

麻醉复苏过程中大鼠皮质脊髓束神经电信号放电频率、波幅、峰间期的变化分析

贾伟, 於建鹏, 毛俊彪

湖北省黄石市中心医院 湖北省理工学院附属医院麻醉科, 湖北 黄石 435000

摘要: **目的** 分析麻醉复苏过程中大鼠皮质脊髓束(CST)神经电信号放电频率、波幅、峰间期(ISI)的变化,为临床脊髓损伤(SCI)的修复与功能重建提供参考。**方法** 选取成年雄性清洁级SD大鼠20只,称重后腹腔注射戊巴比妥钠麻醉,于麻醉复苏期大鼠脊髓植入微电子芯片,采用RM6280C多道生理信号采集处理系统记录与分析麻醉后1h(麻醉期)和麻醉后2h、麻醉后3h(复苏期)的信噪比(SNR)、神经电信号的放电频率、波幅、ISI。**结果** (1) 放电频率:大鼠麻醉后1h时的放电频率呈阵发性发放,最高为100s时(15.65 ± 2.17)次/s;麻醉后2h和麻醉后3h的放电频率呈弥散性发放;各时间点不同放电单位时的放电频率差异有统计学意义(P 均 <0.05),其中麻醉后3h的放电频率均高于麻醉后2h且低于麻醉后1h,差异具有统计学意义(P 均 <0.05)。(2) 放电波幅:不同时间点的放电波幅差异有统计学意义($P < 0.01$),其中麻醉后3h的放电波幅[(194.27 ± 20.19) μV]低于麻醉后2h[(254.65 ± 25.23) μV]和麻醉后1h[(623.38 ± 156.59) μV],差异具有统计学意义(P 均 <0.05)。(3) ISI值:麻醉后1h时的ISI值最高为0.02s时的(70.46 ± 20.62)ms;麻醉后2h和麻醉后3h的ISI值较分散;各时间点在不同放电单位时的ISI值差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$),其中麻醉后3h的ISI值均高于麻醉后2h,均低于麻醉后1h,差异具有统计学意义(P 均 <0.05)。**结论** 麻醉复苏期大鼠的CST神经电信号放电频率、波幅、ISI与麻醉期比较均有显著变化。微电子芯片电信号记录对SCI修复和功能重构具有一定临床指导价值。

关键词: 皮质脊髓束;神经电信号;麻醉复苏期;频率;波幅;峰间期

中图分类号: R-33 R 651.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2016)05-0598-04

Changes of discharge frequency, amplitude and ISI of nerve electrical signals of CST during the course of anesthesia recovery in rats

JIA Wei, YU Jian-peng, MAO Jun-biao

Department of Anesthesia, Huangshi Central Hospital of Hubei Province, Huangshi, Hubei 435000, China

Corresponding author: YU Jian-peng, E-mail: 3089652399@qq.com

Abstract: Objective To analyze the changes of discharge frequency, amplitude and interspike interval (ISI) of nerve electrical signals of cortico-spinal tract (CST) in the course of anesthesia recovery in rats to provide a reference for the repair and functional reconstruction of spinal cord injury (SCI). **Methods** Twenty adult male clean grade SD rats were selected. After weighing, the rats were anaesthetized with intraperitoneal injection of pentobarbital sodium. The microelectronic chip was implanted in the spinal cord of rats in anesthesia recovery period. The signal to noise ratio (SNR), the discharge frequency, amplitude and ISI of nerve electrical signals at 1-hour after anaesthesia (anesthesia period), and 2-, 3-hour after anaesthesia (recovery period) were recorded and analyzed by multi-channel physiological signal acquisition and processing system. **Results** (1) The discharge frequency at 1-hour after anesthesia presented paroxysmal release, and the maximum frequency was (15.65 ± 2.17) times/s at 100 seconds. The discharge frequency at 2-, 3-hour after anesthesia presented dispersed release, and there were significant differences in the discharge frequencies of different time point of anesthesia and different discharge units (all $P < 0.05$) that at 3-hour after anesthesia significantly increased compared with 2-hour after anesthesia and significantly decreased compared with 1-hour after anesthesia (all $P < 0.05$). (2) There were significant

differences in amplitudes of discharge wave at different time point of anesthesia, and that of the amplitude of discharge wave at 3-hour after anesthesia [$(194.27 \pm 20.19) \mu V$] was significantly lower than those at 2-hour [$(254.65 \pm 25.23) \mu V$] and at 1-hour after anesthesia [$(623.38 \pm 156.59) \mu V$] (all $P < 0.01$). (3) The maximum ISI at 1-hour after anesthesia was (70.46 ± 20.62) ms at 0.02 second. The ISIs at 2- and 3-hour after anesthesia were relatively dispersed, and there were significant differences in ISI at different discharge units of different time points after anesthesia ($P < 0.05, P < 0.01$), and that of the ISI at 3-hour after anesthesia was significantly higher than that at ISI at 2-hour after anesthesia and significantly lower than that at 1-hour after anesthesia (all $P < 0.05$). **Conclusion** Compared with anesthesia period, there are obvious changes in discharge frequency, amplitude and ISI of anesthesia recovery period. The electrical signals recorded by micro-electronic chip have some clinic guiding value for the repair and functional reconstruction of SCI.

Key words: Cortico-spinal tract; Neural electric signals; Anesthesia recovery period; Frequency; Amplitude; Inter-spike interval

脊髓损伤 (spinal cord injury, SCI) 可破坏皮质脊髓束 (cortico-spinal tract, CST) 结构^[1], 造成大脑无法支配脊髓神经对运动信号传导, 导致机体失去正常支配肢体随意活动的生理功能^[2], 因此 SCI 患者致残率较高。SCI 患者治疗后运动功能的康复效果主要取决于 CST 轴索再生和脊髓前角运动神经元功能重建^[3]。

目前, 常规促进 CST 再生和功能重建的方式为神经植入修复、转基因因子治疗和组织工程修复等, 但其疗效有限、过程复杂及费用昂贵^[4]。随着医学微电子技术发展, 研究者认为可通过计算机及微电子设备采集和分析解码损伤 CST 中传导的运动指令生理电信号, 从而获取可促使 CST 再生生物密码^[5], 为人工修复 SCI 提供新方向, 但相关研究无统一结论。笔者通过于麻醉复苏期大鼠脊髓植入微电子芯片, 采集和分析 CST 神经电信号放电频率、波幅、峰间期 (ISI) 的变化规律, 旨在为 SCI 修复与功能重建提供参考依据。现将研究结果总结如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物 选取成年雄性清洁级 SD 大鼠 20 只, 由云南省实验动物中心提供, 体重 240 ~ 260 g。

1.2 实验试剂盒仪器 RM6280C 多道生理信号采集处理系统购于成都仪器厂, 记录微电极及微电极推进器购于日本光电公司, Sigma 通用戊巴比妥钠 (货号: P3761, CAS: 57-33-0) 购于北京普博斯生物科技有限公司, 丙二醇购于深圳市华昌化工有限公司。

1.3 麻醉方法 大鼠称重后按 0.2 ml/100 g 腹腔注射戊巴比妥钠, 待大鼠麻醉后取卧姿将其四肢及头部固定于手术台上, 背侧术区清除鼠毛、消毒, 确定其 T7 ~ T8 脊髓段, 于 T8 棘突位置取背部正中 3 cm 切口, 依次分离皮肤、皮下组织和椎旁肌肉, 咬骨钳将 T8 棘突及全椎板咬除至椎弓根部, 再将部分 T7 和 T9 椎板咬除, 从而扩大椎管, 将硬脊膜暴露 1.2 ~

1.5 cm。显微镊沿正中中线轻挑硬脊膜后暴露脊髓背侧, 温生理盐水纱布覆于切口处。

1.4 麻醉后不同时点 SNR 值测量 将记录电极尖端置于脊髓后正中沟右侧方向 200 μm 位上方, 记录电极插入手术暴露 T8 处脊髓中, 深度为 700 ~ 900 μm , 参比电极置入距 T8 位 1 cm 肌肉中, 分别插入针灸灸针于左或右大腿肌肉^[6-7], 操作台连接导线和记录仪接地端。信号采集处理系统参数设置为: 电信号幅度为 300 ~ 600 kV, 采样频率为 30 kHz, 采样窗口时长为 2.0 ms, 前置放大器有效阈电位为 -70 ~ -80 μV , 高通滤波为 250 Hz, 低通滤波为 7.5 kHz, 放大增益为 5 000。仔细观察采样窗里面采样电信号信噪比 (SNR) 值, 记录 SNR 值 ≥ 2.5 、波形稳定神经放电信号^[8], 时间采集长度为 200 s。选择蹠反射和角膜反射评估大鼠麻醉和复苏状态。麻醉后 1 h 出现蹠反射及角膜反射为阴性, 麻醉后 2 h 蹠反射和角膜反射强度和ang时间增长具有线性正相关性。在麻醉后 1 h、2 h 和 3 h 分别记录大鼠的 CST 神经电信号, 实验记录 10 min/次。先后将电极下游和上游脊髓剪断, 观察采样窗内波形变化, 采样记录时间均为 200 s。使用采样信号分析处理软件分析电脑上放电信号文件, 分析麻醉后 1 h、2 h 和 3 h 的放电频率、波幅、ISI 等方面的差异。

1.5 统计学方法 数据分析用 SPSS 16.0 统计软件进行, 正态数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 重复测量方差分析用于多组差异比较, SNK- q 法用于两两间差异比较。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠麻醉后不同时点麻醉及复苏状态比较 大鼠麻醉后 1 h 时的蹠反射和角膜反射均为阴性; 麻醉后 2 h 时的蹠反射阳性 9 例 (45.0%)、角膜反射阳性 8 例 (40.0%); 麻醉后 3 h 时的蹠反射阳性 17 例 (85.0%)、角膜反射阳性 18 例 (90.0%); 大鼠麻

醉后不同时点的趾蹠反射和角膜反射阳性率差异均有统计学意义(P 均 <0.05);大鼠麻醉后 1 h 时处于麻醉期,大鼠麻醉后 2 h 和麻醉后 3 h 时处于复苏期。见表 1。

2.2 大鼠麻醉后不同时点最小 SNR 和最大 SNR 比较 麻醉后 1 h、麻醉后 2 h、麻醉后 3 h 的最小 SNR、最大 SNR 差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$),麻醉后 3 h 的最小 SNR、最大 SNR 均高于麻醉后 1 h、麻醉后 2 h,差异均具有统计学意义(P 均 <0.05)。见表 2。

2.3 大鼠麻醉后不同时点不同放电单位的频率比较 大鼠麻醉后 1 h 时(麻醉期)的放电频率呈阵发性发放,最高为 100 s 时(15.65 ± 2.17)次/s;大鼠麻醉后 2 h 和麻醉后 3 h(复苏期)的放电频率呈弥散性发放;各时间点不同放电单位时的放电频率差异有统计学意义(P 均 <0.05),其中,麻醉后 3 h 的放电频率均高于麻醉后 2 h 和低于麻醉后 1 h,且差异具有统计学意义(P 均 <0.05)。见表 3。

2.4 大鼠麻醉后不同时点放电波幅比较 不同时间点的放电波波幅差异有统计学意义($F = 48.517$, $P < 0.01$),其中麻醉后 3 h 的放电波幅(194.27 ± 20.19) μV 低于麻醉后 2 h [$(254.65 \pm 25.23) \mu\text{V}$] 和麻醉后 1 h [$(623.38 \pm 156.59) \mu\text{V}$],差异具有统计学意义

表 1 大鼠麻醉后不同时点麻醉及复苏状态比较

时间点	趾蹠反射		角膜反射	
	阳性	阴性	阳性	阴性
麻醉后 1 h	0	20(100.0)	0	20(100.0)
麻醉后 2 h	9(45.0)	11(55.0)	8(40.0)	12(60.0)
麻醉后 3 h	17(85.0)	3(15.0)	18(90.0)	2(10.0)
χ^2 值	29.457		33.122	
P 值	<0.01		<0.01	

表 2 大鼠麻醉后不同时点最小 SNR 和最大 SNR 比较

时间点	$(n = 20, \bar{x} \pm s)$	
	最小 SNR	最大 SNR
麻醉后 1 h	4.23 ± 0.57	6.34 ± 1.35
麻醉后 2 h	5.67 ± 1.19	$10.19 \pm 1.55^*$
麻醉后 3 h	$7.38 \pm 1.62^{*#}$	$13.42 \pm 2.64^{*#}$
F 值	18.392	24.496
P 值	0.013	0.005

注:与麻醉后 1 h 比较, * $P < 0.05$;与麻醉后 2 h 比较, # $P < 0.05$ 。

表 3 大鼠麻醉后不同时点不同放电单位的频率比较

时间点	$(\text{次/s}, n = 20, \bar{x} \pm s)$			
	50 s	100 s	150 s	200 s
麻醉后 1 h	12.65 ± 2.17	15.65 ± 2.17	13.67 ± 2.52	14.63 ± 2.25
麻醉后 2 h	$5.62 \pm 1.24^*$	$5.23 \pm 1.18^*$	$5.48 \pm 1.29^*$	$5.67 \pm 1.30^*$
麻醉后 3 h	$8.34 \pm 2.15^{*#}$	$8.58 \pm 2.27^{*#}$	$8.75 \pm 2.38^{*#}$	$8.55 \pm 2.35^{*#}$
F 值	9.876	10.385	8.714	9.157
P 值	0.027	0.021	0.030	0.022

注:与麻醉后 1 h 比较, * $P < 0.05$;与麻醉后 2 h 比较, # $P < 0.05$ 。

表 4 大鼠麻醉后不同时点不同放电单位的 ISI 比较 (ms, $n = 20, \bar{x} \pm s$)

时间点	0.02 s	0.04 s	0.06 s	0.08 s	0.10 s
麻醉后 1 h	70.46 ± 20.62	20.55 ± 10.87	10.38 ± 5.13	8.34 ± 4.27	4.15 ± 2.62
麻醉后 2 h	$1.34 \pm 0.51^*$	$3.45 \pm 1.42^*$	$1.39 \pm 0.52^*$	$1.15 \pm 0.63^*$	$1.19 \pm 0.58^*$
麻醉后 3 h	$3.69 \pm 1.43^{*#}$	$4.08 \pm 1.68^{*#}$	$3.54 \pm 1.08^{*#}$	$3.65 \pm 0.57^{*#}$	$2.73 \pm 0.65^{*#}$
F 值	42.173	25.682	14.369	12.178	8.039
P 值	0.000	0.000	0.002	0.008	0.031

注:与麻醉后 1 h 比较, * $P < 0.05$;与麻醉后 2 h 比较, # $P < 0.05$ 。

(P 均 <0.05)。

2.5 大鼠麻醉后不同时点不同放电单位的 ISI 比较 大鼠麻醉后 1 h 时的 ISI 值最高为 0.02 s 时(70.46 ± 20.62)ms;麻醉后 2 h 和麻醉后 3 h 的 ISI 值较分散;各时间点不同放电单位时的 ISI 值差异具有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$),其中麻醉后 3 h 的 ISI 值均高于麻醉后 2 h,均低于麻醉后 1 h,且差异具有统计学意义(P 均 <0.05)。见表 4。

3 讨论

现如今,关于 SCI 的诊疗已经成为医学研究的热点之一,常规治疗原则均是先抑制和缓解患者继发性 SCI^[9],再对损伤脊髓进行组织再生修复及生理结构、功能重构。CST 生理功能和 SCI 治疗具有密切相

关性,这是因为 CST 内传导神经生物电信号^[10],可刺激脊髓神经反应活性,有效评估损伤脊髓组织再生后结构及功能的恢复效果。为此,有研究者建议可利用现代微电子技术结合 CST 神经信号传输特点^[11],于损伤脊髓植入微电子芯片对 CST 形态学及功能进行定位,从而长期、稳定地记录 CST 传导的电信号和分析电信号特点,并使得大脑皮层生理功能区产生和传输神经指令和脊髓下行通路建立桥接^[12],达到机体功能重建的治疗目的。笔者利用微电子芯片记录 CST 传导电信号及分析其信号特点,以便为实现 SCI 患者脊髓生理功能及运动功能重建提供指导。

基于前人研究和本实验目的,笔者选择 RM6280C 多道生理信号采集处理系统记录麻醉后大鼠 CST 传导电信号,并将记录电极插入 CST 内,将时

间采集延长至 200 s^[13],从而获得百万数量级相对稳定的 μV 大小的神经电信号。实验结果显示,大鼠麻醉初期趾蹠反射和角膜反射明显,随着时间推移逐渐减弱,而大鼠麻醉期放电频率呈阵发性发放。苏醒期放电频率呈弥散性发放,同时麻醉到苏醒的不同阶段内,其放电信号的频率、波形及波幅均存在差异,推断麻醉时大鼠 CST 传导放电信号聚集,但信号内容相对单一,而苏醒后则丰富。

CST 传导电信号越高干扰信号越小,则 SNR 越大,实验记录神经电信号质量越高。文献显示,SNR 值处于 6 ~ 18 时,表明实验结果较优^[14]。本实验结果显示,大鼠麻醉后最小 SNR 及最大 SNR 均呈现显著增高的趋势,推断这这可能因为意识清醒状态下,机体神经信号信息更复杂,对肢体指导功能更有目的性。本实验测定 SNR 值均处于 6 ~ 18,证明本实验结果可信。

ISI 可用于显示神经信号相邻波峰间的传导时间差,其可评估神经信号发送频率的稳定性和规律性,表现为:ISI 波形较集中时,代表 CST 神经信号发送规律性高;ISI 波形弥散分布,则说明 CST 发送的神经信号无规律性^[15]。在本实验中,笔者选择 ISI 直方图对整个记录时段内电信号系统各通道内放电单位 ISI 值进行记录,并选择既往研究中建议 3 ms 作为 ISI 最小值, ≥ 20 ms 作为 ISI 最大值,依次设定采集时间点为 20、40、60 及 80 ms,实验结果显示,大鼠麻醉期的 20 ms 时 ISI 值最高值达到(70.46 \pm 20.62) ms,且 ISI 值集中,而大鼠复苏期 ISI 值较分散,这表明处于麻醉状态 CST 传输电信号规律性高,笔者推断可能因为机体处于大脑麻醉状态时,其放电信号主要来自大脑某特定区域神经元内,且呈现相对性电信号产生及发送功能增强,而处于清醒状态下,整个大脑神经元呈现激活状态,造成 CST 传导电信号频率增多但较分散。

笔者设计的 CST 传导电信号记录方案具有如下优点:(1)植入电极位置为脊髓处,无需开颅植入,实验方案安全性更高;(2)实验记录数据对比差异性明显,且准确度相对较高,具有可信性;(3)实验操作简单,检测结果重复性高,便于 SCI 及颅脑损伤后神经功能恢复的评估实验。

综上所述,麻醉复苏期大鼠的 CST 神经电信号放电频率、波幅、ISI 与麻醉期比较均有显著变化,表明微电子芯片电信号记录实验方案对 SCI 修复和功

能重构具有一定临床指导价值。

参考文献

- [1] 李波. 脊柱手术并发脊髓不完全损伤 10 例临床分析[J]. 现代仪器与医疗,2014,20(6):52-54.
- [2] 张仁坤,王景景,涂悦,等. 可控性皮质撞击仪建立大鼠脊髓损伤模型的研究[J]. 中国医药,2015,10(7):1067-1070.
- [3] Higo N. Effects of rehabilitative training on recovery of hand motor function;a review of animal studies[J]. Neurosci Res,2014 (78):9-15.
- [4] 卢璐,周恒星,褚天慈,等. 慢病毒介导的 shRNA 干扰 PTEN 表达促皮质层神经元轴突再生及脊髓损伤修复[J]. 中华骨科杂志,2015,35(4):428-435.
- [5] Freund P, Wheeler-Kingshott CA, Nagy Z, et al. Axonal integrity predicts cortical reorganisation following cervical injury[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry,2012,83(6):629-637.
- [6] 刘晓东,李耀富,吴辉群,等. 基于微电子神经桥重建大鼠皮质脊髓束功能的体视学定量研究[J]. 南通大学学报(医学版),2015,35(2):98-101.
- [7] Stein RB, Everaert DG, Roy FD, et al. Facilitation of corticospinal connections in able-bodied people and people with central nervous system disorders using eight interventions[J]. J Clin Neurophysiol,2013,30(1):66-78.
- [8] 向鑫. 姜黄素诱导内源性神经干细胞促进脊髓损伤后胶质瘢痕重塑的研究[D]. 重庆:第三军医大学,2014.
- [9] 侯景明,张阳,文天林,等. 脊髓损伤后脑萎缩对运动功能恢复的影响[J]. 中华骨科杂志,2015,35(4):374-379.
- [10] Freund P, Weiskopf N, Ashburner J, et al. MRI investigation of the sensorimotor cortex and the corticospinal tract after acute spinal cord injury:a prospective longitudinal study[J]. Lancet Neurol,2013,12(9):873-881.
- [11] 张华,白金柱. 脊髓损伤后皮质脊髓束的相关研究进展[J]. 中国康复理论与实践,2013,19(4):349-353.
- [12] Ahmed Z, Wieraszko A. Trans-spinal direct current enhances corticospinal output and stimulation-evoked release of glutamate analog,D-2,3-3 h-aspartic acid[J]. J Appl Physiol,2012,112(9):1576-1592.
- [13] 张向飞,邹宇,赵娅,等. 督脉电针刺刺激对脊髓全横断小鼠大脑皮质运动区 BDNF 表达的影响[J]. 四川大学学报(医学版),2012,43(2):250-253.
- [14] Darian-Smith C, Lilak A, Alarcón C. Corticospinal sprouting occurs selectively following dorsal rhizotomy in the macaque monkey[J]. J Comp Neurol,2013,521(10):2359-2372.
- [15] 杨亚茹,杨明,李慧君,等. 慢性缺血性脑卒中患者下行运动纤维束的扩散张量成像的诊断价值[J]. 中华医学杂志,2015,95(23):1842-1845.

收稿日期:2016-01-27 修回日期:2016-02-16 编辑:周永彬