

# 电刺激小脑顶核对局灶脑缺血/再灌注后大鼠脑组织NF- $\kappa$ B、PPAR $\gamma$ 、I $\kappa$ B $\alpha$ 和COX-2 mRNA表达的影响

何兰英<sup>1</sup> 张蓓<sup>1</sup> 罗勇<sup>2,3</sup> 董为伟<sup>2,3</sup> 王咏龙<sup>2,3</sup>

## 摘要

**目的:**观察电刺激小脑顶核(FNS)对大鼠局灶脑缺血/再灌注(I/R)大鼠缺血侧皮质PPAR $\gamma$ 、I $\kappa$ B $\alpha$ 和NF- $\kappa$ B P65蛋白表达的变化,以及对下游炎症因子COX-2 mRNA表达的影响,探讨FNS对大鼠局灶脑缺血/再灌注后脑保护作用的机制。

**方法:**采用SD大鼠建立局灶I/R模型,随机分为6组。正常对照组(NC组)、缺血再灌注组(I/R组)、缺血再灌注后小脑顶核刺激组(FNS组),根据再灌注时间不同分为7d和14d两个亚组。采用免疫组织化学法检测NF- $\kappa$ B P65蛋白表达,分别采用Western blotting和逆转录-聚合酶链反应法(RT-PCR)检测PPAR $\gamma$ 、I $\kappa$ B $\alpha$ 蛋白和COX-2 mRNA表达,同时检测各组脑梗死体积。

**结果:**免疫组织化学显示I/R 7d组和I/R 14d组NF- $\kappa$ B P65、PPAR $\gamma$ 和I $\kappa$ B $\alpha$ 蛋白较正常组显著增加( $P < 0.05$ ),FNS组NF- $\kappa$ B P65蛋白表达显著低于相应I/R组( $P < 0.05$ ),Western blotting检测显示FNS组PPAR $\gamma$ 、I $\kappa$ B $\alpha$ 蛋白表达明显高于相应正常组及I/R组( $P < 0.05$ ),RT-PCR显示FNS组COX-2 mRNA表达较I/R组显著降低( $P < 0.05$ ),而FNS组脑梗死体积较单纯I/R组明显减小( $P < 0.05$ )。

**结论:**FNS可有效提高脑缺血/再灌注后PPAR $\gamma$ 及I $\kappa$ B $\alpha$ 表达,抑制由NF- $\kappa$ B P65调控的下游炎症因子COX-2 mRNA的表达,减轻脑梗死体积,这可能是FNS发挥中枢神经保护的机制之一。

**关键词** 电刺激;小脑顶核;NF- $\kappa$ B;脑缺血/再灌注;PPAR $\gamma$ ;COX-2;I $\kappa$ B $\alpha$

中图分类号:R741.02, R454.1 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2014)-02-0107-06

**Effects of electrical stimulation to cerebellar fastigial nucleus on expressions of NF- $\kappa$ B, PPAR $\gamma$ , I $\kappa$ B $\alpha$  and COX-2 mRNA under cerebral ischemia/reperfusion in rats/HE Lanying, ZHANG Bei, LUO Yong, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2014, 29(2):107—112**

## Abstract

**Objective:** To investigate the effect of electrical stimulation to cerebellar fastigial nucleus(FNS) on expressions of NF- $\kappa$ B P65, PPAR $\gamma$ , I $\kappa$ B $\alpha$  and COX-2 mRNA in rats brain after cerebral ischemia/reperfusion(I/R), and explore the neuroprotection mechanism.

**Method:** A focal cerebral I/R model was established by middle cerebral artery occlusion(MCAO), and the rats were randomly divided into normal control group(NC group), cerebral ischemia reperfusion group(I/R group), I/R+FNS group(FNS group). Infarct volume was measured, the protein of NF- $\kappa$ B P65 in rats brain was detected by immunohistochemistry, and the protein of PPAR $\gamma$ , I $\kappa$ B $\alpha$  was detected by Western blotting. The expression of COX-2 mRNA was detected by RT-PCR.

**Result:** Compared with NC group, the expressions of P65, PPAR $\gamma$ , I $\kappa$ B $\alpha$  protein and COX-2 mRNA increased under the I/R ( $P < 0.05$ ), FNS could effectively inhibit the expression levels of P65 protein and COX-2 mRNA ( $P < 0.05$ ). FNS could effectively induce the expressions of PPAR $\gamma$ , I $\kappa$ B $\alpha$  protein ( $P < 0.05$ ), and reduce infarct

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2014.02.003

1 成都市第二人民医院神经内科,成都,610017; 2 重庆医科大学附属第一医院神经内科; 3 重庆市神经病学重点实验室

作者简介:何兰英,女,博士研究生,副主任医师; 收稿日期:2012-12-17

volume significantly( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** FNS could effectively induce the expressions of PPAR $\gamma$ , I $\kappa$ B $\alpha$  protein, and effectively inhibit the expressions of P65 protein and COX-2 mRNA, and reduce infarct volume, which may be one of the mechanisms of its neuroprotective function on central nervous system.

**Author's address** Department of Neurology, the Second People's Hospital of Chengdu, Chengdu, 610017

**Key word** electrical stimulation; cerebellar fastigial nucleus; focal cerebral ischemia/reperfusion; NF- $\kappa$ B; PPAR $\gamma$ ; COX-2; I $\kappa$ B $\alpha$

缺血性脑血管病是严重危害人类健康的常见病和多发病,脑缺血再灌注后的炎症反应是引起神经损害的重要机制之一,因此阻断炎症反应的某些环节可以起到神经保护作用。目前,虽然多种神经保护剂的研发,给神经保护治疗带来了希望,但令人失望的是,当这些神经保护剂用于临床试验时,结果大多无效或因不良反应而被提前终止。近年研究证明,电刺激小脑顶核(fastigial nucleus stimulation, FNS)对中枢神经具有广泛的保护作用,能抑制炎症因子的产生,抑制神经细胞凋亡,促进神经再生,促进神经结构和功能重建等作用<sup>[1-2]</sup>。本研究选取SD大鼠,制作局灶脑缺血再灌注模型,观察小脑电刺激顶核大鼠大脑缺血侧皮质NF- $\kappa$ B P65、PPAR $\gamma$ 和I $\kappa$ B $\alpha$ 蛋白表达的变化,以及对下游因子COX-2 mRNA表达的影响,进一步探讨电刺激小脑顶核神经保护作用的机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

健康成年雄性SD大鼠,体重250—300g,重庆医科大学实验动物中心提供,合格证:SCXK(渝)2007-0001。每天给予充足的食物和水,室温控制在22℃左右。所有实验操作程序严格遵照实验动物管理和保护的条款执行。

### 1.2 动物分组

大鼠随机分为6组:正常对照组(NC组)、缺血再灌注组(I/R组)、缺血再灌注后小脑顶核刺激组(FNS组),根据再灌注时间不同分为7d和14d两个亚组,每组10只大鼠。NC组不给予任何处理,I/R组夹闭右侧大脑中动脉2h后再灌注,FNS组在局灶脑缺血/再灌注后分别给予7d、14d小脑顶核电刺激,每日1次,1h/次。术中出血较多、呼吸困难、取脑时发现蛛网膜下腔出血及提前死亡者剔除,并补

足相应例数。动物苏醒后参考Longa等<sup>[3]</sup>的评分法评分,2分或2分以上者入选本实验。

### 1.3 电刺激小脑顶核

参照Nakai等<sup>[4]</sup>的方法:①将大鼠固定在立体定位仪上,根据大鼠脑立体定向图谱并结合鼠的大小,确定小脑顶核的位置,FN坐标:以前凶后缘为零点,正中中线向后11.4—11.8mm,旁开0.8—1.0mm,深5.2—5.7mm;②在大鼠颅骨上钻1个孔,将同心圆电极插入右侧小脑顶核;③刺激参数:将小脑顶核刺激仪器电流强度调整为50 $\mu$ A、频率50Hz、时程为0.5ms的直角方波脉冲,持续刺激1h;④刺激过程中动物处于浅麻醉状态。

### 1.4 免疫组织化学检测

以4%多聚甲醛灌注固定各实验组大鼠,断头取脑。冠状切取视交叉后部脑组织,常规梯度酒精脱水、二甲苯透明、石蜡包埋、切片、脱蜡、水化;以37℃的3%过氧化氢溶液浸泡30min灭活内源性过氧化物酶;0.01mmol/L PBS洗涤3次,将切面上的水吸干,滴加正常山羊血清,室温15min后吸去多余液体;滴入1:50的鼠NF- $\kappa$ B P65单克隆抗体(Santa Cruz),4℃湿盒过夜;室温放置30min后滴加生物素标记兔抗鼠IgG二抗,37℃孵育30min;0.01mmol/L PBS漂洗3次;滴入辣根酶标记链霉卵白素,37℃孵育15min;滴加DAB显色,常规脱水、透明、封片;每只大鼠取3张切片,400 $\times$ 放大倍数,每张切片随机取5个视野,Image-pro plus 5.0图像分析软件测定计算平均光密度值(optical density, OD)。

### 1.5 Western blotting实验过程

取大鼠缺血侧周围脑组织各50mg剪成碎片,冰浴中用玻璃匀浆器匀浆;4℃离心1000g 10min;弃上清液,在沉淀物中加入500 $\mu$ l蛋白裂解液;冰面上裂解30min,14000g,4℃离心10min,取上清液,分装后-20℃保存;以Bradford法进行蛋白定量。以

8%SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,半干电转移法至PVDF膜上,室温下封闭液封闭1h,分别加入1:500稀释的多克隆兔抗鼠IκBα(Santa Cruz)、单克隆兔抗鼠PPARγ(Santa Cruz)、内参β-actin(Santa Cruz)单克隆兔抗鼠的一抗抗体,4℃孵育过夜,用相应的抗鼠二抗(1:750稀释)室温孵育2h,化学发光法显色并用凝胶图像处理系统分析目标带的分子量和净光密度值,并与β-actin比值作为其表达水平的参数。

### 1.6 RT-PCR 实验过程

取各组大鼠缺血周围脑组织50mg,按上海华舜生物工程有限公司试剂盒说明进行总RNA的提取,参照大连宝生物RT-PCR试剂盒说明进行COX-2 mRNA表达水平的测定,引物设计:

β-actin 5'-GAC CCA GAT CAT GTT TGA GAC-3'上游;  
5'-GCC AGG ATA GAG CCA CCA AT-3'下游;684bp;  
COX-2 5'-GATT GACA GCCC ACCAACTT-3'上游;  
5'-CTCTCCACCGATGACCTGAT-3'下游;200bp;

将各实验组RT-PCR电泳影像进行积分光密度量化。通过凝胶扫描仪进行DNA电泳条带积分光密度值分析,与β-actin的比值作为其表达水平的参数,对各组COX-2 mRNA产物进行半定量分析。

### 1.7 梗死体积测定

每组实验大鼠在麻醉后迅速断头取脑,置于-20℃冰箱中30min,沿视交叉冠状切片,连续作7个切片(片厚约2mm),在37℃、1%的2,3,5-氧化三苯基甲氮唑溶液中水浴30min,用0.01mmol/L PBS溶液冲洗3次,以4%多聚甲醛浸泡6h后观察脑组织的颜色,正常脑组织呈均匀红色,缺血组织呈白色。采用生物学图像分析系统检测脑梗死面积,根据脑切片梗死面积及切片间距离计算梗死体积。计算公式:梗死体积=Σ[(S<sub>1</sub>+S<sub>2</sub>)/2×H](S<sub>1</sub>和S<sub>2</sub>为每一切片上下两面病灶面积,H为梗死层面厚度)。

### 1.8 统计学分析

所有实验数据均以均数±标准差表示,采用SPSS 11.0软件包进行统计学处理,组间比较采用t检验,同组不同时相点比较采用单因素方差分析。

## 2 结果

### 2.1 NF-κB P65 蛋白的免疫组织化学染色

免疫组织化学法显示,正常组脑组织仅有极少

NF-κB P65 表达,细胞核表达更少,术后I/R组NF-κB P65表达增多,阳性细胞主要在脑缺血周围皮质,与正常组比较具有显著性差异(P<0.05)。I/R后给予FNS治疗,发现NF-κB P65表达较单纯脑缺血再灌注组逐渐减少,I/R+FNS 7d组与I/R 7d组比较NF-κB P65表达减少具有显著性意义(P<0.01),I/R+FNS 14d组NF-κB P65表达进一步减少,较I/R 14d组比较具有显著性意义(P<0.05)。见图1,表1。

图1 各组大鼠组织NF-κB P65蛋白表达变化 (DAB, ×400)

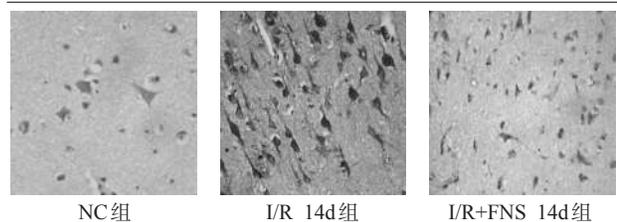


表1 各组大鼠组织NF-κB P65蛋白表达 (x̄±s)

组别	第7天	第14天
正常组	0.49±0.04	0.51±0.03
I/R组	0.98±0.07 <sup>③</sup>	0.74±0.06 <sup>③</sup>
I/R+FNS组	0.64±0.03 <sup>②</sup>	0.52±0.07 <sup>①</sup>

I/R+FNS组与I/R组比较:①P<0.05;②P<0.01;I/R组与NC组比较:③P<0.05

### 2.2 IκBα、PPARγ蛋白的半定量分析

Western Blotting结果显示,正常组可见IκBα、PPARγ蛋白少量表达。脑缺血再灌注后IκBα、PPARγ蛋白表达较正常组增加,与NC组比较具有显著性差异(P<0.05),I/R后给予FNS处理IκBα、PPARγ蛋白表达进一步增加,I/R+FNS 7d组与I/R 7d组比较具有显著性差异(P<0.05),I/R+FNS 14d组较I/R 14d组比较具有显著性差异(P<0.01)。见图2,表2—3。

### 2.3 COX-2 mRNA的半定量分析

本实验RT-PCR结果显示,正常组中环氧合

表2 各组大鼠组织IκBα蛋白表达 (x̄±s)

组别	第7天	第14天
正常组	0.30±0.03	0.33±0.04
I/R组	0.55±0.06 <sup>③</sup>	0.67±0.05 <sup>③</sup>
I/R+FNS组	0.80±0.04 <sup>①</sup>	1.12±0.06 <sup>②</sup>

I/R+FNS组与I/R组比较:①P<0.05;②P<0.01;I/R组与NC组比较:③P<0.05

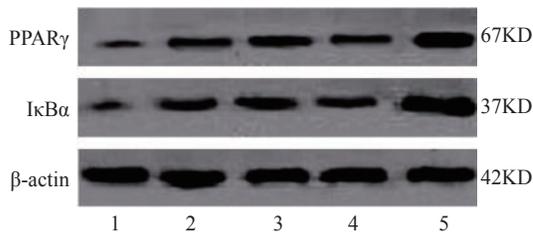
酶-2 mRNA (cyclooxygenase-2 mRNA, COX-2 mRNA) 仅有少量表达。缺血/再灌注组 COX-2 mRNA 表达量较多,与正常组比较具有显著性差异 ( $P < 0.01$ )。FNS 后其表达逐渐减少, I/R+FNS 7d 组、I/R+FNS 14d 组 COX-2 mRNA 表达较单纯 I/R 组比较具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。见图 3—4。

表 3 各组大鼠组织 PPAR $\gamma$  蛋白表达 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	第 7 天	第 14 天
正常组	0.37 $\pm$ 0.05	0.35 $\pm$ 0.06
I/R 组	0.64 $\pm$ 0.03 <sup>③</sup>	0.73 $\pm$ 0.064 <sup>③</sup>
I/R+FNS 组	0.87 $\pm$ 0.05 <sup>①</sup>	1.17 $\pm$ 0.03 <sup>②</sup>

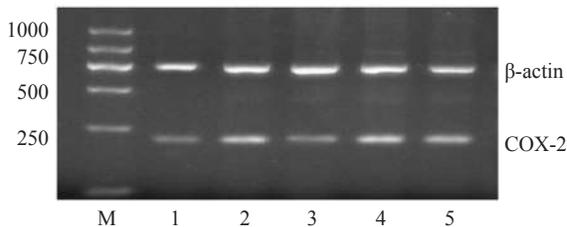
I/R+FNS 组与 I/R 组比较: ① $P < 0.05$ ; ② $P < 0.01$ ; I/R 组与 NC 组比较: ③ $P < 0.05$

图 2 各组大鼠组织 PPAR $\gamma$  和 I $\kappa$ B $\alpha$  蛋白表达变化



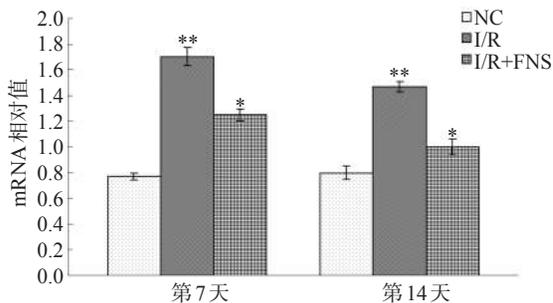
注: 1: NC 组; 2: I/R 7d 组; 3: I/R+FNS 7d 组; 4: I/R 14d 组; 5: I/R+FNS 14d 组

图 3 各组大鼠组织 COX-2 mRNA 表达



注: M: Maker; 1: NC 组; 2: I/R 7d 组; 3: I/R+FNS 7d 组; 4: I/R 14d 组; 5: I/R+FNS 14d 组

图 4 各组大鼠组织 COX-2 mRNA 表达



I/R 组与 NC 组比较: \*\* $P < 0.01$ ; I/R+FNS 组与 I/R 组比较: \* $P < 0.05$

## 2.4 梗死体积

正常对照组脑组织呈均匀红色,无白色梗死区;缺血再灌注组、I/R+FNS 7d 组、I/R+FNS 14d 组缺血侧脑组织均可见整个大脑中动脉供血区呈白色梗死灶,左侧脑组织呈均匀红色,未见白色梗死区。FNS 治疗后脑梗死体积明显减少, I/R+FNS 7d 组、I/R+FNS 14d 组与单纯缺血/再灌注组有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。见表 4。

表 4 各组大鼠不同时间点脑梗死体积 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	第 7 天	第 14 天
正常组	0	0
I/R 组	182.57 $\pm$ 15.16	179.37 $\pm$ 13.64
I/R+FNS 组	133.60 $\pm$ 16.52 <sup>①</sup>	125.23 $\pm$ 26.03 <sup>①</sup>

I/R+FNS 组与 I/R 组比较: ① $P < 0.05$

## 3 讨论

正常情况下, NF- $\kappa$ B 与抑制分子 I $\kappa$ B $\alpha$  非共价结合成三聚体复合物以无活性的形式存在胞浆内,使其无法进入细胞核发挥作用。脑缺血及再灌注后, I $\kappa$ B $\alpha$  磷酸化和泛素化,最终 I $\kappa$ B $\alpha$  降解,释放游离的 NF- $\kappa$ B 向细胞核内移位,直接调控参与脑缺血及再灌注后神经元内多种靶基因的表达(如 IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 、COX-2),介导或参与神经元之间以及神经元与组织之间的相互作用和神经元的坏死凋亡<sup>[5-8]</sup>。本研究与既往研究均证实正常脑组织有少量 NF- $\kappa$ B、I $\kappa$ B $\alpha$  蛋白及 COX-2 mRNA 的表达,脑缺血再灌注后可诱导核转录因子 NF- $\kappa$ B P65 表达增加,后者介导下游炎症因子 COX-2 mRNA 的表达。本实验发现脑缺血再灌注后予 FNS 治疗可以显著增加 I $\kappa$ B $\alpha$  表达, FNS 7d 组其表达较单纯组相比增加近 40%, 14d 组 I $\kappa$ B $\alpha$  表达较单纯组比较增加 60% 以上,同时伴随 NF- $\kappa$ B P65 表达减少, FNS 7d 组 NF- $\kappa$ B P65 表达较单纯组 I/R 7d 组减少 40%, FNS 14d 组 NF- $\kappa$ B P65 表达进一步减少 30% 以上,本实验说明 FNS 通过增加 I $\kappa$ B $\alpha$  蛋白的生成抑制 NF- $\kappa$ B P65 的表达。研究表明 COX-2 启动子中含有两个  $\kappa$ B 位点序列<sup>[9]</sup>, 本实验研究发现 FNS 在减少 NF- $\kappa$ B P65 的表达式的同时 COX-2 mRNA 的表达也相应减少, COX-2 mRNA 在 FNS 7d 组较单纯 I/R 组下降 20% 以上, 14d 组下降近 30%, 可见,在脑缺血再灌注后给予 FNS 治疗可以显著增加 I $\kappa$ B $\alpha$  表达,抑制核因子

NF- $\kappa$ B P65 生成,从而抑制下游炎症因子 COX-2 mRNA 的表达,从而减轻脑缺血再灌注后的炎症级联反应。

PPAR $\gamma$ 在机体分布广泛,介导多种生物效应;它可抑制炎症因子生成,促进脂肪细胞分化和脂肪生成,增强机体对胰岛素的敏感性,调节体内糖平衡,影响肿瘤生长,对心血管产生保护效应等<sup>[10-13]</sup>;脑缺血/再灌注后,脑组织中可出现明显的炎症反应,从而造成脑缺血后第二次损伤。PPAR $\gamma$ 作为一种核转录因子可以调控多种和脑缺血损伤相关的炎症细胞因子、黏附分子和基质分解蛋白酶类的表达;因此给予 PPAR $\gamma$ 激动剂通过促进其表达而发挥对炎症细胞激活和炎症相关因子分泌的抑制作用,对于缺血性脑血管病的治疗可能具有重要的意义。既往研究发现<sup>[14-15]</sup>通过使用 PPAR $\gamma$ 激动剂吡格列酮,可以增加脑缺血再灌注后脑组织中 CuZn-SOD 表达,减轻脑组织的梗死面积;Chen 等<sup>[16]</sup>研究也表明通过增加 PPAR $\gamma$ 表达,可以抑制 MAPKs 过度产生,从而减轻脑缺血再灌注后脑组织的损伤面积。本研究表明在正常脑组织中 PPAR $\gamma$ 仅有少量表达,I/R 后表达急剧升高,I/R 7d 组 PPAR 表达与正常组比较增加了 70%以上,随着时间延长至 14d 组,PPAR 表达与正常组相比增加一倍,本实验发现 I/R 后给予 FNS 治疗处理,可以进一步增加 PPAR $\gamma$ 的表达,FNS 7d 组 PPAR $\gamma$ 表达与单纯 I/R 7d 组比较增加了 20%以上,14d 组,PPAR $\gamma$ 表达增加单纯 I/R 14d 组比较增加了近 40%,并且 FNS 时间长短与 PPAR $\gamma$ 表达具有时间依赖性,可见,FNS 可以增加脑缺血再灌注后 PPAR $\gamma$ 的表达。PPAR $\gamma$ 与 NF- $\kappa$ B P65 亚单位相互作用,Chen F 等<sup>[15]</sup>研究表明 PPAR $\gamma$ 激活后可活化细胞外信号调节酶 ERK,后者可促进 PPAR $\gamma$ 磷酸化形成 p-PPAR $\gamma$ ,p-PPAR $\gamma$ 增加 I $\kappa$ B 的表达,从而抑制 NF- $\kappa$ B P65 生成。本实验也表明 FNS 后随着 PPAR $\gamma$ 表达的增加,I $\kappa$ B 的表达增加,同时伴随着 NF- $\kappa$ B P65 生成的减少,而由 P65 调控的下游因子 COX-2 mRNA 生成也明显减少,由此我们可以推测脑梗死后 FNS 可以通过激活 PPAR $\gamma$ 的表达,抑制 NF- $\kappa$ B P65 生成从而抑制下游炎症因子的表达;与此同时我们还发现 FNS 组脑梗死体积较单纯缺血再灌注组比较明显较少,FNS 7d 组梗死体积较单纯

组 I/R 7d 组相比减少 20%以上,FNS 14d 组梗死体积较单纯 I/R 14d 组减少 30%以上,可见,FNS 可显著减少脑梗死体积,增加神经元的存活。

目前,利用该原理研制的小脑电刺激仪采用仿生物电流,将电极置于枕后乳突进行刺激,通过对小脑顶核的刺激作用,发挥神经保护作用。研究发现 FNS 可以提高大鼠脑梗死后自主神经活性,刺激神经轴突生长,而毁损小脑顶核后不存在这种保护作用<sup>[17-18]</sup>。通过电刺激小脑顶核治疗可改善脑血管微循环,减轻炎症因子的释放,减轻神经损伤,减少缺血区神经元的坏死凋亡,减轻脑梗死体积等作用,从而起到神经保护作用,促进神经功能恢复,部分改善缺血/再灌注损害。目前,该治疗仪已广泛应用于临床,并已显出较好的治疗效果。本实验表明,FNS 可进一步增强机体内源性神经保护机制,通过增加 PPAR $\gamma$ 和 I $\kappa$ B $\alpha$ 生成,抑制 NF- $\kappa$ B P65 活化,从而抑制下游炎症因子 COX-2 mRNA 表达,减轻脑梗死体积,这可能是其神经保护机制之一。随着对电刺激小脑顶核神经保护作用机制认识的不断深化,其具有十分广阔的应用前景,同时为其他中枢神经系统疾病的治疗开辟了新前景。

## 参考文献

- [1] Li B, Guo CL, Tang J, et al. Cerebellar fastigial nuclear inputs and peripheral feeding signals converge on neurons in the dorsomedial hypothalamic nucleus[J]. *Neurosignals*, 2009, 17(2):132-143.
- [2] Zhang S, Zhang Q, Zhang JH, et al. Electro-stimulation of cerebellar fastigial nucleus (FNS) improves axonal regeneration[J]. *Front Biosci*, 2008, (13):6999-7007.
- [3] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. *Stroke*, 1989, 20(1):84-91.
- [4] Nakai M, Iadecola C, Ruggiero DA, et al. Electrical stimulation of cerebellar fastigial nucleus increases cerebral cortical blood flow without change in local metabolism: evidence for an intrinsic system in brain for primary vasodilation[J]. *Brain Res*, 1983, 260(1):35-49.
- [5] Whitehead SN, Massoni E, Cheng G, et al. Triflusal reduces cerebral ischemia induced inflammation in a combined mouse model of Alzheimer's disease and stroke[J]. *Brain Res*, 2010, (1366):246-256.
- [6] Hwang SY, Shin JH, Hwang JS, et al. Glucosamine exerts a neuroprotective effect via suppression of inflammation in rat brain ischemia/reperfusion injury[J]. *Glia*, 2010, 58(15):1881-1892.
- [7] Wang Z, Leng Y, Tsai LK, et al. Valproic acid attenuates

- blood-brain barrier disruption in a rat model of transient focal cerebral ischemia: the roles of HDAC and MMP-9 inhibition[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2011, 31(1):52—57.
- [8] Vaibhav K, Shrivastava P, Javed H, et al. Piperine suppresses cerebral ischemia-reperfusion-induced inflammation through the repression of COX-2, NOS-2, and NF- $\kappa$ B in middle cerebral artery occlusion rat model[J]. *Mol Cell Biochem*, 2012, 367(1—2):73—84.
- [9] Dai J, Wang H, Dong Y, et al. Bile acids affect the growth of human cholangiocarcinoma via NF- $\kappa$ B pathway[J]. *Cancer Invest*, 2013, 31(2):111—120.
- [10] Stumvoll M, Häring HU. Glitazones: clinical effects and molecular mechanisms[J]. *Ann Med*, 2002, 34(3):217—224.
- [11] Sun H, Xiong W, Arrick DM, et al. Low-dose alcohol consumption protects against transient focal cerebral ischemia in mice: possible role of PPAR $\gamma$ [J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e41716.
- [12] Zhu C, Zhang X, Qiao H, et al. The intrinsic PEDF is regulated by PPAR $\gamma$  in permanent focal cerebral ischemia of rat[J]. *Neurochem Res*, 2012, 37(10):2099—2107.
- [13] Kinouchi T, Kitazato KT, Shimada K, et al. Activation of signal transducer and activator of transcription-3 by a peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonist contributes to neuroprotection in the peri-infarct region after ischemia in oophorectomized rats[J]. *Stroke*, 2012, 43(2): 478—483.
- [14] Zhang HL, Xu M, Wei C, et al. Neuroprotective effects of pioglitazone in a rat model of permanent focal cerebral ischemia are associated with peroxisome proliferator-activated receptor gamma-mediated suppression of nuclear factor- $\kappa$ B signaling pathway[J]. *Neuroscience*, 2011, (176): 381—395.
- [15] Shimazu T, Inoue I, Araki N, et al. A peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist reduces infarct size in transient but not in permanent ischemia[J]. *Stroke*, 2005, 36(2):353—359.
- [16] Chen F, Wang M, O'Connor JP, et al. Phosphorylation of PPARgamma via active ERK1/2 leads to its physical association with p65 and inhibition of NF-kappabeta[J]. *J Cell Biochem*, 2003, 90(4):732—744.
- [17] Jiang F, Yin H, Qin X. Fastigial nucleus electrostimulation reduces the expression of repulsive guidance molecule, improves axonal growth following focal cerebral ischemia[J]. *Neurochem Res*, 2012, 37(9):1906—1914.
- [18] Zhang S, Zhang Q, Zhang JH, et al. Electro-stimulation of cerebellar fastigial nucleus (FNS) improves axonal regeneration [J]. *Front Biosci*, 2008, 13:6999—7007.

(上接第 106 页)

14 天、第 28 天的肌电图变化也与同期病理变化及神经功能评分基本相吻合。

小力收缩 MUP 中多相电位的出现一直被认为是肌纤维及轴突再生的结果,即“新生”MUP<sup>[1]</sup>。本文 II 组在损伤后第 7 天、第 14 天出现多相电位增多,这与同期病理结果显示出现大量的再生细胞相一致;而 III 组多相电位的增多较 II 组晚 1 周左右的时间,进一步证明 II 组组织恢复早于 III 组,亦说明 II 组损伤轻于 III 组。

形态决定功能,本文的神经功能评分是参照 Jacobs 等<sup>[2]</sup>制定的标准来进行判断的,该标准能较好地评价动物截瘫后所表现的特征。从本试验可以得知,肌电图的数据显示 II 组较 III 组损伤轻、恢复快,这和神经功能评分相一致。

综上所述,针极肌电图能够在定性上敏感地反映出骨骼肌缺血损伤及再生情况,并通过静息状态失神经电位出现的时间及数量、小力收缩在不同时期采集的 MUP 时限、波幅的各项数值以及多相电位的百分比、大力收缩不同时期不同的募集状态变化来对实验的损伤程度、再生程度,甚至可以间接对预后程度进行相应的定量评价,为缺血预处理对骨骼

肌的保护作用提供除生化、病理以外可靠的观察数据,是评价肌肉运动功能受损的客观指标之一。

#### 参考文献

- [1] 鲁祖能,曾庆杏,李承宴,等.实用肌电图学[M].北京:人民卫生出版社,2000.459—471.
- [2] Jacobs TP, Shohami E, Baze W, et al. Deteriorating stroke model: hisopathology, edema and eicosanoid changes following spinal cord ischemia in rabbits[J]. *Stroke*, 1987, 18:741.
- [3] Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a deley lethal cell injury in ischemic myocardium[J]. *Circulation*, 1986, 74:1124—1136.
- [4] Mounsey RA, Pang CY, Forrest C. Precondition: a new technique for improved muscle flap survival[J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 1992, 107:549—552.
- [5] Pang CY, Yang RZ, Zhong A, et al. Acute arterial ischemic preconditioning protects against skeletal muscle infarction in the pig[J]. *Cardiovasc Res*, 1995, 29:782—788.
- [6] Gürke L, Marx A, Sutter PM, et al. Ischemic preconditioning improves post-ischemic skeletal muscle function[J]. *Am J Surg*, 1996, 62:391—394.
- [7] Pedowitz RA. Tourniquet induced neuromuscular injury. A recent review of rabbit and clinical experiments[J]. *Acta Orthop Scand(suppl 62)*, 1991, 245:1—33.
- [8] Nitz AJ, Dobner JJ. Upper extremity tourniquet effects in carpal tunnel release[J]. *J Hand Surg Am*, 1989, 14(3):499—504.