

医药实验动物模型

——制作与应用

黄国钧 黄勤挽 主 编



化学工业出版社
生物·医药出版分社

· 北 京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

医药实验动物模型：制作与应用/黄国钧，黄勤挽主编. —北京：
化学工业出版社，2007.10
ISBN 978-7-122-01131-2

I. 医… II. ①黄…②黄… III. 医药学：实验动物学-模型
IV. R-332

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 144612 号

责任编辑：韩文阳 李少华 孙小芳
责任校对：郑 捷

装帧设计：关 飞

出版发行：化学工业出版社 生物·医药出版分社
(北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 刷：北京永鑫印刷有限责任公司

装 订：三河市万龙印装有限公司

787mm×1092mm 1/16 印张 53½ 字数 1414 千字 2008 年 1 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询：010-64518888 (传真：010-64519686) 售后服务：010-64518899

网 址：<http://www.cip.com.cn>

凡购买本书，如有缺损质量问题，本社销售中心负责调换。

定 价：168.00 元

版权所有 违者必究

本书编写人员

- 主 编 黄国钧 成都中医药大学
黄勤挽 成都中医药大学
- 主 审 赵 一 广西中医学院
- 编写人员 (按姓氏汉语拼音排序)
- 柴天川 河北省医科大学中医院
陈文文 四川新荷花中药饮片有限责任公司
董 静 成都体育学院
董青青 成都中医药大学
龚 立 复旦大学生命科学学院
顾 健 西南民族大学
郝柳妮 四川维奥制药有限公司
胡 荣 成都中医药大学
黄国钧 成都中医药大学
黄郡翔 成都中医药大学
黄勤挽 成都中医药大学
兰志琼 成都中医药大学
李佳川 成都中医药大学
刘 辉 成都中医药大学
刘丽芬 河北省优抚医院
刘 伟 东方药林药业有限公司
刘 岩 成都中医药大学
刘咏松 成都中医药大学
龙绍疆 四川滇虹医药开发有限公司
龙晓燕 西南科技大学
莫书蓉 成都中医药大学
钱海兵 贵阳中医学院
单义民 江西中医学院
宋 军 四川省中医药科学院
汤美健 成都地奥集团天府药业有限责任公司
万 军 西南交通大学药学院
王 敏 成都中医药大学
王 强 四川省中医药科学院
王瑞国 福建中医学院
王艳芬 成都中医药大学
王 勇 四川大学华西医学中心

文 彪	成都中医药大学
吴建明	成都中医药大学
许润春	成都中医药大学
杨金蓉	成都中医药大学
杨莉娟	中国科学院成都生物研究所
杨 露	成都中医药大学
杨胜玉	成都地奥集团天府药业有限责任公司
叶 冰	乐山职业技术学院
曾 勇	成都中医药大学
张 涓	陕西中医学院
赵 璐	成都中医药大学
赵 威	广州中医药大学
周春阳	川北医学院
周 霞	西南交通大学药学院

序 一

动物实验是生命科学特别是医学、药学研究的重要基础和支撑条件。实验动物被视为活的“精密仪器”，实验动物科学水平已经成为衡量生命科学技术水平的重要标志。人类疾病动物模型具有与人类疾病相似的症状或病理变化，是生命科学研究的重要载体和手段。

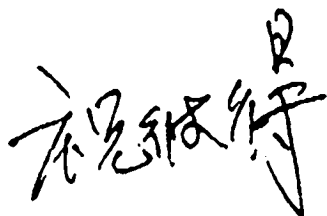
实验动物与人类疾病动物模型的研究及应用已有非常悠久的历史，法国化学家、细菌学家巴斯德 1881 年首次制成了“炭疽病”的疫苗；1885 年又从研究动物狂犬病入手，制成狂犬病疫苗，用于预防人类狂犬病，被誉为“狂犬病的征服者”。

建立人类疾病动物模型的方法大致可划分为：自发性动物模型、诱发性动物模型、同种或异种移植的动物模型、转基因动物模型、基因敲除动物模型。本书中绝大多数模型制作方法属于诱发性动物模型，是人为应用机械、物理、化学、生物等因素诱发类似人类疾病特征的动物模型。此类模型具有制作方法简便、条件容易控制、重复性好、时间较短等优点。

本书的主编黄国钧教授长期从事药理学课程的教学及科研工作，学术造诣深厚，对国内开展的动物模型研究情况非常熟悉，2000 年被授予“四川省有突出贡献的优秀专家”称号。

该书的出版为生命科学特别是医学、药学研究工作者提供了实用参考工具书，将为研究疾病的病因、发病机制及防治药物的研究与开发发挥重要作用。

成都中医药大学教授



2007 年 6 月

序 二

医学的进步与发展，其最终目的是为了人类的健康和长寿。近一百多年来，与人类健康密切相关的重大科研突破，都与动物实验分不开，人类疾病动物模型在其中发挥了重要作用，其重要地位已得到充分肯定。目前，实验动物与人类疾病动物模型已被广泛应用于医学生物学的研究领域。为了探讨人类疾病的病因、病理、发病机制、预防和治疗，人们采用不同的方法，其中包括手术、药物、遗传学育种、转基因或基因敲除等方法已先后建立起各种与人类疾病相关的动物模型，如高血压、糖尿病、血友病、白血病、免疫缺陷症、老年病、节育等动物模型，通过这些动物模型，对这些疾病进行了深入、系统的研究，在这些疾病的发病机制与预防治疗等方面均取得了突破性进展。因此，疾病动物模型在医学、药学领域所发挥的重要作用越来越受到人们的重视。

黄国钧教授在 38 年的教学和科研工作中，经常查阅各种疾病动物模型的诱发病因、病理机制，制作人类疾病动物模型，进行药物疗效与毒性评价的研究工作，对国内开展动物模型研究的情况非常熟悉，并具有丰富的经验，在查阅国内已有的关于药理实验方法方面的参考工具书的同时，常深感其中有某些不足，因此组织编写了本书。全书分 20 章，介绍 200 余种疾病共约 1500 个动物模型的制作方法和检测评价指标。所收集的资料新颖，反映了国内实验动物模型研究的新水平，通过对实验动物、模型制作因素、模型制作技术的比较，探索具有可控性和易重复的模型制作方法，探索了优质模型制作条件和方法。该书开拓了动物模型创制的研究思路，适用于人类疾病发病机制及防治措施的研究，适用于研究药物药理作用与机理评价，具有极强的可操作性和实用性，不失为医学、药学科研工作者实用的疾病动物模型参考工具书。

四川省卫生厅副厅长
四川大学基础与法医学院教授

王正荣

前 言

生命科学特别是医药学研究是现代科学的前沿学科，开展有关生命现象及其本质的许多研究依赖于动物实验与人类疾病动物模型。动物实验是生命科学研究的重要基础和支撑条件，动物实验的研究水平已经成为衡量生命科学技术研究水平的重要标志之一。

本书收录的动物模型制作方法大多经过了国内学者的实践研究，因此所提到的实验设施等客观条件更适合国内研究，更具有可操作性和实用性。

每一种动物模型中详细地介绍了动物模型的制备方法和检测评价指标及变化。在收录不同的动物模型方法时着重考虑到动物、诱导药与制作方法这三个要素，有的还比较了同种疾病不同模型制作方法的优缺点。

判断疾病动物模型的成功与否需要建立和选择评价指标。评价指标应具有特异性强、敏感性高、重现性好、客观、定量的特性，而且应规范化和标准化，即建立完整和规范的能反映疾病病理生理变化的评价体系。因此，在每个动物模型中均列出“观测指标与分析”，便于研究人员根据仪器设备条件选择评价指标。对研究人员事先了解某评价指标可能的变化趋势和变化程度提供参考。

疾病动物模型种类繁多，有的动物模型制作技术条件要求高、难度大、不易控制条件、重复性较差，加之撰写和审稿中的不足之处，恳请广大读者批评和指正。

最后，感谢化学工业出版社的有关编辑及对本书出版付出辛勤劳动的人们。

编 者

2007 年 6 月

第一节 癫痫动物模型

癫痫是常见的神经系统疾病，最显著的临床特征是长期反复出现的癫痫发作，伴随不同的临床和脑电图的表现。迄今为止，研究癫痫发病机理仍需依赖动物模型。判断癫痫动物模型是否符合人类癫痫特征的标准主要有两条：①动物模型的生物电发放和发作行为需与人类癫痫一致；②如若无发作症状，脑电图须显示有生物电异常发放，称为癫痫样放电。

癫痫动物模型种类包括：①大鼠青霉素癫痫模型；②大鼠戊四氮癫痫模型；③大鼠贝美格癫痫模型；④海人酸皮下注射致大鼠癫痫模型；⑤大鼠海人酸杏仁核点燃癫痫模型；⑥海人酸侧脑室注射致大鼠慢性颞叶癫痫模型；⑦海人酸海马注射致大鼠颞叶癫痫模型；⑧海人酸海马注射建立大鼠颞叶癫痫模型；⑨大鼠印防己碱点燃癫痫模型；⑩大鼠马桑内酯点燃癫痫模型；⑪铁离子致大鼠外伤后癫痫动物模型；⑫大鼠戊四氮点燃癫痫模型；⑬大鼠杏仁核电点燃癫痫模型；⑭大鼠海马电点燃癫痫模型；⑮氯化锂-毛果芸香碱致大鼠癫痫持续状态模型；⑯West 综合征大鼠模型；⑰小鼠毛果芸香碱急性癫痫模型；⑱青霉素诱发海马脑片癫痫样放电模型。

一、大鼠青霉素癫痫模型

青霉素是一种经典的致病剂，依使用的方法和动物的不同可以产生不同类型的癫痫。青霉素癫痫模型更适合失神性癫痫、局限性癫痫模型复制、发病机理、药物筛选的研究。

【模型制作方法】^[1] SD 大鼠，体重 300g 左右，雌雄各半。癫痫模型组大鼠腹腔注射青霉素 700 万 U/kg。注射青霉素后连续观察 2.5~3h。

【观测指标与分析】（1）行为学观察 癫痫发作程度参照 Racine 的标准：0 级，无反应或抽搐停止；1 级，节律性嘴或面部抽动；2 级，点头或甩尾；3 级，单肢抽动；4 级，多肢抽动或强直；5 级，全面性强直-阵挛发作。结果显示，模型组造模前大鼠活动灵活，反应敏捷。腹腔注射青霉素后，动物逐渐变得安静，随后出现眼神呆滞、呼吸加快，继而出现点头，头部肌群抖动，或身体突然出现一下抽动。过 20~30min 后，轻者出现单个或多个肢体抽动，四肢分开，重心下降，翘尾，不协调地爬行；重者则表现为全身肌肉强烈抽动，突然奔跑，跳跃，摔倒，全身强直，持续抽搐至死亡。

（2）病性发作程度及潜伏期测定 模型组 10 只大鼠中出现癫痫 3 级 3 只、4 级 2 只、5 级 5 只；因癫痫大发作而致死亡 6 只。癫痫发作平均潜伏期 $(50.81 \pm 11.43)s$ 。

二、大鼠戊四氮癫痫模型

戊四氮是作用于脑干的中枢兴奋药。由于其药代动力学特点，引起动物抽搐迅速发生，短时内达到高峰，持续较短时间后自动停止，是复制急性全身性癫痫发作的模型，可用于抗

癫痫药物筛选。

【模型制作方法】^[2] Wistar 大鼠，体重 200~220g，雄雌兼用。用生理盐水溶解戊四氮制备成浓度为 20mg/ml 的溶液。大鼠腹腔注射戊四氮 100mg/kg 复制癫痫模型。

【观测指标与分析】（1）行为学观察 模型组大鼠注药后出现 1~2 级（参考“大鼠青霉素癫痫模型中的标准”）癫痫行为，潜伏期为 5~20min，平均 (8.75 ± 7.50) min。对照组注射生理盐水 2ml 无癫痫发作。

（2）死亡率 模型组大鼠死亡率为 17%。

三、大鼠贝美格癫痫模型

【模型制作方法】^[2] Wistar 大鼠，体重 180~220g，雄雌兼用。用生理盐水溶解贝美格制备成浓度为 2.5mg/ml 的溶液，大鼠腹腔注射贝美格 25mg/kg 复制癫痫模型。

【观测指标与分析】（1）行为学观察 参照 Racine 分级标准（见大鼠青霉素癫痫模型）。结果显示，注药后出现 1~2 级癫痫行为，潜伏期为 1~15min，平均 (6.25 ± 4.95) min。对照组注射生理盐水 2ml 无癫痫发作。

（2）死亡率 模型组死亡率为 25%。

郑乃智对青霉素、戊四氮、贝美格致大鼠癫痫模型进行了比较，结果显示青霉素组潜伏期比后两者显著延长；后两者之间则无显著性差异。青霉素组死亡率为 78%，戊四氮组死亡率为 17%，贝美格组死亡率为 25%。前者和后两者比较有显著差异，后两者间则无显著差异。因此，复制急性、全身性发作癫痫模型及筛选抗癫痫药物以戊四氮和贝美格较好。

四、海人酸皮下注射致大鼠癫痫模型

海人酸（KA，红藻氨酸）是一种具有强烈的兴奋作用和致病作用的兴奋性毒素，是离子型谷氨酸受体的激动剂。其通过血脑屏障或颅内局部注射进入脑内，直接与神经元突触后膜的非 NMDA 受体（离子型谷氨酸受体中的海人酸受体和 AMDA 受体）结合，产生兴奋性突触后电位，导致病性发作，而海马、纹状体等存在特异性高亲和力的 KA 受体，尤其是海马 CA3 区的 KA 受体最多，也就最容易出现神经元过度兴奋和兴奋性氨基酸毒性作用。由于海人酸对血脑屏障的通透性很差，系统给药时只有很少甚至不到 1% 的药物可到达脑内的受体，如此低的生物利用率导致出现明显的种属和个体差异，例如，Wistar 大鼠较 SD 大鼠用量小且潜伏期短。皮下给药时老龄大鼠比年轻大鼠用量小，在同一剂量时老龄大鼠较年轻大鼠脑损伤严重。

【模型制作方法】^[3] SD 大鼠，体重 180~200g，雄性。大鼠颈部皮下注射海人酸（红藻氨酸）10mg/kg，30min 内动物出现凝视和湿狗样抖动（前驱期症状）。30~120min 内，出现时间依赖的癫痫行为，即癫痫发作行为：从面部抽搐（1 级）开始、逐渐波及颈部肌肉（2 级），一侧肢体阵挛（3 级），动物站立，双前肢阵挛（4 级），失去平衡跌倒（5 级）。2h 后，动物反复自发出现 1~5 级癫痫发作（刻板行为阶段）。4h 后，癫痫发作减轻，次数减少，8h 后基本停止。将动物饲养一个月。

【观测指标与分析】 大鼠脑内胶质纤维酸性蛋白（GFAP）-免疫反应活性的测定 动物经水合氯醛麻醉后，分别用 1% 和 4% 的多聚甲醛灌洗，取脑放入 4% 的多聚甲醛中固定，再放入 30% 蔗糖磷酸缓冲液（PBS）中（4℃）过夜，用振动切片机切取厚度为 50 μ m 的脑片，进行下列免疫组化过程：① 2% 牛血清白蛋白（BSA）内孵育 20min；② GFAP 抗血清（1:500）4℃ 孵育过夜，然后用 PBS 冲洗；③ 生物素-IgG（1:400），室温下孵育 1h；④ 卵白素生物素复合物（A:B:PBS=1:1:400），振荡孵育 2h；⑤ 二氨基联苯胺（DAB）法显色；⑥ 二甲苯透明，中性树脂封片（空白对照脑片不加一抗）。

结果显示,用海人酸诱发动物出现癫痫发作后一个月的癫痫敏感大鼠,检查其脑内GFAP-免疫反应活性的变化,与正常大鼠比较,癫痫敏感动物海马结构中GFAP免疫染色程度明显加强,特别是CA1、CA2、海马下脚及腹侧海马的海马门部位。腹侧海马中海马门部位大量增生的星形胶质细胞主要分布在靠近颗粒细胞基底部的海马门尖部,胶质细胞是一些短突起,胞体肥大,密集排列成一条黑带,而其中间部,细胞排列较疏松,齿状回颗粒细胞层部位胶质细胞增生不明显,与海马门之间出现了明显的分界。背侧海马中,模型组动物胶质细胞增生最多的部位是CA1,且出现了层次和形状变化特征。

五、大鼠海人酸杏仁核点燃癫痫模型

【模型制作方法】^[4] Wistar 大鼠,2~3月龄,体重250g左右,雄性。

(1) 分组 将动物随机分为正常组、假手术组和海人酸(KA)致病组,每组再分为6h、24h、72h和7d、14d、21d时间点组别。

(2) 脑电记录电极的埋植与KA杏仁核微量注射 在正常组、假手术组和海人酸致病组中各随机选取2只,致病后连续记录6h脑电变化。左侧顶叶皮层电极植入位置坐标为前囟后4.0mm,左外侧3.0mm,深度为颅骨表面下1.5mm,电极与脑电仪相连,海人酸致病后连续记录6h脑电变化。模型组以右侧杏仁基底核为海人酸注射部位,坐标位置为前囟3.5mm,旁开4.5mm,颅骨表面下8.0mm。应用立体定位仪,按上述位置垂直插入电极。用高效黏合剂、牙托粉加502胶固定电极。麻醉后30min用5 μ l微量注射器注入海人酸1 μ l(1 μ g)。注射完毕后结扎皮肤切口,将大鼠置于50cm $\times$ 30cm $\times$ 50cm敞口玻璃罩中便于行为学观察。术后腹腔注射青霉素8 $\times$ 10⁵U/(kg $\cdot$ d),共5d,以预防感染。

【观测指标与分析】(1) 行为学观察 大鼠行为分级按Racine分级法(见大鼠青霉素癫痫模型)。结果显示,大鼠在杏仁核注射海人酸后平均41.2min和61.2min分别依次出现部分性发作和癫痫性大发作,均出现RacineⅣ级以上发作。表现为凝视、湿狗样颤动、点头等部分发作,前肢痉挛、后退、旋转、站立倾倒、四肢抽搐等大发作行为。

(2) 点燃成功率 模型组动物95只,点燃成功率为90%。假手术组杏仁核注射PBS液后无肢体抽动及大发作现象。

(3) 单极顶叶皮层脑电图检查 正常大鼠脑电波形,频率以5~10Hz为主,波幅小于500 μ V。假手术组有3只出现散发的尖波。模型组海人酸注射后大鼠脑电均出现多种形式的癫痫性放电。典型波形有单棘波、多相棘波、双相棘波、棘慢波、尖波发作性节律及发作后抑制等。

(4) 脑组织病理学检查 光镜观察与对照组比较,模型组在海人酸注射早期主要表现为鼠海马各区和颞叶神经元核周体皱缩,树突肿胀,胶质细胞水肿,以海马为著。海人酸给药后24h~7d海马神经元丢失明显,有胶质瘢痕形成、血管增生现象,颞叶也有相应改变。海人酸注射后7~21d可见海马各区和颞叶胶质细胞在受损神经元周围积聚形成卫星灶,并见神经元吞噬现象,以海马CA3区最为显著。

六、海人酸侧脑室注射致大鼠慢性颞叶癫痫模型

【模型制作方法】^[5] SD大鼠,体重240~260g,雌雄各半。把大鼠固定在立体定向仪上,调整门齿沟平面高度,使门齿沟平面比耳间线平面低2.4mm。前囟点后1mm、矢状线旁2mm(向左或向右)为进针的位置,以1mm/min的速度进针,深约5.5mm,以3 μ l/min的速度向该侧侧脑室内注射1mg/ml的海人酸溶液15~20 μ l,约5min,置留5min。关颅后10min内,大鼠出现缺氧的症状,表现为口鼻及四肢发绀,甚至会出现呼吸心跳停止,应及时给予吸氧及心外心脏按摩等处理,大部分大鼠可以存活。0.5~1h内癫痫发作达到最高水

平,少数雄性大鼠出现癫痫持续状态,至呼吸心跳停止,此时,除对症处理外,还应给予肌肉注射地西洋。

【观测指标与分析】 (1) 行为学观察 参照 Racine 分级标准(见大鼠青霉素癫痫模型)。根据大鼠癫痫状表现分为3期:急性期(手术后1~2d)、潜伏期(急性期后10d~3个月)、慢性期(3个月以后)。结果显示:①急性期 海仁酸注射几分钟后,大鼠出现动须、面部肌肉颤动,多数先为同侧,后发展为两侧,出现凝视、点头、咀嚼(能听到明显的磨牙声)、面部抽搐,流涎,向空中跃起、摔倒,持续3~5h。发作间期,面部仍保持颤动。后多次发作,出现肌肉痉挛性前窜的动作。可间断发作2d。②潜伏期 癫痫症状完全消失,进食恢复正常,体质量回升,易激惹,抓持时出现攻击行为,可逐渐恢复正常。此期持续3个月左右。③慢性期 自发性反复的癫痫发作是这一时期的主要特点。表现为咀嚼和点头运动,持续时间3~5s。经过不同的发作时间后抑制,经常出现二次发作,伴有不动、立毛和呼吸急促,全身阵挛性抽搐,有时站立。此期大鼠进食正常,体质量仍可持续上升。提示应用该方法能较稳定地复制出慢性颞叶癫痫动物模型。

(2) 脑电图检查 模型组大鼠急性期和慢性期均能记录到癫痫样波,急性期癫痫发作时,出现明显的癫痫样波,表现为丛集性、阵发性,持续时间约1~2min,最初有明显的定位价值。慢性期癫痫动物模型的脑电图可以记录到持续存在散在发作的棘波,与急性期显著不同的是,此期不是只有进针侧颞叶存在癫痫灶,而是两侧同时同等存在,并且波幅较急性期小。

(3) 脑海马区病理学检查 ①光镜观察结果 慢性期主要表现为海马的硬化,具体体现在明显的神经细胞的缺失,以CA3区锥体细胞的变化较明显,主要表现为细胞固缩性坏死。②透射电镜观察结果 模型组大鼠在慢性期海马神经细胞出现较多的暗细胞(颜色较其他细胞明显偏暗的细胞),神经细胞的数量减少,胶质细胞的数量增多;突触间隙及前后突触体内囊泡的数量明显减少。

七、海人酸海马注射致大鼠颞叶癫痫模型

【模型制作方法】^[6] Wistar 大鼠,体重250g左右,雄性。

(1) 大鼠腹腔注射10%水合氯醛1ml/只麻醉后,固定于立体定向仪上。75%乙醇消毒处理,沿头顶部正中中线切开头皮。

(2) 确定海马CA3中心点三维坐标 $x=-5.3\text{mm}$, $y=4.0\text{mm}$, $z=-6.0\text{mm}$,即海马区给药点。首先使定位针的尖端位于三维坐标系的H点,其坐标为, $x=-5.3\text{mm}$, $y=4.0\text{mm}$, $z=0\text{mm}$,颅骨钻孔H点。

(3) 在微量注射器内抽入 $0.4\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 的海人酸 $2.5\mu\text{l}$,使 z 轴的坐标为 -6.0mm ,即向下进针达CA3中心点,将 $2.5\mu\text{l}$ 的海人酸在10min内缓慢匀速地注射完毕,留置3min后退出注射针。然后,全层缝合头皮。

【观测指标与分析】 (1) 行为学观察 清醒约1.5h后,前肢抽搐逐渐频繁,前肢的抽搐由注射对侧抽搐很快发展到双侧抽搐,抽搐时,前肢向上抬起,身体亦抬起呈半立位,但以注射对侧相对较重。清醒近2h后,在不断重复上述表现的基础上,由前肢剧烈抽搐,发展到身体逐渐强直,呈角弓反张,逐渐出现频繁的双后肢抽搐、后退、向后跌倒和身体旋转跌倒,在较短的发作间期,大鼠表现呆板、呆滞。清醒7h后,约10h出现1次发作,主要为双侧或单侧前肢抽搐、点头、咀嚼等,发作间期,大鼠变得略微活跃。清醒8h后,约20~30min有1次发作,表现为单侧前肢抽搐、点头等,发作间歇期,活动有所增多,双眼球向外突出逐渐减轻。至清醒后约11h,癫痫发作逐渐停止,活动虽有增多,但仍未达到正常状态。24h后,活动恢复正常。

(2) 脑电图检查 模型建立后 6h, 脑电记录的情况为海马的丛集性棘波放电, 嗅球、纹状体和大脑皮层未记录到棘波放电。建立后 1d, 除了海马存在棘波放电外, 纹状体和大脑皮层也可记录到稀少的与海马棘波同步的棘波放电; 建立后 3d, 除了海马密集的癫痫波外, 纹状体和大脑皮层的棘波逐渐增多, 同时, 在嗅球可记录到癫痫波, 这些海马外记录到的癫痫波与海马的棘波具有同步性。模型建立后 5d 至 2 个月, 在癫痫大鼠的海马、纹状体、大脑皮层和嗅球均可记录到较多的癫痫波。

(3) 脑组织病理学检查 1 周后, CA3 区域的锥体细胞逐渐减少, 注射后 3 周, 在 CA3 部位的神经细胞几乎完全缺失, 同时, 有大量的胶质细胞增生, 聚集成胶质团块。注射对侧的相应区域亦出现类似的病理变化, 但出现相对晚些, 同时, 亦不如注射侧严重。海马齿状回的神经细胞亦逐渐减少。

八、海人酸海马注射建立大鼠颞叶癫痫模型

【模型制作方法】^[7] Wistar 大鼠, 体重 200~250g, 雄性。

(1) 海人酸溶液的配制 取海人酸溶解于无菌生理盐水中, 浓度为 1mg/ml。

(2) 分组 将动物随机分为正常组和模型组, 两组每组又分 3h、6h、12h、24h 及 3d、7d、15d、30d 等 8 个时段组别。

(3) 立体定向手术模型建立 10%水合氯醛 (300mg/kg) 腹腔注射麻醉大鼠后, 将大鼠置于立体定向仪上固定, 剪毛消毒, 在头部背侧中部作纵向切口, 依次切开皮肤、皮下组织, 钝性分离骨筋膜, 按大鼠脑立体定位图谱, 选择右侧海马腹后部 CA3 区, 坐标定位于前囟后 3.4mm, 右侧旁开 5.0mm, 垂直深度 7.0mm; 在坐标点周围以小型牙钻钻开颅骨, 校准微量进样器垂直度后, 抽取海人酸 1.0 μ l, 缓慢注射, 于 10~15min 内注射完毕, 留针 5min 后拔出, 皮肤切开处给予少量青霉素粉剂, 全层缝合头皮, 常规饲养。

【观测指标与分析】 (1) 行为学观察 参照 Racine 分级标准 (见大鼠青霉素癫痫模型)。模型组在海人酸给药后 1~3h, 大鼠可出现凝视、湿狗样抖动, 阵发性头面部肌肉抽搐、节律性点头, 上述症状发作逐渐频繁, 发作时间逐渐延长, 发作间歇期逐渐缩短。大鼠可出现发作性剧烈狂奔、跳跃、跌倒、翻滚, 并出现全面强直-阵挛发作, 出现癫痫持续状态。持续 1~3h 后, 发作逐渐稀疏, 至海人酸给药后 6~8h, 偶尔出现点头、头面部肌肉抽搐、前肢阵挛。海人酸给药后 8~10h, 绝大多数大鼠活动逐渐恢复, 无明显癫痫行为。24h~30d 内, 大鼠出现慢性、反复性发作, 每周 1~3 次, 发作持续时间较急性期短, 级别也较低 (2~3 级)。

(2) 脑组织病理学检查 光镜观察, 模型组注射侧海马神经元细胞排列不整齐, 细胞间隙增大, 出现肿胀、变性、坏死、崩解, 胞体固缩, 体积变小, 胞浆浓缩深染, 细胞核固缩, 核仁不清, 死亡细胞胞核裂解, 细胞浆消失, 以 CA3 区和门区为主, 至 7d 时 CA3 区和门区神经元几乎完全缺失, 失去带状排列规则, 出现大量格子细胞、新生毛细血管, 胶质细胞增生显著。对侧海马损害较注射侧明显减轻, 神经元变性以 CA1 区和门区为主。双侧齿状回损害较轻。

九、大鼠印防己碱点燃癫痫模型

点燃模型是一种慢性癫痫模型, 它较急性癫痫模型更接近人类癫痫的自然发生过程。对 Shandram 方法进行改良的目的是为了提高模型制作成功率。印防己碱是 GABA_A 受体非竞争性拮抗剂, 通过阻断 GABA_A 受体致病。

【模型制作方法】^[8] SD 大鼠, 6~8 周龄, 体重 200~250g, 雄性。将印防己碱 (PTX) 在给动物注射前 24h 新鲜配制成溶液。本法参考并改良了国外 Shandram 的制作方法, 模型

组大鼠每日上午 8:00~10:00 腹腔注射印防己碱 1.5mg/kg, 1 日 1 次, 连续 20d。每次注射后参照 Racine 分级标准 (见大鼠青霉素癫痫模型) 观察大鼠的行为, 判定是否癫痫性发作。凡已获得连续 5 次 2 级或 2 级以上惊厥记录的大鼠, 被认为已完全点燃。完成 20 次注射后, 仍未达到完全点燃状态的大鼠继续腹腔给药数日 (<10d), 直至达到完全点燃状态, 停药 2 周后再用印防己碱测试并做 (脑电图 EEG) 证实。

【观测指标与分析】 (1) 行为学观察 模型组大鼠在第 4~6 次注射后逐渐出现面部阵挛、节律点头、前肢阵挛、后肢站立、跌倒等行为异常, 呈完全点燃状态, 停止给药 2 周后再用印防己碱 1.5mg/kg 测试, 20 只大鼠仍表现为完全点燃状态。癫痫发作持续 1~3min, 说明已完全点燃, 而对照组大鼠无行为异常。

(2) 脑电图 (EEG) 检查 大鼠脑电图采用头皮电极法记录, 分别于大鼠左右两侧额区、中央区放置 4 个电极行双极导联。脑电图机走纸速度 30mm/s, 增益 $G=10$, 滤波 15Hz, 时间常数 0.3。结果显示, 模型组脑电图基本节律为 8~14Hz 中波幅波, 出现爆发性双向尖波及阵发性 4~5Hz 极高波幅 (100~200 μ V) 尖-慢、棘-慢波综合, 而对照组未见癫痫样放电, 认为癫痫大鼠模型制作成功。

(3) 模型成功率 对 Shandram 方法改良后, 印防己碱化学点燃的成功率提高到 100%。

十、大鼠马桑内酯点燃癫痫模型

耐药性癫痫约占癫痫患者的 30%, 耐药癫痫动物模型是研究其耐药机制和探讨治疗方法的重要工具。马桑内酯 (CL) 是从植物马桑中提取的一种致病物质, 对动物反复肌内注射阈下剂量的马桑内酯可以建立化学点燃模型, 并具有一定的耐药性。

【模型制作方法】^[9] SD 大鼠, 6~8 周龄, 雄性。大鼠每隔 84h (3.5d) 肌内注射马桑内酯 1ml/kg, 点燃后改为每隔 7d 肌内注射维持量马桑内酯 1ml/kg。

【观测指标与分析】

(1) 行为学观察与皮层电图 (ECG) 检查 按 Racine 分级标准 (见大鼠青霉素癫痫模型), 在连续 2 次注射马桑内酯期间, 大鼠出现 10 次以上 3 级或以上的发作, 即达到复杂部分发作点燃标准。肌内注射马桑内酯约 15min 后, 大鼠出现频繁的单侧前肢阵挛, 每次持续数秒至 10s。ECG 为持续数秒的高幅癫痫波, 波形多为棘波、尖波、棘-尖复合波, 为 3 级发作。此状态反复发作 10~20min。大鼠双侧前肢逐渐伸直, 四肢分开, 尾巴后伸, 重心下移, 全身强烈抽动, 蜷缩、伸直频繁交替, 持续 10~20s 后停止数秒钟, 再次出现, 为 4~5 级发作。ECG 为连续的高幅癫痫波, 波形为多棘波、复合波。在肌内注射马桑内酯约 40~50min 后, 大鼠发作减少, ECG 以慢波为主。1h 后大鼠完全恢复正常, ECG 转为基础波。

(2) 脑内 P-糖蛋白 (P-gp) 及多药耐药相关蛋白 1 (MRP1) 表达水平的检测 点燃组大鼠海马、颞叶皮质等部位有 P-gp 和 MRP1 的大量表达, 在上述区域, 点燃组大鼠可见大量胞质染为黄色的神经胶质细胞、血管内皮细胞和神经细胞。在未点燃组和对照组大鼠的脑组织内, 仅有少量的血管内皮细胞呈阳性表达, 罕有胶质细胞或神经细胞呈阳性表达。

(3) 模型成功率 55 只大鼠, 30 次注射马桑内酯后, 有 23 只大鼠达到点燃标准, 未点燃 28 只, 死亡 4 只, 点燃率 41.8%。

十一、铁离子致大鼠外伤后癫痫动物模型

采用离子导入法 (PIFC) 建立起来的大鼠模型和微量注射法 (CFIC) 建立大鼠模型, 对两种方法建立起来的铁致外伤后癫痫 (PTE) 动物模型的行为学和脑电图进行研究, 比较

这两种方法的差异及研究价值。微量注射法 (CFCI) 建立起来的 PTE 动物模型与离子导入法 (PIFC) 相比, 更有研究价值。

1. 第一种方法 微量注射法 (CFCI) 建立大鼠外伤后癫痫 (PTE) 模型

【模型制作方法】^[10] SD 大鼠, 体重 220~250g, 雄性。大鼠以 2% 异戊巴比妥钠溶液 (50mg/kg) 腹腔注射麻醉, 立体定位仪上固定。剪去头顶的毛, 常规消毒头顶皮肤后沿头顶正中中线切开头皮, 切口长约 3cm。剥离头顶筋膜, 暴露颅骨。在左侧颅骨冠状缝后 3mm、矢状缝旁 2mm 处用高速牙钻钻一直径为 2mm 的孔。另外再钻 5 个直径 2mm 安放电极的孔, 孔的位置按 D'Ambrosio 所采用的方法, 即以前囟点为原点, 矢状缝为 Y 轴, 过原点垂直于 Y 轴的直线为 X 轴, 坐标轴 (单位为 mm): 孔的坐标分别为 (4, 0), (4, -6), (-4, 0), (-4, -6), 最后在额骨正中钻一直径为 2mm 的孔。用微量注射器将浓度为 100mmol/L、pH 值为 1.5 的 FeCl_3 溶液 5 μl 在 5min 内匀速注射到大鼠的感觉运动皮质区内, 进针深度 3mm。溶液注射完以后, 留置针头 5min。

【观测指标与分析】 (1) 行为学观察 模型建立后 3h 左右大鼠开始出现典型的癫痫大发作。发作形式表现为身体向右后扭转, 上半身抬起。整个身体背曲强直, 四肢剧烈抽搐。翻转跳起, 跳起时离地高度约 20~30cm, 同时可见大鼠双眼眼裂变大, 眼球向外凸出, 并伴随出现尿失禁现象。模型建立后 3~5h 期间。约每 10~20min 发作 1 次, 每次持续时间 1min。模型建立后 5~8h 期间, 大鼠癫痫发作频率逐渐下降, 每 0.5~1.0h 发作 1 次。大鼠在癫痫大发作的间期, 交叉出现咀嚼自动症。表现为下颌快速咬动与面肌抽搐交替出现, 在面肌抽搐的同时伴随出现与面肌抽搐节律一致的双眼眼裂变大, 眼球向外凸出, 持续时间 1~2min。模型建立后 24h~1 周内, 大鼠癫痫发作比较频繁, 约每天发作 1 次, 主要表现为咀嚼自动症, 身体不自主地抽动。模型建立后第 2 周内, 大鼠癫痫发作频率有所下降, 每 2~5d 发作 1 次。

(2) 脑电图检查 CFCI 建立起来的大鼠模型的脑电图于模型建立后 3h 首次出现癫痫波放电。癫痫波起源于左侧注射部位的感觉运动皮质区, 对侧癫痫波比注射侧出现晚 40ms。癫痫波的平均频率为 16.01Hz, 平均波幅为 143.60 μV , 发作间期可见散在出现的尖波及尖慢波活动, 以注射侧及注射对侧的感觉运动皮质区显著。

2. 第二种方法 离子导入法 (PIFC) 建立大鼠外伤后癫痫 (PTE) 模型

【模型制作方法】^[10] SD 大鼠, 体重 200~250g, 雄性。大鼠称重后的准备如前, 在左侧颅骨钻一直径为 4mm 的孔, 孔的位置同 CFCI 建立起来的模型的进针位置, 星状切开硬脑膜。另外再钻 5 个安放电极的孔, 孔的位置同上。将尖端塞有棉花 (防止细管内的 FeCl_3 溶液溢出过快) 的导入管尖端与软脑膜轻接触, 细管内注有浓度为 100mmol/L、pH 值为 1.5 的 FeCl_3 溶液。将一输出电流为 100 μV 的电源的正、负极各连一针灸针。正极的针灸针插入细管内的 FeCl_3 溶液中, 负极的针灸针插入大鼠右前肢皮下。通电 10min。脑电记录方法同 CFCI 法。

【观测指标与分析】 (1) 行为学观察 清醒后约 30min 之内, 大鼠活动较少, 时有“湿狗样抖动”及挠头动作。清醒后 0.5~1.0h 期间。大鼠开始出现咀嚼自动症, 发作频率约每 20~30min 发作 1 次。模型建立后 2.5~4.0h 之间约每 5~10min 发作 1 次。模型建立后 4~7h 之间, 大鼠癫痫发作频率逐渐下降, 约每 0.5~1.0h 发作 1 次。模型建立 24h 以后基本观察不到癫痫发作。

(2) 脑电图检查 PIFC 建立起来的大鼠模型的脑电图于模型建立后 1.5h 首次出现癫痫波放电。癫痫波起源于注射侧感觉运动皮质区, 对侧癫痫波的出现晚于注射侧 20ms, 癫痫波的平均频率为 9.66Hz, 平均波幅为 186.90 μV 。

十二、大鼠戊四氮点燃癫痫模型

1. 第一种方法

【模型制作方法】^[11] SD大鼠, 清洁级, 体重200~250g, 雄性。大鼠一次性腹腔注射戊四氮50mg/kg体重。癫痫(EP)发作分为: 0级, 兴奋症状; 1级, 兴奋并点头; 2级, 点头并前肢或后肢抽搐; 3级, 四肢抽搐; 4级, 四肢抽搐并翻滚。2级以上视为癫痫大发作。0~1级者视为A组, 该组立即取脑检测; 2级以上发作者随机于癫痫发作后立即检测(B组); 6h检测(C组); 24h检测(D组)。

【观测指标与分析】(1) 血清2-磷酸甘油酸水解酶(NSE)含量测定 NSE是能量代谢的关键, 主要存于大脑神经元和神经内分泌细胞内。当神经元损伤或坏死后, 从细胞内溢入脑脊液和血液。脑胶质细胞和其他神经组织中不含NSE, 故NSE是检测脑内神经元损伤或坏死的客观指标。

结果显示如下。①A组(癫痫0~1级)与正常组比较: A组的血清NSE含量较正常组显著升高($P<0.05$); 海马的NSE含量较正常组明显升高($P<0.01$); ②癫痫发作组与正常组比较: B、C、D组海马组织NSE含量均显著高于正常组($P<0.05$); 血清NSE含量较正常组显著升高($P<0.01$); ③癫痫发作组(B、C、D组)NSE含量动态观察: 癫痫大发作后, 海马组织的NSE含量迅速增高随后呈逐步下降的过程, 而血清的NSE含量在癫痫发作后6h(C组)其含量显著增高($P<0.01$), 然后出现下降。

(2) 海马组织形态学检查 海马锥体层锥体细胞大小形态结构无明显改变, 主要病变位于多形层和分子层隙层内的中间神经细胞, 表现为胞浆水肿, 基质密度变淡, 微丝溶解消失, 细胞器减少。

2. 第二种方法

【模型制作方法】^[12] Wistar大鼠, 清洁级, 12日龄, 雄性。大鼠每天腹腔注射15%戊四氮35mg/kg(临用时配制)。每日观察实验动物行为1h, 按其惊厥发作的程度记录。在实验7d、14d、21d分批次处死, 检测。

【观测指标与分析】(1) 行为表现及惊厥评级 大鼠惊厥分级评分采用Racine分级法(见大鼠青霉素癫痫模型)。凡获连续5次2级或2级以上惊厥发作的大鼠为完全点燃的大鼠癫痫模型。结果显示: 模型组戊四氮连续注射7d时51.9%(14/27只)大鼠获Ⅱ级以上惊厥。连续注射14d时, 82.4%(14/17只)连续获2级以上惊厥, 达到连续5d发作, 视为点燃模型。连续注射21d时, 惊厥发作全达到中重度以上。

(2) 血清2-磷酸甘油酸水解酶(NSE)含量测定 在连续注射7d、14d和21d时, 模型组血清NSE水平均显著高于对照组($P<0.01$)。

3. 第三种方法

【模型制作方法】^[13] SD大鼠, 6~8周龄, 体重80g左右, 雄性。

(1) 实验前将戊四氮(PTZ)用生理盐水配制浓度为1%的溶液。

(2) 动物模型的复制 模型组大鼠隔日上午腹腔注射戊四氮40mg/kg(PTZ 20mg/kg不能有效点燃模型; 60mg/kg给药后发生持续惊厥大发作, 死亡率高); 动物每次给药前皆称重, 根据体重调整给药量。

(3) 癫痫慢性点燃判定 癫痫行为的发作程度分级依照Fatholahi标准(0级, 无反应; 1级, 节律性嘴和面部抽动; 2级, 躯体波动样游走性痉挛; 3级, 全身肌阵挛、臀部上翘; 4级, 躯体向一侧翻转; 5级, 仰翻位, 全身强直痉挛发作)。每次给药后观察30min, 凡连续5次出现2级以上发作即判定该鼠被慢性点燃; 此后戊四氮给药由每隔1d改为间隔3~

4d/次，剂量不变，以维持点燃效应。

【观测指标与分析】（1）行为学观察 大鼠在第14次（即第28d）时全部点燃，无动物死亡，且均出现过重型发作。该组动物被完全点燃后，在维持点燃效应的过程中，若再用PTZ诱发，虽然反复出现5级发作，但不易死亡，发作一旦缓解，动物很快恢复自由活动。

（2）脑电图检查 在麻醉状态下，大鼠脑电背景活动电压较低，小于 $50\mu\text{V}$ ，自发脑电15Hz左右。已点燃的大鼠颅骨脑电图可见自发性痫性脑电活动，电压在 $80\sim 100\mu\text{V}$ 以上。脑电表现为高幅棘、棘慢复合波活动，呈梭形，波幅为 $160\sim 460\mu\text{V}$ ，比基波高3~4倍。若腹腔注射阈下剂量PTZ诱导后随即出现痫性脑电活动，可见长程、连续性高幅尖波、棘波、尖慢复合波及棘慢复合波。

十三、大鼠杏仁核电点燃癫痫模型

给予动物重复性亚惊厥程度的电流刺激，可导致动物癫痫性活动强度逐渐增加，最终出现全面性癫痫性发作，称之为点燃。点燃一旦建立，这种动物神经元的兴奋性和惊厥行为的敏感性可长期维持。点燃模型的脑电图（EEG）特点和癫痫发作表现与人类极其相似。选用能引起刺激后放电最敏感的脑区杏仁核，给以惊厥阈下电刺激，可建立稳定的大鼠杏仁核点燃模型。

1. 第一种方法

【模型制作方法】^[14] Wistar大鼠，6~8周龄，体重250~300g，雄性。

（1）点燃电刺激参数：频率16Hz，波宽1.0ms，串长10s，强度0.4mA，刺激间隔时间7min。电流具有恒流、方波特性。

（2）电极埋植与固定：用2%的戊巴比妥钠腹腔注射（40mg/kg）麻醉大鼠。固定头位后，暴露颅顶骨。部分大鼠植双极电极于双侧杏仁核基底外侧核（BLA）。部分大鼠植电极于左侧BLA。坐标定位为：前囟后1.0mm，旁开5.3mm，颅骨表面下8.5mm，门齿高于耳根平面5.0mm。固定钟表螺钉于额窦以接地。电极均入连接器，用牙科水泥固定于颅顶。

【观测指标与分析】（1）杏仁核放电、癫痫性行为及点燃速度的检测 按Racine分级法（见大鼠青霉素癫痫模型）。点燃后，再刺激10次，未点燃鼠刺激至40次为止，以后每天刺激7次。

结果显示如下。①杏仁核放电：通常，当刺激停止后可记录到一组时程 $>3\text{s}$ 的杏仁核棘波活动，即为后放电。随着刺激的积累，平均后放电时程有逐渐延长的趋势，可伴波形复杂化。最后出现4~5级行为而点燃。波形复杂化主要表现为类棘慢波和多棘波活动。在少数动物有时可记录到发作间棘波和爆发性棘波活动。②癫痫性行为与杏仁核放电的关系：癫痫性行为通常与杏仁核放电（AD）伴随。在点燃前，诱发AD常伴1级行为，大发作前常有2级或3级行为。点燃后，诱发AD，尤其是长程AD则常与大发作同步。凡能诱发AD产生的电流均可能诱发动物的大发作。动物自发AD一般仅伴1、2级行为。点燃过程中，动物“湿狗样”甩头少见。③点燃速度：32只大鼠中的25只首日经（ 17 ± 11 ）次刺激即点燃，需0.5~4.0h。

（2）诱发效应的持久性及稳定性观察 在点燃后的第2~10d，每日记录动物7次刺激后的大发作次数以观察其稳定性。然后，随机置部分点燃鼠（左、右侧BLA点燃）于2个月的非刺激期。其后，再刺激该动物7次，记录行为反应。结果显示：25只点燃鼠中的18只于次日7次刺激中，均在5次刺激内就开始大发作。在点燃后4~10d，其7次刺激大发作诱发率相对稳定。另7只于次日7次刺激无大发作。但在第4~10d，大发作诱发率波动在（ 54 ± 23 ）%。首日未点燃鼠在随后的5天刺激中相继点燃。在第7~10d，其大发作诱发率为（ 57 ± 16 ）%。

(3) 致痛效应的转移性观察 取右侧 BLA 已点燃鼠, 刺激其左侧 BLA 7 次。记录大发作鼠数。并随机与在点燃刺激首日, 刚开始刺激其左侧 BLA 前 7 次的诱发鼠数作对照。2d 后, 再刺激该鼠左侧 BLA 7 次, 记录发作鼠数。接着, 用直流电 ($10\text{mA} \times 1\text{min}$) 毁损其右侧 BLA。5d 后, 再刺激其左侧 BLA 7 次, 比较右侧 BLA 毁损前后左侧 BLA 大发作诱发率的变化。结果显示: 点燃杏仁核毁损前, 大鼠对侧杏仁核大发作诱发率为 80%。毁损后, 对侧杏仁核大发作诱发率为 70%, 差异无显著意义 ($P > 0.05$)。

(4) 点燃前后杏仁核放电阈值 (ADT) 测定 大鼠在点燃前, 杏仁核平均 ADT 为 (92 ± 44) μA 。点燃后显著增至 (186 ± 106) μA 。

该模型稳定性好, 致癫痫效应相对持久保留且向对侧杏仁核转移。其癫痫性行为规范, 可控性和重复性好, 易于判别与定量研究动物对刺激反应性。

2. 第二种方法

【模型制作方法】^[15] 应用双侧杏仁核同时点燃方法建立复杂部分性癫痫模型。双侧杏仁核同时点燃可显著提高点燃成功率, 并明显延缓点燃成功时间。双侧杏仁核同时点燃对点燃的致癫痫机制和抗癫痫药物的筛选研究提供了一种更为先进的动物模型。

Wistar 大鼠, 体重 210~260g, 雄性。

(1) 将动物随机分为双侧杏仁核同时点燃组 (BK 组) 和单侧杏仁核点燃组 (UK 组)。

(2) 埋藏电极 按照 Goddard 方法, 将大鼠用戊巴比妥 (25mg/kg) 腹腔内注射麻醉后, 固定在脑立体定向仪上。剪开颅顶部皮肤, 剥离骨膜, 根据解剖定位, 在杏仁核上方的顶骨上钻两个直径为 2mm 小孔。①单侧杏仁核点燃组大鼠应用涂有乌拉坦的双极不锈钢电极 (直径 300 μm) 准确插入一侧杏仁核。在颅顶钻孔, 将 4 根不锈钢螺钉固定于暴露的颅骨上, 将电极与螺钉相连, 并接到电源插头上。牙托粉埋藏固定螺钉与电极。②双侧杏仁核同时点燃组大鼠用同样的方法处理双侧杏仁核。术后大鼠自然恢复 14d。

(3) 点燃方法 14d 后大鼠能在笼子里自由活动, 用两只可调频电刺激器对双侧杏仁核同时进行电刺激点燃, 每日 1 次, 每次持续 1s, 刺激频率为 50Hz, 双侧刺激强度相同, 均为使得大鼠刚刚开始出现第 1 次突触后电位 (Ads) 时的电流强度 80~200 μA 。两组大鼠根据点燃结果分为完全点燃组 (K 组) 和不完全点燃组 (IK 组), 点燃后的痫性发作分为 I~V 级。在点燃电刺激前 20min、刺激期间和刺激结束后 20min 用 0.3~300Hz 带通滤波器放大处理连续记录的皮质和杏仁核 EEG, 并进行分析。每只大鼠最长刺激时间为 28d, 若仍无癫痫发作和典型 EEG 表现, 为点燃不成功。

【观测指标与分析】 行为学观察: 双侧杏仁核同时点燃组均发展为 5 级惊厥发作, 点燃成功率为 100%。单侧杏仁核点燃组大鼠的点燃成功率为 60%。与双侧杏仁核同时点燃组相比, 差异有显著性 ($P < 0.01$)。双侧杏仁核同时点燃组大鼠达到 5 级惊厥的时间与完全点燃组达到 5 级惊厥相比, 差异有显著性 ($P < 0.01$)。双侧杏仁核同时点燃组大鼠出现 3 级惊厥的时间与完全点燃组比较差异有显著性 ($P < 0.01$)。

3. 第三种方法

【模型制作方法】^[16] SD 大鼠, 体重 250~280g, 雄性。

(1) 埋藏电极 用戊巴比妥钠 (65mg/kg) 腹腔注射将大鼠深度麻醉, 将头骨水平固定在立体定位仪上, 沿正中皮肤切口 1cm, 暴露颅骨及前囟。按大鼠立体定位图谱, 标好左杏仁核立体坐标位置 (AP-2.0mm, ML+3.7mm, DV-8.6mm), 同侧皮质 (顶部) 记录电极立体坐标位置 (AP-2.0mm, ML+2.0mm, DV-4.0mm)。用小型牙钻钻透顶骨, 将杏仁核刺激和记录电极两顶端间隔 0.5mm, 前后顺向, 徐徐插入深达脑膜下 8.6mm。同样, 记录脑电的皮质电极植入硬脑膜下, 接地螺丝固定在鼻骨, 用牙托粉将所有电极固定在颅骨上。为加固电极, 枕骨或额骨区可加放 2~3 个小螺丝, 同样用牙托粉固定。用金属缝