

运动再学习对猴脑缺血损伤后脑血流量的影响

尹勇¹, 谷震¹, 杨波¹, 秦冬冬², 潘雷¹, 甘露¹, 王廷华³, 胡新天², 冯忠堂³

【摘要】 目的:观察运动再学习疗法对脑缺血损伤后恒河猴脑血流量的影响。方法:通过电凝法阻断恒河猴右侧大脑中动脉 M1 段制备成脑缺血损伤模型,术后采用觉醒意识水平肌力训练、协调能力及任务定向训练等运动再学习疗法(MRP),单光子发射计算机断层摄影(SPECT)测定训练前后相关脑区脑血流量的变化。结果:MRP 明显改善脑缺血损伤恒河猴的局部脑血流量,但不能改变脑缺血所致的右/左脑区脑血流量的不对称性。结论:MRP 可以增加脑缺血损伤周围及相关脑区脑血流量,促进受损神经功能恢复。

【关键词】 运动再学习疗法;恒河猴;脑缺血;脑血流量

【中图分类号】 R49;R743.3 **【DOI】** 10.3870/zgkf.2012.02.001

Effect of Motor Relearning Program on Regional Cerebral Blood Flow (rCBF) of Rhesus Monkeys with Cerebral Ischemic Stroke YIN Yong, GU Zhen, YANG Bo, et al. Department of Physical Medicine and Rehabilitation Medicine, the Fourth Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650023, China

【Abstract】 Objective: To observe the effect of motor relearning program (MRP) on regional cerebral blood flow (rCBF) of rhesus monkeys with cerebral ischemic stroke. Methods: Rhesus monkeys subject to an occlusion of the M1 segment of the right middle cerebral artery (MCA) by using electrocoagulation were trained with MRP, and single-photon emission computed tomography (SPECT) was used before and after MCA occlusion to semi-quantify the changes of rCBF. Results: MRP could greatly improve rCBF of the animals with cerebral ischemic stroke, but couldn't change the functional asymmetry of cerebral hemispheres. Conclusion: It is possible that MRP increases cerebral blood flow in injured areas and other related areas to have a significant improvement on neurological deficits caused by cerebral ischemia.

【Key words】 motor relearning program; rhesus monkeys; cerebral ischemia; regional cerebral blood flow

运动再学习疗法(Motor Relearning Program, MRP)可明显改善缺血性脑血管病患者的各种神经功能障碍^[1],本研究拟探索 MRP 对脑缺血损伤后实验动物脑血流量(regional cerebral blood flow, rCBF)的影响,为临床广泛开展该治疗技术提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料 ①动物:云南成年健康恒河猴 9 只(由中国科学院昆明动物研究所实验动物中心提供),雄性,

年龄 9 岁,体质量 7~9 kg。经医院伦理委员会同意签署相关文件后开展研究。②仪器与试剂:显像仪器为 TOSHIBA GCA7200A/UA 型双探头 SPECT 仪,低能高分辨平行孔型准直器,矩阵 128×128,放大倍数 2.0。显影剂为^{99m}Tc-双半胱乙酯(^{99m}Tc-ECD),^{99m}Tc 由原子高科股份有限公司提供,ECD 由北京师范大学应用化学研究所提供。

1.2 方法 ①模型制备:采用电凝法制备猴大脑中动脉缺血(MCAO)模型。实验恒河猴术前 24 h 禁食,适量饮水,常规麻醉(10 mg/kg 盐酸氯胺酮+20~30 mg/kg 戊巴比妥钠+0.3 mg/kg 阿托品)后待动物安静后行相关术前准备,常规消毒右侧头颅后,在两眶上方 2 cm 矢状窦的两侧和颅骨的后方钻孔,切开颅骨,在右额叶区域切开硬脑膜并扩展到额极、矢状窦、颞叶的腹后位置,将额极提起并接近额叶的眶面,在显微镜下沿着嗅束通路,在额叶和颞叶的交界处能看到

基金项目:云南省科技厅-昆明医学院联合专项基金资助项目(2008CD37R)

收稿日期:2011-12-31

作者单位:1. 昆明医学院第四附属医院康复医学科,昆明 650023;2. 中国科学院昆明动物研究所,昆明 650023;3. 昆明医学院神经科学研究所,昆明 650023

作者简介:尹勇(1966-),男,主任医师,主要从事脑血管病的神经康复方面研究。

通讯作用:冯忠堂,教授,博士生导师。

大脑中动脉(MCA),在嗅束内侧 2 mm 处电凝并切断右侧 MCA M1 段,实验动物出现左侧肢体瘫痪确认损伤成功。术后将动物送回动物房密切观察直至清醒,进行术后常规护理,必要时给予甘露醇、呋塞米脱水降颅压,抗菌素对症处理等,给予正常饲养。②训练方法:根据实验动物特性,北京师范大学应用化学研究所提供由 1 名指定的物理治疗师,于造模成功后第 3 天开始运用 MRP 训练恒河猴,第 1~30 天通过食物诱导进行恒河猴觉醒意识水平的相应训练,包括感知、注视、移动或者攻击性行为、防御性反应训练等,同时训练其自我照顾能力,如吞咽及取食能力,肌力和协调能力训练,如抬起健康上肢、试图用健康上肢抓住笼子或支撑物、摇笼子或拉住笼子保持站立等,还要进行平衡以及站立、行走训练等。第 30~60 天进行任务导向训练并强化偏瘫肢体运动训练,如围绕笼子全范围移动、笼子外坐、站位静态和动态平衡、笼外行走等;抬起偏瘫上肢、试图用偏瘫上肢抓住笼子或支撑物、用偏瘫上肢摇笼子或拉住笼子保持站立,四肢协调能力训练等,每天 1 h。

1.3 评价指标 SPECT 检测:实验动物均应用^{99m}Tc-ECD SPECT 灌注成像技术分别于术前 1 d、术后 3、10、14、21 及 30 d 和 60 d 半定量检测相关脑区 rCBF。恒河猴禁食禁水 4~6 h 后,将浓度为 20 mg/ml 的过氯酸钾溶液按 0.5 ml/kg 的剂量注射至番茄中喂食恒河猴以封闭脉络丛,30 min 后按 0.05 mg/kg 肌肉注射阿托品防止恒河猴的迷走神经反射及呕吐,5 min 后按 5.0 mg/kg 及 2.0 mg/kg 的剂量分别肌注氯胺酮及戊巴比妥那进行麻醉,1 h 后用黑色眼罩及棉花分别封闭眼、耳,15 min 后按 2.5 mCi/kg 的剂量静注^{99m}Tc-ECD,15 min 后恒河猴

平卧于检查床上,用胶带固定头部及躯体,开始显像。以步进方式围绕头部旋转 360°采集 60 帧图像,1 帧/6°,15 s/帧,脑组织的净计数率 40~80 k/帧。对原始数据用 Butterworth 低通滤波器滤波,Ramp 函数滤波反投影重建图像,Chang 法衰减校正。对原始横断层影像进行 OM 线校正,重建出横断层、矢状层及冠状层图像,重建后的横断层图像共 20~22 层(层厚 2.2 mm)。

2 结果

9 只恒河猴中,3 只造模成功,5 只在选模后死亡,1 只造模未成功。3 只恒河猴的造模成功的残疾程度高度一致,呈现左侧中枢性面舌瘫、左侧肢体完全性瘫痪、偏身感觉障碍等。

经 SPECT 检测,术后 3 d 恒河猴各脑区 rCBF 均较术前 1 d 显著降低;术后 10 d,恒河猴 rCBF 逐渐升高,但仍低于术前,且左颞叶、双侧顶叶以及全脑平均 rCBF 值降低尤为明显;术后 14 d,恒河猴各脑区仍存在明显供血不足;术后 21 d 及 30 d,恒河猴各脑区 rCBF 逐渐增加,但均未达到术前水平;术后 60 d,恒河猴各脑区血流增加更加明显,其中双侧小脑、枕叶、左侧颞叶、顶叶、额叶,左侧脑半球及全脑平均脑血流均高于术前。见表 1。

经 SPECT 检测,手术前后实验恒河猴右/左脑叶局部 rCBF 绝对值比较结果显示,术后 3 d,恒河猴右/左脑区 rCBF 绝对值比较均表现出明显不对称性,术后 10 d,恒河猴右/左小脑的不对称性消失,而右/左额叶仍有显著不对称性;术后 10、14、21、30 及 60 d,这种不对称性的存在,尤以颞叶、顶叶更明显。

表 1 恒河猴各脑区 rCBF 比较

ml/100g 脑组织/min, $\bar{x} \pm s$

脑区	术前 1 d	术后(d)					
		3	10	14	21	30	60
小脑右侧	139.30±31.43	69.23±12.18	137.23±18.44	111.49±7.11	120.74±23.25	122.37±15.76	160.80±41.77
左侧	154.10±43.45	64.33±10.19	139.45±18.31	119.98±9.97	130.23±19.03	121.09±13.57	159.27±42.33
枕叶右侧	170.05±45.38	79.37±14.43	145.76±20.17	128.56±12.48	132.77±20.17	145.75±27.22	186.04±64.04
左侧	177.92±49.18	70.22±6.37	151.01±21.72	138.64±12.39	146.44±12.58	154.38±23.74	204.18±61.86
颞叶右侧	155.68±41.41	40.51±18.21	93.70±13.73	82.19±6.67	87.11±22.80	100.94±6.02	118.62±54.80
左侧	156.30±47.49	55.74±4.77	108.03±10.46	101.44±8.15	134.08±28.01	135.85±11.31	173.72±58.38
顶叶右侧	158.94±36.36	45.22±19.55	88.41±26.73	86.13±15.06	90.23±21.06	93.82±10.60	128.37±58.94
左侧	154.74±37.42	59.87±7.40	77.56±93.33	122.75±10.09	132.36±22.25	142.05±4.47	177.34±53.79
额叶右侧	155.63±27.47	34.44±4.42	66.43±17.03	76.89±11.12	103.08±26.85	100.44±2.33	149.19±63.81
左侧	153.64±30.64	53.70±3.34	94.93±21.34	99.17±9.22	122.79±25.46	122.88±5.98	159.92±64.17
脑半球右侧	155.92±35.94	53.75±13.76	106.31±19.23	97.65±5.97	106.79±21.84	112.66±12.39	148.60±56.46
左侧	159.36±41.26	60.77±6.41	124.20±18.89	116.40±5.87	133.18±20.00	135.25±11.82	174.89±56.02
全脑平均	157.64±38.59	57.26±10.08	69.76±83.40	106.73±6.02	119.99±20.91	123.96±12.10	161.75±56.24

表2 恒河猴右/左脑 rCBF 绝对值比值比较

 $\bar{x} \pm s$

脑区	术前 1 d	术后(d)					
		3	10	14	21	30	60
小脑	0.91±0.05	1.07±0.02	0.98±0	0.93±0.07	0.92±0.06	1.01±0.02	1.01±0.01
枕叶	0.96±0.03	1.13±0.10	0.97±0.015	0.93±0.04	0.90±0.06	0.94±0.03	0.90±0.07
颞叶	1.00±0.05	0.73±0.28	0.87±0.04	0.81±0.01	0.64±0.03	0.74±0.02	0.66±0.09
顶叶	1.02±0.02	0.74±0.24	0.69±0.09	0.70±0.08	0.68±0.05	0.66±0.05	0.70±0.12
额叶	1.02±0.02	0.64±0.42	0.67±0.02	0.77±0.04	0.83±0.04	0.82±0.02	0.93±0.02
脑半球	0.98±0.03	0.88±0.13	0.88±0.07	0.84±0.03	0.80±0.05	0.83±0.02	0.84±0.05

3 讨论

脑缺血损伤后可引起局部脑缺血缺氧,同时导致神经元变性、坏死,引发神经功能缺损,尽快恢复损伤区的血液供应对损伤后神经功能的恢复将发挥重要的作用^[2]。MRP 训练急性、亚急性期、恢复期乃至后遗症期脑缺血损伤患者,均可明显改善患者各种神经功能^[3-6],因 rCBF 的测定可以反映局部脑功能情况^[7-8],故选择从基因到解剖方面与人类相似的灵长类动物恒河猴为实验对象,制成脑缺血模型,应用^{99m}Tc-ECD SPECT 检测技术检测 rCBF 的变化来探索 MRP 促进受损神经功能恢复的可能机制。

本研究过程中实验猴死亡和未成功可能与手术定位、操作不当、损伤范围过大、脑出血、脑水肿等因素有关。研究结果显示阻断大脑中动脉对恒河猴脑部血流造成显著影响,而术后 MRP 训练可以明显改变局灶性脑缺血相关区域的血液供应,同时,手术造成了恒河猴右左脑区 rCBF 的不对称性,也即脑功能表现出不对称性,提示康复疗法虽能明显地改善损伤恒河猴不同脑区的脑血流,但不能改变手术导致的恒河猴右/左脑区 rCBF 的不对称性,其原因可能是 MRP 强调整体治疗,着重训练实验动物的肌肉力量、平衡、协调、坐位、站立、步行、上肢、头面口腔功能等,双侧前后四肢同时训练,所以缺血侧大脑各脑区血流恢复明显,并且术后 60 d 时双侧大脑中一些脑区 rCBF 比术前还增加,说明该治疗方法可以通过改善提高双侧脑血流自身调节功能,实现脑血液循环的生理学重组;鉴于缺血侧存在液化坏死病灶,脑部供血血管网络明显受损,尽管通过脑血流自身调节机制,而且实验动物同时得到可以促进双侧增加 rCBF 的 MRP 训练,但与非缺血侧相比,缺血侧 rCBF 仍然会不同程度地减少,导致双侧

大脑的血流供应不一致,出现左/右脑区 rCBF 的不对称性。本实验初步反映了通过有效的康复训练可能改善脑缺血损伤周围区及相关脑区脑 rCBF,为探索 MRP 促进神经功能障碍的恢复机制提供了初步依据,但由于动物样本过少,有待于更深入地研究。

致谢:衷心地感谢中国科学院昆明动物研究所王正波博士、董锦润老师和吴晶老师在研究过程中所给予的大力帮助!

【参考文献】

- [1] 段春兴,李宝,谢仁明,等.以任务为导向的康复治疗改善脑卒中患者平衡及步行功能的疗效观察[J].中国康复,2011,26(4):256-258.
- [2] 凌峰.脑血管病理学与实践[M].北京:人民卫生出版社,2007,9-9.
- [3] 邵天民,贾云.运动再学习方案改善对脑卒中患者平衡功能的疗效观察[J].中国康复理论与实践,2006,12(12):1093-1094.
- [4] Chan DY, Chan CC, Au DK. Motor relearning programme for stroke patients: a randomized controlled trial [J]. Clin Rehabil, 2006,20(3):191-200.
- [5] 郭文玲,张弘娟,冯玉琴,等.运动再学习方案对脑卒中患者运动功能恢复的影响[J].中国实用神经疾病杂志,2009,12(6):91-92.
- [6] 余茜,李晓红,覃波,等.运动再学习对缺血性脑卒中患者运动功能及其认知电位 P300 的影响[J].中国卒中杂志,2009,4(10):824-827.
- [7] 秦大伟,郭天龙.运动再学习对脑卒中患者下肢功能的影响[J].中国康复理论与实践,2010,16(4):372-373.
- [8] 费国强,朱文炳,马昱.早期神经康复治疗前后单侧大脑半球脑梗死患者 SPECT-rCBF 对比研究[J].中国临床医学,2002,9(6):649-651.