

科技部補助
大專學生研究計畫研究成果報告

計畫名稱：以藥物降低視丘下核之活性以抑制癲癇發作並保護神經系統

報告類別：成果報告
執行計畫學生：姚景宜
學生計畫編號：MOST 110-2813-C-040-084-H
研究期間：110年07月01日至111年02月28日止，計8個月
指導教授：何應瑞

處理方式：本計畫可公開查詢

執行單位：中山醫學大學心理學系

中華民國 111年03月31日

題目：以藥物降低視丘下核之活性以抑制癲癇發作並保護神經系統

計畫申請人：姚景宜

指導教授：何應瑞 教授

申請單位：中山醫學大學 心理學系

摘要

癲癇是盛行率很高的神經疾病，其病理原因是神經過度活化導致異常放電所致。造成上述神經過度活化的原因除了神經興奮性過高之外，也包括神經的抑制性不足，以及促使癲癇擴散的重要腦區-視丘下核 (subthalamic nucleus)過度活化。目前已知 CA 可以促進麩胺酸轉運蛋白 (glutamate transporter-1; GLT-1)之表現，能夠加速清除興奮性神經傳遞物質麩胺酸。2-丙基戊酸 (valproic acid)可以增加腦內抑制性神經傳遞物質 (GABA)之含量。降低視丘下核異常活性可能可以抑制過量興奮性傳導物質擴散，進而抑制癲癇。本研究計畫使用大鼠進行藥理與組織學測量，分析海馬迴神經細胞密度、視丘下核與杏仁核神經活性及 GLT-1 表現量，以探討併用 CA 與 2-丙基戊酸是否有效減少神經活性異常及神經細胞凋亡，並增加麩胺酸回收，達到抑制癲癇與神經保護的目標。本研究結果指出，CA 治療組有效減少視丘下核過度活化，維持杏仁核活性，降低癲癇造成之神經減損，並恢復海馬迴神經細胞密度；CA+VPA 合併治療組能夠恢復 GLT-1 表現量至與控制組相同水準。顯示 CA 可能是個與 2-丙基戊酸同樣有效的藥物，其治療癲癇之效果與機轉仍需更多研究探討。

特別說明：為保護智財，以便日後申請專利，因此實驗藥物僅以英文簡寫 CA 代稱，其全名將在成果報告書正文中標示。

關鍵字：epilepsy, pentylenetetrazol, β -lactamase inhibitor, glutamate, GLT-1, GABA, cytochrome oxidase, subthalamic nucleus

(一) 前言

全球大約有超過五千萬名癲癇患者(Organization, 2019)，雖然在臨床上已有許多的抗癲癇藥物，但是在治療劑量下，這些藥物常會造成許多的副作用(如：嗜睡、認知缺陷、體重增加、運動功能失調……等等)，甚至有高達三分之一的患者無法藉由臨床藥物的治療對癲癇達到良好控制(Beleza, 2009)，因此需要研發更好的藥物來治療癲癇。

由於麩胺酸 (glutamate)神經系統過度活化，會使神經興奮性過高，過多的正電離子湧入神經細胞內會導致神經異常放電，進而使癲癇發作；過量的鈣離子也會開啟細胞的凋亡

(apoptosis)路徑，造成細胞的死亡。癲癇患者在癲癇時視丘下核 (subthalamic nucleus; STN) 過度活化，而且過多麩胺酸神經纖維投射至整個腦部皮質及邊緣系統，也可能是參與癲癇傳播的重要角色。依照上述生理病理現象推論，使用藥物以同時降低神經興奮性並增加抑制性，抑制視丘下核過度活化之病灶，應該可以更有效地抑制癲癇發作，同時控制癲癇的擴散，並保護神經系統。

癲癇發作是由於腦內的神經元異常過度放電所致。造成癲癇的因素眾多，如：腦部創傷、中風、腫瘤、出生前(後)腦部缺氧、腦部感染……等等。造成神經異常放電的原因為興奮性神經傳遞物質麩胺酸與抑制性神經傳遞物質 GABA 的濃度不平衡所致。當麩胺酸釋放到突觸間隙後，會與突觸後 NMDA 受體 (N-methyl-D-aspartate receptor) 結合，使正電離子流入突觸後神經元，並提升神經的興奮性，甚至使其去極化產生動作電位；過量的麩胺酸會增加神經內鈣離子濃度，導致神經異常放電，甚至誘發癲癇發作。動物實驗證實，NMDA 受體拮抗劑是強效的抗癲癇藥物 (anticonvulsants) (Engelborghs et al., 2000)，顯示麩胺酸神經系統過度活化為重要的癲癇病理生理機制。隨著癲癇病程 (epileptogenesis) 的發展，神經活性改變，使大腦有更容易癲癇發作的傾向，並在一次次的癲癇發作中啟動細胞凋亡 (apoptosis) 程序造成興奮性毒性引起神經細胞死亡，這項病理變化可能參與癲癇所導致的神經退化與認知障礙。目前臨床上治療癲癇的藥物主要是 GABA 致效劑(如：Clobazam 服利寧)，以抑制癲癇發作。

視丘下核過度活化參與癲癇的病理生理機轉，因此降低視丘下核的異常活化可能可以有效減少癲癇發作。視丘下核是控制皮質基底神經節-視丘-皮質迴路 (the motor cortico-basal ganglia-thalamocortical loop) 的重要角色，視丘下核投射興奮性麩胺酸神經纖維，提高基底核等神經區域之活性(曾勝弘, 2009)，其對邊緣系統功能所帶來之可能影響仍有待更多研究深入探討(Mavridis et al., 2013)。近年來有許多動物與臨床實驗透過對視丘下核及上丘 (superior colliculus)，施行深腦電擊 (deep brain stimulation)，以探討運用深腦電擊抑制視丘下核過度活化，對癲癇的控制效果。動物研究顯示針對視丘下核施予深腦電擊，降低其活性，能夠阻斷癲癇傳播，抑制次發性大發作 (secondary generalized seizure) (Usui et al., 2005)；臨床個案報告顯示，對視丘下核施予深腦電擊對局部動作型癲癇具有療效，可能成為抗藥型癲癇患者的新治療選擇(Wang et al., 2020)。

2-丙基戊酸 (valproic acid; VPA) 在臨床上使用已有超過 40 年的歷史，是一種被廣泛用以控制癲癇的藥物。VPA 有許多藥理機轉，包含：提升腦內 GABA 的含量、阻斷正電離子通道等(Chateauvieux et al., 2010)，藉此降低神經系統活性，達到控制癲癇發作的效果。許多的 β -內醯胺分子都具有抗菌活性，稱為 β -內醯胺類抗生素，在先前的文獻中指出，許多具有 β -內醯胺結構的分子可以提升麩胺酸轉運子 (glutamate transporter-1; GLT-1) 之表現量 (Rasmussen et al., 2011)，因此 β -內醯胺類分子可能可以抑制由麩胺酸過多所造成的神經過度興奮，減輕神經損害，進而達到抑制癲癇發作的效果。克拉維酸 (clavulanic acid; CA) 具有 β -內醯胺構造，但它並不具有抗菌活性；某些細菌會產生 β -內醯胺酶 (β -lactamase)，破壞 β -內醯胺分子的結構，使 β -內醯胺類抗生素失去抗菌活性，最終導致細菌產生抗藥性。而 CA 具有抑制 β -內醯胺酶的特性，因此常與其它的 β -內醯胺類抗生素合併使用 (Todd & Benfield, 1990)，例如與 amoxicillin 合併製成的藥物：Augmentin。CA 可以增加麩胺酸轉運蛋白 (glutamate transporter-1; GLT-1) 之表現，促進清除麩胺酸。

PTZ 是 GABA_A 受體的拮抗劑，會阻斷 GABA_A 受體，降低 GABA 神經的活性，導致神經系統過度放電。實驗動物接受慢性 PTZ 注射後，愈來愈容易產生癲癇發作，以此方式誘發的癲癇疾病模式稱為 epilepsy kindling model。急性投予低劑量 PTZ 能夠誘發失神性發作 (absence seizures)；高劑量 PTZ 可誘發抽搐性大發作 (convulsive seizures) 模型 (Luttjohann et al.,

2009)。

本研究給癲癇大鼠合併投予 CA 及 VPA，同時降低麩胺酸並提升 GABA 神經系統活性，以探討是否可以抑制癲癇發作並降低視丘下核的過度活化、提高 GLT-1 表現量，藉以緩解神經興奮性毒性(excitotoxicity)，以防止癲癇與其所導致之神經損傷。

(二) 材料與方法

2.1. 實驗動物

本研究之實驗動物使用 8 周齡之 Wistar 品系大鼠(購自台灣樂斯科公司)，飼養於大型壓克力飼育籠中(35*56*19 cm)，飼料以及飲用水充足，飼養環境溫度約 22~24 攝氏度，溼度維持 50~60%，光照週期為 12 小時光照，12 小時黑暗(光照 07:00~19:00)。

2.2. 一般程序

將所有實驗動物隨機分派至各組，並在實驗開始前對其進行 handling，所有大鼠在第 1 天到第 13 天期間內每間隔一天接受一次腹腔注射 pentylenetetrazol (PTZ, 35 mg/kg, i. p.) 以誘發動物癲癇模型(共計 7 次)，並記錄每次癲癇強度。在第 7 天(第 4 次誘發)後，分別給予腹腔注射 saline (1 ml/kg)、CA (1 or 10 mg/kg)、VPA (50 mg/kg)或 CA (1 mg/kg)+VPA (50 mg/kg)合併治療，連續 7 天。第 14 至 20 天不做任何處置，在第 21 天進行挑戰測試 (challenge test)，確定癲癇模型的誘發成果，第 23 天以 CO₂ 安樂死犧牲大鼠，並以 phosphate buffered saline (PBS)及 4% paraformaldehyde 經由心臟灌流完成後，將腦組織取出存放於 40%蔗糖溶液中脫水，以便用於後續組織學分析。實驗分組與流程(表 1)。

表 1. 實驗分組、組別名稱與流程表。

Group \ Day	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
Control+saline																								
Seizure+saline	PTZ : 35 mg/kg, i.p, every other day																				Challenge			
Seizure+CA1							CA1																Sacrify	
Seizure+CA10							CA10																	
Seizure+VPA50							VPA50																	
Seizure+CA1+VPA50							CA1+VPA50																	

所有大鼠在第 1 天到第 13 天，期間內每間隔一天接受一次腹腔注射 pentylenetetrazol (PTZ, 35 mg/kg, i. p.) 以誘發動物癲癇模型 (seizure)(共計 7 次)，在第 7 天(第 4 次誘發)後，分別給予腹腔注射 saline (1 ml/kg)、CA (1 or 10 mg/kg)、VPA (50 mg/kg)或 CA (1 mg/kg)+VPA (50 mg/kg)合併治療，連續 7 天。第 14 至 20 天不做任何處置，在第 21 天進行挑戰測試 (challenge test)，第 23 天以 CO₂ 安樂死犧牲大鼠。

2.3. 測量癲癇發作強度

PTZ 注射後將大鼠放入觀察箱(35*56*19 cm)中 30 分鐘，紀錄大鼠癲癇發作的強度，本研究採用 Racine Scale(Racine, 1972)評估癲癇發作強度，共分為 5 級：score 1：口部與面部抽動，觸鬚抖動；score 2：身體顫抖、點頭；score 3：肌躍型發作；score 4：以後肢站立，前肢大幅度的抽動；score 5：僵直-痙攣型發作，失去平衡而倒下。除了記錄大鼠的癲癇分數外，也記錄在大鼠出現 score 5 僵直-痙攣型發作前的潛伏期 (latency)以及發作的持續時間(duration)。

2.4. 組織學與神經活性分析

2.4.1. 冷凍切片

使用本實驗室之冷凍切片機 (Thermo HM525NX)進行組織切片，過程完全遵照手冊指示進行。

將冷凍切片機溫度設定為-20 攝氏度，接著使用冷凍包埋劑將已包埋好之腦組織直立固定於切片機的標本台上，再放入冷凍切片機中切片，切片厚度設定為 25 μm ，並將腦切片直接黏附在經 0.5%明膠 (gelatin) 前處理的載玻片上，存放於 -20 攝氏度中為後續染色與分析備用。本研究計畫收集視丘下核、海馬迴(hippocampus)與杏仁核(amygdala)的腦組織進行分析。

2.4.2. 測量海馬迴神經細胞密度

尼氏染色(Nissl stain)主要用以標定海馬迴內之神經細胞，供神經細胞密度之量測。將玻片上的樣本退冰至常溫，以 60 攝氏度烤片 30 分鐘，蒸乾水分防止組織脫落，接著依序浸泡於遞減濃度之酒精 (95%、95%、85%、75%)。從 75%酒精中取出後，浸入 0.05% thionin 2 分半鐘，取出玻片浸入 70%酒精兩次，每次 4 分鐘，接著浸入 95%酒精中，依呈色狀況決定浸泡時間，取出後直接浸入甲醇約 2~3 秒，最後浸入 ddH₂O，當組織變為紫色時取出。待風乾後，滴上阿拉伯膠進行封片，而後使用光學顯微鏡觀察拍照，以利後續的組織學分析。

2.4.3. 測量視丘下核與杏仁核神經細胞活性

Cytochrome oxidase 是粒線體活性的組織化學酶，可以作為測量神經細胞中的代謝活性標記，並經過定量分析後，以了解神經活化程度。將玻片上的樣本退冰至常溫，置於潮濕盒中畫防水圈，防止溶液外漏、乾涸，接著以一倍 PBS 清洗樣本三次，各五分鐘。配製培養基 (incubation medium) 並滴入樣本中進行染色，放置 4 攝氏度冰箱反應 18 小時後以 PBS 清洗三次，再以 ddH₂O 清洗一分鐘。待風乾後，即可進行封片。

2.4.4. 測量 GLT-1 表現量

多重免疫螢光染色(multiplex immunohistochemistry)透過使用抗體來可視化蛋白質的表達、分佈和位置，並利用顯微鏡進行觀察。本研究使用 GFAP mouse mAb、EAAT2 rabbit pAb 為一抗，在 4 攝氏度冰箱反應一晚，隔天以 PBS 清洗三次再加入 FITC-anti-mouse IgG 為二抗，於室溫反應 2 小時，對神經細胞核、星狀膠細胞 (GFAP) 與 GLT-1 進行螢光染色，完成後再使用封片膠進行水封。

2.4.5. 影像定量分析

組織染色切片使用正立螢光顯微鏡 (ZEISS AXio Imager A2, Germany)進行觀察。以 Q Capture Pro 7 軟體拍下欲觀察區域 (area of interest; AOI)之影像：以 50 倍顯微鏡觀察杏仁核基底內側區(basal lateral amygdala; BLA)；以 50 倍顯微鏡觀察視丘下核

(subthalamic nucleus; STN); 100 倍顯微鏡觀察齒狀回(dentate gyrus; DG), 並以 200 倍顯微鏡觀察海馬迴 CA1 及 CA3。再以 Image Pro Plus Software 6.0(Media Cybernetics, CA, USA)進行影像定量分析。

2.5. 統計方法

使用 SPSS 23.0 統計軟體進行數據分析。在組織學分析上, 以單因子變異數分析(one-way ANOVA)大鼠 STN 神經活性、BLA 神經活性、海馬迴 CA1、m-CA3、l-CA3 和 DG 之錐體細胞密度。以 least significant difference test (LSD test)進行事後比較, 所有數據以 mean±SEM 表示, $P < 0.05$ 視為具有顯著性差異。

(三) 研究結果

3.1. 組織學分析

3.1.1. 海馬迴神經密度

使用單因子變異數分析以比較各組大鼠海馬迴 l-CA3 區域內的錐體細胞密度。癲癇組大鼠 l-CA3 區域內的錐體細胞密度顯著低於控制組($F_{(5, 18)}=4.297, P < 0.05$); VPA 治療組的錐體細胞密度顯著高於癲癇大鼠($F_{(5, 18)}=4.297, P < 0.05$) (圖 1)。經過 CA10、CA1 和 CA1+VPA50 的治療後, 錐體細胞密度與控制組無顯著差異。

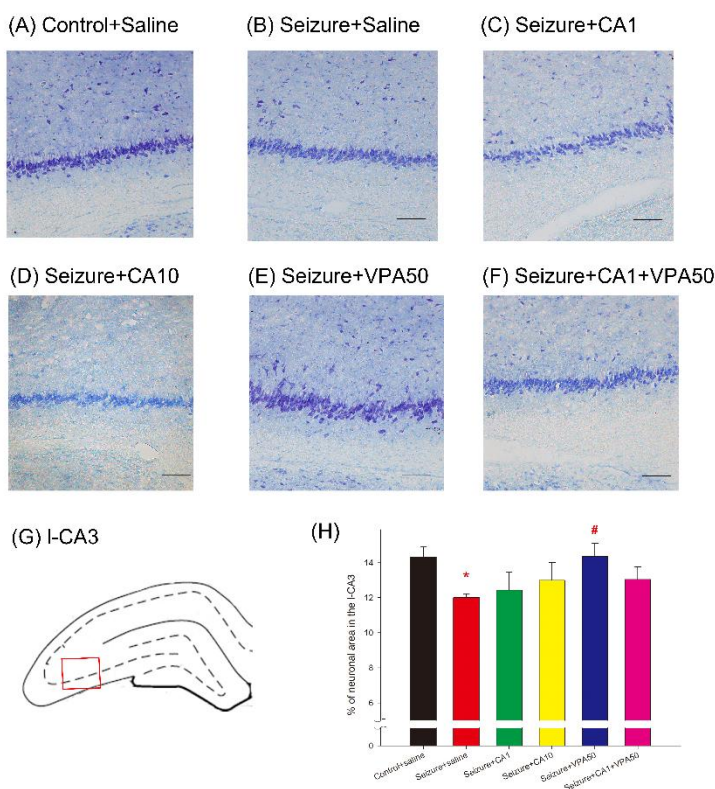


圖 1. 克拉維酸 (CA) 與 VPA 對癲癇大鼠海馬迴外側 CA3 (lateral CA3; l-CA3)神經密度之影響。以 PTZ(35 mg/kg) 誘發大鼠癲癇模型 (seizure), 再分別給予 CA 1 或 10 mg/kg, 或合併投予 CA (1 mg/kg)+ 2- 丙基戊酸 (VPA) (50 mg/kg) 治療。(A-F) 為在 200x 顯微鏡下拍攝之 l-CA3 經 Nissl 染色圖。(G) 腦圖譜中之紅色框標示出 A-E 腦區域。(H) 定量分析之結果 (n=4)。* $P < 0.05$ 與控制組相比。# $P < 0.05$ 與癲癇組相比。數值以 mean±SEM 表示。

3.1.2. 神經活性

3.1.2.1. 視丘下核之神經活性

使用單因子變異數分析以比較各組大鼠視丘下核區域內的神經活性。圖 2 顯示癲癇組大鼠視丘下核之神經活性顯著高於控制組 ($F_{(5, 24)}=2.765, P<0.05$)，而經治療後，CA1 治療組與 CA10 治療組的神經活性顯著低於癲癇組大鼠 ($F_{(5, 24)}=2.765, P<0.01$)。

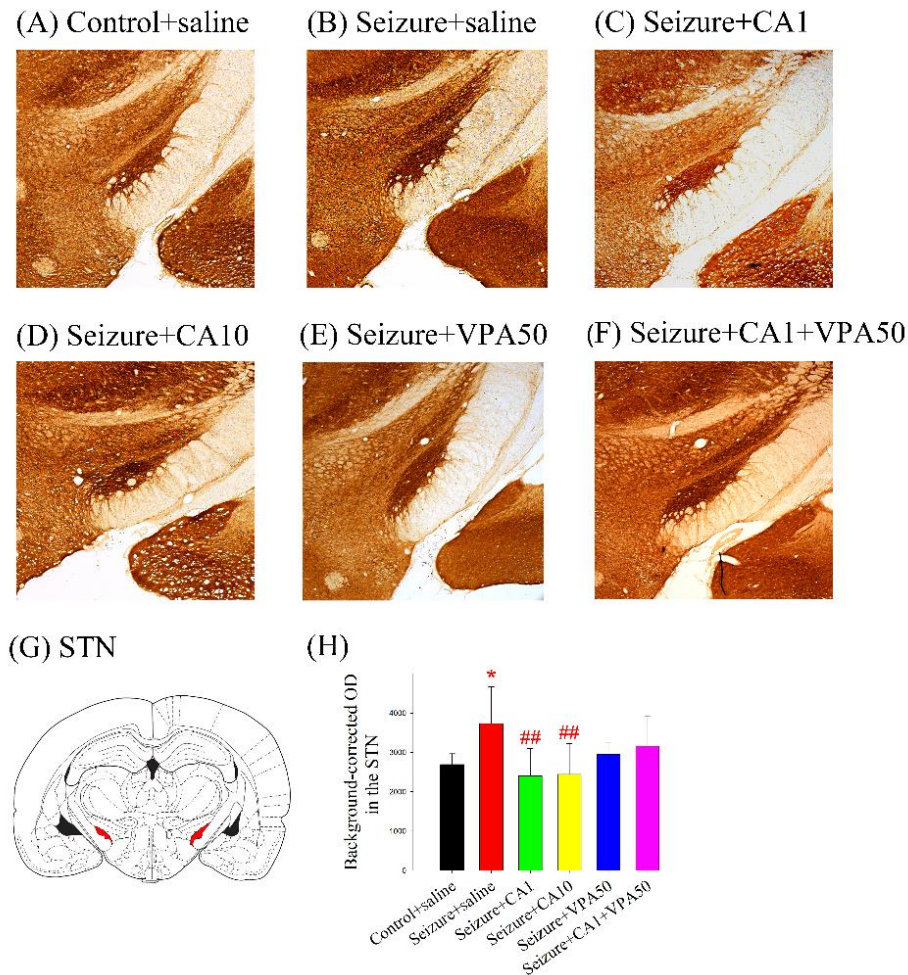


圖 2. 克拉維酸 (CA) 與 VPA 對癲癇大鼠視丘下核 (subthalamic nucleus; STN) 神經活性之影響。以 PTZ(35 mg/kg) 誘發大鼠癲癇模型 (seizure)，再分別給予 CA 1 或 10 mg/kg，以及合併用藥 CA (1 mg/kg)+ 2-丙基戊酸 (VPA) (50 mg/kg) 治療。(A-F) 為在 50x 顯微鏡下拍攝之 STN 經細胞色素氧化酶 (cytochrome oxidase) 染色圖。(G) 腦圖譜中之紅色區域標示出 A-F 腦區域。(H) 經背景校正光學密度 (OD) 定量之結果 (控制組: n=5, 癲癇組: n=5, CA1 治療組: n=6, CA10 治療組: n=5, VPA50 治療組: n=4, CA1+VPA50 治療組: n=5)。* $P<0.05$ 與控制組相比。## $P<0.01$ 與癲癇組相比。數值以 mean \pm SEM 表示。

3.1.2.1. 杏仁核 BLA 區域之神經活性

使用單因子變異數分析以比較各組大鼠 BLA 區域內的神經活性。圖 2 顯示大鼠 BLA 之神經活性在癲癇組與控制組未達顯著差異 ($F_{(5,18)}=1.848, P=0.139$)，而經治療後，VPA50 治療組的神經活性顯著高於控制組大鼠 ($F_{(5,18)}=1.848, P<0.05$)。

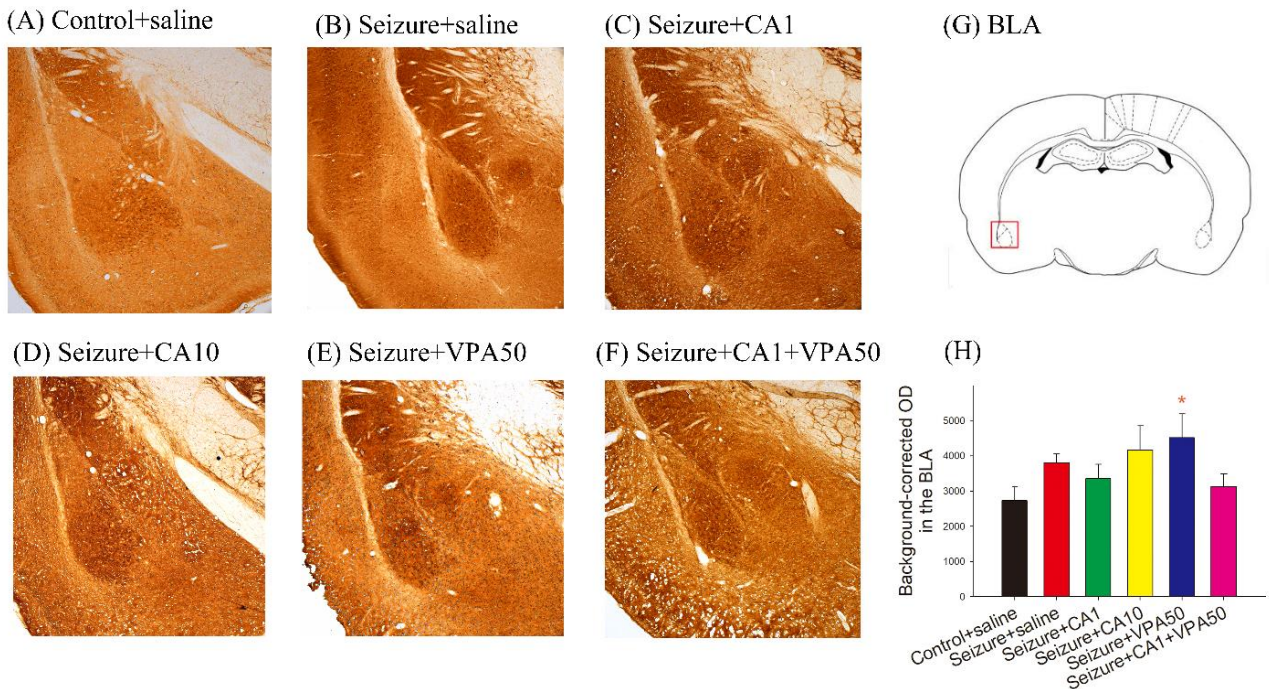


圖 3. 克拉維酸 (CA)與 VPA 對癲癇大鼠(basal lateral amygdala; BLA)神經活性之影響。以 PTZ(35 mg/kg)誘發大鼠癲癇模型 (seizure)，再分別給予 CA 1 或 10 mg/kg，以及合併用藥 CA (1 mg/kg)+ 2-丙基戊酸 (VPA) (50 mg/kg)治療。(A-F)為在 50x 顯微鏡下拍攝之 BLA 經細胞色素氧化酶(cytochrome oxidase)染色圖。(G)腦圖譜中之紅色框標示出 A-F 腦區域。(H)經背景校正光學密度(OD)定量之結果(n=4)。* $P<0.05$ 與控制組相比。# $P<0.05$ 與癲癇組相比。數值以 mean±SEM 表示。

3.1.3. GLT-1 表現量

如圖 4，我們發現癲癇組別大鼠 DG 之星狀膠細胞上 GLT-1 顯著低於控制組($F_{(5, 18)}=3.648, P < 0.01$)，而 VPA50+CA1 合併治療組大鼠之 GLT-1 表現量顯著高於癲癇組($F_{(5, 18)}=3.648, P < 0.05$)，其他治療組別則與癲癇組相同，GLT-1 表現量顯著低於控制組。

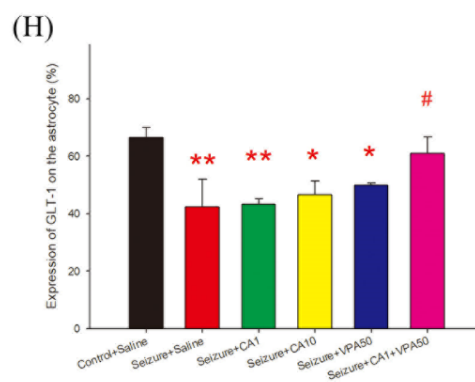
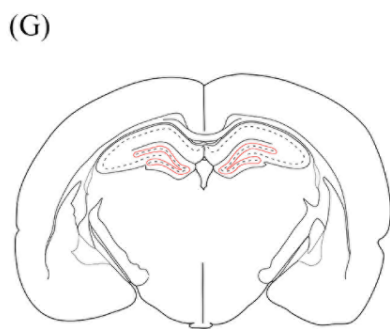
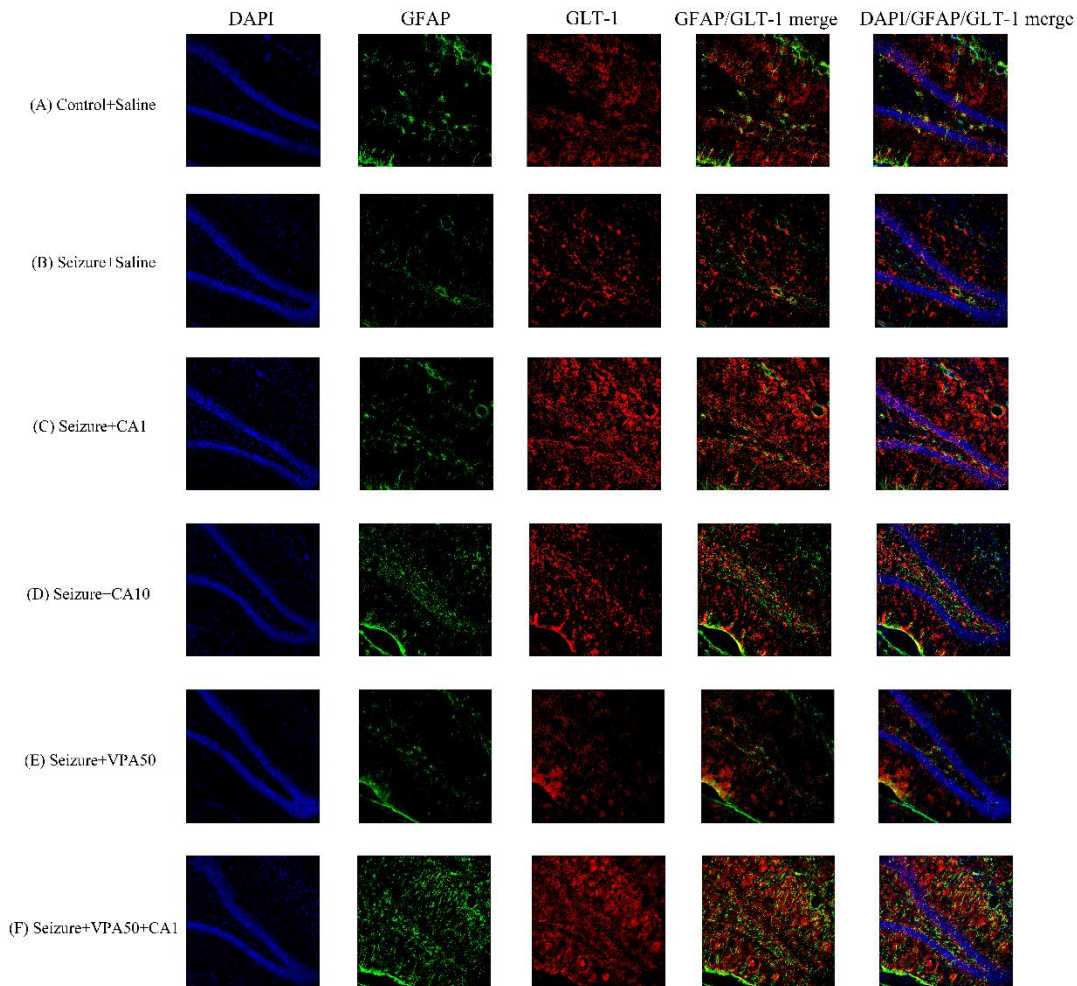


圖 4. 克拉維酸 (CA) 與 VPA 對癲癇大鼠星狀膠細胞及麩胺酸轉運蛋白 (GLT-1) 之影響。以 PTZ (35 mg/kg) 誘發大鼠癲癇模型 (seizure)，再分別給予 CA 1 或 10 mg/kg，以及合併用藥 CA (1 mg/kg) + 2-丙基戊酸 (VPA) (50 mg/kg) 治療。(A-F) 為在 200x 顯微鏡下拍攝之齒狀回 (dentate gyrus) 經多重螢光 (multiplex immunohistochemistry) 染色圖。藍色 DAPI：神經細胞核；綠色 GFAP：星狀膠細胞；紅色 GLT-1：麩胺酸轉運蛋白。(G) 腦圖譜中之紅色框標示出 A-F 腦區域。(H) 定量分析之結果 (n=4)。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 與控制組相比。[#] $P < 0.05$ 與癲癇組相比。數值以 mean \pm SEM 表示。

(四) 討論

本研究指出：經由 PTZ 所誘發之癲癇大鼠模式，其海馬迴內神經密度會降低，GLT-1 表現量減少，視丘下核會有過度活化之現象，而杏仁核活性則與控制組無差異；經由 CA 治療後，能夠有效降低癲癇造成之神經細胞減損、恢復神經細胞密度，達到神經保護的效果，減少視丘下核之異常活化，而經由 CA+VPA 合併治療後，該組大鼠 DG 之 GLT-1 表現量顯著高於癲癇組。

先前文獻指出 CA 可能有增加 GLT-1 的表現量、抑制亞硝化壓力、抗發炎、抑制細胞凋亡等效果 (Kolahdouz et al., 2021)，增加麩胺酸的回收，再由麩胺酸—麩醯胺酸循環 (glutamate-glutamine cycle) 使星狀膠細胞將其轉換、提供給 GABA 神經系統原料製造 GABA，能夠降低神經興奮性。如本研究於視丘下核之發現，經過 CA 治療後視丘下核異常活化之情形較癲癇組顯著減少，神經活性獲得適當控制。

VPA 透過增加 GABA 含量來達到抑制癲癇的效果 (Romoli et al., 2019)，故本研究選用 VPA 與 CA 合併，以期透過雙管齊下的治療，降低神經興奮性同時增加神經抑制性，達成控制癲癇的目標。根據組織學分析結果顯示，本實驗之合併治療組 CA+VPA 對降低視丘下核過度活化之效果不顯著，但能夠恢復海馬迴之神經密度。此外我們發現 VPA 治療組之大鼠其 BLA 之神經活性顯著高於控制組，在 STN 則無降低神經活性的效果，但 VPA50 治療同樣能夠有效恢復 1-CA3 神經細胞密度。VPA (藥名：帝拔癲) 為現今治療癲癇及雙極性疾患的常用藥物之一，可單方治療或併用其他抗癲癇藥物於成人及兒童。研究發現在注射 VPA 之大鼠身上用以促進細胞分化之基因減少，齒狀回、杏仁核之細胞增生增加，以及在海馬迴有微膠細胞增生、杏仁核之微膠細胞型態改變等現象 (Wang et al., 2016)，這些先前的研究可能解釋了本研究發現之 VPA50 治療組 BLA 異常過度活化、1-CA3 神經細胞密度恢復等現象。

許多研究指出杏仁核中興奮性神經元，特別是杏仁核基底外側核 (BLA) 的興奮性在顛葉癲癇的病理機轉和症狀學中起關鍵作用。而壓力會使正腎上腺素促進 BLA 釋放 GABA 的功能損害，可能導致杏仁核過度興奮，為某些與壓力相關之情感疾病的基礎，並解釋了壓力可能引發癲癇患者的癲癇發作惡化 (Aroniadou-Anderjaska et al., 2007)。因此本研究選擇針對 BLA 區域進行神經活性之分析，雖然可能由於 n 值較少等因素，並未發現與先前研究結果相符的現象，我們仍認為 BLA 在癲癇孕成與抗癲癇藥物中扮演關鍵的角色。

藉由此項實驗之結果，可以推論麩胺酸神經活性過高及視丘下核過度活化，參與誘發癲癇發作；也指出 CA 對於治療癲癇之潛力 (圖 5)。

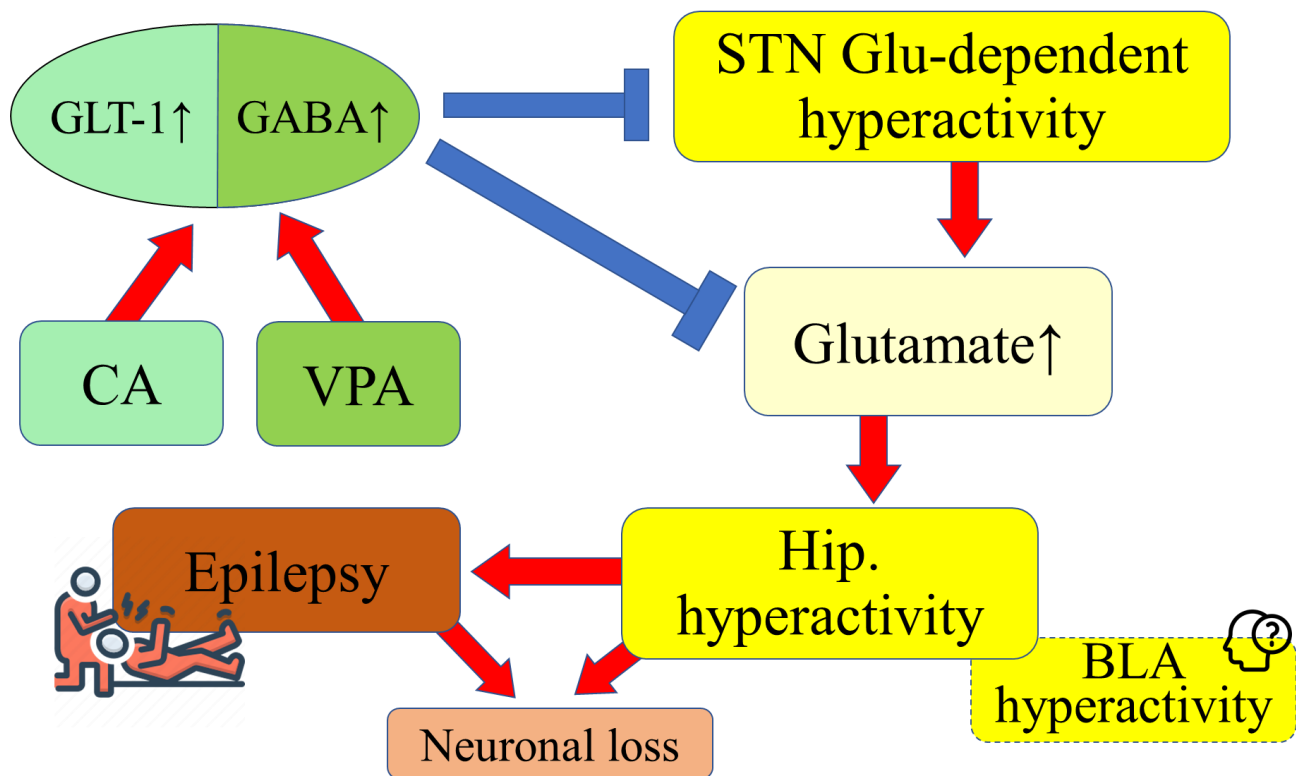


圖 5. 克拉維酸 (CA)與 VPA 合併治療癲癇之可能機轉。CA 促進 GLT-1 表現量，而 VPA 增加 GABA 表現量，以此雙管齊下達到抑制 STN 麩胺酸依賴性過度活化，及減少過多之麩胺酸，維持杏仁核神經活性，因此抑制後續產生之連鎖反應，進而抑制癲癇與神經減損。

(五) 參考文獻

- Aroniadou-Anderjaska, V., Qashu, F., & Braga, M. F. (2007). Mechanisms regulating GABAergic inhibitory transmission in the basolateral amygdala: implications for epilepsy and anxiety disorders. *Amino Acids*, 32(3), 305-315. <https://doi.org/10.1007/s00726-006-0415-x>
- Beleza, P. (2009). Refractory epilepsy: a clinically oriented review. *Eur Neurol*, 62(2), 65-71. <https://doi.org/10.1159/000222775>
- Chateauvieux, S., Morceau, F., Dicato, M., & Diederich, M. (2010). Molecular and therapeutic potential and toxicity of valproic acid. *J Biomed Biotechnol*, 2010. <https://doi.org/10.1155/2010/479364>
- Engelborghs, S., D'Hooge, R., & De Deyn, P. P. (2000). Pathophysiology of epilepsy. *Acta Neurol Belg*, 100(4), 201-213. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11233674>
- Kolahdouz, M., Jafari, F., Falanji, F., Nazemi, S., Mohammadzadeh, M., Molavi, M., & Amin, B. (2021). Clavulanic Acid Attenuating Effect on the Diabetic Neuropathic Pain in Rats. *Neurochem Res*, 46(7), 1759-1770. <https://doi.org/10.1007/s11064-021-03308-y>
- Luttjohann, A., Fabene, P. F., & van Luijckelaar, G. (2009). A revised Racine's scale for PTZ-induced seizures in rats. *Physiol Behav*, 98(5), 579-586.

<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.09.005>

- Mavridis, I., Boviatsis, E., & Anagnostopoulou, S. (2013). Anatomy of the human subthalamic nucleus: a combined morphometric study. *Anat Res Int*, 2013, 319710. <https://doi.org/10.1155/2013/319710>
- Organization, W. H. (2019). Epilepsy. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy>
- Racine, R. J. (1972). Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 32(3), 281-294. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(72\)90177-0](https://doi.org/10.1016/0013-4694(72)90177-0)
- Rasmussen, B., Unterwald, E. M., & Rawls, S. M. (2011). Glutamate transporter subtype 1 (GLT-1) activator ceftriaxone attenuates amphetamine-induced hyperactivity and behavioral sensitization in rats. *Drug Alcohol Depend*, 118(2-3), 484-488. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2011.03.022>
- Romoli, M., Mazzocchetti, P., D'Alonzo, R., Siliquini, S., Rinaldi, V. E., Verrotti, A., Calabresi, P., & Costa, C. (2019). Valproic Acid and Epilepsy: From Molecular Mechanisms to Clinical Evidences. *Curr Neuropharmacol*, 17(10), 926-946. <https://doi.org/10.2174/1570159X17666181227165722>
- Todd, P. A., & Benfield, P. (1990). Amoxicillin/clavulanic acid. An update of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs*, 39(2), 264-307. <https://doi.org/10.2165/00003495-199039020-00008>
- Usui, N., Maesawa, S., Kajita, Y., Endo, O., Takebayashi, S., & Yoshida, J. (2005). Suppression of secondary generalization of limbic seizures by stimulation of subthalamic nucleus in rats. *J Neurosurg*, 102(6), 1122-1129. <https://doi.org/10.3171/jns.2005.102.6.1122>
- Wang, C. Y., Cheng, C. W., Wang, W. H., Chen, P. S., & Tzeng, S. F. (2016). Postnatal Stress Induced by Injection with Valproate Leads to Developing Emotional Disorders Along with Molecular and Cellular Changes in the Hippocampus and Amygdala. *Mol Neurobiol*, 53(10), 6774-6785. <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9600-9>
- Wang, X., Du, J., Wang, D., Xu, C., Ren, Z., Wang, Y., Li, Y., Yu, T., & Ren, L. (2020). Long-term outcome of unilateral deep brain stimulation of the subthalamic nucleus for a patient with drug-resistant focal myoclonic seizure. *Ann Transl Med*, 8(1), 18. <https://doi.org/10.21037/atm.2019.12.43>
- 曾勝弘, 戴. 吳. 呂. 蔡. (2009). *Pathophysiology of Parkinson's disease and Mechanism of Deep Brain Stimulation Therapy*. <http://www.fma.org.tw/2009/S-18-2.html>