

点燃效应癫痫动物模型研究状况及评价

刘智良 袁如祥 袁新伟 渊第一军医大学珠江医院神经外科 袁广东 广州 510282 冤

摘要 癫痫是神经系统常见病和难题之一 通过复制动物模型 探讨癫痫的发生机制 为临床癫痫的治疗提供理论依据 遥

本文着重综述点燃效应癫痫动物模型研究状况 遥

关键词 点燃效应 癫痫 动物模型

中图分类号 陕 749.1;Q95-33 文献标识码 院 文章编号 院 000-2588(2001)08-0621-03

癫痫是一种常见的疾病和神经症状 发病率约为 5% 遥 临床表现为突然短暂发作的脑功能异常 遥 经正规服用抗癫痫药物 袁 0% 耀 0% 病人癫痫发作可得到完全控制 或显著减少 遥 但仍有 20% 耀 0% 病人癫痫难以控制 遥 20 世纪 80 年代以来 癫痫的外科治疗取得了突破性的进展 袁 一定程度上归功于点燃效应的癫痫动物模型的建立和发展 遥

1 概述

目前已经公认点燃效应 kindling effect 模型是研究脑兴奋性 可塑性 (Plasticity) 及长时程增强 (Long term potentiation, LTP) 最实用的模型 它与人类癫痫发生与形成具有高度相似性 遥 传统的电性点燃约需 1 耀 周 遥 20 世纪 80 年代中后期 袁 研究者 遥 通过改变电参数 尧 缩短刺激间隔时间 袁 分别在成熟大鼠的海马和幼鼠的杏仁核获得快速点燃 渊 仅需数小时 冤 遥 癫痫点燃的动物模型是具有诱导致痫和自发性发作模型两者优点的致病模型 遥

2 点燃的定义

点燃是通过重复不变的亚抽搐剂量电刺激 癫痫活性强度逐渐增加 袁 最终出现全身性癫痫 遥 用电刺激鼠杏仁核点燃 袁 一般经历以下过程 院 面部抽搐 袁 点头 袁 前肢阵挛 袁 站立 袁 站立和摔倒 遥 Wada 遥 将此过程分为六个阶段 院 同侧面面部抽搐 曰 两侧面部抽搐 曰 点头 曰 对侧前肢出现阵挛 袁 并且头向对侧旋转 曰 站立时出现阵挛性跳跃 曰 摔倒 袁 全身抽搐 渊 强直 - 阵挛发作 冤 遥 此外 袁 用化学和药物周期性的亚抽搐剂量稳定刺激也能逐渐诱发出癫痫 袁 并且癫痫的程度逐渐加重 袁 这个过程也称之为点燃 遥

对癫痫发作的程度进行评价的分级应用标准 袁 1978 年 Racine 遥 将其分为 院 无抽搐 曰 面部抽搐和孤立的肌阵挛 曰 全身性阵挛抽搐 曰 全身性阵挛抽搐伴站立 曰 全身性强直阵挛抽搐伴站立和跌倒 曰

袁 反复抽搐或抽搐致死 遥

3 点燃的方法

3.1 电刺激是出现点燃的一种重要因素

电刺激标准条件为电流波长 1ms 尧 频率 60Hz 尧 持续 1s 遥 其中频率为 25 尧 0 尧 50Hz 的点燃作用相同 遥 低于 10Hz 的电刺激不易引出点燃现象 袁 也有报道用 0.875 Hz 的频率引出点燃现象 遥 刺激的持续时间 2 耀 0s 袁 点燃的发生率相近 遥 刺激的间隔时间是关键 袁 宽 1ms 尧 0Hz 尧 刺激时间 1s 的条件下 袁 5min ~ 7d 都能引出点燃 遥 每次刺激的间隔在 15 耀 0min 袁 需要更多次的刺激才能点燃 遥 持续应用波宽 1ms 尧 60Hz 的电刺激几小时却不能诱导点燃 遥

3.2 建立电刺激点燃模型的动物

鼠 尧 兔 尧 猫 尧 恒河猴和狒狒等都可以建立电刺激点燃模型 遥 电刺激脑许多部位可引起点燃 遥 最经典和常用的是在海马和杏仁核 袁 而以杏仁核对电刺激最敏感 遥 如在 SD 大鼠杏仁核部位埋置电极 袁 以双相方波电流定时刺激直至引出完全点燃 遥 停止电刺激 4 周后再行电测试 袁 结果仍处在最高等级惊厥状态 遥

3.3 化学药物也能够引出点燃现象

青霉素 尧 羧甲酰胆碱可卡因 尧 利多卡因 尧 戊四氮 尧 海人酸和 N- 甲基 -D- 天门冬氨酸 尧 印防己毒素 渊 irotoxin 冤 在脑内局部和全身性应用能产生点燃作用 遥 其中青霉素是一种经典的致病剂 袁 将青霉素用于 Wistar 大鼠复制的癫痫模型与人类失神发作最为接近 袁 所以青霉素癫痫模型适合失常性癫痫和局限性癫痫模型复制及发病机制的研究 袁 而用戊四氮和美解眠能引起动物抽搐迅速发生 袁 短时间内达到高峰 袁 持续较短时间后自动停止 遥 因此 袁 用于复制急性或全身性发生癫痫模型及筛选抗癫痫药物时 袁 戊四氮和美解眠致病模型较好 遥 近年来 袁 有用马桑内酯肌内注射造成化学点燃效应癫痫动物模型 遥 模拟人类长期反复全身强直 - 阵挛发作 袁 然后进行海马区脑组织的光镜 尧 电镜和免疫组化观察分析 遥 结果表明 袁 长期反复抽搐动物的海马区星形胶质细胞发生明显的变性坏死 袁 提示马桑内酯对星形胶质细胞和大脑皮质细胞有损

收稿日期 院 000-09-29

作者简介 院 刘智良 (1970-) 袁 湖南衡东人 袁 1994 年毕业于第四军医大学 袁 主治医师 袁 电话 院 20-85143631 袁 e-mail: Liu_zhl@263.net

伤性作用,这种损伤可能在诱导痫性发作中起一定作用^[10]。

随着现代分子生物学的发展,研究者已在分子水平上研究和阐明癫痫动物模型。点燃能增强神经生长因子和脑源性神经营养因子在海马回和大脑皮质中受体的 mRNA 表达。脑室内注射神经生长因子能增强点燃效应。反之,降低神经生长因子活性则延缓杏仁核的点燃作用。脑源性神经营养因子的急性注射能提高神经兴奋性和导致癫痫发作。而慢性注射则延缓海马回点燃作用。这种作用长期存在^[11]。不同浓度的 NMDA 受体效应物 - 艾芬地尔(ifenprodil)和蛙碱(arcaïne)已被用来评估复杂性部分性癫痫发作时杏仁核的电刺激点燃效应^[12]。

4 点燃与人类复杂部分性癫痫发作的关系

点燃的发作的几个特征符合其作为人类癫痫发作模型的要求。第一,点燃的癫痫发作行为类似于人类复杂部分性癫痫发作伴继发全身性强直阵挛发作。第二,在点燃癫痫发作期间的脑电图异常类似于人类复杂部分性癫痫发作期间杏仁核和海马结构电极描记的结果。在发作间期都存在特征性的棘波。第三,苯妥英钠外,目前用于人类的其他抗癫痫药物能够有效阻止点燃^[13]。

人类产生癫痫与点燃引起癫痫发作的机制也极其相似。临床观察人类癫痫,一侧颞叶病灶的复杂部分性癫痫患者,多次发作可逐渐出现两侧颞叶都能单独触发复杂部分性癫痫发作。在发作间期,两侧颞叶癫痫活性常单独存在,且在明显局限于一侧颞叶。肿瘤的患者,临床癫痫发作可来源于两侧颞叶^[14]。外伤性癫痫的潜伏期,类似于点燃的过程。脑外伤后产生自发性癫痫发作,一般需几周或几年的静止期,可能是脑外伤后导致新的神经元联系的形成,逐渐出现异常的神经元兴奋,反复的神经元放电,最终出现癫痫。这个过程类似于点燃过程^[15]。

大多数难治性癫痫患者,组织学检查经常有 Ammons 氏角硬化。有研究 Ammon 角硬化动物的海马回切片,证明颗粒细胞存在对单个顺向兴奋性突触的兴奋,有反复放电的反应。这种重复的放电可能点燃靶结构,在方式上类似于点燃动物的方式。在单剂量毛果云香碱,ilocarpine,引起癫痫持续状态后,幸存的大鼠几个月后出现自发性癫痫。这些大鼠的 Ammon 氏角存在硬化,出现自发性癫痫的过程支持这个观点^[16]。

5 点燃的电生理机制

Racaine 提出构成点燃的电生理机制,与增强作

用和爆发棘波反应有关^[17]。目前尚无争议。在电刺激角束,输入到海马结构的主要外源性兴奋通路。点燃的动物,在海马可描记到波幅明显增大的癫痫样棘波。而在未点燃的动物,电刺激角束,在海马则不能描记到癫痫样棘波。这种现象在点燃的动物长期存在,称为长期增效作用。这是一个正反馈过程。随着刺激次数的增加,动物中枢神经系统逐步改变癫痫性活动的可塑性,表现为脑内癫痫性放电和癫痫性行为的逐渐强化。最后出现大发作。而点燃动物一旦被点燃,致癫痫效应持久保留^[18]。

癫痫样暴发棘波反应在海马实验中获得。在实验中,各种原因引起的诱发反应幅度增加,且有多次反应。即暴发棘波反应。这些暴发棘波反应存在与否,是通过树突膜高电压依赖性 Ca^{2+} 内流产生的。暴发棘波反应之后,有一超长的超级化,是由于 Ca^{2+} 依赖性 K^{+} 外流所引起。癫痫发作时改变了电压依赖性钙离子通道,点燃诱发了其在 N-VDCC 表达,增长了 21% 耀 0%^[19]。

许多生化研究已逐渐阐明了点燃的分子生物学基础。这些分子生物学研究分成两大类。一类是神经递质与受体相互作用触发的一系列反应参与的分子机制。另一类为与神经递质直接有关的分子。合成和降解已知的神经递质,神经递质的稳态水平,神经递质膜受体。大多数研究关注后者。已知的神经递质包括: 氨基丁酸、ABA、肾上腺素、多巴胺、羟色胺、乙酰胆碱、NO 以及亮氨酸、蛋氨酸、Met 等。其中,氨基丁酸和苯二氮卓抑制点燃的发生。谷氨酸促进点燃的发生。去甲肾上腺素抑制点燃。乙酰胆碱是点燃所必需。抑制乙酰胆碱,可抑制点燃。肽类如 Leu 和 Met 促进点燃的发生。NO 在点燃中有促进和抑制点燃的两方面作用。其具体作用机制尚需进一步研究。其中最主要的神经递质是兴奋性氨基酸。lu 等,抑制性氨基酸,ABA 等。对于递质与受体相互作用触发的反应链中参与的分子,可能与环核苷酸,AMP 和 cGMP,钙结合蛋白(calmodulin),磷酸化作用蛋白有关^[20]。

6 点燃的形态学改变

在点燃刺激和未刺激对照动物电极植入点之间,应用 Nissl 染色、Golgi 染色和超微结构分析,形态学上无差异^[21]。其原因可能是这些实验技术固有的缺陷混淆了阳性发现。但已有实验证实,有超微结构改变。通过生物素标记的 Tim 染色,在电子显微镜下,杏仁核点燃,可发现有苔藓纤维发芽,而常规杏仁核点燃却没有^[22]。

