后,动物7 d存活率由40%明显升至70%。D4主要通过以下几个方面在癫痫中发挥作用:D4预先给药可以减轻TLE诱导的神经炎症;D4在发生SE后给药可以缓解TLE介导的神经炎症,逆转SE发生后活化的星形胶质细胞和小胶质细胞;D4在体内可以快速衰减电痉挛;D4在体内外实验中均可抑制CX43-HCs的活性。通过人工构建CX43模型,可获得D4中苯甲酰、苯基和喹诺酮类芳香基团在空间上与mCx43 GJC构象中Trp4、Leu-7和Leu1残基侧链重叠,使D4优先结合到Cx43-HCs,而不是Cx43/GJCs或Cx39HC^[52]。D4在小鼠癫痫模型实验过程中可以通过口服灌胃给药,与人服药方式类似。D4从胃部吸收后进入循环系统,到达身体的各个部位,具有较好依从性。D4是一种很有前景的癫痫治疗策略,但是D4是否可以穿透脑血屏障进入中枢神经系统,以及在中枢系统是否有较好的药物生物利用度,未来应对D4如何穿透大脑以及其代谢物如何在体内介导其抗惊厥作用进行更深入的研究。

综上所述,星形胶质细胞CX43在癫痫发生的过程发挥重要作用,并且CX43-HCs的选择性抑制已成为一个有巨大潜力的AEDs的靶点。相比于星形胶质CX43-GJCs的抑制,CX43-HCs的选择性抑制可以减少对其它组织的损伤。CX43胞内结构域保守性较差,模拟肽特异性结合CX43胞内结构域可以有效地避免干扰其他CXs的功能。由于模拟肽的血浆半衰期短,口服利用度不足,临床的实际应用有待进一步探索。对小分子物质D4代谢产物的进一步研究可为明确其参与癫痫治疗和控制提供更好的实验证据。研发新的、更有效的、耐受性更好的药物仍具有挑战性,而癫痫治疗的最终目标不仅是使病人免于癫痫发作,更要提升病人的生活质量。希望未来关于星形胶质CX43在癫痫中的机制的探索能为临床诊疗提供更好的理论依据。

【利益冲突声明】:本文不存在任何利益冲突。
【作者贡献声明】:冯兰兰负责查阅文献、撰写文章;高学军参与查阅文献;马磊提供写作思路、基金支持、修改文章及最后定稿。

【参考文献】

[1] FIEST KM, SAURO KM, 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.

[2] CHEN Z, BRODIE MJ, LIEW D, *et al.* Treatment outcomes in patients with newly diagnosed epilepsy treated with established and new antiepileptic drugs: a 30-year longitudinal cohort study [J]. *JAMA Neurol*, 2018, 75(3): 279–286.

[3] BINDER DK, STEINHAUSER C. Astrocytes and epilepsy [J]. *Neurochem Res*, 2021, 46(10): 2687–2695.

[4] GIAUME C, NAUS CC, SÁEZ JC, *et al.* Glial connexins and pannexins in the healthy and diseased brain [J]. *Physiol Rev*, 2021, 101(1): 93–145.

[5] NARDIN C, MAMMANO F. Measurement of Ca(2+) uptake through connexin hemichannels [J]. *Methods Mol Biol*, 2024, 2801: 97–109.

[6] DE BOCKM, KERREBROUCK M, WANG N, *et al.* Neurological manifestations of oculodentodigital dysplasia: a Cx43 channelopathy of the central nervous system [J]. *Front Pharmacol*, 2013, 4: 55296.

[7] DELVAEYE T, VANDENABEELE P, BULTYNCK G, *et al.* Therapeutic targeting of connexin channels: new views and challenges [J]. *Trends Mol Med*, 2018, 24(12): 1036–1053.

[8] LEE HJ, JEONG H, HYUN J, *et al.* Cryo-EM structure of human Cx31.3/GJC3 connexin hemichannel [J]. *Sci Adv*, 2020, 6(35): eaba4996.

[9] NAULIN PA, LOZANO B, FUENTES C, *et al.* Polydisperse molecular architecture of connexin 26/30 heteromeric hemichannels revealed by atomic force microscopy imaging [J]. *J Biol Chem*, 2020, 295(49): 16499–16509.

[10] SARROUILHE D, DEJEAN C, MESNIL M. Connexin43- and pannexin-based channels in neuroinflammation and cerebral neuropathies [J]. *Front Mol Neurosci*, 2017, 10: 320.

[11] STEHBERG J, MORAGA-AMARO R, SALAZAR C, *et al.* Release of gliotransmitters through astroglial connexin 43 hemichannels is necessary for fear memory consolidation in the basolateral amygdala [J]. *FASEB J*, 2012, 26(9): 3649–3657.

[12] ORELLANA JA, MORAGA-AMARO R, DÍAZ-GALARCE R, *et al.* Restraint stress increases hemichannel activity in hippocampal glial cells and neurons [J]. *Front Cell Neurosci*, 2015, 9: 102.

[13] MEUNIER C, WANG N, YIC, *et al.* Contribution of astroglial Cx43 hemichannels to the modulation of glutamatergic currents by D-serine in the mouse prefrontal cortex [J]. *J Neurosci*, 2017, 37(37): 9064–9075.

[14] BENNETT MV, CONTRERAS JE, BUKAUSKAS FF, *et al.* New roles for astrocytes: gap junction hemichannels have something to communicate [J]. *Trends Neurosci*, 2003, 26(11): 610–617.

[15] NAUS CC, BECHBERGER JF, PAUL DL. Gap junction gene expression in human seizure disorder [J]. *Exp Neurol*, 1991, 111(2): 198–203.

[16] WALRAVE L, VINKEN M, LEYBAERT L, *et al.* Astrocytic connexin43 channels as candidate targets in epilepsy treatment [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(11): 1578.

[17] ZHANG M, WANG ZZ, CHEN NH. Connexin 43 phosphorylation: implications in multiple diseases [J]. *Molecules*, 2023, 28(13): 4914.

[18] DESHPANDE T, LI T, HERDE MK, *et al.* Subcellular reorganization and altered phosphorylation of the astrocytic gap junction protein connexin43 in human and experimental temporal lobe epilepsy [J]. *Glia*, 2017, 65(11): 1809–1820.

[19] DU Y, LI R, FU D, *et al.* Multi-omics technologies and molecular biomarkers in brain tumor-related epilepsy [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2024, 30(4): e14717.

[20] DONG H, ZHOU XW, WANG X, *et al.* Complex role of connexin 43 in astrocytic tumors and possible promotion of glioma-associated epileptic discharge [J]. *Mol Med Report*, 2017, 16(6): 7890–7900.

[21] CHE J, DEPALMA TJ, SIVAKUMAR H, *et al.* αCT1 peptide sensitizes glioma cells to temozolomide in a glioblastoma organoid platform [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2023, 120(4): 1108–1119.

[22] BARACALDO-SANTAMARÍA D, CORRALES-HERNÁNDEZ MG, ORTIZ-VERGARA M C, *et al.* Connexins and pannexins: important players in neurodevelopment, neurological diseases, and potential therapeutics [J]. *Biomedicines*, 2022, 10(9): 2237.

[23] MOTAGHI S, SAYYAH M, BABAPOUR V, *et al.* Hippocampal expression of connexin36 and connexin43 during epileptogenesis in pilocarpine model of epilepsy [J]. *Iran Biomed J*, 2017, 21(3): 167–173.

[24] LIU B, RAN X, YI Y, *et al.* Anticonvulsant effect of carbenoxolone on chronic epileptic rats and its mechanism related to connexin and high-frequency oscillations [J]. *Front Mol Neurosci*, 2022, 15: 870947.

[25] ANDRIOLI A, FABENE PF, MUDÒ G, *et al.* Downregulation of the astroglial connexin expression and neurodegeneration after pilocarpine-induced status epilepticus [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 24(1): 23.

[26] ALTAS B, RHEE HJ, JU A, *et al.* Nedd4-2-dependent regulation of astrocytic Kir4.1 and connexin43 controls neuronal network activity [J]. *J Cell Biol*, 2024, 223(1): e201902050.

[27] MEN C, WANG Z, ZHOU L, *et al.* Transient receptor potential vanilloid 4 is involved in the upregulation of connexin expression follo-

wing pilocarpine-induced status epilepticus in mice [J]. Brain Res Bull, 2019, 152: 128–133.

[28] BREITHAUSEN B, KAUTZMANN S, BOEHLEN A, *et al.* Limited contribution of astroglial gap junction coupling to buffering of extra-cellular K(+) in CA1 stratum radiatum [J]. Glia, 2020, 68(5): 918–931.

[29] ROSE CR, FELIX L, ZEUG A, *et al.* Astroglial glutamate signaling and uptake in the hippocampus [J]. Front Mol Neurosci, 2017, 10: 451.

[30] RIQUELME J, WELLMANN M, SOTOMAYOR-ZARATE R, *et al.* Gliotransmission: a novel target for the development of antiseizure drugs [J]. Neuroscientist, 2020, 26(4): 293–309.

[31] MULLER J, TIMMERMAN A, HENNING L, *et al.* Astrocytic GABA accumulation in experimental temporal lobe epilepsy [J]. Front Neurol, 2020, 11: 614923.

[32] HOSLI L, BININI N, FERRARI KD, *et al.* Decoupling astrocytes in adult mice impairs synaptic plasticity and spatial learning [J]. Cell Rep, 2022, 38(10): 110484.

[33] PHILIPPOT C, GRIEMSMANN S, JABS R, *et al.* Astrocytes and oligodendrocytes in the thalamus jointly maintain synaptic activity by supplying metabolites [J]. Cell Rep, 2021, 34(3): 108642.

[34] HENNEBERGER C. Does rapid and physiological astrocyte–neuron signalling amplify epileptic activity [J]. J Physiol, 2017, 595(6): 1917–1927.

[35] GIGOUT S, LOUVEL J, RINALDI D, *et al.* Thalamocortical relationships and network synchronization in a new genetic model "in mirror" for absence epilepsy [J]. Brain Res, 2013, 1525: 39–52.

[36] CHANG WP, WU JJ, SHYU BC. Thalamic modulation of cingulate seizure activity via the regulation of gap junctions in mice thalamo-cingulate slice [J]. PLoS One, 2013, 8(5): e62952.

[37] ROSS FM, GWYN P, SPANSWICK D, *et al.* Carbenoxolone depresses spontaneous epileptiform activity in the CA1 region of rat hippocampal slices [J]. Neuroscience, 2000, 100(4): 789–796.

[38] GIGOUT S, LOUVEL J, KAWASAKI H, *et al.* Effects of gap junction blockers on human neocortical synchronization [J]. Neurobiol Dis, 2006, 22(3): 496–508.

[39] VOLNOVA A, TSYTSAREV V, GANINA O, *et al.* The anti-epileptic effects of carbenoxolone in vitro and in vivo [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(2): 663.

[40] RAN X, XIANG J, SONG PP, *et al.* Effects of gap junctions blockers on fast ripples and connexin in rat hippocampi after status epilepticus [J]. Epilepsy Res, 2018, 146: 28–35.

[41] GIGOUT S, LOUVEL J, PUMAIN R. Effects in vitro and in vivo of a gap junction blocker on epileptiform activities in a genetic model of absence epilepsy [J]. Epilepsy Res, 2006, 69(1): 15–29.

[42] WU XM, WANG GL, MIAO J, *et al.* Effect of connexin 36 blockers on the neuronal cytoskeleton and synaptic plasticity in kainic acid-kindled rats [J]. Transl Neurosci, 2015, 6(1): 252–258.

[43] BRAGIN A, MODY I, WILSON CL, *et al.* Local generation of fast ripples in epileptic brain [J]. J Neurosci, 2002, 22(5): 2012–2021.

[44] FRANCO-PéREZ J, BALLESTEROS-ZEBADÚA P, MANJARREZ-MARMOLEJO J. Unilateral microinjection of carbenoxolone into the pontis caudalis nucleus inhibits the pentylenetetrazole-induced epileptiform activity in rats [J]. Neurosci Lett, 2015, 602: 38–43.

[45] MANJARREZ-MARMOLEJO J, FRANCO-PéREZ J. Gap junction blockers: an overview of their effects on induced seizures in animal models [J]. Curr Neuropharmacol, 2016, 14(7): 759–771.

[46] BRAET K, VANDAMME W, MARTIN PE, *et al.* Photoliberating inositol-1,4,5-trisphosphate triggers ATP release that is blocked by the connexin mimetic peptide gap 26 [J]. Cell Calcium, 2003, 33(1): 37–48.

[47] TORRES A, WANG F, XU Q, *et al.* Extracellular Ca²⁺ acts as a mediator of communication from neurons to glia [J]. Sci Signal, 2012, 5(208): ra8–ra8.

[48] SAMOILOVA M, WENTLANDT K, ADAMCHIK Y, *et al.* Connexin 43 mimetic peptides inhibit spontaneous epileptiform activity in organotypic hippocampal slice cultures [J]. Exp Neurol, 2008, 210(2): 762–775.

[49] COUTINHO FP, GREEN CR, ACOSTA ML, *et al.* Xentry-gap19 inhibits connexin43 hemichannel opening especially during hypoxic injury [J]. Drug Deliv Transl Res, 2020, 10(3): 751–765.

[50] WALRAVE L, PIERRE A, ALBERTINI G, *et al.* Inhibition of astroglial connexin43 hemichannels with TAT-gap19 exerts anticonvulsant effects in rodents [J]. Glia, 2018, 66(8): 1788–1804.

[51] DOBOLYI A, KékESI KA, JUHÁSZ G, *et al.* Receptors of peptides as therapeutic targets in epilepsy research [J]. Curr Med Chem, 2014, 21(6): 764–787.

[52] GUO A, ZHANG H, LI H, *et al.* Inhibition of connexin hemichannels alleviates neuroinflammation and hyperexcitability in temporal lobe epilepsy [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2022, 119(45): e2213162119.

[53] LI H, GUO A, SALGADO M, *et al.* The connexin hemichannel inhibitor D4 produces rapid antidepressant-like effects in mice [J]. J Neuroinflammation, 2023, 20(1): 191.

[54] CISTERNA BA, VARGAS AA, PUEBLA C, *et al.* Active acetylcholine receptors prevent the atrophy of skeletal muscles and favor reinnervation [J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 1073.