

交替极性的直流电场对完全性脊髓损伤大鼠运动功能恢复的作用*

甄巧霞¹ 洪毅² 白金柱^{2,3} 张军卫² 姜树东²

摘要

目的:探讨交替极性的直流电场对大鼠完全性脊髓损伤运动功能恢复的作用。

方法:将30只成年SD雌性大鼠用改良Allen法(10g×2.5cm)制备完全性脊髓损伤模型后随机分为两组。两组均在损伤节段的上下各一个节段椎板间隙,放置交替极性的直流电场刺激器(可提供500—600μV/mm的直流电场,每15min改变一次极性),实验组实验后即刻给予直流电场环境干预至实验后2周,而对照组不予直流电场的条件。在实验后第1,3,7天,2周通过BBB评分观察双侧后肢运动功能的变化,并于实验后2周通过:①形态学:HE染色,免疫组织化学染色(神经丝蛋白、胶质纤维酸性蛋白)观察局部脊髓的变化。②神经电生理:运动诱发电位观察脊髓运动传导的变化。

结果:实验组和对照组实验后2周的BBB评分:实验组左后肢4.0±3.27,右后肢3.9±3.41;对照组左后肢4.9±3.35,右后肢4.1±3.47;运动诱发电位潜伏期差:实验组左侧1.01±1.33,右侧0.16±0.09;对照组左侧2.15±4.44,右侧1.10±0.50;波幅差:实验组左侧1.86±1.45,右侧1.50±0.75;对照组左侧3.94±2.35,右侧2.76±1.30;右下肢潜伏期差异有显著性意义($P < 0.05$),即脊髓运动传导有所改善。

结论:伤后2周,交替极性的直流电场能改善急性脊髓损伤大鼠的脊髓运动传导功能,但大鼠的运动功能恢复无显著性差异,组织学观察也未见显著性差异。直流电场对大鼠脊髓损伤的长期作用需进一步研究。

关键词: 脊髓损伤;致伤装置;交替极性的直流电场;恢复

中图分类号:R744, R454.1 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2014)-08-0707-07

Function of stimulation of direct current field with alternative polarity on motor function recovery of rats with complete spinal cord injury/ZHEN Qiaoxia, HONG Yi, BAI Jinzhu, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2014, 29(8): 707—713

Abstract

Objective: To evaluate the function of stimulation of direct current field with alternative polarity on motor function recovery of rats with complete spinal cord injury.

Method: Thirty female adult SD rats were contused by the modified Allen impact device to produce complete spinal cord injury(SCI) models and then were randomly assigned to two groups. The direct current field stimulation devices (providing the alternative polarity stimulation of 500—600μV/mm, with polarity reversion every 15min) were placed one laminar segment above and below the injury area in both groups. The experimental group was stimulated after operation for 2 weeks, while the sham group had no stimulation. At the 1st d, 3rd d, 7th d, 2nd week after operation, Basso-Beattie-Bresnahan(BBB) scale was used to evaluate the neurological recovery. H-E staining, immunohistochemistry staining (for neurofilament and glial fibrillary acidic protein) and motor evoked potential(MEP) were used to evaluate the local changes and conductive changes of spinal

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2014.08.003

*基金项目:北京市科技新星计划资助项目(2007B070)

1 北京康复医院神经疾病康复中心,北京,100144; 2 中国康复研究中心北京博爱医院脊柱脊髓外科; 3 通讯作者

作者简介:甄巧霞,女,硕士,住院医师; 收稿日期:2013-08-29

cord at 2 weeks after operation.

Result: The BBB scale after 2 weeks of the experimental group: the left 4.0 ± 3.27 , the right 3.9 ± 3.41 ; the sham group: the left 4.9 ± 3.35 , the right 4.1 ± 3.47 ; The latency difference of the MEP after 2 weeks of the experimental group: the left 1.01 ± 1.33 , the right 0.16 ± 0.09 , the sham group: the left 2.15 ± 4.44 , the right 1.10 ± 0.50 ; The amplitude difference of the MEP after 2 weeks of the experimental group: the left 1.86 ± 1.45 , the right 1.50 ± 0.75 ; the sham group: the left 3.94 ± 2.35 , the right 2.76 ± 1.30 . The latency difference of right hind leg in experimental group was shorter than that in sham group ($P < 0.05$), it implied the spinal cord conduction improved.

Conclusion: The stimulation of direct current field with alternative polarity could improve the spinal cord conduction of rats, but there was no significant difference in histological changes and neurological function between the two groups; and after the stimulation the injured rats' spinal cord can produce improvement in spinal cord conduction. However, the long-term effect of motor function recovery of direct current field in rats with spinal cord injury needs further investigation.

Author's address Beijing Rehabilitation Hospital, 100144

Key word spinal cord injury; impact device; direct current field with alternative polarity; recovery

脊髓损伤(spinal cord injury)是因各种致病因素(外伤、炎症、肿瘤等)引起的脊髓横贯性损害,造成损害平面以下脊髓的神经功能(运动、感觉、括约肌及自主神经功能)的障碍。典型的脊髓损伤发生在健康的青年人,并且是由于外伤造成的。接近50%的脊髓损伤发生在16—30岁。

目前,没有明确的治疗措施能改变脊髓损伤的病理和明显改变患者的状态。在临床中脊髓损伤患者功能完全恢复不可能,但是促进轴突再生和修复的实验研究还很常见。外加的弱电场可促进神经功能的恢复。Lionel Jaffe和Mooming Poo^[1]在体外试验中证明了细胞外电场和轴突再生的关系。证明单个神经突起在数分钟内对直流电场有反应。生长的神经纤维对电压梯度立刻有反应并且沿着电压梯度长轴生长。另一个重要的现象是在70—140mV/mm直流电场中轴突以3倍的速度向阴极生长而在电压梯度中朝向阳极的轴突在持续暴露30min后开始退变。Borgens等^[2]在动物体内研究了直流电场中的轴突再生。他对八鳗鱼幼虫施加弱直流电场。施加的弱直流电场能够增加轴突的再生速度并且这些再生的轴突能够与脊髓损伤的远端建立功能性突触连接。电极在脊髓损伤区域的头尾端放置决定轴突再生的方向,实验中可见到朝向阴极的增值和快速生长。Wallace等^[3-5]同样证明了外加的弱电场可促进神经功能的恢复。交替极性的直流电场可促进非人为因素造成的脊髓损伤狗的运动功能的恢复^[5-6]。

本实验目的在于验证交替极性的直流电场对于

完全性脊髓损伤大鼠运动功能恢复的作用,并试图探讨其机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SD成年雌性大鼠30只,体重为180—230g,均购自中国军事医学科学院动物饲养中心。实验分组:30只大鼠数字化随机分为实验组和对照组,每组15只大鼠,实验组施加直流电场干预,对照组不施加直流电场干预。实验过程中死亡或不列入统计学分析的大鼠按相等的数量和相同的实验方法补充。

1.2 实验试剂

神经丝蛋白(neurofilamentprotein, NF)200参与构成神经元胞体和轴突的细胞骨骼框架,由于200kD的NF只存在于轴突和恢复期的神经元的胞体内,用它来反映SCI后神经修复状况。胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP):是星形胶质细胞的标记物,用来反映脊髓损伤后神经胶质细胞的活动。一抗:兔多克隆抗体GFAP、鼠单克隆抗体NF200(博士德公司提供);二抗:山羊抗小鼠IgG(博士德公司提供),山羊抗兔IgG(博士德公司提供),DAB显色试剂盒(博士德公司提供);10%水合氯醛(10ml/瓶)、青霉素(160万U/支)(北京博爱医院提供);4%多聚甲醛(首都医科大学康复医学院康复医学研究室提供);PBS缓冲液(pH7.2—7.4)、0.01mol/L柠檬酸钠缓冲液、0.5mol/L EDTA缓

冲液(pH8.0)、1mol/L的TBS缓冲液(pH8.0)(北京雪邦公司提供)。

1.3 实验器械

自制改良的Allen装置;Medelec Synergy电生理仪;30个交替极性的直流电场刺激器,可提供500—600 μ V/mm的交替极性的直流电场,直流电场极性改变时间为15min,由中国科学院电工研究所研制;脱毛器、手术刀及刀片、刮胡刀片、眼科撑开器、咬骨钳(持针器)、缝合针线等实验器械,由首都医科大学康复医学院康复医学研究室提供。

1.4 动物模型的制备

大鼠术前禁食12h,称重,采用10%水合氯醛3ml/100g体重腹腔注射麻醉。俯卧位固定于手术台上,胸背部剃毛备皮,75%酒精消毒。按肋骨确定椎体序列,以T10棘突为中心行背部正中纵行切口,切开皮肤,长约3cm,紧贴棘突骨面纵向分离椎旁肌,直达椎板表面,剥离附着在棘突和椎板上的软组织,显露出T9—T11的椎板和棘突,剪刀咬除T9—T11棘突,小心移除T10的椎板,避免损伤肋骨和撕破血管,暴露T10水平的脊髓。用自制改良Allen装置制备损伤模型。撞击后,用生理盐水冲洗伤口,在T8—T9、T11—T12椎板间隙,分别置入一个电刺激器的电极,用非吸收缝合线将电极缝合到相应棘突上,逐层缝合切口。实验后即开始给予实验组直流电场干预,实验期间每日人工排尿2—3次,直到动物自身排尿反射恢复。

1.5 实验后一般护理

饲养环境的温度控制在20℃—25℃,定期通风;勤换饲养笼垫料,保持干燥,因尿失禁而被浸湿的肢体及时用温水清洗擦干。实验后常规每日青霉素(32万U/只)肌注,直到血尿、脓尿停止,尿液澄清,此期大约1周左右。如停药后再次出现泌尿系感染征象则立即恢复抗生素治疗,直至症状消失。每天按摩、挤压膀胱协助排尿2—3次,促进大鼠反射性膀胱形成,恢复排尿反射,恢复排尿反射时间约2—4周。同时每日两次轻揉大鼠腹部及双后肢,预防肠梗阻和压疮的发生。吹风机干燥皮毛以减少压疮的发生。实验后大鼠分笼饲养以减少相互撕咬及自噬。

1.6 取材和切片制备

实验组和对照组大鼠分别于实验后2周行10%水合氯醛腹腔注射麻醉(3ml/100g体重),行运动诱发电位(motor evoked potential, MEP)检测后,自左心室插管后剪开右心耳,快速灌注生理盐水冲洗,待流出的液体清亮后,用4%多聚甲醛经心内灌注,取出脊髓损伤节段及头尾端1cm,在4%多聚甲醛中固定12h,以损伤部位为中心石蜡包埋,连续纵向切片,切片厚度是10 μ m,行HE染色和免疫组织化学染色。

1.7 观察指标

一般情况及BBB评分;实验组和对照组实验后2周双后肢记录MEP;脊髓损伤部位的病理观察(HE染色);实验组和对照组脊髓损伤部位的神经丝蛋白的观察和轴突计数(NF200阳性);实验组和对照组脊髓损伤部位的神经胶质增生(GFAP阳性)。

1.8 检测方法

1.8.1 一般情况及BBB评分:实验后1d、3d、7d、2周进行Basso-Beattie-Besnahan(BBB)评分比较脊髓损伤程度,观察大鼠后肢运动功能恢复情况。同时记录大鼠死亡数量、原因。BBB评分共0—21分,得分越高后肢运动功能越好,0分为无可观察到的后肢运动,21分为后肢运动功能正常。本法为主观评分,为减少结果误差,在实验中采用双人独立观察记录,最后取其均值。左右后肢分别记录。

1.8.2 脊髓损伤部位的病理观察:损伤部位脊髓的常规HE染色,观察脊髓损伤后实验组和对照组的局部的病理变化。

1.8.3 运动诱发电位的检测:实验动物在实验后2周,用Medelec Synergy电生理仪进行运动诱发电位的检测。刺激电极为两对针状电极,分别放置于手术野上、下棘突间隙,即T7/T8和L1/L2。阴极置于阳极尾侧,两者间距0.5—0.8cm。刺激类型为矩形脉冲,恒压输出,波宽0.05ms,输出强度为100—150V。记录电极也为一对针状电极,在左右小腿腓肠肌上分别记录复合肌肉动作电位(compound muscle action potential, CMAP)。MEP信号输入Viking IV系统前置放大器,灵敏度10mV,滤波器带通为10Hz—3kHz,分析时间20ms。采用触发(trigger)方式,不作平均^[21]。采用损伤区上下方的潜伏期之差和波幅之差作为指标。损伤区上方的

MEP与下方的差异越小,说明传导功能恢复越好。

1.8.4 损伤部位脊髓的免疫组织化学染色:实验组和对照组大鼠实验后2周灌注取材,即损伤部位头尾端1cm,4%多聚甲醛固定,石蜡包埋后连续纵行10 μ m切片,行免疫组织化学染色,简述如下:①脱蜡和水化:组织片置于二甲苯中浸泡10min,更换二甲苯后再浸泡10min,无水乙醇中浸泡5min,95%乙醇中浸泡5min,75%乙醇中浸泡5min。②PBS洗2—3次各5min。③3% H₂O₂滴加在TMA上,室温静置10min。④PBS洗2—3次各5min。⑤抗原修复0.1%胰蛋白酶使用前预热37℃,消化时间约为5—30min。⑥PBS洗2—3次各5min。⑦滴加正常山羊血清封闭液,室温20min,甩去多余液体。⑧滴加I抗50 μ l,室温静置37℃ 1h。⑨PBS洗3次每次2min。⑩滴加II抗45—50 μ l,置37℃ 1h。⑪II抗中可加入0.05%的tween-20。⑫PBS洗3次各5min。⑬DAB显色5—10min,在显微镜下掌握染色程度。⑭自来水冲洗10min。⑮苏木精复染2min,盐酸酒精分化。⑯自来水冲洗10—15min。⑰脱水、透明、封片、镜检。每张免疫组织化学染色片设置1张作为阴性对照片。

1.9 统计学分析

对于每只大鼠左右侧后肢的BBB评分在4个时间点(第1天、第3天、第7天、2周)分别记录。每个时间点的BBB评分的均值用于所有的统计分析。应用SPSS 16.0对BBB评分采用双因素方差分析,两个因素分别为是否施加干预(直流电场组、对照组)和观察的4个时间点,其中,第二个因素为重复测量。最后应用SPSS 16.0 SNK法两两比较。大鼠实验后2周MEP的潜伏期差和波幅差分别采用两个独立样本的 t 检验,左右侧后肢分别评价。大鼠实验后2周的轴突计数采用两个独立样本的 t 检验。

2 结果

2.1 一般情况及BBB评分

2.1.1 大鼠实验后一般情况的观察:大鼠在实验后2—4h完全清醒,两个前肢可爬行。所有大鼠均出现了脊髓损伤综合征:表现为活动较少,饮食少、常伴有腹胀、尿潴留、大便困难伴硬结、双后肢拖行、

肌张力低、肌力0级。实验后出现血尿、尿浑浊、脓尿较多;对照组大鼠和实验组大鼠实验后均有不同程度的运动功能恢复。对照组和实验组大鼠均未恢复负重行走能力。实验后所有大鼠均植入了电刺激器,不影响大鼠的进食。大鼠有咬噬电刺激器的现象,其中6只大鼠在实验后2—7d将电刺激器破坏,未纳入数据统计。所有的实验大鼠中有2只死亡,1只大鼠死亡原因为肠梗阻,打开腹腔见肠管呈黑色,腹腔内充满黄绿色稀薄渗出液;1只大鼠在行MEP检测后麻醉未醒,考虑为麻醉意外。此组大鼠的死亡率为6.25%(2/32)。所有大鼠均无压疮出现,实验后2周灌注后打开电极埋置部位皮下均见局部有黄色渣状物,脊髓损伤部位未见感染迹象。

2.1.2 大鼠实验后的BBB评分:实验组和对照组实验后均有不同程度的运动功能的改善,最高恢复至8分。其BBB评分见表1。双因素方差分析显示组间即实验组和对照组左后肢BBB评分之间差异无显著性意义($P=0.797>0.05$),右后肢BBB评分之间差异无显著性意义($P=0.937>0.05$)。左后肢BBB评分时间因素差异具有显著性意义($P=0.000<0.001$),右后肢BBB评分时间因素差异同样具有显著性意义($P=0.001<0.05$),即实验组和对照组后肢运动功能在实验后均有所改善。

2.2 实验后2周的MEP的检测结果

实验后2周对所有30只大鼠10%水合氯醛(3ml/100g体重)腹腔注射麻醉,进行MEP检测。在手术野上方T7/T8棘突间隙和手术野下方的L1/L2行椎板刺激,在下肢腓肠肌可记录到清晰向上偏转的N1波。两个独立样本的 t 检验显示右侧的潜伏期差实验组和对照组相比差异有显著性($P<0.05$),实验组潜伏期差较对照组缩短。余实验组和对照组的潜伏期差和波幅差无显著差异($P>0.05$)。见表2。

2.3 实验组和对照组大鼠实验后2周的HE染色

实验组和对照组的HE染色50倍镜下观察,见脊髓有明显萎缩和变形,脊髓内灰白质界限不清,见脊髓周边少量白质残留。光镜下观察实验组和对照组无明显差异(图1)。

2.4 实验组和对照组的NF的观察和轴突计数

实验组和对照组实验后2周脊髓纵行切片,恢复期的神经元胞体和轴突可见被染成褐色,阴性对

表1 实验组和对照组大鼠在各时间点的BBB评分 ($\bar{x}\pm s$)

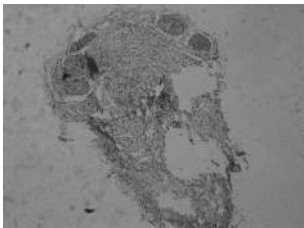
	实验组(n=15)		对照组(n=15)	
	左后肢评分	右后肢评分	左后肢评分	右后肢评分
第1天	0.3±0.48	0.7±2.21	0±0	0±0
第3天	2.4±3.43	2.6±3.50	1.9±2.08	2.1±2.33
第7天	3.4±2.87	2.6±3.06	2.7±3.02	3.4±2.98
第2周	4.0±3.27	3.9±3.41	4.9±3.35	4.1±3.47

表2 实验组和对照组大鼠的MEP潜伏期差和波幅差 ($\bar{x}\pm s$)

	实验组(n=15)		对照组(n=15)	
	左侧	右侧	左侧	右侧
潜伏期差(ms)	1.01±1.33	0.16±0.09	2.15±4.44	1.10±0.50
波幅差(μV)	1.86±1.45	1.50±0.75	3.94±2.35	2.76±1.30

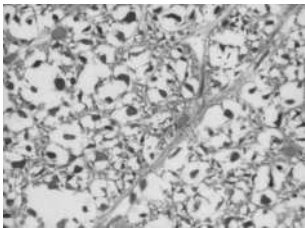
照染色未见着色,对照组和实验组的白质内均可见散在的褐色着色点,镜下观察见实验组着色点密度略高(图2—3)。

图1 大鼠脊髓损伤部位
(HE染色,×5)



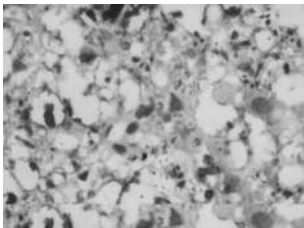
脊髓明显的萎缩和变形,脊髓周边部位见少量白质残留,灰白质界限不清

图2 对照组大鼠脊髓损伤部位的腹侧(NF200染色,×40)



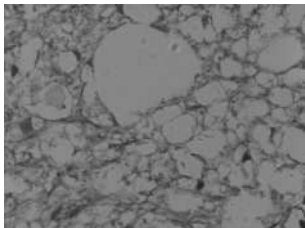
脊髓腹侧可见褐色的神经元和散在的褐色着色点

图3 实验组大鼠脊髓损伤部位的腹侧(NF200染色,×40)



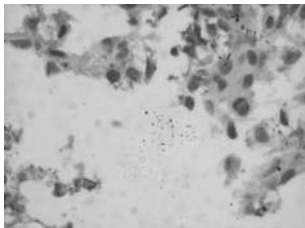
脊髓腹侧可见褐色的神经元和较多的较集中的褐色着色点,即轴突

图4 对照组大鼠脊髓损伤部位的胶质纤维酸性蛋白(GFAP着色,×40)



大鼠脊髓损伤部位的褐色染色的、稀疏的胶质纤维酸性蛋白

图5 实验组大鼠脊髓损伤部位的胶质纤维酸性蛋白(GFAP着色,×40)



大鼠脊髓损伤部位的褐色染色的、较少量的胶质纤维酸性蛋白

3 讨论

3.1 电刺激器的植入对大鼠一般情况的影响

电刺激器植入后,对大鼠的前肢活动无明显的影响,大鼠可利用双侧前肢进食。由于目前采用的电刺激器相对大鼠较大,无法完全埋入皮下,所以实验后2周时部分大鼠的手术切口未完全愈合且实验后2周灌注取材时见手术部位局部有黄色渣状物,但大鼠无局部感染引发全身感染死亡者。实验中有

在光镜400倍放大的条件下分别计数实验组和对照组内残存白质内褐色着色点的数目,即计数轴突的数目,实验组的轴突计数为400±125,对照组的轴突计数为375±139,实验组的轴突均数较对照组多,但两独立样本的t检验无显著性差异($P>0.05$)。

2.5 实验组和对照组的神经胶质细胞增生的观察

实验组和对照组实验后2周脊髓纵行切片,可见星形胶质细胞被染成褐色。实验组和对照组大鼠脊髓损伤区域内均可见稀薄的褐色着色即神经胶质的增生,镜下观察二者密度无显著差异。图4示对照组大鼠脊髓损伤部位的胶质纤维酸性蛋白的褐色着色,较稀疏。图5示实验组大鼠脊髓损伤部位的胶质纤维酸性蛋白的褐色着色,量较少。

大鼠咬噬电刺激器的情况,实验后2周内30只电刺激器破坏了6只,所以如果观察直流电场对脊髓损伤动物神经功能长期的影响,需进一步改进电刺激器的大小或改用大动物,如兔或狗。

本实验采用2周的观察时间窗是考虑2周内胶质瘢痕尚未形成,是促进轴突生长以促进神经功能恢复的最佳时间。此期间施加直流电场可能增加轴突的生长速度,以促进神经功能的恢复。直流电场

对完全性脊髓损伤大鼠的长期作用需进一步研究。

3.2 交替极性直流电场对大鼠运动功能恢复影响

既往文献研究直流电场或交替极性的直流电场对脊髓损伤后神经功能恢复的作用^[2,7]。Borgens等^[2]在动物体内研究了直流电场中的轴突再生。他对八鳗鱼幼虫施加弱直流电场。施加的弱直流电场能够增加轴突的再生速度并且再生的轴突能够和脊髓损伤的远端建立功能性突触连接。Wallace等^[7]对处于弱直流电场中严重脊髓压迫损伤的大鼠进行了长达15周的研究,结果显示直流电场组较对照组有明显的神经功能恢复。用非人为因素造成的脊髓损伤的狗进行随机双盲临床试验来评估在椎管内植入交替极性的直流电场的效果和生物兼容性,直流电场植入14周^[5-6],在伤后1周,6周和6个月评价其行为恢复,直流电场治疗组有明显的神经功能恢复,狗恢复了行走功能。虽然,目前多数文献表明直流电场或交替极性的直流电场能促进脊髓损伤动物神经功能的恢复,但也有文献证明直流电场对脊髓损伤后神经功能的恢复无明显作用^[3,8]。如Wallace MC等^[3]研究可变直流电场对大鼠急性脊髓损伤后神经功能恢复的作用,经过15周的观察,运动功能无明显的恢复。Fehlings等^[9]同样研究直流电场对大鼠急性脊髓损伤后神经功能恢复的作用,8周后发现17gcm的大鼠钳夹脊髓损伤模型行为学上和电生理上都无明显的恢复。

本实验实验组给予直流电场的干预,对照组只植入电刺激器而不给予干预,实验组和对照组实验后第1,3,7天,2周的BBB评分显示无显著性差异。提示2周内,交替极性的直流电场无明显改善急性脊髓损伤运动功能的作用。直流电场和交替极性的直流电场对急性脊髓损伤后神经功能的恢复作用的结果不一致,可能有如下两个因素:①使用的动物模型不一致。动物实验中的科研成果能否应用到临床与动物模型和临床情况的相似程度直接相关。既往实验中的模型多为大鼠的钳夹模型^[3,9,7],与本实验应用的脊髓撞击模型的病理生理变化有差异,可能会导致对交替极性的直流电场的反应的差异。②较4周、8周、15周的观察时间^[3,7,9],本实验2周的观察时间较短,可能导致交替极性的直流电场促进运动功能恢复的作用不足以发挥。

3.3 交替极性直流电场对大鼠神经电生理的影响

MEP的检测显示实验组的潜伏期差较对照组缩短,有显著性差异,提示交替极性的直流电场可以改善脊髓的运动传导。脊髓损伤大鼠直流电场治疗2周后未发现双后肢运动功能有明显的恢复,但MEP检测显示右下肢潜伏期明显缩短,可能是由于2周内尚未形成胶质瘢痕,直流电场的早期干预增加了轴突的生长速度。虽然产生了电生理学上的变化,但不足以诱发运动功能的恢复。交替极性的直流电场对完全性脊髓损伤的进一步作用有待延长观察时间。

3.4 外加的弱电场对轴突生长的作用

Borgens RB等^[2]在活体内的实验证明外加的弱电场可以:①当网状脊髓束朝向阴极时,增加八鳗鱼网状脊髓束的再生速度^[2]。②较假手术组,大的轴突的出芽的数量呈2倍增长^[2]。③当网状脊髓束朝向阳极时,会增加轴突蜕变的程度^[12]。④减少离子通道损伤引起的钙超载^[2]。⑤成年猪横断其背侧索的轴突后可诱导其再生^[11-12]。⑥在挫伤所致大鼠脊髓损伤中,可以促进下行纤维束的生长^[4]。⑦在猪的脊髓背侧索横切损伤模型中,上升性轴突及其分支有时在横断水平转向内侧,向水平方向生长;这些轴突有些在损伤水平再形成分支,形成的优势突起穿过半横切的平面,向头端生长;并且优势突起可穿过致密的瘢痕,出芽并向头端生长^[12]。

本实验观察到实验组的轴突生长的数目较对照组多,但无显著差异。考虑主要与观察时间尚短有关。伤后2周时,轴突生长的数量尚不足以有显著差异。此外,有实验证明新生的、可穿越胶质瘢痕的轴突通常 $<1\mu\text{m}$,且主要分布在损伤周围的白质中,受正常的轴突的影响,很难在轴位免疫组织化学切片中辨认^[12]。最后,由于恢复期的神经元胞体同样可被染成褐色,我们也不能进行光密度的测量以进行组织切片的定量分析。

3.5 轴突再生与神经功能恢复的关系

既往有实验证明外加的弱电场可以促进神经功能的恢复,并可促进轴突的再生^[2-3,9],认为轴突再生与神经功能恢复相关。但另外有实验证明外加的弱电场可促进神经功能恢复,但是组织学上并未发现差异^[7],即不能诱发施旺细胞和室管膜细胞的增殖

和新的髓鞘生成,功能恢复可能是由于替代突触的发育。在较哺乳动物低等的动物中,神经功能的恢复与有限的轴突再生密切相关。Richard B等^[12]发现穿过损伤区域的轴突的数量相对于术前的轴突的数目很少。

本实验发现实验组右后肢的潜伏期差较对照组缩短,且有显著性差异,提示交替极性的直流电场可改善完全性急性脊髓损伤大鼠的脊髓运动传导。虽然实验组脊髓最大损伤部位的轴突计数较对照组无显著性差异,且神经功能无明显改善。2周时胶质瘢痕尚未形成且直流电场可促进轴突的生长速度,提示电生理上运动功能的恢复可能与轴突生长速度增快有关系。但对于轴突生长的数量、质量尚需延长观察时间。

交替极性的直流电场可以促进完全性脊髓损伤大鼠伤后2周内的脊髓运动传导的恢复,但运动功能恢复和组织学上尚未见显著差异。交替极性的直流电场对急性脊髓损伤大鼠的运动功能恢复的长期作用需要进一步研究。

参考文献

- [1] Owen JH, Jenny AB, Naito M, et al. Effects of spinal cord lesioning on somatosensory and neurogenic-motor evoked potentials[J]. *Spine*, 1989, 14(7):673—682.
- [2] Borgens RB, Roederer E, Cohen MJ. Enhanced spinal cord regeneration in lamprey by applied electric fields[J]. *Science*, 1981, 213(4508):611—617.
- [3] Wallace MC, Tator CH, Gentles WM. Effect of alternating current stimulation of the spinal cord on recovery from acute spinal cord injury in rats[J]. *Surgical Neurology*, 1987, 28(4):269—276.
- [4] Fehlings MG, Tator CH, Linden RD. The effect of direct-current field on recovery from experimental spinal cord injury[J]. *J Neurosurg*, 1988, 68(5):781—792.
- [5] Borgens RB, Toombs JP, Blight AR, et al. Effects of applied electric fields on clinical cases of complete paraplegia in dogs[J]. *Restorative Neurology and Neuroscience*, 1993, 5(5):305—322.
- [6] Borgens RB, Toombs JP, Breur G, et al. An imposed oscillating electrical field improves the recovery of function in neurologically complete paraplegic dogs[J]. *J Neurotrauma*, 1999, 16(7):639—657.
- [7] Wallace MC, Tator CH, Piper I. Recovery of spinal cord function induced by direct current stimulation of the injured rat spinal cord[J]. *Neurosurgery*, 1987, 20(6):878—884.
- [8] Poirrier AL, Nyssen Y, Scholtes F, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation improves open field locomotor recovery after low but not high thoracic spinal cord compression-injury in adult rats[J]. *J Neurosci Res*, 2004, 75(2):253—261.
- [9] Fehlings MG, Wong TH, Tator CH, et al. Effect of a direct current field on axons after experimental spinal cord injury[J]. *Canadian Journal of Surgery*, 1989, 32(3):188—191.
- [10] Roederer E, Goldberg NH, Cohen MJ. Modification of retrograde degeneration in transected spinal axons of the lamprey by applied DC current[J]. *J Neurosci*, 1983, 3(1):153—160.
- [11] Borgens RB, Blight AR, McGinnis ME. Functional recovery after spinal cord hemisection in guinea pigs: the effects of applied electric fields[J]. *J Comp Neurol*, 1990, 296(4):634—653.
- [12] Borgens RB, Bohnert DM. The responses of mammalian spinal axons to an applied DC voltage gradient[J]. *Exp Neurol*, 1997, 145(2 Pt 1):376—389.