成年大鼠胸髓损伤修复后的形态学和电生理学研究

李晓光[①②*] 杨朝阳[①②*] 杨 怡[③]

(① 首都医科大学北京神经科学研究所, 北京 100069; ② 北京航空航天大学生物工程学系, 北京 100083; ③ 国家生物医学分析中心, 北京 100850. * 同等贡献. E-mail: lxgchina@sina.com)

摘要 在成年大鼠胸髓第 9 节段造成脊髓右侧 2/3 横断损伤, 将本研究设计的一种植有 L-多聚赖氨酸的壳聚糖导管植入脊髓损伤区, 为脊髓再生提供一个独立的微环境. 术后 12 个月, 通过对脊髓损伤区的壳聚糖导管内的新生组织的超微结构观察发现, 植有 L-多聚赖氨酸的壳聚糖导管可促进有髓、无髓纤维和血管的再生. 电生理学检测也证实, 植有 L-多聚赖氨酸的壳聚糖导管对于大鼠伤侧体感诱发电位和运动诱发电位的长期恢复起到关键性的作用. 研究结果表明, 植有 L-多聚赖氨酸的壳聚糖导管对于脊髓损伤后结构的再生及功能的长期恢复具有重要作用, 为临床应用提供了新的思路.

关键词 脊髓损伤 中枢神经系统再生 壳聚糖导管 运动诱发电位 体感诱发电位 经颅磁刺激器

诱发电位是评价神经系统功能状态的有效指标[1]. 用颅磁刺激大脑皮层的运动区, 在脊髓、外周神经或肌肉上可记录到电信号, 即颅刺激运动诱发电位(transcranial magnetic stimulation motor evoked potential, TMS-MEP)是评价下行运动传导路功能状态的敏感手段[2]. 当刺激肌肉或外周神经时, 在大脑皮层感觉区可记录到体感诱发电位(somatosensory evoked potentials, SEP)的信号, 它可反映位于脊髓背索的上行传导通路的功能状态[3,4]. 两者结合可有效检测脊髓损伤节段、损伤的程度以及修复后功能恢复的程度[5]. 成年哺乳动物的中枢神经系统损伤后, 轴突难以再生, 这将导致动物肢体长期的瘫痪. 研究者们曾尝试各种方法来促进中枢神经系统的轴突再生、延伸并进入靶组织以促进脊髓功能的恢复. 研究表明, 在适宜的微环境里CNS的轴突可再生, 并且动物伤侧肢体有一定的功能恢复[6~9]. 但是考虑到未来临床方面的实际应用, 为了避免伦理道德争议和免疫排斥反应等问题, 寻找生物相容性好、能促进CNS的轴突再生、功能长期恢复的生物医用材料支持系统是至关重要的.

研究设计了一种植有 L-多聚赖氨酸的壳聚糖导管. 这种导管的降解速度很慢, 在体内完全降解需要 1.5 年的时间, 实验结果表明, 这种植有 L-多聚赖氨酸的壳聚糖导管具有减轻继发性损伤, 促进轴突与血管再生, 重建其生理功能的作用.

1 材料与方法

(ⅰ) 壳聚糖导管的制作. 在无菌状态下, 将脱乙酰化 85%的壳聚糖(Sigma, 美国)溶于 5%的乙酸溶液(2%), 过滤. 将上述壳聚糖溶液倾入一个经过无菌消毒的不锈钢模具中. 此模具由一个外层导管和位于导管中央的轴芯组成, 轴芯的直径为 1.8 mm. 外层导管和轴芯之间的距离可以决定壳聚糖导管管壁的厚度. 本研究把这个距离设定为 0.2 mm. 经过 48 h 真空冷冻干燥后, 将模具的外层导管和轴芯分开, 得到外径为 2 mm, 内径为 1.8 mm 的壳聚糖导管. 将其再浸泡入蒸馏水中, 多次更换蒸留水使其达到中性. 将此导管切成长 4.0 mm 的小段以备用.

在 4℃无菌状态下, 将 L-多聚赖氨酸溶解于生理盐水, 经过真空冷冻干燥后(控制冷冻的温度和速度), 得到具有微孔的 L-多聚赖氨酸基质(孔的平均直径 5~8 μm), 每个壳聚糖导管中加微孔的 L-多聚赖氨酸基质 1.5 mg.

(ⅱ) 手术过程和动物护理. 取 48 只体重在 250~300 g 之间 Wistar 雌性大鼠用 6%的水合氯醛腹腔麻醉(0.6 mL/kg 体重), 在手术显微镜下切除第 9~10 胸髓的椎板, 用 11 号手术刀片在第 9~10 胸髓节段切除右侧长 4 mm, 宽 2.0 mm 的脊髓组织. 用手术刀片在损伤局部的椎骨表面反复刮擦, 以去处残余组织. 局部止血后, 由与实验无关人员确定损伤的宽度和长度范围. 将 Wistar 雌性大鼠分成 3 组: 第 1 组, 共 18 只, 大鼠损伤部位植有 L-多聚赖氨酸的壳聚糖导管(管+多聚赖氨酸); 第 2 组, 共 18 只, 大鼠损伤部位植有不含 L-多聚赖氨酸的壳聚糖导管(空管对照组); 第 3 组, 共 12 只, 在大鼠相应的脊髓节段造成损伤不进行移植(单纯损伤组). 缝合肌肉、皮肤. 术后对实验大鼠进行膀胱按摩, 一天 2 次, 直至膀胱排

尿反射功能恢复. 本实验涉及的所有操作程序都经首都医科大学实验动物研究中心批准和认可.

(iii) 大体观察. 术后 12 个月, 每组大鼠任取 4 只, 过量麻醉后杀死, 经心脏灌流后, 小心取出脑和脊髓, 固定于 4℃的 4%的多聚甲醛溶液中 6~8 h, 然后用解剖显微镜观察样本.

(iv) 透射电子显微镜研究. 术后 12 个月每组大鼠各取 5 只, 深度麻醉下用 4%多聚甲醛+2%戊二醛经心脏灌流后, 小心取出脑与脊髓, 置于 4℃的 4%多聚甲醛+2%戊二醛后固定. 取导管内新生组织的头端、中段、尾端放入 3%的四氧化锇溶液 2 h, 然后用 0.075 mol/L 的 PBS 洗数次, 梯度酒精和丙酮脱水, 环氧树脂包埋. 样品经 1 μm 的半薄切片, 苏木素染色, 并对有髓及无髓纤维进行记数. 将用于电子显微镜观察的超薄切片进行醋酸双氧铀-枸橼酸铅染色, 用 Philips CM 10 投射电子显微镜下观察.

(v) 电生理学检测. 我们在术前、术后 15, 40, 60 d 及 12 个月对每组实验动物(n = 6)进行电生理学的检测, 所涉及的指标有体感诱发电位(SEP)和运动诱发电位(TMS-MEP). 磁刺激器为丹麦 Dantec 公司产 Magpro Compact 型磁刺激器(S-100 型、圆形刺激线圈, 直径 5 cm, 最大输出强度 2 T). 实验大鼠用氯氨酮(50 mg/kg)肌肉注射麻醉后, 用布带将大鼠四肢外展固定于木板上, 磁线圈中心置于大脑皮层运动区之上, 刺激强度以所记录的靶肌出现收缩为准, 即最大输出强度的 20%~40%. 记录电极置于双后侧肢胫骨前肌的肌腹表面, 参考电极置于记录电极远端 2 cm 处, 接地电极位于腹部. 信号经 Keypoint-Ⅱ型两通道诱发电位/肌电图仪放大并记录, 滤波带通 2 Hz~10 kHz, 放大器的灵敏度为 0.1 mV/D. 室温维持在 25~28℃, 重复测试. 测量起始潜伏期, Negative 峰~Positive 峰之间距离.

在给实验大鼠进行TMS-MEP检测前, 我们进行了运动阈值(motor threshold, MT)的确定. 为了确定阈值, 刺激强度下降到动物肢体无反应的水平, 然后逐渐以 10%的量升高刺激强度, 直到动物肢体作出反应, 每次实验要多次重复[2]. 研究者们还证实, 当 TMS-MEP的波幅≥15 μV 时, 就可认为刺激强度已在阈上[10].

用额外的一只大鼠, 用上述方法检测双下肢的 TMS-MEP后, 在C7 节段切断其脊髓, 用来判定从胫骨前肌记录到反应是运动诱发电位而不是从磁刺激部位通过容积传导而得到的伪迹[11].

我们对上述经过磁刺激检测的实验大鼠进行了体感诱发电位的检测. 用Keypoint-Ⅱ型两通道诱发电位/肌电图仪进行了SEP的检测. SEP为刺激电极, 即正、负针电极. 正极分别插入双后肢胫骨前肌肌腹, 深 1.5 mm; 负极位于正极远端 2 cm处, 分别对双后肢胫骨前肌进行连续刺激, 刺激强度 3 mA(以引起大鼠后肢脚趾微动为宜)[3], 刺激波宽 0.2 ms, 放大器的灵敏度为 10 μV/D, 滤波带通 20 ~3000 Hz, 分析时程 80 ms, 平均 200 次, 分别在大鼠大脑皮层感觉区之上的颅骨表面记录SEPs, 测量潜伏期(P1), 波幅(P1-N1). 刺激电极与记录电极之间的距离要保持一致.

术后 12 个月上述实验大鼠每组任取 4 只, 在氯氨酮麻醉状态下, 在胸髓 9~10 节段进行椎板切除, 切开硬脊膜, 暴露胸髓 8~10 节段, 切断并去除导管对侧长 5 mm 正常脊髓, 用刀片沿椎骨表面反复刮擦, 并把残余的纤维吸出, 然后插入液体石蜡浸泡过的棉球, 对实验大鼠再次进行双侧的 MEP, SEP 检测, 所涉及的参数与上述相同, 测量潜伏期及波幅. 刺激电极与记录电极之间的距离要保持一致. 此测试结束后, 最后在手术显微镜下切断导管内新生的组织, 并插入塑料隔板, 对实验大鼠再次进行两侧的 MEP 及 SEP 的检测.

对于 TMS-MEP, 取磁刺激强度为 25%的最大输出强度时的潜伏期和波幅进行统计分析; 对于 SEP, 取电刺激强度为 3 mA 时的潜伏期和波幅来进行统计分析. 数据以平均值±标准差(M±SD)表示, 组间各均值间差异比较采用方差分析, 显著性差异水平取 $P < 0.05$. 采用 SPSS 11.0 统计软件进行分析.

2 结果

在整个的实验过程中, 一只实验组大鼠因麻醉意外死亡, 其余 47 只大鼠都存活一年并且没有明显的体重减轻.

2.1 形态学研究

(i) 大体观察. 术后 12 个月, 在解剖显微镜下可以观察到实验组大鼠脊髓损伤区尚未降解的壳聚糖导管内有横贯导管全长的新生组织(图 1(a)~(c)); 空管对照组实验大鼠脊髓损伤区的导管内没有新生组织(图 1(d)); 空管对照组和单纯损伤组实验大鼠脊髓损伤区的头端和尾端都有不同程度的萎缩、变性(图 1(d)和(e)).

(ii) 透射电子显微镜观察. 如图 2(b)所示, 新

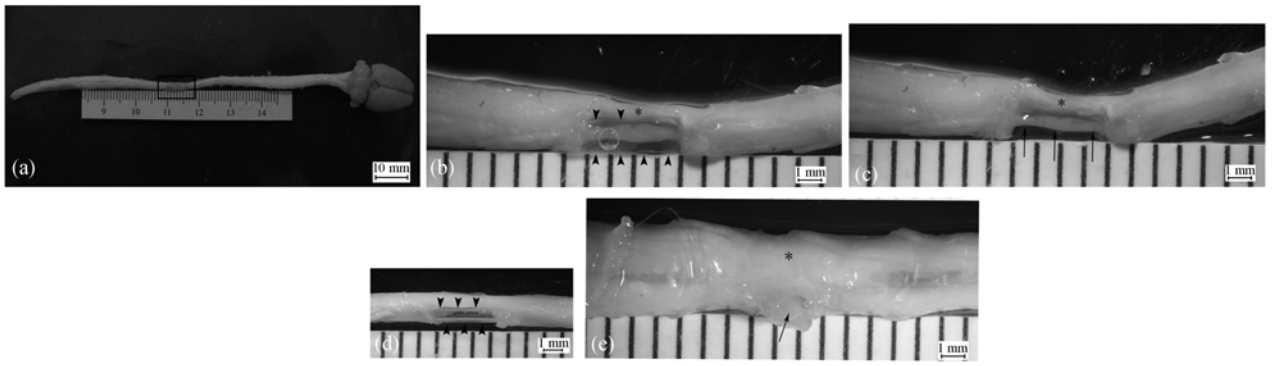

图 1 术后 12 月的脑和脊髓背面观

每组动物任取 1 只. (a) 实验组. 大鼠第 9 胸髓右侧 2/3 损伤, 损伤区植入植有 L-多聚赖氨酸的壳聚糖导管, 框的部位为手术部位. (b)和(c)为(a)图中框部位的高倍图像. 箭头所指为导管内新生的脊髓组织, 其对侧为正常脊髓组织(*). 术后 12 月导管壁尚未降解(箭头). (d) 空管对照组. 导管内没有新生组织, 导管对侧为正常脊髓组织(*). 术后 12 个月导管壁仍未降解(箭头所示). (e) 单纯损伤对照组. 上半部分为术中残留的正常脊髓组织(*), 正常脊髓组织的对侧在术中被切除. 箭头所指为手术损伤部位, 术后 12 个月损伤区已被结缔组织和瘢痕所填充

生脊髓组织的中段的半薄切片, 经苏木素染色后, 用光学显微镜观察, 并对有髓纤维进行记数. 透射电子显微镜观察结果显示, 新生脊髓组织中含有大量的有髓、无髓纤维和丰富的血管. 实验组大鼠新生脊髓组织的中段有髓纤维数量的均值为是 25370.00±11362.08/mm^2 (M±SD, n = 5), 而空管对照组大鼠导管内没有新生组织, 单纯损伤组大鼠脊髓损伤区中段的有髓纤维数量的均值是 4910.00±2295.16/mm^2. 实验组动物脊髓损伤区导管内每平方毫米有髓纤维的数量与正常大鼠相比 (n = 5, 正常大鼠脊髓第 9 节段有髓纤维数量的均值是 27310.00±2122.41/mm^2)没有显著性差异(Kruskal-Wallis test, Mann-Whitney test, bonferroni post hoc analysis, P = 0.471), 但与两组对照组有明显的统计学差异(Kruskal-Wallis test, Mann-Whitney test, Bonferroni post hoc analysis P = 0.000, P = 0.000).

2.2 大鼠的体感和运动功能一定程度的恢复

在本实验中, 我们确定了运动阈值, 正常大鼠的运动阈值是磁刺激器最大输出强度的 20%, 我们选用了最大输出强度的 20%~40%作为磁刺激强度, 取刺激强度是 25%最大输出强度时的潜伏期和波幅作统计分析, 以术前正常大鼠的各项电生理检测数据为正常对照(n = 6). TMS-MEP 具有稳定的潜伏期和可重复性, 但是个体之间从 N 峰到 P 峰的波幅变化较大. 脊髓损伤前记录的 TMS-MEP 波形稳定. 起始潜伏期和峰-峰波幅值分别为: 左后肢, 6.42±1.41 ms, 0.24±0.12 mV; 右后肢, 8.36±3.05 ms, 0.21±0.11 mV. 术后 15 d. 各组动物的TMS-MEP信号均有明显改变, 以 20%~40%的最大输出强度加以刺激后, 各组实验大鼠右侧胫骨前肌的TMS-MEP仍不能引出. 由于正常大鼠胸髓第 9 节段长 5 mm, 宽 3 mm[11], 我们在手术过程切除了胸髓第 9 节段长 4.0 mm, 宽 2 mm的脊髓组织, 不仅将右半侧脊髓全部切除, 同时使左半侧正常脊髓也受到了切割性损伤. 又因为手术所造成的继发性的损伤也影响左半侧脊髓, 导致左后肢胫骨前肌的TMS-MEP波幅降低约 45%~50%, 其潜伏期也延长了 50%. 术后 40 d, 实验组大鼠右侧胫骨前肌的TMS-MEP的波幅有所恢复. 12 个月后实验组大鼠的起始潜期与峰-峰波幅分别是: 左后肢, 12.37± 3.05 ms, 0.10±0.075 mV; 右后肢, 17.73±4.11 ms, 0.073±0.051 mV. 与术前正常值相比, 实验组大鼠左后肢的起始潜伏期与术前正常值相比无差异(ANOVA, Least-significant difference, P = 0.151), 但峰-峰波幅与术前正常值相比有显著性差异(ANOVA, Least-significant difference, P = 0.008). 实验组大鼠左后肢的起始潜伏期与单纯损伤组和单纯空导管组的大鼠的左后肢的起始潜伏期相比具有显著性差异(ANOVA, Least-significant difference, P = 0.000, P = 0.003), 但峰-峰波幅相比无显著性差异(ANOVA, Least-significant difference, P = 0.222, P = 0.514). 实验组大鼠右侧胫骨前肌的TMS-MEP的起始潜伏期和峰-峰波幅与术前正常值相比都具有显著性差异(t-test, P = 0.001, P = 0.033), 在相同的磁刺激强度下, 单纯损伤组和单纯空导管组实验大鼠伤侧后肢的TMS-MEP不能引出来(图 3(c)).

实验组大鼠右后肢本体感觉功能的恢复要晚于

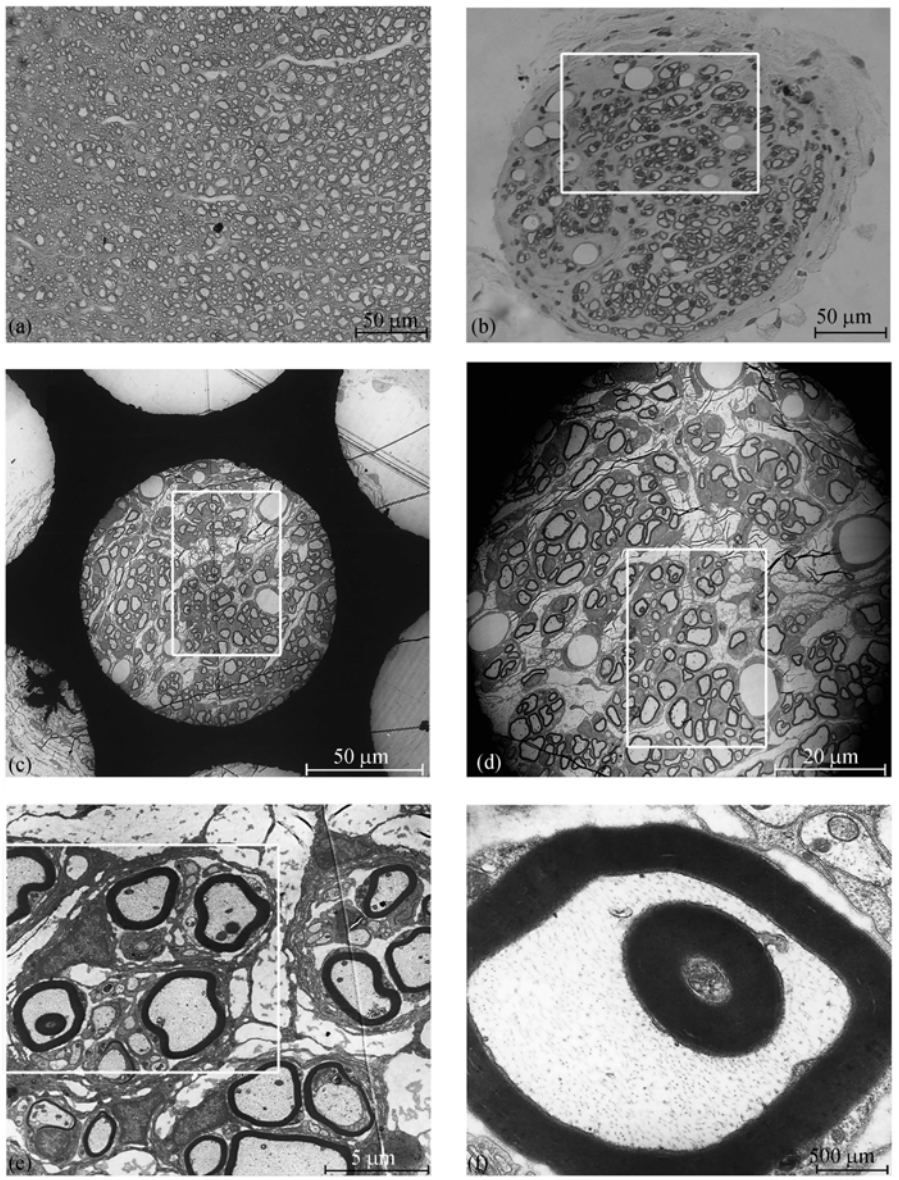

图 2 光学显微镜和电子显微镜观察

(a) 正常大鼠脊髓胸 9 节段半薄横切片. (b) 术后 12 个月实验组大鼠导管内新生的脊髓组织取其中段长 1 mm 的组织做半薄切片, 苏木素染色, 光学显微镜下观察可见新生组织内有大量新生的血管和有髓及无髓纤维. (a)~(f) 横切面电子显微镜图像显示实验组大鼠术后 12 个月, 新生脊髓组织中有大量的有髓纤维

运动功能的恢复, 脊髓损伤前记录的 SEP 波形稳定, 主要由 3 个可确定的波组成(图 3(a)), 潜伏期分别为 7.3~10.2 ms (P1), 12.1~13.5 ms (N1), 17.1~21.0 ms (P2), 波幅值(P1-N1)为 12.0~19.0 μV; 实验大鼠术前双后肢的潜伏期(P1)与波幅(P1-N1)分别是: 左后肢, 8.38±1.37 ms, 15.11±5.38 μV; 右后肢, 9.53±1.12 ms, 18.19±8.66 μV. 术后 15 d, 各组实验动物的 SEP 的信号均有所改变, 刺激强度逐渐增强后(3~10 mA), 右侧胫骨前肌的 SEP 仍不能引出, 左侧胫骨前肌的 SEP 波幅降低约 40%~50%, 潜伏期延长 50%. 术后 40 d, 即使加大刺激强度(3~10 mA) 各组实验大鼠右侧胫骨前肌的 SEP 仍不能引出. 术后 60 d, 实验组大鼠右侧胫骨前肌的 SEP 的波幅有所恢复. 12 个月后, 实验组大鼠双后肢的潜伏期(P1)与波幅(P1-N1)分别是: 左后肢, 13.45±3.06 ms, 8.84±3.83 μV; 右后肢, 16.42±5.16 ms, 11.02±7.69 μV; 实验组大鼠左后肢的 SEP 的潜伏期(P1)和波幅(P1-N1)与术前左后肢的正常值相比有差异(ANOVA, Least-significant difference,

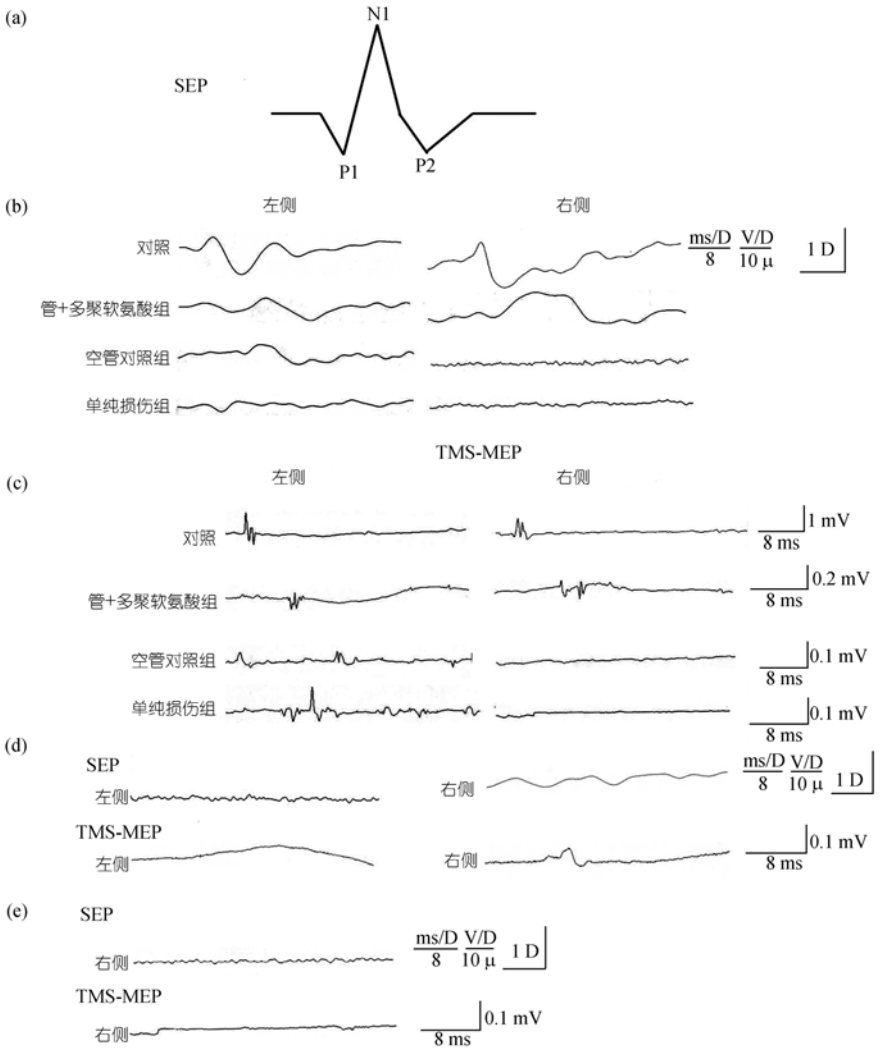

图 3 电生理检测

(a) SEP 的 3 个主要成分. N 示负波, P 示正波. (b) 体感诱发电位(SEPs). 分别在右侧(left trace)和左侧(right trace)大脑皮层感觉区记录到的图形的代表曲线. 正常大鼠和实验组大鼠的 SEPs 都具备 3 个主要成分, 它们的起始波均为正波(downward). 术后 1 年实验组大鼠伤侧的 SEP 保持着典型的 3 个波峰的外形. 在相同的刺激强度下(3 mA), 刺激单纯损伤组和空管组大鼠右后肢时, 在左侧大脑皮层感觉区不能记录到任何信号. (c) 经颅磁刺激运动诱发电位(TMS-MEPs). 分别刺激左侧(right trace)和右侧(left trace)大脑皮层运动区, 在大鼠右侧和左侧后肢可记录到运动诱发电位的代表图形. 在相同刺激强度下(最大输出刺激的 20%~40%), 刺激单纯损伤组和空管组大鼠的左侧大脑皮层运动区, 在右后肢不能记录到运动诱发电位. 每一个波形重复测试两次. 在起始波幅之后偶尔有些小的重复性差的波形出现. (d) 切断并去除导管对侧正常脊髓, 并塞入浸泡过液体石蜡的棉球, 再一次测试实验大鼠双侧肢体的 SEP 和 MEP. 实验组大鼠的 TMS-MEP 和 SEP 的代表图形. 右侧肢体的 SEP 和 MEP 均可引出(right trace), 左侧肢体的 SEP 和 MEP 均不可引出(left trace). (e) 将导管内新生的组织切断后, 实验组大鼠右侧肢体的 SEP 和 MEP 均消失. (d)和(e)是实验组一只大鼠电生理图形的代表

$P = 0.027$, $P = 0.006$), 与单纯损伤组和单纯空导管组大鼠左侧胫骨前肌的 SEP 的波幅与潜伏期相比不具有显著性差异(ANOVA, Least-significant difference, $P > 0.05$). 实验组大鼠右后肢的 SEP 的潜伏期(P1)与术前右后肢的正常值相比具有差异(*t*-test, $P = 0.021$), 波幅(P1-N1)与术前右后肢的正常值相比不具有差异(*t*-test, $P = 0.161$). 在相同的刺激强度下(3~5mA), 两组对照组大鼠右侧的 SEP 均不能引出来(图 3(b)). 术后 12 个月上述实验大鼠每组任选 4 只, 切断并去除导管对侧长 4.0 mm 正常脊髓, 用刀片沿椎骨表面反复刮擦, 并把残余的纤维吸出, 然后插入液体石蜡浸泡过的棉球, 对实验大鼠再次进行双侧的 MEP 及 SEP 检测. 对实验组大鼠, 当刺激左侧胫骨前肌时在右侧大脑皮层感觉区不能引出 SEP, 但当刺激右侧胫骨前肌时在左侧大脑皮层感觉区能引出 SEP(刺激强度 3~5 mA); 但对空管组大鼠, 分别刺激左右侧胫骨

前肌时在右侧和左侧大脑皮层感觉区都不能引出 SEP.

当磁刺激右侧大脑皮层运动区时(刺激强度是最大输出强度的 20%~40%), 在左侧和右侧胫骨前肌都不能记录到 MEP; 当磁刺激左侧大脑皮层运动区时, 在右侧胫骨前肌能记录到 MEP, 但左侧胫骨前肌不能记录到 MEP (图 3(d)); 当在手术显微镜下切断导管内新生的组织后, 双下肢的 SEP 和 MEP 均消失了(图 3(e)), 因此我们认为诱发电位是通过脊髓损伤区内的移植的导管内的新生神经纤维进行传导的. 空管组大鼠: 切断并去除导管对侧长 4.0 mm 正常脊髓后, 当分别磁刺激左、右侧大脑皮层运动区时, 在左右侧胫骨前肌都不能能记录到 MEP, 这是因为在空管组大鼠脊髓损伤区的导管内没有新生的神经组织, 因此诱发电位不能通过缺损进行传递.

以上的实验结果证明实验组大鼠脊髓损伤区的导管内的新生组织具有神经组织的生理功能.

3 讨论

本项研究目的是在大鼠胸髓右侧 2/3 损伤的模型中, 利用植有 L-多聚赖氨酸的壳聚糖导管改善脊髓损伤区局部的微环境, 诱导神经纤维再生并向靶部位延伸, 以促进伤侧肢体的感觉和运动功能得到一定程度的恢复.

本研究结果是: (ⅰ) 在脊髓损伤区的壳聚糖导管内有新生的神经纤维; (ⅱ) 电生理学检测结果提示植有 L-多聚赖氨酸的壳聚糖导管可以促进大鼠伤侧肢体的本体感觉功能和运动功能明显恢复.

SEP和TMS-MEP能综合地反映实验大鼠在健康状态, 损伤状态及康复阶段的本体感觉和运动功能的状态. TMS-MEP是在给圆形线圈通以单脉冲、大电流时, 使线圈可产生高场强的磁场, 该磁场可无衰减地穿过皮肤及颅骨, 在大脑皮层运动区的神经组织产生环行感应电流, 使神经细胞去极化, 从而顺其轴突传导[3].

对于TMS-MEP而言, 当刺激大鼠的皮层时, 随着刺激参数的不同, 会诱发出短潜伏期和长潜伏期的电位[2,10,12~14]. 选择性脊髓损伤的研究已证实, 短潜伏期的MEPs是通过脊髓的外侧索和腹侧索进行传导的, 而长潜伏期的MEPs是通过脊髓完整的背索进行传导的[14~16] 在大鼠, 位于背外侧索的红核脊髓束受直接刺激后, 其平均传导速度是 74 m/s; 顶盖脊髓束和网状脊髓束位于外侧索和腹索[17,18]. 有研究认为, 网状脊髓束的传导速度在 16~80[21]到 50~76 m/s[20] 之间, 位于脊髓后柱的皮质脊髓束由大量的无髓和薄髓纤维组成[21], 其传导速度在 5~19 m/s之间[22,23]. 另有研究认为, 在肌肉上记录的短潜伏期的电位(5~8 ms)是脑干源性的, 而那些潜伏期＞15 ms 的MEPs是皮层源性的[13,14,24].

以前对大鼠、猫和灵长类动物的研究证实, 以接近阈值的刺激强度刺激运动皮层, MEPs沿皮质脊髓束进行传递[15,25,26]. 当用阈上强度经颅刺激大鼠时, MEPs是沿着位于前索和腹外侧索的锥体外系进行传导的[14,15]. Luft等人[10]也报道了相似地研究, 他认为TMS-MEP存在皮层源性和皮层下源性两种类型, 低强度的磁刺激只能穿透大脑浅层激活皮层或皮层发出的下行纤维, 高强度的磁刺激才能激活大脑深层结构. 在本研究中, 我们确定了运动阈值, 即是磁刺激器最大输出强度的 20%, 我们选用了刺激强度是25%最大输出强度时的潜伏期和波幅作统计分析. 研究结果表明, 当以 25%~40%的最大输出强度作为磁刺激强度时, 术后一年实验组大鼠伤侧肢体的MEPs的起始潜伏期是在 14.7~18.0 ms 之间, 与皮层源性的电位有很好的一致性.

类似于其他哺乳类动物, 大鼠的SEP主要是通过背索和背外侧索进行传导的, 但也有腹侧索的成分间接参与[27], Fehlings等人[28]的研究表明, 当刺激强度超过阈值(2.9±0.8 mA)一直增强到 10 mA 时对SEP的潜伏期和波幅没有明显的影响. 他们的研究还证实了当切断大鼠脊髓的背柱时后肢的SEP消失.

当给予高强度刺激时, 脊髓丘脑束也许会参与SEP的发生[29], Aδ和C纤维的阈值高于Aβ纤维的 5~10倍[30], 低强度的刺激只能兴奋主要位于背柱的大直径的本体感觉传入纤维而不能兴奋脊髓丘脑束中与疼痛有关的传入纤维[31]. 在本研究中, 我们所用的刺激强度是 3~5 mA, 因此也就可以解释为什么在本实验中脊髓丘脑束并没有参与SEP 的发生和传导.

有许多研究已经对借助导管移植物诱导中枢神经系统轴突再生进行了报道[32~35]. 体内与体外的实验显示了中枢神经系统的轴突可以沿着线形的基质包括粘连的蛋白和人工合成的丝生长并延长[36,37]. 在本实验中, L-多聚赖氨酸作为基质, 以诱导轴突延伸, 本实验形态学的研究结果证明了导管内的新生组织是神经组织, 存在大量的有髓、无髓纤维以及丰富的血管, 这些结果有利于解释大鼠体感和运动功能的恢复, 但对于其作用机理还有待深入研究.

致谢 本工作受国家自然科学基金重点项目(批准号: 30330220)、北京市自然科学基金重点项目(批准号: 7041002)、国家高技术研究发展计划(编号: 2005AA205)、北京市科委重大科技攻关项目(批准号: H020920040430)资助.

参 考 文 献

1 Arunkumar M J, Babu S K, Chandy M J. Motor and somatosensory evoked potentials in a primate model of experimential spinal cord injury. Neurol India, 2001, 49: 219—224
2 Linden D R, Zhang Y R, Burke D A. et al. Magnetic motor evoked potential monitoring in the rat. J Neurosurg (Spine 2), 1999, 91: 205—210
3 Simpson R K, Baskin D S. Corticomotor evoked potentials in acute and chronic blunt spinal cord injury in the rat: Correlation with neurological outcome and histological damage. Neurosurgery, 1987, 20: 131—137
4 Hurlbert J R, Koyanagi I, Tator H C. Sensory evoked potentials for selective monitoring of the rat spinal cord: A Cerebellar evoked potential to assess ventral cord integrity. J Neurotrauma, 1993, 10: 181—200
5 Dietz V, Curt A. Electrophysiological recording in patients with spinal cord injury: significance for predicting outcome. Spinal Cord, 1999, 37: 157—165[DOI]
6 Cheng H, Cao Y H, Olson L. Spinal cord repair in adult paralegic rats: Partial restoration of hind limb function. Science, 1996, 273: 510—514
7 Teng Y D, Lavik E B, Qu X L, et al. Functional recovery following traumatic spinal cord injury mediated by a unique polymer scaffold seeded with neural stem cells. Prog Natl Acad Sci USA, 2002, 99: 3024—3029[DOI]
8 Schnell L, Schneider R, Kolbeck R. Neurotrophin-3 enhances sprouting of corticospinal tract during development and after adult spinal cord lesion. Nature, 1994, 367: 170—173[DOI]
9 Kim J E, Li S X, GrandPré T D, et al, Axon Regeneration in young adult mice lacking Nogo-A/B. Neuron, 2003, 38: 187—199[DOI]
10 Luft A R, Lang A K, Hauser T K, et al. Transcranial magnetic stimulation in the rat. Exp Brain Res, 2001, 140: 112—121[DOI]
11 Waibl H. Zur Topographie der Medulla spinalis der Albinoratte (Rattus norvegicus). Berlin, New York: Spronger-Verlag, 1973. 47
12 Ryder J, Zappulla R, Nieves J. Motor evoked potentials elicited from pyramidal stimulation and recorded from the spinal cord in the rat. Neurosurgery, 1991, 28: 550—558[DOI]
13 Kalderon N, Fuks Z. Severed corticospinal axons recover electrophysiologic control of muscle activity after X-ray therapy in lesioned adult spinal cord. Prog Natl Acad Sci USA, 1996, 93: 11185—11190[DOI]
14 Kamida T, Fujiki M, Hori S, et al. Conduction pathway of motor evoked potentials following transcranial magnetic stimulation: A rodent study using a “figure-8” coil. Muscle Nerve, 1998, 21: 722—731[DOI]
15 Yu K W, Rong W F, Li J S, et al. Neurophysiological evidence of spared upper motor conduction fibers in clinically complete spinal cord injury: Discomplete SCI in rats. J Neurolog Sci, 2001, 189: 23—36[DOI]
16 Loy D N, Talbott J F, Onifer S, et al. Both dorsal and ventral spinal cord pathways contribute to overground locomotion in the adult rat. Exp Neurol, 2002, 177: 575—580[DOI]
17 Zemlan F P, Kow L M, Morrell J I, et al. Descending tracts of the lateral columns of the rat spinal cord: a study using the horseradish peroxidase and silver impregnation techniques. J Anat, 1979, 128: 489—512
18 Zemlan F P, Pfaff D W. Topographical organization in medullary reticulospinal systems as demonstrated by the horseradish peroxidase technique. Brain Res, 1979, 174: 161—166
19 Fox J E. Reticulospinal neurons in the rat. Brain Res, 1970, 23: 35—40
20 Shapovalov A I, Gurevitch N R. Mono-synaptic and disynaptic reticulospinal actions on lumbar motoneurons of the rat, Brain Res, 1970, 21: 249—263
21 Hicks S P, D’Amato C J Locating corticospinal neurons by retrograde axonal transport of horseradish perioxidase. Exp Neurol, 1997, 56: 410—420[DOI]
22 Zappulla R A, Hollis P, Ryder J, et al. Noncortical origins of the spinal motor evoked potential in rats. Neurosurgery, 1988, 22: 846—852
23 Sun T, Schlag M G, Hopf R, et al. Brainstem-evoked muscle protentials: Their prognostic value in the experimental spinal cord injury in the rat. Somatosensory Motor Res, 2000, 17: 317—324[DOI]
24 Gruner J A, Wade C K, Menna G, et al. Myoelectric evoked potentials versus locomotor recovery in chronic spinal cord injured rats. J Neurotrauma, 1993, 10: 327—347
25 Levy W J, York D H, McCaffrey M, et al. Motor evoked potentials from transcranial stimulation of the motor cortex in humans. Neurosurgery, 1984, 15: 287—302
26 Patton H D, Amassian V E. Single multiple unit analysis of cortical stage of pyramidal tract activation. J Neurophysiol, 1954, 17: 345—357
27 Hurlbert R J, Koyanagi I, Tator C H. Sensory evoked potentials for selective monitoring of the rat spinal cord: A cerebellar evoked potential to assess ventral cord integrity. J Neurotrauma, 1993, 10: 181—200
28 Fehlings M G, Tator C H, Linden R D, et al. Motor and somatosensory evoked potentials recorded from the rat. Electroencephalog Clin Neurophysiol, 1988, 69: 65—78[DOI]
29 Powers S K, Bolger C A, Edwards M S B. Spinal cord pathways mediating somatosensory evoked potentials. J Neurosurg, 1982, 57: 472—82
30 Mountcastle V B. Medical Physiology. St. Louis: CV Mosby, 1974. 56—75
31 York D H. Somatosensory evoked potentials in man: Differentiation of spinal pathways responsible for conduction from the forelimb vs. hindlimb. Prog Neurobiol, 1985, 25: 1—25[DOI]
32 Xu X M, Zhang S X, Li H Y, et al. Regrowth of axons into the distal spinal cord through a schwann-cell-seeded mini-channel implanted into hemisected adult rat spinal cord. J Neurosci, 1999, 11: 1723—1740
33 Montgomery C T, Tenaglia E A, Robson J A. Axonal growth into tubes implanted within lesions in the spinal cords of adult rats. Exp Neurol, 1996, 137: 270—290
34 李晓光, 杨朝阳, 鲁强, 等. 应用壳聚糖导管-生物活性载体系统修复大鼠脊髓损伤. 中国康复理论与实践, 2003, 9: 176—181
35 Hammarback J A, McCarthy J B, Palm S L, et al. Growth cone guidance by substrate-bound laminin pathways is correlated with neuron-to-pathway adhesivity. Dev Biol, 1998, 126: 29—39[DOI]
36 Khan T, Dauzvardis M, Sayers S. Carbon filament implants promote axonal growth across the transected rat spinal cord. Brain Res, 1991, 541: 139—145[DOI]
37 Yoshii S, Oka M, Shima M, et al. Bridging a spinal cord defect using collagen filament. Spine, 2003, 15: 2346—2351[DOI]

(2006-01-17 收稿, 2006-03-21 接受)