

尹明姬,池永学,李今子. 拉莫三嗪对慢性癫痫大鼠海马 PGP、MVP 表达及氨基酸含量的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(9): 49-54.

Yin MJ, Chi YX, Li JZ. Effects of lamotrigine on hippocampal expression of P-glycoprotein, major vault protein, and amino acids in rats with chronic epilepsy [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(9): 49-54.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019.09.007

拉莫三嗪对慢性癫痫大鼠海马 PGP、MVP 表达及氨基酸含量的影响

尹明姬,池永学,李今子*

(延边大学附属医院 吉林 延吉 133002)

【摘要】 目的 考察拉莫三嗪对慢性癫痫大鼠海马 P 糖蛋白 (P-glycoprotein protein, PGP) 和主穹隆蛋白 (major vault protein, MVP) 的表达及氨基酸含量的影响。方法 SPF 级雄性 SD 大鼠采用戊四氮制备慢性癫痫大鼠并随机分为模型组、拉莫三嗪低剂量 (5 mg/kg) 组和拉莫三嗪高剂量 (10 mg/kg) 组,取健康大鼠为对照组,每组 15 只,所有组别灌胃给药,模型组和对照组灌胃给予生理盐水,给药体积均为 1 mL/100 g。记录所有大鼠治疗前及治疗后的行为学特征及体质量,记录治疗后的癫痫发作时间和脑电波,免疫组化法及 Western blot 法检测海马中的 PGP 和 MVP 表达,由 HPLC 检测海马中天冬氨酸 (aspartate, Asp)、谷氨酸 (glutamate, Glu) 和甘氨酸 (glycine, Gly) 含量。结果 对照组大鼠活动正常。慢性癫痫模型组大鼠表现为活动减少、咀嚼、节律性点头,头颈上仰、前肢阵挛发作,少数大鼠竖尾或尾拍地面。拉莫三嗪组大鼠由早期的头颈上仰、前肢阵挛发作逐渐过渡到竖毛及嘴和面部肌肉抽搐,少见竖尾或尾拍地的情况。治疗前,与对照组比,模型组及拉莫三嗪组的体质量均明显降低 ($P < 0.05$),治疗后,与对照组比,模型组体质量、脑电图频率、海马的 Gly 明显降低 ($P < 0.05$),癫痫发作时间、脑电图波幅、海马的 Asp、Glu、PGP 和 MVP 增高 ($P < 0.05$),与模型组比,拉莫三嗪组的体质量、脑电图频率、海马的 Gly 明显升高 ($P < 0.05$),癫痫发作时间、脑电图波幅、海马的 Asp、Glu、PGP 和 MVP 降低 ($P < 0.05$),且呈拉莫三嗪剂量依赖性趋势。结论 拉莫三嗪治疗慢性癫痫与降低海马 PGP、MVP 蛋白及改善海马氨基酸相关。

【关键词】 拉莫三嗪;慢性癫痫;海马;P 糖蛋白;主穹隆蛋白;氨基酸

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 09-0049-06

Effects of lamotrigine on hippocampal expression of P-glycoprotein, major vault protein, and amino acids in rats with chronic epilepsy

YIN Mingji, CHI Yongxue, LI Jinzi*

(The Affiliated Hospital of Yanbian University, Yanji 133002, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the effects of lamotrigine on P-glycoprotein (PGP) and major vault protein (MVP) expression, and amino acid contents in the hippocampus of rats with chronic epilepsy. **Methods** Specific pathogen-free male Sprague-Dawley rats were used as model, low-dose lamotrigine (5 mg/kg), and high-dose lamotrigine (10 mg/kg) groups. In addition, healthy rats ($n = 15$) were used as a control group. All groups were intragastrically administered the drug for 25 days. Rats in the model and control groups were administered normal saline at a dose of 1 mL/

【基金项目】 中央财政支持地方高校发展专项 (吉财教指【2016】566 号);吉林省卫生厅 (2017J097)。

【作者简介】 尹明姬 (1985),女,硕士,住院医师,主要研究方向:小儿神经系统。E-mail: mingji36@163.com

【通信作者】 李今子 (1963),女,博士研究生,主任医师,主要研究方向:小儿神经系统。E-mail: yjzli329@163.com

100 g. Behavioral characteristics and body mass of all rats before and after treatment were recorded. Seizure duration and brain waves after treatment were also recorded. PGP and MVP were detected in the hippocampi by immunohistochemistry and western blot. Aspartate (Asp), glutamate (Glu), and glycine (Gly) contents in hippocampi were detected by high-performance liquid chromatography. **Results** Rats in the control group showed normal behaviors, while chronic epilepsy model group rats exhibited reduced activity, chewing, rhythmic nodding, upward motions of the head and neck, and forelimb clonic seizures; moreover, a few rats exhibited a vertical tail or tail shot. Rats in the two lamotrigine-treated groups gradually transitioned from early upward motions of the head and neck, and forelimb clonic seizures to piloerection of the hair and mouth and facial muscles, with rare vertical tails or tail shots. Before treatment, body weights of the model group and two lamotrigine-treated groups were significantly decreased compared with the control group ($P < 0.05$). After treatment, body mass, electroencephalogram frequency, and Gly contents in the hippocampus were significantly decreased ($P < 0.05$) in the lamotrigine-treated groups compared with the control group; whereas seizure duration, electroencephalogram amplitude, and hippocampal contents of Asp, Glu, PGP, and MVP were increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, body mass, electroencephalogram frequency, and Gly contents in the hippocampus were significantly increased ($P < 0.05$); whereas seizure duration, electroencephalogram amplitude, and hippocampal contents of Asp, Glu, PGP, and MVP were significantly decreased ($P < 0.05$) in the two lamotrigine-treated groups in a dose-dependent manner. **Conclusions** Lamotrigine can be used to treat chronic epilepsy by reducing PGP and MVP, and improving amino acid levels in the hippocampus.

【Keywords】 lamotrigine; chronic epilepsy; hippocampus; P-glycoprotein protein (PGP); major vault protein (MVP); amino acid

癫痫(epilepsy)是一种反复出现癫痫发作的慢性疾病。临床超过 30% 的患者存在不同程度地耐药,是慢性癫痫治疗的难点,甚至治疗失败^[1-3]。越来越多的多药耐药基因在慢性癫痫的研究受到关注,P 糖蛋白(P-glycoprotein protein, PGP)和主要穹窿蛋白(major vault protein, MVP)是耐药基因相关蛋白,尸检报告显示,存在耐药的慢性癫痫患者脑内海马区 PGP 和 MVP 表达的阳性细胞比邻近的正常脑组织及正常尸检标本表达均高,提示 PGP 和 MVP 在慢性癫痫耐药中发挥重要作用^[4-5],另外氨基酸在慢性癫痫病变中也扮演重要角色。拉莫三嗪(lamotrigine, LTG)广泛用于耐药慢性癫痫的治疗^[6],但拉莫三嗪对慢性癫痫脑内的 PGP 和 MVP 及氨基酸表达的影响鲜有报道,因此本课题拟采用戊四氮制备与人慢性癫痫病变高度相似的慢性癫痫大鼠模型,同时分析拉莫三嗪对慢性癫痫治疗的可能机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 50 只,4~5 周龄,体质量 250~300 g,购自延边大学[SCXK(吉)2017-0003],在延边大学动物饲养中心[SYXK(吉)2015-0007]饲养大鼠,并在该中心进行实验研究,饲养室温度为 20℃~25℃,相对湿度 50%~65%,所有

大鼠适应性饲养 7 d 后再行实验。动物使用伦理审批号:IACUC20170001,本研究符合动物实验的 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

拉莫三嗪片(Glaxo Smith Kline Pharmaceuticals S.A,规格:50 mg/片,国药准字:H20110023,批号:20170109);戊四氮(美国 Sigma 公司,批号:SOL4242);TRizol(美国 Invitrogen 公司,批号:15596026);RT-PCR 试剂盒(美国 TaKaRa 公司,批号:201702);DBA(美国 Bioword 公司,批号:L201743);辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 Ig(武汉博士德生物技术有限公司,批号:SP1722)。51600 型立体定向仪(美国 Stoelting 公司);D70-CCTPD70-PCTPC70-EEE 型清醒动物生理信号采集系统(美国 DSI 公司);UV1700 型紫外分光光度计(上海美谱达仪器有限公司);ZF-288 型凝胶显像仪(上海嘉鹏科技有限公司);E2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 慢性癫痫模型制备

大鼠腹腔注射戊四氮 35 mg/(kg·d),连续注射 28 d,每次注射后 1 h 采用红外摄像头观察并记录痫性发作的潜伏期与发作强度。按 Racine 癫痫发作分级标准评价,连续 5 d 出现 ≥ II 级的发作即认为慢性癫痫大鼠模型制备成功,并纳入研究。

1.3.2 分组及给药

将慢性癫痫大鼠分为 3 组,模型组、拉莫三嗪低剂量(5 mg/kg)组和拉莫三嗪高剂量(10 mg/kg)组,每组大鼠 15 只,健康大鼠作为对照组,所有组别灌胃给药,模型组和对对照组灌胃给予生理盐水,所有组别连续灌胃给药 25 d。

1.3.3 指标检测

(1)大鼠行为学及体质量观察:记录所有大鼠治疗前及治疗后的行为学特征及体质量。

(2)癫痫发作时间和脑电波:末次给药 1 d 后,检测脑电波。将各组动物全麻并俯卧位固定在立体定向仪,定位海马,在海马深部前囟后约 3.0 mm 及旁 2.5 mm 处钻开颅骨,用脑立体定位仪将脑电图记录电极送入硬膜下约 3.0 mm。将引导电极信号输入生理信号采集系统记录大鼠癫痫发作频率,记录 1 h 内所有组别大鼠癫痫的放电频率,出现尖波及棘波判定为癫痫发作,并记录每次癫痫发作的时间,计算均值。

(3)海马样本中的 3 种氨基酸含量的测定:取大鼠海马组织约 50 mg,匀浆,分别采用高效液相色谱仪分析海马组织的天冬氨酸(aspartate, Asp)、谷氨酸(glutamate, Glu)和甘氨酸(glycine, Gly)含量。

(4)免疫组化检测脑组织中的 PGP 和 MVP 表达:末次给药 1 d 后,检测完脑电波后,取脑的海马组织,部分置于多聚甲醛固定 48 h,石蜡包埋,切片,二甲苯脱蜡,梯度乙醇水化,过氧化氢室温放置 15 min, PBS 清洗,高压修复抗原,放置至室温, PBS 清洗,山羊血清,室温封闭放置 20 min,滴加一抗 PGP 和 MVP(1:100), 4℃ 孵育过夜,室温放置 30 min, PBS 清洗,滴加二抗, 37℃ 放置 10 min, PBS 清洗,加链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶, 37℃ 放置 10 min, DAB 显色,镜下观察。

(5)Western blot 检测海马中 PGP 和 MVP 水平:取大鼠海马组织约 50 mg,加入裂解液和蛋白酶抑制剂,冰上超声裂解 5 s,重复 4 次,低温离心,收集上清,以紫外分光光度法定量总蛋白,蛋白定量 5 g/L,每个电泳道上样 50 μg,采用十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,采用蛋白质电泳转移仪将产物转移到 PVDF 膜,脱脂奶粉封闭放置 2 h,加入一抗 PGP 和 MVP(工作浓度均为 1:100) + GAPDH(1:1000), 4℃ 孵育过夜, TBST 洗膜,羊抗鼠二抗(1:5000)室温孵育 1.5 h,清洗,以凝胶显像仪和定量软件,以 GAPDH 条带与电泳条带的灰度面

积比值表示 GST-π 蛋白质的含量。

1.4 统计学方法

计量资料采用平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,计数资料采用例数或百分比表示,用 SPSS 15.0 软件分析数据,组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠行为学比较

对照组大鼠活动正常。慢性癫痫模型组大鼠表现为活动减少、咀嚼、节律性点头,头颈上仰、前肢阵挛发作,少数大鼠竖尾或尾拍地面。拉莫三嗪组大鼠由早期的头颈上仰、前肢阵挛发作逐渐过渡到竖毛及嘴和面部肌肉抽搐,少见竖尾或尾拍地的情况。治疗前,与对照组比,模型组及拉莫三嗪组的体质量均明显降低($P < 0.05$)。治疗后,与对照组比,模型组体质量明显降低($P < 0.05$),与模型组比,拉莫三嗪组的体质量明显增高($P < 0.05$),且呈拉莫三嗪剂量依赖性趋势,见表 1。

表 1 各组大鼠体质量比较($\bar{x} \pm s, n = 15, g$)

组别 Groups	体质量 Body mass	
	治疗前 Before treatment	治疗后 After treatment
对照组 Control group	302.6±42.3	372.9±45.6
模型组 Model group	255.6±40.1 ^a	274.6±40.5 ^a
拉莫三嗪低剂量组 Low-dose lamotrigine group	253.9±39.8	306.5±41.3 ^b
拉莫三嗪高剂量组 High-dose lamotrigine group	254.5±37.5	339.9±40.7 ^{b,c}
F 值 F value	5.400	15.221

注:与对照组相比,^a $P < 0.05$;与模型组相比,^b $P < 0.05$;与拉莫三嗪低剂量组相比,^c $P < 0.05$ 。

Note. Compared with the control group, ^a $P < 0.05$. Compared with the model group, ^b $P < 0.05$. Compared with the low-dose lamotrigine group, ^c $P < 0.05$.

2.2 各组大鼠癫痫发作时间和脑电图比较

与对照组比,模型组癫痫发作时间增高($P < 0.05$),脑电图频率降低($P < 0.05$),波幅增高($P < 0.05$);与模型组比,拉莫三嗪组的癫痫发作时间降低($P < 0.05$),脑电图频率增高($P < 0.05$),波幅降低($P < 0.05$),且呈拉莫三嗪剂量依赖性趋势,见表 2。

2.3 各组大鼠海马的氨基酸含量比较

与对照组比,模型组海马的 Asp 和 Glu 均明显增高($P<0.05$),Gly 明显降低($P<0.05$);与模型组比,拉莫三嗪组海马的 Asp 和 Glu 均明显降低($P<0.05$),Gly 明显增高($P<0.05$),且呈拉莫三嗪剂量依赖性趋势,见表 3。

2.4 免疫组化检测各组大鼠海马 PGP 和 MVP 表达

PGP 和 MVP 阳性表达均在细胞膜与细胞核。与对照组比,模型组海马 PGP 和 MVP 阳性表达增高($P<0.05$);与模型组比,拉莫三嗪组海马 PGP 和 MVP 阳性表达降低($P<0.05$),且呈拉莫三嗪剂量依赖性趋势,见图 1。

2.5 Western blot 法检测各组大鼠海马 PGP 和 MVP 表达

与对照组比,模型组海马 PGP 和 MVP 阳性表达增高($P<0.05$);与模型组比,拉莫三嗪组海马

PGP 和 MVP 阳性表达降低($P<0.05$),且呈拉莫三嗪剂量依赖性趋势,见图 2。

3 讨论

Asp 和 Glu 为脑内兴奋性氨基酸,两者的兴奋性神经毒性作用可导致神经细胞变性和死亡,Gly 为脑内抑制性氨基酸,在脑内含量异常可诱导癫痫发作,当脑内兴奋性与抑制性氨基酸的平衡被破坏,尤其是 Asp 和 Glu 增高,Gly 降低,诱导癫痫发作^[7-9]。本课题结果所示,与对照组比,慢性癫痫大鼠海马区的 Asp 和 Glu 明显增高,Gly 显著降低,同时慢性癫痫的癫痫发作次数较多,脑电图显示异常,且均存在统计学差异,由此可见脑内兴奋性和抑制性的氨基酸动态平衡被打破,表达异常则引导癫痫发作。给予拉莫三嗪治疗后,慢性癫痫大鼠海马区的氨基酸趋向平衡,即 Asp 和 Glu 明显降低,Gly 明显增高,可见拉莫三嗪治疗慢性癫痫与稳定

表 2 各组大鼠癫痫发作时间和脑电图比较($\bar{x} \pm s, n=15$)

Table 2 Comparison of seizure duration and electroencephalogram (EEG) of the four experimental groups

组别 Groups	每次癫痫发作时间(min) Seizure duration each time	脑电图 EEG	
		频率(次/s) Frequency (times/s)	脑电波波幅(mV) Brain wave amplitude
对照组 Control group	0.0±0.0	16.3±3.4	46.9±10.6
模型组 Model group	35.2±6.3 ^a	5.9±1.6 ^a	214.5±52.4 ^a
拉莫三嗪低剂量组 Low-dose lamotrigine group	28.1±5.2 ^b	9.9±2.9 ^b	135.6±32.1 ^b
拉莫三嗪高剂量组 High-dose lamotrigine group	23.8±4.3 ^{bc}	12.8±3.6 ^{bc}	108.5±24.8 ^{bc}
F 值 F value	163.926	32.881	64.335

注:与对照组相比,^a $P<0.05$;与模型组相比,^b $P<0.05$;与拉莫三嗪低剂量组相比,^c $P<0.05$ 。

Note. Compared with the control group, ^a $P<0.05$. Compared with the model group, ^b $P<0.05$. Compared with the low-dose lamotrigine group, ^c $P<0.05$.

表 3 各组大鼠海马的氨基酸含量比较($\bar{x} \pm s, n=15, \mu\text{mol/L}$)

Table 3 Comparison of amino acid content in the hippocampus of the four experimental groups

组别 Groups	Asp	Glu	Gly
对照组 Control group	5.6±1.2	11.3±3.4	13.6±2.9
模型组 Model group	10.6±3.9 ^a	19.8±4.6 ^a	9.0±1.9 ^a
拉莫三嗪低剂量组 Low-dose lamotrigine group	8.0±2.1 ^b	15.9±5.1 ^b	10.6±1.7 ^b
拉莫三嗪高剂量组 High-dose lamotrigine group	6.6±1.5 ^{bc}	12.0±4.3 ^{bc}	12.2±2.1 ^{bc}
F 值 F value	12.115	11.989	12.288

注:与对照组相比,^a $P<0.05$;与模型组相比,^b $P<0.05$;与拉莫三嗪低剂量组相比,^c $P<0.05$ 。

Note. Compared with the control group, ^a $P<0.05$. Compared with the model group, ^b $P<0.05$. Compared with the low-dose lamotrigine group, ^c $P<0.05$.

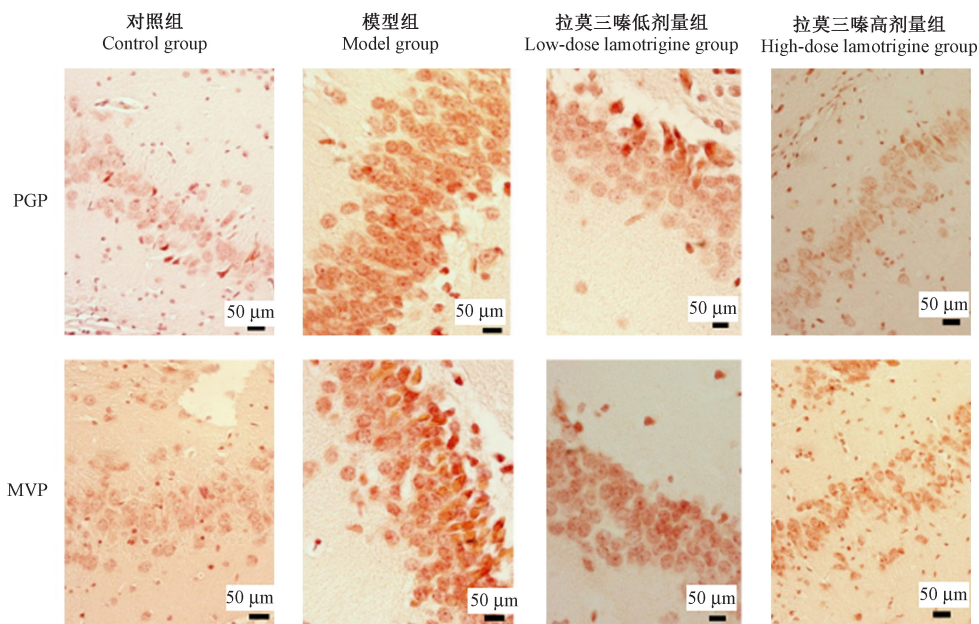
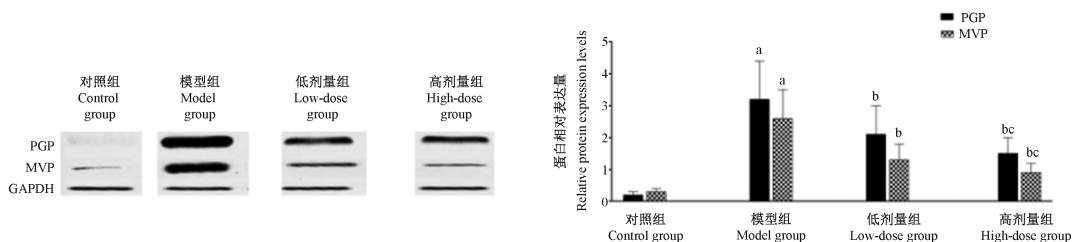


图 1 免疫组化法检测各组大鼠海马 PGP 和 MVP 表达(× 200)

Figure 1 Expression of PGP and MVP in the hippocampal tissues detected by immunohistochemical staining



注:与对照组相比,^a $P < 0.05$;与模型组相比,^b $P < 0.05$;与拉莫三嗪低剂量组相比,^c $P < 0.05$ 。

图 2 Western blot 检测各组大鼠海马 PGP 和 MVP 表达

Note. Compared with the control group, ^a $P < 0.05$. Compared with the model group, ^b $P < 0.05$. Compared with the low-dose lamotrigine group, ^c $P < 0.05$.

Figure 2 Expression of PGP and MVP in the hippocampal tissues detected by Western blotting

或改善癫痫海马区的氨基酸水平,降低癫痫发作次数,且呈现剂量依赖性趋势,与文献报道拉莫三嗪通过改善氨基酸的递质活性,降低脑内异常放电而达到治疗慢性癫痫的结果一致^[10-11]。

与肿瘤耐药相似,慢性癫痫也存在耐药现象,且与耐药蛋白表达增高相关,其中被研究较为成熟的是 PGP 和 MVP。PGP 作为跨膜药物转运蛋白,属于 ABC 转运蛋白超家族,通过排出细胞内药物或通过细胞内囊泡分泌等途径降低药物聚集在细胞间隙,细胞质及细胞器,达到耐药的效果^[12-14]。MVP 是细胞器穹隆蛋白的主要成分,穹隆蛋白在阻止药物靠近细胞核,降低病灶的药物浓度并避免药物与靶点结合中起到关键作用^[15-16]。本课题结果显示,与对照组比,慢性癫痫大鼠海马中的 PGP 和

MVP 蛋白均明显上调,且差异存在统计学意义,可见存在明显的耐药基础。给予拉莫三嗪治疗后,慢性癫痫大鼠海马中的 PGP 和 MVP 蛋白均明显下调,且剂量越高,下调越显著,提示拉莫三嗪治疗慢性癫痫可能与降低海马中的 PGP 和 MVP 蛋白表达紧密相关。对于拉莫三嗪治疗慢性癫痫可能与降低海马中的 PGP 和 MVP 蛋白表达机理尚无明确报道,如王海燕等^[17]认为拉莫三嗪降低 PGP 和 MVP 蛋白表达的机理是间接而非直接,又如 Liu 等^[18]采用药剂手段,以 mPEG-PLA/TPGS 混合胶束装载拉莫三嗪,通过人为手段提高癫痫病灶的拉莫三嗪浓度,PGP 表达明显降低,提示拉莫三嗪可直接降低 PGP 表达。本文也存在以下缺陷,临床收治的存在耐药的慢性癫痫患者与长期服用抗癫痫药有关,但

本文制备的慢性癫痫大鼠与临床患者的病情存在病理性的不同,再加上给与慢性癫痫大鼠的时间相对较短,对临床治疗的推荐价值有限,因此进一步的研究有必要进行长期给药,考察长期给药对慢性癫痫动物模型的干预效果。

综上所述,拉莫三嗪治疗慢性癫痫与降低海马 PGP、MVP 蛋白及改善海马氨基酸相关,但拉莫三嗪治在降低海马 PGP、MVP 蛋白的机制仍需进一步考察。

参考文献:

[1] Jeon AR, Kim JE. PDI knockdown inhibits seizure activity in acute seizure and chronic epilepsy rat models via S-nitrosylation-independent thiolation on NMDA receptor [J]. *Front Cell Neurosci*, 2018, 12: 438.

[2] Kumar S, Singh MB, Shukla G, et al. Effective clinical classification of chronic epilepsy into focal and generalized: A cross sectional study [J]. *Seizure*, 2017, 53(11): 81-85.

[3] Spatola M, Dalmau J. Seizures and risk of epilepsy in autoimmune and other inflammatory encephalitis [J]. *Curr Opin Neurol*, 2017, 30(3): 345-353.

[4] Zhang HL, Lin YH, Qu Y, et al. The effect of miR-146a gene silencing on drug-resistance and expression of protein of P-gp and MRP1 in epilepsy [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(8): 2372-2379.

[5] Banerjee Dixit A, Sharma D, Srivastava A, et al. Upregulation of breast cancer resistance protein and major vault protein in drug resistant epilepsy [J]. *Seizure*, 2017, 47(4): 9-12.

[6] 谭志勇, 马剡芳. 拉莫三嗪与卡马西平治疗三叉神经痛的临床效果对比 [J]. *中国医药导报*, 2017, 14(20): 90-93.

[7] 刘圣金, 吴露婷, 吴德康, 等. 矿物药青礞石对 PTZ 点燃癫痫大鼠脑组织中氨基酸神经递质含量的影响 [J]. *质谱学报*, 2016, 37(6): 533-541.

[8] 张冰冰, 齐越, 韦丹, 等. 癫痫清颗粒对海人藻酸癫痫大鼠脑组织氨基酸类神经递质含量及学习记忆能力的影响 [J]. *中华中医药学刊*, 2016, 34(3): 609-611.

[9] 廖玉芳, 岳建农, 王淋丽, 等. 兴奋性氨基酸及其受体与转

运体在抗癫痫药理学研究中的意义 [J]. *中国药房*, 2015, 26(28): 4007-4010.

[10] El-Haggag SM, Mostafa TM, Allah HMS, et al. Levetiracetam and lamotrigine effects as mono- and polytherapy on bone mineral density in epileptic patients [J]. *Arq Neuropsiquiatr*, 2018, 76(7): 452-458.

[11] Nevitt SJ, Sudell M, Weston J, et al. Antiepileptic drug monotherapy for epilepsy: a network meta-analysis of individual participant data [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2017, 12: CD011412.

[12] Duan L, Di Q. Acetazolamide suppresses multi-drug resistance-related protein 1 and P-glycoprotein expression by inhibiting aquaporins expression in a mesial temporal epilepsy rat model [J]. *Med Sci Monit*, 2017, 23(11): 5818-5825.

[13] Ferreira A, Santos AO, Falcão A, et al. *In vitro* screening of dual flavonoid combinations for reversing P-glycoprotein-mediated multidrug resistance: Focus on antiepileptic drugs [J]. *Food Chem Toxicol*, 2018, 111: 84-93.

[14] 彭锐, 张洪, 张英, 等. ABCB1 基因位点(C3435T)多态性与癫痫耐药关联性的 Meta 分析 [J]. *中国医药导报*, 2015, 12(2): 69-73.

[15] Zhou L, Zhang M, Long H, et al. Absence of association between major vault protein (MVP) gene polymorphisms and drug resistance in Chinese Han patients with partial epilepsy [J]. *J Neurol Sci*, 2015, 358(1-2): 362-366.

[16] 宋婷婷, 李丹, 黄绍平, 等. 环氧酶-2 选择性抑制剂塞来昔布对癫痫持续状态大鼠脑内主穹隆蛋白表达的影响 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2016, 18(5): 440-445.

[17] 王海燕, 任艳霞, 迟瑛娇, 等. 拉莫三嗪对海人酸致大鼠海马中主穹隆蛋白表达的影响 [J]. *实用儿科临床杂志*, 2012, 27(4): 288-291.

[18] Liu J, He Y, Zhang J, et al. Functionalized nanocarrier combined seizure-specific vector with P-glycoprotein modulation property for antiepileptic drug delivery [J]. *Biomaterials*, 2016, 74(1): 64-76.

[收稿日期] 2019-04-04