

文章编号:1004-7220(2023)05-1031-06

基于抓力-运动诱发电位的大鼠脑干锥体束 功能损伤程度研究

石菁菁^{1#}, 傅倩颖^{1#}, 杨袖菊², 蒲山山³, 王国祥¹, 朱林娜¹, 王迅¹, 尹志勇⁴, 刘盛雄¹

(1. 重庆理工大学 药学与生物工程学院, 重庆 400054; 2. 重庆大学 生物工程学院, 重庆 400030;

3. 重庆市第七人民医院 设备科, 重庆 400054; 4. 中国汽车工程研究院股份有限公司, 重庆 401122)

摘要:目的 探讨利用抓力 (grasp strength, GS)-运动诱发电位 (motor evoked potential, MEP) 方法对大鼠脑干锥体束损伤后产生的运动功能障碍进行定量研究。**方法** 雄性 SD 大鼠 30 只, 分为 1.25 m 致伤组、2.25 m 致伤组和正常组, 采用经典 Marmarou 模型制作锥体束部位的创伤性轴索损伤模型, 致伤组均于损伤后 1、3、5、7、14、28、42 d 对大鼠进行肢体 GS 信号和 MEP 波幅检测, 3 组大鼠均于麻醉后相应时间进行对照检测。**结果** 致伤组随损伤程度的增加, MEP 波幅和最大 GS 下降比例明显增大; 两个高度下 GS 与 MEP 测量值具有明显正相关性。损伤程度较小时, 前期 MEP 比较敏感, 后期 MEP 不敏感; 损伤程度较大时, 前期与后期 MEP 变化均较为敏感。**结论** 采用 GS-MEP 联合评估可以为锥体束损伤后产生的运动功能障碍程度的定量评价提供数据支持。

关键词: 交通事故; 脑干锥体束; 颅脑损伤; 抓力; 运动诱发电位

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2023.05.027

Study on Degree of Functional Injury for Brainstem Pyramidal Tract in SD Rats Based on GS-MEP

SHI Jingjing^{1#}, FU Qianying^{1#}, YANG Xiuju², PU Shanshan³, WANG Guoxiang¹, ZHU Linna¹, WANG Xun¹, YIN Zhiyong⁴, LIU Shengxiong¹

(1. College of Pharmacy and Bioengineering, Chongqing University of Technology, Chongqing 400054, China;

2. Bioengineering College, Chongqing University, Chongqing 400030, China; 3. Equipment Department,

Chongqing Seventh People's Hospital, Chongqing 400054, China; 4. China Automotive Engineering Research Institute Co., Ltd., Chongqing 401122, China)

Abstract: Objective To quantitatively investigate the motor dysfunction after brain stem pyramidal tract injury in rats by grasp strength (GS)-motor evoked potential (MEP). **Methods** Thirty healthy male SD rats were randomly divided into 1.25 m injury group, 2.25 m injury group and normal group. The classical marmarou model was used to make the traumatic axonal injury model of pyramidal tract. In injury group, the limb GS signal and MEP were detected at 1st, 3rd, 5th, 7th, 14th, 28th and 42nd day after injury, and the control test was carried out at the corresponding time after anesthesia. **Results** With the increase in injury degree, the MEP amplitude and maximum GS decreased significantly in injury group. The measured values of GS and MEP under two heights

收稿日期:2022-10-26; 修回日期:2022-11-26

基金项目:国家重点研发计划项目(2016YFC0800702-3), 重庆理工大学研究生教育高质量发展行动计划(gzlcx20222091)

通信作者:刘盛雄, 副教授, E-mail:shengxiongliu@cqut.edu.cn

[#]为共同第一作者

had an obvious positive correlation. When the damage degree was relatively small, MEP was more sensitive at early stage, but MEP was not sensitive at late stage. When the damage degree was relatively large, MEP changes at both early and late stages were more sensitive. **Conclusions** The combined evaluation of GS-MEP can provide data support for the quantitative evaluation of motor dysfunction after pyramidal tract injury.

Key words: traffic accident; brainstem pyramidal tract; brain injury; grasp strength (GS); motor evoked potential (MEP)

近年来我国每年因道路交通事故死亡约为6万人,伤残人数约为25万人^[1]。道路交通事故导致的伤亡时刻威胁着大众生命健康安全^[2-3]。世界卫生组织报道,全世界每年因车祸死亡人数已达135万,伤残人数高达5000万^[4]。根据国家统计局的数据,在交通伤害中,头部损伤占据了较高的比例(25%~41%)。

颅脑撞击生物力学机制研究已经取得许多有实际意义的成果。现行的颅脑损伤评判准则多以骨折、出血、水肿和软组织变形等参数作为颅脑损伤严重度的描述指标^[5]。它们更多反映的是神经组织的形态学改变,而未能反映神经元轴索损伤后产生的功能性改变。

在颅脑交通伤中,脑干是损伤的好发部位,锥体束行经脑干腹侧面,是大脑皮层下行控制躯体运动的最直接通路^[6]。发生交通事故时,脑干发生损伤使锥体束受累,则必然使在其内传导的复合神经动作电位(compound nerve action potential, CNAP)信号发生衰减或变化,进而使得与该神经纤维相耦合的下游骨骼肌运动诱发电位(motor evoked potential, MEP)信号和神经肌肉支配的肢体抓力(grip strength, GS)信号出现衰减或变化^[7]。此外,颅脑损伤后轴突最初可能损伤较轻,但随后若发生级联反应,则可能发展成较重的继发性脑损伤^[8]。有研究认为,脑损伤后神经元之间的网络结构等可以修复^[9]。采用功能性脑损伤指标来衡量脑损伤程度应更为准确有效。

鉴于前述交通伤及其研究现状,本文在前人所得理论及方法的基础上,以脑干锥体束及其信号通路为研究对象,采用动物实验、MEP、GS测试关联研究方法,以脑干锥体束通路中肢体功能障碍信号为媒介,对不同高度打击致脑干锥体束损伤下大鼠的肢体失能程度进行研究,并对继发性颅脑损伤情况进行实验及分析,探讨神经受载程度与功能损伤程

度之间的量化关系。

1 材料与方法

1.1 实验装置

本文采用经典Marmarou重物下落致伤模型(见图1)^[10]。在大鼠头部黏合金属圆盘,并在头部腹侧衬垫海绵以便在撞击瞬间起到缓冲作用,使碰撞负荷分散,从而防止发生颅骨骨折和相关的局灶性脑损伤。Marmarou模型可靠地模拟由角加速度导致的闭合性头部损伤,并且能够产生显著的大鼠创伤性轴索损伤(traumatic axonal injury, TAI),同时无伴发性局灶损伤和颅骨骨折。

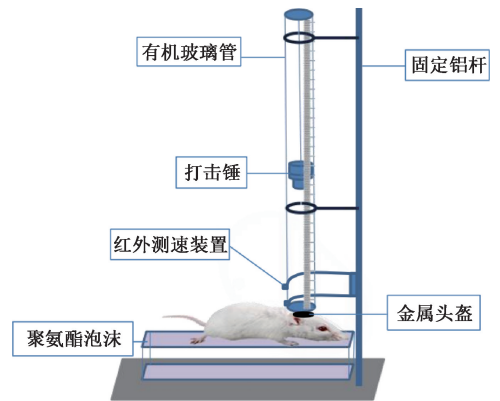


图1 经典Marmarou打击装置模型

Fig. 1 Classic marmarou strike device model

注:打击锤质量450 g;有机玻璃管高2.5 m,内径57 mm;金属头盔直径10 mm,厚度3 mm;聚氨酯泡沫密度 35 kg/m^3 ,尺寸 $12 \text{ cm} \times 12 \text{ cm} \times 43 \text{ cm}$ 。

1.2 动物模型建立

1.2.1 实验动物分组 健康成年SD大鼠雄性30只,体质量 $(400 \pm 30) \text{ g}$,随机分为1个对照组和两个损伤组(1.25 m、2.25 m损伤组),每组10只。实验动物购于辽宁长生生物技术股份有限公司。本研究动物实验在重庆理工大学药学与生物工程学院进行,得到重庆理工大学学术委员会实验动物

伦理与福利专门委员会批准。

1.2.2 实验动物打击造模 损伤组在大鼠耳间与脑干锥体束对应的位置上方黏附金属圆片,以使颅骨避免发生骨折和其他的局灶挫伤。之后应用Marmarou模型控制打击锤的下落高度进行致伤,制作TAI模型。打击成功的标准为肉眼观察双下肢不同程度抽搐,尾巴甩动,随后出现迟缓性瘫痪;麻醉清醒后悬尾,大鼠不再有蹬腿反应或反应很小;解剖后发现硬膜下出血。对照组不进行任何处理。

1.2.3 实验流程 致伤前先对3组大鼠进行麻醉处理,采用水合氯醛药物麻醉,根据大鼠的体重每100 g注射0.5 mL;然后对致伤组大鼠进行打击造模,对照组不做致伤处理;24 h后对3组大鼠肢体GS进行检测,并记录大鼠GS数据;再次麻醉,并对3组大鼠进行MEP检测,记录MEP波形变化曲线;接着在损伤后相应天数依次重复上述实验流程进行检测。

1.3 GS功能检测

分别于大鼠打击后1、3、5、7、14、28、42 d,采用南京苏测计量仪器有限公司SH-III系列数字式推拉式力计测量大鼠GS信号,选取GS波形峰值进行比较。测量时,诱导大鼠抓住铁网,轻轻拖拽大鼠尾巴,促使大鼠不断向后移动,直至前爪脱离最后一根铁网。每只大鼠进行3次测量,每次测量间隔休息10 min,3次测量最大值为大鼠当天GS最大值。为避免昼夜变化对大鼠的影响,每次实验时间均选取大致同一时间进行。

1.4 MEP检测

分别于大鼠打击后1、3、5、7、14、28、42 d,采用北京微信斯达的Pclab系列型号生物医学信号采集系统对大鼠进行MEP检测,MEP的刺激与记录均采用不锈钢材质的针式电极(直径0.25 mm,长度13 mm),刺激电极直接穿刺置于大鼠脑干腹侧锥体束前端,记录电极直接穿刺置于大鼠腿部后侧腓肠肌肌腹中部,接地电极置于金属试验台上。刺激方式:单刺激,波宽3.0 ms,刺激电极间距为4.0 mm,刺激电压为4.0 V;记录电极采样频率为20 kHz,记录电极间距为4.0 mm,信号波幅由仪器自动标识。为避免昼夜变化对大鼠的影响,每次实验时间均选取大致同一时间进行。

1.5 统计学分析

获得大鼠肢体最大GS和MEP波幅数据后,剔除实验中具有显著性差异的异常数据。为了方便数据对比分析以及尽量消除麻醉影响,选择对每组大鼠损伤后的数据进行对比处理,再采用SPSS 21.0、Graphpad Prism 8.0、Matlab R2020a统计分析软件对数据进行统计分析处理。

2 结果

2.1 信号变动性分析

对3组实验结果进行配对样本 t 检验,结果显示,1.25 m和2.25 m损伤组($P<0.001$)、1.25 m损伤组与正常组($P<0.01$)、2.25 m损伤组与正常组($P<0.01$)大鼠GS差异有统计学意义[见图2(a)]。1.25 m、2.25 m损伤组和正常组大鼠MEP波幅差异有统计学意义($P<0.01$) [见图2(b)]。因此,损伤组与正常组的GS与MEP波幅在测量中各组间的变化情况均有显著性差异。损伤组在损伤后MEP波幅和GS均下降明显,1.25 m损伤组大鼠GS-MEP整体水平均高于2.25 m损伤组,损伤程度越高,大鼠的神经传导功能和相应的肢体GS水平越低。

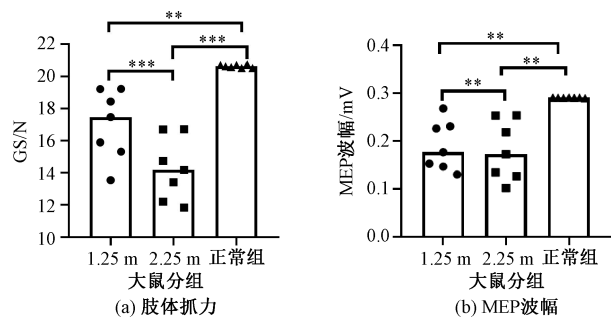


图2 实验结果对比

Fig. 2 Comparison of experimental results (a) Limb grip strength, (b) MEP amplitude

注: *** $P<0.001$; ** $P<0.01$ 。

将损伤组GS与MEP波幅分别与正常组幅值进行对照,结果显示,1.25 m和2.25 m损伤组大鼠在损伤后前期GS与MEP的下降比例较大,MEP下降水平明显高于GS;但随着致伤大鼠GS、MEP逐渐恢复至最大恢复水平,GS与MEP下降百分比不再有明显变化(见图3)。

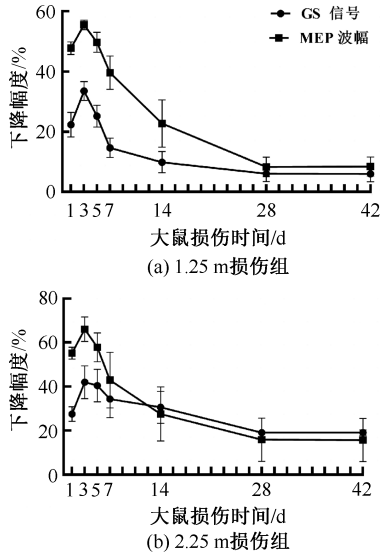


图3 损伤组GS、MEP下降百分比对比

Fig. 3 Comparison of GS and MEP decrease percentage in injury group (a) 1.25 m injury group, (b) 2.25 m injury group

2.2 信号相关性分析

研究表明,MEP波幅与神经纤维数量及结构相关^[11]。设GS值为 y ,MEP值为 x ,利用Matlab R2020a将两个参数进行回归曲线估计,得到1.25 m、2.25 m致伤条件下GS与MEP波幅的关系分别为:

$$y_1 = 0.001x_1^3 - 0.033x_1^2 + 0.84x_1 + 2.399$$

$$y_2 = 0.001x_2^3 - 0.094x_2^2 + 3.710x_2 - 14.458$$

本文发现,GS与MEP呈正相关,在损伤后时间的增长过程中,在MEP波幅下降比例较大的情况下,GS也会相应大幅下降,GS显著减弱(见图4)。因此,GS和MEP波幅结果趋势一致,提示神经功能受损。

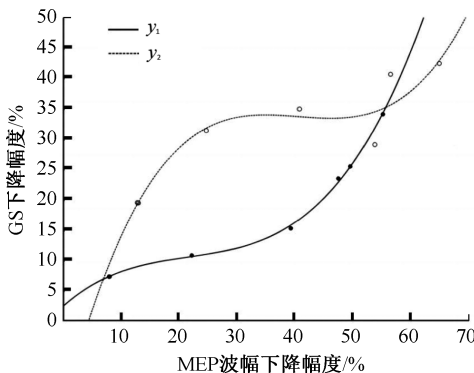


图4 GS与MEP波幅回归拟合关系

Fig. 4 Regression fitting relationship between GS and MEP amplitude

注: y_1 、 y_2 分别表示1.25、2.25m致伤条件下GS与MEP波幅的关系。

同时,从1.25 m致伤条件下大鼠的损伤可以看出,在损伤前期(见图4中右上区域),GS下降百分比随MEP波幅下降百分比的变化较快;在损伤后期(见图4中左下区域),变化较缓。从2.25 m致伤条件下大鼠的损伤可以看出,在损伤前期及后期,GS下降百分比随MEP波幅下降百分比的变化较快。本文认为,在损伤程度较小的情况下,前期MEP比较敏感,后期MEP变化范围大,GS变化不大,MEP不敏感;在损伤程度较大的情况下,前期与后期MEP变化均较为敏感。

对两个高度损伤下GS和MEP之间进行相关分析,结果显示,在控制高度的情况下,GS与MEP在 $P < 0.001$ 的情况下相关。1.25 m与2.25 m致伤条件下的GS与MEP在0.01水平(双侧)上显著相关;1.25 m和2.25 m致伤条件下GS在0.05水平(双侧)上显著相关;1.25 m和2.25 m致伤条件下的MEP在0.01水平(双侧)上显著相关(见表1)。

表1 GS与MEP的Pearson相关性分析

Tab. 1 Pearson correlation analysis between GS and MEP

参数	GS (A)	MEP波幅 (A)	GS (B)	MEP波幅 (B)
GS(A)	1.000	0.941**	0.843*	—
MEP波幅(A)	0.941**	1.000	—	0.994**
GS(B)	0.843*	—	1.000	0.887**
MEP波幅(B)	—	0.994**	0.887**	1.000

注:A、B分别表示1.25 m损伤组、2.25 m损伤组;**表示在0.01水平(双侧)上显著相关,*表示在0.05水平(双侧)上显著相关。

3 讨论

TAI是交通事故颅脑损伤中常见的一种损伤。在损伤后,神经网络在一定程度上能够通过重建达到功能的部分恢复,大鼠肢体GS测量可以反映神经肌肉支配程度,通过GS间接反映神经功能损伤的严重程度;MEP能够比较客观准确测量神经系统的功能,反映神经通路的完整性,且具有很强的可重复性,有利于定量研究。通过GS和MEP信号的检测,可以定量获取并识别锥体束的神经功能损伤程度,也可进一步完成对继发性损伤产生的功能性损伤进行定量评价。

3.1 大鼠肢体GS信号

大鼠肢体GS运动主要由神经肌肉系统共同调

节,涉及中枢神经系统、肌肉、骨骼系统等多个方面^[12-13]。脑干锥体束的损伤严重影响其运动执行能力^[14]。在对大鼠进行GS信号检测的过程中发现,大鼠在损伤后前期肢体GS峰值大幅下降,在后期,GS信号可逐渐恢复至一定水平,之后保持稳定;且随着损伤程度的增加,大鼠肢体GS恢复得越慢,与损伤前相比GS下降比例越大,最大恢复水平也越低。本文结果表明,1.25 m损伤组大鼠肢体GS可以恢复至损伤前的90%左右,2.25 m损伤组大鼠肢体GS可恢复至80%左右。考虑到在不同的研究中受伤后的测试时间间隔差异较大,故不同研究之间结果略有差异,但总体恢复趋势大致相同。

3.2 MEP

利用大鼠MEP可监测大鼠脑干锥体束下行通路的完整性^[15],并可对神经传导情况进行分析,MEP幅值越高,通路越完整^[16]。本文发现,MEP波幅在损伤后前期急剧下降,下降比例随时间大幅增加,1.25 m和2.25 m损伤组MEP波幅下降比例在损伤后3~5 d达到最大,在损伤后28 d波幅逐渐平缓,损伤恢复状态趋于稳定,波幅下降比例不再有明显增加。马文静等^[17]研究发现,大鼠脊髓打击伤后,随打击能量增加,损伤程度加重,MEP波幅恢复程度减少,恢复时间延长,该MEP波幅变化趋势与本研究结果一致。Lanza等^[18]对不进行力相关运动情况下MEP与锥体束功能障碍之间的关系开展研究,结果发现,功能障碍组MEP波幅下降,所得规律与本研究结果一致。

3.3 损伤机制分析

首先,神经组织由众多神经纤维构成,神经组织中细胞兴奋或动作电位的传导也是由众多神经纤维共同并联完成,每根神经纤维直径不同,动作电位传导速度也不同。交通事故脑干锥体束损伤发生时,导致锥体束上的部分神经元发生损伤,引发轴索离断、膜通透性改变或者 Ca^{2+} 内流,部分神经元突触间通讯传导将中断或发生异常改变,引发在其内传导的CNAP信号幅值发生衰减,部分神经纤维中的细胞兴奋(或动作电位)将无法正常传导至下游运动终板;这必将体现在整个锥体束下行传导通路的电信号上,使得与该神经耦合的下游骨骼肌MEP信号MEP及终端肢体GS信号发生幅值下降;对于生物个体而言,将表现为运动障碍、残疾失

能等损伤特征。其次,Stöbel等^[19]在关于神经网络恢复的研究中指出,至少75%重建神经可检测出CNAP,大鼠的功能损伤可见不同程度的恢复。本文也发现,MEP波幅在损伤前期由于部分神经纤维受损,部分信号传导受阻,综合CNAP大幅下降,功能损伤表现为MEP和GS大幅下降。但由于神经网络的逐渐恢复,MEP波幅下降后出现了缓慢恢复,GS下降后也逐渐恢复。

4 总结与展望

在交通伤、高坠伤、暴力伤等研究中,对颅脑损伤程度的评判多依赖于肉眼可见的形态学指标,或采用基于经验的定性评价。本文通过GS、MEP两项指标对脑干锥体束损伤后产生的TAI从神经传导通路的完整性和功能性方面进行定量研究。结果显示,对照组与损伤组存在明显差异,GS与MEP具有高度的相关性,大鼠损伤程度越高,两项指标初始下降比例越大,随着时间的推移,GS与MEP先下降后恢复至最大水平。在损伤程度较小的情况下,前期MEP变化较为敏感,MEP在较小程度变化的基础上就能导致GS肢体抓力的明显变化,后期MEP不敏感;在损伤程度较大的情况下,前期与后期MEP变化均较为敏感。

本研究的局限性如下:① 尽管已经剔除了实验中具有显著差异性的异常数据,但由于实验大鼠数量有限以及个体差异现象的存在,后续研究还需要进一步加大动物的数量,以便对实验数据进行不断完善;② 后续也需要对伤后不同时期的大鼠锥体束组织病理切片进行比对研究;③ 还可将不同高度的损伤与应变/应变率相结合,以便将大鼠损伤与人体损伤进行等效与推广。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国国家统计局. 中国统计年鉴. 2021[M]. 北京: 中国统计出版社, 2021.
 - [2] 万明, 吴倩, 严利鑫, 等. 道路交通安全研究的现状与热点分析[J]. 交通信息与安全, 2022(2): 11-21.
 - [3] 张丙淑, 随力. 颅脑有限元模型的研究进展及应用[J]. 医用生物力学, 2017, 32(6): 559-565.
- ZHANG BS, SUI L. Research progress and application of head finite element model [J]. J Med Biomech, 2017, 32(6): 559-565.

- [4] World Health Organization. Global status report on road safety [R]. Geneva: WHO, 2018.
- [5] 卢卫军, 杨建华. 颅脑损伤的法医学鉴定探讨[J]. 科学中国人, 2014(5X): 110.
- [6] FARWA A, EDUARDO B. What is the brainstem control of locomotion? [J]. Neurology, 2022, 98(11): 446-451.
- [7] NAROS G, MACHETANZ K, LEO MT, *et al.* Impaired phase synchronization of motor-evoked potentials reflects the degree of motor dysfunction in the lesioned human brain [J]. Hum Brain Mapp, 2022, 43(8): 2668-2682.
- [8] 杜鑫程, 王记波, 赵稳, 等. 运动相关创伤性脑损伤的新兴三维体外模型研究进展[J]. 生物医学工程学杂志, 2021, 38(4): 797-804.
- [9] BODNAR CN, ROBERTS KN, HIGGINS EK, *et al.* A systematic review of closed head injury models of mild traumatic brain injury in mice and rats [J]. J Neurotrauma, 2019, 36(11): 1683-1706.
- [10] ZHOU RZ. Development of rat head finite element model and tissue level biomechanical threshold for traumatic axonal injury [D]. Detroit: Wayne State University, 2020.
- [11] MAEDA Y, OTSUKA T, MITSUHARA T, *et al.* A novel bone-thinning technique for transcranial stimulation motor-evoked potentials in rats [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 12496.
- [12] 张娜. 握力及捏力精准控制的神经肌肉复杂系统分析[D]. 济南: 山东大学, 2020.
- [13] 赵梦文, 胡志刚, 王新征, 等. 基于 AnyBody 脑卒中患者手部抓握训练的肌肉力学特性分析[J]. 医用生物力学, 2021, 36(5): 698-704.
- ZHAO MW, HU ZG, WANG XZ, *et al.* Analysis on muscle mechanical properties of stroke patients' hand grasping training based on AnyBody [J]. J Med Biomech, 2021, 36(5): 698-704.
- [14] JAVED K, Daly DT. Neuroanatomy, lower motor neuron lesion [M]. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2022.
- [15] 马善峰, 马奎, 吕合作. 运动诱发电位和 BBB 评分在大鼠脊髓损伤功能评价中的相关性研究[J]. 中华解剖与临床杂志, 2019, 24(3): 299-304.
- [16] 何峰, 何蓓蓓, 王仲朋, 等. 脑-机交互运动训练的神经反馈方法及康复应用[J]. 中国生物医学工程学报, 2021, 40(6): 719-730.
- [17] 马文静, 王鸿勋, 孙乃祥, 等. TMS-MEP 评价大鼠脊髓损伤后运动功能障碍程度的研究[J]. 中国法医学杂志, 2014(2): 104-1085.
- [18] LANZA G, PUGLISI V, VINCIGUERRA L, *et al.* TMS correlates of pyramidal tract signs and clinical motor status in patients with cervical spondylotic myelopathy [J]. Brain Sci, 2020, 10(11): 806.
- [19] STÖBE M, REHRA L, HAASTERT-TALINI K. Reflex-based grasping, skilled forelimb reaching, and electrodiagnostic evaluation for comprehensive analysis of functional recovery—The 7-mm rat median nerve gap repair model revisited [J]. Brain Behav, 2017, 7(10): e00813.