·基础研究·

肌电图用于评价缺血预处理减轻大鼠骨骼肌缺血再灌注损伤的研究

张 朔[1] 郑菊阳[1] 胡跃林[2] 刘 平[2] 樊东升[1]

摘要

目的:探讨针极肌电图(EMG)对缺血预处理(IPC)减轻大鼠骨骼肌再灌注损伤的应用价值。

方法:将75只健康6周龄SD鼠随机分成Ⅰ组(正常值组),Ⅱ组(实验组或缺血预处理组),Ⅲ组(对照组或未经预处理组),每组25只。Ⅱ组为加压止血带捆扎大鼠后肢缺血再灌注损伤的动物模型,连续观察患侧胫前肌损伤即刻及第3、7、14、28天的针极肌电图改变、组织病理变化、后肢神经功能评分。

结果:Ⅱ组肌电图在损伤后第3天出现单个运动单位电位(MUP),第14天与Ⅰ组比较MUP时限增宽、波幅升高、多相电位增多(P<0.01),第28天所有参数与Ⅰ组比较差异无显著性(P>0.05);而Ⅲ组在第7天出现单个MUP,第28天静息状态仍显示+1处正锐波、纤颤电位。病理变化在损伤后第3、7天最明显。后肢神经功能评分:损伤后第7天Ⅱ组有3只达到4级,损伤后第14天Ⅱ组有3只达到5级,第28天全部达到5级,与Ⅲ组比较有显著性差异(P<0.01)。

结论:针极肌电图的动态观察是评价缺血预处理减轻骨骼肌再灌注损伤的客观指标之一。

关键词 肌电图;缺血预处理;缺血再灌注损伤

中图分类号:R741.0,R493 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2014)-02-0104-03

Evaluation of electromyography on ischemic preconditioning and reperfusion injury in skeletal muscle of rats/ZHANG Shuo, ZHENG Juyang, HU Yaolin, et al.//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2014, 29(2):104—106

Abstract

Objective: To study the value of needle electromyography(EMG) on ischemia preconditioning(IPC) on ischemia and reperfusion injury in skeletal muscle of rats.

Method: Seventy-five healthy six-week old SD rats were randomly divided into group Ⅰ (normal value,n=25). group Ⅱ (experiment or IPC,n=25) and group Ⅲ(control or no IPC,n=25). The model of ischemia and reperfusion injury was made by blocking the blood flow of hind limb with a pneumatic tourniquet in order to observe the changes of needle EMG(on injury instantly and the 3th, 7th, 14th, 28th day later) and histopathology of tibialis anterior muscle and the nervous function scores of hind limb.

Result: Electromyography of group Ⅱ showed single motor unit potential(MUP) on the 3rd day of ischemia and reperfusion injury.Compared with group Ⅰ,on the 14th day,the changes of duration,amplitude,multiphase wave of MUP increased(P<0.01),on the 28th day all parameter hadn't significant difference(P>0.05);and those of group Ⅲ showed single MUP on the 7th day,electromyography still showed +1 spontaneous activity.The most marked histopathology change occurred on the 3rd day of ischemia and reperfusion injury. The nervous function scores: group Ⅱ had 3 rats with grade 4 on the 7th day and had 3 rats with grade 5 on the 14th day and had all with grade 5 on the 28th day, compared with group Ⅲ indicated significant difference(P<0.01).

Conclusion: The dynamic observation with needle EMG was one of the objective and sensitive methods to

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2014.02.002

1 北京大学第三医院神经内科电生理室,北京市海淀区花园北路49号,100191; 2 北京大学第三医院运动医学研究所

作者简介:张朔,女,主治医师; 收稿日期:2013-05-07

evaluate ischemia and reperfusion injury after IPC of skeletal muscle of rats.

Author's address Department of Neurology, the Third Hospital, Peking University, Beijing, 100191

Key word electromyography;ischemia preconditioning; ischemia and reperfusion injury

通过反复短暂缺血能延缓或减轻组织后续缺血(再灌注)损伤,使该组织耐受随后较长时间缺血的现象被称为缺血预处理(ischemia preconditioning, IPC)。它是机体对于缺血再灌注损伤(ischemia and reperfusion injury)的一种内源性保护现象,是防治临床缺血再灌注损伤的一种方法。以往的试验只观察生化及病理方面的改变,本试验主要观察大鼠胫前肌不同组别(经缺血预处理组及不经缺血预处理组),不同缺血再灌注时相针极肌电图(静息状态、小力收缩、大力收缩)的动态变化。

1 材料与方法

1.1 动物模型的制作

清洁级健康SD大鼠,6周龄,雄性,体重150—220g,室温22—25℃。使用1%戊巴比妥钠(25mg/kg),经腹腔麻醉,左后腿脱毛,在大腿根部用特制气囊加压止血带捆绑,所加压力为30kPa。Ⅱ组先进行缺血预处理:10min缺血与10min再灌注,而后连续缺血3h;Ⅲ组不经缺血预处理直接连续缺血3h。

1.2 动物分组

SD大鼠75只,随机分组。Ⅰ组(正常值组),Ⅱ组(实验组或缺血预处理组),Ⅲ组(对照组或未经预处理组),每组25只;Ⅱ组、Ⅲ组再分A、B、C、D、E5个小组,每小组在再灌注即刻、第3、7、14、28天后观察患侧胫前肌肌电图的动态变化并进行后肢神经功能评分,之后处死大鼠取胫前肌肌肉观察病理改变。(插针及移动针电极位置的过程中,可导致肌肉的损伤,并出现局部炎性反应,偶尔也可能发生肌肉的病理改变,因此,肌肉活检时不在插针同一部位)。

1.3 仪器使用及方法

使用丹麦丹迪公司产Counterpoint MK2肌电图仪,低频滤波20Hz,高频滤波10kHz,观察插入电活动和自发电位时,扫描速度5ms/D,波幅0.1mV/D;观察小力收缩运动单位电位(motor unit potential, MUP)时,扫描速度5ms/D,波幅在0.1—1mV/D调节;观察大力收缩扫描速度100ms/D,波幅0.5mV/D。针电极采用同心圆针(美敦力产型号9013L51)。

用镊子刺激SD鼠足部使其收缩,同心圆针电极插入SD鼠胫前肌肌腹,从进针点4个方向移动针的位置。观察静息状态自发电位(正锐波、纤颤电位)出现的时间及数量、观察小力收缩MUP时限、波幅、多相电位(Ⅰ组MUP采集15—20个不等)和大力收缩募集型。观察自发电位,根据Kimral 1989年的标准:+1处为移动针电极后,由正波电位的短暂发放(即插入性正波);+2处为肌肉放松时(即静息状态下),在2个以上不同部位偶有自发电位;+3处为静息状态下,无论记录针的位置在何处,都有自发电活动出现;+4处为静息状态下,整个荧屏示波器充满了大量的自发电位。对正锐波、纤颤电位进行定量评价,采用半定量分析[1]。

1.4 神经功能评分标准

Ⅱ组、Ⅲ组分别在再灌注即刻、第3、7、14、28天对大鼠后肢运动功能评分。评分标准参照文献[2],0级:后肢完全瘫痪;1级:后肢有轻微运动;2级:后肢可运动,但不能跳跃;3级:后肢可跳跃,但有明显共济失调;4级:后肢可跳跃,但有轻微异常;5级:后肢步态完全正常。

1.5 统计学分析

计量资料以均数±标准差表示,采用SPSS10.0软件包进行统计学分析,$P<0.05$为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 肢体缺血再灌注损伤后不同时间段的EMG

缺血再灌注损伤后第3天,Ⅱ组小力收缩可见单个MUP(采集到4个),Ⅲ组小力收缩、大力收缩仍为电静息。缺血再灌注损伤后第7、14天,Ⅱ组小力收缩可见多个MUP(采集10—12个),较Ⅰ组时限增宽、波幅升高、多相电位百分比增多,均有显著性差异($P<0.01$),而Ⅲ组在第7天仅出现单个MUP。缺血再灌注损伤后第28天,Ⅱ组静息状态偶见正锐波、纤颤电位,小力收缩MUP时限缩短、波幅降低、多相波百分比减少,与Ⅰ组比较差异无显著性($P>0.05$),与Ⅲ组比较差异有显著性($P<0.01$);Ⅲ组静

息状态仍可见+1处正锐波、纤颤电位。见表1。

2.2 肢体缺血再灌注后胫前肌的病理变化

再灌注损伤即刻Ⅱ组光镜下炎细胞浸润较Ⅲ组稍轻，无明显细胞变性坏死。第3天，Ⅱ组炎细胞浸润明显，坏死较Ⅲ组轻，Ⅲ组肌细胞坏死十分明显。第7天，Ⅱ组较Ⅲ组出现大量的再生细胞，炎细胞浸润也较Ⅲ组轻。第14天，Ⅱ组恢复较Ⅲ组明显。第28天，Ⅱ组肌细胞形态基本恢复正常，Ⅲ组坏死区基本被再生的肌细胞代替。

2.3 后肢功能评分统计

缺血再灌注损伤后即刻及第3天Ⅱ、Ⅲ组神经功能评分无显著性差异（$P>0.05$）；损伤后第7天Ⅱ组有3只达到4级，1只达到5级，而Ⅲ组只有1只达到4级；损伤后第14天Ⅱ组有3只达到5级，第28天全部达到5级，与Ⅲ组比较有显著性差异（$P<0.01$）。见表2。

表1 缺血再灌注损伤后三组EMG各参数值 （$\bar{x}\pm s$）

组别	鼠数	天数	静息状态正锐波和/或纤颤电位	时限（ms）	小力收缩MUP波幅（mV）	多相电位（%）	大力收缩募集型
Ⅰ组	25		-	7.7±0.45	0.5±0.15	18	混合相
Ⅱ组	25	即刻	电静息	电静息	电静息		电静息
		3d	+4	7.0±0.34	0.4±0.06	0	单纯相
		7d	+3	10.1±0.45①	1.0±0.09①	41①	单纯混合相
		14d	+2	11.0±0.30①	1.25±0.10①	74①	混合相
		28d	偶见	8.0±0.10②	0.8±0.11②	20②	混合干扰相
Ⅲ组	25	即刻	电静息	电静息	电静息		电静息
		3d	+4	电静息	电静息	电静息	电静息
		7d	+3	7.3±0.31	0.7±0.10	0	单纯相
		14d	+2	10.1±0.27	0.90±0.11	36	单纯混合相
		28d	+1	12.7±0.19①	1.3±0.1①	52①	混合干扰相

①与Ⅰ组比较$P<0.01$；②与Ⅰ组比较$P>0.05$

表2 缺血再灌注损伤后Ⅱ、Ⅲ组的神经功能状况评分 （只）

评分级别	Ⅱ组					Ⅲ组				
	即刻	第3天	第7天	第14天	第28天	即刻	第3天	第7天	第14天	第28天
0级	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1级	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2级	1	0	0	0	0	2	2	1	0	0
3级	4	4	1	0	0	3	3	3	2	1
4级	0	1	3①	2	0	0	0	1	3	4
5级	0	0	1	3①	5①	0	0	0	0	0

①与Ⅲ组比较$P<0.01$

3 讨论

肌肉组织对缺血的耐受性很差，缺血预处理可以减轻缺血再灌注损伤对肢体造成的损害。自1986年Murry等[3]应用IPC对减轻心肌缺血再灌注损伤获得成功后，IPC提高组织缺血耐受性的现象颇受关注。1992年，Mounsey等[4]报道，经IPC后骨骼肌的梗死面积减小。1995年，Pang CY等[5]发现IPC可以提高骨骼肌内高能磷酸盐的含量。最近，Lorenz G[6]的研究又首次证实IPC对骨骼肌的肌力、收缩力和耐受力均有保护作用。还有研究发现生化和病理学参数不能全面地反映大鼠肢体功能方面的变化[7]。Nitz AJ等[8]提出与临床相关的止血带所致缺血再灌注损伤最敏感的检测方法是检测神经肌肉复合体的整体功能。而针极肌电图正是测定运动系统功能的一种手段。

肌电图对骨骼肌的动态研究中发现：在缺血再灌注损伤即刻Ⅱ、Ⅲ组无显著性差异，直到损伤后第3天，仅在Ⅱ组小力收缩中出现单个MUP。可能因为缺血再灌注损伤主要是氧自由基大量产生的结果，这种损伤不是发生在缺血期间，而主要发生在血运恢复、氧分子重新进入血液后，氧自由基破坏微血管内皮细胞，使其通透性增加，影响局部组织的营养，造成肢体功能障碍。此时Ⅲ组小力收缩未见单个MUP，表明Ⅱ组损伤轻，恢复早于Ⅲ组，在损伤后同期的病理变化中验证了这一点。Ⅱ组在损伤后第

（下转第112页）