

愈痫灵方对难治性癫痫大鼠多药耐药相关蛋白 MRP₁、P-gp、LAP、MCP-1 表达的作用

李振光¹, 宋祖丽², 王净净^{3*}, 李智雄³, 谢静涛³, 左亚杰⁴, 张 曦³, 肖 瑶³

(1.湖南省脑科医院, 湖南 长沙 410007; 2.湖南中医药大学第二附属医院, 湖南 长沙 410005;
3.湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208; 4. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南 长沙 410007)

[摘要] **目的** 探讨“愈痫灵”方对红藻氨酸(KA)致痫难治性癫痫模型大鼠海马及颞叶皮质区多药耐药相关蛋白1(MRP₁)、P糖蛋白(P-gp)、层黏连蛋白(LAP)以及单核细胞趋化蛋白1(MCP-1)表达的影响。**方法** (1)造模:在脑立体定位仪引导下,海马区微量进样器注入KA1.0 μL(即1.0 μg)点燃发作,选取发作行为级别在Racines标准IV级以上者,以丙戊酸钠及卡马西平灌胃干预14 d后,再次以亚惊厥剂量KA0.5 μL复燃,筛选再次发作级别在IV级以上或持续状态大鼠,且脑电图检测有癫痫样波放电者为造模成功的耐药难治性癫痫模型鼠。(2)分组与处理:造模成功鼠随机分为愈痫灵方干预组、拉莫三嗪对照组、模型组,另设假手术对照组、空白对照组共5组,分别给予“愈痫灵”汤剂、拉莫三嗪及同等体积的蒸馏水(2 mL/d)灌胃30 d。(3)标本处置与检测:采用免疫组织化学技术,检测多药耐药相关蛋白MRP₁、P-gp、LAP、MCP-1在海马与颞叶皮层的表达。**结果** 与假手术对照组、空白对照组间比较,造模成功组海马区及颞叶皮质区MRP₁、P-gp、LAP、MCP-1的表达均明显升高,差异有统计学意义($P<0.01$);与模型组比较,愈痫灵、拉莫三嗪干预处理后能显著降低模型鼠海马区MRP₁、P-gp表达水平($P<0.05$),海马区及颞叶皮质区LAP、MCP-1的表达差异均无统计学意义($P>0.05$);愈痫灵方组与拉莫三嗪组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);各组间颞叶皮质区LAP、MCP-1表达差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 耐药性癫痫大鼠模型海马及颞叶皮质区多药耐药相关蛋白MRP₁、P-gp、LAP、MCP-1表达均明显升高,逆转与降低海马区MRP₁、P-gp的表达可能是“愈痫灵”方抗耐药性癫痫作用机制之一。

[关键词] 耐药性癫痫;愈痫灵方;多药耐药蛋白1;P糖蛋白;红藻氨酸;海马

[中图分类号] R285.5; R742.1

[文献标识码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2016.10.008

Effects of YuXianLing Decoction on the Expressions of Multiple Drug Resistant Related Proteins MRP₁, P-gp, LAP MCP-1 in Refractory Epileptic Rats Induced by KA

LI Zhenguang¹, SONG Zuli², WANG Jingjing^{3*}, LI Zhixiong³, XIE Jingtao³, ZUO Yajie⁴, ZHANG Xi³, XIAO Yao³

(1. The Brain Hospital of Hunan Province, Changsha, Hunan 410007, China; 2. The Second Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410005, China; 3. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 4. The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of YuXianLing Decoction (YXLD) on the expressions of multi-drug resistance related protein 1 (MRP₁), P-glycoprotein(P-gp), layer ankylosis protein(LAP) and Monocyte chemo attractant protein-1 (MCP-1) in hippocampus and temporal lobe cortex of the refractory epileptic rats induced by kaicic acid (KA). **Methods** (1) Rats models: Hippocampus located by brain stereotactic apparatus according to Paxions Watras map was micro injected 1.0 μL KA to kindle seizures. The rats with above seizure behavior surpass IV level were intragastric administration interfered by sodium valproate and carbamazepine for 14 days and rekindled with 0.5 μL KA. The rats with above seizure behavior surpass IV level and epileptiform discharge waves were selected to be successful resistant refractory epilepsy model rats. (2) Grouping and handling: The model rats were randomly divided into YXLD group, Lamotrigine (LTG)control group and model group, and the sham-operation group and blank control group were also setted. The rats of all groups were intragastric administration interfered by the same volume gavage (2 mL/d) of distilled water, LTG and YXLD for 30 days, respectively. (3) Disposition and detection of specimen: the expressions of MRP₁, P-gp, LAP, MCP-1 were detected by immunohistochemical technique. **Results** Compared with the blank control group and sham-operation group, the expression of successful model rats of MRP₁, P-gp, LAP and MCP-1 in hippocampus and temporal cortex were significantly increased,

[收稿日期] 2016-04-24

[基金项目] 湖南省教育厅重点科研课题(11A084);湖南省科学技术厅科技计划一般项目(2012SK3132)。

[作者简介] 李振光,男,副主任医师,医学博士,硕士研究生导师,研究方向:中西医结合脑病防治。

[通讯作者] *王净净,男,教授,博士研究生导师,E-mail:wangjingjing1954@163.com。

the difference was statistically significant ($P < 0.01$). Compared with the model group, YXLD and LTG intervention can significantly reduce the expression level of MRP₁ and P-gp in hippocampus area ($P < 0.05$). The expression of LAP and MCP-1 in hippocampus and temporal lobe cortex were not statistically significant ($P > 0.05$). There were no significant differences between YXLD group and LAP group ($P > 0.05$). The expressions of LAP, MCP-1 in temporal cortex among groups showed no significant difference ($P > 0.05$). **Conclusion** The expression of MRP₁, P-gp, LAP, MCP-1 of multiply drug resistance in hippocampus and temporal lobe cortex areas of model rats were significantly increased. Reverse and decrease the expression of MRP₁ and P-gp in the hippocampal area may be one of the mechanisms of anti-drug resistant epilepsy of YXLD.

[Keywords] drug resistance epilepsy; YuXianLing Decoction; multiply drug resistant related protein 1; P-glycoprotein; kainic acid; hippocampus

国际抗癫痫联盟 (ILAE)2010 年明确耐药性癫痫的核心定义为:两种正确选择、可耐受的抗癫痫药物(antiepileptic drugs, AEDs)经过足够疗程及剂量的单药或联合用药治疗,仍未能控制发作的癫痫^[1]。据国内外流行病学统计,约 30% 的患者经 AEDs 治疗无效,成为药物难治性癫痫 (refractory epilepsy, RE)。本课题组前期研究表明:“愈痫灵”方临床抗癫痫作用显著^[2],亦可逆转与降低红藻氨酸(kaicic acid, KA)KA 致痫 RE 大鼠海马区多药耐药基因 MDR_{1b} 的表达水平^[3]。为进一步从多药耐药相关蛋白表达角度探讨其可能作用机制,研究报道如下。

1 材料

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康 SD 雄性大鼠 (湖南斯莱克景达实验动物公司, 许可证号:SCXK (湘)-2011-003), SPF 级, 鼠龄 6~8 周, 体质量(200±10)g。室温 18~20 ℃, 湿度为 65%~70%, 自由进食饮水。

1.1.2 试药 愈痫灵汤剂:愈痫灵方(川芎、石菖蒲、红花、全蝎、僵蚕、地龙、黄芩、冰片等 13 味药组成, 湖南中医药大学中医门诊部购买饮片)煎煮加工所得汤剂浓缩液, 将蜈蚣、全蝎研粉与冰片一起加入热的浓缩液中, 混合均匀后装入 100 mL 试剂瓶中保存于 4 ℃ 冰箱备用, 生药含量为 3.2 g/mL。丙戊酸钠片 (湖南湘中制药有限公司, 批号:120402), 拉莫三嗪片 (桂林三金制药股份有限公司, 批号:120805), 卡马西平片 (江苏鹏鹞药业有限公司, 批号:110704)。红藻氨酸 (美国 Sigma 公司), 大鼠 P 糖蛋白、多药耐药相关蛋白 1、层粘连蛋白、单核细胞趋化蛋白 1 抗体试剂盒 (北京中杉金桥生物技术有限公司)。

1.1.3 主要仪器 51600 大鼠脑立体定位仪 (美国 Stoelting 公司), 3K18 冰冻变速离心机 (美国 Sigma 公司), UV2550 紫外分光光度仪 (日本岛津公司), LEICA DM LB2 型双目显微镜 (德国 LEICA 公司产), MIAS 医学图像分析系统 (北航公司产), Shandon325 型石蜡切片机 (英国 Shandon 公司产), Motic B5 显微摄像系统 (麦克奥迪实业集团公司) 微量进样器、微量移液器 (上海佳安分析仪器厂)。

2 方法

2.1 造模方法

参照预实验与文献[4]方法, 以 KA 为造模剂, 在脑立体定位仪引导下, 根据 Paxions Watras 图谱确定海马区给药部位, 采用微量进样器注入 1.0 μL (浓度为 1.0 μg/μL) 点燃癫痫发作, 参照 Racines 分级标准^[5]选取发作行为级别在 IV 级以上者, 参照文献[6]“剂量-体表面积”的换算方法给药, 以卡马西平[按 60 kg 成人 20 mg/(kg·d) 剂量换算, 大鼠剂量为 0.406 mg/(kg·d)]与丙戊酸钠[按 60 kg 成人剂量 30 mg/(kg·d) 换算, 大鼠剂量 0.609 mg/(kg·d)]灌胃干预 14 d, 再次微量注射亚惊厥剂量 KA 0.5 μL 复燃, 筛选再次发作行为在 IV 级以上或癫痫持续状态大鼠, 且脑电图检测有癫痫样波放电者为造模成功的慢性耐药难治性癫痫模型大鼠。

2.2 分组与给药方法

120 只大鼠按随机数字表法分为假手术对照组、空白对照组各 15 只, KA 造模组 90 只, 造模成功鼠 (预试试验模型成功率约为 60%) 再随机均分为模型组、愈痫灵干预组 (简称 YXL 组)、拉莫三嗪对照组 (简称 LTG 组), 每组 15 只。假手术方法采取海马区微量注射造模剂等容量 (1 μL) 的蒸馏水。YXL 组给予愈痫灵汤剂 [以 50 kg 成人剂量 1.8 g/(kg·d) 换算, 大鼠剂量 0.036 g/(kg·d)], TLG 对照组给予拉莫三嗪 [以成人剂量 5 mg/(kg·d) 换算, 大鼠剂量 0.102 mg/(kg·d)]、模型组、假手术组、空白对照组同等容量 (1 mL) 的蒸馏水灌胃 30 d。

2.3 多药耐药相关蛋白检测

参照文献[7], 采用免疫组织化学技术, 检测多药耐药相关蛋白 MRP₁、P-gp、LAP、MCP-1 在海马与颞叶皮层不同部位的表达。具体如下。

2.3.1 脑组织标本制作 大鼠快速断头处死, 在冰盘上迅速开颅取脑组织, 切除脑干及小脑, 沿矢状面切开脑半球, 剥离注射侧海马与颞叶皮质分别装入 EP 管中, 经 4% 多聚甲醛固定, 并立即于 -80 ℃ 低温保存。脑组织标本常规脱水、石蜡包埋。染色步骤按照检测试剂药盒说明书, 进行免疫组织化学染色。

2.3.2 阳性着色细胞计数法 在 10×40 光镜下,每张切片随机选择不重叠的 10 个视野,计数每个视野阳性着色细胞数,算出平均数即为每张切片阳性细胞数。每组随机选取 6 只大鼠脑组织切片,然后进行组间比较。

2.3.3 等级评定评分法^[7] 在荧光显微镜下观察整体玻片皮质胞浆内耐药蛋白的染色强度,400 倍镜下拍照存档。计算染色强度指数及阳性细胞数的比例的方法,加以改进进行分级:阴性(-):无染色信号或染色很弱;弱阳性(+):呈细颗粒状,棕黄色,阳性细胞占总细胞数 50%以下;中阳性(++):呈细颗粒状,棕黄色,阳性细胞占总细胞数 50%以上;或呈粗颗粒状、块状,棕黑色,阳性细胞占总细胞数 50%以下;强阳性(+++):呈粗颗粒状或块状,棕黑色,阳性细胞占总细胞数 50%以上。通过在光学显微镜下对组织切片分别按染色程度(0~3 分为阴性着色、淡黄色、浅褐色、深褐色)、阳性范围进行评分(1~4 分为 0~25%、26%~50%、51%~75%、76%~100%),最终以两项计分相加之和,再进行比较。

2.4 统计学方法

计量资料用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,多组样本均数满足正态分布及方差齐性者用 F 检验,两组之间比较用 q 检验,方差不齐则用秩和检验,同组比较采用成组 t 检验。运用 SPSS 20.0 统计软件包进行处理。以 $P<0.05$ 作为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组海马及颞叶皮层 MRP₁、P-gp 表达比较

与空白对照组、假手术组比较,所有 KA 致病模型大鼠海马区、颞叶皮质区 MRP₁、P-gp 阳性细胞数及灰度比值均增加,经统计学处理,KA 模型组差异有显著统计学意义($P<0.01$),其他组有统计学意义($P<0.05$),表明 KA 致病鼠存在海马、颞叶皮质区 MRP₁、P-gp 表达明显升高。与 KA 模型组比较,YXL、LTG 治疗组海马 MRP₁、P-gp 阳性细胞数及灰度比值均降低,经统计学处理,有统计学意义($P<0.05$),提示 YXL、LTG 干预后能逆转下调 KA 致病模型鼠海马区 MRP₁、P-gp 的表达,而颞叶皮质区表达差异无统计学意义($P>0.05$)。结果见表 1、2。

3.2 各组海马及颞叶皮层 LAP、MCP-1 表达比较

与空白对照组、假手术组比较,KA 模型组海马区、颞叶皮质区 LAP、MCP-1 表达均增加,差异有显著统计学意义($P<0.01$),YXL、LTG 药物干预组与模型组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),提示造模成功鼠海马、颞叶皮质区 LAP、MCP-1 表达增加,但药物 YXL、LTG 干预作用可能与 LAP、MCP-1 表达无直接关联。结果见表 3-4。

表 1 各组海马及颞叶皮层 MRP₁ 比较 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	海马区		颞叶皮质区	
	灰度比值	阳性细胞数(个)	灰度比值	阳性细胞数(个)
空白对照组	0.26±0.12 ^{▲▲}	5.61±2.43 ^{▲▲}	0.27±0.12 ^{▲▲}	6.36±2.18 ^{▲▲}
假手术组	0.29±0.17 ^{▲▲}	5.46±2.57 ^{▲▲}	0.25±0.15 ^{▲▲}	5.14±1.84 ^{▲▲}
KA 模型组	1.24±0.35 ^{***}	48.54±6.47 ^{***}	0.82±0.21 ^{***}	42.58±7.32 ^{***}
YXL 组	0.44±0.18 ^{▲▲}	25.86±6.25 ^{▲▲}	0.59±0.17 [*]	34.26±7.18 [*]
LTG 组	0.42±0.25 ^{▲▲}	22.54±5.94 ^{▲▲}	0.55±0.19 [*]	33.24±6.54 [*]
F 值	2.82	15.13	3.28	4.81
P 值	<0.05	<0.01	<0.05	<0.01

注:与空白对照组、假手术组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与 KA 模型组比较,▲ $P<0.05$,▲▲ $P<0.01$ 。

表 2 各组海马与颞叶皮层 P-gp 比较 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	海马区		颞叶皮质区	
	灰度比值	阳性细胞数(个)	灰度比值	阳性细胞数(个)
空白对照组	0.28±0.07 ^{▲▲}	7.16±2.43 ^{▲▲}	0.43±0.18 ^{▲▲}	10.36±2.31 ^{▲▲}
假手术组	0.33±0.09 ^{▲▲}	8.41±3.45 ^{▲▲}	0.35±0.18 [▲]	8.54±2.54 [▲]
KA 模型组	1.85±0.37 ^{***}	64.85±8.74 ^{***}	1.52±0.31 ^{***}	50.41±9.43 ^{***}
YXL 组	0.76±0.22 ^{▲▲}	34.65±5.62 ^{▲▲}	1.17±0.37 [*]	42.26±6.18 [*]
LTG 组	0.79±0.25 ^{▲▲}	31.54±6.49 ^{▲▲}	1.19±0.28 [*]	40.24±5.54 [*]
F 值	9.49	12.46	3.84	13.97
P 值	<0.01	<0.01	<0.05	<0.01

注:与空白对照组、假手术组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与 KA 模型组比较,▲ $P<0.05$,▲▲ $P<0.01$ 。

表 3 各组海马及颞叶皮层 LAP 比较 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	海马区		颞叶皮质区	
	灰度比值	阳性细胞数(个)	灰度比值	阳性细胞数(个)
空白对照组	0.13±0.07	6.16±2.43	0.11±0.06	6.36±2.23
假手术组	0.12±0.07	5.64±2.34	0.15±0.08	6.55±2.47
KA 模型组	0.45±0.10 ^{***}	15.45±3.47 ^{***}	0.29±0.12	12.41±6.93
YXL 组	0.36±0.11 [*]	12.46±4.82 [*]	0.27±0.18	11.62±4.61
LTG 组	0.38±0.13 [*]	13.24±4.98 [*]	0.26±0.11	10.24±3.54
F 值	3.38	3.51	0.56	0.62
P 值	<0.05	<0.05	>0.05	>0.05

注:与空白对照组、假手术组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

4 讨论

近年来,癫痫的耐药机制成为研究的热点,药物转运体学说是本研究较为深入的分子机制之一。国内外很多研究发现,多药耐药相关蛋白,如 MRP₁、P-gp、LAP 及 MCP-1 表达上调与难治性癫痫的耐药性产生有非常密切关系^[8-10]。本课题组前期研究已从神经递质、Ca²⁺通道、神经元凋亡等角度探讨“愈痫灵”方作用机制,亦研究表明其可逆转与降低 KA 致病大鼠海马区多药耐药基因 MDR_{1b} 的表达^[9]。本研究旨在进一步从多药耐药相关蛋白表达角度探

表4 各组海马与颞叶皮层 MCP-1 比较 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	海马区		颞叶皮质区	
	灰度比值	阳性细胞数(个)	灰度比值	阳性细胞数(个)
空白对照组	0.136±0.061	5.16±2.03	0.124±0.072	5.97±2.32
假手术组	0.167±0.052	6.46±2.18	0.108±0.067	5.24±2.84
KA 模型组	0.484±0.126**	16.45±3.74**	0.356±0.105	14.35±6.58
YXL 组	0.396±0.114*	11.56±3.95*	0.227±0.148	10.38±5.77
LTG 组	0.388±0.123*	11.42±3.69*	0.289±0.157	11.64±5.54
F 值	3.46	2.98	0.42	0.38
P 值	<0.05	<0.05	>0.05	>0.05

注:与空白对照组、假手术组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

讨其作用机制。

本实验结果提示:造模成功耐药性癫痫大鼠海马区及颞叶皮质耐药相关蛋白 MRP₁、P-gp、LAP、MCP-1 表达量均显著增加,分别经药物拉莫三嗪、“愈痫灵”方干预处理后,海马区 MRP₁、P-gp 表达量明显降低,而颞叶皮质区表达量差异无统计学意义,提示药物作用靶点部位以海马为主,与 KA 造模致痫多属颞叶内侧癫痫相吻合^[11]。药物干预处理后 LAP、MCP-1 表达量差异无统计学意义,提示 LAP、MCP-1 非药物作用靶点。因 LTG 为新型 AEDs,对多种难治性癫痫疗效显著,选为阳性对照药,愈痫灵与 LTG 处理后均显著降低海马区 MRP₁、P-gp 的表达量,两者比较差异无统计学意义,提示有类似作用效应。

逆转与下调多药耐药基因及相关蛋白的异常过度表达,提高 AEDs 在脑组织中的浓度,可为耐药性癫痫的治疗开辟新的作用途径与靶点。有研究发现 Ca²⁺通道阻滞剂^[12](如维拉帕米、氟桂利嗪)、钙调素拮抗剂、蛋白激酶抑制剂、环孢菌素类及激素等均有类似作用效应。本课题组前期研究^[13]总结难治性癫痫的核心中医病机是:脏腑机能失调,阴阳升降失职,气血运行逆乱为本,痰瘀互结、挟风扰窍,神机失用、元神失控为标。“愈痫灵”方为临床有效经验方^[2],遵从“化痰祛痰、熄风通络、芳香开窍”治法原则。现代中药药理研究表明:“愈痫灵”方中活血化瘀、通经活络中药的有效成分,如川芎所含川芎嗪^[14]、红花所含红花素、地龙所含蚓激酶、僵蚕所含草酸铵等均具有类似 Ca²⁺拮抗剂的作用,能通过改善大脑病灶组织局部脑血流微循环与能量代谢障碍、稳定神经元膜电位;石菖蒲挥发油中所含“ α 、 β -细辛醚”、冰片能“芳香开窍、引药上行”提高血脑屏障通透性与药物

透过率、提高药物浓度,抑制癫痫放电作用^[15],诸药合用从而达到抗痫止痉作用。

综上所述,“愈痫灵”方活血化瘀、祛痰熄风、通经活络功效明显,能提高药物透过血脑屏障,提高脑脊液血药浓度含量,从而抑制神经元癫痫波放电,控制癫痫发作。“愈痫灵”方有较强的类似 Ca²⁺拮抗剂的作用效应,抑制海马区多药耐药相关蛋白 MRP₁、P-gp 的异常表达,是其抗耐药性癫痫作用机制之一。

参考文献:

- [1] 洪 楨,洪 震,周 东.耐药性癫痫的定义:国际抗癫痫联盟治疗策略委员会专项工作组统一提案[J].中华神经科杂志,2010,43(7):487-492.
- [2] 李振光,王净净,张宏耕,等.愈痫灵方加减联合 AEDs 治疗难治性癫痫的临床研究[J].中国中医药信息杂志,2012,19(12):4-6
- [3] 李振光,宋祖丽,王净净,等.愈痫灵方对 KA 致痫大鼠海马及颞叶皮质多药耐药基因表达 MDR1b 的影响[J].湖南中医药大学学报,2015,35(11):18-21.
- [4] 蒋 颖,韦云飞,秦 超.难治性癫痫多药转运体及动物模型的研究[J].微创医学,2010,5(2):146-147.
- [5] Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation: II Motor seizures Electroencephalogram [J]. Clin Neurophysiol, 1972, 32(3): 269-272.
- [6] 贺石林,王 健,王净净.中医科研设计与统计学[M].长沙:湖南科学技术出版社,2008:48.
- [7] 李飞虹,高 岷.研究生应用免疫组化技术的质控与标准化[J].广东医学院学报,2008,26(12):218-220.
- [8] 李 建,姜德春.难治性癫痫患者脑组织内致病灶与其周围组织 P 糖蛋白表达量的比较[J].中国药物依赖性杂志,2008,17(3):182-186.
- [9] Wu Y, Wang XF, Mo XA, et al. Expression of laminin beta1 in hippocampi of patients with intractable epilepsy [J]. Neurosciences, 2008, 43(3): 160-164.
- [10] D Keppler. Multidrug resistance proteins (MRPs, ABCs): importance for pathophysiology and drug therapy [J]. Handbook of Experimental Pharmacology, 2010, 201: 299-323.
- [11] Loscher W. Animal models of intractable epilepsy [J]. Prog Neurobiol, 1997, 53(2): 239-258.
- [12] 林娟霞,陈利强,孙美珍,等.维拉帕米对难治性癫痫大鼠的疗效及海马 P-糖蛋白表达的影响[J].神经损伤与功能重建,2010,1(1):21-23.
- [13] 李振光,王净净.从“痰瘀同治”论治难治性癫痫[J].中医学报,2013,28(6):832-834.
- [14] 朱晓琴,胡祁生,张端莲,等.川芎嗪对大鼠癫痫放电的影响[J].青海医药杂志,2002,32(9):1-3.
- [15] 王利苹,奉建芳,胡凯莉.芳香开窍中药对血脑屏障通透性的调节作用及其机制研究进展[J].中国中药杂志,2014,39(6):949-952.

(本文编辑 杨 瑛)