

· 药物代谢 ·

矿物药青礞石对PTZ点燃癫痫大鼠脑组织、血浆中金属元素的影响

刘圣金¹, 吴露婷¹, 马瑜璐¹, 房方¹, 卞勇¹, 单晨啸¹, 杨文国¹, 严辉¹, 张志杰²,
奥·乌力吉³, 段金廛^{1*}

(1. 南京中医药大学药学院, 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心,
中药资源产业化与方剂创新药物国家地方联合工程研究中心,
国家中医药管理局中药资源循环利用重点研究室, 南京 210023;

2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 3. 内蒙古民族大学, 内蒙古通辽 028000)

[摘要] 目的:研究青礞石对戊四氮(PTZ)点燃癫痫大鼠脑组织、血浆中金属元素的影响,探讨青礞石可能的效应物质基础。方法:采用PTZ点燃法建立癫痫大鼠模型,运用电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)和电感耦合等离子体发射光谱法(ICP-OES)测定空白组、模型组、卡马西平组(0.1 g·kg⁻¹)和青礞石组(2 g·kg⁻¹)大鼠脑组织、血浆中的金属元素含量,实验数据用SPSS 18.0软件进行统计学分析。结果:与空白组比较,模型组大鼠脑组织中Sr, Sb, Ba含量明显上升($P<0.05$, $P<0.01$); Zn, Fe, Cu, K, Li, Co, Sn, Pb含量明显下降($P<0.05$, $P<0.01$)。与模型组比较,青礞石组大鼠脑组织中Zn, Fe, K, Li, Co, As, Pb含量明显上升($P<0.05$, $P<0.01$); Sr, Sb含量显著下降($P<0.01$)。说明青礞石对大鼠脑组织中金属元素含量向正常水平的调节具有积极作用,干预效果明确,且总体效果优于卡马西平组。与空白组比较,模型组大鼠血浆中K, Sr, Cd含量明显上升($P<0.05$); Li, Al, Ti, Cr含量明显下降($P<0.05$)。与模型组比较,青礞石组大鼠血浆中Ca, K, Li, Al, V含量明显上升($P<0.05$, $P<0.01$); Fe, Ti, Sr, Cd含量明显下降($P<0.05$, $P<0.01$)。各组间金属元素相关性分析显示,大鼠脑组织中有17对元素存在显著正相关性,2对元素存在显著负相关性,大鼠血浆组织中有8对元素存在显著正相关性,6对元素存在显著负相关性。结论:以Zn, Fe, K, Li, Co, As, Pb, Sr, Sb, Ca, Al, V, Ti, Cd为代表的金属元素群可能是青礞石干预PTZ点燃癫痫模型大鼠的效应物质基础,作用机制可能与这些金属元素群干预影响神经递质的释放及神经元的电平衡、调节离子(Na⁺, K⁺, Ca²⁺等)通道失常诱发的异常同步放电及干预癫痫相关代谢通路等有关,使兴奋与抑制活动相互牵制,最终达到神经元、细胞电平衡等趋于正常生理状态。青礞石组的干预作用总体优于卡马西平组。

[关键词] 矿物药; 青礞石; 癫痫; 戊四氮(PTZ); 脑组织; 血浆; 金属元素; 物质基础

[中图分类号] R22; R969.1; R28; O614 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)11-0130-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20210178

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210115.0956.002.html>

[网络出版日期] 2021-1-15 14:02

Effect of Chloriti Lapis on Metal Elements in Brain and Plasma of PTZ-kindled Epileptic Rats

LIU Sheng-jin¹, WU Lu-ting¹, MA Yu-lu¹, FANG Fang¹, BIAN Yong¹, SHAN Chen-xiao¹,
YANG Wen-guo¹, YAN Hui¹, ZHANG Zhi-jie², AO Wu-li-ji³, DUAN Jin-ao^{1*}

(1. Key Laboratory of Chinese Medicinal Resources Recycling Utilization, National Administration of Traditional Chinese Medicine, National and Local Collaborative Engineering Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization and Formulae Innovative Medicine,

[收稿日期] 20200909(002)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81673566, 81303178); 全国矿物药资源普查项目(2019); 江苏省研究生科研与实践创新计划项目(KYCX18-1608); 2017年中医药公共卫生服务补助专项(财社[2017]66号)

[第一作者] 刘圣金, 博士, 副教授, 从事中药鉴定、品质评价及质量标准研究, Tel: 025-85811511, E-mail: lsj@njucm.edu.cn

[通信作者] * 段金廛, 博士, 教授, 从事中药资源化学与资源循环利用研究, Tel: 025-85811116, E-mail: dja@njucm.edu.cn

Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China;
2. *Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;* 3. *Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao 028000, China)*

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Chloriti Lapis on metal elements in brain tissue and plasma of epileptic rats kindled by pentylenetetrazol (PTZ), and to explore the possible material basis of Chloriti Lapis. **Method:** PTZ kindling method was used to establish epileptic rat model. Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) and inductively coupled plasma optical emission spectrometer (ICP-OES) were used to determine the contents of metal elements in brain tissue and plasma of the blank group, model group, carbamazepine group ($0.1 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) and Chloriti Lapis group ($2 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$). The data were statistically analyzed by SPSS 18.0 software. **Result:** Compared with the blank group, the contents of Sr, Sb and Ba in brain tissue of rats in the model group were significantly increased ($P<0.05$, $P<0.01$), while the contents of Zn, Fe, Cu, K, Li, Co, Sn and Pb were significantly decreased ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with the model group, the contents of Zn, Fe, K, Li, Co, As and Pb in brain tissue of rats in the Chloriti Lapis group were obviously increased ($P<0.05$, $P<0.01$), while the contents of Sr and Sb were significantly decreased ($P<0.01$). These results showed that Chloriti Lapis had positive effect on the regulation of the content of metal elements in rat brain tissue to normal level, the intervention effect was clear, and the overall effect was better than that of carbamazepine group. The determination of 21 metal elements in plasma showed that compared with the blank group, the levels of K, Sr and Cd in the model group were significantly increased ($P<0.05$), and the contents of Li, Al, Ti and Cr were significantly decreased ($P<0.05$). Compared with the model group, the contents of Ca, K, Li, Al and V in the Chloriti Lapis group were obviously increased ($P<0.05$, $P<0.01$), and the contents of Fe, Ti, Sr and Cd were significantly decreased ($P<0.05$, $P<0.01$). The correlation analysis of metal elements among the groups showed that there were 17 pairs of elements had positively correlation in the brain tissue of rats, 2 pairs of elements had significant negative correlation. In the plasma of rats, 8 pairs of elements had significant positive correlation and 6 pairs of elements had significant negative correlation. **Conclusion:** The metal element groups represented by Zn, Fe, K, Li, Co, As, Pb, Sr, Sb, Ca, Al, V, Ti and Cd may be the effective material basis for Chloriti Lapis to interfere PTZ-kindled epileptic model rats, which may be related to the influence of these metal element groups on the release of neurotransmitters and the electrical balance of neurons, the regulation of abnormal synchronous discharge induced by Na^+ , K^+ , Ca^{2+} channel disorders and intervention of metabolism pathways in brain tissue related to epilepsy. It can make the excitatory and inhibitory activities restrain each other, and finally reach the normal physiological state of neurons and cells. The intervention effect of Chloriti Lapis group was better than that of carbamazepine group.

[Key words] mineral medicines; Chloriti Lapis; epilepsy; pentylenetetrazol (PTZ); brain tissue; plasma; metal elements; material basis

青礞石按金属离子分类属于镁类矿物药,系变质岩类黑云母片岩或绿泥石化云母碳酸盐片岩,性平,味甘、咸,归肺、心、肝经,具有坠痰下气、平肝镇惊之功效,用于顽痰胶结、咳逆喘急、癫痫发狂、烦躁胸闷、惊风抽搐^[1-3]。其主要为含K, Mg, Fe, Al的硅酸盐,其中Si, Fe, Mg, Al, Ca, K, Na元素为主要成分,累积贡献率达90.7%,此外,还含有Ti, Mn, Zn, V, Co, Sn, Ni, P等金属元素^[4-6]。

癫痫的发病与体内金属元素的种类与含量密切相关^[7]。有研究表明,神经性疾病与金属离子(Mg^{2+} , Li^+ , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+})和金属蛋白(金属酶)紧密相关^[8-12]。这可能与上述微量元素在大脑中有较高的含量密切相关,例如,在大脑灰质中 Cu^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} 含量几乎与 Mg^{2+} 含量具有相同的数量级($0.1\sim 1.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。这些金属离子在各种金属蛋白(金属酶)中承担着重要的生物功能。同时,

这些金属元素如果在不适当的时间点或不适当的组织部位出现,即可能会对机体中的其他生物分子产生极大的毒性,导致蛋白质的聚集,或者受到金属催化引起分子的氧化损伤或失活等^[13]。中枢神经系统兴奋与抑制间的不平衡主要与离子通道、神经递质及神经胶质细胞的改变有关,离子通道功能异常包括 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 等通道异常,可引起神经细胞持续较长的去极化反应及爆发性放电^[14-16]。本实验在前期已对青礞石炮制工艺、质量标准及药效学研究的基础上,运用电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)和电感耦合等离子体发射光谱法(ICP-OES)研究青礞石对戊四氮点燃癫痫大鼠脑组织、血浆中金属元素的影响,进一步探索其可能的效应物质基础^[17-21]。

1 材料

Optima 2100DV型电感耦合等离子体发射光谱仪和NexION 350D型电感耦合等离子体质谱仪(美国PerkinElmer公司),SH230型石墨消解仪(济南海能仪器股份有限公司),ME104E型电子分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司),Direct-Q5型超纯水仪(德国Merck Millipore公司),LGJ-30型真空冷冻干燥机(上海创奕科教设备有限公司)。

青礞石药材由亳州矿石专营店提供,批号20140412,经南京中医药大学中药鉴定学教研室吴德康教授鉴定为青礞石Chloriti Lapis,经南京大学地球科学与工程学院孔庆友教授鉴定为变质岩类黑云母片岩Biotite Schist,样品留存于南京中医药大学中药鉴定学教研室。Zn(批号GSB 04-1741-2004),Fe(批号GSB 04-1726-2004),Mg(批号GSB 04-1735-2004),Ca(批号GSB 04-1720-2004),Cu(批号GSB 04-1756-2004)和K(批号GSB 04-1769-2004)单元素对照品溶液;含Li,Be,Al,Ti等24种元素的混合对照品溶液(批号GSB 04-1767-2004);含Sc,Y,In等7种元素的多元素内标溶液(批号GSB 04-2826-2011);以上溶液均由国家有色金属及电子材料分析测试中心提供。戊四氮(PTZ,美国Sigma公司,批号1001603974),聚乙二醇400(PEG400,无锡市亚泰联合化工有限公司,批号20150420),卡马西平片(北京诺华制药有限公司,国药准字H11022279,批号20150316),水为超纯水,硝酸、过氧化氢为优级纯,其他试剂均为分析纯。

清洁级雄性SD大鼠50只,体质量200~220 g,购于浙江省实验动物中心,合格证号SCXK(浙)2014-0001。大鼠在适宜条件下适应性喂养1周,自

由饮食。本文涉及的动物实验经南京中医药大学伦理委员会审核通过,批准号ACU140608。

2 方法

2.1 PTZ点燃癫痫大鼠模型的制备^[20-25] 大鼠称质量后,按亚致惊剂量 $35.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给大鼠腹腔注射 $0.01 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ PTZ,每日1次,持续4周。大鼠痫性发作分级采用Racine标准^[26-27]。停药1周后,再次按同剂量注射PTZ,观察大鼠状态,凡显示连续5次Ⅱ级或Ⅱ级以上惊厥的大鼠被认为达到点燃标准。

2.2 分组及给药 动物共分成4组,将生理盐水处理的大鼠作为空白组,造模成功的大鼠随机均分为3组,分别为模型组、卡马西平组、青礞石组。按照人和动物体表面积折算等效剂量,空白组及模型组灌胃给予生理盐水($5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$);卡马西平组灌胃给予卡马西平溶液($0.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$);青礞石组灌胃给予青礞石粉末混悬液($2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),连续给药4周。每周根据体质量调整用药剂量2次。

2.3 给药样品制备 取青礞石药材适量,置玛瑙研钵中研磨成粉末,过六号筛,用PEG400调匀,使每10 mL的PEG400含青礞石粉末5 g,作为青礞石组的给药溶液。用生理盐水配制成每100 mL含卡马西平2 g的溶液,作为卡马西平组的给药溶液。每次给药前超声混匀。

2.4 样品采集及处理

2.4.1 脑组织样品 最后一次给药2 h后处死大鼠,于冰袋上断头取脑,水洗净后滤纸吸干多余水分, $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存待测。样品分析前,取出脑组织剪碎,冷冻干燥48 h,研钵粉碎,过五号筛,备用。取干燥过的脑组织粉末0.05 g于15 mL离心管中,加入硝酸500 μL 预消解12 h,放入石墨消解仪,设定温度 $110 \text{ }^\circ\text{C}$,消解3 h(消解1.5 h时加入20%过氧化氢水溶液100 μL)。消解完全后,冷却至室温,加水定容至5 mL。

2.4.2 血浆样品 最后1次给药2 h后,大鼠进眼眶取血,血液置于肝素钠化的离心管中, $3\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心10 min(离心半径16 cm),取上清, $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存待测。样品分析前,室温解冻,取血浆100 μL 置于15 mL离心管中,加入硝酸250 μL 预消解12 h,放入石墨消解仪 $110 \text{ }^\circ\text{C}$ 消解2 h(消解1 h时加入体积分数约为15%的过氧化氢水溶液50 μL)。消解完全后,冷却至室温,加水定容至5 mL。

2.5 检测条件

2.5.1 ICP-OES分析条件 分析含量较高的Zn, Fe, Mg, Ca, Cu, K共6种元素。仪器工作参数设定

为雾化气流量 $0.8 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, 辅助气流量 $0.2 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, 射频(RF)功率 1300 W , 冷却气流量 $1.5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, 雾化器压力 186.17 kPa , 读数重复数 1 次, 蠕动泵提取样品量 $1.5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 观测方式为轴向观测。Zn, Fe, Mg, Ca, Cu, K 的检测波长分别为 $213.9, 238.2, 285.2, 317.9, 327.4, 766.5 \text{ nm}$ 。

2.5.2 ICP-MS 分析条件 分析含量较低的 Li, Be, Al, Ti, V, Cr, Mn, Co, Ni, As, Sr, Cd, Sn, Sb, Ba, Pb 共 16 种元素。根据被测元素的原子质量及性质, 选定 3 种元素(^{45}Sc , ^{89}Y , ^{115}In)作为内标, 用以校正基体效应引起的干扰, 保证结果准确, 采用在线加入法加入内标, 内标溶液采用 3% 硝酸稀释至质量浓度为 $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。仪器工作参数为雾化气流量设定 $0.92 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, 辅助气流量 $1.2 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, 等离子体气流量 $15 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, RF 功率 1100 W , 模拟电压 -1650 V , 脉冲电压 800 V , 甄别阈电压 12 V , 偏转板电压设定 -12 V , 扫描模式设置为跳峰, 扫描数/读数设定为 20 次/1 次, 重复数 3 次。Li 和 Be 分析模式为 Standard, 内标元素为 ^{45}Sc ; Al, Ti, V, Cr, Mn, Co, Ni, As, Sr 分析模式为动能分布(KED)(碰撞反应气为氦气, 流量 $3 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$), 内标为 ^{89}Y ; Cd, Sn, Sb, Ba, Pb 分析模式为 Standard, 内标元素为 ^{115}In 。

2.6 方法学验证

2.6.1 标准曲线的制备 将 Zn, Fe, Mg, Ca, Cu, K 共 6 种元素用 3% 硝酸配制质量浓度均为 $0.2, 1, 2, 4, 10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合对照品溶液, 按 2.5.1 项下条件测定。以待测元素分析峰响应值为纵坐标。Li, Be, Al 等 16 种元素用 3% 硝酸配制质量浓度均为 $0.5, 1, 5, 10, 20, 50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合对照品溶液, 按 2.5.2 项下条件测定。以待测元素分析峰响应值和内标元素参比峰响应值的比值为纵坐标。各元素均以质量浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 计算回归方程。

2.6.2 检出限 按 2.4 项下样品消解步骤同法制备空白溶液, 分别按 2.5.1 和 2.5.2 项下条件连续测定空白溶液 10 次, 以其响应值 3 倍的标准偏差除以标准曲线的斜率即为检出限。

2.6.3 精密度试验 对同一脑组织消解样品按 2.5 项下条件平行测量 6 次, 计算各元素响应值的 RSD。

2.6.4 重复性试验 取一份脑组织样品, 按 2.4 项下方法平行制备 6 份待测样品, 分别按 2.5.1 和 2.5.2 项下条件测定, 计算各元素含量及其 RSD。

2.6.5 加样回收试验 随机选取 1 份脑组织样品作为回收率研究对象, 精密称取该样品 9 份, 其中 3 份加入质量浓度为 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Zn, Fe, Mg, Ca, Cu,

K 混合对照品溶液 0.1 mL ; 另取 3 份加入质量浓度为 $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的含 Li, Be, Al 等 16 种元素的混合对照品溶液 0.1 mL , 剩余 3 份不加任何对照品溶液, 依据 2.4.1 项下方法处理样品, 按 2.5 项下条件测定, 计算各元素的回收率。

2.7 数据处理及分析 采用 SPSS 18.0 软件进行统计学分析, 经方差齐性检验后, 采用 *t* 检验分析两组间的差异, 多组间比较采用单因素方差分析法。所有指标结果均以 $\bar{x}\pm s$ 表示, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 方法学验证 各元素回归方程的相关系数(*r*)均 ≥ 0.9993 ; 精密度试验中各元素响应值的 RSD 在 $0.2\%\sim 5.1\%$; 重复性试验中各元素含量的 RSD 在 $0.1\%\sim 5.6\%$; 除元素 Ba 加样回收率为 140.19% 外, 其他各元素的加样回收率在 $88.91\%\sim 116.87\%$ 。说明样品分析系统稳定性及样品处理的重复性均较好。见表 1。

3.2 大鼠脑组织中金属元素含量的测定 与空白组比较, 模型组大鼠脑组织中 Sr, Sb, Ba 质量浓度明显上升($P<0.05, P<0.01$); Zn, Fe, Cu, K, Li, Co, Sn, Pb 质量浓度明显下降($P<0.05, P<0.01$)。与模型组比较, 青礞石组大鼠脑组织中 Zn, Fe, K, Li, Co, As, Pb 质量浓度明显上升($P<0.05, P<0.01$); Sr, Sb 质量浓度显著下降($P<0.01$); 且金属元素 Mg, Ca, Cu, Mn, Ba, Be, Al, Ti, V, Cr, Ni 的质量浓度有向空白组水平发展的趋势, 说明青礞石对大鼠脑组织中金属元素含量向正常水平的调节具有积极作用, 干预效果明确, 且总体效果优于卡马西平组。金属元素群 Zn, Fe, K, Li, Co, As, Pb, Sr, Sb 可能是青礞石干预 PTZ 点燃癫痫大鼠脑组织的效应物质。见表 2。

3.3 大鼠血浆中金属元素含量的测定 与空白组比较, 模型组大鼠血浆中 K, Sr, Cd 质量浓度明显上升($P<0.05$); Li, Al, Ti, Cr 含量水平明显下降($P<0.05$)。与模型组比较, 青礞石组大鼠血浆中 Ca, K, Li, Al, V 质量浓度明显上升($P<0.05, P<0.01$); Fe, Ti, Sr, Cd 质量浓度明显下降($P<0.05, P<0.01$)。卡马西平组除 Cd 元素有显著向空白组发展趋势的影响外, 其他尚未有明显积极的调节作用。说明青礞石、卡马西平对 PTZ 点燃癫痫大鼠血浆中的金属元素干预作用效果不及对脑组织的干预效果。从对大鼠血浆金属元素含量测定来看, 金属元素群 Ca, K, Li, Al, V, Fe, Ti, Sr, Cd 可能是青礞石干预 PTZ 点燃癫痫大鼠的效应物质。此外, 大鼠血浆中 Zn, K

表1 大鼠脑组织、血浆中各元素含量测定的方法学考察

Table 1 Methodological study on determination of elements in brain tissue and plasma of rats

元素	回归方程	r	检出限	精密度 RSD/%	重复性 RSD/%	加样回收率/%
Zn	$Y=650.2X+19.79$	1.000 0	0.737 mg·L ⁻¹	1.8	2.8	107.12
Fe	$Y=2\ 531.8X-181.3$	0.999 9	0.925 mg·L ⁻¹	2.9	0.1	104.13
Mg	$Y=3.83\times 10^5X-1\ 936$	0.999 9	0.007 mg·L ⁻¹	1.6	1.4	99.31
Ca	$Y=1.4\times 10^5X-8\ 496.4$	0.999 9	0.294 mg·L ⁻¹	2.4	5.5	89.87
Cu	$Y=2.81\times 10^5X-3\ 929.4$	0.999 9	0.006 mg·L ⁻¹	1.3	0.9	108.38
K	$Y=7.03\times 10^5X-63\ 623$	0.999 6	0.151 mg·L ⁻¹	0.4	0.7	116.87
Li	$Y=0.322X+0.238$	0.999 9	0.020 μg·L ⁻¹	1.1	2.5	101.08
Be	$Y=0.077X+0.001$	1.000 0	<0.001 μg·L ⁻¹	5.1	2.0	95.21
Al	$Y=0.021X+0.314$	1.000 0	1.726 μg·L ⁻¹	0.3	4.1	114.22
Ti	$Y=0.012X-0.002$	0.999 9	0.201 μg·L ⁻¹	1.4	4.2	96.85
V	$Y=0.317X-0.001$	1.000 0	0.007 μg·L ⁻¹	2.6	2.9	101.52
Cr	$Y=0.383X+0.049$	1.000 0	0.068 μg·L ⁻¹	1.4	0.6	104.00
Mn	$Y=0.303X-0.045$	1.000 0	0.080 μg·L ⁻¹	0.5	4.4	98.60
Co	$Y=0.815X+0.046$	1.000 0	0.003 μg·L ⁻¹	2.2	1.2	100.54
Ni	$Y=0.220X+0.040$	1.000 0	0.018 μg·L ⁻¹	1.1	2.2	101.53
As	$Y=0.039X+0.069$	0.999 5	0.145 μg·L ⁻¹	2.8	1.7	112.94
Sr	$Y=0.536X+0.122$	1.000 0	0.028 μg·L ⁻¹	3.0	0.3	107.07
Cd	$Y=0.074X+0.001$	1.000 0	0.003 μg·L ⁻¹	0.6	1.9	105.40
Sn	$Y=0.240X+0.022$	1.000 0	0.005 μg·L ⁻¹	1.3	2.2	88.91
Sb	$Y=0.235X+0.005$	1.000 0	0.004 μg·L ⁻¹	0.5	2.0	113.27
Ba	$Y=0.628\ 6X+6.357\ 5$	0.999 3	0.010 μg·L ⁻¹	0.4	0.7	140.19
Pb	$Y=0.648X+0.144$	0.999 4	0.091 μg·L ⁻¹	0.2	5.6	107.30

含量的增加可能导致脑组织对 Zn, K 吸收富集量的增加, 进而对脑组织中 Zn 和 K 含量的调节产生积极作用。见表 3。

3.4 大鼠脑组织、血浆中金属元素的相关性分析
大鼠脑组织中 22 种金属元素相关性分析见表 4。结果表明大鼠脑组织中有 17 对元素存在显著正相关性, 即 Zn-Mg, Zn-K, Zn-Li, Zn-Al, Zn-Co, Zn-As, Mg-K, K-Co, Al-Li, Cr-V, Co-Li, Co-Al, As-Mg, As-K, As-Co, Sn-Cd, Pb-Mn ($P<0.05$, $P<0.01$); 2 对元素存在显著负相关性, 即 Sr-As, Ba-Ni ($P<0.05$)。大鼠血浆中 21 种元素相关性分析见表 5。结果表明大鼠血浆组织中有 8 对元素存在着显著正相关性, 即 Ca-Mg, Cu-Mg, Cu-Ca, K-Mg, Al-Li, Ti-Mg, Ni-Cr, Pb-Ni ($P<0.05$, $P<0.01$); 6 对元素存在显著负相关性, 即 Zn-Fe, Ti-Ca, Ti-Cu, Ti-K, Sn-Cd, Sb-Li ($P<0.05$)。机体的健康状态与体内无机元素的动态平衡有着重要关系, 元素的缺失与过剩均可能导致疾病的发生。以上结果说明机体内的无机元素大多是相互

联系的, 各元素之间可能相互协同促进或相互拮抗抑制。

4 讨论

现代医学证实, 微量元素能调节机体中各种生物酶活性、促进元素在人体内的运输并参与激素的合成, 对人类疾病的发生和发展都起着重要的作用。通过对脑组织中 22 种元素的含量分析可知, 与空白组比较, 模型组大鼠脑组织中 11 种元素 (Zn, Fe, Cu, K, Li, Co, Sn, Pb, Sr, Sb, Ba) 的含量水平发生明显变化 ($P<0.05$, $P<0.01$); 经青礞石干预后, 9 种金属元素 (Zn, Fe, K, Li, Co, As, Pb, Sr, Sb) 的含量水平发生明显变化 ($P<0.05$, $P<0.01$), 11 种金属元素 (Mg, Ca, Cu, Mn, Ba, Be, Al, Ti, V, Cr, Ni) 有往正常水平发展的趋势。通过对血浆组织中 21 种元素的含量分析可知, 与空白组比较, 模型组大鼠血浆中 7 种元素 (K, Sr, Cd, Li, Al, Ti, Cr) 的水平发生明显变化 ($P<0.05$); 经青礞石干预后, Ca, K, Li, Al, V 水平明显上升和 Fe, Ti, Sr, Cd 水平明显下降 ($P<$

表 2 各元素在 4 组大鼠脑组织中的质量浓度 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Concentrations of each element in brain tissue of rats in four group ($\bar{x}\pm s$)

元素	质量浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$			
	空白组($n=10$)	模型组($n=7$)	卡马西平组($n=10$)	青礞石组($n=10$)
Zn ³⁾	138.4±16.9 ¹⁾	119.8±13.5	123.2±12.9	138.3±10.3 ¹⁾
Fe ³⁾	1 967.3±467.3 ¹⁾	1 277.6±232.7	1 924.5±369.3 ¹⁾	2 410.7±392.2 ²⁾
Mg ³⁾	735.6±45.5	710.7±39.6	726.6±14.4	730.2±32.0
Ca ³⁾	352.7±57.9	309.9±11.7	297.2±30.8	320.8±36.8
Cu ³⁾	10.1±0.6 ¹⁾	9.34±0.29	9.8±0.5	9.4±0.5
K ³⁾	21 635.5±1 414.7 ¹⁾	19 870.1±616.2	20 854.5±746.9	21 301±1 188.5 ¹⁾
Li	83.8±11.5 ¹⁾	64.8±3.1	69.6±13.2	85.4±13.7 ¹⁾
Be	0.05±0.02	0.04±0.02	0.04±0.01	0.09±0.05
Al ³⁾	1.95±1.34	1.36±0.26	1.55±1.05	2.04±1.66
Ti	3 155.3±44.00	3 108.2±310.2	3 223.6±180.1	3 263.1±335.6
V	13.3±5.0	11.5±2.4	10.4±1.5	14.9±4.3
Cr	476.4±170.8	393.3±142.9	376.9±74.6	563.4±228.7
Mn	2 100.4±150.9	2 000.7±113.8	1 931.8±100.7	2 072.3±378.5
Co	23.3±2.3 ²⁾	18.9±1.9	20.4±1.9	22.8±2.4 ¹⁾
Ni	209.9±132.0	182.2±71.4	272.0±154.0	215.6±100.5
As	947.0±330.3	652.8±205.5	839.9±180.7	964.9±187.2 ¹⁾
Sr	184.0±45.4 ²⁾	321.5±89.3	190.4±59.7 ²⁾	168.0±39.5 ²⁾
Cd	3.8±0.4	3.1±0.7	2.9±0.4	2.9±0.6
Sn	29.1±4.2 ²⁾	13.8±4.3	8.0±1.7 ¹⁾	10.9±4.4
Sb	4.4±1.6 ¹⁾	6.2±0.9	1.6±0.5 ²⁾	2.4±1.1 ²⁾
Ba	162.0±39.0 ¹⁾	243.0±53.7	73.3±18.4 ²⁾	189.7±86.9
Pb	94.1±4.8 ²⁾	67.0±4.7	59.3±9.5	84.8±8.6 ¹⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;³⁾此行数据单位 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,卡马西平组和青礞石组的给药剂量分别为 $0.1, 2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (表 3 同)。

0.05, $P<0.01$)。综合分析,以 Zn, Fe, K, Li, Co, As, Pb, Sr, Sb, Ca, Al, V, Ti, Cd 为代表的金属元素群可能是青礞石干预 PTZ 癫痫模型大鼠的效应物质基础。

癫痫患者存在微量元素失衡。这种稳态失衡既可能是疾病造成的继发性结果(代谢因素),也可能是原发性因素引起的(遗传因素),药物治疗也是影响体内元素发生再分布的重要原因(药物因素)。癫痫患者体内存在微量元素含量异常,癫痫的发生、发展与微量元素失衡有关^[28-29]。Zn 的作用相当于海马兴奋性突触的一种强抑制剂,能维持神经递质功能正常,缺乏时可影响大脑机制障碍^[30]。在脑内,Zn 有 2 种主要的存在形式(即有 2 个 Zn 池),一种是与其他蛋白形成复合物,另一种是小泡内的游

表 3 各元素在 4 组大鼠血浆中的质量浓度 ($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Concentrations of each elements in plasma of rats in four group ($\bar{x}\pm s$)

元素	质量浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$			
	空白组($n=10$)	模型组($n=7$)	卡马西平组($n=10$)	青礞石组($n=10$)
Zn ³⁾	4.56±0.80	4.11±0.98	4.57±0.94	5.79±0.86
Fe ³⁾	33.71±1.85	34.45±1.20	31.20±2.80	24.03±5.71 ²⁾
Mg ³⁾	19.81±1.50	21.03±2.93	22.11±0.69	22.83±1.44
Ca ³⁾	92.69±1.23	99.40±6.66	103.36±8.36	113.33±10.06 ²⁾
Cu ³⁾	2.14±0.47	2.28±0.40	2.47±0.42	2.65±0.50
K ³⁾	241.76±26.92 ¹⁾	280.74±31.60	299.66±27.77	310.14±21.86 ¹⁾
Li	19.33±7.24 ¹⁾	13.22±2.42	12.74±1.96	18.64±3.46 ¹⁾
Be	0.04±0.02	0.05±0.01	0.03±0.03	0.05±0.03
Al ³⁾	1.10±0.71 ¹⁾	0.49±0.14	0.54±0.26	1.02±0.43 ¹⁾
Ti	80.09±9.93 ¹⁾	66.70±11.09	56.31±11.88 ¹⁾	48.17±7.70 ²⁾
V	7.38±1.26	7.06±0.80	5.62±0.93 ¹⁾	9.91±1.34 ²⁾
Cr	296.67±69.34 ¹⁾	174.52±86.27	70.02±63.01 ¹⁾	212.51±44.25
Mn	47.28±23.20	50.22±27.63	34.98±9.01	58.60±28.64
Co	0.92±0.03	0.95±0.03	0.84±0.02	0.88±0.02
Ni	26.40±8.27	23.09±4.05	18.40±7.37	24.94±4.94
As	25.54±7.08	27.60±7.39	24.71±7.10	28.70±7.61
Sr	48.00±5.60 ¹⁾	55.91±3.29	51.76±6.38	47.13±4.18 ²⁾
Cd	0.73±0.20 ¹⁾	1.32±0.23	0.86±0.20 ¹⁾	0.87±0.38 ¹⁾
Sn	2.77±0.95	2.42±0.63	2.63±1.19	2.62±0.78
Sb	0.29±0.09	0.35±0.09	0.38±0.03	0.27±0.08
Pb	29.32±14.50	27.60±11.63	16.20±8.17 ¹⁾	29.88±9.80

离 Zn(亦称可螯合 Zn)。脑内大约有 80% 的 Zn 与金属蛋白结合,20% 左右的 Zn 存在于突触小泡中。突触 Zn 则与 γ -氨基丁酸(GABA),甘氨酸和谷氨酸能神经元共定位。Zn 在氧化诱导的神经元和胶质细胞死亡中起着关键作用,胞内 Zn 离子释放可导致星形胶质细胞自噬、使摄取谷氨酸的能力受损。脑先天性发育异常和癫痫敏感性增强的研究也强调了突触 Zn 的重要性,Zn 在癫痫的发生和发展中具有复杂的作用^[28,31-33]。缺 Zn 的食物能引起兴奋性神经递质谷氨酸增多和抑制性神经递质 GABA 的浓度下降,从而成为癫痫易感性增高的原因之一^[34-35]。有研究发现,癫痫患儿全血中 Zn 浓度低于健康儿童。Zn 和 Cu 也是脑内 Na^+, K^+ -三磷酸腺苷(ATP)酶最强的抑制剂,Zn 的代谢缺陷导致脑内神经性递质减少,同时也干扰 Na^+, K^+ -ATP 酶活性,进而改变神经元的兴奋性,引起癫痫发作^[36]。青礞石组大鼠血浆、脑组织中 Zn 含量均明显高于模型组,可能参与

表4 大鼠给予青礞石干预后脑组织中22种金属元素的相关性分析

Table 4 Correlation analysis of 22 kinds of metal elements in rat brain tissue after intervention of Chloriti Lapis

元素	Zn	Fe	Mg	Ca	Cu	K	Li	Be	Al	Ti	V	Cr	Mn	Co	Ni	As	Sr	Cd	Sn	Sb	Ba	Pb	
Zn	1.0																						
Fe	0.9	1.0																					
Mg	1.0 ¹⁾	0.8	1.0																				
Ca	0.6	0.3	0.6	1.0																			
Cu	0.5	0.3	0.7	0.5	1.0																		
K	1.0 ²⁾	0.8	1.0 ²⁾	0.7	0.7	1.0																	
Li	1.0 ¹⁾	0.8	0.9	0.7	0.3	0.9	1.0																
Be	0.7	0.8	0.4	0.2	-0.3	0.5	0.8	1.0															
Al	1.0 ¹⁾	0.9	0.9	0.7	0.3	0.9	1.0 ²⁾	0.8	1.0														
Ti	0.6	0.9	0.6	-0.2	0.03	0.6	0.52	0.70	0.58	1.00													
V	0.7	0.7	0.5	0.6	-0.2	0.6	0.9	0.9	0.9	0.4	1.0												
Cr	0.8	0.8	0.6	0.5	-0.1	0.6	0.9	0.9	0.9	0.5	1.0 ¹⁾	1.0											
Mn	0.7	0.4	0.5	0.9	0.1	0.6	0.8	0.6	0.8	-0.02	0.9	0.8	1.0										
Co	1.0 ¹⁾	0.8	0.9	0.8	0.5	1.0 ¹⁾	1.0 ¹⁾	0.6	1.0 ¹⁾	0.5	0.8	0.8	0.8	1.0									
Ni	0.2	0.4	0.4	-0.4	0.5	0.32	-0.03	-0.1	0.03	0.6	-0.4	-0.3	-0.6	0.06	1.0								
As	1.0 ²⁾	0.9	1.0 ¹⁾	0.5	0.51	0.97 ¹⁾	0.9	0.7	1.0	0.7	0.7	0.8	0.6	1.0 ¹⁾	0.3	1.0							
Sr	-0.9	-0.9	-0.9	-0.3	-0.56	-0.92	-0.8	-0.5	-0.8	-0.8	-0.5	-0.6	-0.3	-0.8	-0.6	-1.0 ¹⁾	1.0						
Cd	0.4	-0.9	0.5	0.9	0.70	0.46	0.4	-0.3	0.3	-0.5	0.1	0.06	0.6	0.5	-0.3	0.3	0.1	1.0					
Sn	0.4	-0.04	0.4	0.9	0.59	0.48	0.5	-0.1	0.4	-0.5	0.3	-0.2	0.7	0.5	-0.4	0.3	-0.1	1.0 ¹⁾	1.0				
Sb	-0.5	-0.8	-0.6	0.3	-0.29	-0.52	-0.4	-0.4	-0.4	-0.9	-0.06	-0.2	0.3	-0.4	-0.9	-0.6	0.8	0.4	0.5	1.0			
Ba	-0.3	-0.4	-0.5	0.2	-0.67	-0.42	0.03	0.2	-0.08	-0.5	0.4	0.3	0.5	-0.2	-1.0 ¹⁾	-0.4	0.6	0.06	0.2	0.8	1.0		
Pb	0.8	0.5	0.7	0.9	0.32	0.73	0.9	0.5	0.8	0.06	0.8	0.8	1.0 ¹⁾	0.9	-0.4	-0.7	-0.5	0.7	0.8	0.1	0.3	1.0	

注: ¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01(表5同)。

干预了相关神经递质、离子通道等复杂的过程。

Li是参与人体代谢的一种重要的微量元素,有镇静作用,一旦缺乏则引起神经元兴奋性增高,引发癫痫,与癫痫的发作具有密切关系^[37-38]。本文研究显示,给予青礞石干预后,PTZ点燃癫痫大鼠脑组织、血浆中Li的含量均较模型组显著提高。脑部外伤和脑部血管病变引起的癫痫可能与血红蛋白中Fe离子释放有关,在动物脑部注射极微量Fe即能诱发癫痫^[39]。与脑部外伤或脑部注射Fe离子引起的癫痫不同,在本实验中发现,模型组大鼠脑组织中的Fe含量显著低于空白组,给药后,卡马西平组、青礞石组均能增加Fe的含量,并恢复正常水平;但在大鼠血浆中,模型组的Fe含量最高,青礞石组含量最低。说明脑组织中Fe的含量适当升高对癫痫的发作、发展具有抑制作用。青礞石干预后,有利于促进Fe元素在脑组织的分布,这种促进作用可能与青礞石所含的其他金属元素有关,可起到脑组织对Fe元素吸收的相互协同作用。同时,与血浆中青礞

石组Fe元素含量最低的结果相呼应。Cr缺乏时易出现脑功能及末梢神经障碍,补充Cr后可以改善。据文献报道,癫痫患者头发中Cr含量减少占79.3%^[37]。此外,癫痫的发生还与Co,Cu,Sr和Sb等元素有密切的联系^[40]。

本实验中发现,模型组大鼠脑组织中的Pb含量较空白组显著下降(血浆中有下降趋势,但无显著性差异),模型组大鼠血浆中Cd含量较空白组显著升高(脑组织中有下降趋势,但无显著性差异),经青礞石干预后均趋于空白组水平。被认为是有害重金属的Pb,Cd的代谢对PTZ点燃大鼠癫痫的发作、发展也有重要的影响。在癫痫发展过程中,Pb和Cd的代谢发生了紊乱,在脑内维持一定的Pb浓度有利于抑制癫痫的发作。

癫痫的发作、发展与体内金属离子的代谢紊乱密切相关。青礞石主要含有金属元素,且多以离子形式存在,对体内脑组织、血液中金属离子的吸收、分布、代谢具有重要的调节作用。青礞石对癫痫的

表5 大鼠给予青礞石干预后血浆中21种金属元素的相关性分析

Table 5 Correlation analysis of 21 kinds of metal elements in rat plasma after intervention of Chloriti Lapis

元素	Zn	Fe	Mg	Ca	Cu	K	Li	Be	Al	Ti	V	Cr	Mn	Co	Ni	As	Sr	Cd	Sn	Sb	Pb			
Zn	1.00																							
Fe	-0.97 ¹⁾	1.00																						
Mg	0.67	-0.82	1.00																					
Ca	0.80	-0.92	0.96 ¹⁾	1.00																				
Cu	0.78	-0.90	0.99 ¹⁾	0.99 ¹⁾	1.00																			
K	0.53	-0.71	0.98 ¹⁾	0.92	0.94	1.00																		
Li	0.59	-0.40	-0.20	0.02	-0.04	-0.36	1.00																	
Be	0.28	-0.26	0.08	0.29	0.12	0.09	0.31	1.00																
Al	0.61	-0.41	-0.18	0.02	-0.02	-0.35	0.99 ²⁾	0.20	1.00															
Ti	-0.67	0.82	1.00 ²⁾	-0.97 ¹⁾	-0.99 ¹⁾	-0.99 ¹⁾	0.20	-0.11	0.19	1.00														
V	0.82	-0.75	0.35	0.59	0.47	0.25	0.71	0.75	0.66	-0.36	1.00													
Cr	0.17	0.04	-0.58	-0.35	-0.46	-0.68	0.86	0.48	0.82	0.57	0.54	1.00												
Mn	-0.57	-0.51	0.16	0.41	0.25	0.11	0.61	0.93	0.52	-0.18	0.94	0.61	1.00											
Co	-0.44	0.52	-0.64	0.50	-0.64	-0.57	0.14	0.67	0.04	0.62	0.16	0.56	0.47	1.00										
Ni	0.28	-0.10	-0.43	-0.18	-0.31	-0.52	0.86	0.64	0.79	0.42	0.69	0.98 ¹⁾	0.77	0.62	1.00									
As	0.53	-0.55	0.41	0.60	0.45	0.40	0.28	0.94	0.19	-0.43	0.85	0.28	0.93	0.38	0.48	1.00								
Sr	-0.78	0.63	-0.13	-0.26	-0.28	0.06	-0.87	0.05	-0.91	0.11	-0.59	-0.51	-0.32	0.37	-0.49	-0.07	1.00							
Cd	-0.47	0.33	0.04	0.01	-0.08	0.20	-0.62	0.52	-0.71	-0.06	-0.12	-0.28	0.17	0.57	-0.17	0.43	0.87	1.00						
Sn	0.32	-0.14	-0.27	-0.23	-0.16	-0.43	0.68	-0.48	0.76	0.29	0.07	0.44	-0.16	-0.37	0.30	-0.48	-0.83	-0.97 ¹⁾	1.00					
Sb	-0.69	0.53	0.04	-0.22	-0.12	0.18	-0.95 ¹⁾	-0.56	-0.92	0.03	-0.89	-0.83	-0.81	-0.23	-0.89	-0.56	0.78	0.41	-0.44	1.00				
Pb	0.30	-0.16	-0.28	-0.03	-0.18	-0.34	0.73	0.84	0.64	0.27	0.77	0.88	0.90	0.71	0.96 ¹⁾	0.70	-0.32	0.09	0.03	0.08	1.00			

发生、发展具有复杂的干预活动,可能与相关金属蛋白(酶)结合,或影响神经递质的释放及神经元的电平衡,或调节离子(Na⁺,K⁺,Ca²⁺等)通道失常诱发的异常同步放电及干预癫痫相关的代谢通路等,使兴奋与抑制活动相互牵制,达到神经元、细胞内电平衡等正常生理状态。综上分析,青礞石中所含金属离子的种类、含量(含不同价态)及相对比例可能是其发挥作用的关键因素,本研究可为中医痰症癫痫的理论阐释及临床治疗提供参考^[41]。矿物药研究涉及矿物学、地质学等学科,研究难度较大,但加强基础研究对矿物药资源的挖掘、开发和利用具有重要意义。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:207-208.
[2] 江苏新医学院. 中药大辞典:下册[M]. 上海:上海人民出版社,1977.
[3] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草

[M]. 上海:上海科学技术出版社,2002.

[4] 赵明. 矿物学导论[M]. 北京:地质出版社,2016.
[5] 刘圣金,吴德康,林瑞超,等. 矿物药青礞石无机元素的ICP-MS分析[J]. 药物分析杂志,2010,30(11):2067-2074.
[6] 刘圣金,吴德康,林瑞超,等. 矿物药青礞石、煅青礞石无机元素的ICP-MS分析[J]. 中国药房,2011,22(19):1777-1780.
[7] 秦俊法. 微量元素与癫痫(1)[J]. 广东微量元素科学,2016,23(7):1-5.
[8] 孙红哲,陈嵘,支志明. 金属在生物和医学中的作用[J]. 化学进展,2002,14(4):257-262.
[9] 任榕娜. 钙稳态失调与癫痫[J]. 医学综述,2001,7(8):465-466.
[10] 余琴,余巨明. 基质金属蛋白酶-9与癫痫[J]. 川北医学院学报,2012,27(2):190-194.
[11] 李冬平,曾常茜. 钾离子通道在癫痫发病机制中的研究进展[J]. 国际神经病学神经外科学杂志,2008,35(5):452-454.
[12] 唐仕强. 癫痫与镁离子相关性的研究进展[J]. 中国临床新医学,2002,2(8):885-887.

- [13] 黄仲贤. 金属蛋白研究中几个值得注意的动向[J]. 化学进展, 2002, 14(4): 318-322.
- [14] 金戈, 朱美达, 于洪娟. 癫痫的发病机制研究进展[J]. 沈阳医学院学报, 2012, 14(2): 111-113.
- [15] HEINEMAN U, HAMON B. Calcium and epileptogenesis[J]. Exp Brain Res, 2011, 65(1): 1-10.
- [16] BALAKRISHNAN S, MATHEW J, PAULOSE C S. Cholinergic and glutamergic receptor functional regulation in long-term, low dose somatotropin and insulin treatment to ageing rats: rejuvenation of brain function [J]. Mol Cell Endocrinol, 2010, 314 (1) : 23-30.
- [17] 刘圣金, 吴德康, 林瑞超, 等. 青礞石的炮制工艺研究[J]. 中草药, 2012, 43(8): 1508-1513.
- [18] 刘圣金, 吴德康, 林瑞超, 等. 青礞石药材质量标准研究[J]. 中药材, 2011, 34(10): 1532-1534.
- [19] 刘圣金, 吴德康, 林瑞超, 等. 矿物类中药青礞石 XRD Fourier 指纹图谱研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(18): 2498-2502.
- [20] 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.
- [21] 吴露婷, 刘圣金, 吴德康, 等. 矿物药青礞石对戊四氮点燃癫痫大鼠干预作用研究[J]. 中药材, 2016, 39(1): 155-159.
- [22] 王艺, 李智平, 施忆赞. 戊四氮点燃大鼠慢性癫痫模型的建立及评价[J]. 复旦学报: 医学版, 2006, 33(2): 206-208, 228.
- [23] LI Z P, ZHANG X Y, LU X, et al. Dynamic release of amino acid transmitters induced by valproate in PTZ-kindled epileptic rat hippocampus[J]. Neurochem Int, 2004, 44(4): 263-270.
- [24] AKSOY D, SOLMAZ V, ERBAS O. Positive effect of calcitonin on the seizures induced by pentylentetrazole in rats[J]. Epilepsy Res, 2014, 108(3): 390-395.
- [25] 刘圣金, 吴露婷, 马瑜璐, 等. 矿物药青礞石对 PTZ 点燃癫痫大鼠影响的脑组织代谢组学分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20210150.
- [26] SAHU S, DUTTA G, MANDAL N, et al. Anticonvulsant effect of *Marsilea quadrifolia* Linn. on pentylentetrazole induced seizure: a behavioral and EEG study in rats [J]. J Ethnopharmacol, 2012, 141(1): 537-541.
- [27] RACINE R J. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Moter seizure [J]. Electroencephalogr Clin Neurophysiol, 1972, 32(3) : 281-294.
- [28] 秦俊法. 微量元素与癫痫(4)[J]. 广东微量元素科学, 2016, 23(10): 1-6.
- [29] 秦俊法. 微量元素与癫痫(5)[J]. 广东微量元素科学, 2016, 23(11): 1-10.
- [30] 李生花, 蒋秀莲. 13 例儿童癫痫病患者血清微量元素含量的测定[J]. 青海医药杂志, 2006, 36(10): 59-60.
- [31] DOBOSZEWSKA U, MŁYNYEC K, WLAŹ A, et al. Zinc signaling and epilepsy[J]. Pharmacol Ther, 2019, 193: 156-177.
- [32] KHAN M Z. A possible significant role of zinc and GPR39 zinc sensing receptor in Alzheimer disease and epilepsy [J]. Biomed Pharmacother, 2016, 79: 263-272.
- [33] WANG T, LIU Y, LIU X, et al. Golgi-specific DHHC type zinc finger protein is decreased in neurons of intractable epilepsy patients and pentylentetrazole-kindled rats [J]. Neuroreport, 2018, 29 (14) : 1157-1165.
- [34] TAKEDA A, TAMANO H, OKU N. Involvement of unusual glutamate release in kainite-induced seizures in zinc-deficient adult rats[J]. Epilepsy Res, 2005, 66(1/3): 137-143.
- [35] 杨柳, 张敏. 微量元素锌与癫痫关系的研究进展[J]. 中国药业, 2016, 25(3): 126-128.
- [36] 润袁敏, 饶绘. 微量元素锌、铜异常与小儿癫痫临床症状的关系[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(3): 282-283.
- [37] 周清潮, 王国平, 夏峰. 126 例癫痫患者头发 9 种元素含量测定分析[J]. 微量元素与健康研究, 1994, 11(3): 59.
- [38] BROWN P, KASHIVISWANATH S, HUYNH A, et al. Lithium therapy in comorbid temporal lobe epilepsy and cycloid psychosis [J]. Oxf Med Case Reports, 2016, doi: 10.1093/omcr/omw089.
- [39] LI Y F, THOM M, JACQUES T S. Novel therapeutic targets in epilepsy: oxidative stress and iron metabolism [J]. Neuropathol Appl Neurobiol, 2020, doi: 10.1111/nan.12615.
- [40] SAFT C, SPECKMANN E J. Antiepileptic effects of cobalt, manganese and magnesium on bicuculline-induced epileptiform activity in hippocampal neurons [J]. Brain Res, 2020, 1732: 146684.
- [41] 黄晓利, 龙易勤, 余宾. 涤痰汤对痰浊阻窍型强直-阵挛性发作小儿癫痫的临床疗效及对免疫球蛋白、外周血 Th17 细胞及相关因子的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(12): 121-127.

[责任编辑 刘德文]