

· 基础研究 ·

660 nm 红光对大鼠坐骨神经钳压损伤的修复作用

李松 赵阳 李献超 陈龙 陈玉霞 刘玲 肖农

【摘要】 目的 研究不同治疗参数的 660 nm 红光照射对大鼠坐骨神经损伤修复作用。**方法** 选取成年 SD 雄性大鼠 45 只,按随机数字表法分为对照组与治疗 1、2、3、4 组,每组 9 只。采用钳压法建立大鼠坐骨神经损伤模型,治疗 1、2、3、4 组分别采用不同参数(不同的功率密度和照射时间)的 660 nm 红光照射损伤部位,每日 1 次,连续治疗 21 d。5 组大鼠均于术前和术后第 7、14、21 天进行神经电生理测定,测定其坐骨神经复合肌动作电位(CMAP)潜伏期、波幅、坐骨神经传导速度,并于术前和术后第 4、7、14、21 天采用坐骨神经功能指数(SFI)进行行走功能评价。**结果** 术后第 21 天,治疗 1、2、3、4 组大鼠的 CMAP 潜伏期和波幅与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗 3 组和对照组坐骨神经传导速度分别为 (36.06 ± 1.84) m/s 和 (30.60 ± 5.04) m/s,差异有统计学意义($P < 0.05$);治疗 2 组、治疗 3 组和对照组 SFI 负值分别为 (-10.88 ± 11.16) 、 (-11.91 ± 7.11) 和 (-21.26 ± 4.79) ,组间差异均有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 红光照射可促进大鼠坐骨神经损伤修复,改善其行走功能。

【关键词】 红光; 复合肌动作电位; 神经传导速度; 坐骨神经功能指数

Effects of 660nm red light on crush-induced sciatic nerve injury Li Song*, ZHAO Yang, LI Xian-chao, CHEN Long, CHEN Yu-xia, LIU Ling, XIAO Nong. *Children's Hospital of Chongqing University of Medical Science, Chongqing 400014, China

Corresponding author: XIAO Nong, Email: xiaonongwl@163.com

【Abstract】 Objective To explore the therapeutic effects of 660 nm red light on sciatic nerve injury in adult rats. **Methods** Forty-five adult, male rats were divided into a control group and treatment groups 1, 2, 3 and 4. Sciatic nerve injury was modeled by crushing the nerve. The treatment groups received irradiation with red light once daily for 21 consecutive days. The power density of red light and irradiation time varied among the groups. The latency and amplitude of compound muscle action potentials (CMAPs) and nerve conductive velocity were examined at different time points. The Sciatic Function Index (SFI) was used to evaluate walking function. **Results** After 21 days of red light therapy no statistically significant differences were observed between the control group and treatment groups 1 to 4 with regard to the latency or the amplitude of the CMAPs. There was a significant difference between the control group and treatment group 3 in terms of sciatic nerve conduction velocity. The average Sciatic Function Indexes of treatment groups 2, 3 were significantly different from that of the control group. **Conclusion** Red light irradiation can promote recovery after sciatic nerve injury, at least in rats, thereby improving walking function.

【Key words】 Red light; Compound muscle action potentials; Nerve conduction velocity; Sciatic Function Index

红光是 600 ~ 700 nm 波段的可见光。早在 20 世纪 70 年代,已有红光应用于临床治疗周围神经损伤的相关报道^[1];但对于最佳照射波长、功率密度/能量密度、光照时间等参数选择以及光疗效果的评价,目前仍存在较大争议。660 nm 红光是研究中最常用的选择,Barbosa^[2] 和 Dos^[3] 以及 Gigo 等^[4] 均分别采

用 660 nm 红光为治疗手段用于动物实验,进行周围神经损伤修复的研究,获得了较好的疗效,但其研究并未设置多个治疗组以探讨最佳模式。本实验研究通过建立大鼠坐骨神经损伤模型,选取 660 nm 红光给予不同参数的照射治疗,观察红光对坐骨神经损伤的修复作用,旨在进一步探讨坐骨神经损伤的最佳治疗模式。

材料与方法

一、实验动物

选取成年雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 45 只,体重 230 ~ 270 g,采购自重庆医科大学实验动物中心(批

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2013.06.002

作者单位:400014 重庆,重庆医科大学附属儿童医院康复中心(李松、赵阳、陈龙、陈玉霞、刘玲、肖农);重庆医科大学附属儿童医院儿童发育疾病研究省部共建教育部重点实验室(肖农);重庆大学生物医学工程系(李献超)

通信作者:肖农,Email: xiaonongwl@163.com

号 0038118)。无特定病原体 (specific pathogen Free, SPF) 级喂养至成年后转移至清洁区进行实验。采用随机数字表法分为对照组和治疗 1、2、3、4 组, 共 5 组, 每组大鼠 9 只。动物喂养及所有实验操作均在重庆医科大学附属儿童医院实验动物中心完成。

二、实验器材

光子治疗仪 (深圳普门科技有限公司), 多通道生理信号采集系统 (成都仪器厂), 激光功率/能量计 (北京物科光电技术有限公司)。弹性动脉夹, 游标卡尺。

三、建立大鼠坐骨神经损伤模型

5 组大鼠均采用 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉, 剂量 0.3 ml/100 g 体重。麻醉过程中维持室温 (25 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 。麻醉后俯卧固定, 剃毛, 常规消毒铺巾。右股后外侧切开皮肤约 2 cm, 钝性分离股二头肌及半腱肌, 暴露右侧坐骨神经 (图 1)。玻璃分针游离坐骨神经约 1 cm。于坐骨神经穿出梨状肌处 0.5 cm (图 2)。采用弹性动脉夹钳压神经 30 s^[4-5]。术毕, 逐层缝合关闭切口。术后 3 d 局部换药预防感染。

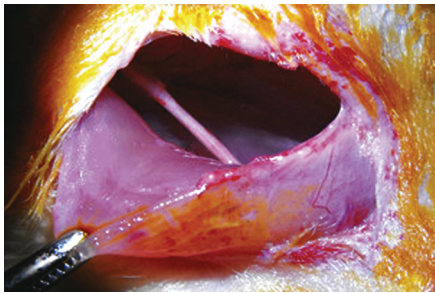


图 1 大鼠右侧坐骨神经

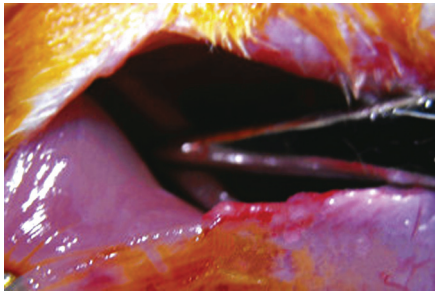


图 2 坐骨神经钳压损伤

四、红光照射治疗

治疗 1、2、3、4 组大鼠均自坐骨神经损伤模型建立当天即运用光子治疗仪进行红光照射治疗 (图 3)。该仪器采用发光二极管 (light-emitting diode, LED) 产生红光, 波长 660 nm, 光斑直径 2 cm, 1 次/日, 连续治疗 21 d。照射过程中采用安抚法固定大鼠。光照功率密度根据激光功率/能量计进行测定。照射能量 = 0.06π 功率密度 $\times$ 照射时间。各组红光治疗照射参数见表 1。

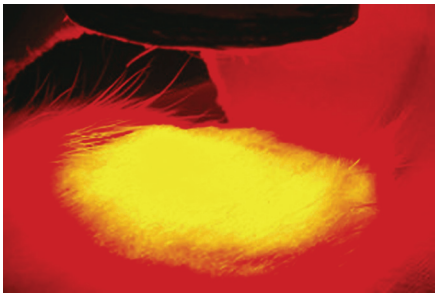


图 3 红光照射治疗

表 1 5 组大鼠 660 nm 红光照射治疗参数

组别	功率密度 (mW/cm ²)	照射时间 (min)	照射能量 (J)
对照组	-	-	-
治疗 1 组	20	10	37.68
治疗 2 组	20	20	75.36
治疗 3 组	40	10	75.36
治疗 4 组	40	20	150.72

五、神经电生理测定

采用多通道生理信号采集系统采集右侧坐骨神经复合肌动作电 (compound muscle action potentials, CMAP), 并测定其潜伏期、波幅; 计算坐骨神经传导速度。分别于术前和术后第 7、14、21 天进行神经电生理测定, 每次测定前均按前述方法麻醉大鼠。潜伏期为刺激脉冲伪迹出现至 CMAP 出现的时间。波幅为动作电位双向峰之间的最大电位差。

电极安放: 电极末端连接一次性针灸针头。参考封卫毅等^[6]的方法, 分别进行近端及远端两个部位刺激。近端刺激双针电极置于右侧坐骨神经出梨状肌切迹处皮下肌肉, 正极位于近端, 正、负极间距 0.5 cm (图 4)。远端刺激电极置于踝关节处 (图 5)。记录电极主、辅极分别定位于右足底第二趾骨与第四趾骨附近肌肉处。接地电极置于尾部皮下。



图 4 近端刺激电极安放



图 5 远端刺激电极安放

采用单脉冲方波刺激:波宽 0.2 ms,强度 2 V,共刺激 3 次,刺激间隔 20 s。测量近端 CMAP 潜伏期、波幅进行统计学分析,将近端 CMAP 潜伏期记为 T1;将远端 CMAP 潜伏期记为 T2。S 为近端与远端刺激电极间距,测量方法为:将大鼠脊柱置于一条直线上,髋关节与脊柱成角 45°,膝关节伸直,游标卡尺测量两正极间距离,精确到 mm。将相关参数代入公式(1)计算坐骨神经传导速度。

$$V = \frac{S}{T_1 - T_2} \quad (1)$$

六、坐骨神经功能指数测定

坐骨神经功能指数 (sciatic functional index, SFI) 测定参考 Bain 等^[7]的方法,严格复制大鼠行走轨道:长 150 cm,宽 8.5 cm,高 15 cm,具有活动性顶盖,一端开口,另一端置一暗室,见图 6。首先将大鼠放入轨道适应性行走 5 min,然后将与轨道等长等宽的白纸置于底部后盖上顶盖。将大鼠双后足用印泥染红后放入轨道开口端,大鼠自行走向另一端,进入暗室。每侧后足留下至少 3 个清晰足印,采用游标卡尺测量损伤侧足与正常侧足足印 3 个变量:①足印长 (the print length, PL)——足印的最长距离,即从足跟到足尖的距离;②足趾宽度 (the toe spread, TS)——第 1 趾到第 5 趾连线距离;③中间足趾距离 (the intermediary toe spread, IT)——第 2 趾到第 4 趾连线距离,见图 7。分别于术前、术后第 4 天、术后第 7 天、术后第 14 天、术后第 21



图 6 大鼠行走轨道

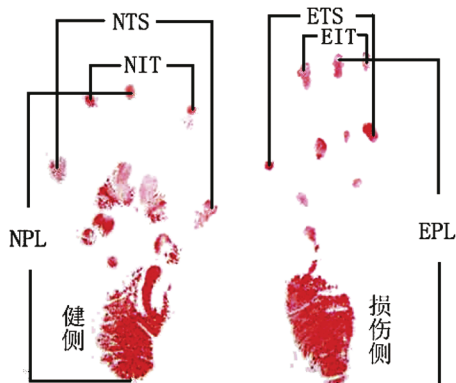


图 7 大鼠足印测量

天进行大鼠足印采集。将 PL、TS、IT 3 个变量代入 Bain 公式^[7]计算出 SFI,见公式(2)(N 表示健侧,E 表示损伤侧,定义 SFI 以 0 为正常值,-100 为神经离断)。

$$SFI = -38.3 \frac{EPL - NPL}{NPL} + 109.5 \frac{ETS - NTS}{NTS} + 13.3 \frac{EIT - NIT}{NIT} - 8.8 \quad (2)$$

七、统计学分析

采用 SPSS 17.0 版统计软件对实验数据进行分析。计量资料均用 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用独立样本 *t* 检验,双侧 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、神经电生理改变

治疗 1、2、3、4 组大鼠不同时间点 CMAP 潜伏期与对照组比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 2;各治疗组大鼠不同时间点 CMAP 波幅与对照组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 3。术后第 21 天治疗 3 组坐骨神经传导速度较对照组快,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),详见表 4。

表 2 5 组大鼠 CMAP 潜伏期 (ms, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	术前	术后第 7 天	术后第 14 天	术后第 21 天
对照组	9	2.65 ± 0.32	3.08 ± 0.72	3.08 ± 0.31	2.99 ± 0.30
治疗 1 组	9	2.69 ± 0.34	3.23 ± 0.59	3.07 ± 0.26	2.97 ± 0.31
治疗 2 组	9	2.70 ± 0.26	3.29 ± 0.57	3.22 ± 0.35	2.94 ± 0.43
治疗 3 组	9	2.71 ± 0.21	3.35 ± 0.62	3.20 ± 0.25	2.93 ± 0.47
治疗 4 组	9	2.73 ± 0.14	3.45 ± 0.48	3.21 ± 0.54	3.13 ± 0.22

表 3 5 组大鼠 CMAP 波幅 (mV, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	术前	术后第 7 天	术后第 14 天	术后第 21 天
对照组	9	1.95 ± 0.66	0.65 ± 0.35	1.57 ± 0.72	1.58 ± 0.60
治疗 1 组	9	2.38 ± 0.50	0.99 ± 0.65	1.26 ± 0.56	1.75 ± 0.86
治疗 2 组	9	1.82 ± 0.52	0.64 ± 0.42	1.35 ± 0.64	1.51 ± 0.45
治疗 3 组	9	1.90 ± 0.43	0.84 ± 0.45	1.43 ± 0.41	1.62 ± 0.32
治疗 4 组	9	1.71 ± 0.81	0.49 ± 0.25	1.12 ± 0.72	1.11 ± 0.48

表 4 5 组大鼠坐骨神经传导速度 (m/s, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	术前	术后第 7 天	术后第 14 天	术后第 21 天
对照组	9	36.76 ± 5.22	26.80 ± 5.33	28.19 ± 4.43	30.60 ± 5.04
治疗 1 组	9	37.10 ± 4.00	28.00 ± 2.36	30.94 ± 3.92	33.60 ± 2.43
治疗 2 组	9	36.58 ± 4.18	29.45 ± 3.32	30.98 ± 4.53	33.21 ± 4.18
治疗 3 组	9	36.62 ± 4.21	26.45 ± 3.84	31.69 ± 5.10	36.06 ± 1.84 ^a
治疗 4 组	9	36.80 ± 1.02	26.80 ± 1.80	29.93 ± 3.41	33.73 ± 2.84

注:与对照组同时点比较,^a $P < 0.05$

二、坐骨神经功能指数变化

术后第 21 天,治疗 2 组和治疗 3 组坐骨神经功能指数与对照组比较,负值减小,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),详见表 5。

讨 论

目前,各种各样促进神经损伤修复的新兴方法正在研究中,如电刺激^[8]、超声^[9]、低能量辐射治疗^[10]以

表 5 5 组大鼠坐骨神经功能指数($\bar{x} \pm s$)

组别	术前	术后第 4 天	术后第 7 天	术后第 14 天	术后第 21 天
对照组	-8.12 ± 10.16	-74.08 ± 12.2	-46.76 ± 4.62	-33.01 ± 5.50	-21.26 ± 4.79
治疗 1 组	-7.81 ± 8.64	-62.17 ± 29.05	-51.88 ± 18.26	-25.83 ± 13.47	-10.88 ± 11.16
治疗 2 组	-9.67 ± 10.53	-65.87 ± 11.34	-49.35 ± 15.32	-30.67 ± 12.24	-11.35 ± 5.32 ^a
治疗 3 组	-11.37 ± 4.74	-62.97 ± 11.78	-45.25 ± 19.93	-37.88 ± 21.26	-11.91 ± 7.11 ^a
治疗 4 组	-7.92 ± 14.00	-62.61 ± 9.82	-58.16 ± 20.87	-47.59 ± 20.73	-23.45 ± 15.76

注:与对照组同时时间点比较,^a $P < 0.05$

及红光照射治疗^[3,4,11]等。

本实验采用钳压法建立大鼠坐骨神经损伤模型,运用 660 nm 红光分别给予不同参数照射治疗,观察坐骨神经损伤恢复情况,并探讨相对最佳的治疗模式。根据本研究结果,各治疗组与对照组 CMAP 潜伏期、波幅不同时间点比较差异无统计学意义($P > 0.05$),但术后第 21 天治疗 3 组大鼠坐骨神经传导速度较对照组快,且差异有统计学意义($P < 0.05$),说明红光照射治疗对大鼠坐骨神经损伤恢复具有促进作用。测定 SFI 发现,术后第 21 天治疗 2 组和治疗 3 组较对照组比较负值小,差异有统计学意义($P < 0.05$),这不仅提示红光对大鼠坐骨神经损伤修复有促进作用,还说明以单一指标来衡量大鼠坐骨神经损伤的恢复情况可能产生误差,故进行功能学的评价是有必要的。治疗 2 组与治疗 3 组照射参数比较:治疗 2 组功率密度 20 mW/cm²,照射时间 20 min,照射能量 75.36 J;治疗 3 组功率密度 40 mW/cm²,照射时间 10 min,照射能量 75.36 J。两组总能量一致,提示本研究中 75.36 J 照射能量下对大鼠坐骨神经损伤恢复最有利,但治疗 3 组具有耗时短的优势。治疗 1 组照射能量为治疗 2 组、治疗 3 组的二分之一,术后不同时间点坐骨神经传导速度、SFI 与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),可能与照射能量不足有关。治疗 4 组照射能量(145.72 J)最大,亦未发现不同时间点坐骨神经传导速度、SFI 与对照组比较有明显改善,可能治疗 4 组红光照射能量效应已经达到最大。另外,治疗 4 组术后第 21 天 SFI 负值较对照组增大,差异无统计学意义($P > 0.05$),但尚不排除较高能量下光学损伤的可能性。Rochkind 和 Quaknine^[12]报道,低能量红光可促进耗氧的新陈代谢加快,而高剂量可导致光学损伤,提示红光对大鼠坐骨神经的修复作用并不完全呈剂量依赖性,红光对大鼠坐骨神经损伤修复呈双向调节作用。

目前关于红光促进周围神经修复的机制尚不清楚。Karu^[13]发现,对单个线粒体进行照射产生了积极的细胞内稳态,推测呼吸链的相关酶类可能吸收了某一特定波长的光,加速了线粒体的跨膜电势转化,促进 ATP 的合成。

本研究进一步通过动物实验证实了红光对周围神经损伤后修复的积极作用,并得出相对较高的功率密

度与较短的单次照射时间结合可能为红光促进周围神经损伤修复的最佳照射模式。另外,红光对大鼠坐骨神经损伤修复的双向调节作用可能与高剂量照射导致光学损伤有关。目前红光作为新的治疗周围神经的方法正处于研究中,其作为一种非侵入性的物理治疗方法,具有无痛苦、低成本、低技术门槛的优势,对促进周围神经损伤的修复有积极作用。

参 考 文 献

- [1] Rochkind S. Stimulation effect of laser energy on the regeneration of traumatically injured peripheral nerves. *Morphogen Regen*, 1978, 83: 25-27.
- [2] Barbosa RI, Marcolino AM, de Jesus Guirro RR, et al. Comparative effects of wavelengths of low-power laser in regeneration of sciatic nerve in rats following crushing lesion. *Lasers Med Sci*, 2010, 25: 423-430.
- [3] Dos Reis FA, Belchior AC, de Carvalho Pde T, et al. Effect of laser therapy (660 nm) on recovery of the sciatic nerve in rats after injury through neurotmesis followed by epineural anastomosis. *Lasers Med Sci*, 2009, 24: 741-747.
- [4] Gigo Benato D, Russo TL, Tanaka EH, et al. Effects of 660 and 780nm low-level laser therapy on neuromuscular recovery after crush injury in rat sciatic nerve. *Lasers Surg Med*, 2010, 42: 673-682.
- [5] Baptista AF, Gomes JR, Oliveira JT, et al. A new approach to assess function after sciatic nerve lesion in the mouse-Adaptation of the sciatic static index. *J Neurosci Methods*, 2007, 161: 259-264.
- [6] 封卫毅,姚鸿萍,魏友霞,等. 大鼠坐骨神经传导速度测定的方法学比较. *中国糖尿病杂志*, 2010, 18: 786-789.
- [7] Bain JR, Mackinnon SE, Hunter RT. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast Reconstr Surg*, 1989, 83: 129-138.
- [8] Mendonça AC, Barbieri CH, Mazzer N. Directly applied low intensity direct electric current enhances peripheral nerve regeneration in rats. *J Neurosci Methods*, 2003, 129: 183-190.
- [9] Monte-raso VV, Barbieri CH, Mazzer N, Fazan VS. Can therapeutic ultrasound influence the regeneration of peripheral nerves? *J Neurosci Methods*, 2005, 142: 185-192.
- [10] 李昆朋,许涛,杜宇,等. 波长 620nm 红光促进前软骨干细胞向软骨软骨细胞分化的实验研究. *中华物理医学与康复杂志*, 2012, 34: 172-175.
- [11] Belchior AC, dos Reis FA, Nicolau RA, et al. Influence of laser (660 nm) on functional recovery of the sciatic nerve in rats following crushing lesion. *Lasers Med Sci*, 2009, 24: 893-899.
- [12] Rochkind S, Quaknine GE. New trend in neuroscience: low-power laser effect on peripheral and central nervous system (basic science, preclinical and clinical studies). *Neurol Res*, 1992, 14: 2-11.
- [13] Karu TI. Molecular mechanisms of the therapeutic effect of low-intensity laser irradiation. *Lasers Life Sci*, 1988, 2: 53-74.

(修回日期: 2013-04-02)

(本文编辑: 阮仕衡)