

整 Ca^{2+} 在钙通道的流动,改变细胞内钙离子的浓度,并且可以调整细胞膜上的电压门控钙通道,降低细胞膜对钙离子的通透性,从而减少神经递质的释放^[10]。但微波辐射对海马神经元胞浆内 $[\text{Ca}^{2+}]$ 的影响未见报道。本实验发现,微波辐射后即刻,细胞内 $[\text{Ca}^{2+}]$ 显著升高,这一改变可能和学习记忆功能障碍及海马组织结构的损伤密切相关。

综上,本研究结果表明,微波辐射后体外培养海马神经元生长活力下降,凋亡和坏死率增加,且凋亡为其主要死亡方式;海马神经元膜穿孔及胞内 $[\text{Ca}^{2+}]$ 增加是其损伤重要机制。

参 考 文 献

- 1 赵梅兰,马强,曹晓哲,等. 电磁脉冲对大鼠学习记忆能力和长时程增强的影响. 中华物理医学与康复杂志, 2001, 23: 69-71.
- 2 Wang B, Lai H. Acute exposure to pulsed 2450-MHz microwaves affects water-maze performance of rats. Bioelectromagnetics, 2000, 21: 52-56.
- 3 Dias N, Nicolau A, Carvallo GS, et al. Miniaturization and application of the MTT assay to evaluate metabolic activity of protozoa in the presence of toxicants. Basic Microbiol, 1999, 39: 103-108.
- 4 Koopman G, Reutelingsperger CP, Kuijten GA, et al. Annexin V for flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on B cells undergoing apoptosis. Blood, 1994, 84: 1415-1420.
- 5 Grondahl T, Langmoen IA. Confocal laser scanning microscopy used to monitor intracellular Ca^{2+} changes in hippocampal CA1 neurons during energy deprivation. Brain Res, 1998, 785: 58-65.
- 6 刘智良,徐如祥. 抑制 p38MARK 信号通路对海马神经元毒性损伤的保护作用. 中华神经医学杂志, 2003, 2: 194-198.
- 7 Jang YK, Park JJ, Lee MC, et al. Retinoic acid-mediated induction of neurons and glial cells from human umbilical cord-derived hematopoietic stem cells. J Neurosci Res, 2004, 75: 573-584.
- 8 张弘,王保义,刘长军,等. 鸡红细胞在弱的瞬态电磁脉冲作用下的电穿孔研究. 微波学报, 2000, 16: 92-95.
- 9 曹晓哲,王德文,赵梅兰,等. 电磁脉冲辐照所致下丘脑神经细胞膜穿孔的原子力显微镜研究. 军事医学科学院院刊, 2003, 27: 416-419.
- 10 Schwab BL, Guerini D, Didszun C, et al. Cleavage of plasma membrane calcium pumps by caspases: a link between apoptosis and necrosis. Cell Death Differ, 2002, 9: 818-831.

(修回日期:2006-07-12)

(本文编辑:阮仕衡)

· 基础研究 ·

电针刺激筋缩穴对癫痫大发作和癫痫持续状态动物模型脑电图的影响

庄明华 白晔 丁山 黄芷荷 郭美云 秦达念

【摘要】目的 观察电针刺激筋缩穴对癫痫大发作和癫痫持续状态动物模型脑电图的影响。**方法** 选用成年大耳白家兔 40 只,分为对照组、模型组与电针组。家兔开颅后用青霉素皮质内注射,制备急性癫痫大发作和癫痫持续状态动物模型。电针组采用电针刺激筋缩穴,观察其对癫痫大发作和癫痫持续状态动物模型脑电图的影响。**结果** 模型组脑皮质电图显示,癫痫发作波波幅和频率较高。电针刺激癫痫动物模型筋缩穴时,家兔脑皮质电图的癫痫发作波波幅下降、频率降低;电针刺激解除后约 30 min,脑电图显示癫痫波波幅有所恢复,发作频率有集中的趋势。**结论** 电针刺激筋缩穴可抑制癫痫大发作和癫痫持续状态,减轻癫痫发作频率或强度。

【关键词】 电针; 筋缩穴; 脑电图; 癫痫模型

癫痫(epilepsy)是神经内外科及儿科常见病,属难治性疾病;尤其是癫痫大发作和癫痫持续状态在临床紧急情况下的处理较为困难,重者可导致死亡。既往有文献报道^[1,2],电针刺激可在临床紧急状况下抑制和控制癫痫大发作。为了进一步证实电针治疗对癫痫大发作和癫痫持续状态的抑制和控制作用,我们采用青霉素皮质内注射制备急性癫痫动物模型,用电针刺

激筋缩穴,观察其对癫痫大发作和癫痫持续状态动物脑电图的影响,现报道如下。

材料与方法

一、实验动物

选用第一军医大学实验动物中心提供的成年雄性大耳白家兔 40 只,体重 2~3 kg,分为电针组 15 例,模型组 15 例和对照组 10 只。

二、主要仪器与设备

上海产 G6805-1 型电针仪由汕头大学医学院第二附属医院针灸科提供;脑定位仪由汕头大学医学院生理教研室提供;美国产 Voyageur 型数字脑电图仪,由汕头大学医学院第二附属医

基金项目:广东省教育厅立项资助课题(No. 9921);广东省卫生厅立项资助课题(No. A1999419)

作者单位:515041 汕头,汕头大学医学院第二附属医院神经外科(庄明华、丁山),针灸科(白晔),电生理室(黄芷荷、郭美云);汕头大学医学院生理教研室(秦达念)

院电生理研究室提供;电动磨钻、双极电凝、手术器械、手术显微镜等由汕头大学医学院第二附属医院微创神经外科研究室提供。

自制皮质银丝电极:取直径 2 mm、长度约 10 cm 的银丝,皮质端用高温喷灯制成直径为 3 mm 的圆球,另一端与导线和连接脑电图仪的插头焊接。

三、模型制作方法

取成年雄性大耳白家兔,用浓度为 3% 的戊巴比妥以 3 ml/kg 体重耳缘静脉注射,进行基础麻醉,实验过程中按需要用 1 ml 的戊巴比妥追加麻醉。将麻醉后家兔俯卧位固定于脑定位仪上行开颅手术。剪去动物头顶部毛发并消毒,切开并剥离皮肤,用拉钩拉开皮肤暴露手术野;以电动磨钻钻孔,咬骨钳咬去右侧(作为实验侧)顶骨,形成大小 2 cm × 2 cm 的骨窗,用镊子夹起硬脑膜并剪开,悬吊硬脑膜,显露大脑皮质(如有特殊需要如保护大脑皮质不受电极损伤时,可不切开硬脑膜)。必要时可行气管插管术,以保持呼吸通畅。

因我们选用开放性颅窗技术,为了在观察中使暴露于大气的皮质局部微环境中各项指标趋于生理状态,用人工脑脊液^[3]在皮质表面覆盖一层,与大气隔离。人工脑脊液配方为:将 0.220 g 的 KCl、0.132 g 的 MgCl₂、0.221 g 的 CaCl₂、7.710 g 的 NaCl、1.600 g 的 NaHCO₃、0.402 g 的尿素和 0.665 g 葡萄糖溶于 1L 蒸馏水中,并通入含 6% CO₂、6% O₂ 和 88% N₂ 的混合气体 2 h,使液体 pH 值达 (7.28 ± 0.02),PCO₂ 为 (40.3 ± 3.0) mmHg,PO₂ 为 (77.0 ± 1.7) mmHg,使用该液体时应水浴使其保持 37℃。

电针组与模型组用微量注射器抽取浓度为 40 万 U/ml 的青霉素药液 0.02 ml,注入骨窗右前象限脑皮质内。青霉素药液制作方法:取华北制药股份有限公司生产的青霉素 80 万 U,产品批号 D0304309,加入生理盐水 2 ml,制成浓度为 40 万 U/ml 的青霉素药液。对照组仅行开颅手术,不注射青霉素。

四、电针治疗方法

电针组于造模后即刻选择筋缩穴,即背部正中线上第 9 胸椎棘突处^[4],沿皮向头侧平刺,深度约 1 mm,连接电针仪,频率为 50 Hz,刺激强度为 6 V,刺激时间为 10 min,同时监测家兔皮质脑电图的变化。

五、脑电图观察方法

用 4 条自制银丝电极的球端接触显露的大脑皮质左前、左后、右前和右后 4 个象限区域的皮质表面,注意不要刺破大脑皮质。注射青霉素之前,先描记动物正常脑皮质电图,注射青霉素后,电针治疗过程中及电针刺激解除后,描记并观察动物脑电图变化。

结 果

一、正常脑皮质电图

对照组脑电图见图 1,未见尖波和棘波,脑电活动未见癫痫样放电。实验动物未出现癫痫样表现。

二、癫痫动物模型症状及脑电图

癫痫动物模型脑皮质电图见图 2,均出现尖波和棘波,波幅较高,为 100 ~ 1 000 μV,频率较高,达 0.05 ~ 0.30 Hz。皮质癫痫波的出现先于癫痫发作症状。实验动物先出现右侧前肢抽搐,然后口、鼻、面部肌肉抽搐和阵挛,继而四肢抽搐、流涎、眼

脸上翻、颈部肌肉阵挛,最后发展到四肢抽搐、肌肉强直收缩、伴随大小便失禁、全身大发作,形成癫痫持续状态。模型组死亡 4 只兔,其中 2 只因癫痫持续状态导致窒息死亡,2 只因实验过程中麻醉过浅,动物出现挣扎,使皮质电极刺入深部引起大脑皮质肿胀死亡。其余 11 只癫痫持续状态持续时间较长。

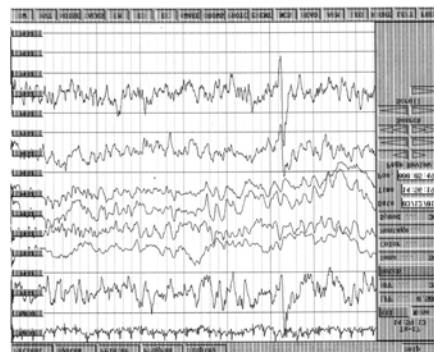


图 1 对照组正常脑皮质电图

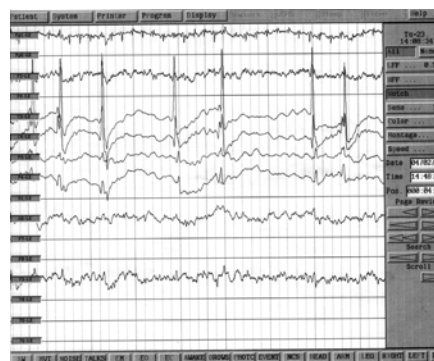


图 2 模型组脑皮质电图癫痫发作波

三、电针刺激对癫痫动物模型症状及脑电图的影响

电针刺激癫痫动物模型筋缩穴时家兔脑皮质电图见图 3,此时癫痫波(尖波和棘波)大幅下降,发作频率降低;电针刺激解除后约 30 min,脑电图显示癫痫波幅有所恢复,发作频率有集中的趋势,我们称之为“爆发现象”(图 4);放电后较少出现癫痫波(尖波、棘波)幅度下降,发作频率减少的现象,我们称之为“爆发后抑制”(图 5)。这两种现象可交替出现数次。电针刺激解除 30 min 后,实验动物全身大发作和癫痫持续状态等症状均减轻甚至完全控制;对早期出现右前肢抽搐、口、鼻、面部肌肉抽搐、阵挛的实验动物效果好于四肢抽搐的全身大发作实验动物。

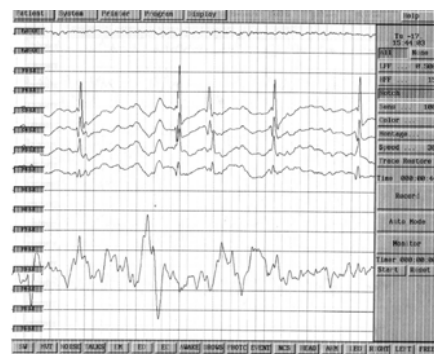


图 3 电针刺激筋缩穴时,脑皮质电图癫痫发作波幅下降、频率降低

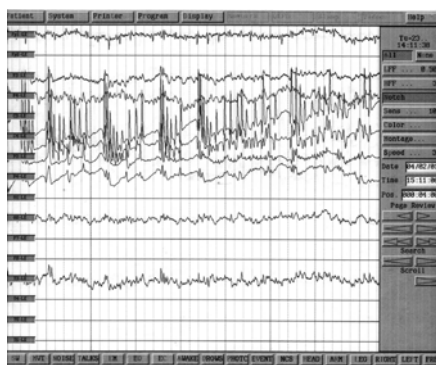


图4 电针刺激解除后约 30 min, 脑皮质电图显示癫痫波幅有所恢复, 发作频率有集中趋势

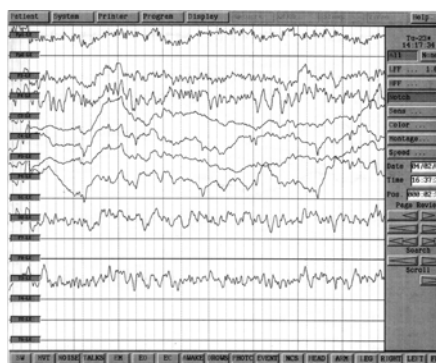


图5 脑电图发作性放电后, 较少出现癫痫波(尖波、棘波)幅度下降, 发作频率减少

讨 论

癫痫动物模型制备的标准是模型动物脑电波形和癫痫发作时的表现与人类一致, 应尽可能地模拟出人类癫痫的发作状态。癫痫动物模型的研究已有一百多年的历史, 根据模型制备快慢可分为急性和慢性模型, 根据制备方法的不同可分为化学模型、电刺激模型和遗传模型, 根据发作类型可分为部分性发作和全身性发作模型、失神性发作模型、癫痫持续状态模型等。本实验所采用的癫痫动物模型属于化学点燃模型, 通常所采用的药物有青霉素、印防己毒素(picrotoxin)、戊四唑(pentylenetetrazol)、马桑内酯和美解眠等, 在脑内局部或全身应用可产生点燃作用。青霉素是公认经典的致痫剂, 为脑内抑制性递质 γ -氨基丁酸的拮抗剂, 能抑制 γ -氨基丁酸能神经元, 引起抑制性突触活动减弱或兴奋性突触活动增强, 从而导致神经元兴奋性增高。本实验模型组死亡 4 只兔, 其中 2 只因为癫痫持续状态导致窒息而死, 另外 2 只由于麻醉过浅引起动物挣扎, 使皮质电极刺入皮质深部引起大脑皮质肿胀死亡。因此, 在实验过程中, 麻醉要注意保持一定深度, 以不出现挣扎现象为度, 为防止皮质电极刺入皮质出现脑肿胀, 模型制备时可以不切开硬脑膜。

针刺治疗方法简便, 无各种抗癫痫药物的毒副作用, 已成为临床治疗癫痫的方法之一。针刺选穴多为任督二脉, 头部选穴多, 体部选穴少, 可采用电针、长针、埋线、埋药、水针等^[5]方法。督脉中的筋缩穴是治疗癫痫的主要穴位, 主治脊强、惊痫等症。本实验结果发现, 癫痫大发作动物模型在电针刺激筋缩穴过程中, 癫痫波(尖波、棘波)波幅下降, 发作频率降低, 与过去的研究

结果一致^[1,2]。也说明针刺筋缩穴对癫痫患者的脑电图有即时作用。有研究认为^[6,7], 环核苷酸 cAMP 和 cGMP 是中枢神经系统活动有重要调节作用的第二信使, cAMP 和 cGMP 含量在体内保持一定比例, 以维持中枢神经系统的正常放电, 其比例改变可引发异常兴奋或抑制, 导致异常放电。电针治疗的原理之一可能在于降低点燃型癫痫大鼠海马(或痫灶)内 cAMP 和 cGMP 含量, 使癫痫发作被抑制^[8]。谷氨酸是大脑皮质中含量很高的兴奋性氨基酸, 在癫痫小发作时异常增高, 而 γ -氨基丁酸、甘氨酸均为抑制性递质, 牛磺酸为甘氨酸受体激动剂, 在脑内异常放电时有抑制作用, 电针刺激后, 皮质内谷氨酸降低, 而 γ -氨基丁酸、甘氨酸、牛磺酸增高^[9], 也被证实是电针治疗癫痫的作用原理之一。我们的研究结果显示, 在电针刺激解除后约 30 min, 脑电图显示尖波、棘波波幅有所恢复, 发作频率有集中趋势, 我们称之为“爆发现象”。这可能是由于电针刺激降低了痫灶皮质内的 cAMP 和 cGMP 含量, 抑制了大脑皮质致痫灶的异常放电, 使痫灶皮质 cAMP 和 cGMP 含量代偿性提高, 导致皮质再次集中放电。而“爆发后抑制”则可能是因为发作性放电后, 痫灶皮质内 cAMP 和 cGMP 含量降低, 抑制或降低了癫痫发作的频率或强度, 因此出现尖波和棘波波幅降低, 发作频率减少的现象。

癫痫大发作和癫痫持续状态重者可导致死亡, 所以在临床上主要是采取西医药物治疗。在这种紧急状况下, 单独应用电针治疗的临床意义和实际可操作性值得商榷。但笔者认为电针刺激筋缩穴可以用于临床紧急状况下抑制癫痫发作, 在一些基层医疗单位甚至农村也不失为一种紧急救治手段, 这在临床实践中也有验证^[1,2]。本实验结果证明, 电针治疗不会诱发癫痫; 可抑制癫痫大发作和癫痫持续状态, 具有减轻癫痫发作频率或强度的作用, 对癫痫的治疗有一定意义。

参 考 文 献

- 1 郑国庆, 黄培新. 癫痫持续状态的中西医结合救治. 中国中医急症, 2003, 12: 143-144.
- 2 字傲霜. 针刺治疗癫痫持续状态 1 例. 现代中西医结合杂志, 2003, 12: 752.
- 3 Sadoshima S, Thames M, Heistad D. Cerebral blood flow during elevation of intracranial pressure: role of sympathetic nerves. Am J Physiol, 1981, 241: 78-84.
- 4 胡元亮, 华兴邦, 周浩良, 等. 兔针灸穴位的研究. 实验动物与动物实验, 1993, 1: 20.
- 5 陈雅民, 丁广庭, 陈全民, 等. 针灸治疗癫痫近年来的概况. 中国针灸, 1994, 4: 49-52.
- 6 Ferrendelli JA. Roles of cyclic nucleotide in pathophysiologic mechanisms of seizures. In: Ward AA, Penry JK. Epilepsy. New York: Raven Press, 1983. 429.
- 7 Ludvig N, Mishra PK, Jobe PC. Dibutyl cyclic AMP has epileptogenic potential in the hippocampus of freely behaving rats. Neurosci Lett, 1992, 141: 187.
- 8 杨帆, 徐国龙, 王频, 等. 电针对癫痫大鼠海马内 cAMP、cGMP 含量的影响. 中国中医药科技, 2002, 9: 199-200.
- 9 张煜, 吴定宗, 万平, 等. 电针遏制癫痫小发作时脑内氨基酸含量的变化. 针刺研究, 2002, 27: 177-179.

(修回日期: 2006-07-15)

(本文编辑: 吴倩)