

DOI:10.3969/j.issn.1005-202X.2017.01.021

脑科学与神经物理

电针治疗对大鼠坐骨神经损伤功能修复的作用

袁婷¹, 邵志成², 欧婷¹, 陈力学², 马海涵², 邵阳¹

1.南京医科大学第二附属医院神经内科,江苏 南京 210011; 2.重庆医科大学第一附属医院重庆市神经病学重点实验室,重庆 400016

【摘要】目的:探讨电针治疗(EA)对大鼠坐骨神经损伤功能修复的作用机制。**方法:**40只大鼠随机分为模型组(Injury组)、损伤后EA治疗组(Injury+EA组),建立大鼠坐骨神经损伤模型,损伤模型成功后给予电针治疗。通过检测治疗前后展爪反射,趾间距,腓肠肌湿重的恢复率,以及脊髓诱发电位、运动诱发电位变化,观察电针治疗对大鼠坐骨神经损伤修复的作用机制。**结果:**大鼠坐骨神经损伤后给予电针治疗,能显著促进大鼠坐骨神经损伤后受损运动和感觉功能的恢复,降低肌肉萎缩。与Injury组比较,Injury+EA组展爪反射的恢复时间显著缩短($P<0.01$),各组大鼠1~5趾趾间距显著增加($P<0.01$),腓肠肌湿重的恢复率显著提高($P<0.01$),感觉诱发电位波形恢复显著($P<0.01$),消失的波形有部分恢复(95%),显著高于Injury组(86%)($P<0.05$)。**结论:**电针治疗能促进大鼠坐骨神经损伤后的功能修复,延迟肌肉萎缩。

【关键词】电针治疗;坐骨神经;神经损伤;功能修复

【中图分类号】R246;R722.144

【文献标志码】A

【文章编号】1005-202X(2017)01-0105-04

Effect of electroacupuncture on functional recovery of injured sciatic nerves in rats

YUAN Ting¹, SHAO Zhicheng², OU Ting¹, CHEN Lixue², MA Haihan², SHAO Yang¹

1. Department of Neurology, Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210011, China; 2. Chongqing Key Laboratory of Neurology, First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Abstract: Objective To investigate the functional repair of electroacupuncture (EA) on injured sciatic nerves in rats. **Methods** Forty rats were randomly divided into Injury group and Injury+EA group. After the model of injured sciatic nerves was established in 40 rats, Injury+EA group was treated with EA. The function repair of EA on injured sciatic nerves was observed by the examination of somatosensory evoked potential (SEP), motor evoked potential (MEP), gastrocnemius wet weight, expanding paw reflection and the distance between the first and fifth toes (TS). **Results** EA for injured sciatic nerves in rats significantly promotes the recovery of the motor and sensory functions and reduces the muscle atrophy. Compared with Injury group, Injury+EA group showed a shortened recovery time of expanding paw reflection, increased TS, improved recovery rate of gastrocnemius wet weight, and obvious SEP recovery ($P<0.01$ for all). And the recovery of MEP in Injury+EA group and in Injury group were 95% and 86%, respectively ($P<0.05$). **Conclusion** EA promotes the repair of injured sciatic nerves and delay gastrocnemius atrophy in rats.

Keywords: electroacupuncture; sciatic nerve; nerve injury; functional repair

前言

周围神经损伤是平时致残、导致功能丧失的主

要病种之一^[1]。周围神经再生与修复一直是科学家们研究的热点问题之一。针灸在我国有悠久历史,电针疗法(Electroacupuncture, EA)是针灸学发展起来的一门新兴物理治疗技术,临床观察显示电针疗法能够促进周围神经损伤修复,有利于损伤机体功能重建,但其机制还有待进一步研究^[2-3]。在电针治疗神经损伤过程中,影响因素多,其作用机制和治疗效果多样。本实验拟通过建立大鼠周围神经损伤模型,观察电针治疗对大鼠坐骨神经损伤修复的作用机制。

【收稿日期】2016-11-25

【基金项目】国家自然科学基金(30300075);四川省科技攻关项目(05SG1866)

【作者简介】袁婷,硕士研究生,医师,从事脑血管病等方面研究, E-mail: 382204680@qq.com

【通信作者】邵阳,博士,教授,主任医师,从事神经疾病发病机制等方面研究, E-mail: shine771@126.com

1 材料与方法

1.1 动物及实验分组

健康SD大鼠40只,3~4月龄,雄性,体质量200~250 g,由重庆医科大学实验动物中心提供。实验分为损伤模型组(Injury组)、损伤后EA治疗组(Injury+EA组)。每组20只大鼠。Injury+EA组在实验模型制备7 d后,在损伤神经周围给予EA,1次/d,连续4周。Injury组在实验模型制备7 d后,在损伤神经周围插入电针,但不通电,余同Injury+EA组。

1.2 实验模型制备^[1,3]

(1)钳夹神经损伤:采用戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射麻醉,行无菌操作术,在右臀部外侧分离出坐骨神经,选择梨状肌下缘1.5 cm处,用无齿蚊式钳钳夹坐骨神经,钳夹力量为一扣,钳夹持续2 min,产生长度约2 mm的神经损伤。(2)电针仪器:G6805-2A型低频电子脉冲治疗仪(上海医疗电子仪器有限公司),华佗牌一次性无菌针灸针(上海泰成科技发展有限公司)。(3)小鼠穴位选择参考《实验针灸学》,选取足三里。用30号40 mm毫针斜插入大鼠右侧足三里穴,深度1 cm左右,接电针仪;电针正极接在近心端,负极接在远心端。频率3 Hz,电压2~4 V,电流1~2 mA,选用连续波,强度以针柄颤动,但动物能保持安静为度,每日1次,每次15 min。

1.3 展爪反射

观察标准:(1)展爪反射消失:趾并拢不能分开;(2)正常:能展开,与健侧相同。

1.4 趾间距

实验时将模型大鼠损伤侧足掌面蘸墨汁,将大鼠自然放在铺有白纸的地板上,观察其行走形态,选取自然行走足迹测量1~5趾趾间距(间距用L表示),单位为cm。

1.5 脊髓感觉诱发电位(SEP)

(1)记录电极:消毒动物皮肤,无菌术下将两根针状电极(直径约为1 mm)沿L₄~L₅椎间隙缓慢插入棘间韧带;(2)刺激电极:将两根针电极插入胫后神经走行处,二电极间距1 cm;(3)电刺激参数:强度10~15 V,波宽0.2 ms,频率4 Hz的单方波电脉,记录电极引入诱发电位仪(美国尼高力 Nicolet EDX 肌电/诱发电位仪)采集数据。

1.6 运动诱发电位(MEP)

(1)记录电极:两根针电极插入腓肠肌,电极间距1~2 cm;(2)刺激电极:将前述SEP的记录电极用作MEP的刺激,(3)电刺激参数:强度0.7~15.0 V,波

宽0.1 ms,频率4 Hz的单方波脉冲刺激L₄~L₅脊髓,记录电极引入诱发电位仪(美国尼高力 Nicolet EDX 肌电/诱发电位仪)采集数据。

1.7 腓肠肌湿重测定

Injury组和Injury+EA组分别于术后2、4周,各选择6只动物,在手术显微镜下完整取下腓肠肌,用电子天平(上海恒平电子天平MP51001)称量腓肠肌湿重,以自体健侧作为对照,计算出各自的恢复率。

1.8 统计学方法

数据以均数±标准差表示,采用SPSS统计软件进行t检验。

2 结果

2.1 电针治疗后腓肠肌湿重变化

各组腓肠肌湿重的恢复率随实验观察时间的延长均下降,Injury组下降速度最明显,Injury+EA组治疗2周和4周下降速度较缓慢,Injury+EA组在各个观察点与Injury组比较均有显著性差异($P<0.01$),见表1。

表1 各组治疗后腓肠肌湿重的恢复率(% , $\bar{x}\pm s$)
Tab.1 Recovery rate of gastrocnemius wet weight after sciatic nerve injury in rats (% , Mean±SD)

Group	Post-injury time	
	2 week	4 week
Injury group	27.61±4.43	23.52±3.22
Injury+EA group	36.45±4.52*	30.96±5.03**

EA: Electroacupuncture; Injury +EA group vs Injury group, *: $P<0.05$, **: $P<0.01$.

2.2 电针治疗后展爪反射变化

大鼠坐骨神经损伤模型术4周后,展爪反射消失,动物伤肢均出现踝下垂,趾并拢不能分开,动物呈跛行步态,后肢拖地行走。2组展爪反射都有部分恢复,Injury组平均时间25 s,Injury+EA组平均时间17 s。与Injury组比较,Injury+EA组展爪反射的恢复时间显著缩短($P<0.01$),见表2。

2.3 电针治疗后趾间距变化

大鼠坐骨神经损伤模型术后,趾间距显著减小。2组趾间距都有部分恢复,治疗4周后,Injury组平均趾间距(1.28±0.25) cm,Injury+EA组平均趾间距(1.56±0.31) cm。与Injury组比较,Injury+EA组各组大鼠1~5趾趾间距显著增加($P<0.01$),见表3。

2.4 电针治疗后SEP变化

表 2 各组大鼠展爪反射的恢复时间(*t/d*)

Tab.2 Recovery time of expanding paw reflection after sciatic nerve injury in rats (*t/d*)

Group	Initial recovery time	Entire recovery time	Average recovery time
Injury group	18	31	25
Injury +EA group	10	22	17**

Injury+EA group vs Injury group, **: $P<0.01$.

表 3 坐骨神经损伤后不同时间 1~5 趾趾间距(*cm*, $\bar{x}\pm s$)

Tab.3 Changes of TS after sciatic nerve injury in rats (*cm*, *Mean* \pm *SD*)

Group	Pre-injury	Post-injury time	
		2 week	4 week
Injury group	1.72 \pm 0.16	1.22 \pm 0.17	1.28 \pm 0.25
Injury+EA group	1.73 \pm 0.14	1.34 \pm 0.24*#	1.56 \pm 0.31**#

TS: Distance between the first and fifth toes; Injury+EA group vs Injury group, *: $P<0.05$, **: $P<0.01$; Injury+EA group vs Pre-injury, #: $P<0.05$.

术前全部动物均可观察到 SEP 的 N1、P1、N2、P2、N3 波形成成分,神经损伤模型术后观察不到 SEP 的早期波形 N1、P1、N2、P2 波。EA 处理后,Injury+EA 组术后 2 周消失的波形有部分恢复(34%)、4 周恢复 86%,Injury 组术后 2 周未见恢复,4 周大部分恢复(72%),提示与 Injury 组比较,Injury+EA 组 SEP 波形恢复显著($P<0.01$),见表 4。

表 4 各组大鼠不同时间 SEP 恢复的百分数(%)

Tab.4 Recovery of SEP after sciatic nerves injury in rats (%)

Group	Pre-injury	Post-injury time	
		2 week	4 week
Injury group	100	0	72
Injury +EA group	100	34**	86*

SEP: Somatosensory evoked potential; Injury + EA group vs Injury group, *: $P<0.05$, **: $P<0.01$.

2.5 电针治疗后 MEP 变化

术前全部动物均可观察到 SEP 的 N1、P1、N2、P2、N3、P3、N4 波形成成分,神经损伤模型术后观察不到 MEP 的早期波形 N1、P1 波。EA 处理 2 周后,Injury+EA 组术后消失的波形有部分恢复(35%)显著高于 Injury 组术(24%) ($P<0.05$); EA 处理 4 周后,Injury+EA 组术后消失的波形有部分恢复(95%)显著高于 Injury 组术(86%) ($P<0.05$),见表 5。

表 5 各组大鼠不同时间 MEP 恢复的百分数(%)

Tab.5 Recovery of MEP after sciatic nerves injury in rats (%)

Group	Pre-injury	Post-injury time	
		2 week	4 week
Injury group	100	24	86
Injury +EA group	100	35*	95*

Injury+EA group vs Injury group, *: $P<0.05$.

3 讨论

3.1 周围神经损伤与修复

周围神经受到直接或间接外力所致创伤称为周围神经损伤。目前采用显微外科连接损伤神经,移植组织或细胞修复缺损,给予激素和神经生长因子等药物促进神经再生,但神经功能的恢复大约只有 70%。由于周围神经的再生速度慢,失去支配神经的营养支持,骨骼肌出现萎缩,临床上常用电针阻止骨骼肌失神经萎缩、促进神经再生^[1-3]。3 Hz 电针刺激足三里可诱发支配穴位的坐骨神经分支神经放电,而以 1 Hz 电针刺激足三里时则无明显神经诱发放电现象。

3.2 电针治疗修复神经损伤的机制

电脉冲在电针的两个电极之间产生生物电场,电场有利于损伤的神经定向生长和神经再生^[4-8]。(1)研究显示在生物电场作用下神经元的突起向阴极方向生长加快,而向阳极方向生长则受到抑制,可以阻止损伤轴突大量 Ca^{2+} 内流、降低继发性损伤。(2)电场促进神经生长相关蛋白、促进周围神经再生的神经营养因子表达增多。电针可在短时间内促使再生轴突与靶器官功能联系得到改善^[9-10]。电针针刺促进组神经组织中神经营养因子-3 及其受体表达水平。(3)电场促进许旺细胞的增殖。电针治疗可明显促进许旺细胞大量增生,并且分泌多种神经活性物质,如神经生长因子,脑源性神经营养因子,睫状神经营养因子^[11]。(4)电针可促进血管形成。损伤局部电刺激,神经毛细血管密度显著优于对照组。以上表明电场能显著促进神经的再生。

3.3 神经损伤后功能评定

(1)SEP、MEP 等神经电生理技术能较客观的定性、定位和定量评估或鉴定周围神经损伤及功能恢复^[12-13]。SEP、MEP 的各波幅成分可以反映神经感觉和运动电位传导结构的完整性^[14-15]。本实验用电生理学评估电针治疗周围神经损伤恢复效果科学可靠。本实验 Injury+EA 治疗组的展爪反射时间缩短、

SEP、MEP波幅恢复出现提前,表明大鼠坐骨神经损伤后,给予电针治疗不仅可促进感觉神经再生,而且可促进运动神经再生。提示电针治疗有利于损伤神经的再生修复。(2)腓肠肌湿重的恢复率可以评价失神经支配骨骼肌萎缩发生。本实验Injury+EA治疗组腓肠肌湿重的恢复率显著提高,提示电针刺刺激诱发肌肉收缩,能改善局部循环,延缓肌肉萎缩作用。电针作用受影响因素较多,在治疗参数,如刺激频率、强度和时间等需要进一步研究^[16]。此外,其生物学效应的维持可能还与穴位等有关,有待进一步探索。

【参考文献】

- [1] 章明星, 刘阳阳, 刘建卫, 等. 电针治疗周围神经损伤的临床研究进展[J]. 光明中医, 2016, 31(8): 1196-1199.
ZHANG M X, LIU Y Y, LIU J W, et al. Clinical research progress on electroacupuncture in the treatment of peripheral nerve injury [J]. Guangming Journal of Chinese Medicine, 2016, 31(8): 1196-1199.
- [2] 庄伊洵, 陈玄, 叶笑然, 等. 宽波电脉冲电针足三里防治下肢肌萎缩研究[J]. 上海针灸杂志, 2016, 35(6): 742-744.
ZHUANG Y Y, CHEN X, YE X R, et al. Study of wide pulse wave electroacupuncture at zusanli (ST36) for preventing and treating lower limb muscle atrophy [J]. Shanghai Journal of Acupuncture and Moxibustion, 2016, 35(6): 742-744.
- [3] 龙飞, 李学智, 龚标, 等. 电针对局灶性脑梗死大鼠皮质Slit2及HSPGs表达的影响[J]. 四川大学学报(医学版), 2016, 47(2): 203-207, 213.
LONG F, LI X Z, GONG B, et al. Effect of electro-acupuncture on the expression of Slit2 and HSPGs in rats with focal cerebral infarction [J]. Journal of Sichuan University (Medical Science Edition), 2016, 47(2): 203-207, 213.
- [4] 睦明红, SHERRIE Lessans, 燕铁斌, 等. 电针“足三里”治疗化疗所致周围神经痛的效应机制研究[J]. 中国针灸, 2016, 26(5): 512-516.
SUI M H, SHERRIE L, YAN T B, et al. Mechanism of electroacupuncture on "Zusanli (ST 36)" for chemotherapy-induced peripheral neuropathy [J]. Chinese Acupuncture & Moxibustion, 2016, 26(5): 512-516.
- [5] MILLS P B, DOSSA F. Transcutaneous electrical nerve stimulation for management of limb spasticity: a systematic review [J]. Am J Phys Med Rehabil, 2016, 95(4): 309-318.
- [6] HAHM S C, YOON Y W, KIM J. High-frequency transcutaneous electrical nerve stimulation alleviates spasticity after spinal contusion by inhibiting activated microglia in rats [J]. Neurorehabil Neural Repair, 2015, 29(4): 370-381.
- [7] HOANG N S, SAR C, VALMIER J, et al. Electro-acupuncture on functional peripheral nerve regeneration in mice: a behavioural study [J]. BMC Complement Altern Med, 2012, 12(1): 1-9.
- [8] 胡琳娜, 邵水金, 刘延祥, 等. 电针治疗周围神经损伤的修复机制 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(46): 8662-8664.
HU L N, SHAO S J, LIU Y X, et al. Mechanisms of electroacupuncture therapy for peripheral nerve injury [J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2010, 14(46): 8662-8664.
- [9] YAN Q, RUAN J W, DING Y, et al. Electroacupuncture promotes differentiation of mesenchymal stem cells, fegeneration of nerve fibers and partial functional recovery after spinal cord injury [J]. Exp Toxicol Pathol, 2011, 63(1-2): 151-156.
- [10] 孙迎春, 李建军, 高莉敏, 等. 不同穴位电针对大鼠脊髓损伤植入脐血干细胞后生长相关蛋白-43、髓磷脂碱性蛋白表达的影响 [J]. 中国康复理论与实践, 2009, 15(6): 524-528.
SUN Y C, LI J J, GAO L M, et al. Expression of GAP-43, MBP by electrical stimulation in different sites of spinal cord injured rats after human umbilical cord blood stem cells transplantation [J]. Chinese Journal of Rehabilitation Theory and Practice, 2009, 15(6): 524-528.
- [11] LI Q W. Effect of electro-acupuncture on s-100 protein expression of nerve fibers in the repair process of transected sciatic nerve in rats [J]. J Acupunct Tuina Sci, 2007, 5(1): 10-13.
- [12] TZEVEITANOV P, ROUSSEFF R T, ATANASSOVA P. Prognostic value of median and tibial somatosensory evoked potentials in acute stroke [J]. Neurosci Lett, 2005, 380(1-2): 99-104.
- [13] TANAKA S, TASHIRO T, GOMI A, et al. Sensitivity and specificity in transcranial motor-evoked potential monitoring during neurosurgical operations [J]. Surg Neurol Int, 2011, 2: 111.
- [14] MORRIS S H, ELHAWARY R, HOWARD J J, et al. Validity of somatosensory evoked potentials as early indicators of neural compromise in rat model of spinal cord compression [J]. Clin Neurophysiol, 2013, 124(5): 1031-1036.
- [15] 赵金杰, 纪萌, 方震, 等. 电针在治疗大鼠脊髓半横断损伤后功能康复中的研究 [J]. 潍坊医学院学报, 2015, 37(2): 91-94.
ZHAO J J, JI M, FANG Z, et al. Study of electroacupuncture in the treatment of rats with hemisection of spinal cord injury rRehabilitation [J]. Journal of Weifang Medical University, 2015, 37(2): 91-94.
- [16] 马长华, 杨欢, 罗振中. 电针对糖尿病神经病理性疼痛大鼠痛阈及脊髓p38MAPK表达的影响 [J]. 现代医院, 2016, 16(10): 1432-1433.
MA C H, YANG H, LUO Z Z. The effects of electroacupuncture on p38MAPK in rat model of diabetic neuropathic pain [J]. Modern Hospital, 2016, 16(10): 1432-1433.

(编辑: 薛泽玲)