

# 实验性癫痫模型的 MR 成像研究

张帆 综述 卢光明 审核

【中图分类号】R445.2 【文献标识码】A 【文章编号】1000-0313(2010)07-0819-03

对人类癫痫的发生机制的研究多依赖于动物实验,早期多采用神经电生理和组织切片进行相关的研究,随着成像技术的不断完善,MRI和PET等技术除可显示脑组织结构外,还可以显示癫痫所致的脑组织代谢和生理变化,从而拓宽了对癫痫发生机制的研究手段<sup>[1]</sup>。本文对MRI技术在不同癫痫动物模型中的研究应用进展进行了综述。

## 实验性癫痫动物模型

### 1. 简单部分性发作动物模型

这类模型是一组急性皮层损伤所致的惊厥放电,动物只出现单次惊厥,不发展为慢性惊厥。造模方法较多,如在大脑皮层表面给予青霉素、荷包牡丹碱、印防己毒素等致痫剂,或直接急性电刺激皮层组织。其中应用最广泛的是以青霉素涂于动物大脑皮层表面,此模型适合研究惊厥活动的播散和癫痫产生的神经元基础问题<sup>[2]</sup>。

### 2. 复杂部分性发作动物模型

点燃(kindling)模型是指重复初始的亚惊厥剂量的刺激(电或化学药物刺激),逐渐降低惊厥发作阈值并提高敏感性,经历一个从部分性发作(1~3级)到全身发作(4~5级)的慢性过程,最终表现为反复、自发作。点燃模型具有自发和急性诱发癫痫发作的优点,其癫痫行为规范,可控性和重复性好,易于判断和定量研究。电刺激点燃模型是研究癫痫发生机制使用最多的复杂部分性模型<sup>[2]</sup>。青霉素、海人酸(kainic acid, KA)、戊四氮(pentylenetetrazol, PTZ)、马桑内酯在内的多种化学药物在脑内局部和全身性应用,均能产生点燃作用,应用最多的为PTZ<sup>[3]</sup>,其次为马桑内酯<sup>[4]</sup>。

另一个非常有用的动物模型是癫痫持续状态(status epilepticus, SE)模型,可以通过注射匹罗卡品(Pilocarpine)来建立。Pilocarpine为胆碱能肌肉激动剂,全身给药可引起癫痫发作。同时腹腔注射氯化锂(Lithium Chloride)来提高机体对Pilocarpine的敏感性从而减少死亡率。匹罗卡品/锂模型是目前应用最多的癫痫持续状态模型及自发作模型。匹罗卡品/锂模型发生发展过程与人类颞叶癫痫高度相似,具有相同的病理学基础(神经元丢失、胶质细胞增生、苔藓纤维丝状芽生等),对大部分抗癫痫药物耐药,是研究颞叶癫痫的理想工具<sup>[5,6]</sup>。

### 3. 癫痫大发作动物模型

目前使用最多、研究最透彻的大发作模型之一是最大电休克发作(maximal electroshock seizure, MES)模型,通过在动物两耳或眼球部位放置电极,以强电流通过电极对脑部进行短时间刺激,使动物产生双后肢强直性惊厥<sup>[7]</sup>。药物点燃癫痫大发

作动物模型常采用的化学药物是PTZ和荷包牡丹碱(bicuculline),还有研究采用毒毛旋花子甙-g(ouabain)和三氟乙醚(Flurothyl)来建立癫痫大发作动物模型<sup>[2]</sup>。

### 4. 癫痫发作动物模型的惊厥行为分级

癫痫发作动物模型建立后的惊厥行为反应级别采用Racine分级标准。0级:无反应;I级:节律性口角,耳或面部肌肉抽动阵挛;II级:点头并伴随更严重的面部肌肉抽动阵挛;III级:出现前肢阵挛但不伴随直立;IV级:前肢阵挛并伴随直立;V级:全身强直性阵挛发作而跌倒。面部抽搐及点头的行为,在人类复杂部分性或边缘系癫痫中也能发现,因此边缘系统癫痫的概念也能被应用在具有面部阵挛或点头的鼠的行为,运动性癫痫的概念应用在具有四肢强直或阵挛表现的鼠的行为。

## MR 成像方法在实验性癫痫模型中的应用

### 1. 扩散加权成像

DWI和扩散张量成像(diffusion tensor imaging, DTI)与传统的MRI技术不同,它主要依赖组织水分子的运动来提供一种新的影像对比。DWI对于早期发现不同动物模型脑的细胞毒性水肿非常有价值。表观扩散系数(apparent diffusion coefficient, ADC)的变化涉及到细胞内和细胞外水分子扩散特性以及水跨膜转运的改变。一些研究发现通过监测ADC值的变化能够非常敏感的探测到早期癫痫诱发的微小的脑损伤改变<sup>[8]</sup>。一些研究对简单部分发作癫痫模型癫痫发作后即刻进行MRI扫描,发现部分脑区有ADC值和 $T_2^*$ 值的降低,而 $T_2$ 和 $T_1$ 值没有改变<sup>[8]</sup>。在腹腔注射海人酸诱发的复杂部分性发作癫痫动物模型,在癫痫发作后24h可以在DWI图像上明显的观察到梨状皮层和杏仁核的信号改变,而 $T_2$ WI上则没有明显的变化,提示ADC能够很敏感的反映早期癫痫发作导致的脑的细胞毒性水肿。这些改变在传统的脑结构影像(如CT,常规MRI)上没有变化,但在DWI上会发现脑内ADC值的变化<sup>[1]</sup>。

### 2. $T_1$ WI和 $T_2$ WI

常规MR $T_1$ WI和 $T_2$ WI是癫痫的常规检查技术,早期的研究报道青霉素点燃的简单部分发作癫痫大鼠模型在癫痫发作后30~60min可以观察到局部大脑皮层 $T_2$ WI呈高信号<sup>[9]</sup>。在海人酸点燃的狗复杂部分发作模型,在癫痫频繁发作后的静止期进行MR成像,可以观察到海马的 $T_2$ WI高信号,在癫痫发作频率下降后的1~2周,海马的高信号变成了等信号,在海人酸注射后1~3个月,海马的信号又进一步增高。组织学分析认为,早期的高信号可能与癫痫发作导致的局部脑水肿有关,而在癫痫发作后期的高信号可能与局部脑组织胶质增生或者由于海马损伤导致的局部脑组织萎缩有关<sup>[10]</sup>。

另外的研究运用MR $T_1$ WI和 $T_2$ WI进行三维重建和脑容积测量。运用MR容积测量方法,在海人酸点燃的癫痫大鼠模型,可以观察到海马体积的缩小以及脑室的扩大,而其它脑区

作者单位:210002 江苏,南京军区南京总医院医学影像科  
作者简介:张帆(1973-),女,山东临沂人,博士,主治医师,主要从事神经影像及分子影像。  
通讯作者:卢光明, E-mail: cjr. luguangming@vip. 163. com  
基金项目:国家基础研究项目 973 资助(2006. CB705707)

没有观察到体积的改变,组织学结果证实了海马硬化,这一结果验证了 MRI 所观察的结果<sup>[11]</sup>。

$T_2$ -Map:  $T_2$ -Map 是测量组织  $T_2$  弛豫时间的参数图,通过多回波加权成像获得,主要用于量化脑组织的  $T_2$  弛豫时间的变化。在  $T_2$  信号未发生明显改变时,通过测量组织的  $T_2$  弛豫时间对检测病灶会更为敏感。在癫痫状态下,相应部位脑组织  $T_2$  弛豫时间的增加被认为反映了由于组织结构的变化而引起的水平衡的破坏,而对应的组织结构的变化包括胶质增生、水肿、苔藓纤维芽孢形成、神经元突触重组以及神经元丢失等<sup>[12,13]</sup>。Jupp 等<sup>[13]</sup>运用电刺激大鼠杏仁核癫痫点燃模型观察到了海马的异常高信号和  $T_2$  值的异常,证实海马可能是与癫痫发作相关的重要区域。

### 3. 灌注成像

PWI 可提供常规 MRI 所不能提供的血流动力学方面的信息,它是利用快速扫描技术,通过静脉内团注对比剂,在短时间内改变组织的磁化率,从而改变磁共振信号的强弱来评价脑组织的血流动力学变化。一些研究小组将 PWI 技术用于研究 Pilocarpine 点燃的颞叶癫痫动物模型,表现为局部脑区血流量增加。发作期病灶处神经元过度放电及代谢增强,致局部血流增加。组织学分析证实了高灌注脑区的神经元出现了退行性的变化<sup>[14,15]</sup>。

Fabene 等<sup>[16]</sup>应用 PWI 观察到 Pilocarpine 点燃的癫痫持续发作动物模型在癫痫发作 2h 后,感觉运动皮层的外颗粒细胞层血流灌注下降,提示皮层缺血发生,而内颗粒细胞层表现为灌注增加,24h 后外颗粒细胞层细胞表现为细胞坏死,而内颗粒细胞层表现为凋亡。这一结果显示 Pilocarpine 点燃的癫痫持续发作模型诱发的脑损害既有兴奋性中毒也有局部缺血的损伤。

### 4. 磁共振波谱

MRS 主要通过对坐标中的不同共振频率波峰的分析来判断特定化学物质的含量,进而对癫痫进行诊断。在癫痫的研究中,MRS 可用于急性慢性癫痫发作不同阶段脑代谢的异常<sup>[17]</sup>。

目前所用 MRS 主要的原子核有  $^1\text{H}$ 、 $^{31}\text{P}$ 、 $^{13}\text{C}$ 、 $^{19}\text{F}$  和  $^{23}\text{Na}$ ,在动物癫痫模型的研究中以  $^1\text{H}$ 、 $^{31}\text{P}$  应用最广泛。早在上世纪 80 年代人们就开始使用 MRS 来研究癫痫,研究者使用  $^{31}\text{P}$ -MRS 研究 bicuculline 点燃的兔癫痫模型,发现了脑磷酸肌酸(phosphocreatine, PCr)的下降,同时伴有无机磷酸盐(inorganic phosphate, Pi)的增加,这项研究在活体证实了癫痫持续状态对能量获取的要求增加。

在癫痫的  $^1\text{H}$ -MRS 中观察到的 3 个最重要的指标为 N-乙酰天门冬氨酸(N-acetyl aspartate, NAA)、肌酸(creatine, Cr)和胆碱类化合物(choline, Cho)。NAA 广泛存在于神经元和轴突的线粒体内,反映神经元数量,在神经元受到破坏时其浓度降低;Cr 属于肌酸/磷酸肌酸类,是能量代谢中高能磷酸键的缓冲储备物,其改变反映能量代谢的变化,由于其分布相对恒定,波谱分析中用作参照物;Cho 是胆碱/磷酸胆碱类,是细胞膜的成分之一,参与磷脂的合成、分解代谢和髓鞘的形成,其改变反映胶质细胞的数量的改变。Hirshman 等<sup>[17]</sup>的实验发现,海人酸点燃的大鼠癫痫模型,NAA/Cr 的比值在发作时增加,5h 后回到点燃前水平,24h 后降到正常以下水平,这个变化过程可能与海人酸导致的细胞兴奋性中毒,随后发生神经元破坏有关,且

这一结果得到了组织病理分析的证实,而 Cr/Cho 在神经元破坏的检测中没有特殊的意义。

另外几个有助于癫痫诊断的指标:①乳酸(lactic acid, Lac),在癫痫发作时由于氧化磷酸化过程不能满足能量消耗,发生无氧代谢,导致乳酸积累而出现波峰。又由于 Lac 在细胞内和细胞外均可发生积累,所以缺氧脑组织及其周围的一定范围内均可发现乳酸峰的升高。研究发现 Lac 的水平在应用电刺激海马点燃的大鼠局灶性癫痫模型仅在癫痫放电的局部脑区升高,而在电刺激海马点燃的继发性发作模型,表现为脑区弥散性的 Lac 升高,并保持高水平超过 2h。这种变化的具体机制不明,可能与糖无氧酵解提供能量,或者与为胶质增生提供能量储备有关<sup>[17]</sup>;②  $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA),是中枢神经系统最重要的抑制性神经介质,大脑 GABA 皮层中 GABA 的浓度反映了 GABA 能神经元所占的比重;③谷氨酸(glutamic acid, Glu),Glu 为哺乳动物大脑皮层内最重要的兴奋性神经递质,可转变为 GABA 和谷氨酰胺,35%~51% 的皮层神经元可产生谷氨酸类递质,它是癫痫性脑损害的触发因子;急性 PTZ 点燃的大鼠癫痫模型,Elouayli 等<sup>[18]</sup>运用  $^{13}\text{C}$  MRS 发现除表现有小脑 GABA 合成的下降,还有谷氨酸能神经元(glutamateergic neurons)的损害,而不是星形胶质细胞的损害。Melo 等<sup>[19]</sup>在 lithium-pilocarpine 点燃的大鼠慢性颞叶癫痫模型上得到了同样的结果;④肌醇(Myoinositol, MI),存在于星形细胞中,MI 功能尚不明确,可能与胶质增生有关。Liu 等<sup>[20]</sup>电刺激大鼠的右侧海马,建立复杂部分性发作癫痫动物模型,然后取脑组织进行离体的双侧海马、内嗅皮质(entorhinal cortices, ECs)和颞叶的波谱分析,结果发现癫痫大鼠海马的 NAA 水平明显低于双侧的 ECs,同时 ECs 的肌醇含量明显增高。

### 5. 脑功能成像

fMRI 成像方法依赖于局部脑区的氧含量变化,故又称血氧水平依赖(blood oxygen level dependent, BOLD)脑功能成像。大脑在接受各种感觉刺激以及进行活动时,脑部特定区域被激活,出现局部脑血流量增加,但大脑被激活时氧的消耗没有和血流同步增加,这就造成含氧和脱氧血红蛋白的比例在激发和非激发之间的差别,从而提供了 BOLD 信号产生的基础<sup>[7,21]</sup>。凡是能引起脑局部血流变化的脑部疾病(如癫痫、肿瘤、脑血管病变等)均可表现为 fMRI 的异常,利用 fMRI 可以为一些无明确解剖学改变的疾病或仅凭解剖学改变不易确诊的疾病提供了影像学的资料。

最初通过在鼠大脑皮层反复微量灌注印已防毒素建立简单部分性癫痫发作动物模型,在灌注前和灌注期间 30min 内, fMRI 信号变化与神经化学递质(主要是谷氨酸含量)变化高度相关,在印已防毒素点燃癫痫发作后 30min,脑谷氨酸含量水平下降,但局部 rCBF 增加,提示可能还有其它的因素在调节神经化学递质和血流动力学水平<sup>[21]</sup>。

Opdam 等<sup>[22]</sup>运用抑制性氨基酸受体阻断剂青霉素点燃的简单部分癫痫发作羊模型,运用 fMRI 和 EEG 均观察到了癫痫的发作,在观察到单侧癫痫发作异常脑电信号的同时,观察到局部的 BOLD 信号的改变集中在癫痫发作的局部和同侧的杏仁核,从而提示了癫痫发作皮层一皮层下环路的存在。

fMRI 已被用于很多的癫痫大发作动物模型的研究中,通

过静脉注射 GABA 拮抗剂荷包牡丹碱建立大鼠的癫痫大发作模型,同时应用磁共振纳米颗粒作为血池对比剂,在荷包牡丹碱静脉滴注的同时,可以观察到鼠脑局部脑血流量的增加。在滴注最初的 2 min,信号的改变主要在皮层,随后可以看到其它脑区如尾状核、丘脑和小脑信号的改变。滴注 10min 后,信号的改变主要在丘脑,信号的变化幅度与荷包牡丹碱滴注的量有关。信号变化的区域与 GABA 在脑内的作用部位高度一致<sup>[23]</sup>。

对大鼠注射  $\gamma$ 2 羟基丁酸( $\gamma$ -GHB)建立的失神发作动物模型中进行 fMRI 研究,在失神发作前、发作期间和发作后进行 BOLD 成像,脑电观察到双侧同步棘波发放(spike wave discharges, SWDs),BOLD 信号的改变主要在丘脑,这就证实了丘脑在失神发作中发挥重要作用<sup>[24]</sup>。

总之, MRI 不但能显示癫痫动物模型癫痫灶的精细解剖结构,还能提供基于生理和功能参数的影像信息,能从多方面对癫痫灶进行显像和定量分析,并结合组织病理分析对癫痫的发病机制进行深入研究,这为研究人类癫痫地发病机制提供了很好的研究手段和方法。

#### 参考文献:

- [1] Theodore WH, Gaillard WD. Neuroimaging and the progression of epilepsy[J]. Prog Brain Res, 2002, 135(2): 305-313.
- [2] Jefferys J GR. Models and mechanisms of experimental epilepsies [J]. Epilepsia, 2003, 44(12): 44-50.
- [3] Kondziella D, Hammer J, Sletvold O, et al. The pentylenetetrazole kindling model of epilepsy in SAMP8 mice: glial neuronal metabolic interactions[J]. Neurochem Int, 2003, 43(7): 629-637.
- [4] Wang Y, Zhou D, Wang B, et al. A kindling model of pharmacoresistant temporal lobe epilepsy in sprague dawley rats induced by coriaria lactone and its possible mechanism [J]. Epilep Sia, 2003, 44(4): 475-485.
- [5] Grticke I, Hoffmann K, Lscher W. Behavioral alterations in the pilocarpine model of temporal lobe epilepsy in mice[J]. Exp Neurol, 2007, 207(2): 329-349.
- [6] André V, Dubé C, François J, et al. Pathogenesis and pharmacology of epilepsy in the lithium-pilocarpine model[J]. Epilepsia, 2007, 48(5): 41-47.
- [7] Motelow JE, Blumenfeld H. Functional neuroimaging of spike-wave seizures[J]. Methods Mol Biol, 2009, 489(1): 189-209.
- [8] van Eijsden P, Notenboom RG, Wu O, et al. In vivo <sup>1</sup>H magnetic resonance spectroscopy, T<sub>2</sub>-weighted and diffusion-weighted MRI during lithium-pilocarpine-induced status epilepticus in the rat[J]. Brain Res, 2004, 1030(1): 11-18.
- [9] Briellmann RS, Wellard RM, Jackson GD. Seizure-associated abnormalities in epilepsy: evidence from MR imaging[J]. Epilepsia, 2005, 46(5): 760-766.
- [10] Dalziel DJ, Uthman BM, McGorray SP, et al. Seizure-alert dogs: a review and preliminary study[J]. Seizure, 2003, 12(2): 115-120.
- [11] Wolf OT, Dyakin V, Patel A, et al. Volumetric structural magnetic resonance imaging (MRI) of the rat hippocampus following kainic acid (KA) treatment[J]. Brain Res, 2002, 934(2): 87-96.
- [12] Bote RP, Blázquez-Llorca L, Fernández-Gil MA. Hippocampal sclerosis: histopathology substrate and magnetic resonance imaging[J]. Semin Ultrasound CT MR, 2008, 29(1): 2-14.
- [13] Jupp B, Williams JP, Tesiram YA. Hippocampal T<sub>2</sub> signal change during amygdala kindling epileptogenesis[J]. Epilepsia, 2006, 47(1): 41-46.
- [14] Grohn O, Pitkanen A. Magnetic resonance imaging in animal models of epilepsy-noninvasive detection of structural alterations [J]. Epilepsia, 2007, 48(4): 3-10.
- [15] Fabene PF, Marzola P, Sbarbati A, et al. Magnetic resonance imaging of changes elicited by status epilepticus in the rat brain: diffusion-weighted and T<sub>2</sub>-weighted images, regional blood volume maps, and direct correlation with tissue and cell damage[J]. Neuroimage, 2003, 18(2): 375-389.
- [16] Fabene PF, Merigo F, Galie M, et al. Pilocarpine-induced status epilepticus in rats involves ischemic and excitotoxic mechanisms [J]. PLoS ONE, 2007, 2(10): 1105-1114.
- [17] Hiremath GK, Najm IM. Magnetic resonance spectroscopy in animal models of epilepsy[J]. Epilepsia, 2007, 48(Suppl 4): S47-S55.
- [18] Eloyayli H, Dahl CB, Gotestam KG, et al. Pentylenetetrazole decreases metabolic glutamate turnover in rat brain[J]. J Neurochem, 2003, 85(5): 1200-1207.
- [19] Melo TM, Nehlig A, Sonnewald U, et al. Metabolism is normal in astrocytes in chronically epileptic rats: a <sup>13</sup>C NMR study of neuronal-glial interactions in a model of temporal lobe epilepsy[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2005, 25(10): 1254-1264.
- [20] Liu HL, Fang F, Zhu H, et al. Metabolic changes in temporal lobe structures measured by HR-MAS NMR at early stage of electrogenic rat epilepsy [J]. Experimental Neurology, 2008, 212(2): 377-385.
- [21] Aghakhani Y, Bagshaw AP, Benar CG, et al. fMRI activation during spike and wave discharges in idiopathic generalized epilepsy[J]. Brain, 2004, 127(5): 1127-1144.
- [22] Opdam HI, Federico P, Jackson GD, et al. A sheep model for the study of focal epilepsy with concurrent intracranial EEG and functional MRI[J]. Epilepsia, 43(8): 779-789.
- [23] Reese T, Bjelke B, Porszasz R, et al. Regional brain activation by bicuculline visualized by functional magnetic resonance imaging. Time-resolved assessment of bicuculline-induced changes in local cerebral blood volume using an intravascular contrast agent[J]. NMR Biomed, 2000, 13(1): 43-49.
- [24] Tenney JR, Duong TQ, King JA, et al. Corticothalamic modulation during absence seizures in rats: a functional MRI assessment [J]. Epilepsia, 2003, 44(9): 1133-1140.

(修回日期: 2009-06-16)