

基础研究

DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2012.01.001

皮质发育障碍模型鼠脑皮质、海马光镜体视学研究

马勋泰¹, 唐 勇², 吕 洋³, 承欧梅³, 晏 勇³

(1. 泸州医学院附属医院神经内科, 泸州 646000; 2. 重庆医科大学基础医学院组织学与胚胎学教研室、干细胞与组织工程实验室; 3. 重庆医科大学附属第一医院神经内科, 重庆 400016)

【摘要】目的:主要探寻弥漫性皮质发育障碍(Diffuse cortical dysplasias, DCD)大鼠大脑半球、海马的体积变化和皮质下异位结节中神经元的形态、数量,探讨 DCD 所致难治性癫痫(Intractable epilepsy, IE)的发生机制。**方法:**建立 X 射线照射诱导的皮质下异位结节大鼠 DCD 模型,使用组织病理学和体视学技术观察 DCD 鼠大脑半球、海马的体积变化和皮质下异位结节中神经元的形态、数量等。**结果:**从出生到成年后 DCD 大鼠体重平均减少 19% ($P>0.05$)。出生时 DCD 鼠脑质重较正常,从 7 d~31 周时仅平均为正常对照组的 57% ($P<0.05$)。出生时 DCD 鼠脑体积正常, P7 以后各时期 DCD 鼠脑体积平均减少 36% ($P<0.05$)。虽然 DCD 鼠脑皮质体积也平均减少 19%,并随着年龄的增加体积减少越明显,但无显著差异 ($P>0.05$)。DCD 鼠从 P7 以后海马体积平均减少 39% ($P<0.05$),且 CA1 区体积也随龄增加而平均减少 32%,但仅 P56 和 P84 与同龄对照组比较明显减少 38% 和 36% ($P<0.05$)。皮质/大脑半球、海马/大脑半球和 CA1/海马的体积分数各年龄组平均减少 20%、21% 和 27%,但仅 P56 和 P84 的 CA1/海马明显减少 37% 和 35% ($P<0.05$)。各龄 DCD 组皮质 I 层、海马 CA2 区、CA3 区、门区及齿状回区体积与对照组比较无统计学意义。DCD 组皮质下白质中的异位结节与正常对照组或母鼠组皮质下白质中神经元数密度、细胞数密度、神经元百分比比较增加 99、121 倍和 64 倍,有显著统计学意义 ($P<0.05$),神经元细胞核费莱特直径 Feret's diameter 的平均水平比较无统计学意义。DCD 鼠大脑、海马体积减小主要是冠状位的缩短。DCD 大鼠皮质第 I 层异位结节、皮质下异位结节和海马异位结节结构及细胞特征比较与皮质 II~III 层皮质结节相似。**结论:**DCD 鼠皮质第 I 层、皮质下白质和海马异位结节未迁移到皮质 II~III 层。生物体视学方法能检测大鼠大脑的精确病理学构成,是一种很好的研究方法。

【关键词】皮质发育障碍; 大脑皮质; 海马; 体视学; 癫痫**【中国图书分类法分类号】**R742.8**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2011-09-15

Light microscope stereological study of cortical dysplasias in cerebral cortex and hippocampus of rat model

MA Xuntai¹, TANG Yong², LV Yang³, CHENG Oumei³, YAN Yong³

(1. Department of Neurology, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College; 2. Department of Histology and Embryology, Laboratory of Stem Cells and Tissue Engineering, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University; 3. Department of Neurology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To observe the precise pathological characteristics (cerebral hemisphere and hippocampal volume, neuronal quantity and so on) of animal models of diffuse cortical dysplasias (DCD) in cortex with stereological methods, and to discuss the mechanism of pathologic changes and epileptogenesis in this model. **Methods:** An animal model of DCD was established by exposing pregnant SD rats to X ray using a single dose of 150 cGy on embryonic day 17 (E17) for 84 seconds. Slice was followed by quantitative analysis of neuron density, cell, diameter of nucleus, the distribution (DCD) and white matter neurons using Gundersen two-dimensional cell counting methods. Statistics analysis was used with mean standard deviation ($\bar{x} \pm s$), $P<0.05$ representing significant, and student test analysis. **Results:** From birth to adult rats, the weight of body and brain of DCD rats decreased about 19% ($P>0.05$) and 57% ($P<0.05$) respectively. The volume of brain, cortex, hippocampus and CA1 decreased about 36% ($P<0.05$), 19% ($P>0.05$), 39% ($P<0.05$) and 32% ($P<0.05$) respectively, but only P56 and P84, compared with the same age group, decreased 38% and 36% ($P<0.05$) respectively. Cortex/brain, hippocampus/brain, and CA1/hippocampus decreased about 20%, 21% and 27% respectively in DCD rats, but only P56 and P84 for CA1/hippocampus was significantly reduced by 37% and 35% respectively.

作者介绍:马勋泰(1972-),男,副教授,博士,

研究方向:难治性癫痫的临床和基础研究。

通信作者:晏 勇,男,教授,Email:yyanpro@yahoo.com.cn。**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(编号:30570636);四川省教育厅重点资助项目(编号:09ZA046);四川省卫生厅资助项目(编号:090231);泸州市科技局资助项目[编号:泸市科计(2009)1号];泸州医学院青年基金资助项目(编号:09013);泸州医学院附属医院人才基金资助项目(编号:09057)。

($P<0.05$). HE stain and Nissl stain showed there were clusters of large neurons in both superficial and deep layers in the model rats' cortex. Neuron density, cell density and neuron percentage increased 99 times, 121 times, and 64 times respectively in DCD rats with statistical significance ($P<0.05$). The average level of neuronal nuclei Feret's diameter was not statistically significant. DCD rat brain, and hippocampal volume reduction lay mainly in coronal shortening. In DCD rat, ectopic nodules, subcortical heterotopic nodules and ectopic hippocampal structure and cell characteristics of nodules of cortical layer I were similar compared with the cortical nodules of II~III cortex layer. **Conclusion:** DCD rat cortical section layer I, subcortical white matter and hippocampus ectopic nodules did not migrate to the cortex layer II~III. Biological stereology method is a good approach to study and research biology because it can detect precise pathological characteristics.

[Key words] cortical dysplasias; cerebral hemisphere; hippocampal; stereology; epilepsy

体视学可对脑、神经元形态结构进行图像处理和图像分析,并可进行二维、三维空间的细胞计数和组织结构测定。本文继前课题组研究的基础上^[1-5],利用光学体视学技术探寻弥漫性皮质发育障碍(Diffuse cortical dysplasias, DCD)模型鼠大脑半球、皮质、白质、海马及亚区的体积,皮层下异位结节病灶内神经元的数量等精确病理学构成特点,以探索 DCD 与癫痫发生的关系。

1 材料与方法

1.1 实验动物和分组

1.1.1 实验动物 制作孕鼠和实验动物 第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供鼠龄 8~12 周健康清洁级 SD(Sprague-dawley)大鼠,每只体重 220~310 g,雌性大鼠 35 只(均为未生产者或仅生产 1 胎者),雄性大鼠 10 只,按雌:雄为 3:1 或 4:1 的比例合笼(从当日 8:00 时到次日 8:00 时),分笼后即刻观察雌鼠是否有阴栓形成,把配种成功当日作为怀孕 0 d(E 0 d),并在 E7、E12、E17 早晨空腹称重,如体重增加较明显且腹部膨隆可初步确认雌鼠怀孕。

配种成功的 16 只健康妊娠 SD 大鼠每只体重 250~370 g,常规饲养到 17 d 用于建立 DCD 动物模型,大约妊娠 20~22 d 分娩,母乳喂养仔一代,21 d 满月后单独饲养。实验注意环境卫生及孕鼠本身的生活节律。实验过程严格遵守实验动物管理条例保护的有关规定。

1.1.2 实验分组 设妊娠 17 d 正常对照孕鼠组 8 只、妊娠 17 d 的 DCD 模型孕鼠组 8 只、正常 P31 周(出生后 31 周)大鼠组 8 只。正常对照孕鼠组产仔 75 只,随机分为正常对照 P7 组、P14 组、P21 组、P28 组各 6 只;P56 组、P84 组各 8 只;及 P31 周组 8 只。DCD 模型孕鼠组产仔 78 只,随机分为 DCDP7 组、P14 组、P21 组各 6 只;P28 组 12 只;P56 组、P84 组及 P31 周组各 8 只。如实验过程中大鼠死亡,将按照统一的纳入标准选择新的样本,以保证样本量每组为不少于 6 只(≥ 6 只)。

1.2 皮质发育障碍模型的建立

操作步骤:按照文献介绍的方法^[6,7]并改进,技术改进包括:妊娠期大鼠的护理、营养,解除移入照射房间的紧张、恐

惧心理,放疗盒的特殊设计,辐照时的中心位置,减低辐照剂量。步骤如下:分别把 8 只健康妊娠 17 d 的 SD 大鼠分别放入长 20 cm、宽 12.5 cm、高 11 cm 的特制放疗盒中,再把该盒放入 ELEKTA 8 MTV 直线加速器(第三军医大学大坪医院放疗科),辐照剂量 150 cGy,剂量率 100 MU/min,平均照射时间 1.4 min。照射后将孕鼠放回笼中,正常喂养待其分娩。幼鼠在其出生后 21 d 断奶,常规饲养至上述不同时间点用于实验。母鼠组和正常对照组相同条件喂养到不同时间点用于实验。

1.3 动物标本制作和组织化学染色过程

1.3.1 大鼠脑标本制作过程 (1)灌注固定^[8]:3 组均于饲养到不同的时间点,首先用 3.5%水合氯醛(1.0~1.5 ml/100 g)腹腔麻醉,经心灌注固定,灌注固定泵依次加入 100~150 ml 生理盐水(速度 15.0 r/min),至洗液澄清,继以 4%多聚甲醛磷酸盐缓冲液 350~500 ml(速度 13.0 r/min, pH 7.4, 4℃),直到眼球苍白,肝发白,肌肉抽动,鼠尾上翘,肢体及颈僵硬为此。(2)取脑和切片:开颅并取出整个脑,电子天平称重和漂浮法测量体积^[9]后沿视交叉冠状切开,去除嗅球、部分额叶、小脑,巨检,根据大鼠立体定位图谱^[10],选大脑中隔区后包括海马为中心冠状切面 5~7 mm,沿正中矢状面将脑分成左右大脑半球,固定于 4%多聚甲醛磷酸盐缓冲液 24 h 内(4℃),行振动切片(LEICA VT 1000S 振动切片机),片厚 50 μ m,每例平均切取 130 张左右片,每隔 5 张抽取 1 个脑组织切片,第 1 片由前 5 片中随机确定,行硫堇染色法(Nissl 染色)。

1.3.2 Thionine 氏硫堇染色法^[11] 大鼠嘴尾方向、冠状位观察海马长度变化,是否萎缩。首先用牙签取振动切片入 0.01 PBS 液中漂洗;蒸馏水洗;用 0.2%硫堇水溶液置于 50℃~60℃恒温水浴箱内漂染 1~5 min(染液要在加热至有蒸气时约 50℃滤纸过滤使用,然后放入切片计算染色时间);蒸馏水稍洗,95%盐酸酒精分化,碳酸锂 1 min,蒸馏水洗;裱片,亮干,脱水,透明,封固。尼氏体呈深蓝色,细胞核呈淡蓝色,背景无色或浅蓝色。该方法主要用于 P0、P1、P2、P3、P7 幼鼠连续切片的 Nissl 染色和体视学计数。

1.3.3 皮质和海马体积计数 采用幻灯机(Seagull 4400L projector)投影点计数,放大倍数 15,测格:网状方格,细点方格间距 1 cm(I 层皮质、白质、海马、CA1、CA2、CA3、Hi、DG),粗

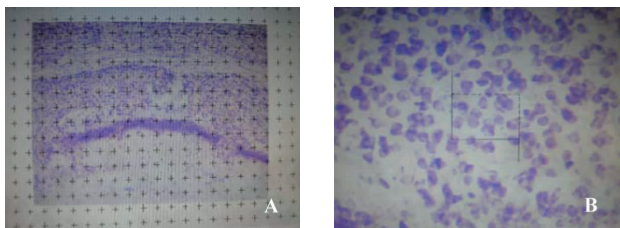
点方格间距 4 cm(半球、II~VI 层皮质)。每一 Nissl 染色后的脑组织切片计数方法(图 1A),记录击中皮质、海马全貌的测试点的个数,每只动物皮质、海马总测试点数为 ΣP_H ,根据 Cavalieri's 原理^[9],用公式计算海马体积:

$V_H = t \times a(p) \times \Sigma P_H$ (V_H 代表海马全貌体积, t 为切片厚度, $a(p)$ 为每一测试点所对应的面积)。

从大鼠嘴尾方向分别计算各时间点海马长度。通常所用切片标本的所有测试视野内,特征物的计数或测试项目(特征物的点计数、特征物计数和长度测量)的总数,一般约平均在 120 个。

在照片上叠加无偏计数框,完全落在计数框内和只与计数线(虚线)相交的粒子断面才计数,任何与禁止线(实线)相交的断面均被排除在外不被计数(图 1B)。神经元数密度是指单位测试面积中所含的神经元截面数,神经元数密度(N_A)按公式^[9]计算:

$N_A = N_X / A_C$, 其中 A_C 为所有无偏计数框的面积, N_X 为神经元截面数,如果考虑放大倍数的作用,则: $N_A = N_X / (A_C \times 1/M^2) = N_X \times M^2 / A_C$ 。



脑组织切片上叠放计数点(图 A. 方网格测试系统),记录击中皮质、海马全貌的测试点的个数;照片上叠加无偏计数框,完全落在计数框内和只与计数线(虚线)相交的粒子断面才计数,任何与禁止线(实线)相交的断面均被排除在外不被计数(图 B. Gundersen 测试系统)

图 1 方网格测试系统和 Gundersen 测试系统

Fig.1 Square grid system and Gundersen test system

1.4 皮质和海马神经元计数标准

按照文献[12],白质内神经元判定的主要标准:(1)核仁明显;(2)染色质明显;(3)胞质丰富;(4)细胞核直径 $> 6.5 \mu m$ 。白质内神经元判定的次要标准:(1)卫星现象;(2)胞质内脂褐素存在。其中,核仁明显、染色质明显与细胞核直径是最常用的标准。

1.5 图像采集与处理方法

在 100~400 倍视野下,根据形态学特征判定神经元,用 Olympus DP70 摄像系统进行图像采集,用 ImagePro Plus 5.0 图像分析系统进行精确的细胞选取、测量与计数。

1.6 观察指标

(1)大鼠体重、脑质量、脑体积;脑皮质、海马及各亚区体积,白质体积。(2)神经元数密度(Neuron-density):单位面积内神经元的数目,单位为个/ mm^2 。(3)细胞密度(Cell-density):单位面积内神经元与胶质细胞的总数,单位为个/ mm^2 。(4)神

经元百分比(Ratio):单位面积内神经元占细胞总数的比例,单位为%。(5)神经元细胞核 Feret 直径:指该胞核轮廓方向上的最大径,或者说指的是在垂直于该方向的且与轮廓的两端相切的两条平行线之间的距离。单位为 μm 。

1.7 统计学处理

数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,统计学分析 t 检验,方差不齐者,采用校正 Satterthwaite t 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 大鼠体重、脑质量和体积的测试结果

从出生到成年及以后 DCD 大鼠体重与正常对照组鼠比较约平均减少 19%,但无统计学差异($P=0.13$)。出生时 DCD 大鼠脑质重较正常,但至 7 d~31 周龄时仅及同龄正常脑的约平均 57%,有统计学差异($P=0.01$),大脑变小,四叠体明显露出。DCD 组鼠脑冠状切面可见脑皮质明显变薄,约为正常的 60%,还可见胼胝体缺失,双侧大脑皮质和海马多个结节状物,部分地方灰质白质分界不清,白质中有异位结节,而母鼠组和正常对照组鼠大脑皮质结构没有上述改变。出生时 DCD 大鼠脑体积正常,从 P7 以后各时期 DCD 鼠脑体积与正常对照组鼠比较约平均减少 36%,有统计学差异($P=0.02$)。海马长度在大鼠嘴尾方向未发生改变,而是冠状面萎缩(占 40%)。

2.2 大脑皮质和海马体积的改变

DCD 组大鼠从 P7 到 31 周大脑半球和海马体积较同龄对照组比较约平均减少 31%和 39%,有统计学意义(各组 $P < 0.05$)。DCD 鼠皮质体积较对照组约平均减少 19%,随着年龄的增加体积减少越明显,但无显著性差异(各组 $P > 0.05$)。DCD 鼠 CA1 体积各年龄组较对照组约平均减少 32%(各组 $P > 0.05$),但仅 P56 和 P84 与同龄对照组比较明显减少 38%和 36%($P < 0.05$)。皮质、海马与大脑半球的体积分数,CA1 与海马的体积分数各年龄组较对照组约平均减少 20%、21%和 27%(各组 $P > 0.05$),但仅 P56 和 P84 的 CA1/海马与同龄对照组比较明显减少 37%和 35%($P < 0.05$)。各龄 DCD 组皮质 1 层、海马 CA2、CA3、门区及齿状回体积和体积分数与对照组比较无统计学意义。P56 和 P31 周大鼠大脑半球、皮质和海马体积及体积分数的测试结果见表 1、2。

2.3 大脑皮质下白质和结节状异位神经元改变

正常对照组和母鼠组白质内神经元以单个散在的或偶见的形式分布,2 组间无统计学意义($P > 0.05$),但 DCD 组皮质下异位结节中的神经元与正常对照组或母鼠组白质内神经元的神经元数密度、细胞(神经元和胶质细胞)数密度和神经元百分比比较平均增加为 99 倍、121 倍和 64 倍,有显著统计学意义($P < 0.05$)。各时间点的 DCD 组之间白质内异位神经元的数密度比较无统计学意义。各组神经元细胞核 Feret 直径的平均水平无统计学意义。皮质下白质内神经元观察参数比较测试结果见表 3。

3 讨 论

本实验观察到 DCD 鼠脑精确病理特征:(1)出生时 DCD 鼠脑质重较正常,从 7 d~31 周时仅平均为正常对照组的 57%。出生时 DCD 鼠脑体积正常,P7 以后各时期 DCD 鼠脑体积平均减少 36%。(2)虽然 DCD 鼠脑皮质体积也平均减少 19%,并随着年龄的增加体积减少越明显。冠状切面大脑皮质厚度变薄约 60%,海马长度未发生改变,而是冠状位萎缩约 40%。DCD 鼠大脑、海马体积减小主要是冠状位的缩短。DCD 鼠从 P7 以后海马体积平均减少 39%,且 CA1 区体积也随龄增加而平均减少 32%,但仅 P56 和 P84 与同龄对照组比较明显减少 38%和 36%。(3)皮质/大脑半球、海马/大脑半球和 CA1/海马的体积分数各年龄组平均减少 20%、21%和 27%,但仅 P56 和 P84 的 CA1/海马明显减少 37%和 35%。(4)DCD 组皮质下白质中的异位结节与正常对照组或母鼠组皮质下白质中神经元数密度、细胞数密度、神经元百分比比较增加 99 倍、121 倍和 64 倍。神经元细胞核 Feret 直径的平均水平比较无统计学意义。(5)利用 DCD 大鼠脑连续切片比较分析皮质第 I 层异位结节、皮质下异位结节和海马异位结节结构及细胞特征与皮质 II~III 层皮质结节相似。(6)DCD 大鼠从 P0 到 P2 前未侵蚀到海马,异位结节位于皮质下白质及室周,海马结构基本正常,但大脑皮质层结构已开始有异常改变。从 P2 以后侵蚀海马 CA1 区的程度与 P28、P56、P84 相同,提示异位结节侵蚀 CA1 区于 P2 达高峰且一直持续,CA1 区的病变并未得到修复。DCD 鼠脑部分精确病理改变与国外有关报道一致^[13-15]。

应用生物体视学技术得出 DCD 大鼠大脑皮质、海马体

积和 CA1 体积分别减少 19%、39%和 32%。皮质下异位结节较正常对照组白质中神经元数密度、细胞数密度、神经元百分比明显增加 99 倍、121 倍、64 倍。生物体视学连续切片观察得出异位结节在 P2 侵蚀海马 CA1 区达到稳定,皮质 II~III 层结构和细胞形态与异位结节相似。这些是常规组织病理学所不能得出的结果,在精确定量方面体视学技术优于常规病理学。生物体视学连续切片技术的应用,可对连续切片的组织结构和细胞结构进行比较分析,从而得出皮质结节可能来源于皮质 II~III 层,但需要进一步分子免疫学技术加以证实。

体视学技术与常规病理相同之处都是在组织化学染色切片上观察,不同在于体视学需要连续切片、体视学显微镜和计数、测量,可以得出体积、体积分数、数密度(体积数密度或面积数密度)和细胞核 Feret 直径等。常规病理与体视学技术结合就能更精确表达体积减少、皮质变薄、细胞丢失等的精确数值,就可能揭示 DCD 形成的原因及与癫痫发生的关系。

皮质异位结节的形成机制可用大脑发育过程中细胞增殖存在过剩的原理^[12]来解释,正常情况随着时间的延长,这些过剩的细胞经历程序性细胞死亡过程(凋亡)而被清除,但是 DCD 鼠在妊娠早期 X 射线照射损害了细胞增殖和移行过程,导致异位结节形成于室周、皮质下白质、皮质浅层。DCD 鼠大脑皮质、海马体积和 CA1 区体积减少从 P7 到 P21 逐渐增大,但到 P28 达较高峰,P56、P84 为最高峰,直到 P31 周降低到最低。说明随着时间的延长异位神经元数量在发生改变,可能因为神经元的凋亡而被清除了,提示神经元的凋亡清除途径未完全被破坏。

另一解释认为在大脑皮层浅表可能表达吸引力因子,吸引其向皮层浅表迁移;在室管膜区可能表达排斥性因子,促使新生神经元向外迁移。DCD 鼠皮层神经元的放射状迁移的

表 1 P56 大鼠大脑半球、皮质和海马体积及体积分数的测试结果 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Results of volume and volume fraction of cerebral hemisphere, cortex, hippocampus test in rats of postnatal 56 day ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	半球 vol (mm ³)	皮质 vol (mm ³)	海马 vol (mm ³)	CA1 vol (mm ³)	皮质/半球 (%)	海马/半球 (%)	CA1/半球 (%)
正常 P56	8	259.733 ± 46.540	91.659 ± 11.572	42.367 ± 9.526	2.038 ± 0.483	41.313 ± 5.216	16.238 ± 1.210	5.719 ± 1.502
DCD P56	8	158.476 ± 16.603*	78.953 ± 13.757 [▲]	24.190 ± 0.933*	1.255 ± 0.504*	35.586 ± 6.200 [▲]	15.381 ± 1.379	3.643 ± 1.308*

注:*, $P < 0.01$,与正常 P56 组比较;[▲], $P < 0.05$,与正常 P56 组比较。体积:vol

表 2 P31 周大鼠大脑半球、皮质和海马体积及体积分数的测试结果 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.2 Results of volume and volume fraction of cerebral hemisphere, cortex, hippocampus test in rats of postnatal 217 day ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	半球 vol (mm ³)	皮质 vol (mm ³)	海马 vol (mm ³)	CA1 vol (mm ³)	皮质/半球 (%)	海马/半球 (%)	CA1/半球 (%)
正常 P31 周	8	285.257 ± 46.767	98.435 ± 16.581	41.905 ± 6.364	1.508 ± 0.581	45.351 ± 7.671	15.815 ± 1.837	4.790 ± 2.167
DCDP31 周	8	227.352 ± 30.342*	94.001 ± 18.487	33.752 ± 3.359*	1.467 ± 0.275	42.368 ± 8.332	14.935 ± 1.050	4.434 ± 0.817

注:*, $P < 0.01$,与正常 P31 周组比较。体积:vol

表 3 皮质下白质内神经元观察参数比较测试结果 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.3 Results of density of neuron,cell,percentage of neuron and Feret diameter of neuron nucleus in subcortical white of rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	神经元密度 (个/mm ²)	细胞密度 (个/mm ²)	神经元百分比 (%)	神经元核 Feret 直径 (μm)
正常对照组	48	12.19 ± 3.74	16.23 ± 2.34	0.48 ± 0.01	9.24 ± 0.04
DCD 组	54	1 101.93 ± 268.46*	2 348.56 ± 268.24*	31.92 ± 5.37*	9.56 ± 0.05

注:*, $P < 0.01$,与正常对照组比较

一种梯度表达的分泌性导向分子 Semaphorin-3A 在早期就可能受到 X 射线辐照的影响,迁移紊乱。因此可以说剂量为 150 cGy 的 X 射线生物学效应是导致 DCD 大鼠脑皮质发育紊乱和海马结构损伤的直接诱因,进一步需要检测皮质、海马 Semaphorin-3A 导向分子的表达。

海马结构中 CA1 区最长,且仅脉络膜前动脉供血这一特点成为缺血缺氧易损区。X 射线具有很强的穿透力,经照射盒到孕鼠子宫损伤 P17 的胎鼠,虽然这个剂量很小,但足以导致鼠脑发育异常,因为此期神经元迁徙、增殖、分化的特殊阶段,对放射线特别敏感,其生物学效应可引起脑水肿,缺血缺氧。这就不难得知除大脑皮质受损外,部位较深的海马结构也有可能受到损伤。另外,X 射线照射还可导致正在发育期动物的脑细胞损伤、凋亡并伴有某些蛋白质的特异性表达^[7]。由于不能通过再增殖进行修复,脑细胞出现不可逆性减少,致使脑的正常发育受到影响,出现脑皮质和海马结构紊乱,细胞丢失。

结合 DCD 大鼠的行为、脑电、致病敏感性^[1,2],脑皮质和海马结构精确病理损害,大脑皮质下异位结节的形成桥接了大脑皮质和海马,促进了神经元的超兴奋性,从而引起痫性发作的易感性明显增加,这可能为 DCD 性癫痫发生机制提供了解释^[16],然而异常神经兴奋性网络还需神经示踪及神经电生理技术加以证实,有待进一步深入研究。生物体视学是精确病理学的利器,可广泛推广应用。

(致谢:感谢川北医学院形态定量研究室杨正伟教授、主任提供光镜体视学设计和数据统计,使实验得以顺利完成)。

参 考 文 献

- [1] 马勋泰,晏 勇,晏 宁,等.皮质发育障碍模型鼠脑皮质形态学和致病机制研究[J].中国临床解剖学杂志,2006,24(5):541-545.
Ma X T,Yan Y,Yan N,et al.The cerebral cortex morphology and mechanism of epileptogenesis in model rats of disorders of cortical development[J].Chinese Journal of Clinical Anatomy,2006,24(5):541-545.
- [2] 马勋泰,晏 勇,王学峰,等.皮质发育不良模型鼠脑病理特征及其致病机制研究[J].中风与神经疾病杂志,2007,24(2):143-146.
Ma X T,Yan Y,Wang X F,et al.The pathological character of cortical dysplasia model in rat and the mechanism of pathology and epileptogenesis[J].Journal of Apoplexy and Nervous Diseases,2007,24(2):143-146.
- [3] 马勋泰,晏 勇,王学峰.皮质发育障碍大鼠小脑回形态学和海马苔藓纤维发芽的研究[J].中华神经医学杂志,2005,4(4):334-337.
Ma X T,Yan Y,Wang X F.Studies of microgyrus morphology and mossy fiber sprouting in focal cortical dysplasia[J].Chinese Journal of Neuromedicine,2005,4(4):334-337.
- [4] 马勋泰,晏 勇,王学峰.液氮损伤诱导局灶性皮质发育不良模型鼠脑组织病理特征[J].中国神经免疫学和神经病学杂志,2008,15(1):39-42.
Ma X T,Yan Y,Wang X F.Observation of pathology features about liquid nitrogen lesion-induced focal cortical dysplasia in rats[J].Chinese Journal of Neuroimmunology and Neurology,2008,15(1):39-42.
- [5] Ma X T,Yan Y,Wang X F,et al.Ultrastructure of focal cerebral cortex tissue from rats with focal cortical dysplasia[J].Neural Regeneration Research,2007,2(12):705-708.
- [6] Babb T L,Ying Z,Mikuni N,et al.Brain plasticity and cellular mechanisms of epileptogenesis in human and experimental cortical dysplasia[J].Epilepsia,2000,41(s):76-81.
- [7] Lee M C,Shim J J,Kim J H,et al.Upregulation of glutamate receptors in rat cerebral cortex with neuronal migration disorders[J].J Korean Med Sci,2004,19(3):419-425.
- [8] 蔡文琴.现代实用细胞与分子生物学实验技术[M].北京:人民军医出版社,2003.70-84.
Cai W Q.Modern practical cellular and molecular biology experimental techniques[M].Beijing:People's Medical Publishing Press,2003.70-84.
- [9] 申 洪,沈忠英.实用生物体视学技术[M].广州:中山大学出版社,1992,5-53.
Shen H,Shen Z Y.Practical organism stereological techniques[M].Guangzhou:Zhongshan University Press,1992.5-53.
- [10] Paxinos G,Watson C.The rat brain in stereotaxic coordinates[M].3rd ed.Sydney:Academic Press,1996.20-50.
- [11] 张 哲,陈 辉.实用病理组织染色技术[M].沈阳:辽宁科学技术出版社,1988.31-118.
Zhang Z,Chen H.Practical pathology staining techniques[M].Shenyang:Liaoning Science and Technology Press,1988.31-118.
- [12] 付永娟,朴月善,陈 莉,等.正常人脑颞叶白质内神经元数目的定量及分布情况[J].中华神经科杂志,2007,5(40):322-324.
Fu Y J,Piao Y S,Chen L,et al.Quantification and distribution of white matter neurons in the temporal lobe of normal individuals[J].Chinese Journal of Neurology,2007,5(40):322-324.
- [13] Palmini A,Andermann F,Olivier A,et al.Focal neuronal migration disorders and intractable partial epilepsy:results of surgical treatment[J].Ann Neurol,1991,30(6):750-757.
- [14] Chang B S,Lowenstein D H.Epilepsy[J].N Engl J Med,2003,349(13):1257-1266.
- [15] Racine R J.Modification of seizure activity by electrical stimulation II.Motor seizure[J].Electroencephalogr Clin Neurophysiol,1972,32(3):781-794.
- [16] Redecker C,Hagemann G,Köhling R,et al.Optical imaging of epileptiform activity in experimentally induced cortical malformations[J].Exp Neurol,2005,192(2):288-298.

(责任编辑:关蕴良)