

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.08.008

鼠神经生长因子联合神经节苷脂钠注射液对癫痫大鼠认知功能、血清 NSE 及海马神经元的影响及机制分析*

张丽辉 李毓新 惠 晶 吴廷佳 王晓芳[△]

(西安医学院第二附属医院神经内一科 陕西 西安 710038)

摘要 目的:探讨鼠神经生长因子联合神经节苷脂钠注射液对癫痫大鼠认知功能、血清 NSE 及海马神经元的影响。**方法:**选择 SD 雄性大鼠 50 只,随机分为 5 组,包括空白组、模型组、A 组、B 组、C 组。空白组大鼠腹腔注射等容量的生理盐水,其余组使用腹腔注射氯化锂-毛果芸香碱的方法建立癫痫大鼠模型。空白组、模型组大鼠用微量注射器注射 20 μ L 无菌生理盐水,A 组同时时间点给大鼠腹腔注射 2000 AU/kg 鼠神经生长因子;B 组同时时间点给大鼠腹腔注射 20 μ L 神经节苷脂钠;C 组给大鼠腹腔注射 2000 AU/kg 鼠神经生长因子联合 20 μ L 神经节苷脂钠。进行 Morris 水迷宫试验、空间探索试验,检测血清 NSE 水平与海马神经组织的神经元,检测血清 NSE 水平、海马神经组织的神经元存活率及核因子 kB p56、TLR-4、MyD88 蛋白水平。**结果:**模型组第 1、2、3、4、5 d 时的游泳总距离、逃避潜伏期较其他四组高,空白组较 A 组、B 组、C 组高,B 组、A 组较 C 组高($P<0.05$),B 组、A 组对比无差异($P>0.05$);模型组的平台穿越次数、探索有效时间比率较空白组、A 组、B 组、C 组低,空白组较 A 组、B 组、C 组低,B 组、A 组较 C 组低($P<0.05$),B 组、A 组对比无差异($P>0.05$);模型组的血清 NSE 水平、核因子 kB p56、TLR-4、MyD88 蛋白水平较空白组、A 组、B 组、C 组低,海马组织中神经元存活率较高,空白组较 A 组、B 组、C 组低,海马组织中神经元存活率较高,B 组、A 组较 C 组低,海马组织中神经元存活率较高($P<0.05$),B 组、A 组的 NSE 水平、海马组织中神经元存活率、核因子 kB p56、TLR-4、MyD88 蛋白水平对比无差异($P>0.05$)。**结论:**鼠神经生长因子联合神经节苷脂钠注射液可改善癫痫大鼠的认知功能,减轻海马组织炎症反应,可能与其可降低血清 NSE 及海马组织核因子 kB p56、TLR-4、MyD88 水平有关。

关键词:鼠神经生长因子;神经节苷脂钠注射液;癫痫;大鼠

中图分类号:R-33;R742.1 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2023)08-1442-05

Effect of Rat Nerve Growth Factor Combined with Ganglioside Sodium Injection on Cognitive Function, Serum NSE and Hippocampal Neurons in Epileptic Rats and Its Mechanism Analysis*

ZHANG Li-hui, LI Yu-xin, HUI Jing, WU Yan-jia, WANG Xiao-fang[△]

(Department of Neurology, The Second Affiliated Hospital of Xi'an Medical College, Xi'an, Shaanxi, 710038, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of rat nerve growth factor combined with ganglioside sodium injection on cognitive function, serum NSE and hippocampal neurons in epileptic rats. **Methods:** 50 male Sprague-Dawley rats were randomly divided into 5 groups, including blank group, model group, A group, B group, C group. The rats in the blank group were intraperitoneally injected with the same volume of normal saline, and the rats in the other groups were intraperitoneally injected with lithium chloride and pilocarpine to establish the epilepsy rat model. Rats in blank group and model group were injected with 20 μ L sterile normal saline with microsyringes. Rats in A group were intraperitoneally injected with 2000 AU/kg rat nerve growth factor at the same time point. Rats in B group were intraperitoneally injected with 20 μ L ganglioside sodium at the same time point. C group was intraperitoneally injected with 2000 AU/kg rat nerve growth factor combined with 20 μ L ganglioside sodium. Morris water maze test and space exploration test were conducted to detect serum NSE level and hippocampal neurons, and to detect serum NSE level, neuron survival rate and nuclear factor kB P56, TLR-4 and MyD88 protein levels in hippocampal nerve tissue. **Results:** The total swimming distance at 1,2,3,4, and 5 d were higher than that of the other four groups, higher in blank than A, B and C, B and A than C ($P<0.05$), and no difference between groups B and A ($P>0.05$); The number of platform crossing and exploration effective time ratio were lower than group blank, A, B and C, lower than group A, B and C, B and C($P<0.05$), and no difference between group B and A ($P>0.05$); Serum NSE levels, nuclear factors kB p56, TLR-4 and MyD88 protein levels were lower than blank, A, B, C, higher neuronal survival, A, B, C, lower neuronal survival, C, higher ($P<0.05$), NSE, neuronal survival, and nuclear factors kB p56, TLR-4 and MyD88 protein levels ($P>0.05$). **Conclusion:** Rat nerve growth

* 基金项目:陕西省卫生健康科研项目(2018C0326)

作者简介:张丽辉(1991-),女,硕士,主治医师,研究方向:脑血管病相关,E-mail:efyhh_6043@163.com

[△] 通讯作者:王晓芳(1990-),女,硕士,主治医师,研究方向:脑血管病、眩晕疾病、癫痫、周围神经病变等,E-mail:efyhh_6043@163.com

(收稿日期:2022-09-14 接受日期:2022-10-10)

factor combined with ganglioside sodium injection can improve cognitive function and reduce hippocampal inflammatory response in epileptic rats, which may be related to the reduction of serum NSE and hippocampal nuclear factor κ B P56, TLR-4, MyD88 levels.

Key words: Rat nerve growth factor; Ganglioside sodium injection; Epilepsy; Rat

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R742.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2023)08-1442-05

前言

癫痫是因大脑的神经元异常放电出现的短暂性中枢神经系统功能失常的一种慢性脑部病,疾病特征为神经功能失常^[1,2]。世界约有1%癫痫患者,我国癫痫的疾病发病率约有7%。癫痫中最常见的类型是颞叶癫痫,疾病反复发作,会导致患者出现认知功能障碍,其与海马边缘的病变更有一定的相关性,而海马会参与记忆、学习等功能,因此其与患者的认知功能密切相关^[3,4]。癫痫疾病发作早期,若给予及时治疗,可挽救患者的神经元受损细胞,因此对于癫痫患者需及早给予治疗^[5,6]。有20%~30%患者使用常用抗癫痫药物治疗后,癫痫会频繁发作,成为难治性癫痫。而临床上常规的抗癫痫药多存在不良反应,其会影响患者的治疗依从性^[7-9]。因此寻找一种疗效好且安全性好的癫痫药物是急需解决的问题。神经节苷脂钠注射液是中枢神经损伤常用的治疗药物,其可穿透血脑屏障,促进患者的神经功能恢复^[10]。鼠神经生长因子是一种突触重建、神经损伤修复的药物,其对于脑出血、缺血缺氧脑病、外周神经损伤等疾病均有一定疗效^[11]。因此本文分析了鼠神经生长因子联合神经节苷脂钠注射液对癫痫大鼠认知功能、血清NSE及海马神经元的影响,以为临床中癫痫治疗选择有效的药物提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物

选择SD雄性大鼠50只,平均体重为 (190.89 ± 13.45) g。试验前一周在动物室适应性饲养一周,环境温度为 22°C ~ 25°C ,自然昼夜,分笼进行喂养,每笼5只,使用标准饲料进行喂养,换气通风,自由进食、饮水。定期打扫卫生,保持环境清洁、整洁。

1.2 试验试剂、药物与仪器

神经节苷脂钠注射液(国药准字:H20093980,规格:2 mL:20 mg)购自背景赛升药业股份有限公司,鼠神经生长因子(国药试字S20020116,规格:2000AU:4 μg)购自厦门北大之路生物工程有限公司,氯化锂购自国药集团化学试剂有限公司(规格:100 g),地西洋购自上海旭东海普药业公司(规格:2 mL/10 mg),毛果芸香碱购自上海迈瑞尔化学技术有限公司(规格:25 mg),酶联免疫吸附测定试剂盒购自上海酶科,Nissl染色试剂购自上海生工生物工程有限公司,总蛋白提取试剂盒购自Sigma公司,辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG二抗购自Abcam公司,总蛋白提取试剂盒购自Sigma公司,核因子 κ B p56抗体、TLR-4抗体、MyD88抗体均购自R&D公司。WMT-100水迷宫系统购自成都泰盟软件有限公司,RT-6500型酶标仪购自深圳雷杜公司,超低温冰箱购自SANYO公司,电泳仪购自Bio-Rad公司。

1.3 试验动物分组及模型制备

50只大鼠随机分为5组,包括空白组、模型组、A组(鼠神经生长因子组)、B组(神经节苷脂钠注射液组)、C组(鼠神经生长因子联合神经节苷脂钠注射液组)。

使用腹腔注射氯化锂-毛果芸香碱的方法建立癫痫大鼠模型^[12],模型组、A组、B组、C组先给予127 mg/kg氯化锂进行腹腔注射,在18~20 h后给予大鼠30 mg/kg毛果芸香碱进行腹腔注射,在毛果芸香碱注射前半30 min前给予1 mg/kg溴甲基东莨菪碱进行腹腔注射,以减轻大鼠的胆碱外周反应。在止毛果芸香碱注射后观察其行为表现,使用Racine分级标准判定癫痫发作的出现。其中0级Wi为正常状态,1级为大鼠的面部肌肉出现抽动痉挛,2级为1级症状+颈部肌肉痉挛,3级为2级症状+前肢痉挛,4级为3级症状+后肢站立,5级为4级症状+四肢抽动与身体向后跌倒。若大鼠的癫痫未发作或未达到4级,每个半小时给予10 mg/kg毛果芸香碱,直至大鼠出现癫痫状态。在癫痫发作直至4~5级同时持续半小时时,则为造模成功,在大鼠发作1 h后给大鼠腹腔注射10 mg/kg地西洋,以终止癫痫发作。

空白组大鼠腹腔注射等容量的生理盐水。

1.4 给药方式

大鼠造模成功后1 d,对于50只大鼠经腹腔注射400 mg/kg水合氯醛进行麻醉,之后将大鼠固定在大鼠立体定位仪上,之后将头皮切开将头骨暴露出来,注射靶点为右侧的海马CA3中心区,空白组、模型组大鼠用微量注射器注射20 μL 无菌生理盐水,每隔10 d注射1次,共注射3次;A组同时时间点给大鼠腹腔注射2000 AU/kg鼠神经生长因子;B组同时时间点给大鼠腹腔注射20 μL 神经节苷脂钠;C组给大鼠腹腔注射2000 AU/kg鼠神经生长因子联合20 μL 神经节苷脂钠。

1.5 观察指标

1.5.1 Morris水迷宫试验 在给药40 d时,对50只大鼠进行训练、测试,大鼠面朝池壁,之后随机从水迷宫4个象限进行入水点入水一次,每天4次,共训练5 d,记录50只大鼠的逃避潜伏期,若大鼠入会90 s内未能爬上平台或未能找到平台,将其置入平台站立10 s,之后让大鼠休息30 s~60 s,再次进行下次训练,记录每组第1、2、3、4、5 d时大鼠的游泳总距离、逃避潜伏期^[13]。

1.5.2 空间探索试验 在50只大鼠进行试验的第6天,行空间探索试验,测验每组大鼠对原有平台的记忆能力,待撤除平台后,将大鼠置入水中,记录大鼠在90 s中的平台穿越次数、探索有效时间比率^[14]。

1.5.3 血清NSE水平与海马组织的神经元检测 ^[15,16] 空间探索试验结束后,每组取5只大鼠,在腹腔注射400 mg/kg水合氯醛进行麻醉,解剖大鼠后经腹主动脉采血2 mL,离心并置于 -80°C 下保存,使用酶联免疫吸附法检测各组大鼠的NSE水平。在采集血标本后,开胸将大鼠暴露,使用 4°C 生理盐水冲洗

血液,之后灌注 4 %多聚甲醛磷酸缓冲盐,灌注 1 h 后将脑组织剥离,在 4 ℃多聚甲醛溶液中进行固定,时间为 72 h,之后经冠状面切为 3 段,取海马段进行石蜡包埋,切片,使用 Nissl 染色液在 37℃下进行染色,时间为 30 min,风干,二甲苯透明,用中性数胶进行封片,在显微镜下观察计数存活神经元数目。

1.5.4 海马组织中的核因子 kB p56、TLR-4、MyD88 蛋白水平检测^[17] 空间探索试验结束后,每组取剩余 5 只大鼠,用 1.5.3 方法取海马组织,使用免疫印迹法对海马组织中的核因子 kB p56、TLR-4、MyD88 蛋白水平进行检测。

1.6 统计学方法

SPSS23.0 软件, 计量资料 $\bar{x} \pm s$ 表示,t 检验、方差检验分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对比 5 组大鼠不同时间点的游泳总距离

模型组第 1、2、3、4、5 d 时的游泳总距离较其他四组高,空白组较 A 组、B 组、C 组高,B 组、A 组较 C 组高($P < 0.05$),B 组、A 组对比无差异($P > 0.05$)。

表 1 5 组大鼠不同时间的游泳总距离($\bar{x} \pm s$, cm)

Table 1 Total swimming distance of rats in 5 groups at different times($\bar{x} \pm s$, cm)

Groups	n	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5
Model group	10	960.67± 78.90	930.34± 79.43	900.34± 69.90	870.89± 63.43	840.09± 64.90
Blank group	10	638.98± 55.43	620.24± 48.90	600.34± 45.67	570.22± 59.89	530.77± 50.90
Group A	10	789.89± 68.99	743.66± 52.13	700.34± 51.23	670.67± 55.49	632.09± 51.23
Group B	10	791.09± 71.54	745.90± 49.00	704.23± 52.34	672.34± 53.09	634.00± 52.34
Group C	10	720.90± 75.23	700.09± 78.98	660.12± 73.22	640.89± 74.34	590.34± 69.09
F	-	28.308	332.330	35.920	32.862	40.129
P	-	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000

2.2 对比 5 组大鼠不同时间点的逃避潜伏期

模型组第 1、2、3、4、5 d 时的逃避潜伏期较空白组、A 组、B

组、C 组高, 空白组较 A 组、B 组、C 组高,B 组、A 组较 C 组高($P < 0.05$),B 组、A 组对比无差异($P > 0.05$)。

表 2 对比 5 组大鼠不同时间点的逃避潜伏期($\bar{x} \pm s$, s)

Table 2 The escape latency of 5 groups of rats at different time points was compared($\bar{x} \pm s$, s)

Groups	n	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5
Model group	10	63.09± 9.09	58.09± 8.43	54.09± 7.23	49.09± 6.44	45.23± 5.98
Blank group	10	42.09± 8.99	38.45± 6.45	33.89± 6.23	29.09± 5.43	25.34± 4.89
Group A	10	56.78± 7.88	50.23± 7.23	45.67± 7.23	40.00± 4.23	35.09± 3.78
Group B	10	55.99± 7.09	50.45± 7.56	45.00± 6.34	39.19± 3.09	34.78± 3.89
Group C	10	50.80± 6.54	46.23± 6.23	40.23± 5.98	35.09± 4.33	30.23± 3.09
F	-	9.925	9.809	12.720	22.946	27.502
P	-	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

2.3 对比 5 组的平台穿越次数、探索有效时间比率

模型组的平台穿越次数、探索有效时间比率较空白组、A 组、

B 组、C 组低, 空白组较 A 组、B 组、C 组低,B 组、A 组较 C 组低($P < 0.05$),B 组、A 组对比无差异($P > 0.05$)。

表 3 对比 5 组的平台穿越次数、探索有效时间比率($\bar{x} \pm s$)

Table 3 The Times of platform crossing and the effective time ratio of exploration were compared among the five groups($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	Number of platform crossings(Times)	Explore the effective time ratio(%)
Model group	10	3.67± 0.78	32.09± 7.89
Blank group	10	11.40± 2.56	52.98± 5.77
Group A	10	5.89± 1.45	40.99± 9.34
Group B	10	5.94± 1.54	40.02± 9.45
Group C	10	7.89± 1.99	46.99± 5.23
F	-	26.920	10.300
P	-	0.000	0.000

2.4 对比 5 组大鼠的血清 NSE 水平、海马组织中神经元存活率、核因子 kB p56、TLR-4、MyD88 蛋白水平

模型组的血清 NSE 水平、核因子 kB p56、TLR-4、MyD88 蛋白水平较空白组、A 组、B 组、C 组低, 海马组织中神经元存

活率较高,空白组较 A 组、B 组、C 组低,海马组织中神经元存活率较高,B 组、A 组较 C 组低,海马组织中神经元存活率较高 ($P<0.05$),B 组、A 组的 NSE 水平、海马组织中神经元存活率、核因子 kB p56、TLR-4、MyD88 蛋白水平对比无差异 ($P>0.05$)。

表 4 对比 5 组大鼠的血清 NSE 水平、海马组织中神经元存活率、核因子 kB p56、TLR-4、MyD88 蛋白水平($\bar{x} \pm s$)

Table 4 The levels of serum NSE, neuronal survival rate, nuclear factor kB P56, TLR-4 and MyD88 protein in hippocampus were compared among the 5

groups($\bar{x} \pm s$)						
Groups	n	Serum NSE($\mu\text{g/L}$)	Neuronal survival in the hippocampus	Nuclear factor kB P56 protein	TLR-4 protein	MyD88 protein
Model group	5	3.59 $\pm$ 0.78	15.23 $\pm$ 3.23	0.95 $\pm$ 0.18	1.07 $\pm$ 0.21	0.87 $\pm$ 0.19
Blank group	5	0.53 $\pm$ 0.09	69.80 $\pm$ 10.23	0.36 $\pm$ 0.09	0.47 $\pm$ 0.10	0.38 $\pm$ 0.07
Group A	5	2.19 $\pm$ 0.54	43.90 $\pm$ 9.89	0.70 $\pm$ 0.12	0.82 $\pm$ 0.14	0.64 $\pm$ 0.13
Group B	5	2.23 $\pm$ 0.41	44.34 $\pm$ 10.23	0.71 $\pm$ 0.14	0.84 $\pm$ 0.16	0.62 $\pm$ 0.15
Group C	5	1.57 $\pm$ 0.43	25.11 $\pm$ 9.89	0.53 $\pm$ 0.09	0.63 $\pm$ 0.11	0.48 $\pm$ 0.11
F	-	24.584	26.435	14.725	11.609	9.303
P	-	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

3 讨论

癫痫是一种常见的神经系统疾病,是根据癫痫病变神经元的放电扩散及病变神经元部位,临床会表现为感觉、运动、行为、意识、自主神经等障碍,每次发作称为癫痫发作,患者会存在一种或几种发作,期发作具有复发性、发作性、自行缓解等特点^[18-20]。虽然多数癫痫患者用药后疾病可得到有效控制,而仍存在一些患者治疗后疗效不佳的情况,不能有效的控制癫痫发作,目前不同国家、地区对癫痫的药物选择及疗效评价均有差异,难以形成统一共识^[21,22]。因此对于癫痫患者需选择有效的治疗药物,本文分析了鼠神经生长因子联合神经节苷脂钠注射液对癫痫大鼠认知功能、血清 NSE 及海马神经元的影响,以为临床上癫痫选择有效的治疗药物提供依据。

本文结果表明,模型组第 1、2、3、4、5 d 时的游泳总距离、逃避潜伏期明显较空白组、A 组、B 组、C 组高,空白组的游泳总距离、逃避潜伏期明显较 A 组、B 组、C 组高,B 组、A 组的游泳总距离、逃避潜伏期明显较 C 组高,平台穿越次数、探索有效时间比率明显较低,表明与单独应用鼠神经生长因子、神经节苷脂钠注射液相比,鼠神经生长因子联合神经节苷脂钠注射液可改善癫痫大鼠的认知功能,主要是由于癫痫发作时,大鼠细胞间隙的游离 Zn^{2+} 增多,会刺激 MT1/2 布偶两表达,引起谷氨酸能递质、锌转运蛋白、 γ -氨基丁酸受体及离子通道改变,会增加机体组织的兴奋性,诱发癫痫的发作,在机体的脑组织受损时,机体中的脑细胞会应激性的分泌出多种神经营养因子,从而对幸存神经元进行保护,修复受损的神经元,而机体自身分泌营养因子量不足,对于短期大量神经元损伤不能有效应对,因此及时给予足够的外源性神经因子,及时补充自身营养因子,以降低脑组织受损^[23,24]。鼠神经生长因子相对分子质量为 26500,其是小鼠颌下腺提取出的一种纯化生物活性蛋白,对于缺血性脑病、脑出血等脑疾病有重要作用,本文发现给予鼠神经生长因子后,也改善了癫痫大鼠的认知功能,与臧欢欢等研

究结果相似^[25]。神经节苷脂钠注射液是从猪脑中提取的神经保护生物制剂,可穿透血脑屏障,修复多种因素引起的中枢神经系统性损伤,因此联合鼠神经生长因子,协同改善了大鼠的认知功能^[26,27]。

本文结果表明,模型组的血清 NSE 水平、海马组织核因子 kB p56、TLR-4、MyD88 蛋白水平明显较空白组、A 组、B 组、C 组低,空白组的血清 NSE 水平、海马组织核因子 kB p56、TLR-4、 β 肌动蛋白水平明显较 A 组、B 组、C 组低,B 组、A 组的血清 NSE 水平、海马组织核因子 kB p56、TLR-4、MyD88 蛋白水平明显较鼠 C 组低,海马组织中神经元存活率明显较高,表明鼠神经生长因子联合神经节苷脂钠注射液改善癫痫大鼠的认知功能,可能与其可降低血清 NSE 及海马组织核因子 kB p56、TLR-4、MyD88 蛋白水平有关,主要是由于核因子 kB p56、TLR-4、MyD88 与癫痫发生、发展密切相关,其中 TLR-4 可结合 IL-1、脂多糖等因子,激活下游的信号分子^[28];核因子 kB p56 位于 TLR 通路小欧,与多种促炎因子表达密切相关,是一种重要的炎症因子调节因子,MyD88 是 TLR-4 介导信号通路的一种关键蛋白,其可使得核因子 kB p56 由胞质转移至胞核,可调控转录调,此外其也可促进炎症级联反应,加快癫痫进展^[29];NSE 是神经元特异性同工酶,多存在于脑神经元胞质中,在神经元坏死后,大脑血脑屏障的通透性会增加,使得 NSE 逸出,释放至血清中^[30],因此鼠神经生长因子联合神经节苷脂钠注射液改善癫痫大鼠的认知脑功能,可能与其可降低癫痫大鼠的血清 NSE 及海马组织核因子 kB p56、TLR-4、MyD88 蛋白有关。

总之,鼠神经生长因子联合神经节苷脂钠注射液可改善癫痫大鼠的认知功能,减轻海马组织炎症反应,可能与其可降低血清 NSE 及海马组织核因子 kB p56、TLR-4、MyD88 蛋白水平有关。

参考文献(References)

- [1] Khamse S, Haftcheshmeh S M, Sadr S S, et al. The potential neuroprotective roles of olive leaf extract in an epilepsy rat model

- induced by kainic acid[J]. *Res Pharm Sci*, 2021, 16(1): 48
- [2] Krylov V V, Rak V A, Tokarev A S, et al. Stereotactic Radiosurgery in the Complex Treatment of Patients With Epilepsy Associated With Various Structural Brain Lesions [J]. *Russ Sklif J Emerg Med Care*, 2021, 10(1): 73-82
- [3] Mala I, Masoud Z E, Hilde P, et al. Homozygous missense mutation in STYXL1 associated with moderate intellectual disability, epilepsy and behavioural complexities [J]. *Eur J Med Gene*, 2021, 58 (4): 205-210
- [4] Doran E, Barron E, Healy L, et al. Improving access to epilepsy care for homeless patients in the Dublin Inner City: A collaborative quality improvement project joining hospital and community care [J]. *BMJ Open Qual*, 2021, 10(2): e001367
- [5] Victor T R, Tsirka S E, Ma O. Microglial contributions to aberrant neurogenesis and pathophysiology of epilepsy [J]. *Neuroimmunol Neuroinflamm*, 2021, 7(5): 234-247
- [6] Wang Y, Wei P, Yan F, et al. Animal Models of Epilepsy: A Phenotype-oriented Review[J]. *Aging Dis*, 2022, 13(1): 215-231
- [7] 张天照. 左乙拉西坦和卡马西平治疗癫痫的临床研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2021, 37(8): 962-965
- [8] 樊玉香, 郭电渠, 王满利. 化风丹联合丙戊酸钠治疗癫痫的临床研究[J]. *现代药物与临床*, 2022, 37(5): 999-1003
- [9] 杨黎, 董宪喆, 张兰. 左乙拉西坦和苯妥英钠治疗儿童惊厥性癫痫持续状态疗效与安全性 meta 分析[J]. *临床儿科杂志*, 2021, 39(10): 782-787
- [10] Zhang H, Li C L, Wan F, et al. Efficacy of cattle encephalon glycoside and ignotin in patients with acute cerebral infarction: a randomized, double-blind, parallel-group, placebo-controlled study [J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15(7): 1266-1273
- [11] Yuan T, Onodera T, Terkawi M A, et al. Local Administration of Low-Dose Nerve Growth Factor Antibody Reduced Pain in a Rat Osteoarthritis Model[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(5): 1101-1105
- [12] Lu D, Ji Y, Sundaram P, et al. Alkaline brain pH shift in rodent lithium-pilocarpine model of epilepsy with chronic seizures[J]. *Brain Res*, 2021, 1758(5): 147345
- [13] Mam A, Ww A, Ls A, et al. Sex differences in the IntelliCage and the Morris water maze in the APP/PS1 mouse model of amyloidosis - ScienceDirect[J]. *Neurobiol Aging*, 2021, 101(5): 130-140
- [14] Wang W, Ma Y M, Jiang Z L, et al. Apoptosis antagonizing transcription factor is involved in rat posttraumatic epilepsy pathogenesis[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 21(4): 1792-1981
- [15] Liu Z, Li J, Yang F, et al. Sodium valproate combined with levetiracetam in pediatric epilepsy and its influence on NSE, IL6, hsCRP and electroencephalogram improvement [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20(3): 978-985
- [16] Qi Y, Cheng H, Wang Y, et al. Revealing the Precise Role of Calretinin Neurons in Epilepsy: We Are on the Way [J]. *Neurosci Bull*, 2022, 38(2): 209-222
- [17] Zhang X, Wan Y, Feng J, et al. Involvement of TLR2/4/MyD88/NF- κ B signaling pathway in the pathogenesis of intracranial aneurysm [J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(4): 1143-1146
- [18] Mala I, Masoud Z E, Hilde P, et al. Homozygous missense mutation in STYXL1 associated with moderate intellectual disability, epilepsy and behavioural complexities [J]. *Eur J Med Gene*, 2021, 58 (4): 205-210
- [19] Yang H, Zhang J, Yang C, et al. The long-term prognosis and predictors of epilepsy: a retrospective study in 820 patients [J]. *Acta Epileptol*, 2021, 13(1): 179-188
- [20] Elmali A D, Begley K, Chester H, et al. Evaluation of absences and myoclonic seizures in adults with genetic (idiopathic) generalized epilepsy: a comparison between self-evaluation and objective evaluation based on home video-EEG telemetry [J]. *Epileptic Disord*, 2021, 23(5): 719-732
- [21] Wang S, Miao J, Feng J. Case Report: Mitochondrial Encephalomyopathy Presents as Epilepsy, Ataxia, and Dystonia With a Rare Mutation in MT-TW[J]. *Front Neurol*, 2021, 12(5): 1052
- [22] Kumar A, Sharma R, Kharwas P, et al. Febrile infection-related epilepsy syndrome treated successfully with enteral lorazepam as a substitute for intravenous midazolam as weaning drug Case Report[J]. *J Ped Crit care*, 2021, 8(1): 978-981
- [23] Chilipweli P, Mang'Ara R, Munuo M. Factors Contributing to the Persistence of Epilepsy: A Consideration of Hotspot Area at Mahenge, in Morogoro Region, Tanzania [J]. *J Epilepsy*, 2021, 7(2): 2472-2895
- [24] Peterson AR, Garcia TA, Ford BD, et al. Regulation of NRG-1-ErbB4 signaling and neuroprotection by exogenous neuregulin-1 in a mouse model of epilepsy [J]. *Neurobiol Dis*, 2021, 161(8): 105545
- [25] 臧欢欢, 陈琅, 刘蕊, 等. 鼠神经生长因子对癫痫幼鼠脑保护作用的研究[J]. *临床儿科杂志*, 2014, (12): 1176-1180
- [26] 肖望重, 于慧, 龙琼, 等. 单唾液酸四己糖神经节苷脂钠注射液不良事件及其救护措施[J]. *安徽医药*, 2022, 26(3): 633-636
- [27] Puljko B, Stojanović M, Ilic K, et al. Start Me Up: How Can Surrounding Gangliosides Affect Sodium-Potassium ATPase Activity and Steer towards Pathological Ion Imbalance in Neurons [J]? *Biomedicine*, 2022, 10(7): 1518
- [28] Khatoon S, Agarwal N B, Samim M, et al. Neuroprotective Effect of Fisetin Through Suppression of IL-1R/TLR Axis and Apoptosis in Pentylentetrazole-Induced Kindling in Mice [J]. *Front Neurol*, 2021, 12(5): 689069
- [29] Mf A, Av B, Arc D, et al. Salmonid MyD88 is a key adapter protein that activates innate effector mechanisms through the TLR5M/TLR5S signaling pathway and protects against *Piscirickettsia salmonis* infection[J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2022, 121(5): 387-394
- [30] Levchuk L, Roshchina O V, Simutkin G G, et al. P.0007 Concentration of BDNF and NSE in blood serum of patients with alcohol use disorder with and without comorbid mood disorders[J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2021, 53(6): S5-S6