

三叉神经电刺激对慢性癫痫大鼠癫痫状态所致海马神经元损伤的保护作用观察

左健 贺慧艳 王倩倩 尹娜 谢成娟 王玉

【摘要】目的 观察经皮三叉神经电刺激对匹罗卡品诱发癫痫持续状态(SE)大鼠海马神经元的保护作用及对大鼠谷氨酸脱羧酶(GAD65/67)表达的影响。**方法** 通过匹罗卡品建立癫痫点燃模型(即慢性癫痫模型),采用随机数字表法将其分为治疗组及模型组,同时选取正常大鼠纳入空白对照组进行对照。治疗组及模型组大鼠于制模后分别给予三叉神经电刺激或假刺激持续1个月。于电刺激结束并再次诱发SE后6h、24h、48h及72h分别采用TUNNEL和Nissl染色观察各组大鼠SE后海马神经元原位凋亡及脱失情况;于电刺激结束后24h、72h、1周、2周及4周时分别采用免疫组化法检测各组大鼠GAD65/67表达情况。**结果** SE后24h、48h及72h治疗组海马区TUNNEL阳性细胞、Nissl受损细胞均较模型组显著减少($P < 0.05$),并以SE后72h治疗组减少幅度尤为显著($P < 0.05$)。电刺激结束后24h、72h、1周、2周及4周时治疗组GAD65/67表达均较模型组明显增强($P < 0.05$),治疗组GAD65于电刺激结束72h~1周时达到峰值,随后缓慢下降,于电刺激结束4周时接近正常水平。治疗组及模型组大鼠GAD67表达均未见明显峰值,治疗组GAD67表达至电刺激结束4周时仍显著强于模型组水平($P < 0.05$)。**结论** 经皮三叉神经电刺激治疗对癫痫大鼠海马神经细胞具有保护作用,增强脑内抑制功能可能是其发挥脑保护及抗癫痫作用机制之一。

【关键词】 癫痫; 经皮三叉神经电刺激; 神经保护; 谷氨酸脱羧酶

The neuroprotective effect of electrical stimulation in chronic epilepsy Zuo Jian, He Huiyan, Wang Qianqian, Yin Na*, Xie Chengjuan, Wang Yu. *Department of Neurology, The First Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022, China

Corresponding author: Wang Yu, Email: yw4d@hotmail.com

【Abstract】 Objective To study any protection against hippocampal neuron damage induced by epilepsy (SE) provided by transcutaneous stimulation (TNS) of the trigeminal nerve and to document any effect of such stimulation on the expression of glutamic acid decarboxylase (GAD) 65/67. **Methods** Pilocarpine injection was used to induce epilepsy in healthy male Sprague-Dawley rats which were then randomly divided into a treatment group and a model group. Rats which had not received the pilocarpine injection served as normal controls. In the treatment group the rats were given electrostimulation for one month after the first spontaneous seizure following the injection of pilocarpine. In the model group they were given sham TNS for one month. After the month of stimulation, immunohistochemistry was used to detect the expression of GAD65/67 in the hippocampus. Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) assays and Nissl staining were applied to determine apoptosis and neuron loss in the hippocampus. **Results** Significantly less apoptosis was observed in the treatment group than in model group at 24 h, 48 h and 72 h post-injection. Compared to the model group, average GAD65/67 expression had increased significantly in the treatment group at 24 h, 72 h, 1 week, 2 weeks and 4 weeks post-stimulation. GAD65 expression reached its peak from 72 h to 1 week post-stimulation, then decreased to the level of the control group by 4 weeks post-stimulation. The expression of GAD67 remained elevated at all the time points employed. **Conclusions** TNS can significantly protect hippocampal neurons from damage in epilepsy, at least in rats. The underlying anti-epileptic and neuroprotective mechanisms may involve increased inhibitory transmission induced by the stimulation.

【Key words】 Epilepsy; Transcutaneous electrical stimulation; Trigeminal nerve; Neuroprotection; Glutamic acid decarboxylase 65/67

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2014.04.003

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81271444);安徽省战略性新兴产业科技攻关项目(11010402168)

作者单位:230022 合肥,安徽医科大学第一附属医院神经内科(左健、贺慧艳、王倩倩、尹娜、谢成娟、王玉);安徽医科大学解放军临床学院/解放军第105医院神经内科(王倩倩);淮北职业技术学院医学系(尹娜)

通信作者:王玉,Email: yw4d@hotmail.com

癫痫是由于大脑神经元异常放电而引起的一种神经系统常见疾病,尽管新一代抗癫痫药及外科手术能使大部分癫痫患者病情得到控制,但仍有 20%~30% 难治性癫痫患者对药物及手术治疗反应欠佳^[1],因此探寻新的、有效的癫痫治疗方法具有重要临床意义。近年来迷走神经刺激(vagus nerve stimulation, VNS)和脑深部电刺激(deep brain stimulation, DBS)等神经调控手段在癫痫治疗中的作用倍受关注,但上述方法费用昂贵且具有侵入性,在临床实际应用时具有一定局限。经皮三叉神经电刺激是近年来兴起的一种神经调节治疗手段,有初步临床及基础研究均证实该疗法对癫痫具有治疗作用^[2-4]。本研究前期实验证实了在实验性癫痫诱发前给予经皮三叉神经电刺激预处理可增高谷氨酸脱羧酶(glutamic acid decarboxylase, GAD)含量而发挥抗癫痫功效^[5]。本研究将进一步观察经皮三叉神经电刺激对慢性癫痫模型大鼠癫痫持续状态(status epileptic, SE)所致脑损伤的保护作用及对 GAD 表达的影响,旨在探讨经皮三叉神经电刺激治疗癫痫的作用机制。

材料与方法

一、主要实验材料

选取健康成年雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 117 只,体重 180~220 g,普通级,由安徽医科大学实验室提供,将其置于安静、避强光、自由摄食的室温环境下饲养 1 周;匹罗卡品及东莨菪碱均购于美国 Sigma 公司;KD-2A 型经皮电刺激仪购于北京博洋生物器械有限公司;GAD65/67 抗体(BA0603)购于北京中杉生物技术有限公司;TUNNEL 凋亡试剂盒(KGA7022)购于南京凯基公司。

二、动物制模

随机选取 108 只大鼠按每千克体重 1 mg 皮下注射东莨菪碱,0.5 h 后按每千克体重 350 mg 腹腔注射匹罗卡品或补充注射匹罗卡品直至 SE 形成。另取 9 只大鼠腹腔注射等量生理盐水作为空白对照组。根据 Racine 5 级评价标准观察大鼠行为学变化,Ⅰ级:出现面部抽搐、鼻毛抽动、前爪抓耳及咀嚼动作;Ⅱ级:出现点头运动,一侧前肢阵挛;Ⅲ级:出现肢体阵挛及轻微身体抽搐;Ⅳ级:出现肢体阵挛、甩尾、牙关紧闭、全身抽搐等表现;Ⅴ级:全身阵挛,失去平衡跌倒并伴有全身僵直。Ⅲ级或Ⅲ级以上行为重复出现者界定为 SE 发作^[6-7]。

三、分组及处理

采用随机数字表法将制模成功大鼠分为治疗组及模型组,每组 54 只。治疗组大鼠给予经皮三叉神经电刺激,大鼠首先按每千克体重 350 mg 腹腔注射水合氯

醛麻醉后以俯卧位固定,将 2 个膜式电极对称置于大鼠三叉神经眼支分布区域(眼眶上方约 1 cm、中内 1/3 处),待电极固定后接通 KD-2A 型经皮电刺激仪。调节电刺激参数:电刺激频率为 140 Hz,电流强度为 10 mA,脉宽 0.5 ms,正向脉冲刺激 30 s,间歇 5 min,每天连续刺激 2 h。模型组大鼠于相同时间段固定后给予假刺激,其各项电刺激参数均为 0。2 组大鼠实验操作均固定安排在每天 8:00-12:00 期间进行^[5]。

四、标本制备

治疗组及模型组大鼠分别经干预 1 个月后,采用匹罗卡品再次诱发 1 次 SE,且 30 min 后按每千克体重 10 mg 腹腔注射地西洋终止 SE。分别于 SE 后 6 h、24 h、48 h 及 72 h 时各取 6 只大鼠按每千克体重 3.5 ml 腹腔注射水合氯醛(10%)麻醉,开胸暴露心脏,采用 12 号穿刺针刺入左心室尖部,剪开右心耳,快速滴注生理盐水 250 ml,待观察到从右心耳流出的液体变清亮后,继续灌注 250 ml 多聚甲醛磷酸盐缓冲液(pH = 7.4),完毕后立即断头取脑。根据大鼠立体定位图谱取含海马结构的厚脑块(冠状切面)用多聚甲醛液固定。标本经充分水洗过夜后,逐级行乙醇脱水二甲苯透明,经石蜡包埋后进行 TUNNEL 染色及 Nissl 染色。空白对照组于上述时间点各取 1 只大鼠断头取脑,取材部位及取材方法同上。

五、TUNNEL 染色

各组切片脱蜡至水加入 3% 过氧化氢室温封闭 15 min,经磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)清洗后采用蛋白酶 K 消化(37℃)40 min;然后加入末端脱氧核糖核苷酸转移酶(terminal deoxynucleotidyl transferase, TDT)反应液(37℃)作用 1 h,再加入转换液(37℃)作用 30 min,清洗后进行二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)显色 3 min,待显色满意后终止反应。TUNNEL 染色后凋亡细胞呈棕黄色或黄色,阴性细胞核为蓝色。每只大鼠取 5 张非连续等距离间隔海马脑片进行分析,每片随机取 5 个高倍镜(×400)视野观察大鼠海马 CA3 区 TUNNEL 阳性细胞表达情况。

六、Nissl 染色

各组切片脱蜡至水,经 1% 甲苯胺蓝室温下反应 6 min,取出后用蒸馏水冲洗除去浮色,再经 70% 酒精冲洗 2 min,90% 酒精冲洗 3~5 min 后开始分色,于显微镜下观察分色程度,待观察到胞核呈浅蓝色、而背景基本无色后,用 100% 酒精浸泡 3 次,每次 1 min,加入二甲苯透明 5 min,中性树胶封片,将标本置于显微镜下观察 CA1 与 CA3 区 Nissl 染色情况。每只大鼠取 5 张非连续等距离间隔海马脑片进行分析,每片随机取 5 个高倍镜(×400)视野观察大鼠海马 CA3 区 Nissl 染色情况。

七、GAD65 和 GAD67 免疫组化检测

治疗组、模型组于最后 1 次电刺激结束 24 h、72 h、1 周、2 周及 4 周时分别取 6 只大鼠进行 GAD65、GAD67 免疫组化检测,空白对照组亦于上述时间点各取 1 只大鼠进行 GAD65、GAD67 免疫组化检测,具体取材部位及取材方法同上。各组大鼠石蜡切片脱蜡至水,按照 SABC 常规方法进行 GAD65/67 阳性神经细胞免疫组化染色,GAD65/67 阳性细胞呈红棕色。采用 PBS 代替一抗作为阴性细胞对照,选用 IPP6.0 版图像分析系统对各组大鼠脑片 GAD65/67 平均光密度值进行分析。

八、统计学分析

本研究所得计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 SPSS 16.0 版统计学软件包进行数据处理,多样本间均数比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、各组大鼠海马 TUNNEL 染色结果比较

SE 后各时间点治疗组及模型组均可见 TUNNEL 阳性细胞,主要分布在海马 CA1 及 CA3 区,细胞呈棕黄色,核固缩呈圆形或不规则形;高倍镜下可见染色质深染聚集或成块、核边聚等,符合凋亡细胞形态特征(图 1)。其中 SE 后 6 h 治疗组与模型组 TUNNEL 染色结果组间差异无统计学意义($P > 0.05$);SE 后 24 h、48 h 及 72 h 治疗组 CA3 区 TUNNEL 阳性细胞均较模型组显著减少($P < 0.05$),以 SE 后 72 h 治疗组减少幅度尤为显著($P < 0.05$),具体情况见图 1、表 1。空白对照组可见少量 TUNNEL 阳性细胞。

二、各组大鼠海马 Nissl 染色结果比较

通过观察各组大鼠 Nissl 染色结果发现,空白对照

组海马 CA1 及 CA3 区神经元细胞排列整齐、紧密,未见明显神经元缺失,细胞核呈圆形或椭圆形,胞浆内尼氏小体丰富。模型组各时间点均可见不同程度神经元丢失,部分神经元胞体皱缩、胞浆深染、核固缩,锥体细胞存活数量较空白对照组减少,尤以 SE 后 72 h 模型组减少幅度较明显($P < 0.05$),具体情况见图 1。治疗组大鼠各时间点海马 CA1 及 CA3 区神经元细胞尚清晰、完整,部分细胞出现染色质凝集,神经元丢失情况较模型组明显减轻,其 Nissl 染色细胞数量显著多于模型组($P < 0.05$),具体数据见表 1。

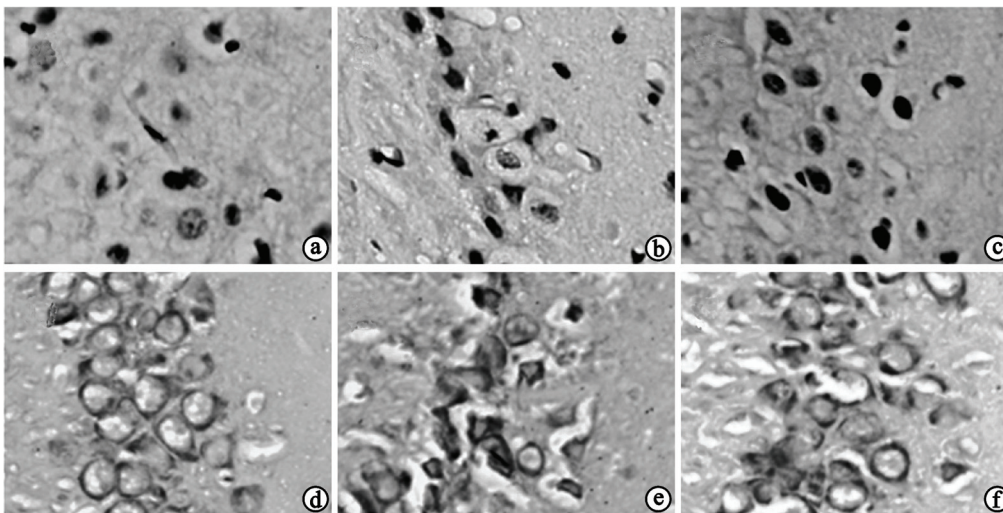
表 1 各组大鼠海马 CA3 区 TUNNEL 阳性细胞及 Nissl 阳性细胞表达情况比较(个/每高倍镜视野, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	TUNNEL 阳性细胞数	Nissl 阳性细胞数
空白对照组	4	3.86 ± 0.43	128.86 ± 7.43
治疗组			
SE 后 6 h	6	8.54 ± 2.12	102.84 ± 7.36
SE 后 24 h	6	10.56 ± 1.92 ^a	88.73 ± 5.76 ^a
SE 后 48 h	6	34.85 ± 5.67 ^a	85.57 ± 6.82 ^a
SE 后 72 h	6	36.79 ± 4.54 ^a	78.06 ± 5.09 ^a
模型组			
SE 后 6 h	6	9.67 ± 3.12	98.41 ± 8.35
SE 后 24 h	6	19.24 ± 3.76	57.38 ± 3.98
SE 后 48 h	6	46.28 ± 4.47	46.28 ± 4.47
SE 后 72 h	6	55.68 ± 6.52	35.26 ± 3.05

注:与模型组相同时间点比较,^a $P < 0.05$

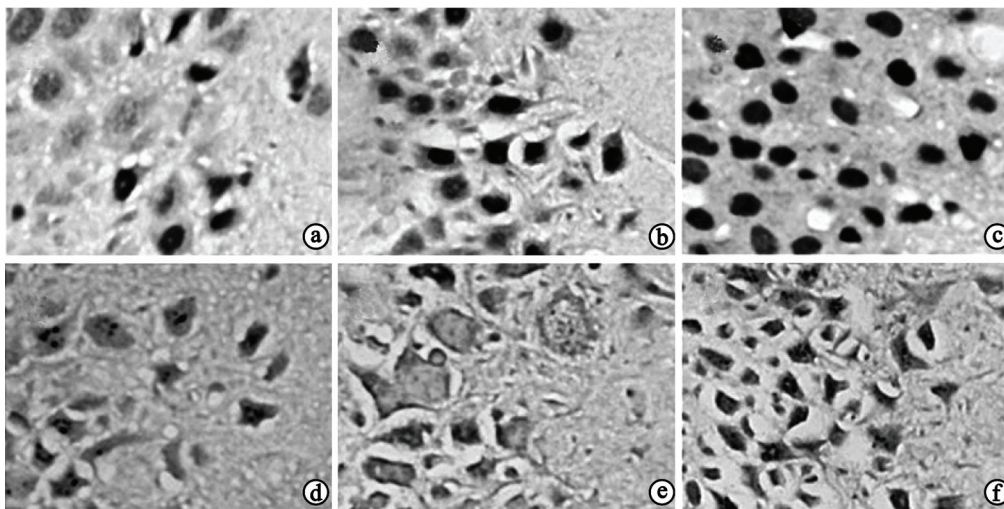
三、各组大鼠 GAD65 阳性细胞表达情况比较

治疗组、模型组大鼠海马及脑皮质区均有 GAD65 阳性细胞表达,以海马 CA3 区阳性表达情况较显著,阳性细胞呈现棕红色颗粒,且主要在细胞核中表达(图 2);电刺激后各时间点发现治疗组 GAD65 阳性细胞表达均显著强于模型组($P < 0.05$),并且治疗组 GAD65 阳性表达于停止电刺激后 72 h ~ 7 d 期间达到高峰,与



注: a, b, c 分别为空白对照组、模型组及治疗组 SE 后 72 h TUNNEL 染色,可见治疗组 TUNNEL 凋亡细胞较模型组明显减少;d, e, f 分别为空白对照组、模型组及治疗组 SE 后 72 h Nissl 染色,可见模型组及治疗组均有不同程度神经元丢失,且以模型组神经元丢失现象较严重

图 1 SE 后 72 h 各组大鼠海马 CA3 区 TUNNEL 及 Nissl 染色情况比较(×400)



注: a, b, c 分别为空白对照组、模型组及治疗组大鼠海马 CA3 区 GAD65 阳性表达, 可见治疗组大鼠 GAD65 阳性细胞较模型组及空白对照组均显著增多; d, e, f 分别为空白对照组、模型组及治疗组大鼠海马 CA3 区 GAD67 阳性表达, 可见治疗组 GAD67 阳性细胞较模型组及空白对照组均显著增多

图 2 停止电刺激后 72 h 各组大鼠海马 CA3 区 GAD65、GAD67 阳性表达情况比较(免疫组化染色, ×400)

模型组间差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 随后治疗组 GAD65 阳性表达缓慢下降, 至 28 d 时接近正常水平, 具体数据见表 2。

表 2 各组大鼠海马 CA3 区 GAD65/67 平均光密度值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	GAD65 平均光密度值	GAD67 平均光密度值
空白正常组	5	0.15 ± 0.02	0.16 ± 0.02
治疗组			
停止电刺激后 24 h	6	0.29 ± 0.02 ^a	0.46 ± 0.05 ^a
停止电刺激后 72 h	6	0.42 ± 0.03 ^a	0.55 ± 0.03 ^a
停止电刺激后 1 周	6	0.53 ± 0.04 ^a	0.36 ± 0.03 ^a
停止电刺激后 2 周	6	0.25 ± 0.02 ^a	0.27 ± 0.02 ^a
停止电刺激后 4 周	6	0.16 ± 0.03	0.20 ± 0.03 ^a
模型组			
停止电刺激后 24 h	6	0.19 ± 0.03	0.18 ± 0.01
停止电刺激后 72 h	6	0.20 ± 0.02	0.21 ± 0.02
停止电刺激后 1 周	6	0.24 ± 0.04	0.19 ± 0.02
停止电刺激后 2 周	6	0.13 ± 0.02	0.15 ± 0.04
停止电刺激后 4 周	6	0.14 ± 0.03	0.12 ± 0.02

注: 与模型组相同时间点比较, ^a $P < 0.05$

四、各组大鼠 GAD67 阳性细胞表达情况比较

治疗组、空白对照组大鼠海马及脑皮质区均可见 GAD67 阳性细胞表达, 以海马 CA3 区及齿状回区表达情况尤为显著, GAD67 阳性颗粒主要位于细胞浆内 (图 2); 与模型组各时间点比较, 治疗组 GAD67 阳性细胞表达均明显增强 ($P < 0.05$)。通过组内比较发现, 治疗组及模型组大鼠 GAD67 表达均无明显时间变化趋势, 至停止电刺激后 28 d 时, 发现治疗组 GAD67 阳性细胞表达仍显著强于模型组水平 ($P < 0.05$), 具体数据见表 2。

讨 论

癫痫作为一种慢性进展性疾病, 其反复发作容易造成脑神经元死亡。海马是中枢神经系统内容易发生

癫痫尤其是颞叶癫痫损伤的敏感区域之一, 如海马 CA1 和 CA3 区神经元脱失是癫痫患者或癫痫模型动物的共同病理特征之一^[8]。海马神经细胞脱失不仅造成癫痫患者认知功能障碍, 还可能与慢性癫痫发作易感性形成密切相关, 因此研究癫痫所致神经元死亡及其保护措施具有重要临床意义^[9]。SE 后神经元死亡包括凋亡与坏死两种形式, 本研究显示慢性癫痫大鼠经匹罗卡品诱发 SE 后其细胞凋亡在致痫 72 h 时达到高峰, 与本研究既往观察结果一致^[6], 并且与进一步的 Nissl 染色结果相吻合。本研究还同时发现, 对慢性癫痫大鼠给予长期 (1 个月) 三叉神经电刺激, 能显著减少大鼠海马 CA3 区神经元脱失。相关动物研究发现, 海马 (特别是 CA3 区) 损伤与癫痫自发发作频率具有密切联系^[10-11]。近年来有报道指出, 敲除某些促凋亡蛋白基因能明显抑制癫痫动物癫痫发作, 反之敲除某些抑凋亡蛋白基因则明显提高癫痫动物癫痫发作频次^[12]。据此本研究推测长期三叉神经电刺激可能通过减少海马 CA3 区神经元脱失、抑制神经细胞凋亡从而发挥抗癫痫疗效。

脑内兴奋性及抑制性传导失衡被认为是重要的癫痫发病机制。大鼠 SE 后在向慢性癫痫发展过程中, 早期抑制性突触功能因神经元凋亡而明显下调, 容易向脑兴奋性增高的慢性癫痫发展, 而后期由于自身稳态调节机制其抑制性突触功能有一定程度上调, 但尚不足以抑制癫痫自发性反复发作^[13]。与上述研究结果一致, 本实验发现慢性癫痫大鼠海马 CA3 区抑制性神经递质 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 合成关键酶-GAD65/67 表达均有轻微上调; 而给予三叉神经电刺激的治疗组其 GAD65/67 表达均明显高于模型组, 且这种优势一直持续到停止电刺激后第 4 周时。结合相关文献分析, GAD65 能作为 GABA 能神经元活性增强阶段的补充, 而 GAD67 在 GABA 能神经元

紧张性活动中发挥重要作用^[14],提示二者均在脑内抑制性机制中具有重要地位,但作用途径各不相同。上述结果也进一步说明脑内抑制性机制增强可能是三叉神经电刺激抗癫痫作用机制之一。目前有关三叉神经电刺激抗癫痫的确切机制仍未阐明,有学者推测三叉神经电刺激治疗癫痫的机制可能与迷走神经刺激抗癫痫机制类似,均强调孤束核及蓝斑核在其中的作用,因为三叉神经传入纤维有部分分支终止于孤束核及蓝斑核^[14]。有研究表明三叉神经电刺激可激活躯体感觉皮质与岛叶皮质广泛区域^[15],因此推测长期三叉神经电刺激能促使皮质长时间激活并诱发皮质产生一系列兴奋性及适应性改变,从而提高脑皮质兴奋性阈值。这与培养脑片给予 N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl-D-aspartic acid, NMDA)受体阻断剂慢性阻断神经元电活动后,反而更容易记录癫痫样放电结果相吻合^[16-17]。据此本研究推测三叉神经电刺激能在一定程度上促使大脑神经元兴奋性提高,从而激发大脑自身稳态调节机制,有助于长时间增强抑制性传导功能^[18-19]。正如本研究结果所示;治疗组大鼠 GAD65/67 表达有较长时间增强,尤其是在 GABA 能神经元紧张性活动中发挥重要作用的 GAD67 含量的长时间增高,能抑制神经元过度兴奋,从而起到保护神经元及抗癫痫作用。

综上所述,本研究结果表明,三叉神经电刺激可显著减少癫痫大鼠海马区神经细胞凋亡及坏死,从而发挥脑保护作用;而脑内抑制功能增强可能是其发挥抗癫痫及脑保护作用的重要机制之一,提示经皮三叉神经电刺激在癫痫治疗方面具有广阔的应用前景,但是其理论及机制研究目前仍处于初级阶段,有待日后更深入、细致探讨。

参 考 文 献

- [1] Schuele SU, Luders HO. Intractable epilepsy: management and therapeutic alternatives[J]. *Lancet Neurol*, 2008, 7(6): 514-524.
- [2] DeGiorgio CM, Fanselow EE, Schrader LM, et al. Trigeminal nerve stimulation: seminal animal and human studies for epilepsy and depression[J]. *Neurosurg Clin N Am*, 2011, 22(4): 449-456.
- [3] DeGiorgio CM, Shewmon A, Murray D, et al. Pilot study of trigeminal nerve stimulation(TNS) for epilepsy: a proof-of-concept trial[J]. *Epilepsia*, 2006, 47(7): 1213-1215.
- [4] DeGiorgio CM, Murray D, Markovic D, et al. Trigeminal nerve stimulation for epilepsy: long-term feasibility and efficacy [J]. *Neurology*, 2009, 72(10): 936-938.
- [5] 张慧敏, 李良勇, 李家林, 等. 经皮三叉神经电刺激预处理对戊四氮致痫大鼠海马谷氨酸脱羧酶表达的影响[J]. *安徽医科大学学报*, 2011, 46(8): 732-736.
- [6] Li LY, Li JL, Zhang HM, et al. TGFBeta1 treatment reduces hippocampal damage, spontaneous recurrent seizures, and learning memory deficits in pilocarpine-treated rats[J]. *Mol Neurosci*, 2013, 50(1): 109-123.
- [7] Wang Y, Liu PP, Li LY, et al. Hypothermia reduces brain edema, spontaneous recurrent seizure attack, and learning memory deficits in the kainic acid treated rats[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2011, 17(5): 271-280.
- [8] Thom M, Eriksson S, Martinian L, et al. Temporal lobe sclerosis associated with hippocampal sclerosis in temporal lobe epilepsy: neuropathological features[J]. *Neuropathol Exp Neurol*, 2009, 68(8): 928-938.
- [9] Acharya MM, Hattiangady B, Shetty AK. Progress in neuroprotective strategies for preventing epilepsy[J]. *Prog Neurobiol*, 2008, 84(4): 363-404.
- [10] Biagini G, Baldelli E, Longo D, et al. Proepileptic influence of a focal vascular lesion affecting entorhinal cortex-CA3 connections after status epilepticus[J]. *Neuropathol Exp Neurol*, 2008, 67(7): 687-701.
- [11] Jimenez-Mateos EM, Hatazaki S, Johnson MB, et al. Hippocampal transcriptome after status epilepticus in mice rendered seizure damage-tolerant by epileptic preconditioning features suppressed calcium and neuronal excitability pathways [J]. *Neurobiol Dis*, 2008, 32(3): 442-453.
- [12] Engel T, Murphy BM, Hatazaki S, et al. Reduced hippocampal damage and epileptic seizures after status epilepticus in mice lacking proapoptotic Puma[J]. *FASEB J*, 2010, 24(3): 853-861.
- [13] Thind KK, Yamawaki R, Phanwar I, et al. Initial loss but later excess of GABAergic synapses with dentate granule cells in a rat model of temporal lobe epilepsy[J]. *Comp Neurol*, 2010, 518(5): 647-667.
- [14] Fanselow EE. Central mechanisms of cranial nerve stimulation for epilepsy[J]. *Surg Neurol Int*, 2012, 3(4): s247-s254.
- [15] Lotsch J, Walter C, Felden L, et al. The human operculo-insular cortex is pain-preferentially but not pain-exclusively activated by trigeminal and olfactory stimuli[J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e34798.
- [16] Wang XM, Bausch SB. Effects of distinct classes of N-methyl-D-aspartate receptor antagonists on seizures, axonal sprouting and neuronal loss in vitro: suppression by NR2B-selective antagonists[J]. *Neuropharmacology*, 2004, 47(7): 1008-1020.
- [17] He S, Shao LR, Wang Y, et al. Synaptic and extrasynaptic plasticity in glutamatergic circuits involving dentate granule cells following chronic N-methyl-D-aspartate receptor inhibition[J]. *Neurophysiology*, 2013, 109(6): 1535-1547.
- [18] Hartman KN, Pal SK, Burrone J, et al. Activity-dependent regulation of inhibitory synaptic transmission in hippocampal neurons[J]. *Nat Neurosci*, 2013, 33(39): 15488-15503.
- [19] Bartley AF, Huang ZJ, Huber KM, et al. Differential activity-dependent, homeostatic plasticity of two neocortical inhibitory circuits[J]. *Neurophysiology*, 2008, 100(4): 1983-1994.

(修回日期:2014-02-18)
(本文编辑:易 浩)