

·基础研究·

电刺激帕金森病大鼠丘脑束旁核 对内侧苍白球放电的影响*

丁方香¹ 路致远¹ 计义正¹ 王晓清¹ 王 敏^{1,2}

摘要

目的:以丘脑束旁核(PF)为刺激靶点,观察高频电刺激对帕金森病(Parkinson's disease,PD)模型大鼠内侧苍白球(GPi)放电的影响。

方法:在黑质致密部(SNc)和中脑腹侧被盖区(VTA)两点注射6-羟基多巴胺(6-OHDA)制作PD模型大鼠。实验组电刺激(强度1.5V,脉冲间隔0.06ms,频率150Hz)PD大鼠PF,正常大鼠为对照组,比较刺激前后两组大鼠记录的GPi局部场电位(LFPs)。

结果:PD大鼠GPi LFPs在7—30Hz频段占总信号百分比减小($P<0.01$),而30—100Hz频段增加($P<0.05$)。第一次电刺激PD大鼠PF后,GPi LFPs在7—12Hz频段有所改善($P<0.05$),在第一次电刺激后的刺激效果表现为GPi LFPs在7—30Hz频段进一步减小($P<0.01$)。

结论:PD大鼠GPi LFPs低频段占总信号百分比极其显著减小,高频段显著增多,电刺激PF能够改善GPi低频LFPs。

关键词 帕金森病;脑深部刺激术;束旁核;内侧苍白球;局部场电位

中图分类号:R742.5,R493 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2013)-03-0204-05

The effect of the firing of internal segment of the globus pallidus with electric stimulation in parafascicular nucleus of the thalamus of Parkinson's disease rats/DING Fangxiang, LU Zhiyuan, JI Yizheng, et al// Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2013, 28(3): 204—208

Abstract

Objective: To observe the influence of the firing activity of internal segment of globus pallidus(GPi) of Parkinson's disease(PD) rat models with high frequency electric stimulation on parafascicular nucleus (PF).

Method: The 6-hydroxyl dopamine was injected into substantia nigra compacta(SNc) and ventra tegmental area (VTA) to make rat models of PD. In experiment group PF of PD rats were stimulated (electric intensity 1.5V, pulse interval 0.06ms,frequency 150Hz) and normal rats were as control group. GPi local field potentials(LFPs) were recorded in both groups.

Result: GPi LFPs of PD rats in 7—30Hz frequency range of PD rats decreased($P<0.01$), in 30—100Hz frequency range increased($P<0.05$).After PF of PD rats was stimulated for the first time, the percentage of GPi LFPs in 7—12Hz frequency range improved compared with PD rats($P<0.05$). After the first stimulation GPi LFPs in 7—30Hz frequency range decreased further($P<0.01$).

Conclusion: The percentage of GPi LFPs in low frequency range decreased extremely significantly, while that in high frequency range increased significantly. Low LFPs of GPi can be improved by electric stimulation in PF.

Author's address Shandong Normal University Collage of Life Science, Jinan, 250014

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2013.03.003

*基金项目:山东省科技发展计划项目(2011GGX10133);山东省自然科学基金项目(ZR2010CM055)

1 山东师范大学生命科学学院,济南,250014; 2 通讯作者

作者简介:丁方香,女,硕士生; 收稿日期:2012-05-30

Key word Parkinson's disease; deep brain stimulation; parafascicular nucleus; internal segment of globus pallidus; local field potential

帕金森病(Parkinson's disease,PD)的病理学特征是黑质致密部(substantia nigra compacta, SNc)多巴胺能神经元的缺失以及主要由 α -突触核蛋白和泛素形成的称为路易小体的细胞质内含物的出现,造成基底神经核环路的紊乱^[1-2]。脑深部刺激术(deep brain stimulation,DBS)是一项主要用于治疗PD的新的手段^[3]。丘脑束旁核(parafascicular nucleus of the thalamus, PF)是位于丘脑层间的尾部核团,解剖学研究显示,PF与基底神经节之间有功能上的联系^[4]。PF被认为是丘脑向纹状体输入信息的最主要的核团,该复合体成为被广泛研究的丘脑皮层子系统^[5]。近年来,PF开始成为DBS治疗PD的新的候选核团。模型大鼠内侧苍白球(internal segment of globus pallidus, GPi)是基底神经核的一个输出核团,并将最后的信息从基底神经节靶向传出^[6]。因此,记录分析GPi神经元电活动的信息,对揭示PD发病过程中基底核神经元的放电模式如何变化,了解基底核神经网络的作用方式和PD的病理过程有重要意义^[7]。在动物实验和人类的PD研究中,大都选择苍白球作为探索PD神经病理通路的部位。尽管DBS这种治疗方式已被广泛应用,但是这种治疗方式在许多方面还是有争论的^[8]。故本实验拟通过电刺激PD模型大鼠PF,记录GPi LFPs的变化,为临床DBS治疗PD提供电生理学基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物

成年雄性Wistar大鼠,体重270—310g,由山东大学实验动物中心提供。

1.2 主要试剂和仪器

6-羟基多巴胺(6-OHDA)、阿朴吗啡(APO)、脑立体定位仪、SWF-1D微电极放大器、RM6240 HJ型多道生理信号采集处理系统、冰冻切片机。

1.3 实验方法

建立PD大鼠模型:腹腔注射4%水合氯醛(400mg/kg BW)麻醉大鼠至无眨眼反射后,立体定位仪上固定。常规消毒后,剪开头皮,暴露出颅骨,参照大鼠脑立体定位图谱确定SNc和VTA的坐

标^[9]:SNc,前囟后(5.2 ± 0.1)mm,中线旁开(2.1 ± 0.1)mm,颅骨表面下(8.0 ± 0.1)mm;VTA,前囟后(6.8 ± 0.1)mm,中线旁开(0.6 ± 0.1)mm,颅骨表面下(8.6 ± 0.1)mm。用颅骨钻在两个位点处钻透颅骨,在指定深度用微量注射器注入6-OHDA。注射完毕后留针10min,以1mm/min的速度退针^[10]。注射8万单位青霉素钠,用明胶海绵封闭钻孔,缝合大鼠头皮伤口。

模型测试:造模4周后,大鼠颈部肌肉注射盐酸APO(0.01%,0.5mg/kg体重),30min内健侧旋转平均转速大于7r/min的大鼠即为成功的PD模型大鼠^[11]。

脑电信号采集与电刺激:植入电极3d,待大鼠炎症反应消失后,连续2周采集大鼠脑电信号,采集内容为清醒静止状态下GPi的LFPs,信号采集过程50Hz工频电磁干扰被滤除^[12]。脑电信号采集结束后,电刺激PF,连续刺激一周,记录每一次电刺激后的GPi的LFPs。

电刺激和采集方法:采集电极为直径100 μ m镍镉合金丝,刺激电极为直径200 μ m钢针。将电极植入GPi和PF。参照大鼠脑立体定位图谱,大鼠GPi和PF的坐标^[13]:GPi,前囟后(2.4 ± 0.1)mm,中线旁开(2.95 ± 0.1)mm,颅骨表面下(7.7 ± 0.1)mm;PF,前囟后(4.36 ± 0.1)mm,中线旁开(1.28 ± 0.1)mm,颅骨表面下(6.0 ± 0.1)mm。暴露颅骨,在建立模型时给药侧脑区实施手术。用颅骨钻钻透颅骨,在上述两个位点植入电极。每次电刺激参数为:电压强度1.5V,脉冲间隔0.06ms,频率150Hz。电刺激15min后,间隔5min,再刺激15min,此为一次刺激。

数据分析:将采集到的核团LFPs导入MATLAB中进行频谱分析,使信号按照不同频段分解,从而获得不同频段信号在总信号中的百分比,在SPSS16.0中进行独立样本 t 检验。

组织学鉴定:采集脑电信号结束后,大鼠麻醉灌流,断头取脑,进行连续冠状冰冻切片,中性红染色,鉴定SNc的损毁情况和电刺激位点及记录位点的准确性。

1.4 统计学分析

采用SPSS16.0软件完成统计处理,不同组之间

的均数差异用 t 检验进行显著性检验,以 $P<0.05$ 为差异有显著性意义,以 $P<0.01$ 为差异有非常显著性意义。

2 结果

2.1 模型测试结果

共鉴定了8只建立模型大鼠的健侧旋转行为,有6只大鼠在颈部肌肉注射 APO 后,出现首尾相向健侧旋转,30min 内转速大于 7r/min。模型建立成功率为 75%。大鼠右侧造模 4 周后,颈部肌肉注射盐酸 APO (0.01%, 0.5mg/kg 体重) 3min 后,大鼠出现健侧旋转行为,30min 内旋转圈数大于 7r/min。此为成功的 PD 模型大鼠。

2.2 组织学鉴定结果

大鼠两点注射 6-OHDA 后,产生 DA 能神经细

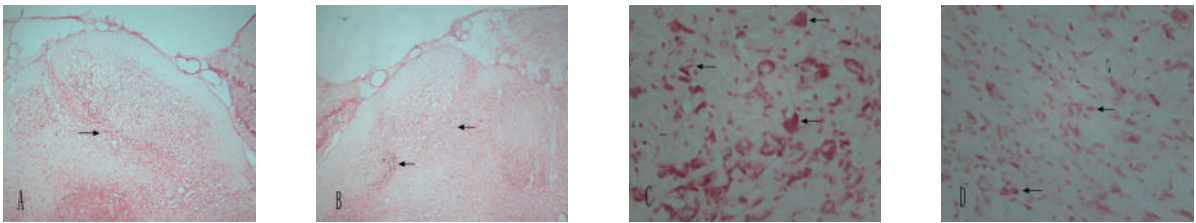
胞选择性和永久性的破坏,黑质致密部的变化尤其明显。表现为造模后黑质致密部条带因 DA 能神经元受到破坏而变得不明显,细胞形态也发生变化。见图 1。

2.3 脑电信号分析结果

2.3.1 造模前后内侧苍白球放电的变化:共记录了 6 只正常大鼠和 6 只 PD 模型大鼠清醒静止状态下 GPi 的放电活动。

MATLAB 频谱分析结果:PD 大鼠与正常大鼠相比,GPi 放电频率在 0—7Hz 频段范围内占总信号百分比无显著性差异,7—30Hz 的频段范围内百分比减小,差异有极显著意义 ($P<0.01$);在 30—100Hz 频段范围内百分比增多,差异有显著性意义 ($P<0.05$);其他频段范围百分比增多 ($P<0.05$)。各频段信号占总信号百分比。见表 1。

图1 帕金森病模型大鼠的组织学鉴定 (中性红染色)



A 为帕金森病模型大鼠正常侧黑质,箭头所指可见明显的致密带(10×4);B 为注射位点一侧,且能够看见注射点,箭头所指处致密带已不明显(10×4);C 为正常侧致密部细胞(10×40),箭头所指处能发现较多有完整突起和胞体的神经元,胞质饱满且细胞较密集;D 为损伤侧致密部细胞(10×40),箭头所指处几乎没有完整的神经元结构,胞质萎缩,出现较多个体较小的胶质细胞。

MATLAB 光谱分析结果:光谱图是一段信号的关于时间和频率之间的能量谱密度的直观表现形式,能够有效的反应一段时间内信号的光谱成分的变化,由图可看出正常大鼠与 PD 大鼠 GPi 放电在相同的时间内光谱成分是明显不同的,通过这种直观的方式显示出,造模后大鼠的 GPi 的 LFPs 的变化。

2.3.2 电刺激前后内侧苍白球放电的变化:共对 8 只 PD 模型大鼠进行电刺激,记录了 GPi 放电的变化。电刺激 PD 大鼠结果发现,在进行第一次电刺激后 GPi LFPs 在 7—12Hz 频段范围信号占总信号百分比是增加的,在该频段电刺激是有效的;而经过每一次电刺激后,统计学分析结果显示,GPi LFPs 在 7—30Hz 频段百分比极显著减小,其他频段没有显

著变化。

PD 大鼠第一次电刺激后 MATLAB 频谱分析结果:PD 大鼠在第一次电刺激后,GPi LFPs 在 7—12Hz 频段占总信号百分比增加,差异有显著性意义 ($P<0.05$);其他频段百分比无显著性差异。见表 2。

PD 大鼠每一次电刺激后 MATLAB 频谱分析结果:PD 模型大鼠电刺激 PF 后 GPi 的放电活动与电刺

表1 正常大鼠与PD大鼠频谱分析表 ($\bar{x}\pm s$)

频段范围(Hz)	正常大鼠(%)	PD大鼠(%)
0—7	25.41 ± 1.29	26.24 ± 1.22
7—30	55.75 ± 1.18	50.09 ± 1.27 ^②
30—100	17.19 ± 1.11	20.55 ± 1.22 ^①
其他	1.11 ± 0.07	3.12 ± 0.86 ^①

① $P<0.05$; ② $P<0.01$

激之前相比,7—30Hz频段百分比减小,差异有极显著性意义($P<0.01$);其他频段无显著差异。见表3。

MATLAB 能量谱密度分析结果:PSD是指能量谱密度(power spectral density),它表示一段信号所

包含的频率估值。PD大鼠第一次电刺激前后比较,可见,在大约0—12Hz频段曲线有明显不同;经过一个周期的电刺激后,刺激前后的比较,可见,在约7—30Hz频段范围内曲线有明显不同。见图2。

表2 PD大鼠第一次电刺激后频谱分析表 $(\bar{x}\pm s)$

频段范围(Hz)	PD大鼠第一次刺激前(%)	PD大鼠第一次刺激后(%)
0—7	26.10 ± 1.82	28.01 ± 4.76
7—12	11.94 ± 1.29	19.74 ± 3.35 ^①
12—30	31.95 ± 1.38	27.95 ± 2.41
30—100	28.39 ± 2.85	22.93 ± 5.78
其他	1.61 ± 0.17	1.71 ± 0.30

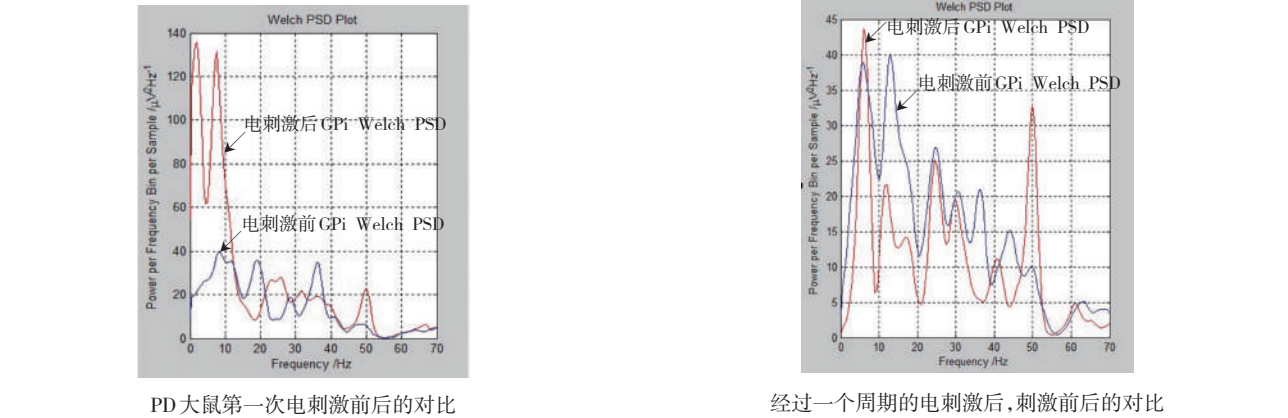
① $P<0.05$

表3 PD大鼠每一次电刺激后频谱分析 $(\bar{x}\pm s)$

频段范围(Hz)	PD大鼠电刺激PF前(%)	PD大鼠电刺激PF后(%)
0—7	23.16 ± 1.13	24.98 ± 2.75
7—30	49.43 ± 1.18	40.14 ± 2.77 ^①
30—100	25.81 ± 1.33	31.56 ± 3.52
其他	1.61 ± 0.07	3.32 ± 1.05

① $P<0.01$; PF:丘脑束旁核

图2 MATLAB能量谱密度分析结果



3 讨论

PD的主要病变部位在黑质、纹状体和苍白球等处,造成多巴胺能和胆碱能神经元通路异常^[14]。有关帕金森病的神经生理学的研究大多集中在基底神经核神经元活动的性质和变化机制^[15]。DBS近年来成为PD临床治疗的有效方式,但其具体机制尚未清楚^[16]。最近,解剖学研究显示中央中核—束旁核复合体与基底神经核—丘脑皮质环路形成明显的功能上的环路^[3]。目前对PD患者GPi神经元的研 究大都是从频率编码角度进行的,本实验结果显示,PD模型大鼠较正常大鼠GPi LFPs发生了变化,表现为GPi LFPs在0—30Hz频段所占总频段百分比正常大鼠显著减小,而30—100Hz频段所占总频段百分比正常大鼠显著增加。

GPi与运动皮质有较强的联系,它控制着感觉—运动行为,是基底神经核的输出核团^[17]。因此,研究

GPi对理解基底神经核的功能是非常重要的。本实验是通过电刺激PD大鼠PF来观察GPi放电的变化。结果显示,PD大鼠在进行第一次电刺激后,7—12Hz频段占总信号百分比增加。可见电刺激能够改变GPi的低频段信号的放电,大鼠造模后低频段信号百分比是减小的,所以第一次电刺激在一定程度上改善了PD大鼠GPi的放电活动。PD大鼠在电刺激周期结束后,GPi放电变化发生改变,7—30Hz频段占总信号百分比进一步减小。DBS因安全、可逆、效果好等优势,已逐步取代丘脑核团损毁术,成为外科治疗帕金森病的首选,但其作用机制目前仍不清楚^[18]。临床DBS可以在某种程度上改善中晚期或药物难治性PD患者的运动症状,但是其治疗效果会因刺激参数、患者的个体情况以及靶点的选择等因素而不同^[19]。本实验结果可以在某种程度上与临床DBS的疗效相吻合,并为临床治疗PD的机制提供

一定的基础。另一方面,电刺激PF使GPi的放电发生了变化,从而也进一步证明,在基底神经环路中,PF和GPi之间存在有一定的联系。

参考文献

- [1] 袁立伟,王健.帕金森患者的步态特征[J].中国康复医学杂志,2012,25(6):586.
- [2] 谢晓明,刘宏亮,高宇,等.转录因子EN1在帕金森病模型小鼠中脑表达中的变化[J].中国康复医学杂志,2012,27(3):197.
- [3] Dormont D, Seidenwurm D, Galanaud D, et al. Neuroimaging and deep brain stimulation[J]. AJNR Am J Neuroradiol, 2010, 31(1):15.
- [4] Minamoto T, Hori Y, Kimura M. Roles of thalamic CM-PF complex-Basal ganglia circuit in externally driven rebias of action[J]. Brain Research Bulletin, 2009, 78(2-3):75.
- [5] Galvan A, Smith Y. The primate thalamostriatal systems: Anatomical organization, functional roles and possible involvement in Parkinson's disease[J]. Basal Ganglia, 2011, 1(4):179.
- [6] Nambu A. Globus pallidus internal segment[J]. Progress in Brain Research, 2007, 160:135.
- [7] 王景,王学廉,王举磊,等.帕金森病大鼠苍白球神经元放电模式的分析[J].立体定向和功能神经外科杂志,2007,20(6):321.
- [8] Bronstein JM, Tagliai M, Alterman RL, et al. Deep brain stimulation for Parkinson disease: an expert consensus and review of

key issues[J]. Arch Neurol, 2011, 68(2):165.

- [9] Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates [M]. 5th Edition. Electronic press, 2005:71—88, 89—90.
- [10] 蹇健,张巧俊.帕金森病大鼠模型海马mGlu R5的表达变化及意义[J].中西医结合心脑血管疾病杂志,2010,8(1):65.
- [11] 王涛,左萍萍,刘雁勇,等.帕金森病模型大鼠行为学评价与黑质神经元凋亡的相关研究[J].中国康复理论与实践,2010,16(4):301.
- [12] 赵以亮,孙建涛,宋永吉,等.特定行为下大鼠M1的LFPs研究[J].生物医学工程学杂志,2012,29(4):46.
- [13] Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates [M]. 5th Edition. Electronic press, 2005:51—56, 67—70.
- [14] 杨茂全,光奎,丁方香,等.帕金森病大鼠行为学模型实用性的研究[J].山东医药,2011,51(49):21.
- [15] Parr-Brownlie LC, Poloskey SL, Bergstrom DA, et al. Parafascicular thalamic nucleus activity in a rat model of Parkinson's disease[J]. Experimental Neurology, 2009, 217(2):269.
- [16] 光奎,杨茂全,路致远,等.帕金森病模型大鼠丘脑底核及初级运动皮质放电模式的变化[J].中国组织工程研究与临床康复,2012,16(15):2757.
- [17] Hitoshi Kita. Globus pallidus external segment[J]. Progress in Brain Research, 2007, 160:135.
- [18] 王尔松,季耀东,胡锦,等.脑深部电刺激治疗帕金森病作用机制的探讨[J].中国微侵袭神经外科杂志,2012,17(3):107.
- [19] 李楠楠,袁强,彭蓉.脑深部电刺激对帕金森病认知功能的影响[J].华西医学,2011,26(1):129.

2013年北京大学第一医院举办国家级继教学习班通知 Alberta 婴儿运动量表及高危儿早期干预培训班 暨 Peabody 发育评估与干预方案培训班

内容:①Alberta 婴儿运动量表由加拿大 Alberta 大学 Martha Piper 和 Johanna Darrah 创制,是一个通过观察来评估 0~18 个月龄婴儿运动发育的工具,与以往经典的里程碑式的运动发育量表相比,它更注重对婴儿的运动质量的评估,因此可以较早期地识别运动发育不成熟或运动模式异常的婴儿,适用于高危儿早期监测,并为干预方案的制定提供有价值的参考信息;②以多系统动态发育理论、发育生物力学、任务导向性训练和运动学习理论等为指导,讲授高危儿早期干预思路和技术要点;③讲授脑瘫早期诊断相关原则及目前国际上脑瘫诊断的新观点。培训班主讲教师黄真主任医师及李明副教授。培训班将联系临床,强调实用性。授课内容不仅有助于治疗师学习规范的评定和治疗技术,更有助于提高康复医师临床思维能力和临床技能。

时间: Alberta 培训班 14—16 日(13 日报到),紧接在往年 Peabody 培训班之后,Peabody 培训班 2013 年 6 月 10—13 日(9 日报到)。

学费:两个培训班学费分别为 1000 元(含中文版量表图书和讲义)。参加两个培训班者获两个国家级继续教育学分证。食宿统一安排,费用自理。

报名:请于 6 月 1 日前寄到:北京大学第一医院康复医学科 100034 王翠收,或电子邮件联系王翠:wangcuibill@sina.com,也可电话联系:13811093176。请注明参加哪个学习班,名额各 50 人左右。

北京大学第一医院