

·基础研究·

匹鲁卡品致癫大鼠模型癫痫持续状态皮质脑电图记录方法的研究

吴靖,尚芙蓉

作者单位
湖北省襄阳市中心医院神经内科
湖北 襄阳 441021
收稿日期
2017-08-15
通讯作者
尚芙蓉
sfrxy@sohu.com

摘要 目的:探讨匹鲁卡品致癫大鼠模型癫痫持续状态皮质脑电图的记录方法。方法:30只SD大鼠随机分为3组,各10只,A组顺序注射氯化锂、阿托品、匹鲁卡品,确认模型成功后注射乌拉坦麻醉,固定大鼠于定位仪上记录皮质脑电图;B组顺序注射氯化锂、阿托品,注射乌拉坦麻醉后固定大鼠于定位仪,注射匹鲁卡品后记录皮质脑电图;C组注射生理盐水,乌拉坦麻醉后固定大鼠于定位仪,注射生理盐水后记录皮质脑电图;比较3组脑电图痫样放电特征及死亡率。结果:A组痫样放电出现率100%(10/10),死亡率10%(1/10);B组痫样放电出现率60%(6/10),死亡率40%(4/10);C组痫样放电出现率0%(0/10),死亡率0%(0/10)。结论:注射氯化锂、阿托品、匹鲁卡品建立模型后乌拉坦麻醉大鼠记录皮质脑电图,痫样放电出现率高,动物死亡率低。
关键词 癫痫模型;匹鲁卡品;癫痫持续状态;皮质脑电图
中图分类号 R741;R742.1 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.2018.08.010

癫痫是神经系统的第二大顽症,尤其是癫痫持续状态,作为一种危及生命的急症,具有很高发病率及死亡率。由于临床研究困难和发病机制复杂,癫痫模型成为探讨癫痫发生机制与筛选抗癫痫药物必不可少的工具,而构建动物癫痫模型是最行之有效的的方法之一^[1]。目前匹鲁卡品致癫大鼠模型已成为研究癫痫持续状态常用的动物模型^[2],但国内应用匹鲁卡品致癫大鼠模型行皮质脑电图描记的实验研究甚少。本实验通过比较不同方法,选择理想的癫痫持续状态皮质脑电图记录方法。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

清洁级健康雄性 Sprague-Dawley(SD)大鼠 30 只,体质量(210.0±30.0)g,由华中科技大学同济医学院实验动物中心提供,许可证号:SCXK(鄂)2004-0007,12 h 光亮/黑暗条件、22℃~25℃环境温度,分笼喂养。随机分为A、B、C 3组各10只。

1.2 主要试剂与材料

匹鲁卡品购自美国 FLUKA 公司;氯化锂购自武汉亦新生物技术有限公司;硫酸阿托品购自芜湖康奇制药有限公司;乌拉坦购自国药集团化学试剂有限公司。采用 RM6240 生物信号采集处理系统(成都仪器厂生产)和江湾 II 型立体定向仪(第二军医大学器材处生产)。

1.3 动物处理

大鼠癫痫发作症状采用 Racine 分级标准^[3]:0 级:无任何反应;I 级:面部阵挛,包括眨眼、动须、节奏性咀嚼等;II 级:I 级加节律性点头;III 级:II 级加前肢肌阵挛,但无后肢直立位;IV 级:III 级加后肢直立位;V 级:全面性强直-阵挛发作,并且失去体位控制。

A 组大鼠经腹腔注射氯化锂(0.125 g/kg),18~

24 h 后腹腔注射硫酸阿托品(1 mg/kg),30 min 后腹腔注射匹鲁卡品(100 mg/kg),若注射 30 min 后未诱发 III 级以上痫性发作,可每 30 min 重复给予匹鲁卡品(20 mg/kg 致总量 200 mg/kg),IV~V 级发作持续 1 h 视为模型建立成功。确认模型成功后腹腔注射乌拉坦(1.25 g/kg),麻醉后大鼠固定于定位仪上记录皮质脑电图。

B 组大鼠经腹腔注射氯化锂(0.125 g/kg),18~24 h 后腹腔注射硫酸阿托品(1 mg/kg),同时注射乌拉坦(1.25 g/kg),麻醉后大鼠固定于定位仪上记录皮质脑电图,30 min 后腹腔注射匹鲁卡品(100 mg/kg),若注射 30 min 后皮质脑电图未见痫样放电,每 30 min 重复给予匹鲁卡品(20 mg/kg 致总量 200 mg/kg)。

C 组大鼠经腹腔注射生理盐水(0.125 g/kg),18~24 h 后注射生理盐水(1 mg/kg),同时注射乌拉坦(1.25 g/kg),麻醉后大鼠固定于定位仪上记录皮质脑电图,30 min 后腹腔注射生理盐水(100 mg/kg)。

1.4 大鼠皮质脑电图描记

大鼠固定于立体定位仪后暴露颅骨,剥离骨膜。采集左右皮质脑电,3个皮质电极坐标如下:前囟向后 6.3 mm,中线左右旁开 4.3 mm,人字缝后 2 mm 正中。牙钻钻孔,插入电极,贴附硬脑膜。设定纸速 400 ms/div,灵敏度 500 μV/mm,滤波 100 Hz,时间常数 0.02 s,记录时间 3 h。

1.5 主要观察指标

3 组大鼠皮质脑电图癫痫样放电出现率及死亡率。

1.6 统计学处理

采用 SPSS15.0 进行数据处理,计数资料以百分率表示,组间比较采用卡方检验,P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

A组大鼠中4只脑电图记录到爆发性高波幅节律性棘波或棘慢波,6只记录到持续性节律性棘波、棘慢波,其中1只存活<3 h,未完成皮质脑电记录,痫样放电出现率100%(10/10),死亡率10%(1/10)。B组大鼠中2只记录到爆发性高波幅节律性棘波或棘慢波,4只记录到持续性节律性棘波、棘慢波,其余未见痫样放电,其中4只存活<3 h,未完成皮质脑电记录,痫样放电出现率60%(6/10),死亡率40%(4/10)。C组大鼠所有脑电图以5~12 Hz脑电活动为主,波幅20~50 μ V,无痫样放电,均存活>3 h,均完成皮质脑电记录,痫样放电出现率0%(0/10),死亡率0%(0/10)。

3组大鼠癫痫样放电出现率比较,A组明显高于B组($P<0.05$),A、B组都明显高于C组($P<0.01$);死亡率比较,B组明显高于A组($P<0.05$),A、B组都明显高于C组($P<0.01$)。

3 讨论

癫痫尤其是癫痫持续状态作为一组由大量神经元反复发作的异常放电导致的脑部疾病,通过建立动物模型来研究其发病机制和研发抗癫痫药物有重要意义^[4]。匹鲁卡品致痫大鼠模型是一种同时激动乙酰胆碱和谷氨酸受体导致癫痫发作的动物模型,癫痫发作后可出现3个阶段的行为和脑电图变化:一是表现为边缘性癫痫持续状态的急性期,EEG表现为连续高波幅、高频率的棘波、棘慢波发放;二是表现为行为与EEG均正常的静止期,持续时间较短;三是表现自发性、反复性发作的慢性期,类似于复杂部分性发作的患者,每只动物发作2~3次/周^[5]。因此,匹鲁卡品致痫大鼠模型既是优秀的慢性颞叶癫痫模型,又是理想的用于研究急性癫痫持续状态的癫痫模型^[6,7]。目前越来越多的实验研究选择匹鲁卡品致痫模型对癫痫持续状态的发病机制及治疗方法进行研究。

皮质脑电图痫样放电的频率快慢及波幅高低通常反映癫痫电活动的强弱程度,所以皮质脑电图在神经系统疾病特别是癫痫的电生理研究中一直是最重要的手段之一^[8]。目前癫痫大鼠模型皮质脑电图的研究有很大进展,在正常活动状态下大鼠皮质脑电图为频率7~10 Hz的正弦波,波幅在200~400 μ V^[9]。在癫痫持续状态下大鼠皮质脑电图呈成簇性发放的棘波、尖波节律,并且可见棘-慢及尖-慢复合波等多种形式的癫痫样放电(波幅100~1000 μ V),放电频率以 α 、 θ 频段为主,其中以 θ 波频段所占

比率最大^[10]。然而脑电信号的检测受环境影响很大,而且记录皮质脑电图时电极需穿过颅骨贴附大脑皮质,为了排除动物肢体抽搐的影响,需要对记录脑电图的大鼠予以良好的麻醉、固定。癫痫持续状态时大鼠的呼吸有一定程度的抑制,同时受麻醉及脑部手术损伤的影响,匹鲁卡品癫痫持续状态模型成功率及存活率目前仍不十分理想^[11,12]。

本实验中,顺序注射氯化锂、阿托品、匹鲁卡品,模型成功后注射乌拉坦麻醉、固定记录皮质脑电图组大鼠,癫痫样放电率明显高于注射氯化锂、阿托品,乌拉坦麻醉、固定后注射匹鲁卡品记录脑电图组大鼠;死亡率亦明显降低。同时2组匹鲁卡品注射大鼠癫痫样放电率、死亡率与注射生理盐水组大鼠均有显著差异,排除了麻药使用及电极放置、脑电信号描记的实验误差。不同皮质脑电图记录方法比较证实,注射氯化锂、阿托品、匹鲁卡品建立模型后乌拉坦麻醉大鼠记录皮质脑电图,癫痫样放电出现率高,死亡率低,是一种比较满意的记录匹鲁卡品致痫模型癫痫持续状态皮质脑电图的方法。

参考文献

- [1] 郭炜,李优伟,常春然. 癫痫模型研究概况[J]. 神经损伤与功能重建, 2010, 5: 213-216.
- [2] 祖筠筠,王晓宇,陆海美,等. 小鼠匹鲁卡品诱导的癫痫持续状态模型改良研究[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34: 505-508.
- [3] Racine R. Modification of seizure activity by electrical stimulation II. Motor seizure[J]. Electroencephalogr Clin Neurophysiol, 1972, 32: 281-294.
- [4] 陈丽丽,黄靓妹,詹红艳,等. 匹鲁卡品癫痫模型慢性期大鼠海马苔藓纤维出芽的观察[J]. 河北医药, 2011, 33: 1933-1935.
- [5] 肖素希,陈恒玲. 动物癫痫模型的分类比较[J]. 科教导刊, 2017, 4X: 17-18.
- [6] 方好,杨建英,杨东东. 癫痫化学点燃效应整体动物模型研究进展[J]. 湖南中医杂志, 2014, 30: 179-180.
- [7] Grötcke I, Hoffmann K, Löscher W. Behavioral alterations in the pilocarpine model of temporal lobe epilepsy in mice[J]. Exp Neurol, 2007, 207: 329-349.
- [8] 李鸣,潘松青. 莲心碱对青霉素致痫大鼠皮层脑电图的影响[J]. 中药药理与临床, 2009, 25: 27-29.
- [9] 张瑞华,王玉平. 电刺激点燃癫痫大鼠的皮层脑电及行为学研究[J]. 中国比较医学杂志, 2015, 25: 54-58.
- [10] 吴靖,周宏斌,潘松青,等. 莲心碱对氯化锂-匹鲁卡品致痫模型急性期皮层脑电图的影响[J]. 安徽医药, 2016, 20: 449-453.
- [11] 陈姝璇,王丽琨,伍国锋,等. 应用2种方法建立大鼠癫痫模型对比研究[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2017, 31: 29-32.
- [12] 高琴琴,王晖,刘明富,等. 匹鲁卡品癫痫模型中海马区 TREK-2 钾离子通道表达变化及意义[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15: 449-452.

(本文编辑:雷琪)