

· 基础研究 ·

电刺激小脑顶核对抑郁症大鼠额叶单胺类递质含量的影响

吴静 邓志宽

【摘要】目的 观察电刺激小脑顶核(FN)对抑郁大鼠额叶单胺类递质含量的影响,探讨电刺激小脑顶核治疗抑郁症的途径及机制。**方法** 选择健康成年雌性 Wistar 大鼠 30 只,随机分为正常对照组、刺激对照组、模型组、模型假刺激组、齿状核(DN)刺激组(DN 组)及顶核刺激组(FN 组),每组 5 只。正常对照组不造模,除进行麻醉外,不给予任何处理;刺激对照组不造模,接受手术操作和电刺激 FN;模型组为模型动物;模型假刺激组为模型动物,电极安置部位为 FN,但不接受电刺激(仅留置针电极 1 h);DN 组为模型动物,给予电刺激 DN 1 h;FN 组为模型动物,给予电刺激 FN 1 h。建立 Wistar 大鼠抑郁症模型后,于模型大鼠左侧小脑顶核或齿状核放置电极并进行电刺激;应用荧光分光光度法分别测定大鼠两侧额叶脑组织内 5-羟色胺(5-HT)、去甲肾上腺素(NE)和多巴胺(DA)含量。**结果** 与正常对照组相比,模型组大鼠双侧额叶内 5-HT 及 NE 含量显著下降(均 $P < 0.01$),而 DA 含量无明显改变。刺激对照组动物接受 FN 刺激后,5-HT、NE 和 DA 水平均无明显改变(均 $P > 0.05$)。FN 组动物接受 FN 刺激后,左侧和右侧额叶 NE 及 5-HT 含量均有显著增高(均 $P < 0.05$),右侧增高更明显,双侧额叶 NE 及 5-HT 含量相比,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。DN 组动物接受 DN 刺激后,左侧和右侧额叶 5-HT、NE 和 DA 水平均无明显变化(均 $P > 0.05$)。**结论** 电刺激 FN 可显著增加抑郁大鼠额叶内 NE 及 5-HT 含量,提示其对抑郁症可能具有治疗作用。

【关键词】 电刺激; 小脑顶核; 抑郁症; 单胺类递质; 大鼠

Effect of electrical stimulation of cerebellar fastigial nucleus on the contents of monoaminergic transmitters in frontal lobe of rats with depression WU Jing, DENG Zhi-kuan. Department of Neurology, the Second Affiliated Hospital, the Third Military Medical University, Chongqing 400037, China

【Abstract】Objective To investigate the effect of electrical stimulation of cerebellar fastigial nucleus (FN) on the contents of monoaminergic transmitters in frontal lobes of rats with depression, and to explore the pathway and mechanism of electrical stimulation of cerebellum in treating depression. **Methods** A total of 30 Wistar rats were used to establish the animal depression model by exposure to chronic stressing circumstances. Electrical stimulation delivered to the left cerebellar FN or left dentate nucleus (DN) for 1 h was used as the intervention. The contents of serotonin (5-HT), noradrenalin (NE) and dopamine (DA) in frontal lobe were determined with fluorospectrophotometry. **Results** Compared with normal control group, the contents of 5-HT and NE in bilateral frontal lobes of depression model rats decreased significantly ($P < 0.001$). No significant change of all three monoaminergic transmitters in normal rats was observed after stimulation of FN or DN ($P > 0.05$), but significant increases of 5-HT and NE in right and left frontal lobes were observed in depression model rats after stimulation of FN ($P < 0.05$, $P < 0.001$; $P < 0.05$, $P < 0.01$), with the increase in right lobe more significant than in left lobes ($P < 0.05$). In depression model rats underwent DN stimulation, significant increase of contents of all three monoaminergic transmitters in frontal lobes was observed. **Conclusion** Electrical stimulation of cerebellar FN can increase the contents of 5-HT and NE in frontal lobes of rats with depression, and this suggest that electrical stimulation might have therapeutic effect to depression.

【Key words】 Electrical stimulation; Cerebellar fastigial nucleus; Depression; Monoaminergic transmitters; Rat

抑郁症由于其高发病率,越来越受到临床的重视。应用单胺氧化酶抑制剂及 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)再摄取抑制剂提高突触间隙

内单胺类递质的浓度,可有效控制抑郁症患者的症状^[1],提示其发生机制可能与额叶内单胺类递质 5-HT、去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)等水平下降有关^[2]。临床研究提示,电刺激作用可显著改善抑郁症患者的抑郁症状^[3],但其机制不明。本研究拟通过观察电刺激小脑顶核(fastigial nucleus, FN)对抑郁症大

鼠模型额叶皮质内单胺类递质含量的影响,并与电刺激大鼠小脑齿状核(dentate nucleus, DN)进行比较,探讨其对抑郁症的可能治疗作用和机制。

材料与方法

一、动物分组

选取健康成年雌性 Wistar 大鼠^[4],共 30 只,体重 200~250 g,由第三军医大学实验动物中心提供。适应性饲养 3 d 后,随机分为正常对照组、刺激对照组、模型组、模型假刺激组、齿状核刺激组(DN 组)及顶核刺激组(FN 组),每组 5 只。

正常对照组不造模,除进行麻醉外,不接受手术和电刺激处理;刺激对照组不造模,接受手术操作和电刺激 FN;模型组为模型动物,除进行麻醉外,不接受手术操作和电刺激;模型假刺激组为模型动物,电极安置部位为 FN,但不接受电刺激(仅留置针电极 1 h);DN 组为模型动物,给予电刺激 DN 处理;FN 组为模型动物,给予电刺激 FN 处理。

二、抑郁大鼠模型建立

根据我们以往的经验建立抑郁症大鼠模型^[5]。将大鼠分笼饲养,接受各种不同应激,包括禁水 24 h、冷水游泳(4℃,3 min)、热应激(45℃,5 min)、止血钳夹尾(1 min)、水平摇晃(3 次/s,45 min)、禁食 24 h、昼夜颠倒 24 h(8:00 至 18:00 置入暗室,18:00 至次日 8:00 光照刺激),上述刺激每日选择 1 种,共 7 d。除禁食、禁水外,所有大鼠于相应处理后均常规饲养,自由进食、饮水。以大鼠出现进食减少、活动减少、情绪低落、畏缩、懒惰、兴趣减退等表现,为造模成功的标志。

三、FN 或 DN 电刺激方法

按我们以往所用的方法电刺激小脑顶核^[6],并设电刺激齿状核作为对照。于 FN 组和 DN 组造模成功 24 h 后,用 3.5% 水合氯醛以 350 mg/kg 体重腹腔注射麻醉;将麻醉大鼠固定于大鼠脑立体定向仪,根据大鼠脑立体定位图谱定位 FN 和 DN(FN 坐标:前囟为零点,正中中线向后 11.6 mm,旁开 1.0 mm,深 6.5 mm;DN 坐标:前囟为零点,正中中线向后 11.6 mm,旁开 0.3 mm,深 3.0 mm);在左侧颅骨上钻孔,插入同心圆针电极(直径 0.1 mm),用以刺激左侧 DN 或 FN。应用小脑顶核电刺激仪(重庆大学理论电工研究所提供)进行电刺激,刺激电流为频率 70 Hz、时程 0.5 ms 的直角方波脉冲,电流强度为 80 μ A,持续刺激 1 h。

四、取材及处理

1. 取材:FN 组和 DN 组动物在电刺激处理后,迅速断头取前脑;冰浴上分离出左、右侧前额叶脑组织,在电子天平上精确称重(精确度 0.1 mg);加冷酸化正丁醇 4.0 ml,玻璃匀浆器匀浆,漩涡振荡,以 3000 r/min

离心 5 min;取上清 2.0 ml,加正庚烷 4.0 ml,0.1 mol/L HCl 5 ml,漩涡振荡,离心 5 min,其水相含 5-HT、NE 和多巴胺(dopamine, DA)。

2. NE 和 DA 的测定^[7]:取水相 0.5 ml,加 0.067 mol/L 磷酸缓冲液(pH 值 7.2)1.7 ml、碘试剂 0.1 ml,静置 2 min,加 6 mol/L 乙酸 0.5 ml,煮沸 20 min。应用英国产 LS50B 型荧光光度计测定 NE 和 DA 的荧光值(激发/发射波长分别为 475/385 nm 和 370/322 nm)。样品空白管先用碱性亚硫酸钠液煮沸 5 min,然后加入其它试剂。

3. 5-HT 的测定^[7]:取水相 0.5 ml,加 0.5% 半胱氨酸 0.1 ml、0.005% 邻苯二甲醛 3.0 ml、0.02% NaIO₄ 0.1 ml,煮沸 5 min。应用英国产 LS50B 型荧光光度计测定 5-HT 荧光值(激发/发射波长为 350/475 nm)。样品空白管先用 0.02% NaIO₄ 煮沸 5 min,然后加入其它试剂。

4. 标准品处理:取混合标准液 0 ml、0.1 ml、0.2 ml、0.3 ml、0.4 ml,分别加水 0.5 ml、0.4 ml、0.3 ml、0.2 ml、0.1 ml,再加入 0.5% 半胱氨酸 0.1 ml、0.005% 邻苯二甲醛 3.0 ml、0.02% NaIO₄ 0.1 ml,煮沸 5 min,并应用英国产 LS50B 型荧光光度计进行测定。

5. 单胺递质含量的计算:标准品荧光值减去标准空白管荧光值,对浓度回归,求出回归方程,样品管荧光值减去样品空白管荧光值后,由回归方程计算样品管浓度,再计算出每克脑组织中相应单胺类递质的含量(ng/g 脑组织)。

其余各组也于各时间点断头取脑,进行相应的操作。

五、统计学分析

结果以($\bar{x} \pm s$)表示,所得实验数据应用 SPSS 13.0 版软件包进行统计学分析,采用成对样品 Student *t* 检验,显著性标准为双侧 $\alpha = 0.05$ 。

结 果

一、电刺激 FN 后抑郁大鼠前额叶脑组织 DA 含量的变化

正常对照组双侧额叶脑组织内 DA 含量比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。与正常对照组相比,刺激对照组、模型组、模型假刺激组、DN 组及 FN 组大鼠双侧额叶脑组织内 DA 含量无明显变化,差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

二、电刺激 FN 后抑郁大鼠前额叶脑组织 NE 含量的变化

正常对照组双侧额叶脑组织内 NE 含量比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。与正常对照组相比,刺激对照组大鼠双侧额叶脑组织内 NE 含量无明显变

化,差异无统计学意义($P > 0.05$);模型组及模型假刺激组大鼠双侧额叶脑组织内 NE 含量均明显降低($P < 0.01$);模型假刺激组与模型组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$)。与模型组相比,DN 组 NE 含量差异无统计学意义($P > 0.05$);FN 组双侧额叶 NE 含量均有显著增高($P < 0.05$),右侧增高更明显($P < 0.01$),双侧 NE 含量相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

三、电刺激 FN 后抑郁大鼠前额叶脑组织 5-HT 含量的变化

正常对照组双侧额叶脑组织内 5-HT 含量比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。与正常对照组相比,刺激对照组大鼠双侧额叶脑组织内 5-HT 含量无明显变化,差异无统计学意义($P > 0.05$);模型组及模型假刺激组大鼠双侧额叶脑组织内 5-HT 含量均明显降低($P < 0.01$)。模型假刺激组与模型组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$)。与模型组相比,DN 组 5-HT 含量无明显变化,差异无统计学意义($P > 0.05$);FN 组双侧额叶 5-HT 含量均有显著增高($P < 0.05$),右侧增高更明显($P < 0.01$),双侧 NE 含量相比,差异亦有统计学意义($P < 0.01$)。见表 1。

讨 论

目前,对抑郁症的治疗主要通过给予药物来提高额叶内单胺类神经递质水平,但由于药物的副作用使患者耐受性较差^[1],因此多种非药物治疗方法也逐渐试用于临床。有报道表明,应用一定强度和频率的经颅电或磁刺激对抑郁症治疗有效^[8]。国内外大量研究显示,电刺激 FN 对大脑广泛区域可起到重要的调节作用,其作用范围广泛,包括大脑皮质、基底核等区域^[9-11];对多种病因引起的神经系统损伤均有显著的神经保护作用,如脑缺血、外伤、兴奋毒性损伤等,其保护机制复杂,涉及基因转录的改变、蛋白质的表达、递质的释放以及炎性因子的调节作用等^[11,12]。而刺激小脑其它核团(如 DN)则无此效应。临床观察也显示,电刺激小脑在神经系统保护、神经功能重塑以及改善抑郁等方面有益^[3,10,14]。但到目前为止,尚无电刺

激 FN 对抑郁症大脑皮质单胺类神经递质表达影响的报道。

本研究结果显示,抑郁症大鼠出现额叶内 NE 及 5-HT 含量显著下降,与以往报道结果相似^[2],进一步揭示这两种递质含量的降低与抑郁症的发生密切相关。在电刺激小脑 DN 后,抑郁症大鼠额叶内低水平的 NE 及 5-HT 含量无明显改变,而电刺激 FN 可显著上调抑郁症大鼠额叶内低水平的单胺类 NE 及 5-HT 含量,这提示临床所观察到的电刺激小脑改善抑郁症状与 DN 无关,而与 FN 的兴奋有关,表明 FN 电刺激可能对抑郁症具有治疗作用。但是由于本研究仅观察了小脑的两个主要核团,而小脑内仍存在其他核团及散在的神经元,且包含大量与大脑额叶皮质联系的神经网络,因此,我们不能完全排除其它核团、神经元或传导纤维的兴奋也可能对大脑皮质单胺类递质存在影响。

本研究观察到,抑郁症大鼠模型额叶内 DA 无明显改变,表明抑郁症的形成与额叶内 DA 水平改变无关;由于额叶内也存在广泛的 DA 能神经元或其投射纤维,因此提示抑郁诱发因素可能不影响 DA 能神经元的递质形成和释放。研究还显示,正常大鼠在接受电刺激小脑相应核团后,其单胺类递质含量维持在正常水平,无明显变化,表明电刺激小脑 FN 可能具有生理调节作用。

本研究采用的方法是选择性刺激单侧小脑核团,并分别观察了双侧额叶内单胺类递质含量的变化,结果显示,单侧 FN 刺激对双侧额叶单胺类递质的含量均会产生影响,但是影响的程度不同,对侧额叶单胺类递质含量的改变显著高于同侧。这表明 FN 与额叶双侧可能存在直接或间接投射,但由于 FN 与大脑皮质之间尚未发现直接的纤维投射,因此推测这可能与神经元环路联系或体液因素有关。如果单纯为体液途径,则两侧大脑半球单胺类递质含量的改变应该相似,而不会出现本研究所观察到的差异。因此我们推测,神经环路及体液途径机制可能同时存在。但是究竟是何种神经环路联系以及何种体液因子介导单胺类递质含量的改变,仍有待进一步研究。

表 1 电刺激小脑核团后抑郁大鼠前额叶单胺类递质浓度的变化(ng/g 脑组织, $\bar{x} \pm s$)

组 别	n	DA		NE		5-HT	
		左	右	左	右	左	右
正常对照组	5	872 ± 101	916 ± 181	1802 ± 273	1723 ± 192	1131 ± 118	1174 ± 185
刺激对照组	5	922 ± 127	859 ± 173	1928 ± 214	2153 ± 307	1215 ± 140	1142 ± 129
模型组	5	740 ± 184	895 ± 102	1054 ± 217 ^b	1268 ± 296 ^b	657 ± 109 ^b	732 ± 97 ^b
模型假刺激组	5	946 ± 168	723 ± 185	1145 ± 230 ^b	1069 ± 321 ^b	694 ± 112 ^b	769 ± 106 ^b
DN 组	5	875 ± 192	977 ± 112	1216 ± 201 ^b	1176 ± 272 ^b	713 ± 101 ^b	822 ± 93 ^b
FN 组	5	734 ± 145	928 ± 120	1371 ± 285 ^{bce}	1552 ± 241 ^{ad}	795 ± 97 ^{bdf}	984 ± 117 ^{ad}

注:与正常对照组相比,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与模型组相比,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$;与右侧相比,^e $P < 0.05$,^f $P < 0.01$

总之,本研究通过探讨电刺激 FN 对抑郁症大鼠额叶单胺类递质的影响,为抑郁症的治疗提供了一种新的可供选择的途径和方法。

参 考 文 献

- [1] Papakostas GI. Limitations of contemporary antidepressants; tolerability. *J Clin Psychiatry*, 2007, 68: 11-17.
- [2] Antonijevic IA. Depressive disorders——is it time to endorse different pathophysiologies? *Psychoneuroendocrinology*, 2006, 31: 1-15.
- [3] 刘竞丽,李劲频,董为伟. 电刺激小脑治疗脑卒中后抑郁的临床探讨. *中国临床康复*, 2003, 7: 1926-1927.
- [4] Kennett GA. Female rats are more vulnerable than males in an animal model of depression; the possible role of serotonin. *Brain Res*, 1986, 382: 416-421.
- [5] 邓志宽,叶建宁,徐锁全. 不同强度脑电场刺激对抑郁大鼠额叶单胺类递质含量的影响. *中国临床神经科学杂志*, 2006, 14: 406-409.
- [6] 邓志宽,董为伟. 电刺激大鼠小脑顶核对感觉皮层及基底节 PKC γ 和 PKC δ 表达的影响. *第三军医大学学报*, 2003, 25: 1418-1420.
- [7] 何美霞,可君,李志刚. 脑组织单胺类神经递质的测定. *河南医科大学*, 1996, 31: 113-114.
- [8] Barbato A, D'Avanzo B. Efficacy of couple therapy as a treatment for depression: a meta-analysis. *Psychiatr Q*, 2008, 79: 121-132.
- [9] Zhou P, Qian L, Zhou T, et al. Mitochondria are involved in the neuro-genic neuroprotection conferred by stimulation of cerebellar fastigial nucleus. *J Neurochem*, 2005, 95: 221-229.
- [10] Schmammann JD, Weilburg JB, Sherman JC. The neuropsychiatry of the cerebellum——insights from the clinic. *Cerebellum*, 2007, 6: 254-267.
- [11] 邓志宽,董为伟. 电刺激小脑顶核对持续局灶性脑缺血时钙蛋白酶活性的影响. *中国临床神经科学杂志*, 2003, 11: 250-253.
- [12] 万东,罗勇,谢鹏. 电刺激小脑顶核对缺血/再灌注大鼠脑组织内 NF- κ B 活性及其活化的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2006, 28: 34-39.
- [13] 王艺明,刘兴德,董为伟. 电刺激小脑顶核对脑源性自主神经活性的保护作用. *中华物理医学与康复杂志*, 2006, 28: 221-224.
- [14] Strubelt S, Maas U. The near-death experience: a cerebellar method to protect body and soul—lessons from the Iboga healing ceremony in Gabon. *Altern Ther Health Med*, 2008, 14: 30-34.

(修回日期: 2008-08-19)

(本文编辑: 吴倩)

· 短篇论著 ·

星状神经节阻滞联合康复训练治疗脑卒中后肩-手综合症的疗效观察

王利群 陈鸿

肩-手综合征亦称反射性交感神经营养不良综合征 (reflex sympathetic dystrophy, RSD), 是脑卒中偏瘫患者常见并发症之一, 主要表现为偏瘫侧上肢水肿, 肩、腕关节、手指疼痛, 肩关节脱位以及关节活动功能受限等, 通常发生于脑卒中后 1~3 个月内。国内脑卒中偏瘫患者肩-手综合征发病率约为 12.5%~70.0%^[1], 严重影响偏瘫侧上肢功能恢复。我科自 2003 年 3 月以来, 采用星状神经节阻滞 (stellate ganglion block, SGB) 联合康复训练治疗肩-手综合征患者 33 例, 取得满意疗效。现报道如下。

一、资料与方法

(一) 研究对象

共选取 2003 年 3 月至 2007 年 4 月间在我院住院治疗的脑卒中偏瘫并发肩-手综合征患者 66 例, 均符合 1995 年全国第 4 届脑血管病学术会议通过的脑卒中诊断标准^[2], 患者临床表现符合 I 期肩-手综合征诊断要点^[3], 采用随机数字表法将上述患者分为治疗组及对照组。治疗组有患者 33 例, 其中男 19 例, 女 14 例; 年龄 42~80 岁; 脑出血 12 例, 脑梗死 21 例; 左侧偏瘫 18 例, 右侧偏瘫 15 例。对照组有患者 33 例, 其中男 21 例, 女 12 例; 年龄 39~78 岁; 脑出血 14 例, 脑梗死 19 例; 左侧偏瘫 20 例, 右侧偏瘫 13 例。2 组患者一般情况及病情经统计学分析, 差异均无

统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。2 组患者均排除肩周炎、颈椎病、心肌梗死或丘脑病变等引发的肩-手综合征。

(二) 治疗方法

对照组患者给予常规药物治疗及康复治疗, 治疗组患者在此基础上增加 SGB 治疗。

1. 常规药物治疗: 脑出血患者给予脱水、止血及神经营养药物治疗; 脑梗死患者则给予活血化瘀、改善血液循环及神经营养药物治疗。

2. 康复治疗: ①早期良肢位摆放, 要求患者在任何体位时避免腕关节屈曲, 保证腕关节尽可能处于背伸位; 在仰卧位时, 于患者偏瘫侧肩胛骨下方、偏瘫侧上肢处垫枕使其处于前伸位和伸展位, 掌心向上; 在侧卧位时, 给予偏瘫侧上肢支撑并使其伸直, 掌心向健侧, 肩胛骨处于前伸位; 在偏瘫侧卧位时, 偏瘫侧上肢伸直、肩胛骨前伸, 掌心向健侧; 在坐位时, 患者上肢始终放在胸前桌板上; 当坐轮椅时, 应在轮椅上放一桌板, 以避免患者手悬垂。②主、被动运动, 鼓励患者练习 Bobath 握手上举动作, 每次训练 10 min, 4 次/d; 主、被动运动以 Bobath 技术为主, 在确保无疼痛情况下, 由治疗师辅助患者进行训练, 包括肩关节前屈、内收、外展、内旋、外旋, 肘关节屈曲、伸展、外展、内收, 腕关节掌屈、背伸、外展、内收、旋转以及指关节屈曲、伸展、外展、内收等运动, 活动幅度应略小于正常人关节活动范围, 偏瘫侧肩胛骨做向上、外、前三个方向活动, 并尽可能让其充分前伸, 至运动时不觉有阻力为止, 上述康复训练每次