

· 基础研究 ·

大鼠实验性脑出血后 F 波和脊髓前角血流量的改变

李书林 曾琳 蒋晓江 陈曼娥 廖维宏

【摘要】目的 观察实验性大鼠脑内囊出血后脊髓血流量和后肢 F 波的变化,以探讨实验性脑出血对脊髓功能改变的影响。**方法** 采用大鼠自体血缓慢注入右侧内囊后肢,制备大鼠脑内囊出血模型。应用电生理学方法检测左、右侧腓肠肌 F 波的变化,以判断下运动神经元兴奋性改变;同时用氢清除法检测脊髓灰质血流量的改变。**结果** 大鼠右侧内囊出血后,左侧腓肠肌 F 波波幅显著高于右侧($P < 0.01$);出血后第 1 天,左侧腓肠肌 F 波波幅明显升高($P < 0.01$),1、2 周后波幅升高更为明显。F 波的潜伏时也发生了相应的改变,左侧 F 波潜伏时明显低于右侧($P < 0.01$),内囊出血后第 1 天、1 周、2 周, F 波潜伏时明显低于出血前($P < 0.01$)。相反,右侧 F 波波幅及潜伏时与出血前差异无显著性意义($P > 0.05$)。脊髓腰膨大灰质前角局部血流量在出血后 2 周内双侧差异无显著性意义($P > 0.05$)。**结论** 向大鼠内囊定向性注入自体血可以引起对侧肢体腓肠肌 F 波的波幅显著升高,同时 F 波潜伏时明显缩短,表明下运动神经元的兴奋性明显升高,同时脊髓灰质前角血流量双侧并无显著不同,这可能与大鼠脊髓内踏步中枢模式发生器有关。

【关键词】 脑出血; F 波; 血流量; 脊髓

Changes of F wave and spinal cord blood flow in rats with experimental cerebral hemorrhage LI Shu-lin, ZENG Lin, JIANG Xiao-jiang, CHEN Man-e, LIAO Wei-hong. Department of Neurology, Daping Hospital, The 3rd Military Medical University, Chongqing 400042, China

【Abstract】 Objective To explore the effect of cerebral hemorrhage on the function of spinal cord, through observing the changes of F wave of the hindlimb and blood flow in the spinal cord in rats with experimentally-induced internal capsule hemorrhage. **Methods** The internal capsule hemorrhage model was established by injecting self-body blood into the hindlimb of the right capsule. The changes of F wave in the bilateral gastrocnemius muscles were examined to evaluate the excitability of the motor neurons in the anterior horn. Meanwhile, the blood flow in the gray matter of spinal cord was determined by measuring the hydrogen clearance. **Results** Following the right internal capsule-oriented hemorrhage, the amplitude of F wave recorded from the left gastrocnemius muscle increased significantly in the first day after hemorrhage ($P < 0.01$) and increased more obviously after 1, 2 weeks, as compared with that of the right side ($P < 0.01$), the latencies of F wave were also changed. The latencies of F wave from the left gastrocnemius muscle at 1, 2 weeks after-hemorrhage were significantly decreased in compare with those before hemorrhage, as well as those of the right side($P < 0.01$). However, the amplitude and the latencies of F wave recorded from the right side were not significantly changed after hemorrhage was induced ($P > 0.05$), nor was the blood flow of gray matter in the anterior horn of lumbosacral enlargement of the spinal cord within 2 weeks after hemorrhage. **Conclusion** Cerebral hemorrhage caused significant increase of the excitability of the anterior horn motor neurons in the spinal cord, as indicated by the changes of F wave amplitude and latency, but no significant change of the blood flow in the gray matter in the anterior horn was observed.

【Key words】 Cerebral hemorrhage; F-wave; Blood flow; Spinal cord

基底节区是发生脑出血的常见部位,该部位的出血容易引起运动功能损害,使皮质脊髓束对脊髓中间神经元的支配作用中断,从而影响脊髓运动神经元的活动,如脊髓神经元缝隙连接蛋白的表达发生改变

等^[1],而在高等动物中还将失去对前角运动神经元的直接支配作用,造成脊髓执行高级运动指令的功能障碍。研究去上运动神经元支配的脊髓前角运动神经元之电生理特性及微循环的变化,有利于为改善脑出血后所出现的并发症及后遗症提供实验依据。

基金课题:第三军医大学课题(No. 200037)

作者单位:400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所神经内科

材料与方法

一、实验分组及动物模型制备

Wistar 大鼠 16 只, 体重 300 ~ 350 g, 雌雄不限, 随机分为 F 波组和血流量组, 分别在伤前、伤后 1 d、伤后 1 周、2 周连续观察 F 波和脊髓前角血流量的改变。

用 2% 戊巴比妥钠 (40 mg/kg 体重) 对大鼠行腹腔麻醉。麻醉成功后, 将大鼠卧位固定于立体定位仪上, 常规消毒后, 沿矢状缝切开头皮、暴露颅骨, 用牙科钻行颅骨钻孔 (直径约 2 mm, 位点为前囟向后 3.3 mm, 矢状缝右侧 3.2 mm)。钻孔成功后, 将大鼠尾部去毛、常规消毒后, 应用 4.5 号婴儿头皮针行大鼠尾动脉穿刺, 见血液自动流入硅胶管, 再用 200 ml 微量注射器 (微量注射器预先肝素化) 吸出 150 ml 大鼠尾动脉血。在立体定位仪的引导下, 缓慢将微量注射器中自体血注入右侧内囊, 注射部位为前囟向后 3.3 mm, 矢状缝右侧 3.2 mm, 深 7.2 mm。拔出注射针后, 缝合创口并以碘酒消毒。术后应用青霉素预防感染。手术动物清醒后, 大鼠偏瘫体征的观察根据 Bederson 评定方法进行^[1]。

二、大鼠后肢 F 波观察^[2,3]

实验分别在各个时相点将大鼠麻醉后, 将大鼠股后部皮肤纵行切开, 暴露坐骨神经, 用双极银丝电极作为刺激电极, 电极直接钩于坐骨神经上, 记录电极为同芯针电极, 将其垂直于肌纤维方向插入腓肠肌肌腹, 地线固定于大鼠腰部, 分别记录左、右侧 F 波的变化。刺激方波脉冲宽度为 200 μ s, 频率 0.5 ~ 1 Hz, 电流强度为 11 mA。

三、脊髓腰膨大前角灰质局部血流量的变化

实验应用氢清除法检测大鼠脊髓腰膨大左、右侧前角灰质局部血流量。去除 L₁ ~ L₂ 椎板后, L₁ 平面插入记录电极 (脊髓背侧正中沟左侧和右侧傍开 0.62 mm, 深 1.78 mm)^[4], 参考电极放于皮下背阔肌旁, 并行呼吸机辅助呼吸 (70 次/min, 潮气量 2 ml), 待描笔稳定后经气管插管吸入 10% 的氢气 1 min, 记录完整的氢清除曲线。根据公式: 血流量 = $69.3 \div T_{1/2}$ (ml · min⁻¹ · 100 g⁻¹), 计算脊髓灰质左、右前角血流量, 将所测数据的平均值作为统计数据。

四、统计学分析

所有数据均采用 ($\bar{x} \pm s$) 表示 (死亡动物不计入统计学分析), 采用单因素方差分析及配对 *t* 检验进行统计学分析。

结 果

一、神经症状及动物死亡率

大鼠内囊出血后大都发生了不同程度的偏瘫, 发生 3 级偏瘫的大鼠有 7 只, 占 43.8%; 2 级偏瘫有 5 只, 占 31.3%; 1 级 1 只, 占 6.3%; 未造成明确偏瘫者

3 只, 占 18.7%; 总的致偏瘫率为 81.3%。在注射后第 1 天 F 波组动物死亡 1 只, 第 10 天血流量组动物死亡 1 只, 2 周内死亡率为 12.5%。但大鼠偏瘫的出现时间大多在伤后当日, 第 2 天偏瘫体征多不明显。

二、大鼠腓肠肌 F 波波幅变化

内囊出血后左、右侧 F 波波幅差异有显著性意义 ($P < 0.01$), 左侧腓肠肌 F 波波幅高于右侧; 出血后第 1 天左侧 F 波波幅开始升高, 与出血前比较, 差异有显著性意义 ($P < 0.01$); 1 周后 F 波波幅升高更为明显, 与出血前比较, 差异有非常显著性意义 ($P < 0.01$)。右侧 F 波波幅在出血前、后各个时相点差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。脑出血后左侧 F 波波幅与右侧同时相点比较, 差异均有非常显著性意义 ($P < 0.01$)。结果见表 1。

表 1 实验性大鼠脑出血后腓肠肌 F 波波幅的变化 (mV, $\bar{x} \pm s$)

记录部位	脑出血前 (n=7)	脑出血后各时相点		
		1 d (n=7)	7 d (n=7)	14 d (n=7)
左侧腓肠肌	0.84 $\pm$ 0.31	1.42 $\pm$ 0.28 *	1.47 $\pm$ 0.33 *	1.65 $\pm$ 0.40 *
右侧腓肠肌	0.97 $\pm$ 0.25	0.86 $\pm$ 0.34	1.02 $\pm$ 0.27	1.05 $\pm$ 0.30

注: 与右侧同时相点比较, * $P < 0.01$

三、大鼠腓肠肌 F 波潜伏时变化

大鼠脑出血后 F 波潜伏时有明显改变, 左侧腓肠肌 F 波潜伏时较右侧显著缩短, 两组间差异有非常显著性意义 ($P < 0.01$), 出血后 1 周, F 波潜伏时下降到 (5.69 $\pm$ 0.55) ms, 2 周时有升高的趋势, 但与出血前比较差异仍然有非常显著性意义 ($P < 0.01$)。右侧腓肠肌 F 波潜伏时各时相点与出血前比较, 差异均无显著性意义 ($P > 0.05$)。结果见表 2。

表 2 实验性大鼠脑损伤后腓肠肌 F 波潜伏时的变化

记录部位	脑出血前 (n=7)	脑出血后各时相点		
		1 d (n=7)	7 d (n=7)	14 d (n=7)
左侧腓肠肌	7.80 $\pm$ 0.54	7.17 $\pm$ 0.50 *	5.69 $\pm$ 0.55 *	6.83 $\pm$ 0.61 *
右侧腓肠肌	8.02 $\pm$ 0.67	8.60 $\pm$ 0.71	7.92 $\pm$ 0.57	7.79 $\pm$ 0.77

注: 与右侧同时相点比较, * $P < 0.01$

四、脊髓腰膨大前角灰质局部血流量的变化

大鼠脑出血后脊髓灰质前角左侧局部血流量在伤后 1 d 有降低的趋势, 但与出血前比较, 差异无显著性意义 ($P > 0.05$); 左、右侧脊髓灰质前角血流量比较, 差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。结果见表 3。

表 3 实验性大鼠脊髓腰膨大前角灰质局部血流量的变化

检测部位	脑出血前 (n=7)	脑出血后各时相点		
		1 d (n=7)	7 d (n=7)	14 d (n=7)
左侧脊髓前角	53.06 $\pm$ 9.24	47.76 $\pm$ 8.07	50.70 $\pm$ 10.63	52.89 $\pm$ 6.80
右侧脊髓前角	55.98 $\pm$ 8.46	52.87 $\pm$ 9.83	49.53 $\pm$ 11.12	50.45 $\pm$ 9.78

讨 论

脑出血后脊髓功能的改变常常是影响神经功能康复的重要因素之一,脊髓屈肌反射和脊髓 α 运动神经元兴奋性的增加常引起肌痉挛,成为脑卒中后常见的后遗症和功能康复的重要障碍。本研究所用动物脑出血模型类似于临床脑出血,损伤的基本因素来自动物自体血,一方面引起锥体束的机械性损伤,另一方面也引起化学性损伤,如红细胞的降解、白细胞、血浆内成分等的变化引起神经元及神经纤维的继发性损害,因而适宜地模拟了临床脑出血过程。

F 波^[6-8]是神经干超强电刺激引出的位于 M 波后的一个迟发的运动成分,由运动神经回返放电所致,它直接反映的是脊髓前角 α 运动神经元的兴奋性,不象 H 反射要受到温度、昼夜节律等多种因素的制约^[3]。F 波不是反射,仅仅是对刺激的反应,而 H 反射属于单突触反射;H 反射的传入纤维为 Ia 感觉纤维,传出为 α 运动纤维,F 波则传入和传出均为 α 运动纤维。本实验结果显示,经右侧内囊定向性自体动脉血注射后,大鼠 F 波出现了明显的双侧不对称,左侧 F 波潜伏时缩短,同时波幅增高,而且右侧 F 波的波幅及潜伏时与损伤前无明显变化。这说明左侧 F-反应的速度明显加快了。Pearson 等^[9]认为,F 波的参数中最大潜伏时和平均潜伏时较最小潜伏时意义更大,仅仅有一半以下的运动神经元可通过逆向刺激而被激活,而且参与产生 F 反应的 α 运动神经元可能是高阈值的神经元,正与参与 H 反射的 α 运动神经元相反(它们是低阈值的神经元)。而且这些 α 运动神经元体积应该较大,因为大的神经元的超始段可以更快地被逆向去极化再极化。周围神经病变时,下运动神经元参与 F-反应数量减少^[9];相反,我们认为中枢神经损害后,脊髓运动神经元缝隙连接的开放,有利于 α 运动神经元同步化放电,使参与 F-反应的神经元数量增加,同时单个运动神经元的兴奋性也增加,引起了 F-反应的增强^[1]。

实验中我们同时观察到,脊髓腰膨大灰质前角局部血流量双侧无显著性改变。其原因可能与大鼠脊髓及脑干的中枢模式发生器(central pattern generators)有关^[9],它控制着动物踏步行走的基本节律,甚至在去除了从周围传入的反馈作用后,也能产生基本的行走运动模式;中枢模式发生器中的神经元和突触可由化学信号调节,其功能依赖于被激活模式以及所接受的传入模式。当去除动物大脑后,行走运动可以用电刺激中脑行走区而启动;脊髓横切动物模型中,中枢产生的行走活动可在给予左旋多巴和尼阿拉米后而诱发。这些研究表明,行走的基本节律产生于中枢的脊

髓网络中。但是,来自腿部的伸肌和屈肌的传入信号调节着从肢体的站立姿势到肢体的摆动的转化过程,同时,从脑部来的传出信号调节着行走的强度和根据动物行走的地貌来修正踏步运动。大鼠脊髓行走中枢支配的肢体的踏步活动可以满足基本的行走行为,同时有研究认为^[10],锻炼或活动不仅可以改善人脑血流量及认知功能,而且可以促进纹状体多巴胺与其受体的结合。由于中枢模式发生器的存在,大鼠的行走功能得以恢复,而运动本身使脊髓血流量得到增加。因此,它们可能是脊髓前角血流量双侧差异无显著性意义的原因,而且内囊的出血并不是将所有的锥体束均破坏,同时脑干的行走中枢模式发生区的完整也保证了其肢体活动。这些可能是脊髓血流量无明显改变和肢体瘫痪时间很短的原因。

综上所述,内囊定向的脑出血可以较好地模拟临床脑出血的发病过程,引起明显的 F 波波幅升高及潜伏时缩短,表明下运动神经元的兴奋性明显升高;但是脊髓灰质前角血流量双侧并无显著不同,而且瘫痪时间短暂,可能与大鼠脊髓内踏步中枢模式发生器有关。

参 考 文 献

- 1 李书林,曾琳,龙在云,等. 大鼠脑内囊出血后脊髓缝隙连接蛋白 Cx32 和运动诱发电位的变化及意义. 中华物理医学与康复杂志, 2003, 25: 71-74.
- 2 熊革,郭铁成,罗永湘. 大鼠后肢肌电图 H 反射和 F 波的研究. 中国康复, 1999, 14: 129-130.
- 3 李书林,蒋晓江,许志强,等. 实验性大鼠内囊出血后 H 反射的改变及意义. 中华物理医学与康复杂志, 2002, 24: 548-550.
- 4 Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 2nd ed. California: Academic Press Inc, 1986. 117-119.
- 5 吴珊鹏,罗永湘. 脑性瘫痪大鼠颈交感神经阻断后神经症状及肌张力的研究. 现代康复, 2000, 4: 386-387.
- 6 Papathanasiou ES, Zamba E, Papacostas SS. Radial nerve F-wave: normative values with surface recording from the extensor indicis muscle. Clin Neurophysiol, 2001, 112: 145-152.
- 7 Johnsen B, Fuglsang-Frederiksen A. Electrodiagnosis of polyneuropathy. Neurophysiol Clin, 2000, 30: 339-351.
- 8 Mamoto T, Takakura S, Kawamura I, et al. The effect of zenarestat, an aldose reductase inhibitor, on minimal F-wave and latency and nerve blood flow in streptozocin-induced diabetic rats. Life Science, 2001, 68: 1439-1448.
- 9 Pearson K, Gordon J. Locomotion. In: Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, eds. Principles of Neural Science. 4th ed. Peking: Science Press, 2001. 737-755.
- 10 McCloskey DP, Adamo DS, Anderson BJ. Exercise increases metamorphic capacity in the motor cortex and striatum, but not in the hippocampus. Brain Res, 2001, 891: 168-175.

(修回日期: 2003-07-07)

(本文编辑: 熊芝兰)