

经皮神经电刺激对周围神经侧侧缝合后神经再生作用的实验研究

康少英¹ 张克亮²

摘要 目的: 研究经皮神经电刺激对周围神经侧侧缝合后神经再生的影响。**方法:** 健康大耳白兔 18 只, 显露坐骨神经及其分叉处, 胫神经和腓总神经相邻神经束膜及外膜缝合。将动物肢体分为实验侧与对照侧。实验侧术后第 2 天, 经皮神经电刺激右下肢, 刺激参数: 方波, 波长 0.3ms, 频率 5Hz, 电流峰值 3—10mA。刺激时间: 每日 1 次, 每次 30min, 持续 6 周。左后肢不给予电刺激。实验动物分组: A 组(术后电刺激 3 周), B 组(术后电刺激 6 周), C 组(术后电刺激 16 周); 每组 6 只。**结果:** 通过观察电镜、肌电图, 实验侧明显优于对照侧。神经侧侧吻合各组在各时间点依次切开原手术切口, 检测 C 组动物腓总神经的运动传导速度, CAMP 的振幅及潜伏期, 实验侧神经传导速度及 CAMP 振幅均优于对照侧, 两者差异有显著性意义 ($P < 0.05$)。实验侧 CAMP 的潜伏期慢于对照侧, 两者差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。切断各组标本, 距吻合口处下方 5mm, 腓总神经中再生有髓纤维数目实验侧再生有髓纤维均多于对照侧, 两者差异有显著性意义 ($P < 0.05$)。**结论:** 神经侧侧吻合后有神经侧支发芽生长, 可作为修复神经损伤的一种方法; 经皮神经电刺激在提高神经侧侧吻合后神经侧支发芽能力有积极作用。

关键词 经皮神经电刺激; 周围神经; 神经再生; 侧侧吻合

中图分类号: R493, R651.3 文献标识码: A 文章编号: 1001-1242(2006)-04-0301-03

The effects of transcutaneous electrical nerve stimulation on peripheral nerve regeneration after side-to-side neurorrhaphy/KANG Shaoying, ZHANG Keliang/Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2006, 21(4): 301—303

Abstract Objective: To study the effect of transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) on peripheral nerve regeneration after side-to-side neurorrhaphy. **Method:** Eighteen rabbits, regardless of sex, were used (weight 2—2.5kg). The distal segment of the common peroneal nerves on both legs were sutured to the same side tibial nerve with epineurial window, in an side-to-side neurorrhaphy. TENS was given to the right hindlimb postoperatively. The stimulation was applied to the animals for 30 min every day beginning a day after the nerve repair. The stimulation frequency was 2Hz, the current intensities ranged from 8 mA to 10 mA, and the wave-length was 0.4ms. Eighteen rabbits were randomly divided into 3 groups: namely 3w, 6w and 16w ($n=8$). **Result:** Investigation with electron microscope, electromyographic showed the treatment side were better recovered than the contralateral side. Electromyographic: On the treatment side, the counting rate of motor nerve measured was 40.60 ± 12.49 m/s, it was 22.50 ± 7.12 m/s on the control side which had significant difference ($P < 0.05$) by paired T test. The mean potential amplitude measured was 10.75 ± 1.22 mV and on the control side, it was 8.28 ± 2.17 mV. The mean amplitude of the treatment side was higher than the control side and the difference was statistically significant ($P < 0.05$) by paired T test. The latent period of CAMP had no significant difference ($P > 0.05$) on both sides. **Conclusion:** The existence of collateral sprouting is proved in the experimental study, TENS has beneficial influence on promoting peripheral nerve collateral sprouting after side-to-side neurorrhaphy.

Author's address Dept. of Orthopaedic Surgery, Handan Central Hospital, Handan, 056001

Key words transcutaneous electric nerve stimulation; peripheral nerves; nerve regeneration; side-to-side neurorrhaphy

周围神经损伤的修复, 采用端-端缝合已沿袭多年, 但对于高位神经损伤(如下臂丛神经根性损伤、坐骨神经出口处损伤)或神经缺损较长时, 经常会发现神经再生时间长或无足够长度的神经可供移植桥接, 修先伦等^[1]设计一种神经侧侧吻合法, 发现供体有侧芽长出, 再生轴突通过吻合口长入伤侧神经干, 再生效果近似于自体神经移植。经皮神经电刺激具

有促进神经再生, 减轻肌肉萎缩等作用。国内尚没有关于经皮神经电刺激对周围神经侧侧缝合后神经再生作用影响的报道, 为此设计了本项实验研究, 为临

1 河北省邯郸市中心医院骨科, 邯郸, 056001

2 河北医科大学第三医院手外科

作者简介: 康少英, 男, 硕士, 主治医师

收稿日期: 2005-11-14

床上应用此方法提供试验及理论依据, 为神经早期康复提供电刺激参数。

1 材料与方法

1.1 材料

健康大耳白兔 18 只, 营养中等, 体重 2—2.5kg, 雌雄不限; 设备: Muler 显微镜、显微外科器械、日立 HT-7500 电镜、经皮神经电刺激仪 (DX2-1 多形波治疗仪)、Keypoint 肌电诱发电位机。

1.2 方法

1.2.1 模型制备: 术前备皮, 2% 硫贲妥钠 (15mg/kg) 腹腔注射, 动物俯卧固定于兔台上, 0.5% 利多卡因作局麻, 取双侧股后外侧中下 1/3 纵切口, 显露坐骨神经及分出胫神经和腓总神经处, 膝关节上 2cm 处切断腓总神经, 近端切除 0.5cm 并结扎, 埋于股二头肌中, 于腓总神经远端水平, 在胫神经上纵行切开外膜 0.5cm, 切开腓总神经外膜长 0.5cm, 相邻神经束外膜缝合, 缝合切口。

1.2.2 判断标准: 模型制备后, 术中刺激腓总神经近端无肌肉收缩, 术后展趾反射消失 (在将动物提离地面的瞬间, 正常时可充分展趾)。

1.2.3 治疗: 将实验动物肢体分为实验侧与对照侧。实验侧术后第 2 天, 经皮神经电刺激右下肢, 阳极铅板置于右坐骨结节与股骨粗隆之间坐骨神经出骨盆处, 阴极铅板置于同侧胫骨前肌肌腹中部。刺激部位剃毛, 铅板直径约为 0.8cm 的圆片, 两铅板用 8—10 层纱布包裹, 浸透生理盐水后紧贴皮肤固定之, 以免动物皮肤烧伤。①刺激参数: 方波, 波长 0.3ms, 频率 5Hz, 电流峰值 3—10mA。②刺激时间: 每日 1 次, 每次 30min。左后肢不给予电刺激。

1.2.4 实验动物分组: A 组 (术后电刺激 3 周), B 组 (术后电刺激 6 周), C 组 (术后电刺激 16 周); 每组 6 只。

1.2.5 肌电图测定及观察: 神经侧侧吻合各组在各时间点依次切开原手术切口, 显露吻合口处, 用肌电诱发电位机测定吻合口上、下传导速度及多肌肉肌电位。

1.2.6 取材与固定: 依照时间点, 将神经吻合口处为手术切入点, 显露神经吻合处, 观察粘连情况, 切除神经外膜粘连组织, 将吻合处坐骨神经、胫神经及腓总神经固定一平面, 保留部分吻合口上下神经段, 以便切片在吻合口处和判断神经上下方向。神经吻合处放入 10% 多聚甲醛中固定, 吻合处下方 0.5cm 处切取腓总神经长约 5mm, 放入 4% 多聚甲醛液固定 8h。

1.2.7 将距吻合处下 0.5 长腓总神经坐成 1mm³ 小块, 制作成电镜标本, 用日立 H7500 型透射电子显微镜照相, 加速电压 80kV, 观察雪旺氏细胞显微结构。

1.3 统计学分析

全部结果用均值±标准差表示, 采用 SAS 6.12 统计软件, 实验侧和对照侧之间同一时间点的比较采用配对 *t* 检验, 标准水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 大体观察结果

动物术后全部存活, 术后双侧展趾反射立即消失, 双侧足背后趾有散在性皮肤破溃; 术后 3 周起逐渐干燥结痂, A、B 组动物展趾反射未恢复, C 组实验侧展趾反射恢复较好, C 组结果: 实验侧 3 肢明显, 2 肢弱, 1 肢无, 对照侧 1 肢明显, 3 肢弱, 2 肢无。

2.2 神经肌电检测结果

神经侧侧缝合术后 16 周, 检测 C 组动物实验侧和对照侧腓总神经的运动传导速度, 实验侧神经传导速度优于对照侧, 两者比较差异有显著性意义 ($P<0.05$)。实验侧肌肉复合电位 (composite muscle action potential, CMAP) 振幅均优于对照侧, 两者比较差异有显著性意义 ($P<0.05$), 见表 1。

2.3 电镜观察

A 组实验侧雪旺氏细胞增生活跃, 可见到新生轴突散在薄而不完整的髓鞘, 对照侧无明显髓鞘形成。B 组实验侧神经轴突结构发育良好, 神经中丝、微管与线粒体较丰富, 部分髓鞘形成同心圆板层结构; 对照侧亦可见到新生轴突与髓鞘, 但结构发育欠佳 (图 1)。C 组实验侧形成同心圆板层结构, 髓鞘厚度接近正常; 对照侧有明显的神经束结构, 神经中丝、微管与线粒体较少, 髓鞘薄。

2.4 腓总神经有髓纤维计数结果

神经侧侧缝合后 3、6、16 周切断各组标本, 距吻合口处下方 5mm, 计数腓总神经中再生有髓纤维数目, 实验侧均多于对照组, 两者差异有显著性意义 ($P<0.05$), 见表 2。

3 讨论

表 1 C 组两侧腓总神经的运动传导速度及 CMAP 的振幅 ($\bar{x}\pm s$)

侧别	动物数	运动传导速度 (m/s)	CMAP 振幅 (mV)
实验侧	6	40.6±12.49	10.75±1.22
对照侧	6	22.5±7.12	8.28±2.17
<i>t</i> 值		3.16	4.01
<i>P</i> 值		<0.05	<0.05

表 2 各组两侧腓总神经有髓纤维计数比较 ($\bar{x} \pm s$)

侧别	A 组 (n=6)	B 组 (n=6)	C 组 (n=6)
实验侧	42.83±2.64	277.67±23.93	836.83±12.15
对照侧	37.83±3.78	173.33±62.69	790.01±28.36
t 值	3.12	3.23	3.06
P 值	<0.05	<0.05	<0.05

图 1 6 周时对照侧

雪旺氏细胞 (EM×30000)

图 2 6 周时实验侧

雪旺氏细胞 (EM×30000)

3.1 神经侧侧缝合后神经再生的机制

神经侧侧缝合是将损伤神经的远端侧方缝至邻近正常神经侧方, 通过供体神经的侧支发芽使神经再生, 进而获得一定功能恢复^[1], 周围神经损伤后, 远端轴突、髓鞘发生 Waller 氏变性而崩解, 但雪旺细胞却很少坏死, 相反地呈肥大增殖。它们大部分仍存活于神经纤维基膜鞘内, 增殖形成 Bungner 带。不仅受损神经纤维可终末再生, 而且附近未受损神经纤维也可发生轴突再生, 在郎飞氏结处长出轴突侧枝芽 Bungner 带生长, 并且也可能达到靶器官^[2]。Viterbo 等^[3]实验用腓总神经与胫神经端侧吻合后, 通过电生理和组织学证明, 从胫神经发出的侧芽能通过缝合口长入远端腓总神经。本实验通过神经丝蛋白免疫组化可看到神经吻合口周围包绕以纤维组织与神经外膜相连接。而在吻合部供体神经与受体神经直接接触, 其间无明显纤维组织及结缔组织神经膜系统相隔, 文献报道^[1]相一致, 但侧支发芽机制尚不明确, 本实验说明神经侧侧吻合后神经干可通过侧支发芽长入受体神经, 切片上可见到再生神经轴突。虽然此方法受体神经所获的新生神经纤维数量有限, 但已能恢复部分有用功能, 因为受损神经重建其基本有效功能并不要求恢复原有的神经纤维数量, 在动物实验中亦证实一定量的神经纤维即可维持肢体正常的运动、感觉功能^[4]。

3.2 经皮神经电刺激参数和作用时间的选择

考虑到经皮神经电刺激的特点, 我们选择了符合骨骼肌生理收缩频率的脉冲电流。关于刺激强度, 目前倾向于刺激强度是指治疗部位的电流密度或场强, 而不是电流总量。由于电刺激器种类和选择的电

流强度(电流或电压)不同, 以及不同的损伤部位和肢体周径, 无法设定一个固定的刺激强度, 我们以术前刺激同一部位坐骨神经引起肌肉收缩强度为基准, 术后将此刺激强度加大 1—2 倍, 在刺激电流选择上, 直流电场和脉冲电流均能有效促进周围神经生长, 本试验选择电刺激参数: 频率 5Hz, 波长 0.4ms, 电流峰值 8—10mA, 实验结果证实, 该方法设计刺激强度是合适的、确当的。与文献报道强度相一致^[5]。国内沈宁江^[6]通过动物实验证明, 20d 后电刺激对周围神经再生仍有促进作用, 在电刺激 30d 所有电生理指标、形态学指标及神经功能指标呈明显上升趋势。本实验通过电刺激 6 周, 神经恢复电生理、形态学及神经功能指标均呈明显上升趋势。

3.3 经皮神经电刺激对周围神经再生的影响

雪旺氏细胞作为周围神经系统的胶质细胞, 在轴索再生中起着重要的支持作用^[7]。电镜观察 A 组、B 组、C 组腓总神经神经髓鞘由薄而且不完整逐渐到形成厚度接近正常、同心圆板层结构; 雪旺氏细胞逐渐增加、增生活跃, 神经中丝、微管及线粒体明显增加。电刺激促使雪旺氏细胞增殖及髓鞘再形成。实验证明实验侧再生有髓纤维均多于对照组, 两者差异有显著性意义 ($P < 0.05$), 经皮神经电刺激促进有髓神经纤维生长, 神经功能恢复较好^[4]。

参考文献

- [1] 修先伦, 张少诚, 许硕贵, 等. 周围神经侧侧缝合法的实验研究[J]. 中华骨科杂志, 2000, 20(10): 583—585.
- [2] 许小珊. 周围神经的生理及损伤病理. 见: 朱盛修. 周围神经显微修复学[M]. 北京: 科学出版社, 1991. 23—47.
- [3] Viterbo F, Tridade JC, Hoshino K, et al. Two end-to side neurorrhaphies and nerve graft with removal of the epineural sheath: experimental study in rats [J]. Br J Plast Surg, 1994, 47: 75—80.
- [4] 陈亮, 顾玉东, 李大树, 等. 维持肢体正常运动感觉功能所需最少神经根数的实验研究 [J]. 中华手外科杂志, 1998, 14(4): 234—238.
- [5] Chen YS, Hu CL, Hsieh CL, et al. Effects of percutaneous electrical stimulation on peripheral nerve regeneration using silicone rubber chambers [J]. J Biomed Mater Res, 2001, 57: 541—549.
- [6] 沈宁江, 朱家恺. 周围神经损伤与修复的电生理评价[J]. 中华显微外科杂志, 1993, 16(3): 225—227.
- [7] Osawa T. Allogeneic nerve grafts in the rat with special reference to the role of Schwann cell basal laminae in nerve regeneration[J]. J Neurocytol, 1990, 19: 833—849.