文章编号:1000-5404(2007)04-0335-03

论著

戊四氮癫痫模型失神发作期脑电图及意识状态的实验研究

陈启雄,蔡方成 (重庆医科大学附属儿童医院新生儿科,重庆 400014)

提 要:目的 探讨戊四氮失神发作癫痫模型在发作期是否伴有特异性的痫样放电和意识障碍,为判断该模型是否为可靠的失神发作癫痫模型提供确切的实验依据。**方法** ① 记录10只戊四氮模型大鼠癫痫发作期的脑电图,以证实是否伴有特异性的脑电图痫样放电。②利用双向穿梭箱,以主动回避反应(active avoidance response, AAR)、被动回避反应(passive escape response, PER)及逃逸失败的阳性率为观察指标,判断大鼠痫性发作期的意识状况。**结果** ① 戊四氮注射大鼠痫性发作期均伴有双侧同步的棘波发放。② 癫痫发作中,戊四氮注射大鼠主动回避反应潜伏期(active avoidance response latency, AARL)明显延长,AAR阳性率下降85%,PER阳性率增加56%,逃逸失败阳性率增加29%。**结论** 戊四氮注射大鼠可致特异性的痫性放电,同时并存意识障碍。

关键词:癫痫;失神发作;戊四氮模型;意识障碍
中图法分类号:R-332;R741.04;R749.17 **文献标识码**:A

EEG alterations and conscious state of epileptic rats during absence seizure induced by pentylenetetrazol

CHEN Qi-xiong, CAI Fang-cheng (Department of Neonate, The Children's Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China)

Abstract: Objective To evaluate whether the pentylenetetrazol (PTZ) model is an appropriate animal model of absence seizure. **Methods** A series of tests including EEG, active avoidance response (AAR) and passive escape response (PER) in a two-way shuttle box were finished during seizure induced by PTZ (35 mg/kg, ip) in 40 Wistar epileptic rats. **Results** Epileptiform activity was characterized by bilaterally spike wave discharges synchronously elicited during seizure in PTZ models. During absence seizure induced by PTZ, the latency of active avoidance response was significantly prolonged. AAR positive rate was decreased by 85%. PER positive rate was increased by 56%, and escape failure positive rate was increased by 29%. **Conclusion** There is epileptiform discharge accompanying transient conscious disturbance during absence seizure induced by pentylenetetrazol.

Key words: epilepsy; absence seizure; PTZ model; conscious disturbance

戊四氮诱导的失神发作癫痫模型动物在发作期的行为学改变为安静、活动减少、凝视、自动症、肌阵挛、面肌抽搐、触须抖动等非特异性表现[1]。迄今,尚无有关该模型在癫痫发作期是否伴有特异性的痫样放电及确实存在意识障碍的报道,即其作为成功的失神发作癫痫模型尚缺乏可靠的实验证据。本实验采用双向穿梭箱,以主动回避反应(active avoidance response, AAR)及被动回避反应(passive escape response, PER)阳性率和潜伏期及逃逸失败阳性率为观察指标,对戊四氮模型动物癫痫发作期的意识状态进行判断[2],并结合动物在癫痫发作期有无特异性的脑电图改变,评价其作为失神发作癫痫模型的可靠性。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

YSD-4G型药理生理实验多用仪(江苏医用仪器厂),双极漆包不锈钢电极(直径0.2 mm,尖距0.1 mm),307-2型牙科台

作者简介:陈启雄(1972-),男,四川省西昌市人,博士,主治医师,主要从事癫痫发病机制及药物治疗方面的研究。电话:(023)60665038, E-mail: chengqixiong@126.com
通讯作者:蔡方成, E-mail: caifangc@126.com
收稿日期:2006-03-13;修回日期:2006-08-11

式电钻机(上海医疗器械厂),脑电图仪(NIHON KOHDEN, Japan),显微及常规手术器械(上海医疗器械厂),光电换能开关控制的光信号刺激双向穿梭箱(自制),戊四氮 (Sigma, USA)。

1.2 实验动物

雄性 Wistar 大鼠,体质量 200 ~ 250 g,购自第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心。12 h/12 h 光亮/黑暗条件、22 ~ 25 ℃环境温度,分隔喂养。

1.3 戊四氮失神发作癫痫模型制备

参照文献[3]方法加以修改。雄性 Wistar 大鼠,戊四氮,35 mg/kg,腹腔注射,诱导癫痫发作。

1.4 戊四氮癫痫模型大鼠发作期皮层脑电图记录

1.4.1 皮层脑电图纪录电极埋植与固定 2% 异戊巴比妥,40 mg/kg,腹腔注射,麻醉大鼠。切开头皮,暴露颅骨,在冠状缝与矢状缝交界处旁开 3 mm 处用牙科电钻左右各钻一小孔,植入不锈钢电极,牙托粉固定电极后缝合头皮。在大鼠鼻根部插入一电极作参考。手术后丁胺卡那霉素抗感染,1 周后开始实验。

1.4.2 戊四氮癫痫模型大鼠发作期皮层脑电图记录 实验组 10 只大鼠,先记录正常脑电图,然后给予致痫剂戊四氮,35 mg/kg,腹腔注射,持续记录直到获得发作期图形。

对照组 10 只大鼠给予同等剂量生理盐水,参与全部记录过程。

1.5 大鼠逃避反应的建立及实验动物的准备

实验开始,将大鼠置入穿梭箱内,先让其适应环境 10 min,此期间不加任何刺激。然后,首先施加条件(灯光)刺激,如在条件刺激时程(5 s)内就检测到穿梭反应,为 AAR。反之,则进一步施加非条件刺激(电击),若在电击后 5 s 内如出现穿梭反应,称为 PER;若 5 s 内始终没有穿梭反应,则为逃逸失败。反复训练使大鼠形成见到灯光即通过室间小孔跑到暗室的条件反射。AAR 所需时间为主动回避反应潜伏期(active avoidance response latency, AARL),PER 所需时间为被动回避反应潜伏期(passive escape response latency, PERL)。依此方法每天上午和下午各训练 20 次,每次间隔 30 s[平均训练时间为(15 ± 2) min],持续训练 1 周,AAR 次数占训练次数的百分比即为 AAR 阳性率,选取第 6 或者第 7 天 AAR 阳性率达 100% 的大鼠用于实验。

1.6 戊四氮模型大鼠癫痫发作期的意识状况判断

选取 AAR 阳性率为 100% 的大鼠 20 只,分为 2 组:戊四氮模型组及生理盐水组,10 只/组。连续再确认测试 20 次,记录 AAR 阳性率、AARL、PER 及逃逸失败阳性率,作为基础值。

戊四氮模型组每只大鼠 PTZ,35 mg/kg,腹腔注射。当大鼠发作初期呈肌阵挛表现时,即检测 AAR,记录 AAR 和 PER 阳性率、AARL、PERL 及逃逸失败阳性率。生理盐水组给予同等剂量生理盐水,参与全部测试过程。

1.7 统计学处理

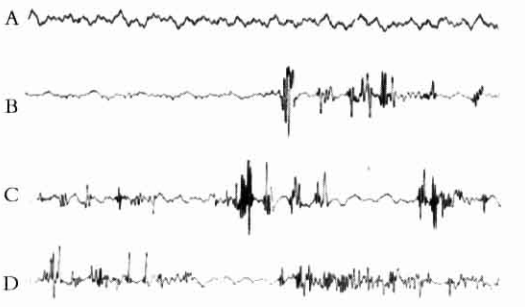
采用 SPSS 11.0 统计软件对计量资料进行单因素方差分析及均数间两两比较,Students t 检验;计数资料采用 χ^2 检验,均采用双侧显著性检测。

2 结果

2.1 戊四氮癫痫模型大鼠发作期皮层脑电图记录结果

皮层脑电图记录结果显示,对照组大鼠以 α 为主要节律,伴散在 θ 活动(图 1)。10 只大鼠给予 PTZ 10 ~ 15 min 后均开始出现痫性放电,表现为背景波变慢、棘波发放(图 1),平均痫样放电时间为(50 ± 12) min (40 ~ 65 min),同时伴有肌阵挛发作表现,发作中动物静止少动、凝视,之后出现面部、颈部肌肉阵挛。

结果表明,戊四氮模型癫痫"失神"发作期均伴有同步的棘波发放,证实为痫性发作,建模成功。



A: 腹腔注射戊四氮前的脑电图; B: 腹腔注射戊四氮 20 min 后的脑电图; C: 腹腔注射戊四氮 30 min 后的脑电图; D: 腹腔注射戊四氮 40 min 后的脑电图

图 1 戊四氮癫痫模型大鼠发作期皮层脑电图改变

2.2 戊四氮癫痫模型"失神发作"期意识状况的判断

如表 1 所示,与建模前以及与生理盐水对照组相比,戊四氮注射大鼠在癫痫发作期 AARL 明显延长,AAR 阳性率下降 85%,PER 阳性率增加 56%,逃逸失败阳性率增加 29%,差异均有显著统计学意义($P < 0.05$),证实实验大鼠在癫痫发作期确实存在明确意识障碍。

表 1 戊四氮模型癫痫发作期 AAR、PER 测试结果

组别	AAR 阳性率(%)	AARL ($\bar{x} \pm s$, s)	PER 阳性率(%)	PERL ($\bar{x} \pm s$, s)	逃逸失败阳性率(%)
戊四氮模型组					
基础值	100	1.43 ± 1.22	0	0	0
检测值	15^{bd}	3.11 ± 1.29^{bc}	56^{ac}	5.89 ± 0.56^{a}	29^{ac}
生理盐水对照组					
基础值	100	1.65 ± 1.56	0	0	0
检测值	100	1.61 ± 1.52	0	0	0

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, 与基础值比较; c: $P < 0.05$, d: $P < 0.01$, 与生理盐水对照组比较

3　讨论

失神发作是临床常见的癫痫发作类型之一。药效学研究表明，能显著对抗戊四氮模型阵挛性惊厥的药物，对控制临床失神发作有效，该模型作为失神发作癫痫模型已被接受[4]。但是，作为一个有效的研究工具，失神发作癫痫模型必须要满足的标准之一为：癫痫发作期具有与人类失神发作相似的脑电图改变，表现为起源于皮层的双侧同步的棘波发放[5]。此外，临床失神发作最主要的特征为频繁发作的短暂失神（意识丧失）[6]。戊四氮模型在癫痫发作期的行为学表现主要为安静、活动减少、凝视、自动症、肌阵挛、面肌抽搐、触须抖动等非特异性表现，其行为学改变与所代表的临床失神发作不完全一致。迄今，从未有人证实过该模型在癫痫发作期是否伴有特异性的痫样放电及确实存在意识障碍，即其作为失神发作模型尚缺乏可靠的实验证据。因此，本研究就该模型在癫痫发作期的脑电图改变及意识状况进行了深入探讨。

戊四氮诱导的失神发作癫痫模型于发作初期主要表现为肌阵挛，此时动物除肌阵挛外，尚无其他明显行为异常。近年的神经电生理技术发展，使人们认识到肌阵挛并非都是痫性发作，根据其异常放电的起源，通常将肌阵挛分为皮层性、皮层下性、脊髓性和周围性 4 类[7,8]。由于戊四氮是一种中枢兴奋剂，除引起皮层神经元痫性发作外，必然也会使皮层下各级中枢的兴奋性增高，后者同样会引发肌阵挛，但不应属于癫痫发作。因此，这种模型发作初期的肌阵挛发作，究竟是来自皮层，或是如前述的皮层以下其他起源，即是否为癫痫发作，既往从未有人证实过。本研究揭示，戊四氮注射大鼠在肌阵挛发作期伴有特异性的双侧同步棘波发放，表明戊四氮诱导的失神发作癫痫模型发作初期的肌阵挛是癫痫发作。本研究还表明，戊四氮注射大鼠癫痫发作期均伴有特异性的脑电图痫性放电，表明该模型是成功的癫痫模型。

为进一步明确戊四氮失神发作模型癫痫发作期是否确实存在意识丧失，我们对戊四氮注射大鼠癫痫发作期的意识状况进行了探讨。癫痫发作时动物的记忆、定向能力及运动能力可能会出现改变，但记忆及定向能力改变很大程度上是意识改变的结果，而该模型出现的肌阵挛发作每次持续时间短暂，动物没有完全丧失运动能力，穿梭训练时 AAR 阳性率的降低更多是受意识丧失的影响，因此本研究中没有考虑记忆及运动能力的影响。研究结果表明，无论与建模前或与生理盐水对照组相比，戊四氮注射大鼠在癫痫发作期 AAR 阳性率下降 85%，PER 阳性率增加 56%，逃逸失败阳性率增加 29%，AARL 明显延长，差异均有显著统计学意义（$P<0.05$），证实戊四氮注射大鼠在癫痫发作期确有意识障碍并存。

我们发现，戊四氮注射大鼠可致特异性的痫性放电，同时伴有短暂的意识障碍，为肯定该模型作为有效的失神发作模型提供了确切的实验依据。本研究结果对研究失神发作时选用癫痫模型具有一定的指导意义。今后还需要进一步深入探讨戊四氮诱导的失神发作模型癫痫发生、发展的分子机制，为更好开展失神发作研究及开发新型抗失神发作药物奠定实验基础。

参考文献：

[1] Kupferberg H. Animal models used in the screening of antiepileptic drugs[J]. Epilepsia, 2001, 42(Suppl 4): 7 - 12.

[2] Egashira N, Matsumoto Y, Mishima K, *et al*. Low dose citalopram reverses memory impairment and electroconvulsive shock-induced immobilization[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2006, 83(1): 161 - 167.

[3] Mclean K J, O'brien T J, Cook M J, *et al*. The influence of gender on the aggravation of absence seizures by carbamazepine in the low-dose pentylenetetrazol rat model[J]. Seizure, 2004, 13(4): 208 - 216.

[4] Dudek F E, Staley K J, Sutula T P. The search for animal models of epileptogenesis and pharmacoresistance: are there biologic barriers to simple validation strategies? [J]. Epilepsia, 2002, 43(11): 1275 - 1277.

[5] Slaght S J, Paz T, Chavez M, *et al*. On the activity of the corticostriatal networks during spike-and-wave discharges in a genetic model of absence epilepsy[J]. J Neurosci, 2004, 24(30): 6816 - 6825.

[6] Blumenfeld H. Consciousness and epilepsy: why are patients with absence seizures absent? [J]. Prog Brain Res, 2005, 150: 271 - 286.

[7] Nguyen B Q, Kanthasamy A G, Truong D D. Animal models of myoclonus: an overview[J]. Mov Disord, 2000, 15(Suppl 1): 22 - 25.

[8] 王　献，陈　品，范仲鹏，等. 额叶癫痫 86 例临床特点及视频脑电图特点分析[J]. 郑州大学学报：医学版，2004，39(6)：1086 - 1087.

（编辑　栾　嘉）