

· 基础研究 ·

重复经颅磁刺激对脑出血家兔血肿周围组织中化合物含量的影响

郭铁成 曹学兵 贾清 夏黎明 张允建 孙圣刚

【摘要】目的 观察重复经颅磁刺激(rTMS)对脑出血家兔血肿周围组织化合物含量的影响,并探讨其治疗机制。**方法** 家兔 36 只,随机分为治疗组、模型组和对照组。治疗组和非治疗组采用兔自体血注射制作脑出血模型,对照组注射生理盐水。治疗组家兔于造模后 12 h 开始实施 rTMS,每日 3 次;模型组和对照组不进行 rTMS。分别于造模后 12 h、3 d、1 周和 2 周,应用¹H-磁共振波谱(¹H-MRS)检测出血灶周围脑组织 N-乙酰天门冬氨酸(NAA)、总肌酸(Cr)和胆碱复合物(Cho)等化合物的含量。**结果** 与对照组比较,模型组和治疗组脑出血灶周围组织内 NAA 和 Cr 含量减少,NAA/Cr 降低,Cho 含量增加,Cho/Cr 增高(均 $P < 0.01$);与模型组比较,治疗组 NAA、Cr 含量增加,NAA/Cr 增高,Cho 含量减少,Cho/Cr 降低(均 $P < 0.01$)。**结论** rTMS 可通过促进血肿周围神经元的修复,影响脑组织中化合物含量,发挥神经保护性治疗作用。

【关键词】 重复经颅磁刺激; ¹H-磁共振波谱; 血肿

Effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on content of perihematoma chemical substance in rabbits with cerebral hemorrhage GUO Tie-cheng*, CAO Xue-bing, JIA Qin, XIA Li-min, ZHANG Yun-jian, SUN Sheng-gang. * Department of Rehabilitation Medicine, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

【Abstract】 Objective To investigate the effects of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) on chemical substance contents in the perihematoma brain tissues in rabbits with cerebral hemorrhage and the mechanisms underlying it. **Methods** Thirty-six rabbits were divided randomly into 3 groups, group A (artificial cerebral hemorrhage followed by rTMS) and group B (artificial cerebral hemorrhage without rTMS) were experimental groups and group C was the normal control group. The cerebral hemorrhage model was made by injection of self-body blood, and the control group was made by injection of saline. The rabbits of group A were treated with rTMS 3 times a day and the others received no stimulation. Rabbits in all 3 groups were tested in terms of the contents of N-acetylaspartate (NAA), choline (Cho) and creatine (Cr) in the perihematoma brain tissues by using the technique of ¹H-magnetic resonance spectroscopy (¹H-MRS) at 12 h, 72 h, 1 w and 2 w after the model was established. **Results** Compared with group C, the contents of NAA, Cr, NAA/Cr decreased and Cho, Cho/Cr increased significantly in both groups A and B ($P < 0.01$). Compared with group B, the contents of NAA, Cr, NAA/Cr increased and Cho, Cho/Cr decreased significantly of group A ($P < 0.01$). **Conclusion** The results suggested that rTMS could bring about therapeutic neuroprotection effect via facilitating the neuronal recovery and influencing the chemical substance contents in perihematoma brain tissues.

【Key words】 Repetitive transcranial magnetic stimulation; ¹H-magnetic resonance spectroscopy; Cerebral hematoma

脑出血是一种好发于中老年人的神经系统疾病,多年来国际上针对脑出血进行了多方面的基础与临床研究,但仍有许多问题尚未阐明^[1]。近年来,脑出血后血肿周围神经元损伤与保护机制的研究逐渐成为神经科学界关注的焦点。重复经颅磁刺激(repetitive transcranial magnetic stimulation, rTMS)作为一种无创性物理医学技术正日益广泛地应用于各种疾病的康复

治疗。有基础研究发现,rTMS 具有减轻脑水肿、保护缺血神经元的作用^[2,3]。我们前期的研究表明,rTMS 可抗细胞凋亡、改善单胺类和氨基酸类神经递质含量,从而对脑出血起到的治疗作用^[4,5]。在活体状态下,如能确定脑出血血肿周围神经元功能,评估 rTMS 对神经元的保护作用,必将为脑出血的临床治疗和康复疗效的预测与评定提供实验依据,而磁共振波谱(magnetic resonance spectroscopy, MRS)技术在此领域具有独特的优势^[6]。基于此,本研究应用磁共振氢谱(¹H-magnetic resonance spectroscopy, ¹H-MRS)技术对接受 rTMS 治疗的脑出血家兔血肿周围组织化合物含

作者单位:430022 武汉,华中科技大学同济医学院附属同济医院康复医学科(郭铁成),磁共振室(贾清、夏黎明);华中科技大学同济医学院附属协和医院神经内科(曹学兵、张允建、孙圣刚)

量进行了检测与分析,报道如下。

材料与方法

一、动物分组

健康成年大耳白家兔 36 只,雄性,兔龄 6~8 个月,体重 2~3 kg,由华中科技大学同济医学院实验动物中心提供。所有家兔随机分为磁刺激治疗组(简称治疗组)16 只、脑出血模型组(简称模型组)16 只和对照组 4 只。治疗组和模型组又根据脑出血时间分为造模后 12 h、3 d、1 周和 2 周组,每亚组 4 只。

二、脑出血模型的制备

家兔以氯氨酮+异丙嗪肌肉注射进行麻醉,剂量为(氯氨酮 50 mg+异丙嗪 25 mg)/kg 体重,中度麻醉后俯卧固定于立体定位仪上,齿杆高于耳杆 3 mm。用脱毛剂(8% 硫化钠溶液)头皮脱毛,0.5% 碘伏皮肤消毒,在颅骨前囟后 4 mm、中线右侧旁 3 mm 处钻一直径约为 1.5 mm 的圆孔,深达硬脑膜。注射点为右侧大脑额叶,于前囟偏右 3 mm,偏后 4 mm,深度为 10 mm。自兔一侧耳中动脉按 0.5 ml/kg 体重抽取动脉血,然后沿钻孔处缓慢进针 10 mm(3 mm/min),缓慢均匀地注射到右侧额叶(0.2 ml/min),注射完毕后留针 5 min,然后以 2 mm/min 的速度退针,用补牙胶封颅骨孔,缝合头皮。肌注青霉素 40 万 U 预防感染。对照组处理步骤同上,但注入的是 2 ml 生理盐水。

三、rTMS 治疗

治疗组家兔于手术后 12 h 开始实施 rTMS 治疗。将清醒的实验动物置于长方形器具中,头部暴露于一直径 8 cm 的圆形磁刺激探头下(Maglite 磁刺激器, Dantec 公司),最大磁场强度 1.9 T,刺激强度为阈上强度的 50%,频率为 2 Hz,每日 3 次,直至取材当日为止。模型组和对照组不进行 rTMS 治疗。

四、¹H-MRS 分析

使用 GE Signa 1.5T NV/i 超导型磁共振扫描系统,用 12.7 cm 表面线圈作为发射和接收线圈,进行¹H-MRS 及 MRI 检查。检测及分析步骤:(1)常规行三维头颅 MRI,采用对早期出血敏感的 T2 序列(GR/FA=26°; TR/TE=500/28 ms;层厚 3.0 mm;间隔 0.5 mm)明确损伤部位及性质,同时为¹H-MRS 引导定位。(2)应用 Probe-SI 二维多体素质谱序列(TR/TE=1 500/144 ms;层厚 9.8 mm;FOV 18×18 cm;激励次数 2 次),首先自动预扫描进行匀场、抑水,若全高半宽小于 10 Hz,则继续进行波谱采集。(3)由随机 Functool 软件对所有数据进行后处理,计算 N-乙酰天门冬氨酸(N-acetylaspartate, NAA)、胆碱(choline, Cho)和肌酸复合物(creatine, Cr)所对应化学位移处峰下面积积分,作为该化合物的相对浓度定量值,并计算 NAA/Cr 和 Cho/Cr 比值。

五、统计学分析

所得各组数据采用方差分析法进行统计学处理。

结 果

¹H-MRS 图谱显示,Cho 峰最高,其次为 NAA 峰,第三为 Cr 峰(图 1,2)。与对照组比较,造模组脑出血后 12 h~2 周,出血灶周组织的 NAA、Cr 含量及 NAA/Cr 比值降低,Cho 含量及 Cho/Cr 比值增高(均 $P < 0.01$)。与对照组比较,治疗组脑出血后 3 d~2 周, NAA 和 Cr 含量显著降低($P < 0.01$),Cho/Cr 比值于各时间点均明显增高($P < 0.01$),Cho 含量逐渐增高,且于 1 周和 2 周时明显高于对照组,而 NAA/Cr 则明显低于对照组($P < 0.01$)。与模型组比较,治疗组相应时间点 NAA 含量及 NAA/Cr 比值显著增高、Cho/Cr (除造模后 3 d)显著降低($P < 0.01$),12 h~3 d 时 Cho 含量显著降低($P < 0.01$),3 d~2 周时 Cr 含量显著增高($P < 0.01$)。具体数据见表 1。

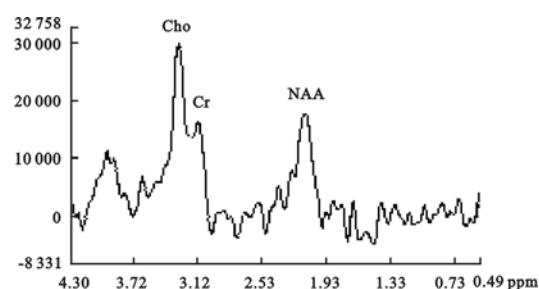


图 1 模型组造模 12 h 的¹H-MRS 特征

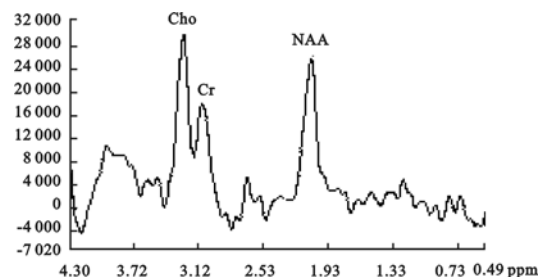


图 2 治疗组造模 1 周的¹H-MRS 特征

讨 论

MRS 分析是一种新的非侵入性技术,可提供缺血后脑结构及功能代谢信息,迅速反复地监测脑内环境的稳定性。应用¹H-MRS 所检测的 NAA、Cho 和 Cr 等化合物是中枢神经系统内的基本物质^[6]。神经组织中含有大量的 NAA,其与蛋白质和脂肪合成、维持细胞内阳离子浓度以及 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 等阳离子通过细胞和神经膜有密切关系。NAA 是一种反映神经系统完整性的重要标志物,普遍存在于神经元、轴索和髓鞘中,脑组织损伤时其含量会下降^[7]。胆碱类化合物,如磷酸胆碱、磷酸酐胆碱主要存在于细胞膜上,其信号

表 1 rTMS 对脑出血灶周组织内化合物含量的影响($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	NAA	Cho	Cr	NAA/Cr	Cho/Cr
治疗组						
造模后 12 h	4	0.64 ± 0.08 *	0.43 ± 0.09 *	0.51 ± 0.07	1.35 ± 0.11 *	0.85 ± 0.09 [△] *
造模后 3 d	4	0.45 ± 0.07 [△] *	0.50 ± 0.07 *	0.45 ± 0.06 [△] *	1.01 ± 0.09 *	1.11 ± 0.12 [△]
造模后 1 周	4	0.37 ± 0.07 [△] *	0.68 ± 0.08 [△]	0.38 ± 0.07 [△] *	0.92 ± 0.07 [△] *	1.78 ± 0.15 [△] *
造模后 2 周	4	0.25 ± 0.06 [△] *	0.72 ± 0.05 [△]	0.33 ± 0.05 [△] *	0.83 ± 0.07 [△] *	2.16 ± 0.26 [△] *
模型组						
造模后 12 h	4	0.25 ± 0.07 [△]	0.67 ± 0.07 [△]	0.42 ± 0.03 [△]	0.67 ± 0.09 [△]	1.62 ± 0.14 [△]
造模后 3 d	4	0.11 ± 0.05 [△]	0.78 ± 0.06 [△]	0.23 ± 0.02 [△]	0.53 ± 0.06 [△]	1.54 ± 0.12 [△]
造模后 1 周	4	0.09 ± 0.03 [△]	0.82 ± 0.11 [△]	0.21 ± 0.03 [△]	0.49 ± 0.07 [△]	3.42 ± 0.27 [△]
造模后 2 周	4	0.05 ± 0.01 [△]	0.84 ± 0.12 [△]	0.20 ± 0.01 [△]	0.38 ± 0.04 [△]	4.18 ± 0.34 [△]
对照组	4	0.75 ± 0.15	0.35 ± 0.05	0.63 ± 0.11	1.21 ± 0.23	0.57 ± 0.09

注:与模型组比较,* $P < 0.01$;与对照组比较,[△] $P < 0.01$

强度的改变反映细胞膜的构成和联结变化。磷酸肌酸为细胞能量代谢的主要储能物质,当细胞能量消耗增多或由于缺氧或缺血而引起能量产生障碍时,磷酸肌酸分解为 Cr,并释放 ATP,其含量变化可提示细胞损伤情况^[6]。

我们的研究显示,脑出血后血肿周围组织波谱的变化表现为随着血肿形成时间的延长,NAA、Cr 含量和 NAA/Cr 比值逐渐下降,而 Cho 含量和 Cho/Cr 比值则逐渐上升。我们推测,NAA、Cr 含量的减少是由于血肿区内组织结构几乎完全被破坏,大量细胞坏死,而血肿周围组织由于受到脑水肿的影响,细胞活性下降,能量代谢水平明显降低,细胞发生继发性损伤。对于缺血后 Cho 含量是升高或降低,目前还存在较大的争议^[8],大多数人倾向于缺血后 Cho 含量升高。我们以前的研究发现,脑缺血 4 h 内 Cho 含量无变化,24 h 后升高,其变化可能是由于脑组织缺血缺氧,ATP 减少,引起胆碱激酶及磷酸胆碱胞苷酰基转移酶活性降低,从而导致胆碱利用障碍;缺血 4 h 内 Cr 含量无明显变化,而 24 h 后显著下降可能与缺血后 Cr 的摄取障碍或 Cr 大量丢失有关^[9]。

综合国内、外 rTMS 的相关研究和我们的前期工作,我们发现 rTMS 具有显著的减轻脑水肿、对抗炎性反应的作用。Handa 等^[10]使用动物制作脑组织缺血水肿模型,伤后第 7 天行¹H-MRS 检查,发现 Cho/Cr 比值明显增高。Kamada^[11]报道,NAA 在水肿脑组织中明显下降,并随着脑水肿的改善而增高。叶春林等^[12]的研究显示,NAA、Cr 水平的变化与脑组织损伤后的恢复情况相一致,NAA 水平越低,预后越差,伤后动态监测波谱变化有助于了解局部脑组织的修复情况。本研究结果显示,随着 rTMS 治疗时间的延长,NAA、Cr 和 Cho 含量,NAA/Cr 和 Cho/Cr 比值逐渐改善,但是 3 d 后的疗效不显著。我们推测 rTMS 除了具有抗水肿作用外,还可能在一定的时间内通过调动细胞自身修复机制来发挥其神经保护作用。

本研究通过活体¹H-MRS 检查证实,¹H-MRS 所测

定的多项指标不仅能反映脑出血后血肿周围脑组织的损伤程度,而且还能反映 rTMS 治疗促进脑组织恢复的情况。鉴于 MRS 技术的临床应用尚未广泛开展,这种无创性技术的引入将为临床应用 rTMS 治疗脑出血的有效性与安全性的评估提供全新的思路。

参 考 文 献

- Nicoli F, Lefur Y, Denis B, et al. Metabolic counterpart of decreased apparent diffusion coefficient during hyperacute ischemic stroke: a brain proton magnetic resonance spectroscopic imaging study. *Stroke*, 2003, 34:82-87.
- 赵合庆, 孙永安, 戴永萍, 等. 经颅磁刺激对脑缺血大鼠皮层脑源性神经营养因子表达及梗死体积的影响. *中华神经科杂志*, 2005, 38:330-331.
- 孙永安, 赵合庆. 经颅磁刺激与脑梗死. *国外医学脑血管疾病分册*, 2002, 11:432-434.
- 王涛, 郭铁成, 朱晓临, 等. 重复经颅磁刺激治疗脑出血家兔的实验研究. *中华物理医学与康复杂志*, 2003, 25:390-393.
- 郭铁成, 曹学兵, 朱晓临, 等. rTMS 治疗对实验性家兔脑出血灶周组织单胺类和氨基酸类神经递质变化的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2004, 26:452-455.
- Barker PB, Gillard JH, Kamjona H, et al. Acute stroke: evaluation with serial proton MR spectroscopic imaging. *Radiology*, 1994, 192:723-732.
- Auld KL, Ashwal S, Holshouser BA, et al. Proton magnetic resonance spectroscopy in children with acute central nervous system injury. *Pediatr Neurol*, 1995, 12:323-334.
- Lanferman H, Kugel H, Heindel W, et al. Metabolic changes in acute and subacute cerebral infarctions: at proton MR spectroscopic imaging. *Radiology*, 1995, 196:203-210.
- Peng H, Li YF, Sun SG. Effects of Ginkgo biloba extract on acute cerebral ischemia in rats analyzed by magnetic resonance spectroscopy. *Acta Pharmacol Sin*, 2003, 24:467-471.
- Handa Y, Kaneko M, Matuda T, et al. In vivo proton magnetic resonance spectroscopy for metabolic changes in brain during chronic cerebral vasospasm in primates. *Neurosurgery*, 1997, 40:773-780.
- Kamada K. Sequential observations of brain edema with proton magnetic resonance imaging and spectroscopy. *Hokkaido Igaku Zasshi*, 1996, 71:105-122.
- 叶春林, 于明琨, 江基尧, 等. 颅脑外伤患者额叶¹H 磁共振波谱分析. *中华医学杂志*, 2003, 83:140-141.

(修回日期:2005-11-20)

(本文编辑:吴 倩)