

本文引文格式:漆明,王宇,李春,等.超高效液相-串联质谱法快速测定癫痫患者血清4种氨基酸类神经递质的应用研究[J].右江民族医学院学报,2021,43(2):210-214.

【论著与临床报道】

超高效液相-串联质谱法快速测定癫痫患者血清

4种氨基酸类神经递质的应用研究

漆明¹,王宇¹,李春²,黄翔¹

(1. 广西脑科医院检验科,广西 柳州 545005;

2. 广西脑科医院神经内科,广西 柳州 545005)

摘要:目的 建立用超高效液相-串联质谱仪(UHPLC-MS)快速测定癫痫患者血清4种氨基酸类神经递质[谷氨酸(Glu)、天冬氨酸(Asp)、甘氨酸(Gly)和 γ -氨基丁酸(GABA)]的方法;同时观察癫痫患者4种氨基酸类神经递质的血清学特征。方法 采用岛津临床用UHPLC-MS测定80例癫痫患者及30例健康正常人血清Glu、Asp、Gly和GABA含量,血清样品前处理采用去蛋白沉淀剂处理,非衍生化、等度洗脱检测,流动相为0.1%甲酸水溶液-0.1%甲酸乙腈溶液。结果 ①UHPLC-MS法线性关系良好($r > 0.9970$),4种氨基酸平均回收率RSD为87.30%~122.40%,日内和日间精密度分别为3.68%~7.94%和4.71%~9.61%,进样精密度好,长期稳定性好;②癫痫组血清Glu、Asp高于对照组($P < 0.01$),Gly、GABA低于对照组($P < 0.01$)。结论 ①UHPLC-MS法前处理简便、快速、准确、稳定性好,适合临床大样本研究神经、精神等疾病患者血清氨基酸类神经递质含量。②血清Glu、Asp水平增高和Gly、GABA降低可能是癫痫患者的特征性生物学指标。

关键词:超高效液相-串联质谱仪;氨基酸;癫痫;神经递质

中图分类号:R742.1

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2021)02-0210-05

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2021.02.013

Application of UHPLC-MS in rapid determination of four amino acid neurotransmitters in the serum of epileptic patients

Qi Ming¹, Wang Yu¹, Li Chun², Huang Xiang¹

(1. Department of Clinical Laboratory, Guangxi Brain Hospital, Liuzhou 545005, Guangxi, China;

2. Department of Neurology, Guangxi Brain Hospital, Liuzhou 545005, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To establish a method of ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UHPLC-MS) in rapid determination of four types of amino acid neurotransmitters [glutamic acid (Glu), aspartic acid (Asp), glycine (Gly) and gamma-aminobutyric acid (GABA)] in the serum of patients with epilepsy. We also observed the serological characteristics of these 4 types of amino acid neurotransmitters. **Methods** The contents of Glu, Asp, Gly and GABA in the serum of 80 epileptic patients and 30 healthy subjects were determined by Shimadzu clinical UHPLC-MS. Serum samples were pretreated with protein-removing precipitator, and then detected by non-derivatization and isometric elution. The mobile phase was 0.1% formic acid aqueous solution and 0.1% formic acid acetonitrile solution. **Results** ① The linear relationship of UHPLC-MS was good ($r > 0.9970$). The average recovery rate RSD of the four amino acids was 87.30%~122.40%. The intra-day precision and inter-day precision were 3.68%~7.94% and 4.71%~

基金项目:广西壮族自治区卫健委科研项目(Z20180062)

第一作者简介:漆明(1973-),男,本科,副主任技师,研究方向:临床检验工作,E-mail:13978087019@139.com

9.61%, respectively. The injection precision and the long-term stability were also good. ② The contents of serum Glu and Asp in the epilepsy group were higher than those in the control group ($P < 0.01$), while the contents of serum Gly and GABA were lower than those in the control group ($P < 0.01$). **Conclusion** ① UHPLC-MS pretreatment is simple, rapid, accurate and stable, which is applicable for large-sample clinical study of serum amino acid neurotransmitters in patients with neurological and mental diseases. ② The increase of serum Glu and Asp and the decrease of serum Gly and GABA may be the characteristic biological indicators of patients with epilepsy.

Key words: UHPLC-MS; amino acid; epilepsy; neurotransmitter

小分子氨基酸:谷氨酸(Glu)、天冬氨酸(Asp)、甘氨酸(Gly)和 γ -氨基丁酸(GABA)是人体内重要的氨基酸类神经递质,在人体内属低水平游离氨基酸,参与维系脑部的血液循环,对神经系统的功能起着重要的介导作用^[1]。其中 Glu、Asp 是兴奋性氨基酸,Gly、GABA 是抑制性氨基酸。目前检测此类氨基酸的方法主要有柱后/柱前衍生反相高效液相色谱法(HPLC)、高效阴离子交换色谱-积分脉冲安培检测法(HPAEC-IPAD)及高效液相色谱-蒸发光散射检测法(HPLC-ELSD)^[2]及高效毛细管电泳法^[3]等方法。传统的高效液相色谱法检测血清低水平游离氨基酸需经过衍生化处理及荧光检测器才能完成测定,分离时间较长、检测限偏高、操作繁琐。本研究采用岛津临床用超高效液相色谱-串联质谱法(UHPLC-MS),在参考文献^[4]的基础上,建立了人血清中这 4 种氨基酸类神经递质的快速测定方法,检测了 80 例癫痫患者及 30 例健康正常人血清 Glu、Asp、Gly 和 GABA 含量,报道如下:

1 对象和方法

1.1 入组样本选择 选取 2018 年 8 月—2019 年 11 月本院神经内科门诊或住院病人中符合 2010 年国际癫痫联盟诊断标准及分类方案的癫痫病患者 80 例为研究组,男 37 例,女 43 例,年龄 18~74 岁,平均年龄(37.80±12.60)岁。排除严重心、肝、肾等器质性疾病、脑血管疾病、急性脑外伤、失语、瘫痪等神经系统严重器质性病变和精神障碍患者。另选取同期健康体检者 30 例作为对照组,男 16 例,女 14 例,平均年龄(37.80±9.10)岁。研究组与对照组性别构成比及年龄相比,差异无统计学意义($P > 0.05$)。所有研究对象及对照组均志愿加入研究并签署知情同意书,本研究获本单位医学伦理委员会批准。

1.2 血清样品采集及前处理 采集研究及对照组空腹静脉血 5~6 ml,离心 10 min(3000 r/min),吸取血清于 2 ml 冻存管中,低温(-70℃)保存;检测时将血清样品室温解冻,离心 10 min(3000 r/min),吸取 100 μ l 离心后的上清液到新的离心管中,加入 300 μ l 甲醇乙腈去蛋白沉淀剂(乙腈:甲醇=1:1),静置 3 min,涡

旋 2 min 混匀,离心 10 min(13000 r/min),取 120 μ l 上清液,按 1.4~1.5 色谱及质谱条件分析,进样体积 1 μ l。

1.3 标准贮备液制备 本实验所用试剂均为质谱纯。Glu、Asp、Gly 和 GABA 购自中国食品药品检定研究院;甲醇、乙腈为德国默克(Merck)公司生产。准确称取 4 种氨基酸标准品各 20 mg,分别置于 50 ml 容量瓶中,用 0.1 mol/L 乙酸定容至刻度,配制成 400 μ g/ml 的氨基酸储备溶液,4℃ 冰箱保存备用。

1.4 UHPLC-MS 色谱条件 岛津 LabSolutions Ver. 5.91 色谱工作站;LC-20ADXR CL×2(输液泵);DGU-20A5R CL(在线脱气机);SIL-20ACXR CL(自动进样器);CTO-20ACXR CL(柱温箱);CBM-20A CL 系统控制器。色谱柱采用氨基酸专用色谱柱(岛津);流动相 A:0.1%甲酸水溶液;流动相 B:0.1%甲酸乙腈;流速:0.35 ml/min;柱温:40℃;洗脱方式:采用等度洗脱,B 相浓度为 10%;进样体积 1 μ l。

1.5 UHPLC-MS 质谱条件 分析仪器:三重四极杆质谱仪(LCMS-8040 CL);离子源:离子喷雾离子化源正离子化模式(ESI+);雾化气流速:3.0 L/min;干燥气流速:15.0 L/min;DL 温度:250℃;加热模块温度:400℃;扫描模式:多重反应监测(MRM);MRM 优化参数:见表 1。

表 1 MRM 参数

AA	MRM channel (M/Z)	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
Asp	134.00→74.00	-16	-12	-30
Glu	148.10→84.05	-18	-17	-17
Gly	76.00→30.10	-10	-14	-27
GABA	104.10→87.00	-12	-13	-28

1.6 统计学方法 计量资料数据用($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 19.0 统计学软件进行数据分析,组间比较采用独立样本 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 出峰时间及 MRM 谱图 标准品及血清 4 种氨基酸在 1.5 min 内达到完全分离,峰形均呈良好对称

性。各氨基酸的出峰时间依次为: Gly: 0.985 min; Asp: 1.020 min; GABA: 1.076 min; Glu: 1.082 min; MS 色谱图见图 1。

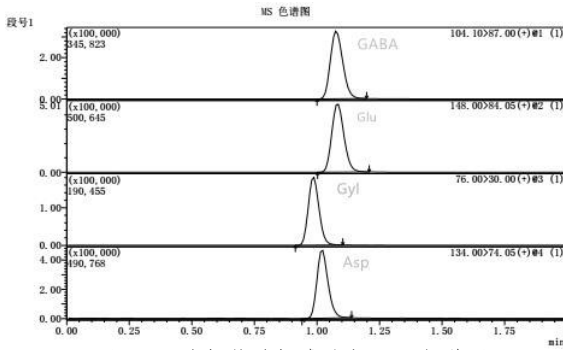


图 1 4 种氨基酸标准分析 MS 色谱图

将 4 种氨基酸贮备液用纯水稀释成浓度为 10~4000 ng/ml 若干梯度浓度的混合标准溶液,按 1.2~1.3 的条件及处理方法处理后上机进样分析。利用外标法,以氨基酸浓度为横坐标,以氨基酸峰面积为纵坐标建立标准曲线,进行线性回归分析。结果显示,4 种氨基酸在线性浓度范围内线性相关性良好,相关系数均在 0.9970 以上;定量下限的确定:各取 4 种氨基酸 3 个浓度接近检测限的样本,每个浓度分为 6 份进行处理,每份样本重复测定 3 次,连续测定 3 个批次,分别评估每个浓度样本的总精密度(CV)及其浓度测定均值与理论浓度的偏差,将 $CV \leq 20\%$,准确度 $< 15\%$ 的最低浓度样本的测定均值作为本方法的定量下限。4 种氨基酸的检测限分别为 7.00~14.00 ng/ml,其线性方程、相关系数、线性范围和准确度,见表 2。

2.2 标准曲线、线性范围、准确度及定量下限分析

表 2 4 种氨基酸标准曲线相关参数

名称	线性方程	线性范围/ (ng · ml ⁻¹)	相关 系数	准确 度/%	定量下限/ (ng · ml ⁻¹)
Asp	$Y = 0.30236 X - 0.0228$	21.50~1503.60	0.9980	95.60~104.10	14.00
Glu	$Y = 0.02713 X - 0.0524$	12.70~1623.80	0.9991	91.90~107.40	7.510
Gly	$Y = 0.53621 X + 0.0870$	23.60~1305.20	0.9997	92.70~105.20	12.60
GABA	$Y = 0.18634 X + 0.0251$	25.80~1143.50	0.9997	90.50~103.80	10.30

2.3 回收率与精密度实验 在已知本底值的混合体检血清样品中加入浓度分别为 40 ng/ml、400 ng/ml、4000 ng/ml 的低、中、高各 6 份混合标准溶液,按 1.3 血清样品前处理方法处理并测定,以测得值与加入值的比值计算回收率;同时在 1 d 内重复 6 次和 2 周内重复 6 次测定浓度,计算日内、日间误差和回收率。4 种

氨基酸的加标回收率在 87.30%~122.40% 之间, $RSD < 5\%$; 日内精密度 (RSD) 均 $\leq 7.94\%$, 日间精密度精密度 (RSD) 均 $\leq 9.61\%$ 。表明各氨基酸在本检测方法下准确度高、检测精密度良好,符合生物样本检测要求。结果见表 3。

表 3 4 种氨基酸的回收率及精密度结果 ($n = 6$)

AA	加入量/ (ng · ml ⁻¹)	方法回收率		日内精密度		日间精密度	
		平均回收率/%	RSD/%	实测值/(ng · ml ⁻¹)	RSD/%	实测值/(ng · ml ⁻¹)	RSD/%
Asp	40	108.40	4.08	40.90	4.58	39.40	6.52
	400	101.50	2.61	404.20	4.92	398.20	5.81
	4000	113.20	1.40	4007.30	4.65	4002.50	4.93
Glu	40	99.10	4.16	39.50	3.68	40.60	5.62
	400	110.30	2.54	401.70	5.91	403.50	9.61
	4000	122.40	3.85	4006.20	4.52	3998.60	6.81
Gly	40	97.50	3.82	40.30	7.94	39.40	8.97
	400	101.60	2.47	402.60	5.22	394.20	5.85
	4000	103.50	2.13	4001.50	3.92	3994.60	4.71
GABA	40	87.30	4.01	40.60	4.05	39.40	7.22
	400	97.10	1.96	401.30	4.79	401.40	5.38
	4000	102.90	0.95	4005.70	7.57	4002.20	8.82

2.4 稳定性分析 配制低、中、高浓度的混合氨基酸标准液若干份(浓度为40 ng/ml、400 ng/ml、8000 ng/ml),于室温下放置0 h、4 h、8 h、12 h及24 h后进样分析;同时将低、中、高浓度的混合氨基酸标准液反复冻融及低温(-70℃)冻存1个月、6个月、12个月,分别

进样分析,观察几种状态下检测值的相对误差(RE)及相对标准差(RSD),4种氨基酸(RSD)均<8%,结果样品在-70℃条件下冷冻放置1年内稳定,长期稳定性好,可以满足科研标本长期保存及检测要求。见表4。

表4 4种氨基酸的稳定性结果

氨基酸	浓度/ (ng·ml ⁻¹)	室温稳定性		反复冻融稳定性		冻存1个月		冻存6个月		冻存1年	
		RE/%	RSD/%	RE/%	RSD/%	RE/%	RSD/%	RE/%	RSD/%	RE/%	RSD/%
Asp	50	5.37	2.83	-9.30	2.86	-10.38	4.16	-10.94	3.86	-10.40	5.31
	500	-7.11	3.52	-3.47	1.74	-4.55	0.82	-6.56	2.83	5.25	3.53
	4000	6.21	1.76	-0.35	2.83	4.72	0.91	-1.03	4.77	-0.82	5.61
Glu	50	-3.02	3.64	-9.36	3.92	-3.99	1.28	3.73	4.73	-7.41	4.89
	500	4.16	1.73	5.84	3.01	3.26	2.91	8.68	1.18	8.63	2.16
	4000	-7.73	3.79	3.95	6.10	-2.53	4.53	-3.64	3.64	5.81	5.27
Gly	50	-8.30	2.51	-7.63	2.19	-1.80	3.16	-8.59	2.05	8.60	3.15
	500	-9.20	1.68	-8.72	3.28	1.07	3.78	3.53	1.55	6.03	2.46
	4000	324.00	3.05	4.01	4.37	6.34	4.41	-8.51	2.01	3.16	3.08
GABA	50	-4.06	4.42	6.74	2.53	-9.61	1.03	3.46	1.46	5.88	1.92
	500	-2.93	5.79	9.47	1.55	7.88	2.66	-8.42	3.91	-7.57	4.61
	4000	7.50	7.16	-10.20	2.64	-8.51	4.28	3.37	2.37	-5.29	3.95

2.5 两组样本血清氨基酸含量分析 按前述条件处理研究及对照组血清样本,利用前述建立的标准曲线进行定量分析,癫痫组血浆Glu, Asp水平高于正常对照组($P < 0.001$),差异有统计学意义;Gly, GABA水平低于正常对照组($P < 0.001$),差异有统计学意义。见表5。

表5 研究组与对照组氨基酸测定结果比较 单位:ng/ml

组别	n	Asp	Glu	Gly	GABA
研究组	80	10.00±1.76	38.00±2.26	45.00±3.18	27.00±3.49
对照组	30	2.53±1.17	9.10±1.48	63.00±4.31	54.00±2.72
t		21.502	64.916	23.891	38.206
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

3 讨论

由于氨基酸的小分子特性,常用的柱后/柱前衍生反相高效液相色谱法测定血液中游离小分子氨基酸大多需经过衍生化处理及配备荧光检测器才能完成。此类方法由于衍生化反应产物不稳定,易受反应温度、反应时间以及光线等因素影响,需精确控制反应条件,且梯度洗脱操作繁琐费时,平衡时间长,基线容易漂移,重现性差,这为临床测定和科研带来极大的不便。高效液相色谱-串联质谱法整合了高效液相色谱仪对复杂样本的高分离性能与质谱仪的高灵敏性、高选择性等优势,目前已广泛应用于科研及临床检验各领域中,如药物浓度监测、新生儿遗传代谢病筛查等医学项目检测,尤其在生物小分子物质的定量检测上应用越来越广泛^[4]。本研究采用岛津临床用UHPLC-MS系统,检测癫痫患者血清中小分子氨基酸:Glu、Asp、Gly和

GABA含量,对临床血清标本的前处理方法、色谱流动相及质谱条件进行了优化,取得了比较满意的检测效果。与童颖等^[5]采用的以水-甲醇分为A、B流动相、梯度洗脱方法不同,本方法是以0.1%甲酸水溶液(A相)和0.1%甲酸乙腈溶液(B相)为流动相、等度洗脱检测血清中氨基酸,4种氨基酸在1.5 min内达到完全分离。氨基酸的完全分离时间优于黄晓^[6]及吴强恩等^[7]采用的反相高效液相色谱荧光法检测的35 min及18 min。本实验A相中加入0.1%甲酸,能改善峰形、促进氨基酸在色谱柱上的保留。0.1%甲酸作用是提供质子,降低定量限,增强正离子化信号,提高氨基酸色谱峰信噪比,使样本达到最佳定量分析效果;但甲酸加入的浓度过高会对质谱的负离子扫描有影响,抑制质谱信号,因此甲酸用量一定要合适。经实验观察:若采用乙腈-水作为流动相,氨基酸的峰形会产生宽峰及拖尾等现象。当A流动相比比例为90%,B流动相比比例为10%时,各氨基酸检测灵敏度能达到最强,各氨基酸峰形态呈良好对称性,各峰无拖尾、交叉等现象。本方法线性关系良好:在10~4000 ng/ml范围内4种氨基酸浓度的相关系数均在0.997以上,4种氨基酸的检测下限可达到10ng/ml左右,高于宣柳等^[3]采用的高效毛细管电泳法及黄晓^[6]采用的改良柱前衍生高效液相色谱法。本方法准确度为90.50%~107.40%,平均回收率为87.30%~122.40%,日内和日间精密密度分别为3.68%~7.94%和4.71%~9.61%,进样精密密度好,长期稳定性好。本法专属性强,前处理简便,无需衍生化处理,分析速度快,能在1.5 min之内测出4种氨基酸浓度,适合临床大样本研究神经、精神类疾病患者血浆氨基酸类神经递质含量变化。

癫痫是神经内科常见病,流行病学显示^[8]:目前我国约有900万人患癫痫,患病率为0.90‰~4.80‰;与此同时,有30%~40%癫痫患者伴有认知功能障碍^[9],因此,对癫痫及其认知功能障碍的早期诊断和及时治疗对改善患者预后具有重要意义。癫痫发病机制较复杂,兴奋性和抑制性氨基酸类神经递质的不平衡是导致癫痫发作的原因之一。张赞等^[10]认为:在中枢神经系统中,与癫痫的发作密切相关的Glu与GABA,分别是最重要的兴奋性与抑制性神经递质。蔺建文等^[11]研究发现:Glu是诱发癫痫发作的主要兴奋性神经递质,而GABA有阻抑中枢神经元异常放电的作用,可以减缓癫痫的发作。李姊瑶等^[12]在对癫痫患儿使用丙戊酸钠(VPA)治疗前后血液中氨基酸变化情况,发现其血液氨基酸Glu、Gly和Lys等明显高于对照组,定期检查患儿血液氨基酸的变化情况,对临床治疗癫痫具有一定的意义。研究表明^[13]:癫痫的发生及局脑缺血再灌注后大量神经元死亡等,都与中枢神经系统兴奋性及抑制性氨基酸类神经递质失衡相关。凌卫明^[14]发现癫痫患者血浆Glu、Asp高于健康人群,Gly低于健康人群。刘伟等^[15]发现特发性癫痫患者脑脊液中GABA含量低于正常对照者,Glu高于正常对照者。血清及脑组织中氨基酸绝对水平之间存在一定差异,血脑屏障(Blood brain barrier, BBB)中氨基酸转运体系统能将血浆氨基酸转运至大脑,同时又能将脑中氨基酸类神经递质(GABA、Asp和Gly等)逆浓度梯度转运至血液,使静脉血与脑脊液内氨基酸水平保持一定的相关性。导致癫痫患者血清Gly、GABA浓度降低的原因比较复杂,可能由以下几个方面因素单独或叠加影响所致:①外周氨基酸合成功能降低;②中枢神经系统抑制类神经递质水平降低而导致向外周转运减少;③BBB转运体功能的改变导致向外转运氨基酸水平降低;而血清兴奋性氨基酸类神经递质Glu、Asp水平增高的原因则与之相反。秦晋等^[16]认为:神经递质是影响癫痫患者的认知功能障碍的重要因素。癫痫发作时干扰神经递质的释放,引起兴奋性与抑制性递质失衡,其中,谷氨酸是重要的兴奋性中枢神经递质,过量的谷氨酸可通过结合谷氨酸受体激活神经毒性导致神经元凋亡。Glu、Asp和GABA、Gly作为神经调控的重要介质,参与了大脑神经调节活动,与癫痫的发展发生及智力改变有密切关系^[1]。兴奋性谷氨酸和GABA能抑制神经传递的失调,会导致癫痫的发作,其潜在的分子机制还有待进一步研究^[17]。本研究依托岛津临床用UHPLC-MS检测系统,检测了80例癫痫患者及30例健康正常人血清Glu、Asp、Gly和GABA含量,发现癫痫组血清Glu、Asp高于对照组,Gly、GABA低于对照组,与前述凌卫明等^[14]的研究结论相似,说明氨基酸类神经递质参与癫痫的发病机制,血清氨基酸水平可成

为反映脑内氨基酸水平而成为癫痫发病的生物标志物之一。本研究从血清学角度,检测癫痫患者血清中Glu、Asp、Gly和GABA浓度,为癫痫的临床诊治提供快速的血清学参考依据。

参考文献:

- [1] 漆明. 氨基酸类神经递质与智力及癫痫的关系[J]. 医学信息, 2019, 32(20): 33-36.
- [2] 郝欣睿, 武中庸, 叶永丽, 等. 高效液相色谱法测定氨基酸的研究进展[J]. 分析测试学报, 2016, 35(7): 922-928.
- [3] 宣柳, 沈佐君, 何晓东, 等. 高效毛细管电泳测定海马组织和脑脊液中氨基酸类神经递质[J]. 检验医学, 2007, 22(3): 324-328.
- [4] 中国医师协会检验医师分会临床质谱检验医学专业委员会. 液相色谱串联质谱临床检测方法的开发与验证[J]. 检验医学, 2019, 34(3): 189-196.
- [5] 童天颖, 张洁, 徐润灏, 等. 血清氨基酸在炎症性肠病中的诊断效能评价[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(16): 2028-2030.
- [6] 黄晓, 康学军, 蒙艳斌, 改良丹酰氯柱前衍生高效液相色谱法测定氨基酸类神经递质[J]. 检验医学, 2009, 24(2): 157-158.
- [7] 吴强恩, 郑力行, 谢芳, 等. 反相高效液相色谱荧光法测定大鼠脑组织中氨基酸类神经递质[J]. 复旦学报(医学版), 2005, 32(3): 355-358.
- [8] 洪震. 癫痫流行病学研究[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2014, 14(11): 919-923.
- [9] Rantanen K, Eriksson K, Nieminen P. Cognitive impairment in preschool children with epilepsy[J]. Epilepsia, 2011, 52(8): 1499-1505.
- [10] 张赞, 郑辑英, 李光来, 等. 癫痫发病机制研究的进展与脑损伤机制[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2016, 10(8): 1168-1171.
- [11] 蔺建文, 李淑敏, 王苏平, 等. 癫痫患者血清白介素-10/干扰素- γ 水平的测定及意义[J]. 医学信息, 2015, 28(45): 366.
- [12] 李姊瑶, 刘悦, 王冬至, 等. 癫痫患儿丙戊酸治疗后血液氨基酸谱水平变化及临床意义[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(5): 26-27, 31.
- [13] 余东来, 高妍, 申刚义, 等. 氨基酸类神经递质对中枢神经系统疾病作用的探讨[J]. 中央民族大学学报(自然科学版), 2010, 19(2): 78-81.
- [14] 凌卫明. 癫痫患者血浆氨基酸神经递质的含量测定及临床意义[J]. 临床检验杂志, 2008, 26(6): 452.
- [15] 刘伟, 吕秀丽, 李战华, 等. 难治性癫痫患儿脑组织 sr-GAP2 γ -氨基丁酸及 MCP-1 表达的意义[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2018, 21(23): 2605-2611.
- [16] 秦晋, 许贤瑞, 魏世丽, 等. 癫痫患者认知功能障碍的研究进展[J]. 宁夏医科大学学报, 2019, 41(3): 317.
- [17] Tamijani SM, Karimi B, Amini E, et al. Thyroid hormones: Possibleroles in epilepsy pathology[J]. Seizure, 2015, 31: 155-164.

收稿日期: 2020-09-24; 修回日期: 2020-12-16