

不同剂量超短波对大鼠坐骨神经损伤后的修复及再生作用

王焕芸

【摘要】 目的 研究不同剂量超短波对大鼠坐骨神经损伤后的修复及再生作用。**方法** 共选取 48 只健康雄性 SD 大鼠,将其随机分为正常组(A 组)、对照组(B 组)、无热量组(C 组)和微热量组(D 组)四组,每组大鼠 12 只。A 组不做任何处理,B、C、D 组造成大鼠坐骨神经 Seddon II 度损伤模型,24 h 后进行实验,A 组及 B 组给予无效治疗,C 组及 D 组进行超短波治疗,每次 7 min,每周 5 次。分别于治疗 2 周和 4 周后,采用足印法及 HE 染色法,评定大鼠坐骨神经功能指数(SFI)及观察神经再生情况。**结果** 2 周时,C 组及 D 组 SFI 得分均明显高于 B 组,D 组 SFI 得分明显高于 C 组,组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。4 周时,C 组及 D 组 SFI 得分均明显高于 B 组,D 组 SFI 得分明显高于 C 组,组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。2 周时,C、D 组髓鞘崩解及炎性细胞较 B 组少,D 组神经纤维排列较 C 组规则。4 周时,C、D 组神经纤维轴突再生较 B 组明显,D 组神经纤维排列较 C 组规则。**结论** 超短波治疗可以使坐骨神经损伤后修复及再生的过程加快,同时微热量超短波治疗对坐骨神经损伤恢复较无热剂量超短波剂量快。

【关键词】 超短波; 坐骨神经损伤; 坐骨神经功能指数; 神经再生

[中图分类号]R493 [文献标识码]A DOI:10.3969/j.issn.1002-1256.2019.16.004

Effects of different doses of ultra-short wave on the repair and regeneration of sciatic nerve after injury in rats WANG Huan-yun. Department of rehabilitation medicine, Fenyang College of Shanxi Medical University, Fenyang, Shanxi, 032200, China.

【Abstract】 Objective To study on the effects of different doses of ultra-short wave on the repair and rehabilitation of sciatic in rats nerve after injury.**Methods** A total of forty-eight healthy male SD rats were randomly divided into normal group (group A), control group (group B), non-caloric group (group C), Micro-caloric group (group D), and 12 rats in each group. Rats in group A without any treatment, however, Seddon II sciatic nerve injury caused in rats in groups B, C, and D. Rats began experiment 24 hours after the injury. Rats in group A and group B were given ineffective treatment after operation, and rats in group C and group D were given ultra-short wave treatment. Therapy time was seven minutes a time, five times a week. After 2 weeks and 4 weeks, foot-printing method and HE staining method were used to understand the sciatic nerve function index (SFI) score of rats, and observe the nerve regeneration.**Results** At the 2nd week, SFI scores in group C and D were significantly higher than that of group B, and this of group D was significantly higher than that in group C, and the differences among groups were statistically significant ($P < 0.05$). At 4th week, SFI scores in group C and D were significantly higher than that in group B, and this in group D was significantly higher than that in group C, and there was statistically significant difference among groups ($P < 0.05$). At 2nd week, axonal swelling and demyelination and inflammatory cells of group C and D were less than B group, and nerve fibers arrangement of group D was more regular than group C. At 4th week, nerve fibers axonal regeneration of group C and D were significantly more than group B, and nerve fibers arrangement of group D was more regular than group C.**Conclusions** Ultra-short wave therapy could promote the recovery of nerve function after injury and Micro-caloric group was faster than non-caloric group on recovery.

【Key words】 Ultra-short wave; Sciatic nerve injury; Sciatic nerve function index; Nerve regeneration

周围神经损伤为临床上的常见病,以手术及药物治疗为主,但常常恢复不理想,需要其它方法来促进神经再生,以更好地恢复其功能^[1]。有研究表明小剂量超短波可显著地减轻坐骨神经损伤后的肌肉萎缩程度^[2],同时孙师等^[3]研究报道,超短波也可促进神经功能恢复,然而关于超短波剂量的问题目前国内鲜有报道。本研究通过采用大鼠足印法及

HE 染色法,来了解大鼠的坐骨神经功能指数(SFI)评分及观察神经再生情况,探讨不同剂量超短波对坐骨神经损伤修复作用的差异,可以为临床上治疗周围神经损伤后的修复提供一定的理论依据。现报道如下。

一、材料与方法

1.模型制备:选取 48 只雄性 SD 大鼠(山西医科大学动物中心),体重 220~250 g。称重并用 10%水合氯醛按 0.3 ml/100 g 体重腹腔麻醉。待大鼠麻醉 4~5 min 后固定在手术台上,将右后肢体常规备皮、

酒精消毒。于大腿正中进行纵切口,逐层分离筋膜和肌肉,显露坐骨神经,用玻璃分针游离坐骨神经,在距坐骨结节 6 mm 处,用无齿血管钳尖端钳夹坐骨神经,夹力为 22.0×10^3 Pa,钳夹时间为 10 s,30 分钟后神经传导速度小于 10 m/s 时,证明大鼠坐骨神经钳夹伤造模成功^[4],然后将坐骨神经放回,最后缝合切口。给大鼠注射青霉素防止大鼠感染死亡,术后大鼠在同一条件下单笼饲养,24 h 后开始进行实验。

2. 实验仪器及试剂:五官超短波治疗仪(上海),显微镜(Olympus),图像分析软件(LEICA),石蜡切片机(LEICA)。

3. 处理方法:(1)实验分组:将大鼠随机分为正常组(A组)、对照组(B组)、实验组(无热量组(C组)和微热量组(D组)四组,每组各 12 只。

(2)干预方法:五官超短波治疗仪的频率为 50 MHz,最大输出功率为 44 W,使用氩管测功率调谐后第 1 档输出功率为 11.0 W,第 2 档输出功率为 15.4 W。将大鼠固定在自制硬纸盒内,将直径为 7 cm 的圆形电极对置放于大鼠坐骨神经的钳夹部位,大鼠术后 24 h 开始进行实验,A 组的大鼠正常饮食、不进行任何治疗,B 组的大鼠术后仅做钳夹、不进行任何治疗,C 组的大鼠术后进行超短波 1 档剂量治疗,D 组的大鼠术后进行超短波 2 档剂量治疗,治疗时间为每次 7 min,每周 5 次,直至取材前一天。

4. 足印法^[5]:B、C、D 组的大鼠在 2 周和 4 周时进行坐骨神经功能指数(SFI)评分。首先把白纸放入硬纸箱内,然后用镊子夹棉球蘸墨水将大鼠双后足涂抹均匀,最后将大鼠放在硬纸箱内左侧入口处,用食物诱导大鼠向前走,从右侧出口处爬出,每侧足 10 个脚印,健侧足(N)及患侧足(E)测以下变量:(1)足印长度(PL);(2)足趾宽度(TS);(3)中间足趾宽度(ITS)。并将测量值记录下来,按以下公式计算 SFI, $SFI = 109.5 \times (ETS - NTS) / NTS - 38.3 \times (EPL - NPL) / NPL + 13.3 \times (EITS - NITS) / NITS - 8.8$,以 SFI=0 表示坐骨神经功能正常,-100 表示坐骨神经完全离断^[6]。

5. HE 染色法:B、C、D 组的大鼠在 2 周和 4 周时进行 HE 染色观察。在损伤处的远端用手术剪取 5 mm 坐骨神经组织,随后将其放入已经配制好的 4% 多聚甲醛溶液中固定并在冰箱中 4 ℃ 下保存标本,48 h 后将标本从冰箱中取出进行常规石蜡包埋切片,每个标本连续切约 8 μm 厚的切片多张。HE 染色后通过显微镜观察坐骨神经再生情况。

6. 统计学分析:采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析,结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用方差分析进行比较, $P < 0.05$ 表示组间差异有统计学意义。

二、结果

1. SFI 评分比较:B、C、D 组的大鼠 2 周时,C、D 组大鼠的 SFI 评分均明显高于 B 组,且 D 组大鼠的

SFI 评分明显高于 C 组。B、C、D 组的大鼠 4 周时,C、D 组大鼠的 SFI 评分均明显高于 B 组,且 D 组大鼠的 SFI 评分明显高于 C 组。见表 1。

表 1 四组大鼠 SFI 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	治疗 2 周	治疗 4 周
A 组(n=12)	-8.9±4.5	-8.7±4.8
B 组(n=12)	-54.0±7.2	-46.9±3.7
C 组(n=12)	-28.5±4.7	-12.3±4.4 ^①
D 组(n=12)	-21.2±3.3	-8.9±4.6 ^{②③}

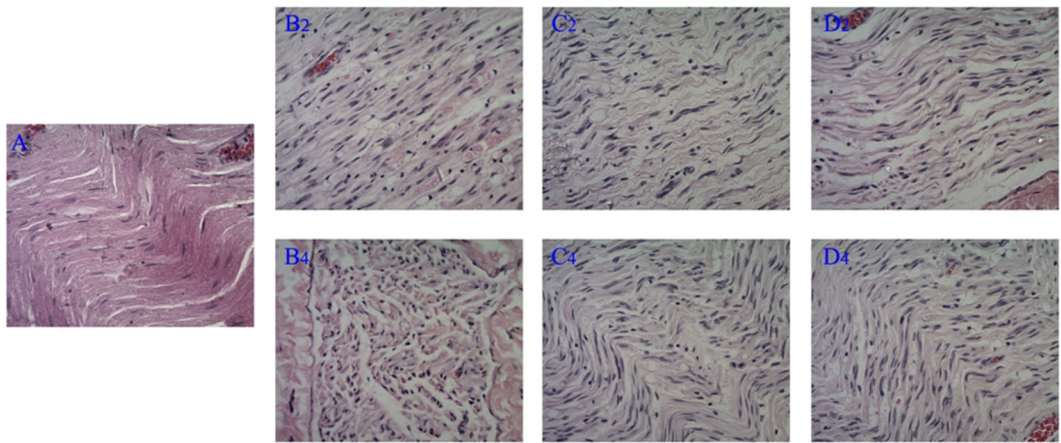
注:与 B 组比较,① $P < 0.05$;与 B 组比较,② $P < 0.05$;与 C 组比较,③ $P < 0.05$

2. 神经再生情况:B 组大鼠 2 周时经 HE 染色后,显微镜观察到神经轴突发生肿胀、脱髓鞘,同时有较多的炎性细胞浸润到损伤的神经纤维周围,且神经纤维的排列不规则,4 周时显微镜观察到神经纤维髓鞘大部分发生崩解,同时炎性细胞数量开始减少,且神经的纤维排列较规则。C 组大鼠 2 周时经 HE 染色后,显微镜观察到髓鞘大部分发生崩解,同时炎性细胞数量开始减少,且神经的纤维排列较 B 组规则,4 周时经 HE 染色后,显微镜观察到神经纤维轴突再生明显,且神经纤维的排列较 B 组规则。D 组大鼠 2 周时经 HE 染色后,显微镜观察到神经髓鞘仅仅部分发生崩解,与此同时炎性细胞的数量大量减少,且神经纤维的排列较 C 组规则,4 周时显微镜观察到神经纤维轴突再生明显增多,且神经纤维的排列较 C 组规则、致密。具体结果见图 1。

讨论 超短波可调节血管内皮细胞 NO 的合成和释放^[7],可以引起小动脉及毛细血管扩张^[8],有利于损伤部位的修复,李巍巍^[9]等发现超短波能改善组织缺血缺氧,对大鼠坐骨神经钳夹伤后神经的修复起保护作用。俞红^[10]等的研究表明,超短波及电刺激联合使用可以更好的促进神经的再生及修复。本次研究结果显示,B 组大鼠 2 周时经 HE 染色后,显微镜观察到神经轴突发生肿胀、脱髓鞘,同时有较多的炎性细胞浸润到损伤的神经纤维周围,且神经纤维的排列不规则,4 周时显微镜观察到神经纤维髓鞘大部分发生崩解,同时炎性细胞数量开始减少,且神经的纤维排列较规则。C 组大鼠 2 周时经 HE 染色后,显微镜观察到髓鞘大部分发生崩解,同时炎性细胞数量开始减少,且神经的纤维排列较 B 组规则,4 周时经 HE 染色后,显微镜观察到神经纤维轴突再生明显,且神经纤维的排列较 B 组规则。D 组大鼠 2 周时经 HE 染色后,显微镜观察到神经髓鞘仅仅部分发生崩解,与此同时炎性细胞的数量大量减少,且神经纤维的排列较 C 组规则,4 周时显微镜观察到神经纤维轴突再生明显增多,且神经纤维的排列较 C 组规则、致密。

超短波可以刺激参与神经修复的细胞和神经营养因子大量增殖,有利于损伤部位的神经轴突的再生和髓鞘化。Zhang 等^[2]结果发现,超短波可显著增加有髓神经的数量和轴突直径。还有研究表明,早期应用超短波治疗可促进周围神经的再生^[11]。研究发现,超短波可以提高周围神经损伤后再生轴突的密度、直径及髓鞘形成的质量,可对神经再生起重要的促进作用^[12]。本研究结果显示, SFI 评分 B、C、D 组的大鼠 2 周时, C、D 组评分均明显高于 B 组,且 D 组评分明显高于 C 组。B、C、D 组的大鼠 4 周时, C、D 组评分均明显高于 B 且 D 组评分明显高于 C 组。

综上所述,超短波可以促进神经损伤的恢复,它通过改善血液循环,有利于组织新陈代谢,加速周围神经损伤的愈合^[13]。同时临床和动物研究证实^[14-15],小剂量超短波对外周神经的营养、再生及功能恢复有效,而小剂量超短波又可分为非热与热两种效应^[16]。本实验采取无热量及微热量进行超短波治疗,通过大鼠的 SFI 评分及观察神经线轴突的再生,提示早期超短波有明显的治疗作用,且微热量较无热量能更好地促进神经再生。具体的作用机制可能不单纯与促进神经纤维轴突再生有关,下一步我们将会验证其他机制。



注:A:正常组,B2:对照组 2 周,B4:对照组 4 周,C2:无热量组 2 周,C4:无热量组 4 周, D2:微热量组 2 周,D4:微热量组 4 周(400 ×)

图 1 治疗 2 周、4 周 HE 染色

参 考 文 献

[1] Marqueste T, Alliez JR, Alluin O, et al. Neuromuscular rehabilitation by treadmill running or electrical stimulation after peripheral nerve injury and repair[J]. J Appl Physiol, 2004, 96(5): 1988-1995.

[2] Zhang LX, Tong XJ, Sun XH, et al. Experimental study of low dose ultrashortwave promoting nerve regeneration after acellular nerve allografts repairing the sciatic nerve gap of rats[J]. Cell Mol Neurobiol, 2008, 28(4): 501-509.

[3] 孙师, 万峪岑, 赵利娜, 等. 骨髓间充质干细胞联合超短波对大鼠脊髓损伤后早期 AQP-4 和 GAP-43 的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2016, 31(6): 625-631.

[4] 吕兰, 张长杰, 黄德清. 脉冲电磁场对大鼠坐骨神经损伤后转化生长因子 $\beta 1$ 表达的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2012, 34(7): 481-484.

[5] 张蕾. 足迹分析法评定超短波促进大鼠坐骨神经损伤后功能恢复的研究[J]. 交通医学, 2007, 21(5): 485-486.

[6] 刘学谦, 薛黔. 坐骨神经损伤修复机制及其治疗的研究进展[J]. 四川解剖学杂志, 2012, 20(2): 62-65.

[7] 周淑华, 蒋小燕, 杨朝晖, 等. 超短波对兔急性肺损伤肺内小动脉血管壁的保护作用[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2003, 25(10): 581-582.

[8] 谭龙, 高文山, 席阿丽, 等. 超短波治疗大鼠断尾再植后血管象的实验研究[J]. 中国修复重建外科杂志, 2012, 26(10): 1227-1231.

[9] 李巍巍, 苑秀华. 超短波对大鼠坐骨神经损伤后神经传导速度及其损伤运动神经元内 VEGF 表达的影响[J]. 中国康复, 2010, 25(6): 423-425.

[10] 赵娟, 俞红. 物理治疗促进坐骨神经损伤再生的实验研究[J]. 中国修复重建外科杂志, 2011, 25(1): 107-111.

[11] 芮永军, 张蕾, 王骏, 等. 超短波对大鼠坐骨神经损伤后脊髓内 GAP-43 和 CGRP 表达的影响[J]. 中华手外科杂志, 2006, 22(6): 370-372.

[12] 王晓亮, 杨朝阳, 李晓光, 等. 应用人工神经修复大鼠坐骨神经损伤的实验研究[J]. 中国康复理论与实践, 2012, 18(6): 535-538.

[13] Yin YM, Lu Y, Zhang LX, et al. Bone marrow stmmal cells transplantation combined with ultrashortwave therapy promotes functional recovery on spinal cord injury in rats[J]. Synapse, 2015, 69(3): 139-147.

[14] 乔鸿飞, 段虹昊, 张巧俊, 等. 超短波对糖尿病大鼠创面愈合的影响[J]. 中国康复, 2014, 29(5): 347-349.

[15] 崔豫. 超短波治疗病毒引起的周围神经损伤后疼痛的疗效观察[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2006, 9(5): 146.

[16] 赖志光. 超短波理疗辅助治疗小儿支气管肺炎的疗效观察[J]. 中国现代药物, 2015, 9(5): 246-247.

(收稿日期: 2019-03-20)

(本文编辑: 王涛)