

# 分米波对大鼠周围神经慢性卡压的作用机制

田德虎<sup>1</sup> 赵峰<sup>1</sup> 张英泽<sup>2</sup> 张继春<sup>1</sup> 于昆仑<sup>1</sup> 李高峰<sup>1</sup> 赵民<sup>3</sup>

**摘要 目的:** 探讨分米波对周围神经慢性卡压康复的作用机制。**方法:** 选取SD大鼠90只,随机分成A(实验组)、B(空白对照组)两组。制备Mackinnon坐骨神经卡压模型。A组术后第1d至术后12周,局部行分米波辐射,B组于A组治疗同时行空白对照。术后进行大体、光镜、电镜、免疫组化、轴突图像分析和神经电生理测定。**结果:** 实验组较对照组再生有髓神经纤维数目多、髓鞘发育成熟,神经膜细胞中S-100蛋白的表达水平较高,神经传导速度快且波幅较高。**结论:** 分米波可促进神经膜细胞增殖,提高再生神经中S-100蛋白的表达水平,有利于神经再生和功能恢复。

**关键词** 分米波;周围神经卡压;神经再生;S-100蛋白

中图分类号:R493,R651.3 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2007)-02-0103-04

**Mechanisms of decimeter wave on peripheral nerve entrapment in rats/TIAN Dehu,ZHAO Feng, ZHANG Yingze, et al. //Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2007, 22(2): 103—106**

**Abstract Objective:** To investigate the mechanisms of decimeter wave on rehabilitation after peripheral nerve entrapment. **Method:** Sciatic nerve of SD rats were compressed by a silicone tube to form a nerve entrapment model of Mackinnon. After operation the experimental group were treated with decimeter wave. Nerves were exposed and observed on the 7th, 14th, 30th, 60th and 90th day after operation and the samples were observed with light-microscope, electronmicroscope and immunohistochemistry. Image pattern analysis of axon and electro-physiology were done on the 90th day after operation. **Result:** The regenerated nerves of decimeter wave sides had more medullated fibers, larger mean axons diameters and thicker myelin sheath, shorter latency of compound muscle action potential, faster nerve conduction velocity and higher wave amplitude. The expression of immunologic reaction to S-100 protein in Schwann cell were higher than those of control sides. **Conclusion:** Decimeter wave can promote the expression of S-100 protein in Schwann cells. Decimeter wave could promote regeneration of peripheral nerve and functional recovery.

**Author's address** Department of Hand Surgery, The Third Affiliated Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, 050051

**Key words** decimeter wave; peripheral nerve entrapment; nerve regeneration; S-100 protein

周围神经卡压是手外科常见病、多发病。神经卡压后,如何对卡压神经加以保护,减轻其继发性损害,尽快恢复其传导功能,是目前尚未解决的难题。近年来研究发现了一些对神经再生有促进作用的生物活性物质及相关药物,但在药物治疗基础上的物理治疗逐渐成为周围神经修复再生领域的又一热点。一些物理因子,如电刺激、磁作用、分米波及调制中频脉冲电可促进损伤神经的修复与再生<sup>[1-7]</sup>。本实验在构建经典Mackinnon大鼠坐骨神经卡压模型的基础上,对卡压神经行手术松解并辅以局部分米波辐射治疗,通过大体、光镜、电镜、免疫组织化学、轴突图像分析等方法,探讨分米波在神经修复与再生中的作用机制,为临床推广、应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及分组

本实验选用相同条件下喂养的成年健康SD大

鼠(河北医科大学动物实验中心提供)90只,雌雄不限,体重200—250g。编号标记后随机分成A组(实验组)和B组(对照组),每组45只。

### 1.2 Mackinnon大鼠坐骨神经卡压模型的制备

实验动物于术前8h禁食水,1%戊巴比妥钠(30mg/kg)腹腔注射麻醉,取俯卧、后腿伸直位固定于手术台上,常规备皮、消毒、铺巾。于右侧大腿后部正中切口,分离股二头肌和半腱肌、半膜肌之间的肌间隙,显露坐骨神经,游标卡尺测量其直径均值为1.0mm。在梨状肌下缘10mm处,将内径1.0mm、长6.0mm的一段硅胶管纵向切开后套在此处坐骨神经

1 河北医科大学第三医院手外科,石家庄,050051

2 通讯作者:张英泽(河北医科大学第三医院创伤急救中心,石家庄,050051)

3 北京顺义区医院骨科

作者简介:田德虎,男,主任医师,教授,医学博士,硕士生导师

收稿日期:2006-06-22

上,在8倍手术显微镜下以7—0无创线缝合硅胶管3针。彻底止血,创口处滴入庆大霉素注射液0.4ml,预防感染。关闭肌间隙,缝合皮肤。

4周后,随机抽取实验动物6只,每组3只,沿原切口打开,可见硅胶管表面被结缔组织包裹,但与硅胶管无粘连。卡压段两端神经增粗,成神经瘤样改变,表面颜色苍白。神经电生理检测证实神经传导速度降至正常1/6以下;卡压段神经经病理学证实为中、重度脱髓鞘改变,造模成功。

### 1.3 神经松解

造模成功的实验动物常规麻醉、消毒,沿原切口打开,显露坐骨神经,行单纯松解,即仅去除卡压物硅胶管,卡压段神经外膜不予松解。彻底止血,关闭肌间隙,缝合皮肤。

### 1.4 术后处理

实验动物术后继续雌雄分笼饲养,任其活动。A组于术后第1d至术后12周取俯卧、双腿伸直位固定于实验台上,右侧大腿后部正中行分米波辐射治疗。分米波治疗仪采用国产TMA-A型双频微波热疗机,频率915MHz,功率5W,辐射距离10cm,1次/d,10min/次,每周连续5d,休息2d。B组于A组治疗同时逐一在微热疗机旁固定于同型实验台,进行10min空白对照。

### 1.5 观测项目及检测方法

**1.5.1 大体解剖及光镜观察:**术后观察切口愈合情况,有无足底溃疡及自噬现象。并分别于术后1、2、4、8和12周显露卡压段神经,肉眼观察神经及神经周围组织病理改变以及神经粘连情况。分别在卡压段近、远端2mm处及卡压神经中段取2mm长神经,10%中性福尔马林固定,HE染色,光镜下观察神经结构。

**1.5.2 电镜观察:**分别于术后2、4和8周在上述部位取材,3%戊二醛溶液固定,环氧树脂包埋,超薄切片,透射电镜观察神经纤维修复情况。

**1.5.3 免疫组织化学检测:**分别于术后3d、1、2、4和8周取材,标本制成5 $\mu$ m厚的石蜡切片,常规SP法染色。光学显微镜下观察切片中组织染色以及S-100蛋白在神经组织中的分布情况。

**1.5.4 轴突图像分析:**采用电脑图像分析处理系统,对术后12周卡压神经远端四氧化钬染色标本作图像分析,计数有髓神经纤维数目、轴突直径及髓鞘厚度,每个视野测定200—400根神经纤维。

**1.5.5 神经电生理检测:**于术后12周A、B两组各取实验动物6只,使用DISA1500型肌电诱发电位仪进行复合肌肉动作电位(compound muscle action

potential, CMAP)检测,记录各组图形与数据。最大刺激值:电压强度18V,刺激期0.1ms,刺激频率1Hz。连机计算机记录图形并计算潜伏期、波幅和神经传导速度。

### 1.6 统计学分析

所有数据均采用SPSS 11.0统计软件进行统计学处理。所得数据以均数 $\pm$ 标准差表示,数据间比较采用配对 $t$ 检验。

## 2 结果

### 2.1 大体观察

术后两组实验动物切口均I期愈合,无感染、足底溃疡及自噬现象。术后1周两组实验动物皮下组织和神经周围组织均有充血、水肿,卡压痕迹清晰可见,卡压段神经变细,两端可见增粗的神经瘤样改变,A组较轻。随时间延长,神经周围组织充血、水肿情况逐渐减轻,卡压段神经逐渐增粗。至术后8周两组神经周围组织无充血、水肿,卡压段神经明显增粗,卡压段两端增粗的神经瘤样改变明显减轻。术后12周A组神经表面光滑,多为少许薄膜粘连,偶有无粘连,B组神经周围粘连较前明显疏松,钝性可分离。两组卡压段神经几乎接近正常。

### 2.2 光镜观察

术后2周两组神经纤维周围均有大量的炎性细胞浸润,A组炎性细胞局限于神经外膜浅层,B组神经周围有较多的炎性细胞浸润和散在的多核巨细胞。两组神经外膜完整,髓鞘薄厚不均,外形不规则,均有不同程度的脱髓鞘改变。术后8周两组脱髓鞘改变明显减轻,A组轴突肿胀基本消除,脱落的髓鞘逐渐减少,在卡压段及远端出现再生神经纤维,但再生神经轴索直径普遍较细,髓鞘较薄;B组轴突肿胀也有所减轻,但仍有较多脱落的髓鞘,在卡压段及远端再生神经纤维较少,发育不成熟。术后12周A组神经表面光滑,与周围组织无粘连或轻度丝状粘连,B组神经表面不光滑,仍多见粘连。两组髓鞘碎片明显减少,新生血管增多,有大量的再生轴突和髓鞘形成,断裂的神经纤维多数连接在一起,但直径相对较细,髓鞘较薄,神经纤维排列较整齐,A组恢复情况明显优于B组(图1—2,见前置彩色插页7)。

### 2.3 电镜观察

术后2周A组卡压段近端神经纤维有许多新生轴芽发出,再生轴芽被神经膜细胞包绕,再生轴芽内可见线粒体、神经微丝、微管、囊泡等细胞器,但其数目较少,排列稀疏;B组髓鞘神经膜细胞基膜及轴突分离,髓鞘肿胀厚薄不均,线粒体空化坏死,崩解。

术后4周A组髓鞘较厚,再生轴突形态规则,轴突内可见近似正常的细胞器,但其数目较少,排列稀疏;B组可见少量有髓纤维,轴索直径普遍较细,排列不规则,髓鞘较薄,且部分鞘内空虚,偶有髓鞘解体后形成的卵圆体。术后8周A组有髓纤维再生显著,排列规则,束状结构明显,髓鞘明显增厚,明暗板层结构清晰,轴索直径大,神经内膜发育良好,未见有结缔组织增生;B组再生有髓神经纤维数量较多,轴索直径普遍较小,排列较规则,髓鞘较厚,可见结缔组织低度增生(图3—4,见前置彩色插页7)。

### 2.4 免疫组织化学检测

术后两组卡压段近端阳性染色颗粒均减少,随

时间延长,神经膜细胞中阳性染色颗粒逐渐增多,至术后4周阳性染色颗粒的数量及分布情况接近正常。两组卡压段远端轴索几乎消失,缺乏正常神经膜细胞,代之以大量的类纤维细胞和未成熟神经膜细胞构成的Bungner带(图5—6,见前置彩色插页7)。

### 2.5 轴突图像分析及神经电生理检测

见表1。术后12周A组有髓神经纤维直径、髓鞘厚度及横截面有髓神经纤维数目均大于B组。统计学分析有显著差异( $P<0.01$ )。术后12周神经电生理检测结果显示:两组均能引出肌肉收缩及复合肌肉动作电位,A组潜伏期短、神经传导速度快、波幅高,两组比较有显著性差异( $P<0.01$ )。

表1 术后12周轴突图像分析和神经电生理检测结果

( $\bar{x}\pm s$ )

组别	轴突数目(个)	轴突直径( $\mu\text{m}$ )	髓鞘厚度( $\mu\text{m}$ )	潜伏期(ms)	传导速度(m/s)	波幅(mV)
实验组(A组)	3594±407.83 <sup>①</sup>	3.87±0.23 <sup>①</sup>	1.44±0.12 <sup>①</sup>	2.15±0.83 <sup>①</sup>	45.73±5.09 <sup>①</sup>	6.54±2.52 <sup>①</sup>
对照组(B组)	1983±396.26	2.83±0.31	0.82±0.15	3.08±0.97	19.93±6.37	3.84±1.84

①两组比较  $P<0.01$

### 3 讨论

周围神经慢性卡压是一种周围神经特定部位受到慢性卡压而引起的相应神经功能障碍疾病,其病理过程有三个基本变化:慢性缺血、血-神经屏障改变和严重的瓦勒氏变性。在卡压初期,仅涉及血-神经屏障的改变,神经内压增高,神经内膜和神经束膜下水肿,随之神经束膜、神经外膜进行性增厚,最后局部神经纤维发生节段性脱髓鞘改变<sup>⑧</sup>。神经纤维内有顺向和逆向两种轴浆流,神经卡压既可阻碍顺向轴浆流的顺利通过,也可影响逆向轴浆流的通过。在卡压早期,主要阻碍顺向轴浆流,虽然逆向轴浆流受阻,但程度较轻,神经元并未发生死亡,因此卡压早期近端变化不明显,而卡压远端由于顺向轴浆流动障碍进而影响神经营养因子及轴浆转运,加剧了卡压远端病变。另外,卡压早期神经仅出现轴突水肿和阶段性脱髓鞘,并未发生变性坏死,如及早去除卡压,远端受损神经元可恢复其功能。一旦神经出现变性坏死,损伤将不可逆。卡压松解的目的就是消除上述不利因素,解除对神经的压迫,改善神经的微循环,利于髓鞘再生及调整神经纤维电解质浓度及分布状况,尽早恢复神经功能。

周围神经受到卡压后局部充血、水肿,与周围组织形成广泛而致密的粘连,导致在卡压的基础上又形成新的卡压,如此反复势必加重神经的充血、水肿,使再生神经缺血、缺氧,这一恶性循环阻碍了神经再生。分米波能够抑制炎症反应、改善损伤局部的血液循环、加强损伤局部的营养代谢、减少瘢痕形成、减轻粘连<sup>②</sup>。本实验结果显示,术后1周A组炎性

细胞局限于神经外膜浅层,B组神经周围有较多的炎性细胞浸润,并可见散在的多核巨细胞;术后4周A组神经内很少见到炎性细胞,神经周围粘连局限、疏松,B组神经内仍可见炎性细胞聚集,神经周围广泛致密的粘连,钝性不易分离。这充分说明分米波能有效抑制损伤后的炎症反应、改善损伤局部血液循环、减少瘢痕形成、减轻损伤神经粘连,利于神经再生。

S-100蛋白是一种分子量为21000—24000道尔顿的高溶解性酶蛋白,在100%饱和硫酸溶液中溶解。免疫组织化学和免疫细胞化学研究发现,在周围神经系统中S-100蛋白只存在于神经膜细胞中,在轴索中缺乏S-100蛋白,故当神经膜细胞增殖活跃时,S-100蛋白的表达水平也必将随之升高。因此,在周围神经系统中如检测到S-100蛋白表达水平升高,则提示该处神经膜细胞增殖活跃。在促神经再生的各种康复措施中,如能提高神经膜细胞中S-100蛋白的表达水平,则可间接说明该措施有利于神经再生<sup>③</sup>。本实验结果显示,在不同时相,A组S-100蛋白的表达水平均高于B组,说明分米波能提高再生神经中S-100蛋白的表达水平,从而揭示了分米波可促进神经膜细胞增殖,提高S-100蛋白的表达水平,有利于损伤神经的修复与再生。

周围神经的修复与再生过程即损伤近端神经轴突长入远端神经的过程。因此,再生神经中轴突的数目及成熟程度可反应损伤神经的再生情况。本实验电镜结果显示,术后2周A组卡压段近端神经纤维有许多新生轴芽发出,再生轴芽内可见线粒体、神经

微丝、微管、囊泡等细胞器,B组未见新生轴芽;术后4周A组再生神经髓鞘较厚,再生轴突形态规则,轴突内可见近似正常的细胞器,B组再生神经结构仍紊乱,有髓神经纤维髓鞘较薄,形态不规则,内部结构不成熟。轴突图像分析结果显示,A组再生神经远端有髓神经纤维数目、直径及髓鞘厚度均大于B组。上述结果均说明A组再生神经成熟程度高于B组。但是再生轴突数目增多、成熟程度提高并不能说明A组神经再生质量高于B组,因为神经近端发出许多小的轴芽长过神经缺损后,有可能终止于瘢痕组织或神经瘤或误长入感觉神经鞘而被修支。因此,这些再生轴突并不能到达其特异性靶器官,不会有助于神经功能恢复,而只是改变了横截面的神经纤维计数和神经干直径,进而影响了形态学评价的实际价值。在这种情况下,如能结合电生理检测来评价神经再生效果则更加完善,更加准确可靠。本实验电生理检测结果表明,两组再生神经功能都有不同程度的恢复,A组潜伏期短、神经传导速度快、波幅高,说明A组神经、肌肉功能状态高于B组;这些结果均说明分米波有明显促进再生神经功能恢复作用。其机制可从再生神经组织结构上得到解释。

## 参考文献

- [1] 米立新,王彦香,张仲,等. 经皮电神经刺激对周围神经再生的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2003, 25(4): 209—211.
- [2] 田德虎,张英泽,米立新,等. 分米波治疗糖尿病周围神经病变的疗效分析[J]. 中华物理医学与康复杂志,2004,26(3):163—164.
- [3] 田德虎,张英泽,米立新,等. 分米波在周围神经损伤后S-100蛋白表达变化中作用的实验研究[J]. 中国康复医学杂志, 2004, 19(4): 269—271.
- [4] 尹爱莉,祝玮. 应用正弦调制中频电疗及微波治疗DPN[J]. 辽宁实用糖尿病杂志, 2003, 11(1): 27—28.
- [5] Inoue M, Hojo T, Yano T, et al. The effects of electroacupuncture on peripheral nerve regeneration in rats[J]. Acupunct Med, 2003, 21(1—2): 9—17.
- [6] Chen YS, Hu CL, Hsieh CL, et al. Effects of percutaneous electrical stimulation on peripheral nerve regeneration using silicone rubber chambers [J]. J Biomed Mater Res, 2001, 57(4): 541—549.
- [7] Lazar DA, Curra FP, Mohr B, et al. Acceleration of recovery after injury to the peripheral nervous system using ultrasound and other therapeutic modalities [J]. Neurosurg Clin N Am, 2001, 12(2): 353—357.
- [8] 刘玉杰,卢世璧,罗毅,等. 周围神经嵌压后脱髓鞘改变的实验研究[J]. 中华显微外科杂志,1997, 20(4): 273.

## 向康复科医师推荐

### ——《骨科临床检查图解》(第5版)

近年来,骨关节创伤患者日益增多,术后的康复越来越受到患者的重视,骨关节康复医师的需求也越来越多。体格检查和阅读X线片是骨关节康复医师的基本功。然而国内系统介绍骨科检查的书籍并不多。《骨科临床检查图解》就是一本以图解的形式专论骨科临床检查的专著。全书共13章,第一二章为骨科检查的一般原则和四肢周围神经的检查,其他11章分别介绍了颈、肩、肘、腕、手、胸腰椎、髋、膝、胫骨、踝、足的检查技术。每个章节一般首先介绍该部位常见骨科疾病的特点,然后采用图解与简单文字介绍相结合的方式,按骨科常用的望、触、动诊的顺序讲解体格检查,最后介绍常见的正常和异常X线片。以上3个部分前后呼应、编排新颖、逻辑性强。其突出的特点是图文并茂、系统讲解,易于读者理解、记忆和掌握各种骨科体格检查的要点及相应的临床意义。另外,本书对正常和异常X线片及图示的讲解,也有助于读者提高阅读X线片的能力。

该书由山东科学技术出版社最新出版,16开,精装,310页,定价68元,全国各新华书店及医药卫生书店销售。