

· 基础研究 ·

毫米波促进周围神经损伤轴突再生的实验研究

杨朝辉 陈九斤 刘莉 周淑华

【摘要】目的 探讨毫米波对周围神经损伤后轴突再生的影响。**方法** 将 48 只 SD 雄性大白鼠制作成左侧坐骨神经部分损伤模型,随机分为治疗组和对照组。治疗组在神经损伤 24 h 后,用毫米波辐射损伤部位,每周 5 次,每次 30 min,直至取材的前一天。组织学观察毫米波对大鼠坐骨神经部分损伤后轴突再生的影响。**结果** 治疗组在术后 2,4,6 周有髓纤维横截面积均显著大于对照组。电镜观察,治疗组在术后 4 周和 6 周的神经再生数目和成熟度均优于对照组。**结论** 毫米波能够促进周围神经损伤后轴突的再生。

【关键词】 毫米波; 周围神经损伤; 再生

Experimental study of the effect of millimeter wave irradiation on the axon regeneration after peripheral nerve injury YANG Zhao-hui, CHEN Jiu-jin, LIU Li, ZHOU Shu-hua. Department of Rehabilitation Medicine, Xiehe Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China

【Abstract】Objective To investigate the effects of the millimeter wave irradiation on the axon regeneration of injured peripheral nerve. **Methods** The left sciatic nerves of 48 adult Sprague-Dawley rats weighted around 220 g were crushed with forceps to form the experimental animal model of peripheral nerve injury. Then they were equally divided into a treatment group and a control group: the treatment group received millimeter wave irradiation, while the control group received sham millimeter wave irradiation. The treatment was administered 5 times per week, 30 min per time. The mean axon cross sectional area of the regenerated nerve fibers (ACSA) in two groups were measured and calculated at various stages after operation. Ultra-structural observation was performed with regard to the myelin sheath thickness and maturity of the regenerated fibers. **Results** It was shown that statistically significant difference existed for the ACSA between the two groups. The Schwann's cell proliferation, myelin recovery of the treatment group were all better in the treatment group than that of the control group after 4 and 6 weeks post-operation. **Conclusion** The study suggests that the millimeter wave irradiation could promote the regeneration of peripheral nerve.

【Key words】 Millimeter wave; Peripheral nerve injury; Regeneration

周围神经损伤很常见,伤后如何促进轴索的再生、加速受损神经功能的恢复是临床医生积极探索的课题。除了手术和药物治疗方法外^[1-3],物理疗法也是治疗方法之一。近几年来,毫米波作为一种新的物理治疗方法在我国已得到广泛应用。研究发现,毫米波对生物体具有较广泛的生物学效应和安全性^[4-7]。但是,有关毫米波对周围神经损伤后修复的影响的研究较少。我们将特定波长和功率的毫米波作用于受损的周围神经局部,以探讨毫米波对周围神经损伤后轴突再生的影响。

材料与方法

一、模型制作与分组

健康成年雄性 SD 大白鼠 48 只(由华中科技大学同济医学院实验动物中心提供),体重 200 ~ 220 g。用 1% 异戊巴比妥钠(30 mg/kg 体重)行腹腔注射麻醉后,

在左侧股后作一小切口,暴露坐骨神经,在距梨状肌下缘约 1.5 cm 处,用同一把新的 17 cm 弯血管钳尖端钳夹坐骨神经,钳夹强度统一为咬合 1 齿,持续时间为 10 s,制作成左侧坐骨神经部分损伤模型。损伤部位远端用 9-0 无创尼龙线标记。应用随机数字表将动物分为治疗组和对照组,每组 24 只。将右侧坐骨神经(未受损神经)作为正常对照。术后 2 组在同一条件下分笼饲养。治疗组在神经损伤 24 h 后,用国产 HBL-ⅢA 型毫米波发生仪的圆柱体辐射器直接接触损伤部位,输出频率为 (42.19 ± 0.2) GHz,波长为 7 mm^[8],输出功率密度为 3 mW/cm²,每天 1 次,每次 30 min,直到取材的前一天。对照组在相同条件下不行毫米波辐射。

二、取材

2 组均分别在术后 2,4,6 周^[3]用 1% 异戊巴比妥钠(30 mg/kg 体重)行腹腔注射麻醉,沿原手术切口入路暴露坐骨神经,在神经损伤标记处远端切取长约 5 mm 的坐骨神经,置于 10% 中性福尔马林固定液中固定 24 h,梯度酒精脱水,石蜡包埋,横向切片,切片厚度

作者单位:430022 武汉,华中科技大学同济医学院附属协和医院康复科

为 5 μm , 行 HE 染色, 图像分析有髓纤维截面积。以相同方法取右侧坐骨神经作正常对照。另于术后 4 周和 6 周每组随机各取 2 只大白鼠, 在神经损伤标记处远端 5 mm 处, 切取长约 3 mm 的坐骨神经, 置于 2.5% 戊二醛中固定, 4℃ 冰箱过夜, 1% 锇酸固定, 依次用梯度酒精脱水, 用 Epon812 包埋, 超薄切片行电镜观察。

三、观察项目

1. 神经形态学观察: 光镜观察术后 4 周受损神经远端有髓神经纤维的再生情况。在 OPTON, EM10C/CR 型透射电镜下观察术后 4 周和 6 周神经的变性与再生情况。

2. 有髓神经纤维截面积: 术后 2, 4, 6 周, 取左侧受损神经远端有髓神经纤维横切切片, 行 HE 染色, 采用同济图像分析系统, 在放大 400 倍的条件下, 用随机采点表格, 至少取 20 个交叉点, 测量落在交叉点上的有髓纤维截面积, 并计算其平均值。

四、统计学分析

2 组有髓神经纤维截面积的数据录入 SPSS 10.0 统计系统, 进行 t 检验。

结 果

一、神经形态学观察

1. 光镜观察: 术后 4 周, 与正常神经 (图 1) 相比, 对照组神经纤维截面积大小不一, 神经纤维排列较松散, 束状结构不明显, 束间有较多的结缔组织增生 (图 2); 治疗组神经纤维截面积大小比较一致, 神经纤维排列较密集、整齐, 束状结构明显, 束间无明显结缔组织增生 (图 3)。

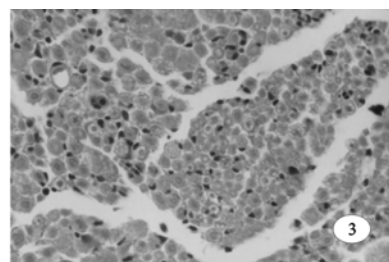
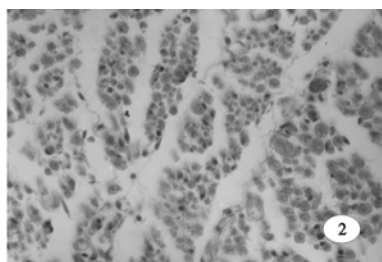
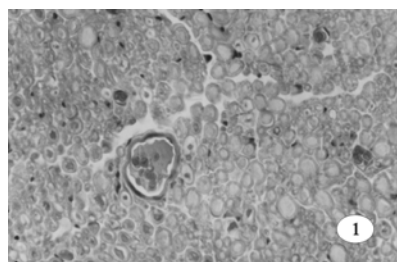


图 1 正常坐骨神经纤维横切片, 神经纤维排列密集、整齐, 束间无水肿, 无结缔组织增生 (HE 染色 $\times 400$); 图 2 对照组术后 4 周神经纤维横切片, 神经纤维排列较松散, 束状结构不明显, 束间有较多的结缔组织增生 (HE 染色 $\times 400$); 图 3 治疗组术后 4 周神经纤维横切片, 神经纤维排列较密集、整齐, 束状结构明显, 束间无明显结缔组织增生 (HE 染色 $\times 400$)

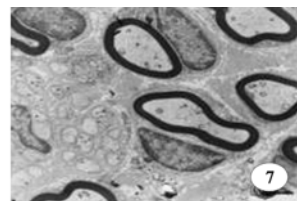
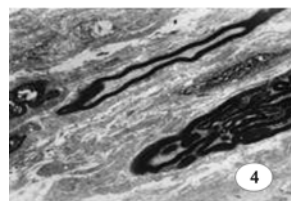


图 4 对照组术后 4 周可见较多变性神经纤维和胶原纤维 ($\times 4000$); 图 5 治疗组术后 4 周可见大量趋于成熟的神经纤维及雪旺细胞 ($\times 8000$); 图 6 对照组术后 6 周再生的神经纤维成熟度较差 ($\times 6300$); 图 7 治疗组术后 6 周可见大量再生的神经纤维均匀厚实 ($\times 6300$)

2. 电镜观察: 术后 4 周, 对照组可见较多变性的神经纤维和胶原纤维, 其间夹杂少量结构比较完好的神经纤维, 在切片的一角仍然可见较大范围的脂肪滴和纤维组织 (图 4); 治疗组已有大量趋于成熟的再生有髓纤维及雪旺细胞, 部分再生神经纤维排列整齐 (图 5)。术后 6 周, 对照组可见较多排列不整齐的再生神经纤维, 髓鞘厚薄不一致, 自相卷曲包裹, 相对成熟度较差 (图 6); 治疗组可见大量排列整齐、致密的再生有髓纤维, 髓鞘均匀厚实, 雪旺细胞核扁、卵圆形, 常染色质细腻、丰富, 部分区域胞浆丰富, 细胞外薄层基板清晰可见 (图 7)。

二、有髓神经纤维截面积

术后 2, 4, 6 周有髓神经纤维截面积见表 1。术后 2 周, 治疗组受损神经远端的有髓神经纤维截面积明显大于对照组 ($P < 0.05$); 术后 4 周和 6 周, 2 组之间的差异更显著 ($P < 0.01$)。

表 1 2 组术后 2, 4, 6 周有髓神经纤维截面积 (μm^2 , $\bar{x} \pm s$)

组 别	例数	2 周	4 周	6 周
治疗组	8	48.11 $\pm$ 7.21 *	41.50 $\pm$ 4.84 #	70.79 $\pm$ 2.52 #
对照组	8	39.74 $\pm$ 1.55	31.79 $\pm$ 1.95	49.58 $\pm$ 1.60

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$, # $P < 0.01$

讨 论

毫米波是指波长为 1 ~ 10 mm、频率为 30 ~ 300 GHz 的极高频电磁波。国内、外的基础实验和临床观察提示: 毫米波局部辐射通过作用于皮肤内的神经末梢、各类感受细胞、血管、血细胞及其它免疫功能细胞, 可导致机体产生全身性、远位效应, 信号转导系统在介导电磁场作用中扮演重要角色^[9,10], 膜输送的生物学过程决定细胞的全部功能。

有关研究表明,毫米波有助于治疗急慢性泌尿系感染^[11]、风湿性关节炎^[6],促进伤口愈合^[5]及抑制肿瘤细胞生长^[4]等。但是,毫米波对周围神经损伤后修复的影响的研究较少。Alekseev 等^[12]研究发现,低强度毫米波辐射能够改变离子通道的活性,促使神经细胞膜上 I_{Na} 和 I_{Ca} 通道快速激活和失活,提高动作电位的波幅,使神经系统通过改变电压进行信息加工。刘宏亮等^[8]将毫米波应用于实验性不完全性脊髓损伤大鼠,发现毫米波能够促进受损脊髓的修复。

本实验将大鼠的左侧坐骨神经钳夹而制作成神经部分损伤模型,并且治疗组予以特定功率和频率的毫米波进行治疗。电镜观察提示:术后 2 周,对照组神经变性程度较治疗组严重,新生的神经纤维也较治疗组稀少。术后 4 周和 6 周,治疗组的雪旺细胞增生、再生轴突的数量和髓鞘的厚度均优于对照组。光镜观察(与正常神经相比),术后 4 周,对照组神经纤维束状结构不明显,束间有较多的结缔组织增生,治疗组神经纤维束状结构比较明显,束间无明显结缔组织增生。统计有髓神经纤维截面积表明:术后 2 周,治疗组损伤远端的有髓纤维截面积明显大于对照组,术后 4 周和 6 周,2 组之间的差异更显著,说明毫米波治疗有助于促进雪旺细胞增生和轴突的再生。其机理可能是:①毫米波辐射能够改变离子通道的活性,促使神经细胞膜上 I_{Na} 和 I_{Ca} 通道快速激活和失活,提高动作电位的波幅^[12],使神经系统通过改变电压进行信息加工;②毫米波辐射还能够促进角蛋白产生 IL-1 β ,提高细胞内 IL-1 β 水平,进而促进周围神经挤压伤后神经功能恢复^[5,13]。

术后 2 周,治疗组和对照组的有髓神经纤维截面积均大于术后 4 周,可能与神经损伤后神经水肿有关。电镜观察,术后 4 周,对照组可见较多变性的神经纤维和胶原纤维,其间夹杂少量结构比较完好的神经纤维,在切片的一角仍然可见较大范围的脂肪滴和纤维组织,治疗组已有大量趋于成熟的再生有髓纤维及雪旺细胞,部分再生神经纤维排列整齐,能否说明毫米波具有减轻神经损伤后神经变性程度的作用,其作用机理如何,均值得进一步探讨。

参 考 文 献

- 1 Dolbear D, Houle JD. Restriction of axonal retraction and promotion of axonal regeneration by chronically injured neurons after intraspinal treatment with glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF). *J Neurotrauma*, 2003, 20:1251-1261.
- 2 王光林,杨志明,林卫. 组织工程化人工神经修复周围神经缺损的实验研究. *中华手外科杂志*, 2002, 18:134-137.
- 3 张峰,顾玉东,徐建光,等. 外源性表皮生长因子促进鼠坐骨神经再生的实验研究. *中华手外科杂志*, 2001, 17:105-107.
- 4 Tofani S, Barone D, Cintonio M, et al. Static and ELF magnetic fields induce tumor growth inhibition and apoptosis. *Bioelectromagnetics*, 2001, 22:419-428.
- 5 Szabo I, Rojavin MA, Rogers TJ, et al. Reaction of keratinocytes to in vitro millimeter wave exposure. *Bioelectromagnetics*, 2001, 22: 358-484.
- 6 Usichenko TI, Ivashkivsky OI, Gizhko VV. Treatment of rheumatoid arthritis with electromagnetic millimeter waves applied to acupuncture points—a randomized double blind clinical study. *Acupunct Electrother Res*, 2003, 28:11-18.
- 7 Szabo I, Manning MR, Radziewsky AA, et al. Low power millimeter wave irradiation exerts no harmful effect on human keratinocytes in vitro. *Bioelectromagnetics*, 2003, 24:165-173.
- 8 刘宏亮,刘青山,吴宗耀. 毫米波促进损伤脊髓修复再生的组织学研究. *中华理疗杂志*, 1999, 22:95-97.
- 9 Dibirdik I, Bofenkamp M, Skeben P, et al. Stimulation of Bruton's tyrosine kinase (BTK) and inositol 1, 4,5-trisphosphate production in leukemia and lymphoma cells exposed to low energy electromagnetic fields. *Leuk Lymphoma*, 2000, 40:149-156.
- 10 Wetzel BJ, Nindl G, Vesper DN, et al. Electromagnetic field effects: changes in protein phosphorylation in the Jurkat E6.1 cell line. *Biomed Sci Instrum*, 2001, 37:203-208.
- 11 Bagdasarova IV, Rudenko AV, Tumanyants EN. Experimental clinical study of the effect of millimeter waves on microbial and inflammatory renal diseases. *Crit Rev Biomed Eng*, 2001, 29:635-643.
- 12 Alekseev SI, Ziskin MC. Effects of millimeter waves on ionic currents of lymnaea neurons. *Bioelectromagnetics*, 1999, 20:24-33.
- 13 Korompilias AV, Chen LE, Seaber AV, et al. Interleukin-1 beta promotes functional recovery of crushed peripheral nerve. *J Orthop Res*, 1999, 17:714-719.

(修回日期:2005-03-11)

(本文编辑:松 明)

· 消息 ·

中国残疾人康复协会 2005 年国际康复论坛通知

中国残疾人康复协会定于 2005 年 8 月 24 日-8 月 29 日在西安召开“中国残疾人康复协会 2005 年国际康复论坛”。届时将邀请美国、日本和港、澳、台地区的资深专家进行广泛的交流,并将举办由国内、外著名家所作的多场专题演讲和专题研讨会。会议研讨主题包括:小儿脑瘫康复;精神残疾康复;肢体残疾康复;中医康复;无喉者康复;康复护理;神经伤残康复;康复技术(PT、OT);听力语言康复;康复工程;脊髓损伤康复;社区康复;智力残疾康复;康复心理学等。

相关事务联系地址:西安交通大学生命科学与技术学院康复科学与技术研究中心;邮政编码:710049;联系人:张锋;E-mail: fzhang@mail. xjtu. edu. cn;联系电话:029-82668664。