

• 论 著 •

刺激参数对大鼠上肢运动区皮层运动诱发电位的影响^{*}

王 伟, 廉海平, 李志锦, 王 拓, 王茂德

(西安交通大学第一附属医院神经外科, 西安 710061)

摘要:目的 通过对大鼠上肢运动区皮层不同强度、波宽与频率的电刺激, 研究不同刺激参数对运动诱发电位(MEP)潜伏期与波幅的影响。方法 18 只雄性 SD 大鼠随机分为 3 组, 每组 6 只。给予不同波宽(100、200、300 μ s)、强度(3、6、9、12、15、18、20 mA)与频率(3、5、10、20、40、80、160、320 Hz)的皮层直接电刺激, 记录 MEP 的波幅与潜伏期。多元方差分析研究不同强度、波宽、频率对大鼠上肢 MEP 潜伏期与波幅的影响。结果 刺激波宽显著影响大鼠上肢 MEP 潜伏期($P < 0.05$)与波幅($P < 0.05$), 但 100 μ s 与 300 μ s 组间 MEP 波幅差异无统计学意义($P > 0.05$)。刺激强度也显著影响 MEP 潜伏期($P < 0.05$)与波幅($P < 0.05$), 但当刺激强度大于 9 mA 时潜伏期无显著缩短, 刺激强度大于 12 mA 时波幅无显著升高。刺激频率对潜伏期($P = 0.913$)与波幅($P = 1.000$)无明显影响。结论 直接皮层电刺激诱发大鼠上肢运动区 MEP, 其波幅与潜伏期受刺激波宽与强度的影响, 而不受刺激频率的影响, 这将为更好地研究功能区病变对运动功能的影响提供动物实验基础。

关键词: 上肢运动区; 运动诱发电位; 直接皮层电刺激

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2017.23.015 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9455(2017)23-3467-03

The impact of stimulus parameters on motor evoked potentials of upper limb motor cortex in rats^{*}

WANG Wei, LIAN Hai ping, LI Zhijin, WANG Tuo, WANG Maode

(Department of Neurosurgery, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710061, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effects of different stimulation parameters on latency and amplitude of rats motor evoked potential(MEP) by direct electrical stimulation on upper limb motor cortex with different intensity, wave width and frequency. **Methods** Eighteen male Sprague-Dawley rats were randomly divided into three groups($n=6$), with different wave width(100, 200, 300 μ s), intensity(3, 6, 9, 12, 15, 18, 20 mA) and the frequency(3, 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320 Hz) direct cortical stimulation being applied, the amplitude and latency of MEP were recorded respectively. The effects of different intensity, wave width and frequency on latency and amplitude of MEP in rats' upper limb were studied by multivariate analysis of variance. **Results** The latency($P < 0.05$) and amplitude($P < 0.05$) of MEP were significantly affected by wave width, but there was no significant difference in amplitude between 100 μ s and 300 μ s yet($P > 0.05$). Similarly, the stimulus intensity also significantly affected the latency($P < 0.05$) as well as amplitude($P < 0.05$). There were no significant changes in latency above 9 mA, and no significant changes in amplitude above 12 mA. On the contrary, the stimulation frequency had no significant effect on latency($P = 0.913$) as well as amplitude($P = 1.000$). **Conclusion** The amplitude and latency of the upper limb motor area MEP in rats induced by bipolar direct cortical electrical stimulation are affected by the stimulus wave width and intensity, not by the stimulus frequency, which will provide an animal experimental basis for better study of the effects of functional area lesions on motor action.

Key words: upper limb motor area; motor evoked potential; direct cortical electrical stimulation

术中神经电生理监测技术已经广泛应用于脑功能区病变的手术切除, 提高了肿瘤的切除率, 并降低术后神经功能损伤的发生率^[1-2]。大鼠运动区神经电生理监测模型为研究神经系统疾病的发病与治疗提供了平台, 已经广泛应用于脑缺血、脊髓损伤等动物模型研究^[3-5]。各研究中大鼠经皮层运动诱发电位(MEP)所使用的刺激波宽、强度与频率有所差异, 而不同刺激参数是否会导致 MEP 的潜伏期与波幅的改变, 该类研究较少。本实验通过对大鼠上肢运动区皮层予以不同波宽、强度与频率的直接皮层电刺激, 研究不同刺激参数对大鼠 MEP 潜伏期与波幅的影响。

1 材料与方 法

1.1 材料来源 无特定病原(SPF)级雄性 SD 大鼠购自西安交通大学医学院动物实验中心, 体质量(200 \pm 20)g, 常规喂养, 环境温度(23 \pm 2) $^{\circ}$ C, 湿度 40%~70%。随机分为 3 组, 每组

6 只。

1.2 方法 采用 Epoch XP 术中电生理监测工作站(Axon-Systems Inc., New York)行大鼠神经电生理监测。SD 大鼠 10%水合氯醛麻醉(4 mL/kg), 切开头皮, 充分显露冠状缝, 磨除冠状缝前 6 mm、中线右侧 5 mm 的颅骨, 切除硬膜, 充分显露皮层。双极刺激电极直径 1 mm, 两电极间距 2 mm, 置于冠状缝前 1 mm、右侧 2.5 mm 处。给予经皮层直接电刺激, 每组大鼠的刺激波宽分别为 100、200、300 μ s 直流方波刺激, 每只大鼠的刺激强度分别为 3、6、9、12、15、18、20 mA, 刺激频率分别为 3、5、10、20、40、80、160、320 Hz。采用成对针状记录电极, 上肢记录电极置于肱二头肌, 下肢记录电极置于股后肌群, 用于排除下肢皮层运动区激活。记录潜伏期与波幅, 分析各不同刺激参数对大鼠上肢皮层 MEP 的潜伏期与波幅的影响。

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 进行统计分析。计量资料

* 基金项目: 陕西省卫生厅科研基金资助项目(2012D62); 西安交通大学临床新技术(XJLS-2015-026)。

作者简介: 王伟, 男, 主治医师, 主要从事脑出血发病机制与治疗方面的研究。

采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,不同刺激强度、波宽、频率对大鼠上肢 MEP 潜伏期与波幅的影响采用多元方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 直接皮层电刺激大鼠上肢运动区诱发 MEP 各组大鼠全麻后,显露右侧大脑皮层上肢运动区,双极刺激器直接皮层电刺激上肢运动区,均能于左侧上肢记录到典型的 MEP。

2.2 刺激波宽对 MEP 潜伏期与波幅的影响 本研究显示皮层直接电刺激的波宽显著影响大鼠上肢 MEP 潜伏期 ($P < 0.05$),各组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。刺激的波宽显著影响 MEP 的波幅 ($P < 0.05$);组间比较显示,200 μs 组与 100、300 μs 组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1、2。

表 1 刺激波宽对潜伏期的影响 (ms, $\bar{x} \pm s$)

组别	潜伏期	95%CI
100 μs 组	0.086 2 \pm 0.001 9	0.082 5 ~ 0.900 0
200 μs 组	0.070 0 \pm 0.002 8 [△]	0.064 6 ~ 0.075 4
300 μs 组	0.133 0 \pm 0.001 7 ^{△*}	0.129 8 ~ 0.101 3
F	250.957	
P	< 0.05	

注:与 100 μs 组比较,△ $P < 0.05$;与 200 μs 组比较,* $P < 0.05$

表 2 刺激波宽对波幅的影响 (μV , $\bar{x} \pm s$)

组别	波幅	95%CI
100 μs 组	50.166 1 \pm 1.368 2*	47.480 6 ~ 52.851 6
200 μs 组	65.249 9 \pm 3.855 0	57.683 3 ~ 72.816 4
300 μs 组	45.897 5 \pm 1.270 1*	43.405 2 ~ 48.389 9
F	19.877	
P	< 0.05	

注:与 200 μs 组比较,* $P < 0.05$

2.3 刺激强度对 MEP 潜伏期与波幅的影响 本研究显示皮层直接电刺激的强度显著影响大鼠上肢 MEP 潜伏期 ($P < 0.05$),组间比较显示,仅 3 mA 组与 6 mA 组与其他各组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。皮层直接电刺激的强度显著影响 MEP 的波幅 ($P < 0.05$),组间比较显示,仅 3、6、9 mA 组与其他各组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3、4。

表 3 刺激强度对潜伏期的影响 (ms, $\bar{x} \pm s$)

组别	潜伏期	95%CI
3 mA 组	0.119 7 \pm 0.003 7	0.112 4 ~ 0.127 1
6 mA 组	0.107 2 \pm 0.003 4 [★]	0.100 6 ~ 0.113 8
9 mA 组	0.095 5 \pm 0.003 3 ^{★★}	0.089 0 ~ 0.101 9
12 mA 组	0.092 8 \pm 0.003 3 ^{★★}	0.086 3 ~ 0.099 2
15 mA 组	0.090 2 \pm 0.003 4 ^{★★}	0.083 4 ~ 0.097 0
18 mA 组	0.091 7 \pm 0.003 4 ^{★★}	0.085 0 ~ 0.098 4
20 mA 组	0.074 4 \pm 0.003 8 ^{★★}	0.086 4 ~ 0.101 3
F	10.534	
P	< 0.05	

注:与 3 mA 组比较,★ $P < 0.05$;与 6 mA 组比较,▲ $P < 0.05$

2.4 刺激频率对 MEP 潜伏期与波幅的影响 本研究显示皮层直接电刺激的频率对大鼠上肢 MEP 潜伏期无明显影响 ($P = 0.913$),对波幅也无显著影响 ($P = 1.000$)。见表 5、6。

表 4 刺激强度对波幅的影响 (μV , $\bar{x} \pm s$)

组别	波幅	95%CI
3 mA 组	12.149 5 \pm 0.620 0	12.702 0 ~ 15.140 1
6 mA 组	24.188 7 \pm 1.234 4 [★]	23.587 3 ~ 28.441 3
9 mA 组	44.672 5 \pm 2.279 7 ^{★★}	39.335 3 ~ 48.299 8
12 mA 组	69.388 8 \pm 3.541 0 ^{★★#}	56.608 4 ~ 70.532 8
15 mA 组	100.510 0 \pm 5.129 1 ^{★★#}	66.898 6 ~ 87.068 1
18 mA 组	102.048 5 \pm 5.207 6 ^{★★#}	69.146 1 ~ 89.624 4
20 mA 组	59.059 9 \pm 3.013 9 ^{★★#}	63.335 3 ~ 75.187 0
F	57.483	
P	< 0.05	

注:与 3 mA 组比较,★ $P < 0.05$;与 6 mA 组比较,▲ $P < 0.05$;与 9 mA 组比较,# $P < 0.05$

表 5 刺激频率对潜伏期的影响 (ms, $\bar{x} \pm s$)

刺激频率	潜伏期	95%CI
3 Hz	0.100 9 \pm 0.003 9	0.093 3 ~ 0.108 6
5 Hz	0.100 6 \pm 0.003 9	0.093 0 ~ 0.108 3
10 Hz	0.100 1 \pm 0.003 8	0.092 6 ~ 0.107 5
20 Hz	0.095 2 \pm 0.003 6	0.088 1 ~ 0.102 4
40 Hz	0.099 6 \pm 0.003 7	0.092 4 ~ 0.106 8
80 Hz	0.099 6 \pm 0.003 9	0.091 9 ~ 0.107 3
160 Hz	0.096 3 \pm 0.003 6	0.089 2 ~ 0.103 4
320 Hz	0.097 4 \pm 0.003 6	0.090 2 ~ 0.104 5
F	0.383	
P	0.913	

表 6 刺激频率对波幅的影响 (μV , $\bar{x} \pm s$)

刺激频率	波幅	95%CI
3 Hz	52.847 6 \pm 3.770 2	45.431 4 ~ 60.263 8
5 Hz	54.003 5 \pm 3.897 5	46.336 9 ~ 61.670 2
10 Hz	52.970 7 \pm 3.857 0	45.383 7 ~ 60.557 6
20 Hz	53.549 4 \pm 3.871 2	45.934 4 ~ 61.164 4
40 Hz	52.954 1 \pm 3.861 2	45.359 0 ~ 60.549 3
80 Hz	53.611 8 \pm 3.903 2	45.934 0 ~ 61.289 7
160 Hz	52.829 2 \pm 3.864 4	45.227 7 ~ 60.430 8
320 Hz	53.466 0 \pm 4.073 8	45.452 5 ~ 61.479 4
F	0.011	
P	1.000	

3 讨论

脑功能区病变的切除是神经外科手术的难点,如何最大程度的切除病变并避免神经功能损伤是神经外科努力的目标。术中直接皮层电刺激技术定位脑功能区已成为术中脑功能区定位的金标准,为术中实时定位功能区皮层,避免医源性损伤提供了保障。Fehlings 等^[6]建立了大鼠 MEP 与体感诱发电位

模型,为研究运动与感觉功能区病变导致的神经电生理的变化提供了动物研究平台。MEP 是皮层运动区在电流或电磁刺激的兴奋,导致脊髓前角细胞或周围运动神经纤维去极化,从而在相应的神经表面或肌肉记录点位。MEP 波幅降低与潜伏期延长提示运动区皮层或其传导束的损伤。例如,脑缺血性损伤可导致 MEP 潜伏期延长与波幅降低,而干细胞修复缺血性损伤后 MEP 的潜伏期与波幅会有显著的改善^[5]。

本研究采用双极电刺激器进行直接皮层电刺激,双极刺激电极位于 M1 区。记录电极分别于对侧上肢肱二头肌、下肢股后肌群记录 MEP,以确认刺激的皮层区域为上肢支配区而非下肢支配区域。国外学者进一步研究发现,大鼠支配上肢运动皮层可分为嘴侧运动区(RFA)与尾侧运动区(CFA),而 RFA 可以强有力地调控 CFA 对上肢运动的指令,较 M1 区的作用更加有效^[7-8]。

有关大鼠运动区 MEP 研究中刺激波宽多选择 100 μs 或 200 μs ^[5,9],然而,波宽是否会影响 MEP 的波幅与潜伏期,相关研究较少。本研究结果显示刺激的波宽可影响 MEP 的潜伏期,在波宽为 100、200、300 μs 时各组间潜伏期比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。刺激的波宽同样会影响 MEP 的波幅,本研究结果显示 MEP 波幅在刺激波宽 200 μs 与波宽 100、300 μs 间比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。但是目前数据尚不能说明刺激波宽的增加会导致 MEP 潜伏期的延长或缩短,也不能证实可导致 MEP 波幅的增加或减小。研究结果提示相同条件下不同刺激波宽可引起 MEP 波幅与潜伏期的变化。Watson 等^[10]的研究结果提示随着刺激波宽的增加,MEP 的潜伏期缩短,波幅升高。

本研究中刺激强度显著影响 MEP 潜伏期的时长。研究结果提示随刺激强度的增加,潜伏期有逐渐缩短的趋势。但组间比较显示,当刺激强度大于 9 mA 后潜伏期并不再进一步缩短。另一方面,不同刺激强度下 MEP 波幅的比较,差异也具有统计学意义($P < 0.05$)。本研究中 3 mA 即可引出典型的波形,但波幅较小。随刺激强度的增加,波幅逐渐增高,但当刺激强度大于 12 mA 后波幅差异无统计学意义($P > 0.05$)。Jang 等^[5]研究显示双极刺激器的刺激强度在 0.1~12.0 mA 均可引出典型的 MEP,与本研究结果类似。Fehlings 等^[6]应用单极刺激器进行皮层直接电刺激,研究结果显示,当刺激强度大于 9 mA 时 MEP 波幅并不再增加,与本研究结果类似。本研究结果提示增加刺激强度可缩短 MEP 潜伏期,并提高波幅。但当刺激强度大于 12 mA 时 MEP 波幅不再升高,刺激强度大于 9 mA 时 MEP 潜伏期不再缩短,并可能因为增加刺激强度而加重脑组织自身的损伤。

关于刺激频率对 MEP 潜伏期的影响显示二者无相关性,同样不同刺激频率也不能影响 MEP 的波幅变化。因此,在进行大鼠运动区 MEP 研究时调整刺激的频率并不会影响研究的结果。但是, Deguchi 等^[11]研究不同频率经颅电刺激,结果显示,与 10 Hz 以下的低频单个串刺激相比,20 Hz 以上的高频多个串刺激可以提高 MEP 波幅 2 倍以上,而且是安全的,并且不增加脑组织的损伤。

综上所述,应用双极电刺激器进行大鼠上肢运动区皮层的 MEP,刺激的波宽与强度均可以影响 MEP 的波幅与潜伏期,而刺激的频率并不能影响 MEP 的波幅与潜伏期。因此,在进行大鼠运动功能区电生理相关研究中可根据具体情况,在刺激能量最小的前提下适当调整双极刺激的波宽与强度,从而得到适宜的 MEP 波形。近年来,由于磁刺激具有无需开颅、无创、

可以反复使用等优势,大鼠经颅磁刺激诱发电位运动相关疾病模型得以研究^[12],而皮层直接电刺激被认为是脑功能区定位的金标准,因此进一步的研究可将两种刺激方式在大鼠运动区疾病模型的研究中加以对比。

参考文献

- [1] Li T, Bai H, Wang G, et al. Glioma localization and excision using direct electrical stimulation for language mapping during awake surgery[J]. *Exp Ther Med*, 2015, 9(5):1962-1966.
- [2] Ottenhausen M, Krieg SM, Meyer B, et al. Functional preoperative and intraoperative mapping and monitoring: increasing safety and efficacy in glioma surgery[J]. *Neurosurg Focus*, 2015, 38(1):E3.
- [3] 桂莉, 罗春霞, 张映琦, 等. 局灶性脑缺血大鼠模型皮层运动诱发电位的研究[J]. *医学研究生学报*, 2009, 22(9): 900-903.
- [4] Cui M, Ma X, Sun J, et al. Effects of STAT3 inhibitors on neural functional recovery after spinal cord injury in rats[J]. *Biosci Trends*, 2017, 10(6):460-466.
- [5] Jang DK, Park SI, Han YM, et al. Motor-evoked potential confirmation of functional improvement by transplanted bone marrow mesenchymal stem cell in the ischemic rat brain[J]. *J Biomed Biotechnol*, 2011, 2011:238409.
- [6] Fehlings MG, Tator CH, Linden RD, et al. Motor and somatosensory evoked potentials recorded from the rat[J]. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1988, 69(1): 65-78.
- [7] Deffeyes JE, Touvykine B, Quessy S, et al. Interactions between rostral and caudal cortical motor areas in the rat[J]. *J Neurophysiol*, 2015, 113(10):3893-3904.
- [8] Mohammed H, Jain N. Ipsilateral cortical inputs to the rostral and caudal motor areas in rats[J]. *J Comp Neurol*, 2016, 524(15):3104-3123.
- [9] Mansoori BK, Jean-Charles L, Touvykine B, et al. Acute inactivation of the contralesional hemisphere for longer durations improves recovery after cortical injury[J]. *Exp Neurol*, 2014, 254(4):18-28.
- [10] Watson M, Dancause N, Sawan M. Intracortical Microstimulation Parameters Dictate the Amplitude and Latency of Evoked Responses[J]. *Brain Stimulation*, 2015, 9(2): 276-284.
- [11] Deguchi T, Tsutsui S, Iwashashi H, et al. Efficacy and safety of novel high-frequency multi-train stimulation for recording transcranial motor evoked potentials in a rat model[J]. *J Clin Monit Comput*, 2017, 31(5):1053-1058.
- [12] Sykes M, Matheson NA, Brownjohn PW, et al. Differences in Motor Evoked Potentials Induced in Rats by Transcranial Magnetic Stimulation under Two Separate Anesthetics: Implications for Plasticity Studies[J]. *Front Neural Circuits*, 2016, 10:1-11.