

· 基础研究 ·

帕金森病模型大鼠脑干听觉诱发电位的研究

王铭维 顾平 赵慧新 李艳敏 郭记宏 孙丽君 孙海民

【摘要】目的 检测帕金森病(PD)大鼠成模前、后的脑干听觉诱发电位(BAEP),探讨 BAEP 作为 PD 早期诊断、病情评定的客观指标的价值。**方法** 35 只 SD 大鼠随机分为 PD 模型组和假手术组。记录 PD 大鼠制模前、成模后 1、2 周的 BAEP、相应旋转周数及假手术组大鼠的 BAEP。**结果** PD 大鼠在成模后 1 周 BAEP 出现异常,右耳 II、IV、V 波潜伏期及 III-V 波间潜伏期延长。成模后 2 周,右耳 II、IV、V 波潜伏期及 III-V、I-V 波间潜伏期延长,左耳 IV、V 波潜伏期及 III-V、I-V 波间潜伏期延长。第 2 周 PD 大鼠在阿朴吗啡(APO)诱导后的旋转圈数较第 1 周增加。**结论** PD 模型大鼠在成模早期即出现 BAEP 异常,提示 BAEP 有可能作为 PD 早期诊断及病情评定的客观指标之一。

【关键词】 帕金森病; 模型; 大鼠; 脑干听觉诱发电位; 波潜伏期; 波间潜伏期

Brainstem auditory evoked potential in Parkinson's disease WANG Ming-wei*, GU Ping, ZHAO Hui-xin, LI Yan-min, GUO Ji-hong, SUN Li-jun, SUN Hai-min. * Brain Aging and Cognitive Neuroscience Laboratory, Department of Neurology, The First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050031, China

【Abstract】Objective To evaluate the changes in and the regularity of brainstem evoked potentials (BAEPs) in Parkinson's disease (PD) as an objective criterion for early diagnosis and assessment. **Methods** Thirty-five healthy SD rats were divided into two groups at random. Twenty-two rats were in the experimental group and 13 in the control group. The rats were injected with 8 μ g of 6-OHDA solution in the right substantia nigra pars compacta (SNc) and the right ventral tegmentum area (VTA) to create a PD model. The BAEPs of the rats in the experimental group were recorded in a quiet shielded room before the 6-OHDA injection, and one week and two weeks after injection. The control group rats were injected with saline (Ns) and their BAEPs were recorded at the corresponding times. One week and two weeks later, the model rats were injected with apomorphine (APO) and their rotating cycles were counted. **Results** The II, IV, and V PLs and the III-V IPLs on the right ears of the experimental group were prolonged significantly compared with the control group one week after APO injection. There was no significant difference in the BAEPs of the left ears after the first week. After two weeks, the II, IV, and V PLs and the III-V, and I-V IPLs of the right ears in the experimental group were prolonged significantly compared with the controls and the IV, and V PLs and the III-V, and I-V IPLs on their left ears were prolonged significantly. **Conclusion** In the early course of a PD model in rats, their BAEPs show abnormal changes, which indicates that BAEP could be an objective criterion for early diagnosis and assessment of PD. BAEP may serve as one index of damage in PD. The III-V PL and I-V IPL are sensitive indices of PD.

【Key words】 Parkinson's disease; Brainstem auditory evoked potential; Peak latency; Interpeak latency

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种常见的中老年人神经系统变性疾病,65 岁以上人群中患病率为 2.06%^[1],并随年龄增长而增高。其病理特征主要为中脑黑质多巴胺能神经元变性、坏死,胶质细胞增生及路易体形成,生化基础为纹状体内多巴胺含量显著减少。以往人们普遍认为帕金森病仅存在锥体外系的损害,近年来随着人们对 PD 电生理方面的不断研究,发现

还存在其他神经传导通路的损害^[2,3],如 PD 患者的脑干听觉诱发电位(brainstem auditory evoked potential, BAEP)、视觉诱发电位、体感诱发电位、运动诱发电位、事件相关电位等均有异常发现。有关帕金森病 BAEP 异常率的报道差异较大,自 20% 至 65.5%^[4,5]不等,BAEP 异常表现的报道亦不一致。如 Chiappa 等^[6]报道 PD 患者未见异常,而 Chia 等^[7]报道 IV、V 波潜伏期均延长,并发现脑脊液中单胺代谢产物水平较低;Al-Bunyan^[8]发现 PD 患者 I、V 波潜伏期延长。各种研究结果差异很大的原因,可能是因为 PD 患者病情复杂,混杂因素多,造成了各学者所选择的病例差异较大,故 PD 的 BAEP 有待在条件统一的情况下进行进一步研究。鉴于动物

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2009.01.002

作者单位:050031 石家庄,河北医科大学第一医院神经内科(王铭维、顾平、赵慧新、李艳敏、郭记宏、孙丽君、孙海民),河北省脑老化与认知神经科学实验室(王铭维、顾平、李艳敏)

实验的可控性以及目前有关 PD 大鼠听觉传导通路的实验研究与相关报道甚少,我们进行了 PD 模型大鼠 BAEP 的研究,现报道如下。

材料与方法

一、实验动物及分组

健康雄性 SD 大鼠 35 只,由河北医科大学实验动物中心提供,体重 270 ~ 300 g,行为测试无异常;均置于鼠笼内,予充足的水和饲料。大鼠均无强噪声接触史及耳毒性药物使用史。实验大鼠随机分为 PD 模型组 22 只,假手术组 13 只。

二、实验方法

1. PD 模型组及假手术组大鼠模型的制备:以 10% 水合氯醛(0.5 ml/100 g 体重)腹腔注射麻醉后,将大鼠固定于立体定位仪上,参照包新民等^[9]的《大鼠脑立体定位图谱》,选取右侧黑质致密部(substantial nigra pars compacta, SNc)与右侧中脑腹侧被盖部(ventral tegmentum area, VTA)为注射部位。每点注射 4 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 的含 0.2% 维生素 C 的 6-羟多巴溶液(6-hydroxydopamine, 6-OHDA) 2 μl ,以 1 $\mu\text{l}/\text{min}$ 的速度注射,留针 10 min 后,缓慢退针(1 mm/min),缝合伤口,青霉素 5 万单位/d 腹腔注射一周预防感染。假手术组大鼠的处理方法与 PD 模型组一致,不同的是向 SNc 与 VTA 注射的溶液为含 0.2% 维生素 C 的生理盐水。

2. 帕金森病大鼠行为学测试:大鼠腹腔内注射阿朴吗啡(apomorphine, APO) 0.5 mg/kg 体重,观察其行为学变化,若大鼠出现恒定向左旋转,且旋转频率 ≥ 210 圈/30 min (≥ 7 圈/min),则为成功的 PD 大鼠模型,若大鼠不旋转或旋转速度较慢(< 7 圈/min),则视为不成功的 PD 模型。

3. 大鼠 BAEP 的记录:BAEP 检测在安静的电磁屏蔽室内(室温 20 ~ 24℃)进行。用 10% 水合氯醛(0.5 ml/100 g 体重)腹腔注射麻醉大鼠,将记录电极置于大鼠颅顶正中,地极置于大鼠的尾根,参考电极置于大鼠两耳后。使用 Medelec 多媒体肌电/诱发电位仪进行测试,用交替短声刺激外耳道 1 cm 单耳刺激,对侧耳予白噪声掩蔽。测试参数:刺激强度为 90 dB,刺激频率为 10.1 次/s,滤波短声频率为 100 ~ 4000 Hz,扫描时间 10 ms,叠加次数 512 次。观察 PD 模型组和假手术组大鼠 BAEP 的变化。

三、实验程序

PD 模型组大鼠于制模后 1, 2 周均进行 APO 药物诱导实验,筛选出符合成模标准的大鼠并记录旋转圈数。制模前、成模后 1, 2 周共进行 3 次 BAEP 的检测。假手术组检测 BAEP 及 APO 药物诱导的时间点与 PD 模型组相同。

四、统计学分析

采用 SPSS 11.5 版统计软件包对 2 组大鼠的 BAEP 进行统计学处理,计量资料采用 t 检验。

结 果

一、PD 模型组大鼠成模率及旋转行为检测

PD 模型组大鼠腹腔注射 APO 后 2 ~ 10 min 内出现旋转行为,成功的 PD 大鼠出现恒定向左旋转,并伴有嗅探、觅食或洗脸样动作。PD 模型组 22 只大鼠中有 14 只行为学证实为成功的 PD 模型,成模率为 63.6%。假手术组大鼠腹腔注射 APO 诱导后,无一只出现旋转行为。在实验过程中,14 只成功的 PD 大鼠中 2 只死亡,假手术组 13 只大鼠中 1 只死亡,2 组死亡率比较差异无统计学意义。PD 大鼠成模后 1 周旋转圈数为 (240.75 ± 15.53) 圈/30 min,成模后 2 周旋转圈数为 (246.50 ± 14.14) 圈/30 min,两个时间点比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

二、制模前 2 组大鼠的 BAEP

制模前 2 组大鼠左、右耳 BAEP 差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

三、PD 模型组大鼠 BAEP 的变化

1. PD 大鼠右耳 BAEP 的变化:成模后 1 周 PD 大鼠右耳与假手术组比较,II、IV、V 波潜伏期及 III-V 波间潜伏期延长($P < 0.05$);成模后 2 周右耳 II、IV、V 波潜伏期及 III-V、I-V 波间潜伏期延长。PD 大鼠右耳成模前后 3 个时间点比较,II、IV、V 波潜伏期及 III-V、I-V 波间潜伏期延长($P < 0.05$),见表 1。

2. PD 大鼠左耳 BAEP 的变化:成模后 1 周 PD 大鼠左耳与假手术组比较差异无统计学意义($P > 0.05$);成模后 2 周左耳 IV、V 波潜伏期及 III-V、I-V 波间潜伏期延长。PD 大鼠左耳制模前、后 BAEP 差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

四、假手术组大鼠 BAEP 的变化

假手术组大鼠注入生理盐水前、后左、右耳 3 个时间点的各波潜伏期及波间潜伏期差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

讨 论

6-OHDA 为选择性多巴胺能神经元致毒剂,其化学结构与多巴胺相似,可被位于神经元末梢的多巴胺转运体(dopamine transporter, DAT)重摄取,选择性造成中枢神经系统儿茶酚胺能神经元的化学性损毁^[10]。已经证实 6-OHDA 对儿茶酚胺能系统的毒性作用是特异的,对其他神经系统不会产生损害。6-OHDA 是目前建立偏侧 PD 动物模型常用的神经毒剂^[11,12]。单侧损毁制备的旋转模型在病理、生化方面的表现与人类

表 1 制模前及成模后 1 周、2 周 2 组大鼠 BAEP 的变化(ms, $\bar{x} \pm s$)

组 别	只数	波潜伏期					波间潜伏期		
		I	II	III	IV	V	I - III	III - V	I - V
PD 模型组	12								
制模前右耳		1.46 ±0.11	2.31 ±0.15 ^a	3.01 ±0.15	4.10 ±0.17 ^a	4.90 ±0.17 ^a	1.51 ±0.12	1.89 ±0.19 ^a	3.44 ±0.11 ^a
制模前左耳		1.58 ±0.29	2.42 ±0.24	3.09 ±0.38	4.32 ±0.52	5.14 ±0.47	1.51 ±0.18	2.05 ±0.30	3.52 ±0.24
成模后 1 周右耳		1.49 ±0.10	2.47 ±0.12 ^b	3.03 ±0.21	4.39 ±0.32 ^b	5.31 ±0.53 ^b	1.54 ±0.23	2.28 ±0.39 ^b	3.82 ±0.54
成模后 1 周左耳		1.51 ±0.19	2.37 ±0.15	3.07 ±0.15	4.36 ±0.36	5.32 ±0.49	1.56 ±0.12	2.25 ±0.40	3.81 ±0.42
成模后 2 周右耳		1.48 ±0.09	2.49 ±0.27 ^c	3.06 ±0.30	4.42 ±0.38 ^c	5.27 ±0.31 ^c	1.57 ±0.34	2.21 ±0.12 ^c	3.79 ±0.36 ^c
成模后 2 周左耳		1.54 ±0.13	2.49 ±0.24	3.09 ±0.28	4.36 ±0.35 ^c	5.30 ±0.29 ^c	1.55 ±0.28	2.21 ±0.27 ^c	3.75 ±0.35 ^c
假手术组	12								
制模前右耳		1.41 ±0.10	2.24 ±0.11	3.00 ±0.12	4.18 ±0.21	5.04 ±0.19	1.59 ±0.11	1.97 ±0.18	3.45 ±0.39
制模前左耳		1.47 ±0.07	2.31 ±0.08	3.07 ±0.11	4.25 ±0.17	5.12 ±0.20	1.60 ±0.15	2.05 ±0.19	3.53 ±0.42
成模后 1 周右耳		1.41 ±0.12	2.25 ±0.12	2.96 ±0.15	4.12 ±0.17	4.95 ±0.14	1.56 ±0.18	1.99 ±0.12	3.59 ±0.19
成模后 1 周左耳		1.47 ±0.10	2.33 ±0.13	2.99 ±0.15	4.16 ±0.26	5.03 ±0.16	1.52 ±0.14	2.04 ±0.13	3.56 ±0.12
成模后 2 周右耳		1.54 ±0.13	2.49 ±0.24	3.09 ±0.28	4.36 ±0.35	5.30 ±0.29	1.55 ±0.28	2.21 ±0.27	3.75 ±0.35
成模后 2 周左耳		1.45 ±0.11	2.34 ±0.14	2.94 ±0.13	4.11 ±0.15	4.94 ±0.24	1.50 ±0.10	2.00 ±0.14	3.50 ±0.15

注:PD 模型组大鼠右耳 3 个时间点比较,^a $P < 0.05$;与假手术组大鼠同期右耳比较,^b $P < 0.05$;与假手术组大鼠同期左、右耳比较,^c $P < 0.05$

PD 有不少相似之处,如黑质多巴胺能神经元变性、死亡、小胶质细胞与星形胶质细胞不同程度的增生^[13]。由于 APO 诱导大鼠旋转圈数与黑质多巴胺能神经元受损的程度呈正相关,故旋转圈数可以作为黑质多巴胺能神经元受损程度的指标^[14]。据报道,成功的 PD 模型大鼠第 1 周纹状体多巴胺含量已减少 80% ~ 90%^[15],引起胆碱能神经递质占优势,导致锥体外系运动功能障碍。本实验成模率为 63.6%,成功制备 6-OHDA 大鼠偏侧模型。成模后 2 周 PD 大鼠旋转圈数较第 1 周增多且差异具有统计学意义,说明随着时间的推移,黑质多巴胺能神经元受损程度加重。

本实验结果显示,正常大鼠的 BAEP 与人类相似,在大鼠颅顶均可记录到 I、II、III、IV、V 波,且检出率均为 100%。但与人类不同的是 5 个波中波幅最明显的是 II 波而不是 V 波。大鼠听觉传导通路涉及脑干听觉系统五级神经元所在的听性脑干核团^[16],包括耳蜗核、上橄榄核核、外侧丘系、下丘和内侧膝状体。而 BAEP 发生源与以脑干对侧为主的言语听觉通路不尽相同,即 BAEP 的脑干传递通路与听觉的脑干传递通路并不完全一致,是由不涉及听觉的那一部分脑干听觉通路所产生^[7]。本实验显示,成模后 1 周 PD 大鼠右耳 BAEP 即出现异常,左耳未出现异常,成模后 2 周双耳 BAEP 均出现异常,提示毁损侧的听觉传导通路首先受到影响或是比对侧受到更大的影响,且主要影响脑干听觉传导通路,并随着黑质多巴胺能神经元的受损程度加重,即随着 PD 病情的加重,BAEP 异常指标越多。这可能是由于多巴胺能神经元的进行性减少,导致脑内神经递质的失衡进一步加重,致使脑干听觉传导通路受到的影响加重,最后反映到 BAEP 中起源于脑干的各波潜伏期及波间潜伏期的延长上。PD 大鼠在制模后 2 周不仅右耳的 BAEP 异常,而且左耳也出现异常,并且左、右侧

的异常均主要表现在反映脑干功能的波潜伏期和波间潜伏期上。提示 PD 听觉系统的损害部位主要为脑干内的听觉传导通路,且在大鼠成模的早期与病变侧有一定的关系。以上结果提示,毁损侧的听觉传导通路受到的影响较对侧大,并主要影响脑干听觉传导通路。提示就 PD 模型自身前、后比较而言,III-V 及 I-V 波间潜伏期是两个敏感的客观指标。

PD 的 BAEP 异常的机制尚不明确。本实验毁损大鼠的 SNc 与 VTA 多巴胺能神经元,故受损的部位局限于 SNc 及 VTA。SNc 及 VTA 与听觉传导通路之间并不存在直接的纤维联系;从大体解剖上看,制备 PD 大鼠模型时,微量进样器通过的结构有红核前区、丘脑后核、顶盖前区橄榄核等,而这些结构与大鼠的听觉系统无直接的联系亦对其无直接的影响,且微量进样器亦通过假手术组大鼠的上述结构。而神经毒性物质 6-OHDA 可破坏多巴胺能神经元抗氧化系统,损伤线粒体功能,破坏膜稳定性和 DNA 完整性,使细胞死亡^[17]。其引起的活化小胶质细胞分泌肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-1 β 及干扰素- γ 等细胞因子,星形胶质细胞分泌碱性成纤维因子、脑源性生长因子及胶质细胞源性生长因子等多种营养因子,故 6-OHDA 引起的胶质细胞的活化也参与了多巴胺能神经元的退变及神经元的保护修复^[18]。故本实验中受直接影响的神经元仅为多巴胺能神经元,考虑 PD 大鼠出现 BAEP 的异常即听觉系统受损与制模过程中的手术可能毁损的结构及 6-OHDA 的毒性无直接关系。本研究中 BAEP 是如何受上述因素影响导致异常的机制不明,推测 PD 的 BAEP 的变化可能由以下两种机制引起:①PD 多巴胺能神经元的减少及脑内多巴胺水平的下降,导致了神经递质的失衡,对听觉系统造成了影响;②由于目前 PD 的发病机制不明,可能引起震颤、肌强直、运动迟缓

及姿势反射障碍等症状的致病因素,同时对听觉系统同样存在影响。

综上所述,PD 模型大鼠在成模早期即出现 BAEP 的异常,随着病情的加重,听觉传导系统受损越严重,且主要是反映脑干内听觉传导通路功能状态的波潜伏期及波间潜伏期延长,提示 BAEP 有可能作为 PD 早期诊断及病情评定的客观指标之一,其中 III-V 及 I-V 波间潜伏期是 PD 自身前、后比较的两个敏感的客观指标。本研究采用了经典的 6-OHDA 单侧毁损的 PD 模型,虽然此模型为急性模型,当大鼠制模后第 1 周时已相当于 PD 的中晚期,但与制模后第 2 周时比较,相对来说病程短、病情轻,故本实验结果提示在本模型 PD 大鼠中 BAEP 有可能在其疾病早期即被涉及,且随着病情的加重,听觉传导通路受损加重。由于目前尚无符合 PD 自然发病病程的成熟动物模型,当动物模型更加成熟时,采用更符合 PD 自然病程的模型进行研究,可使结论更加接近人类的情况,为临床提供更有价值的依据。

参 考 文 献

- [1] 陈生弟,主编. 帕金森病. 北京:人民卫生出版社,2006:26.
- [2] Price MJ, Feldman RG, Adelberg D, et al. Abnormalities in color vision and contrast sensitivity in Parkinson's disease. *Neurology*, 1992, 42:887-890.
- [3] Peppe A, Stanzione P, Pierelli F, et al. Visual alterations in de novo Parkinson's disease: Pattern electroretinogram latencies are more delayed and more reversible by levodopa than are visual evoked potentials. *Neurology*, 1995, 45:1144-1148.
- [4] Muthane UB, Satishchandra P, Subhash MN. Visual and auditory evoked potentials in early onset Parkinson's disease and their relationship to cerebrospinal fluid monoamine metabolites. *Mov Disord*, 1993, 8:344-348.
- [5] 周月玲,谢惠芳,刘振华,等. 帕金森病患者的脑干听觉及视觉诱发电位的研究. *河南诊断与治疗杂志*, 2000, 14:193-194.
- [6] Chiappa KH, Ropper AH. Evoked potentials in clinical medicine. *N Engl J Med*, 1982, 306:1205-1211.
- [7] Chia LG, Cheng LJ, Chuo LJ, et al. Studies of dementia, depression, electrophysiology and cerebrospinal fluid monoamine metabolites in patients with Parkinson's disease. *J Neurol Sci*, 1995, 133:73-78.
- [8] Al-Bunyan MA. Parkinson disease: clinical and electrophysiological evaluation. *Saudi Med J*, 2000, 21: 72-75.
- [9] 包新民,舒斯云. 大鼠脑立体定位图谱. 北京:人民卫生出版社, 1991:49-51.
- [10] Van Kampen JM, McGeer EG, Stoessl AJ. Dopamine transporter function assessed by antisense knock down in the rat: protection from dopamine neurotoxicity. *Synapse*, 2000, 37: 171-178.
- [11] Przedborski S, Levivier M, Jiang H, et al. Dose-dependent lesions of the dopaminergic nigrostriatal pathway induced by intrastriatal injection of 6-Hydroxydopamine. *Neuroscience*, 1995, 67:631-647.
- [12] Schwarting RK, Huston JP. Unilateral 6-hydroxydopamine lesions of meso-striatal dopamine neurons and their physiological sequelae. *Prog Neurobiol*, 1996, 49:215-266.
- [13] He Y, Lee T, Lee T, Leong SK. 6-Hydroxydopamine induced apoptosis of dopaminergic cells in the rat substantia nigra. *Brain Res*, 2000, 858:163-166.
- [14] Henry B, Crossman AR, Brochie JM. Characterization of enhanced behavioral responses to L-DOPA following repeated administration in the 6-hydroxydopamine-lesioned rat model of Parkinson's disease. *Exp Neurol*, 1998, 151:334-342.
- [15] 周厚广,陆建明,鲍远程,等. 6-羟基多巴胺帕金森病大鼠模型的建立与评价. *中国行为医学科学杂志*, 2002, 11:4-7.
- [16] 王平宇,主编. 大白鼠神经系统解剖学基础. 北京:人民卫生出版社, 1986:31-36.
- [17] Dabbeni-Sala F, Di Santo S, Franceschini D, et al. Melatonin protects against 6-OHDA induced neurotoxicity in rats: a role for mitochondrial complex I activity. *FASEB J*, 2001, 15:164-170.
- [18] Kurkowska-Jastrzebska I, Wronska A, Kohutnicka M, et al. The inflammatory reaction following 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine intoxication in mouse. *Exp Neurol*, 1999, 156: 50-61.

(修回日期:2008-04-14)

(本文编辑:松 明)

· 短篇论著 ·

神经功能电刺激治疗脑卒中后吞咽功能障碍的疗效观察

姚云海 顾旭东 李岩 金敏敏 杨美霞 时美芳

由于神经功能的缺损,很多脑卒中患者都存在吞咽功能的障碍。据报道,急性脑卒中患者中 30% ~ 50% 有吞咽功能障碍^[1],严重影响患者的进食和生活质量,并易引起吸入性肺炎、窒息、慢性营养不良等并发症。我们采用神经肌肉电刺激治疗脑卒中后吞咽障碍,取得较好疗效,现报道如下。

一、资料与方法

(一)一般资料

选取 2005 年 10 月至 2007 年 10 月在本中心住院治疗的脑卒中患者 50 例,诊断均符合全国第四届脑血管疾病会议通过的诊断标准^[2],并经 CT 或 MRI 检查证实;同时首次评定发现有吞咽障碍,经饮水试验和视频荧光造影法 (videofluorography, VFG) 检查^[1]明确者入选。随机分为治疗组和对照组,每组 25 例。治疗组中,男 16 例、女 9 例;年龄 50 ~ 81 岁,平均