.基础研究.

电刺激大鼠耳廓对心脏迷走神经的调节作用 及其神经机制

陆海源^{1,2} 苏迪³ 张洁² 金晓媛² 侯月梅^{1,2} ¹南方医科大学第三临床医学院,广州 510515;²南方医科大学附属奉贤区中心医院老年科, 上海 201499;³上海交通大学化学化工学院,上海 200240 通信作者:侯月梅,Email: houvuemei@sina.com

【摘要】 目的 比较电刺激大鼠耳廓不同部位对心脏迷走神经的调节作用,并探讨电刺激耳廓引起心 脏效应的初级神经机制。方法 对 24 只 SD 雄性大鼠的耳屏、耳甲、耳轮分别以不同强度(0~16 mA)和不同 时间(0~15 min)进行电刺激,观察大鼠心电图中心率变化。完成电刺激后1周,将24只大鼠按随机数字表 法分为耳屏注射组(n=6)、耳甲注射组(n=6)、耳轮注射组(n=6)和对照组(n=6),前3个实验组均在大鼠 右侧耳廓相应部位注射 2 μL 的 Alexa Fluor 555 共轭结合的霍乱毒素 B 亚单位(CTB-AF555),对照组在右侧 耳屏处注射2μL无菌磷酸盐缓冲液(PBS)。术后5d,处死大鼠取右侧迷走神经上下神经节及整个延髓,观 察 CTB-AF555 标记情况。结果 大鼠心率可随刺激耳屏或耳甲的强度和时间增加而下降,但不随刺激耳轮的 强度和时间增加而变化。一定刺激时间下,与相同电流强度刺激耳轮比较,以12、14和16mA刺激耳屏和 10、12、14 和 16 mA 刺激耳甲时心率明显减慢(P<0.05);与相同电流强度刺激耳屏比较,以 12 mA 刺激耳甲时 心率明显减慢(P<0.05)。一定刺激强度下,与刺激耳轮同时间点比较,在刺激耳屏 6~15 min 和刺激耳甲 4~ 15 min 时心率明显减慢(P<0.05);与刺激耳屏同时间点比较,刺激耳甲 6~10 min 时心率明显减慢(P<0.05)。 耳屏注射组和耳甲注射组的所有大鼠均可在迷走神经上下神经节观察到 CTB-AF555 示踪剂;耳屏注射组 6 只大鼠中3只(3/6)可在孤束核(NTS)观察到示踪剂;耳甲注射组6只大鼠中4只(4/6)可在NTS观察到示 踪剂;耳轮注射组6只大鼠中5只(5/6)在脊束核观察到示踪剂,但未在NTS及上下神经节找到神经示踪剂。 结论 电刺激耳甲和耳屏均可调节心脏迷走神经功能,但刺激耳轮没有此调节功能,其机制与刺激耳屏或耳 甲的神经信号及心脏感觉神经信号在迷走神经下神经节整合后再进入延髓中枢分析处理有关。

【关键词】 电刺激; 耳廓; 迷走神经; 心率 基金项目:国家自然科学基金(81670308) DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2019.06.001

The regulating effect of auricle electrical stimulation on the cardiac vagus nerve in rats

Lu Haiyuan^{1,2}, Su Di³, Zhang Jie², Jin Xiaoyuan², Hou Yuemei^{1,2}

¹The Third Clinical Medical College, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; ²Department of Geratology, The Affiliated Fengxian Central Hospital of Southern Medical University, Shanghai 201499, China; ³School of Chemistry & Chemical Engineering, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 201499, China Corresponding author: Hou Yuemei, Email: houyuemei@sina.com

[Abstract] Objective To compare the regulating effect of electrically stimulating different parts of the auricle on the cardiac vagus nerve in rats, and to explore the basic neural mechanism. **Methods** The tragus, concha auriculae and helix of 24 male Sprague-Dawley rats were stimulated at different intensities (0-16 mA) and with different durations (0-15 min) and any changes in the heart rate were observed. One week later, the rats were randomized into a tragus injection group, a concha auriculae injection group, a helix injection group and a control group, each of 6. The rats of the first three groups were injected with 2 μ L of cholera toxin subunit B conjugate AF555 (CTB-AF555) at the right auricle, while the control group was injected with the same amount of aseptic phosphate-buffered saline at the right tragus. Five days later, all of the rats were sacrificed and their right superior and inferior ganglia and the whole bulbus medullae were resected to observe the fluorescent labeling sites. **Results** The rats' heart rate declined with longer and more intense stimulation of the tragus or concha auriculae, but not with stimulation of the helix. With stimulation of the same duration, a significant decrease was observed in the helix was stimulated at the same intensities. The heart rate when the concha auriculae was stimulated at 12 mA was significantly slower than when the

tragus was stimulated at the same intensity. At identical stimulus intensities, the heart rate slowed significantly more when the tragus was stimulated for 6 to 15 minutes and the concha auriculae for 4 to 15 minutes compared with stimulating the helix for the same length of time. And compared with stimulating the tragus for 6 to 10 minutes, the heart rate decreased significantly more when the concha auriculae was stimulated for the same length of time. All of the rats in the tragus and concha auriculae injection groups displayed nerve tracer in their superior and inferior ganglia. In the tragus injection group, CTB-AF555 was observed in the nucleus tractus solitarius (NTS) of 3 of the 6 rats. In the concha auriculae injection group it was observed in 4 of the 6. In the helix injection group, CTB-AF555 was observed in 4 of the 6. In the helix injection group, CTB-AF555 was observed in a nucleus tracer was found in their superior or inferior ganglia or in the NTS. **Conclusion** Electrical stimulation of the tragus and concha auriculae can regulate the functioning of the cardiac vagus nerve, but stimulating the helix cannot. This is partly because the nerve signals in tragus or concha auriculae stimulation and the cardiac sensory nerve signal are integrated in the inferior ganglion and then analyzed and processed in the bulbar center to monitor the heart.

[Key words] Electrical stimulation; Auricle; Vagus nerve; Heart rate Fund program: National Natural Science Foundation of China (grant 81670308) DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2019.06.001

心脏自主神经在心血管疾病的发生发展中起着重 要的作用,研究已证实,交感神经系统过度激活以及迷 走神经活动明显减弱都会损害心血管功能,增加心力 衰竭、心律失常、缺血再灌注损伤等心血管疾病的发生 率和病死率[1-3]。刺激迷走神经既可以拮抗交感神经 效应,也具有抗炎、增加一氧化碳含量、调节细胞氧化 应激反应和增强线粒体功能的作用[4]。2015年 Stavrakis 等^[5]研究报道,对房颤患者的耳屏使用低强 度经皮迷走神经电刺激(transcutaneous vagus nerve stimulation, T-VNS),发现 T-VNS 能有效抑制房颤的发 生发展。因此,推测 T-VNS 有望成为治疗相关心律失 常疾病的方便经济且易于在基层推广应用的新技 术[6-7],但其有效的耳廓刺激部位以及神经机制尚不清 楚。本研究对大鼠耳廓的3个主要部位(耳屏、耳甲 和耳轮)进行不同电流强度和时间的电刺激,观察其 心率变化:采用逆行神经示踪荧光成像的方法,在迷走 神经神经节和延髓核团观察荧光表达情况, 拟为 T-VNS 确定有效的耳廓刺激位点,旨在探讨电刺激耳廓 不同部位对心脏迷走神经的调节效果及其机制。

材料与方法

一、实验动物

无特定病原体(specific pathogen free,SPF)级健康 成年雄性 Sprague-Dawlye(SD) 大鼠 24 只,体重 220~ 250 g,由上海杰思捷实验动物有限公司提供。分笼饲 养于安静室温环境,自由进食饮水,在新环境中熟悉 1 周后进行实验。

二、主要试剂及仪器

1.主要试剂:水合氯醛、多聚甲醛(paraformaldehyde, PFA)和无菌磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS)购自上海生工生物工程股份有限公司。 异氟烷购自河北一品制药股份有限公司。Alexa Fluor 555 共轭结合的霍乱毒素 B 亚单位(cholera toxin subunit B-Alexa Fluor 555, CTB-AF555) 购 自 美国 Invitrogen公司。阳离子防脱载玻片购自北京鼎国昌盛 生物技术有限公司。

2.主要仪器:LEAD-2000 电生理仪(四川锦江电子 科技)、KD-2B 经皮神经刺激仪(北京耀阳康达医疗仪 器有限公司)、动物麻醉机(美国 MATRX 公司)、超净 工作台(上海新苗医疗器械制造有限公司)、5 μL 微量 注射器(瑞士 Hamilton 公司)、恒流泵(上海奥尔科特 生物有限公司)、CM3050S 型冰冻切片机(德国 Leica 公司)、DM5000B 荧光显微镜(德国 Leica 公司)、外科 手术器械一套。

三、电刺激大鼠耳廓的方法

根据解剖学特征,参考 Yu 等^[8]的刺激方法,使用 经皮神经刺激仪分别对大鼠双侧耳廓的耳屏、耳甲和 耳轮三个主要不同部位进行电刺激。

对 24 只 SD 大鼠术前禁食 12 h,禁饮 6 h,用异氟 烷进行气体麻醉;待其角膜反射迟钝且呼吸规律后,将 电生理仪的肢体导联自制电极针插入仰卧大鼠四肢, 然后把带有导电糊的正负极电极片分别粘附在大鼠两 侧耳屏,再使用经皮神经刺激仪对 24 只浅度麻醉后大 鼠的该部位进行电刺激。设置参数为频率 20 Hz,脉 宽 200 μs,电极片与刺激部位接触面积 0.15 cm²,刺激 强度分别为 2、4、6、8、10、12、14 和 16 mA(当刺激强度 >16 mA 时,大鼠容易因电流过大出现颤抖,导致实验 缺乏意义),每个刺激强度的大鼠 3 只,刺激前的心率 作为刺激强度 0 mA 的数据,每个电流强度刺激时间 为 15 min;同样条件下,再分别对耳甲和耳轮进行电刺 激,观察心率与电刺激强度之间的关系。

为了排除先后刺激之间的相互影响,进行耳屏、耳

甲、耳轮电刺激实验之间的时间间隔2d(48h)。在上述相同实验条件下,固定电流强度为16mA,选取不同的电刺激时间(0~16min),观察大鼠不同部位的心率随电刺激时间的变化情况。每个部位刺激的大鼠为3只。

四、逆行神经示踪荧光成像的方法及观察指标

1.配制 CTB-AF555 溶液:先将 CTB-AF555 粉末进 行离心,并以 1.0 mg/mL 的浓度溶解于无菌 PBS 中。 在充分混匀后,再以每支 12 μL 进行分装,密封避光冻 存于-20 ℃冰箱内备用。

2.实验分组及干预:为完全排除先前刺激影响,完 成电刺激后1周,再将24只大鼠按随机数字表法分为 耳屏注射组、耳甲注射组、耳轮注射组和对照组,每组 6只。前3组的大鼠右侧耳朵相应部位皮下缓慢注射 2μL的 CTB-AF555,对照组在耳屏处注射2μL无菌 PBS。每只大鼠的注射时间均为5min,注射过程均在 异氟烷气体麻醉下进行。

3.组织取材及固定:注射 CTB-AF555 的 5 d 后对 大鼠进行灌流取材固定,此时荧光染料能到达神经末 梢,且尚未产生荧光块状物沉淀,大鼠受感染后也均能 存活^[9-10]。按 4 mL/kg 的剂量对实验大鼠腹腔注射 10%水合氯醛麻醉后立即开胸,用恒流泵经左心室快 速向心脏灌注 37 ℃生理盐水洗去血液,再将灌注液换 为预冷处理(4 ℃)的 4% PFA 灌流 20 min。灌流结束 后,剪开大鼠头顶部,切取所需延髓。随后在颈部正中 线处作 4 cm 切口,找出右侧颈动脉鞘,并仔细分离出 迷走神经直至颅底颈静脉孔,连带部分颅骨一起取出; 最后将延髓和分离后的迷走神经放入 4% PFA 溶液 内,于4 ℃下固定过夜。

4.延髓和迷走神经切片的制备:将固定完成的延 髓和迷走神经转入 30% 蔗糖溶液内进行脱水,沉底后 切取上、下神经节。用冰冻切片机分别将延髓沿冠状 面方向,神经节沿横断面方向进行连续切片,厚度均为 20 μm,将组织切片平整贴附于载玻片上,并避光晾干 3 h。

5.观察迷走神经上、下神经节及延髓荧光标记:参 照文献^[10]用荧光显微镜观察 CTB-AF555 在迷走神经 上、下神经节及延髓的标记情况。如果在延髓标记,对 照第6版大鼠脑图谱找出具体标记部位所在核团。

五、统计学方法

使用 SPSS 19.0 版统计学软件对所得数据进行统 计学分析处理,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采 用单因素方差分析(one-way analysis of variance, ANO-VA),多组间两两比较采用最小显著差异法(least significant difference, LSD),P<0.05认为差异有统计学意 义。

结 果

一、不同电流刺激强度及不同刺激时间对大鼠心率的影响

一定刺激时间下,大鼠心率可随刺激耳屏或耳甲 强度增加而减慢,但不随刺激耳轮强度增加而变化 (图 1a);与相同电流强度刺激耳轮比较,以 12、14 和 16 mA 刺激耳屏和以 10、12、14 和 16 mA 刺激耳甲时 心率明显减慢,差异有统计学意义(P<0.05);与相同 电流强度刺激耳屏比较,以 12 mA 刺激耳甲时心率明 显减慢(P<0.05)。

一定刺激强度下,大鼠心率可随刺激耳屏或耳甲时间增加而减慢,但不随刺激耳轮时间增加而变化(图1b);与刺激耳轮同时间点比较,在刺激耳屏6~15 min时和刺激耳甲4~15 min时心率明显减慢,差异有统计学意义(P<0.05);与刺激耳屏同时间点比较,以刺激耳甲6~10 min时心率明显减慢(P<0.05)。详见图2。



注:图 a 表示一定刺激时间下(15 min),刺激强度与心率的关系;图 b 表示一定刺激强度下(16 mA),刺激时间与心率的关系 图 1 不同的电刺激强度和电刺激时间对大鼠心率的影响



注:a为大鼠麻醉状态下基础心电图;b为12 mA电流强度刺激耳屏时心电图;c为12 mA电流强度刺激耳甲时心电图;d为高强度(16 mA)刺激耳轮时心电图

图2 不同电流强度刺激同一大鼠耳廓三个主要部位的心电图表现

二、迷走神经上、下神经节及延髓荧光标记情况

耳屏注射组和耳甲注射组所有大鼠均可在迷走神 经上、下神经节观察到示踪剂(见图 3)。耳屏注射组 里 6 只大鼠中有 3 只(3/6)可在孤束核(nucleus tractus solitarius,NTS)观察到示踪剂;耳甲注射组里 6 只 大鼠中有 4 只(4/6)可在 NTS 观察到示踪剂;耳轮注 射组里 6 只大鼠中有 5 只(5/6)在脊束核找到荧光标 记,未在 NTS 及迷走神经上下神经节观察到神经示踪 剂。延髓荧光标记如图 4 所示。



注:a为耳轮注射 CTB-AF555 后上神经节荧光表达;b为耳甲 注射 CTB-AF555 后上神经节荧光表达;c为耳轮注射 CTB-AF555 后下神经节荧光表达;d为耳甲注射 CTB-AF555 后下神经节荧光 表达

图 3 耳轮和耳甲注射 CTB-AF555 后的迷走神经上下神经 节荧光标记图

讨 论

心脏自主神经系统 (cardiac autonomic nervous system, CANS) 是一个控制心脏电生理功能的神经网络, 心脏神经丛一般位于心外膜脂肪垫中, 含有数百到数千个不等的自主神经元, 对 CANS 的神经信号进行综合和处理^[11-12]。低强度耳屏迷走神经刺激



注: a 为耳屏注射无菌 PBS 后的延髓荧光表达;b 为耳甲注 射 CTB-AF555 后的延髓荧光表达(蓝色箭头示 NTS);c 为耳轮注 射 CTB-AF555 后的延髓荧光表达(红色箭头示脊束核);d 为根 据第6版大鼠脑图谱画的各核团在延髓的大致分布示意图,图中 Sp 表示脊束核

图4 延髓的荧光标记情况

(low intensity tragus vagus nerve stimulation, LITA-VNS) 可以通过抑制重要脂肪垫中的神经活动,产生抗胆碱 能作用,从而对心脏自主神经系统进行调控^[8]。研 究^[13]发现,当离断靠近颅底迷走神经干后再行 LITA-VNS,先前 LITA-VNS 的抗心律失常作用全部消失;若 再对离断后靠近心脏端的迷走神经干进行低强度迷走 神经刺激,抗心律失常作用重现,说明耳廓刺激产生的 心脏保护作用与迷走神经张力调节密不可分^[13-14]。 然而,T-VNS 治疗心血管疾病的新方法在刺激部位、刺 激强度和刺激时间等方面均无统一标准^[5]。目前研 究更多的是关注耳屏部位,但耳屏和耳甲上均有迷走 神经分布^[15]。也有学者通过使用功能性磁共振成像 研究提示耳甲是最容易激活迷走神经的部位^[16]。

本研究结果显示,与耳廓迷走神经耳支分布密度 相对应,即刺激有迷走神经耳支分布密度的耳屏和耳 甲能调节心脏迷走神经功能,但刺激无迷走神经耳支 分布的耳轮则无此调节功能^[15]。研究者们在动物实 验中常使用能使窦性心率较基础水平下降 20%的最 小电压强度的 80%作为刺激强度治疗心律失常,刺激 时间多为1h^[5, 8, 17]。本研究从强度-心率和时间-心率 曲线结果中发现,心率较基础水平下降 20%时的耳甲 刺激强度为 10 mA,耳屏刺激强度为 14 mA,耳甲刺激 时间为 5 min,耳屏刺激时间为 10 min,提示刺激大鼠 耳甲和耳屏治疗心律失常的合适强度分别为 5 mA 和 7 mA,且经皮刺激大鼠迷走神经至少 5 min 以上才能 明显减慢心率;本研究还显示,刺激耳甲与刺激耳屏相 比,心率下降得更快。以上发现揭示了耳甲及耳屏均 可以成为 T-VNS 的治疗靶点,且刺激耳甲更容易激活 心脏迷走神经。因此,通过耳廓不同部位进行 T-VNS 治疗心血管疾病时,刺激强度及刺激时间是有差异的。 经皮迷走神经治疗应用于人体时,则以刺激时不产生 胀痛等不适为前提^[8,18]。据此可以推断,刺激耳甲治 疗相关心脏疾病时,相对于耳屏刺激可以减少患者产 生的不适。

在刺激耳廓引起心脏效应的神经联系通路方面, 有学者已发现,迷走神经耳支主要投射于参与内脏反 射活动的 NTS^[19],且主要采用辣根过氧化物酶和伪狂 犬病毒等跨突触神经示踪剂,但它们具有容易扩散和 出现非特异性沉着物的问题,从而干扰标本的质 量^[9,20],目前尚未见对耳廓各部位神经通路差异进行 比较的研究报道。

本研究采用神经示踪剂 CTB-AF555 对耳廓各部 位神经通路的差异进行比较。该神经示踪剂具有跨节 功能,既可以被外周组织神经末梢摄取进入一级神经 元,也可通过上一级神经元胞突到达下一级神经节,且 具有发光明亮、不易淬灭及扩散的特点[21]。因其自发 荧光可以直接在荧光显微镜下观察,省略了免疫组织 化学染色的步骤,大大减少了得到假阴性结果的概率。 本研究中,荧光标记在耳屏注射组和耳甲注射组的迷 走神经上、下神经节和 NTS 均可找到。这很好地印证 了之前研究者所得到的结果,即耳屏和耳甲处均有迷 走神经的一般躯体感觉纤维和一般内脏感觉纤维分 布,NTS有迷走神经耳支神经投射^[22];耳轮注射组与 耳甲注射组和耳屏注射组存在有明显的不同,表现为 耳轮的神经纤维主要是投射到处理一般躯体感觉的三 叉神经脊束核,而该核团与延髓调控心脏的 NTS 神经 纤维联系极少,这也部分解释了耳甲和耳屏能诱发心 脏迷走神经效应但耳轮却不能的原因。

目前,由于迷走神经上神经节深埋在颅骨颈静脉 孔中,研究者们未能在上神经节以上水平截断迷走神 经干。因此,无法解答关于刺激迷走神经耳支后,神经 信号是否可以不经延髓,而是通过下级神经节水平直 接调控心脏的疑问^[8]。本研究荧光成像结果也发现, 迷走神经耳支神经纤维直接进入有迷走神经心支投射 的下神经节,说明这两者在下神经节有信息传递,但本 研究使用高强度刺激耳甲或耳屏后,经过一定时间才 能诱发迷走神经效应:经皮刺激迷走神经耳支主要激 活 A 型和 B 型有髓鞘的神经纤维,这两类神经纤维直 接投射进脑干,而投射至心脏的迷走神经分支全部为 C型神经纤维^[23];延髓核团发出的迷走神经内脏运动 神经纤维未在上下神经节换元。综合之前研究成果及 本研究结果,侧面证实了刺激迷走神经耳支不能通过 下级神经节水平直接调控心脏,得到 T-VNS 调节心脏 的神经机制如图 5 所示。



注:粗红线表示 A 和 B 型迷走神经内脏感觉神经纤维;细红 线表示 C 型迷走神经内脏感觉神经纤维。当耳屏或耳甲接受刺 激后,同时激活迷走神经躯体感觉和内脏感觉神经纤维,其中耳 屏或耳甲内脏感觉神经信号与心脏的内脏感觉信号一起进入下 神经节。信息整合后,神经信号经上神经节进入延髓的 NTS,而 NTS 与大脑中枢和迷走神经背核有直接联系,从而调节心脏功能

图 5 T-VNS 调节心脏的神经机制示意图

综上所述,电刺激耳甲和耳屏均可调节心脏迷走 神经功能,但刺激耳轮没有此调节功能,其机制与刺激 耳屏或耳甲的神经信号与心脏的感觉神经信号在迷走 神经下神经节整合后,再进入延髓中枢分析处理有关。

参考文献

- [1] Abboud FM. In search of autonomic balance: the good, the bad, and the ugly[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2010, 298 (6):R1449-R1467. DOI:10.1152/ajpregu.00130.2010.
- [2] Abboud FM, Harwani SC, Chapleau MW. Autonomic neural regulation of the immune system: implications for hypertension and cardiovascular disease[J]. Hypertension, 2012, 59(4):755-762. DOI:10. 1161/HYPERTENSIONAHA.111.186833.
- [3] Alexander SP, Benson HE, Faccenda E, et al. The concise guide to pharmacology 2013/14:G protein-coupled receptors[J]. Br J Pharmacol, 2013, 170(8):1459-1581. DOI:10.1111/bph.12445.
- [4] He X, Zhao M, Bi X, et al. Novel strategies and underlying protective mechanisms of modulation of vagal activity in cardiovascular diseases [J]. Br J Pharmacol, 2015, 172 (23): 5489-5500. DOI: 10.1111/ bph.13010.
- [5] Stavrakis S, Humphrey MB, Scherlag BJ, et al. Low-level transcutaneous electrical vagus nerve stimulation suppresses atrial fibrillation
 [J]. J Am Coll Cardiol, 2015, 65(9):867-875. DOI:10.1016/j.jacc. 2014.12.026.
- [6] Ben-Menachem E, Revesz D, Simon BJ, et al. Surgically implanted and non-invasive vagus nerve stimulation: a review of efficacy, safety and tolerability[J]. Eur J Neurol, 2015, 22(9):1260-1268. DOI:10. 1111/ene.12629.
- [7] 梁滢,陈阳美.颅神经刺激术与癫痫[J].中华物理医学与康复杂志,2015,37(3):239-240. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2015.03.023.
- [8] Yu L, Scherlag BJ, Li S, et al. Low-level transcutaneous electrical

stimulation of the auricular branch of the vagus nerve: a noninvasive approach to treat the initial phase of atrial fibrillation [J]. Heart Rhythm, 2013, 10(3): 428-435. DOI: 10.1016/j.hrthm.2012.11.019.

- [9] Lanciego JL, Wouterlood FG. A half century of experimental neuroanatomical tracing [J]. J Chem Neuroanat, 2011, 42 (3): 157-183. DOI:10.1016/j.jchemneu.2011.07.001.
- [10] Young RL, Page AJ, Cooper NJ, et al. Sensory and motor innervation of the crural diaphragm by the vagus nerves [J]. Gastroenterology, 2010,138(3):1091-1101. DOI:10.1053/j.gastro.2009.08.053.
- [11] Armour JA, Murphy DA, Yuan BX, et al. Gross and microscopic anatomy of the human intrinsic cardiac nervous system[J]. Anat Rec, 1997,247(2):289-298. DOI: 10.1002/(sici)1097-0185(199702) 247:2<289::aid-ar15>3.0.co;2-l.
- [12] Pauza DH, Skripka V, Pauziene N, et al. Morphology, distribution, and variability of the epicardiac neural ganglionated subplexuses in the human heart[J]. Anat Rec, 2000, 259(4):353-382. DOI:10.1002/ 1097-0185(20000801)259:4<353::aid-ar10>3.0.co;2-r.
- [13] 张峰.不同频率心房电刺激对犬的神经电生理影响[D].乌鲁木 齐:新疆医科大学,2015:21-26.
- [14] Chen M, Yu L, Zhou X, et al. Low-level vagus nerve stimulation: an important therapeutic option for atrial fibrillation treatment via modulating cardiac autonomic tone [J]. Int J Cardiol, 2015, 199:437-438. DOI:10.1016/j.ijcard.2015.07.083.
- [15] Bermejo P, López M, Larraya I, et al. Innervation of the human cavum conchae and auditory canal: anatomical basis for transcutaneous auricular nerve stimulation [J]. Biomed Res Int, 2017, 2017; 7830919. DOI:10.1155/2017/7830919.
- [16] Yakunina N, Kim SS, Nam EC. Optimization of transcutaneous vagus nerve stimulation using functional MRI[J]. Neuromodulation, 2017,

20(3):290-300. DOI:10.1111/ner.12541.

- [17] 王雪生,周祁娜,顾琦,等.经皮迷走神经耳支刺激抑制心肌梗死
 后室性心律失常发生及机制[J].中华心律失常学杂志,2018,22
 (2):161-166. DOI:10.3760/cma.j.issn.1007-6638.2018.02.014.
- [18] De Couck M, Cserjesi R, Caers R, et al. Effects of short and prolonged transcutaneous vagus nerve stimulation on heart rate variability in healthy subjects[J]. Auton Neurosci, 2017, 203(1):88-96. DOI: 10.1016/j.autneu.2016.11.003.
- [19] Nomura S, Mizuno N. Central distribution of primary afferent fibers in the Arnold's nerve (the auricular branch of the vagus nerve): a transganglionic HRP study in the cat[J]. Brain Res, 1984, 292(2):199-205. DOI:10.1016/0006-8993(84)90756-x.
- [20] Mesulam MM, Brushart TM. Transganglionic and anterograde transport of horseradish peroxidase across dorsal root ganglia: a tetramethylbenzidine method for tracing central sensory connections of muscles and peripheral nerves[J]. Neuroscience, 1979, 4(8):1107-1117. DOI: 10.1016/0306-4522(79)90192-1.
- [21] Panchuk-Voloshina N, Haugland RP, Bishop-Stewart J, et al. Alexa dyes, a series of new fluorescent dyes that yield exceptionally bright, photostable conjugates [J]. J Histochem Cytochem, 1999, 47 (9): 1179-1188. DOI:10.1177/002215549904700910.
- [22] Sluka KA, Walsh D. Transcutaneous electrical nerve stimulation; basic science mechanisms and clinical effectiveness[J]. J Pain,2003,4 (3):109-121. DOI:10.1054/jpai.2003.434.
- [23] Bremner JD, Rapaport MH. Vagus nerve stimulation: back to the future[J]. Am J Psychiatry, 2017, 174 (7): 609-610. DOI: 10.1176/ appi.ajp.2017.17040422.

(修回日期:2019-04-29) (本文编辑:汪 玲)

・消息・

第12期全国综合医院康复医学科言语康复治疗师培训班通知

为推动全国综合医院康复医学科言语听力康复治疗的专业化发展,从 2013 年起,华中科技大学同济医学院附属协和医院康复 医学科与华东师范大学言语听觉科学教育部重点实验室利用 3~4 年的时间联合举办了 11 期言语听力康复治疗师培训班,为我国 培训了近 400 名该方面的专业人才,获得了参会学员一致好评。近年来国内不断有学员要求继续开展此类学习班,为满足大家需 求,拟今年再次举办全国综合医院康复医学科言语康复治疗师培训班(第 12 期)。

本次学习班开班时间为2019年07月22-26日,学员限额30名。学习内容包括:智慧康复新模式下的言语语言康复、言语嗓音功能评估、言语嗓音功能训练、口部运动功能评估、口部运动功能训练、构音语音功能评估、构音语音功能训练、语言能力评估与训练、认知能力评估与训练、病例分析及专家答疑等。授课形式以理论授课与实践相结合。报名对象要求:康复治疗专业本科及以上学历,有2年以上临床康复工作经历;或是有神经内科专业背景,有2年以上临床工作经历的康复医师。学习地点:上海华东师范大学。学习费用:注册费1000元(含资料费和餐费);住宿费用自理,由学习班统一安排,学员自行承担来回交通费用。

本次学习班报名方式:索取并填写完整的报名表格,邮寄或通过发送到联系人电子邮箱。联系方式:430022 华中科技大学同 济医学院附属协和医院康复医学科,卢超农老师,电话 15859027385;2200939331@qq.com;微信号:15859027385。报名材料经审核 通过后,将发送录取通知书,学员届时持录取通知书报到。