

· 综述 ·

诱发电位在大鼠脊髓损伤模型中的应用*

徐冬晨^{1,2} 王红星¹ 王彤^{1,3}

诱发电位(evoked potential, EP)是指对神经系统某一特定部位(包括从外周感受器到脊髓、大脑皮质或从大脑皮质到外周神经)给以相宜的刺激,在相应部位产生可以检出的、与刺激有相对固定时间间隔(锁时关系)和特定定位相的生物电反应。EP具有空间、时间和相位特征,即必须在特定的部位才能检测出来,各种EP都有其特定的波形和电位分布;EP的潜伏期与刺激之间有较严格的锁时关系;EP是在给予刺激时,几乎可立即或在一定时间内瞬时出现的,反映了神经系统的功能和结构状态,并与复杂的心理、生理因素相关。

1 诱发电位的分类

1.1 外源性刺激相关电位(stimulus-related potential,SRP)

它与感觉或运动功能有关,按刺激的类型和模式可进一步分为:①感觉诱发电位(sensory evoked potentials,SEP),包括视觉诱发电位、听觉诱发电位和体感诱发电位(somatosensory evoked potential,SEP),后者是指连续刺激外周感觉神经纤维后,在中枢神经系统任何部位,如脊髓、脑干、大脑皮质等得到的综合电位活动,可用来评价周围神经、脊髓损伤和脑干的神经传导时间,间接了解这些部位的功能状态;在脊髓和大脑皮质体感区所记录的SEP分别称为脊髓诱发电位(spinal cord evoked potential,SCEP)和皮质诱发电位(corticla evoked potential,CEP);②运动诱发电位(motion evoked potential, MEP),是指经颅刺激大脑皮质运动细胞、脊髓神经根及周围神经而在相应肌肉上记录的复合动作电位^[1-2]。

1.2 内源性事件相关电位(event-related potential,ERP)

它与认知功能有关,是指当人对某客体进行认知加工,如注意、记忆、思维时,通过平均叠加从头颅表面记录到的大脑电位。它反映认知过程中大脑的神经电生理改变。近年来,诱发电位技术已取得很大进展,为评价脊髓损伤程度、判断预后、选择治疗方案及评定疗效提供了比较客观、可靠的指标,尤其是在实验性研究中,动物的感觉、肌力及反射不易测定的情况下。

2 诱发电位技术在脊髓损伤中的临床应用

2.1 SEP技术在脊髓损伤中的临床应用

SEP沿躯体感觉通路有髓纤维传导,包括神经节、薄楔束核和背侧丘脑,主要反映本体感觉通路的结构和功能状况。因感觉通路与运动通路毗邻,中枢神经系统损伤常导致运动和感觉系统同时受累。故通过躯体感觉系统检查,可在一定程度上反映运动神经受损程度及部位^[3]。由于SEP潜伏期延长或消失,以及波幅改变等可在脊髓、脑干或大脑不同水平损伤中发生,不同损伤方式如打击、受压等均可引起SEP消失,尽管SEP能提供有意义的参考数据,但不能单纯根据SEP的改变对脊髓功能做出全面判断。因此,SEP判断脊髓损伤后运动功能恢复的作用有限,不能独立作为评定指标。

临床上SEP能确定脊髓损伤的程度,并且为判断预后提供客观可靠的依据^[4-5]。另外,国内一些大医院的骨科脊柱手术中通过动态监测SEP观察脊髓功能作用^[6-8],避免可能发生的继发性神经损害。

2.2 MEP技术在脊髓损伤中的临床应用

根据刺激的方式MEP分为电刺激MEP和磁刺激MEP。其中电刺激MEP需要较高的电压,具有一定的损害性,而磁刺激MEP在头皮上产生的诱导电流很弱,不足以兴奋痛觉感受器,具有无损伤、不产生疼痛、穿透力强、稳定可靠等优点,所以目前已被大多数学者所接受,并在临床得到广泛应用的是磁刺激MEP。

MEP主要价值是检查中枢运动传导功能。有研究表明^[9-10],MEP较之SEP能更为敏感、客观地反映脊髓运动功能。故广泛应用于多种脊髓损伤的诊断、运动康复、手术监护和实验研究,如Thomas SL和Gorassini MA^[11]对不完全脊髓损伤后的人进行运动康复, Lee BH等^[12]进行的大鼠脊髓损伤研究就采用了MEP。

如果联合应用MEP与SEP,对脊髓损伤后功能状态的准确评估及判断预后、手术监护将有更大帮助。但MEP的出现与损伤后运动功能的恢复是否完全一致以及评估标准等都尚需进一步探讨。

3 SEP在大鼠脊髓损伤模型中的应用

3.1 应用现状

由于SEP检测贯穿神经系统的整个躯体感觉通路,记录电极可循周围神经、神经干、神经丛、脊髓及皮质获得不同水平神经电位活动,SEP的变化可以代表脊髓电生理活动的活跃程度,潜伏期越短,波幅越高,脊髓传导功能越好。因此,SEP与脊髓损伤程度之间的相关性较好,能较全面地反映该通路的完整性和功能性。如为完全性脊髓损伤,则下肢SEP完全不能引出;急性脊髓休克期难以分辨横贯性损伤是否完全,此时常可以记录到下肢SEP,尽管SEP呈异常表现,但有一定的变化规律,如表现为波幅降低,则损伤并不完全,随着时间推移SEP会有一定程度的恢复。目前国内外相关的动物实验性脊髓损伤研究证明,SEP的变化可以反映脊髓传导功能受损的程度^[13]。如施焯宏等^[14]研究发现,SD大鼠A组脊髓损伤术后24h左后肢SEP消失,右后肢SEP的起始潜伏期PL延长,波幅降低,术后4周,左侧SEP随CBS恢复而出现,

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(项目编号:30671018)

1 南京医科大学第一附属医院康复医学科,210029

2 南京特殊教育职业技术学院康复系

3 通讯作者:王彤(南京医科大学第一附属医院康复医学科,E-mail:wangtong60621@yahoo.com.cn)

作者简介:徐冬晨,男,在读硕士研究生,讲师

收稿日期:2007-11-20

但 PL 较假手术组 B 组、正常组 C 组明显延长 ($P < 0.01$), 波幅也明显降低 ($P < 0.05$), 而 B、C 组间无显著性差异 ($P > 0.05$)。因此, 作为一项客观而敏感的神经电生理学指标, 诱发电位技术已成功应用于大鼠脊髓损伤定性、定位诊断, 也可广泛用于对脊髓损伤预后的预测。在仅有脊髓损伤的条件下, SEP 的改变可以反映损伤同侧脊髓后索的传导功能状态, 并可能间接反映同侧脊髓运动通路的状况。Arunkumar 等^[15]认为, SEP 对部分脊髓损伤的预后估计准确率为 66.7%, 对于严重的脊髓损伤, 估计准确率可达 100%。SEP 与后肢运动功能之间存在一定的相关关系, 可以作为脊髓损伤后后肢运动功能的一项间接、客观的检测指标^[16-18]。SEP 在脊髓损伤程度判断及疗效评估方面有着其他技术手段不可替代的优势。

但不足之处是单一的体感诱发电位检测常不能完全反映脊髓的功能状态和变化。有学者发现, 在运动功能严重损害下 SEP 并不完全消失^[15], 可能原因是脊髓损伤并未伤及薄束, 因此, 要较好地反映大鼠脊髓损伤程度及恢复情况, 还应与行为学评估方法等相结合。

3.2 大鼠脊髓损伤模型 SEP 的测定方法

将大鼠麻醉后, 腹部向下俯卧于实验台上, 采用针电极。记录电极置于脊髓损伤部位上方的背侧中轴上, 参考电极置于同一水平的皮下, 两者距离约 1cm, 接地电极位于记录电极和刺激电极之间的腹部, 刺激电极位于大鼠下肢腓肠肌中, 阴阳电极距离约 1cm, 刺激动物下肢周围神经(坐骨神经、腓总神经、胫后神经等), 在大脑皮质体感区或脊髓的不同节段记录 SEP。刺激强度以后爪出现轻微抽动为宜, 观察电位潜伏期及幅值的变化。如正常大鼠脊髓诱发电位检查均表现为典型的 P1-N1-P2 波形, 其中向上的 N1 波比较平稳。脊髓损伤后, SEP 的幅值减小, 潜伏期延长。潜伏期的改变比波幅值变化明显, 且与损伤程度及功能状态的相关性也较大。

SEP 的正常波形有一定变异范围。影响 SEP 波形的因素较多, 如实验室仪器类型、刺激部位、刺激强度和频率, 以及安放记录电极与参考电极的位置等。此外, 与动物年龄、身长、肢体长度及皮肤温度等都有关。各实验室在决定正常值之前, 应予以适当调整, 才能对脊髓损伤程度及预后做出正确评价。由于诱发电位常混杂在生理信号(心电信号)和外源性干扰信号中, 需要通过适当叠加来削弱干扰。

4 MEP 在大鼠脊髓损伤模型中的应用

4.1 应用现状

自 1984 年 Levy 通过经颅磁刺激进行了 MEP 实验以来, 大量的研究认为经颅磁刺激产生的 MEP 主要是通过锥体束传导的, 少部分通过锥体外系传导。1987 有学者在大鼠上进行了颅磁刺激实验, 发现了 Levy 等在研究中观察到的运动诱发电位“D”和“T”波, 并认为是由锥体外系传递产生的。有学者通过诱发电位的等电位图研究发现^[19], 大鼠的 MEP 传导通路主要在脊髓前索并且靠近中央部, 即锥体外系传导束分布区域, 提示 MEP 的起源可能是锥体外系。MEP 可完整评价术前、术后脊髓运动神经传导束的功能, 但不足之处主要在于易受麻醉剂的影响, Glassman 报道^[20], 在诱导麻醉期, 硫喷妥钠对 MEP 影响较大, 甲苄咪酯影响较小; 在维持麻醉期,

氟烷影响较大, 而氯胺酮和芬太尼影响较小。

4.2 大鼠脊髓损伤模型 MEP 的测定方法

固定大鼠的头和四肢, 保持合适的室温(25℃)同时用电热毯保持大鼠的体温在 37℃。动物实验中常采用 L4—L5 脊髓、皮质运动区硬脑膜外的直接刺激, 但也有经颅(头皮外)刺激报道。在无菌条件下, 切开大鼠背部皮肤, 将刺激针电极延相应椎间隙(L4—L5)缓慢插入棘间韧带; 或将刺激电极阴极置于 T7 椎板下, 阳极置于 T9 椎板下; 或在大鼠皮质运动区用牙科转刀转出直径 5mm 的圆孔, 暴露硬脑膜作 MEP 刺激部位, 将两根记录针电极插入后肢腓肠肌, 正负极间隔 1—2cm, 参考针电极插入大鼠腹部。电刺激参数: 波宽 0.1ms, 刺激强度 0.7—1.5V (或 2mA), 用频率 4Hz 的单方波脉冲刺激 L4—L5 脊髓。刺激间隔 2s 刺激一次, 刺激强度从 1V (或 2mA)起, 每次增加 0.1V, 至 MEP 出现时, 记录该刺激强度为阈刺激强度, 然后将刺激强度调至 4.0V, 至 MEP 振幅稳定后记录其潜伏期和振幅。延时 8ms, 波宽 0.05ms, 放大 200 倍^[21-22]。带通滤波器 10—1000Hz, 平均叠加 64 次。观察指标主要为 MEP 的波形和传导速度。

5 MEP 和 SEP 在大鼠脊髓损伤模型中的联合应用

MEP 和 SEP 的主要神经传导通路分别对应于脊髓腹侧和背侧部分, 即 SEP 主要沿着脊髓背侧上行通路传导, 而 MEP 只沿着脊髓腹侧下行通路传导, 如果二者联合应用, 无疑可以相互补充, 能更全面地评价脊髓功能的状况^[9]。实验研究发现^[23], 用 Allen's 法造成的大鼠急性脊髓损伤模型, 大多数轻伤组(25g·cm)大鼠 SEP 和 MEP 恢复。在重伤组(80g·cm)大鼠, SEP 无恢复, 而 MEP 部分恢复; 轻度脊髓损伤可能不影响 MEP, 或导致部分 MEP 振幅变化, MEP 潜伏期无变化, 然而 SEP 潜伏期相对延长, 因此, 在轻伤组 SEP 比 MEP 更敏感的反映脊髓功能。

综上所述, 诱发电位检查方法在大鼠脊髓损伤模型中具有重要的应用价值, 特别是 MEP 和 SEP 的联合应用, 更能为脊髓损伤的诊治和预后判断提供较为可靠的评价依据。

参考文献

- [1] 潘映辐. 临床诱发电位学[M]. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2000.10—11.
- [2] 汤晓芙. 神经系统临床电生理学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2002.10.
- [3] 肖农, 兰兴惠, 冯成功, 等. 体感诱发电位检查在神经瘫痪中定位价值[J]. 中国临床康复, 2003, 7(10): 1524—1525.
- [4] 赵红, 宿英英. 体感诱发电位对脑功能损伤的评估[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2006, 8(1): 40—42.
- [5] Walsh P, Kane N, Butler S. The clinical role of evoked potentials[J]. Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry, 2005, 76: ii16—ii22.
- [6] 张琪, 高萍, 刘一. 体感诱发电位在脊柱手术中的应用[J]. 吉林医学, 2005, 26(8): 842—843.
- [7] 齐宗华, 刘勇, 王德春, 等. 脊髓及神经根监测技术在脊柱外科手术中的应用[J]. 中国矫形外科杂志, 2007, 15(20): 1556—1558.
- [8] 马乐群, 镇万新, 徐亮, 等. 体感诱发电位在腰椎间盘突出症术中

- 监护的临床意义[J].中国医师杂志,2006,8(7):897—899.
- [9] Wu CF,Tsung HC,Zhang WJ,et al.Improved cryopreservation of human embryonic stem cells with trehalose [J]. *Reprod Biomed Online*,2005,11(6):733—739.
- [10] 侯勇,聂林,汤继文.脊髓损伤后早期减压对诱发电位影响的实验研究[J].中国矫形外科杂志,2006,14(6):439—442.
- [11] Thomas SL, Gorassini MA. Increases in corticospinal tract function by treadmill training after incomplete spinal cord injury[J]. *Journal of Neurophysiology*, 2005, 94(4): 2844—2855.
- [12] Lee BH, Lee KH, Yoon DH, et al. Effects of methylprednisolone on the neural conduction of the motor evoked potentials in spinal cord injured rats [J]. *J Korean Med Sci*, 2005, 20(1): 132—138.
- [13] Nashmi R, Imamura H, Tator CH. Serial recording of somatosensory and myoelectric motor evoked potentials; role in assessing functional recovery after graded spinal cord injury in the rat[J]. *Neurotrauma*, 1997, 14(3): 151—159.
- [14] 施婵宏,万明辉,朱奇,等.CBS与SEP在脊髓半切损伤后功能评定中的应用[J].苏州大学学报(医学版),2004,24(3):305—307.
- [15] Arunkumar MJ, Babu KS, Chardy MJ. Motor and somatosensory evoked potentials in a primate model of experimental spinal cord[J]. *Neurol India*, 2001, 49(8): 219—224. 14.
- [16] 孟晓梅,游思维,林英华,等.脊髓半切后神经体感诱发电位与后肢运动功能的相关性研究 [J]. *中华创伤杂志*, 2002, 18(3): 144—147.
- [17] Andrew Toft, Dugald T. Scott, Susan C. Barnett, et al. Electrophysiological evidence that olfactory cell transplants improve function after spinal cord injury [J]. *Brain*, 2007 130(4): 970—984.
- [18] 郭家松,曾圆山,李海标,等.神经干细胞与NT-3基因修饰雪旺细胞联合移植促进全横断脊髓损伤大鼠功能修复的实验研究 [J]. *中国康复医学杂志*, 2005, 20(5): 323—326.
- [19] 田伟,何达,赵兰峰.运动诱发电位与体感诱发电位的脊髓等电位图的实验研究[J]. *中华医学杂志*, 2003, 83(17): 1525.
- [20] 胥少汀,郭世绂. *脊髓损伤基础与临床* [M]. 第2版.北京:人民卫生出版社,2002.548.
- [21] 胡俊勇,刘世敬,扬远良,等.内皮素受体拮抗剂对大鼠脊髓损伤脊髓诱发电位和运动功能的影响 [J]. *基础医学与临床*, 2003, 23(2): 222—223.
- [22] 陈扬,肖建德,李振宇,等.血管内皮生长因子缓释微粒对大鼠脊髓缺血的实验研究[J]. *广州医药*, 2006, 37(4): 3—5.
- [23] Zileli M, Schramm J. Motor versus somatosensory evoked potential changes after acute experimental spinal cord injury in rats[J]. *Acta Neurochir(Wien)*, 1991, 108(3—4): 140.

· 综述 ·

脑出血后继发性脑损伤的细胞凋亡机制研究进展

张云¹ 刘斌¹

近年来研究表明,脑出血(intracerebral hemorrhage, ICH)后脑损伤不仅是由于血肿的占位效应及血肿对周围脑组织的直接破坏,继发性脑损伤也是出血后脑损伤的主要原因。细胞凋亡在脑出血后继发性脑损伤中起着重要作用。本文主要就脑出血后继发性脑损伤细胞凋亡机制的研究进展作一综述。

1 细胞凋亡参与脑出血后继发性脑损伤

细胞凋亡(apoptosis)是不同于细胞坏死的一种细胞死亡形式,是机体在生长、发育和受到外来刺激时,清除衰老和受损伤的细胞以保持机体内环境平衡的一种自我调节机制。Matsushita等^[1]利用胶原酶诱导大鼠脑出血模型发现,出血中心及其周围可检测到大量凋亡细胞。张尉华等^[2]分别用TUNEL(脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记法)、流式细胞仪检测及DNA电泳对大鼠ICH后6、12、24h及2、3、5、7d时细胞凋亡进行了分析,发现血肿周围TUNEL阳性细胞数逐渐上升,并在3—5d时达到高峰;DNA电泳2—7d均可见断裂DNA片断形成的梯形条带;流式细胞仪检测可见凋亡峰形成,其所占比例在5d达高峰。张新庆等^[3]对19例行开颅经颞叶入路血肿清除手术治疗的患者的研究,发现3

个不同手术时段(超早期:<8h;早期:8—12h;延迟期:>24h)的凋亡阳性细胞数均高于对照组,超早期可见大量TUNEL阳性细胞表达;早期组血肿周边脑组织TUNEL阳性细胞数明显增多,达到高峰;延迟组则有所下降,但仍高于超早期组。Qureshi等^[4]发现脑出血患者血肿周围组织标本中可观察到细胞凋亡,并且细胞凋亡是血肿周围组织细胞死亡的主要形式。总之,研究表明,细胞凋亡参与脑出血后继发性脑损伤。

2 脑出血后继发性脑损伤的细胞凋亡机制

2.1 局部脑血流量(regional cerebral blood flow, rCBF)下降

贺丹等^[5]采用立体定向自体血额叶皮质注射法建立家犬ICH模型,应用磁共振灌注加权成像(perfusion weighted magnetic imaging, PWI)和流式细胞术(flow cytometry, FCM),动态检测不同时间点血肿灶周rCBF与凋亡峰/凋亡率的变化;ICH组PWI显示,0.5—6h血肿灶周低灌注,12—24h rCBF回升,出现血流再灌注现象,48—72h血肿周边区稍低灌注,7—15d血肿周边仍为普遍性稍低灌注;同时,ICH组血

1 华北煤炭医学院附属医院神经内科,河北省唐山市,063000

作者简介:张云,女,硕士研究生

收稿日期:2007-02-12