

· 基础研究 ·

电刺激小脑顶核对脑源性自主神经活性的保护作用

王艺明 刘兴德 董为伟

【摘要】目的 观察电刺激小脑顶核(FNS)对脑源性自主神经活性的保护作用。**方法** 以大鼠右侧大脑中动脉阻塞为模型,用心率变异性(HRV)分析方法,观察脑梗死大鼠的心率变异性变化;将脑梗死大鼠随机分成非小脑顶核毁损组和梗死组,观察两组大鼠的心率变异性的频域和混沌参数值;用兴奋性物质鹅膏氨酸预先毁损两侧小脑顶核后,观察 FNS 对脑梗死大鼠的心率变异性的影响。**结果** 大鼠脑梗死后,心率变异的频域和混沌参数值降低,与假手术组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);当电刺激非小脑顶核毁损组大鼠小脑顶核时,发现心率变异的频域参数值、混沌参数值逐渐增加,与脑梗死组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);预先毁损小脑顶核后,电刺激脑梗死大鼠小脑顶核,心率变异的参数值无明显变化,与非小脑顶核毁损组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** FNS 可提高大鼠脑梗死后自主神经活性。这可能是其对抗缺血性脑损伤改善自主神经活性的脑保护作用之一。

【关键词】 脑梗死; 心率变异性; 电刺激小脑顶核; 小脑顶核毁损

Electrical stimulation of cerebellum's fastigial nucleus protects neurogenic autonomic function in rats after ischemic stroke WANG Yi-ming*, LIU Xing-de, DONG Wei-Wei. * Department of Psychology, Affiliated Hospital, Guiyang Medical College, Guizhou 550001, China

【Abstract】 Objective To observe the effects of electrical stimulation of the cerebellum's fastigial nucleus on neurogenic autonomic functional disturbances in rats after ischemic stroke. **Methods** Right middle cerebral artery occlusions (MCAOs) were performed on rats and their heart rate variability (HRV) was analysed. The MCAO rats were randomly divided into a group whose cerebellar fastigial nuclei (FNS) were stimulated and a control group. The power spectrum components and chaos of their heart rate variability were analysed. The MCAOs were performed after two cerebellar fastigial nuclei had been destroyed by pretreatment with ibotenic acid (IBO), to investigate the effect of stimulating the cerebellum's fastigial nucleus on heart rate variability. **Results** The power spectral components and chaos in the heart rate variability of the MCAO rats were reduced, and there was a significant difference in the effectiveness rate compared with the sham groups ($P < 0.05$). The cerebellum's fastigial nucleus in the MCAO rats, and the power spectral components and chaos in their HRV were higher when compared with the controls. There was a significant difference effectiveness rate ($P < 0.05$). Stimulating the cerebellum's fastigial nucleus after excitotoxic lesions have been formed did not change the power spectral components and chaos in the HRV, but there was a significant difference in effectiveness rate compared with the no lesions group ($P < 0.05$). **Conclusion** Stimulation of the fastigial nucleus of the cerebellum may benefit MCAO rats with autonomic functional disturbances by protecting brain tissue.

【Key words】 Ischemic stroke; Heart rate variability; Cerebellar fastigial nucleus stimulation; Fastigial nucleus lesions

脑梗死后常出现自主神经功能失调,可持续到病程 1 个月以上,最多可达 6 个月,甚至引起脑源性猝死^[1]。Arad 等^[2]报道,心率变异性(heart rate variability, HRV)分析能定量检测脑梗死后自主神经活性。马驰骋等^[3]用心率变异性分析方法检测脑卒中患者的自主神经活性,发现心率变异性参数值降低,自主神

经系统严重失衡,并且正常的昼夜节律消失,常影响心脏功能,降低脑灌注,严重影响脑梗死患者的预后。脑梗死后自主神经功能紊乱至今尚无理想的治疗措施,董为伟^[4]的研究显示,电刺激小脑顶核(fastigial nucleus stimulation, FNS)对脑梗死后自主神经功能紊乱具有改善作用。为了提供更多的实验依据,我们采用线栓法制作脑梗死大鼠动物模型,通过心率变异性分析来观察大鼠脑梗死后心率变异性变化及 FNS 对脑梗死大鼠自主神经功能紊乱的影响,并用兴奋性物质鹅膏氨酸预先毁损两侧小脑顶核来观察内源性小脑

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 39370261)

作者单位:550001 贵州,贵阳医学院附属医院心理科(王艺明),心内科(刘兴德);重庆医科大学附属第一医院神经内科(董为伟)

顶核对脑梗死后自主神经活性的保护作用。

材料与方法

一、实验动物的造模与分组

1. 脑卒中大鼠模型的建立:健康雄性 Wistar 大鼠 96 只(由重庆医科大学实验动物中心提供),体重 (250 ± 5) g。用插线法制备大鼠右侧大脑中动脉阻塞模型。经颈正中切口,暴露右侧颈总动脉,在颈总动脉分叉处插尼龙线进入颈内动脉,长度约 16~18 mm,造成右侧大脑中动脉阻塞模型。评分标准如下:①无症状或仅有右眼裂变小者计 0 分;②左前肢屈曲者计 1 分;③左前肢屈曲+行进时向左侧划圈者计 2 分;④不能站立,身体向右侧倾倒者计 3 分。评分达到 2 分及以上者方纳入研究。造模成功 60 只,经统计成功率为 62%。

2. 小脑顶核毁损^[5]:健康雄性 Wistar 大鼠 48 只,体重 (250 ± 5) g,于双侧所定小脑顶核位置的颅骨上各钻一孔($\varphi 1.0$ mm),用 0.5 μ l 微量注射器分别将 0.2 μ l (0.063 μ m/ μ l),鹅膏氨酸(IGO:美国 Sigma 公司生产)。注入两侧小脑顶核,留针 5 min 后将其缓慢拔出,将皮缝合。经统计成功率为 100%。

3. 分组:①健康雄性 Wistar 大鼠 6 只,在颈内动脉插栓子,但未造成脑梗死,为假手术组。②将造模成功的 60 只大鼠随机分为脑梗死组、脑梗死 + FNS 治疗组(非小脑顶核毁损组),每组 30 只。③将小脑顶核毁损大鼠 48 只,5 d 后制作脑梗死模型,造模成功 30 只。2 h 后,对这 30 只毁损了小脑顶核的脑梗死大鼠的小脑顶核部位行电刺激,设为小脑顶核毁损组。将脑梗死组、非小脑顶核毁损组、小脑顶核毁损组又依据时间点为 6 h、1 d、3 d、5 d、10 d 而各分为 5 个小组,每小组 6 只。

二、定位及电刺激方法

定位及电刺激(电刺激器为重庆大学电工技术研究所研制):用本实验室脑立体定位的方法^[6],将聚酯漆包镍铬丝电极($\varphi 200$ μ l)植入左侧小脑顶核,以前囟后缘为零点,坐标为向后 11 mm,正中中线向左侧旁开 1.1 mm,深 5.7 mm。电刺激频率 50 Hz,时程 0.5 ms,强度为 70 μ A 方波,每次电刺激持续 1 h,观察不同时间点大鼠的 HRV 的变化。为证实电极插在小脑顶核的有效位置,在预实验中同时作股动脉插管,记录电刺激大鼠小脑顶核前、中、后血压的变化。

三、HRV 的检测

大鼠心率变异性的检测:采用大鼠 HRV 分析系统(重庆大学电工技术研究所研制),采集 II 导联心电图信号,输出放大并经 A/D 转换后输入计算机,对 R

波进行实时检测。去除早搏和伪迹,将获得的 512 个连续窦性 RR 间期经快速傅里叶转换,获得 RR 间期功率谱的频域指标,测定所得频域范围频谱曲线下的面积作为定量观察指标,以 0.00~0.40 Hz 之间为总功率谱(total power, TP, 单位 ms^2/Hz),代表自主神经总活性;0.1~0.15 之间者为低频功率谱(low power, LF, 单位 ms^2/Hz),受交感和副交感神经活动的双重影响;0.15~0.40 Hz 之间为高频功率谱(high power, HF, 单位 ms^2/Hz),单独受副交感神经控制,是心脏副交感神经支配的定量标志^[7];以 LF/HF 比值作为反映交感神经和副交感神经活动平衡的指标。心搏间期信号的混沌参数用分数维(fractal dimension, FD)等表示。

四、统计学分析

统计数据用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 SPSS 10.0 软件进行两组均数 t 检验或多组均数的单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、电刺激脑梗死大鼠小脑顶核时血压的变化

当电刺激单侧脑梗死大鼠小脑顶核时,随着电流强度增大(50~80 μ A),大鼠的平均动脉压上升不超过 15 mmHg,停止刺激后 8~10 min 血压恢复至正常,且对脉压差无明显影响。故 FNS 对大鼠血压影响不大。

二、脑梗死大鼠心率变异性变化

结果显示,脑梗死后 6 h、1 d 组与假手术组比较,心率变异各参数值差异无统计学意义,而 3 d、5 d、10 d 组与假手术组比较,心率变异参数值明显降低,表现为 TP、HF、LF、FD 值降低,尤以 HF 值降低明显,而 LF/HF 比值相对升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),而以梗死后第 3 天组心率变异性参数值降低明显,与 5 d、10 d 组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),表明脑梗死后迷走神经活性显著降低,交感神经活性相对增高,尤其在第 3 天,自主神经活性降低达高峰(见表 1)。

三、FNS 对脑梗死大鼠心率变异性的影响

当电刺激非小脑顶核梗死组大鼠小脑顶核时,发现治疗后第 3 天到第 10 天,心率变异的各参数值逐渐增高,表现为 TP、HF、LF 值增高,尤以 HF 值增高明显,即 LF/HF 相对降低,与脑梗死后 3 d、5 d、10 d 组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),提示交感神经活性水平降低,迷走神经活性水平提高,而 FD 值从第 1 天起就逐渐升高,到第 10 天仍处于较高水平,与脑梗死后同一时间点组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),详见表 2。

四、毁损顶核后 FNS 对脑梗死大鼠的影响

研究结果显示,双侧小脑顶核毁损后对脑梗死大鼠行 FNS 治疗,在 3 d、5 d、10 d 各时间点,未见心率变异性参数(TP、HF、LF、FD)值增高,与非小脑顶核毁损组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),说明毁损双侧小脑顶核后,FNS 治疗对脑梗死后自主神经功能紊乱失去改善作用(表 3)。

讨 论

Reis 等^[8]认为脑内存在能保护自身生存的机制,其中之一存在于小脑顶核内的神经元。因此,FNS 可以通过小脑顶核激活脑内条件性中枢神经源性神经保护机制而产生级联放大的保护作用。宋建良等^[9]发现,FNS 可有效改善脑血管病患者的血流动力学变化,

表 1 脑梗死大鼠心率变异性变化($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	频域				FD
		TP(ms^2/Hz)	HF(ms^2/Hz)	LF(ms^2/Hz)	LF/HF	
假手术组	6	543.6 ± 281.8	182.9 ± 133.7	285.3 ± 182.4	1.57 ± 0.58	1.74 ± 0.25
脑梗死组	30					
6 h	6	378.2 ± 27.1	114.1 ± 43.5	240.1 ± 28.8	2.11 ± 1.00	1.52 ± 0.37
1 d	6	455.3 ± 23.5	144.7 ± 16.3	263.3 ± 92.3	1.82 ± 0.83	0.74 ± 0.14
3 d	6	149.5 ± 20.7 [*] #	45.4 ± 18.6 [*] #	99.5 ± 12.1 [*] #	2.19 ± 0.76	0.29 ± 0.03 [*] #
5 d	6	266.3 ± 26.6 [*]	76.06 ± 18.09 [*]	143.4 ± 22.1 [*]	2.02 ± 0.70	0.32 ± 0.08 [*]
10 d	6	261.8 ± 21.8 [*]	67.96 ± 16.00 [*]	132.2 ± 14.2 [*]	2.87 ± 0.47	0.27 ± 0.04 [*]

注:与假手术组、脑梗死后 6 h、1 d 组比较,^{*} $P < 0.05$;与脑梗死后 5 d、10 d 组比较,[#] $P < 0.05$

表 2 FNS 对脑梗死组和非小脑顶核毁损组大鼠心率变异性的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	频域				FD
		TP(ms^2/Hz)	HF(ms^2/Hz)	LF(ms^2/Hz)	LF/HF	
脑梗死组	30					
6 h	6	378.2 ± 26.9	114.1 ± 43.5	240.1 ± 28.8	2.11 ± 1.00	1.52 ± 0.37
1 d	6	455.3 ± 23.5	144.7 ± 16.3	263.3 ± 92.3	1.82 ± 0.83	0.64 ± 0.14
3 d	6	149.5 ± 20.7	45.4 ± 18.6	99.5 ± 12.1	2.19 ± 0.76	0.29 ± 0.03
5 d	6	266.3 ± 26.6	76.0 ± 18.0	153.4 ± 22.1	2.02 ± 0.70	0.32 ± 0.08
10 d	6	261.8 ± 2.80	67.9 ± 16.0	132.2 ± 14.2	2.87 ± 0.47	0.27 ± 0.04
非小脑顶核毁损组	30					
6 h	6	319.8 ± 258.3	103.1 ± 18.6	133.1 ± 27.5	2.55 ± 1.60	1.25 ± 0.18
1 d	6	485.9 ± 98.0	62.6 ± 26.6	138.4 ± 53.3	2.17 ± 1.00	1.91 ± 0.35 [#]
3 d	6	823.5 ± 179.4 [*]	108.1 ± 30.5 [#]	248.3 ± 75.8 [#]	2.31 ± 0.55	2.23 ± 0.39 [*]
5 d	6	708.4 ± 143.7 [#]	140.6 ± 55.4 [*]	261.2 ± 60.4 [*]	1.94 ± 0.32	2.24 ± 0.33 [*]
10 d	6	607.0 ± 102.7 [#]	220.8 ± 29.3 [*]	34.7 ± 13.1	1.64 ± 0.15 [*]	2.27 ± 0.38 [*]

注:与脑梗死组同时点比较,^{*} $P < 0.01$,[#] $P < 0.05$

表 3 毁损顶核后 FNS 对小脑顶核毁损组和非小脑顶核毁损组大鼠心率变异性的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	频域				FD
		HF(ms^2/Hz)	LF(ms^2/Hz)	LF/HF	TP(ms^2/Hz)	
小脑顶核毁损组	30					
6 h	6	103.2 ± 39.7	238.1 ± 25.9	2.31 ± 0.98	380.3 ± 27.1	1.49 ± 0.35
1 d	6	138.9 ± 15.8	261.7 ± 89.3	1.88 ± 0.82	451.9 ± 21.8	1.14 ± 0.21
3 d	6	44.7 ± 17.9	95.7 ± 11.9	2.14 ± 0.75	48.7 ± 19.8	0.28 ± 0.03
5 d	6	74.2 ± 17.6	149.3 ± 21.8	2.01 ± 0.68	265.7 ± 25.6	0.30 ± 0.08
10 d	6	65.3 ± 15.8	130.6 ± 13.9	2.00 ± 0.45	259.8 ± 19.9	0.37 ± 0.04
非小脑顶核毁损组	30					
6 h	6	53.1 ± 18.7	133.2 ± 98.6	2.55 ± 1.60	319.8 ± 258.3	0.95 ± 0.18
1 d	6	62.7 ± 26.6	138.4 ± 53.3	2.17 ± 1.00	485.9 ± 98.1	1.70 ± 0.35
3 d	6	108.1 ± 30.1 [*]	248.3 ± 75.9 [*]	2.31 ± 0.55 [#]	823.5 ± 179.4 [#]	2.23 ± 0.39 [*]
5 d	6	140.7 ± 55.5 [#]	216.3 ± 60.4 [#]	1.94 ± 0.32 [#]	708.4 ± 143.8 [*]	2.24 ± 0.33 [*]
10 d	6	220.8 ± 29.4 [#]	341.7 ± 99.2 [#]	1.64 ± 0.15 [#]	607.0 ± 102.7 [*]	2.27 ± 0.38 [*]

注:与同时时间点的毁损小脑顶核组比较,^{*} $P < 0.01$,[#] $P < 0.05$

有效降低自由基水平,减轻脑组织损伤。Golanov 等^[10]报道,大鼠脑梗死后 FNS 30 min ~ 1 h,可使缺血脑组织的局部血流量明显增加而不伴有脑代谢改变,可减少白细胞浸润,改善脑血液循环,降低脑含水量及脑微血管炎症反应,抑制脑梗死周围去极化波和大脑皮层扩布性抑制,降低诱导型一氧化氮合酶的表达等。提示 FNS 减轻缺血神经元损害的机制是多方面的。通常大脑通过自主神经系统和内分泌机制对心血管和自主神经功能进行调节,脑-心相互作用在应答身体剧烈运动、惊恐、环境压力和情绪变化等方面,能协同调节心脏活动和血管舒缩功能。据文献报道,脑梗死后产生心血管和自主神经功能紊乱,如不经特殊的治疗其功能恢复通常需 6 个月甚至更长时间,脑源性猝死是最严重的后果^[1,11]。

心率变异性分析包括频域及混沌分析等,频域法可对自主神经活性进行定量监测,不同频段的功率谱值反映自主神经活动的不同成分,LF 反映交感、副交感神经活性,HF 是心脏副交感神经活性的定量指标,以 LF/HF 作为交感/副交感神经活动平衡的指标,RR 信号具有混沌特性,其中 FD 是评价脑源性猝死危险因素的指标之一^[12]。本研究中有 3 只大鼠因脑梗死过重而发生猝死,发现 FD 降低很明显,可能是其易发生猝死的原因。

研究结果显示,脑梗死后心率变异的参数值降低,而电刺激脑梗死大鼠小脑顶核治疗从第 3 天开始,心率变异性参数值逐渐升高,表现为 HF、LF、TF 升高,尤其是 HF 升高明显,致 LF/HF 比值减小,而 FD 从治疗第 1 天起开始逐渐升高,一直到第 10 天,均处于较高水平,提示 FNS 使脑梗死大鼠的交感神经活性水平降低,迷走神经活性水平提高,降低了脑梗死并发脑源性猝死的危险性。当双侧小脑顶核预先被兴奋毒性物质鹅膏氨酸毁损后,电刺激毁损后脑梗死大鼠的小脑顶核与未毁损组比较,未见心率变异各参数值的升高,提示毁损顶核后,内源性小脑顶核的保护效应则被消除,再刺激小脑顶核时对脑梗死并发的自主神经功能紊乱不能得到改善。

FNS 改善脑梗死后自主神经功能紊乱的病理生理机制并不清楚,可能的原因是:FNS 可能导致神经递质的释放,这些神经递质主要包括乙酰胆碱和去甲肾上腺素,FNS 抑制了加压素、儿茶酚胺等血管收缩活性物质释放,这样使交感神经活性降低、迷走神经活性增强。李长清等^[7]报道,通过电刺激内源性小脑顶核神经元可产生长期的、实质性的神经保护,而避免兴奋毒

性损害,对脑缺血有保护作用。王健等^[13]认为,预先毁损小脑顶核后 FNS 所产生的对兴奋毒性及缺血性损害的神经保护作用消失。我们的研究认为毁损小脑顶核后,FNS 对脑梗死后神经递质的调节作用消失,使其对脑梗死后自主神经功能紊乱失去改善作用。

我们的结果表明,电刺激脑梗死大鼠小脑顶核使心率变异的参数值上调,脑源性猝死的危险因子降低,表明脑梗死大鼠的交感神经及迷走神经的调节功能得到增强,致交感-副交感活性达到新的平衡,改善了脑梗死后自主神经功能紊乱,这可能是内源性小脑顶核对抗缺血性脑损伤、改善自主神经活性的脑保护作用之一。

参 考 文 献

- Korpelanin JT, Sotaniemi KA, Huikuri HV, et al. Circadian rhythms of heart rate variability is reversibly abolished in ischemic stroke. *Stroke*, 1997, 28: 2150-2154.
- Arad M, Abboud S, Radai M M, et al. Heart rate variability parameters correlate with functional independence measures in ischemic stroke patients. *J Electrocardiol*, 2002, 35: 243-246.
- 马驰骋,刘爱军,刘爱华,等. 急性脑梗塞与心率变异性(HRV)关系的研究. *中国急救医学*, 2001, 21: 528-529.
- 董为伟. 电刺激小脑顶核与中枢神经源性神经保护. *中国工程科学*, 2001, 3: 44-50.
- Glickstein SB, Golanov EV, Reis DJ. Intrinsic neurons of fastigial nucleus mediate neurogenic neuroprotection against excitotoxic and ischemic neuronal injury in rat. *J Neurosci*, 1999, 19: 4142-4154.
- 夏一鲁,罗勇,董为伟,等. 电刺激小脑顶核对脑梗塞大鼠的治疗作用与机制. *中风与神经疾病杂志*, 1999, 16: 3-5.
- 李长清,董为伟,胡长林. 高血压性脑出血患者心电图异常和自主神经活性变化的动态演变. *卒中与神经疾病*, 2002, 9: 335-337.
- Reis DJ, Golanov EV, Galea E, et al. Central neurogenic neuroprotection; central nervous systems that protect the brain from hypoxia and ischemic. *Ann NY Acad Sci*, 1997, 19: 168-186.
- 宋建良,诸国嘉,孙新芳,等. 电刺激小脑顶核对脑血管病的疗效及对自由基的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2002, 24: 472-474.
- Golanov EV, Reis DJ. Neuroprotective electrical stimulation of cerebellar fastigial nucleus attenuates expression of perinfarction depolarizing wave (PIDs) and inhibits cortical spreading depression. *Brain Res*, 1999, 818: 304-315.
- Cheung RTF, Hachinski V. The insula and cerebrogenic sudden death. *J Arch Neurol*, 2000, 57: 1685-1688.
- 李长清,董为伟. 心率变异性的混沌特征与脑梗塞患者猝死. *中华内科杂志*, 2001, 40: 216.
- 王健,董为伟,何为. 小脑电刺激对大鼠脑缺血早期神经元线粒体的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2005, 27: 9-13.

(修回日期:2006-02-20)

(本文编辑:熊芝兰)