

分米波促进周围神经急性损伤康复的作用机制

于昆仑¹ 李熙明⁵ 田德虎^{1,6} 张英泽² 赵 峰³ 韩久卉¹ 李高峰⁴ 韩金豹¹ 张继春¹

摘要 目的:探讨分米波促进周围神经急性损伤康复作用的机制。**方法:**选取体重 200—250g 健康 SD 大鼠 30 只,随机分成 A(分米波治疗组)、B(空白对照组)两组。于右侧大腿制备坐骨神经急性损伤模型。A 组于术后第 1 天至术后 8 周,损伤局部行分米波辐射,B 组行空白对照。分别于术后不同时相相对损伤神经进行大体解剖、光镜和电镜观察、轴突图像分析、免疫组织化学检测。**结果:**形态学观察术后不同时相内 A 组损伤神经恢复情况优于 B 组,免疫组织化学染色显示术后不同时相 A 组雪旺细胞中 S-100 蛋白表达水平高于 B 组,轴突图像分析 A 组有髓神经纤维数目、直径及髓鞘厚度均大于 B 组($P<0.01$)。**结论:**分米波能通过抑制炎症反应、减轻损伤后神经的充血水肿及与周围组织的粘连、促进雪旺细胞增殖等机制促进周围神经急性损伤后的康复。

关键词 分米波;周围神经损伤;雪旺细胞;康复

中图分类号:R745,R493 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2008)-12-1089-03

The mechanism of the effect of decimeter wave irradiation on the repair of acute-injured peripheral nerves/YU Kunlun, LI Ximing, TIAN Dehu, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2008, 23 (12): 1089—1091

Abstract Objective: To approach the mechanism of the effect of decimeter wave irradiation on the repair of acute-injured nerves. **Method:** Thirty Sprague-Dawley (SD) rats (200—250g) were randomly divided into 2 groups: group A, the decimeter wave treated group and group B, the blank control group. The right sciatic nerves were crushed with forceps to form the experimental animal model of peripheral acute-injured nerves. Then the rats of group A were fixed on a table prostrated and the right posterior thighs were exposed to decimeter wave from the 1st day to 8th week postoperatively. The rats of group B were also fixed on a table prostrated at the same time, but not exposed to decimeter wave. At different time points postoperation the samples were observed by anatomical exam, light and electron microscope observation, morphometric analysis and S-100 protein immunochemical staining. **Result:** The morphology observation showed that at different time points the recovery of nerves in group A were better than that in group B. The immunohistochemical staining showed S-100 protein expression in Schwann cells of the injured nerves in group A were more than that in group B. The morphometric analysis showed that in group A there were more myelinated axons counts, large axon mean diameters and myelin sheath mean thickness compared with those in group B ($P<0.01$). **Conclusion:** The mechanism of decimeter wave irradiation on the repair of acute-injured peripheral nerves was that decimeter wave could restrain the inflammation, alleviate the congestion and relieve the adhesion of the acute-injured nerves and promote the proliferation of Schwann cells.

Author's address Department of Hand Surgery, the 3rd Affiliated Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, 050051

Key words decimeter wave; peripheral nerve injury; Schwann cell; rehabilitation

周围神经急性损伤多由切割伤、挤压伤等引起,如何使受损神经的功能最大程度恢复一直是临床研究热点。手术方法不断改进,术后康复亦日益受到重视。一些物理因子如电刺激、微波、超声等由于无创、无痛、效果肯定受到临床的欢迎。研究表明分米波有明显促进周围神经急性损伤的康复作用^[1]。本研究旨在探讨分米波对周围神经急性损伤康复作用的机制,为临床应用的推广提供理论依据。

选用 30 只体重 200—250g 的 SD 大鼠(河北医科大学动物实验中心提供),随机分成 A 组(分米波治疗组)和 B 组(空白对照组),每组 15 只。每组据

1 材料与方法

1.1 动物模型的制作

1 河北医科大学第三医院手外科,石家庄,050051

2 河北医科大学第三医院创伤急救中心

3 河北医科大学第一医院骨科

4 保定市第三医院骨科

5 石家庄市人民医院骨科

6 通讯作者

作者简介:于昆仑,男,住院医师

收稿日期:2008-07-16

神经损伤后不同时相(术后第2、4、8周)分为3个亚组,每个亚组5只。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。于右大腿后部正中切口,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15mm处(定位),用同一把新的18cm弯全齿血管钳的同一部位钳夹坐骨神经,压满3扣(定量),维持5s后放开血管钳,间隔10s后再夹闭5s,再放松10s,第3次钳夹5s(定时)。神经干挤压伤宽度3.0mm,可见神经干变菲薄,但未断裂。损伤部位远端用10-0无创尼龙线缝合神经外膜进行标记。彻底止血,关闭肌间隙,缝合皮肤,术毕。完全清醒6h后,随机抽取实验动物6只,每组3只。神经电生理检测神经传导速度降至正常1/2以下;损伤神经病理学证实为轴索、神经内膜及束膜均有不同程度的破坏,外膜连续性存在,造模成功。本实验所有手术均由实验者一人在同一助手协助下完成。

1.2 术后处理

A组于术后第1天至术后第8周取俯卧、双腿伸直位固定于实验台上,右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型双频微热疗机,频率915MHz,功率5W,辐射距离10cm,1次/天,10min/次,每周连续5天,休息2天。B组于A组治疗同时行空白对照。

1.3 观察指标及检测方法

1.3.1 大体解剖及光镜观察:观察伤口愈合情况,有无自噬现象及足底溃疡。术后第2、4和8周暴露损伤段神经,肉眼观察神经变化,同时在损伤远、近端2mm处及损伤神经中段取长2mm的神经,10%中性福尔马林固定,HE染色,光镜下观察神经结构。

1.3.2 电镜观察:分别于术后第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。

1.3.3 轴突图像分析:采用电脑图像分析处理系统,对术后第8周损伤神经远端四氧化锇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。

1.3.4 免疫组织化学检测:分别于术后第2、4和8周取材,标本制成5 μ m厚的石蜡切片,常规SP法染色。光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。

2 结果

2.1 大体解剖所见

术后第2周两组神经均充血、水肿,颜色暗,无光泽,A组损伤段神经较B组略粗。术后第4周神经周围组织充血、水肿基本消退,A组神经较圆润,颜色粉红,B组神经僵硬,弹性差,外膜仍有充血。术后第8周A组神经有弹性,与周围组织粘连疏松,B组神经仍较僵硬,与周围粘连致密。

2.2 光镜观察

术后第2周,两组神经明显充血、水肿,有较多炎性细胞浸润,A组外膜较光滑。术后第4周,A组神经排列规则,髓鞘肿胀减轻,神经束间结缔组织及炎性细胞均少,B组神经束间结缔组织较多,粘连紧密而广泛。术后第8周,A组神经排列较整齐,炎性细胞基本消失,新生血管较多,可见再生轴突及髓鞘形成。B组神经肿胀消退,仍有散在的炎性细胞,部分神经间有粘连。

2.3 电镜观察

术后第2周A组神经髓鞘弯曲、不规则、肿胀,板层结构不清,B组神经结构紊乱,变性明显,髓鞘局限性塌陷;术后第4周A组髓鞘肿胀减轻,轴突内线粒体、微丝、微管等细胞器逐渐增多,B组髓鞘板层结构不清晰,有溶解碎裂痕迹,轴突内细胞器较少。术后第8周A组神经髓鞘增厚、光滑,明暗板层结构清晰,线粒体、神经微丝、微管等细胞器形态规则,B组髓鞘较薄,细胞器结构欠成熟。见图1—4。

2.4 轴突图像分析

术后8周轴突图像分析示,A组损伤远端有髓神经纤维数目、直径及髓鞘厚度均大于B组,差异有显著性意义($P<0.01$,见表1)。

2.5 免疫组织化学染色

术后第2周两组损伤段近端均偶见S-100蛋白阳性染色颗粒,损伤段远端A组有少量的雪旺细胞中可见阳性染色颗粒,B组中未见。术后4周,损伤段近、远端S-100蛋白阳性染色颗粒表达A组多于

图1 术后第4周A组
损伤远端 ($\times 12.0k$)

图2 术后第4周B组
损伤远端 ($\times 8.0k$)

图3 术后第8周A组
损伤远端 ($\times 15.0k$)

图4 术后第8周B组
损伤远端 ($\times 20.0k$)

表 1 术后第 8 周轴突图像分析结果 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	轴突数目	轴突直径(μm)	髓鞘厚度(μm)
A 组	10	2961 $\pm$ 107.28 ^①	3.02 $\pm$ 0.18 ^①	1.19 $\pm$ 0.06 ^①
B 组	10	1487 $\pm$ 63.24	2.29 $\pm$ 0.07	0.67 $\pm$ 0.06

①组间比较 $P < 0.01$

B 组。术后 8 周, 损伤段近、远端 A 组雪旺细胞成熟程度优于 B 组, S-100 蛋白表达高于 B 组。

3 讨论

周围神经损伤后的康复一直是学者研究的热点^[2-3]。由于神经特殊的结构特点, 其损伤后的治疗并不令人满意。随着康复医学的快速发展, 包括手术在内的综合治疗措施已被大家所接受。研究表明^[2,4-5], 很多康复措施如电刺激、超声、高压氧等均可促进周围神经损伤后的康复。

促进周围神经损伤后的康复应着重从延缓其病理变化、促进神经再生作为切入点。周围神经的急性损伤多由于外伤引起, 如切割伤、挤压伤等。如果神经失去连续性, 应手术恢复其连续性。若外膜连续性存在, 其功能障碍常由于神经轴突暂时性传导障碍或部分轴突断裂, 神经内出现水肿和巨噬细胞的浸润。如果断端间隙较大, 则会有雪旺细胞和成纤维细胞长入, 形成瘢痕而影响神经功能。神经位置较深, 在其损伤的同时必然伴有周围组织不同程度的损伤, 易与神经产生粘连。周围组织的充血、水肿将造成对神经新的卡压, 影响神经的血供。同时大量炎性细胞和介质的浸润, 以及多种因子的介入, 改变了神经再生的微环境。以上均成为影响神经再生的不利因素。

选择分米波治疗周围神经急性损伤是因为与其他高频电疗相比分米波具有以下特点: 与短波和超短波相比, 非热效应明显, 计量准确, 波长较短, 明显降低了脂肪升温比, 避免了脂肪灼伤, 又有利于电磁能量的深入; 与毫米波相比(作用为非热效应), 分米波作用除有非热效应外, 有较明显温热效应, 穿透能力强, 透入深度最深达 3—5cm, 其能量准确到达效应部位。

本试验表明, 术后第 4 周, A 组炎性细胞及神经束间纤维结缔组织均少于 B 组; 术后第 8 周, A 组神经周围粘连较 B 组明显疏松、局限, 炎性细胞少。电镜结果可见, 术后 4 周, A 组损伤近端神经纤维有新生轴芽发出, 其内可见线粒体、神经微丝、微管、囊泡等细胞器, B 组未见新生轴芽; 术后第 8 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, 髓鞘薄, 形态不规则, 细胞器不成熟。形态学观察均证实, 在术后不同时相, A 组神经再生较 B 组成熟, 轴突数目、轴突直径及髓鞘厚度是反映神经再生质量的客观依据。本试验结果显示, 术后第 8 周 A、B 两组轴突数目、轴突直径及髓鞘厚度差异有显著性意义 ($P < 0.01$), 说明 A 组神经再生情况优于 B 组。由于分米波可抑制炎症反应, 减轻损伤后神经及周围组织的充血、水肿, 减轻神经与周围组织的粘连, 避免损伤后的继发卡压; 分米波能抑制纤维结缔组织增生, 减少神经断端的瘢痕形成, 有利于神经束间的准确对合。

雪旺细胞是神经再生微环境中的重要因素^[6-7], 而检测 S-100 蛋白的表达水平可以直接反映雪旺细胞增殖活跃的程度^[8], 这是因为 S-100 蛋白是周围神经系统中雪旺细胞的特异性蛋白, 在轴索中无 S-100 蛋白的表达。本试验免疫组织化学染色结果表明, 在术后第 4 周和第 8 周, A 组 S-100 蛋白的表达水平平均高于 B 组, 说明分米波可促进雪旺细胞的增殖, 提高损伤神经中 S-100 蛋白的表达水平, 促进损伤神经轴突再生及再髓鞘化, 利于损伤神经的再生与功能恢复。

参考文献

- [1] 田德虎, 于昆仑, 张英泽, 等. 分米波促进周围神经急性损伤康复的实验研究 [J]. 中华物理医学与康复杂志, 2008, 30(3): 152—155.
- [2] 李琦, 曾炳芳, 王金武, 等. 经皮神经肌电刺激治疗周围神经损伤的疗效观察 [J]. 中国康复医学杂志, 2007, 22(7): 628—630.
- [3] 李政, 王伟. NGF/PLGA 复合神经导管修复大鼠周围神经缺损的实验研究 [J]. 中国康复医学杂志, 2007, 22(3): 234—237.
- [4] 周伟, 陈文直, 周崑, 等. 低强度超声促进周围神经损伤后的再生 [J]. 中国康复, 2005, 20(4): 198—200.
- [5] 刘芳, 邵贵强, 周景花, 等. 高压氧对糖尿病大鼠周围神经病变的改善作用及其机制 [J]. 中国临床康复, 2005, 9(11): 86—88.
- [6] Dezawa M, Adachi-Usami E. Role of Schwann cells in retinal ganglion cell axon regeneration [J]. Progress in Retinal and Eye Research, 2000, 19(2): 171—204.
- [7] 何晶, 丁文龙. 雪旺氏细胞在周围神经损伤修复中的作用及其分子机制 [J]. 解剖科学进展, 2005, 11(4): 367—372.
- [8] 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.