

连续多次 γ -氨基丁酸和多巴胺特征重复超低频经颅磁刺激对大鼠脑内神经递质功率的影响*

徐建兰¹ 徐晓雪² 蔡青² 鲁强² 张进禄^{1,3}

摘要

目的:动态观察经颅磁刺激仪产生的 γ -氨基丁酸(GABA)和多巴胺(DA)两种特征的重复超低频磁场的连续多次经颅刺激对正常大鼠的脑内 GABA、DA 以及其他递质功率的影响,找出大鼠所能耐受的最长治疗时间,为此项技术应用于治疗性研究提供参考。

方法:将大鼠随机分为 GABA 特征磁刺激组和 DA 特征磁刺激组,分别给予连续 6 次的 GABA 特征磁刺激和 DA 特征磁刺激。各组大鼠于磁刺激前、每次刺激后进行脑涨落图(EFG)测试,分别比较两组动物磁刺激前及每次磁刺激后脑内递质功率的变化。

结果:GABA 特征磁刺激组,从刺激前到第 3 次磁刺激,兴奋递质 3、5-HT、Ach、兴奋递质 6、NE、DA、抑制递质 13 的功率逐渐降低,GABA 与 Glu 的功率则逐渐升高;第 4 次刺激以后,出现无规律的变化。DA 特征磁刺激组,从刺激前到第 2 次磁刺激,全部 9 种递质的功率逐渐升高,第 3 次刺激以后,出现无规律的变化。

结论:清醒大鼠对 50mT 的 GABA 特征磁场超低频经颅磁刺激耐受时长为 60min,对 50mT 的 DA 特征磁场超低频经颅磁刺激耐受时长为 40min。

关键词 超低频经颅磁刺激;经颅磁刺激;神经递质;功率;脑涨落图

中图分类号:R74 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2010)-02-0127-04

Effects of gamma aminobutyric acid and dopamine characteristic repetitive ultra-low frequency transcranial magnetic stimulations on rats' neurotransmitter neurotransmitter power/XU Jianlan,XU Xiaoxue,CAI Qing,et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine,2010,25(2):127—130

Abstract

Objective: To dynamically observe the changes of neurotransmitter power of gamma aminobutyric acid(GABA), dopamine (DA) and other neurotransmitter characteristic infra-slow wave spectrum induced by GABA and DA characteristic repetitive ultra-low frequency transcranial magnetic stimulation (TMSs), in order to find the longest tolerance treatment time of rats, and provide a reference for further therapeutic intervention.

Method: Sprague Dawley rats were divided into GABA group and DA group according to random method and applied with GABA and DA characteristic repetitive ultra-low frequency TMSs for 6 times respectively. The neurotransmitter characteristic infra-slow wave spectrum were recorded with encephalofluctograph (EFG) before and after each GABA and DA characteristic ultra-low frequency TMSs respectively, the changes of neurotransmitter power of neurotransmitters pre and post stimulations of neurotransmitter characteristic repetitive ultra-low frequency TMSs in each group were compared.

Result: In GABA group, from before stimulation to post the third stimulation, the infra-slow wave spectrum voltage amplitude changes of excitatory transmitter-3, 5-HT, Ach, excitatory transmitter-6, NE, DA, inhibitory transmitter-13 decreased gradually; while that of GABA and Glu increased gradually. After the forth stimulation irregular changes appeared. In DA group, from before stimulation to post the second stimulation, the infra-slow wave spectrum voltage amplitude changes of all the nine kinds of neurotransmitters increased gradually. After the third stimulation irregular changes appeared.

Conclusion: Conscious rats can tolerate 50mT GABA characteristic repetitive ultra-low frequency TMS for 60min at most, and can tolerate 50mT DA characteristic repetitive ultra-low frequency TMS for 40min [at www.cjrm.com.cn](http://www.cjrm.com.cn) 127

Author's address Beijing Institute for Neuroscience, the Capital Medical University, Beijing,100069

Key words ultra-low frequency transcranial magnetic stimulation;transcranial magnetic stimulation;neurotransmitter; neurotransmitter power; encephalofluctograph

经颅磁刺激(transcranial magnetic stimulation,TMS)^[1-2]技术具有无痛、无损伤、对人体安全等优

新的经颅磁刺激方式,通过仪器产生超低频的非脉冲磁场,使脑中产生超低频的感生电流,对慢突触后电位进行调节,从而调节突触的功效,达到调节大脑功能的目的。这种超低频经颅磁刺激仪并不直接刺激神经细胞产生动作电位,不会打乱神经细胞本身的生理节律,而是通过产生与某种神经递质的慢突触后电位频率相同的感应电流,模拟该种神经递质的慢突触后电位的作用,对神经细胞本身产生的动作电位的效率进行调节,有目的地精细地对大脑的某项功能进行调节,有可能成为替代传统经颅脉冲磁刺激的更为安全可靠的经颅磁刺激方式^[10]。

在我们过去的实验中已发现,KF10型经颅磁刺激仪的 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)特征磁场和多巴胺(dopamine, DA)特征磁场能够特异性地增加正常大鼠的脑内 GABA 和 DA 功率,同时,GABA 特征磁场还可减弱其他递质的功率,DA 特征磁场则能够增强其他递质的功率。但是这种变化受刺激时长的影响较大,如果在动物模型中进行治疗性研究首先需要确定合理的刺激时间。

本实验选用 KF10 型经颅磁刺激仪模拟 GABA 特征磁场和 DA 特征磁场对正常大鼠进行连续多次经颅磁刺激,采用脑涨落图仪(encephalofluctograph,EFG),根据涨落理论^[11-12],从脑电波中分析获得包括 GABA、DA、兴奋递质 3、5-羟色胺(5-hydroxytryptamine,5-HT)、乙酰胆碱(acetylcholine,Ach)、兴奋递质 6、去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)、抑制递质 13、谷氨酸(glutamic acid, Glu)共 9 种递质的活动参数(递质功率变化)^[13]。在完全无损伤的条件下动态观察这 2 种特征磁场的连续多次磁刺激对正常大鼠的脑内 GABA、DA 及其他递质功率和大脑功能的影响,确定大鼠对两种特征性磁场刺激的耐受时间,为在大鼠模型中进行实验性治疗摸索合理的治疗时长提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

健康 SD 大鼠 40 只,雌雄不限,体重为 180—220g,由首都医科大学实验动物中心提供(清洁级)[实验动物机构许可证号 SCXK(京)2005-0006],随机分为 GABA 特征磁刺激组和 DA 特征磁刺激组。经颅磁刺激使用 KF10 型经颅磁刺激仪(梅州康立高科技有限公司),脑电信号采集使用 KF04 型脑涨落图仪(梅州康立高科技有限公司)

1.2 方法

经颅磁刺激使用 KF10 型经颅磁刺激仪,DA 特征磁刺激组给予模式 1 磁刺激(模式 1 能够发出

DA 特征的磁刺激);GABA 特征磁刺激组给予模式 2 磁刺激(模式 2 能够发出 GABA 特征的磁刺激);线圈直径为 6cm,刺激强度为 50MT,进行刺激时将大鼠固定在与线圈连接的大鼠固定架上,头部位于线圈正中,磁场作用于大鼠全脑,每次刺激持续时间为 20min,连续进行 6 次磁刺激。

信号采集:将 2 组大鼠分别在治疗前和每次磁刺激后用“清醒大鼠固定装置”(首都医科大学北京神经科学研究所研制)固定后采集脑电信号。按国际标准导联 10—20 系统,在 F3、F4(相当于大鼠的左前脑、右前脑)位置,用不锈钢电极刺入皮下,引出导联线到 KF04 型脑涨落图仪,以右耳皮下为参考电极,以左耳皮下接地,采集 10min 脑电信号。

EFG 分析:信号采集完毕后,脑涨落图仪自动进行数据处理。数据处理结束后,自动打印出分析报告,有神经递质功率、神经递质相对功率、脑功能指数等指标的检测结果。本实验采用神经递质功率进行分析。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 10.0 软件对原始数据进行统计学处理。

2 结果

磁刺激前及每次 GABA 特征磁刺激后脑内神经递质的功率见表 1;磁刺激前及每次 DA 特征磁刺激后脑内神经递质的功率见表 2。

从表 1 可以看出,GABA 特征磁刺激,从刺激前到第 3 次磁刺激,兴奋递质 3、5-HT、Ach、兴奋递质 6、NE、DA、抑制递质 13 的功率逐渐降低;GABA、Glu 的功率则逐渐升高。但从第 4 次刺激以后,脑内递质的功率出现无规律的变化。

从表 2 可以看出,DA 特征磁刺激组,从刺激前

到第 2 次磁刺激,全部 9 种递质的功率逐渐升高,但从第 3 次刺激以后,脑内递质的功率出现无规律的变化。

3 讨论

本实验采用连续 6 次 GABA 特征磁场和 DA 特征磁场刺激,根据前面的实验结果,在可耐受范围内,GABA 特征磁场磁刺激的结果应该是:GABA 的功率逐渐升高,其他递质的功率逐渐降低;DA 特征磁场刺激的结果应该是所有递质的功率逐渐升高^[14-17]。当这种规律被打破说明刺激超出大鼠的耐受限度,则不能达到预期的治疗作用。

本实验的结果发现,当给予 GABA 特征磁刺激,从刺激前到第 3 次磁刺激,兴奋递质 3、5-HT、Ach、兴奋递质 6、NE、DA、抑制递质 13 的功率逐渐降低,GABA、Glu 的功率则逐渐升高,表现与 GABA 的生理作用效果一致^[15];但从第 4 次刺激以后,脑内递质的功率出现无规律的变化,提示耐受性改变。DA 特征磁刺激组,从刺激前到第 2 次磁刺激,全部 9 种递质的功率逐渐升高,表现与 DA 的生理作用效果一致^[16-17];但从第 3 次刺激以后,脑内递质的功率出现无规律的变化,提示耐受性改变。在前面几次刺激后出现明显的脑内递质功率的规律性变化印证了超低频经颅磁刺激可以模拟神经递质的慢突触后

表 1 连续 6 次 GABA 特征磁刺激对脑内神经递质功率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=20$, μV^2)

	刺激前	第 1 次刺激后	第 2 次刺激后	第 3 次刺激后	第 4 次刺激后	第 5 次刺激后	第 6 次刺激后
GABA	117.65±75.7	176.23±111.12 ^①	187.98±94.88 ^①	217.84±166.61 ^①	109.61±86.60 ^③	141.58±73.61 ^③	4.5±2.65 ^②
Glu	88.81±22.79	190.89±149.06 ^①	200.45±159.12 ^①	140.52±116.40 ^②	113.26±109.91 ^③	152.61±126.96 ^①	5.97±2.34 ^②
兴奋递质 3	1874.25±1068.01	1351.48±558.07 ^①	1011.75±855.67 ^②	355.88±255.38 ^②	1072.62±823.96 ^③	998.44±791.25 ^③	99.52±90.07 ^②
5-HT	1385.01±1173.12	1072.5±1026.36 ^②	599.71±193.73 ^②	342.22±311.54 ^②	785.6±690.71 ^①	886.16±773.73 ^③	73.42±57.72 ^②
Ach	1081.82±540.65	830.15±745.97 ^②	474.46±218.46 ^②	214.3±136.60 ^②	610.76±209.72 ^③	592.32±315.82 ^①	76.3±66.80 ^②
兴奋递质 6	1087.83±787.06	665.92±260.40 ^②	430.32±292.73 ^②	159.43±96.15 ^②	478.38±393.52 ^①	547.44±455.86 ^③	45.3±26.23 ^②
NE	869.47±335.53	636.89±398.92 ^②	378.61±280.71 ^②	151.1±124.20 ^②	395.86±263.73 ^③	350.33±265.40 ^①	39.37±24.64 ^②
DA	588.78±279.76	399.5±277.13 ^②	226.38±166.47 ^②	95.54±70.58 ^②	235.78±160.26 ^①	242.84±121.30 ^③	18.02±14.39 ^②
抑制递质 3	481.26±110.58	381.34±168.79 ^②	135.63±131.80 ^②	65.22±44.57 ^②	254.94±136.83 ^①	204.52±128.18 ^②	21.52±17.70 ^②

与磁刺激前比较:①表示 $P<0.05$,②表示 $P<0.01$,③ $P>0.05$

表 2 连续 6 次 DA 特征磁刺激对脑内神经递质功率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=20$, μV^2)

	刺激前	第 1 次刺激后	第 2 次刺激后	第 3 次刺激后	第 4 次刺激后	第 5 次刺激后	第 6 次刺激后
GABA	114.53±53.58	499.11±149.32 ^②	201.03±122.4 ^①	38.4±24.16 ^①	40.08±36.46 ^②	210.71±166.36 ^③	813.15±615.44 ^②
Glu	150.68±72.31	380.95±256.5 ^①	257.96±171.26 ^①	28.72±24.08 ^①	64.06±57.14 ^①	80.7±56.42 ^③	997.01±716.04 ^②
兴奋递质 3	1168.08±829.92	1865.93±725.65 ^①	2456.88±969.47 ^②	385.9±288.4 ^③	564.68±315.5 ^①	3821.12±2937.01 ^①	2844.37±2160.03 ^①
5-HT	775.45±543.95	1482.23±644.72 ^②	2296.95±1314.5 ^②	291.92±213.9 ^③	416.38±288.26 ^①	3064.66±1658.87 ^①	1946.37±1649.65 ^①
Ach	656.35±328.55	1075.21±799.36 ^①	1265.36±1183.66 ^①	250.76±156.96 ^③	333.54±229.31 ^①	1655.1±1290.32 ^①	1699.95±1067.82 ^③
兴奋递质 6	644.63±286.74	978.7±593.99 ^①	1007.73±753.81 ^①	191.7±120.51 ^③	240.76±187.8 ^①	2404.58±1530.83 ^②	1689.4±1529.33 ^①
NE	624.06±322.47	940.21±369.02 ^①	1023.98±485.88 ^①	154.5±116.63 ^③	204.54±199.78 ^③	1653.26±1065.16 ^①	744.5±449.81 ^③
DA	325.13±100.23	489.96±273.4 ^①	1181.28±825.82 ^②	79.06±33.23 ^①	132.92±87.26 ^①	957.28±677.25 ^①	541.97±387.26 ^③
抑制递质 3	198.2±116.84	486.28±345.22 ^②	449.58±361.8 ^②	62.94±25.33 ^①	94.52±61.33 ^③	1114.66±975.67 ^②	453.22±317.62 ^②

与磁刺激前比较:① $P<0.05$,② $P<0.01$,③ $P>0.05$

电位的作用从而有目的的精细地调节大脑某项功能的事实。但是耐受性的改变提示这种磁刺激的作用效果是与刺激持续的时间有关,超过一定时间后刺激产生的效果更为复杂,目前尚无法解释。

在本实验中大鼠对两种特征性磁场刺激的耐受性的改变除了由于大鼠脑生理功能状态的变化外,还可能其他因素的影响。由于研究的内容是生理条件下的大鼠脑功能所以不便采用麻醉措施,只能在清醒的条件下进行刺激和信号采集,虽然采用独

特的“清醒大鼠固定装置”,但仍然无法避免动物由于长时间被束缚产生的不良反应,进而影响脑内递质功率的正常变化。由此看来,实验结论是局限于清醒大鼠的,清醒大鼠对 GABA 特征磁场最长耐受为 3 次刺激,时间长度为 60min;对 DA 特征磁场最长耐受为 2 次刺激,时间长度为 40min。

至于 GABA 特征磁场和 DA 特征磁场耐受时间不同,可能是因为 GABA 和 DA 的生理性质不同。GABA 的生理性质是抑制,而 DA 的生理性质则是

兴奋^[18]。在抑制状态下,大脑对外界刺激的灵敏度会降低,耐受性则增加;反之,兴奋状态下,耐受性则降低。因此可能得出乐观的估计,如果在动物更为配合的条件下刺激治疗的时间有可能延长。

4 结论

清醒大鼠对 KF10 型经颅磁刺激仪产生的 50MT 的 GABA 特征磁场超低频经颅磁刺激耐受时长为 60min,对 50MT 的 DA 特征磁场超低频经颅磁刺激耐受时长为 40min,超过耐受时长后神经递质功率出现无规律变化。

参考文献

- [1] Pascual-leone A. Repetitive transcranial magnetic stimulation: Technical, principles, safety, and potential therapeutic applications electroencephalogrclin[J]. Neurophysiol, 1997, 103: 481.
- [2] Hallett M. Transcranial magnetic stimulation and the human brain[J]. Nature, 2000, 406(6792): 147—150.
- [3] 张鸿, 李玉芝, 庞文峰, 等. 重复经颅磁刺激治疗抑郁症的临床研究[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2005, 27: 760.
- [4] 陈运平, 梅元武, 孙圣刚, 等. 低频重复经颅磁刺激对慢性应激抑郁模型大鼠行为学及脑内单胺类神经递质的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2005, 27(12): 724.
- [5] Pape TL, Rosenow J, Lewis G. Transcranial magnetic stimulation: a possible treatment for TBI [J]. The Journal of Head Trauma Rehabilitation, 2006, 21(5): 437—451.
- [6] Andoh J, Martinot JL. Interhemispheric compensation: a hypothesis of TMS-induced effects on language-related areas[J]. European Psychiatry, 2008, 23(4): 281—288.
- [7] Wassermann EM. Risk and safety of repetitive transcranial magnetic stimulation: report and suggested guidelines from the International Workshop on the Safety of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation, June 5–7, 1996 [J]. Electroencephalography and Clinical Neurophysiology. 1998, 108(1): 1—16.
- [8] Janicak PG, O'Reardon JP, Sampson SM, et al. Transcranial magnetic stimulation in the treatment of major depressive disorder: a comprehensive summary of safety experience from acute exposure, extended exposure, and during reintroduction treatment [J]. The Journal of Clinical Psychiatry, 2008, 69(2): 222—232.
- [9] Frick C, Kosel M, Shlaepfer TE, et al. Incident mania during therapy with vagus nerve stimulation [J]. The Journal of ECT. 2005, 21: 197.
- [10] Anand S, Hotson J. Transcranial magnetic stimulation: neurophysiological applications and safety [J]. Brain and Cognition, 2002, 50: 366—386.
- [11] 李绍旦, 杨明会, 刘毅. 亚健康失眠人群脑内神经递质活动的脑电超慢涨落图表现[J]. 实用医学杂志, 2008, 24(1): 39.
- [12] 徐建兰, 蔡青, 徐晓雪, 等. 大鼠脑内多巴胺水平与脑电 11mHz 超慢波谱系功率的相关性 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(13): 2510.
- [13] Yan Han, Zhenfu Wang, Yang Yang, et al. Neurotransmitter changes in patients with Parkinson's disease detected by encephalofluorography technology [J]. Neural Regeneration Research, 2008, 3(9): 1010.
- [14] Leto K, Carletti B, Williams IM, et al. Different types of cerebellar GABAergic interneurons originate from a common pool of multipotent progenitor cells [J]. The Journal of Neuroscience, 2006, 26(45): 11682.
- [15] Huang ZJ. Activity-dependent development of inhibitory synapses and innervation pattern: role of GABA signalling and beyond [J]. The Journal of Physiology, 2009, 587 (Pt 9): 1881—1888.
- [16] Zhu Z, Bartol M, Shen K, et al. Excitatory effects of dopamine on subthalamic nucleus neurons: in vitro study of rats pretreated with 6-hydroxydopamine and levodopa [J]. Brain Research, 2002, 945: 31—40.
- [17] Dalley JW, Everitt BJ. Dopamine receptors in the learning, memory and drug reward circuitry [J]. Seminars in Cell & Developmental Biology, 2009, 20(4): 403—410.
- [18] 韩济生. 神经科学原理[M]. 北京: 北京医科大学出版社, 1999: 333—347.