

针刺疗法对大鼠坐骨神经损伤后运动终板的影响

佟 帅¹ 王 胜² 孙忠人³ 刘建桥¹

摘要 目的:周围神经损伤后,通过对针刺后运动终板(MEP)组织形态变化的观察,探讨针刺治疗周围神经损伤的机理。方法:将 150 只 Wistar 大鼠按照每批 30 只,共分五个时间点进行造模后随机分为电针组、手针组、模型组,于最后一批造模并针刺治疗 3d 后将全部大鼠处死取材。将术后及针刺治疗 3d、7d、14d、21d、28d 各组腓肠肌运动终板进行电镜观察,并进行横向、纵向比较。结果:术后 3d 各组运动终板形态上无明显区别;术后 7d,模型组运动终板电镜下观察微观形态的变化较电针组及手针组明显,电针组及手针组仍维持一定程度的正常结构;术后 14—28d,各组运动终板开始恢复,电针组恢复较快,至 28d 时已基本恢复如常,手针组的微观结构与电针组无明显差别,但嵴排列上相对紊乱。模型对照组也明显恢复,但微观结构及突触后膜形态的恢复较电针组和手针组差。结论:针刺治疗可以在周围神经损伤后改善 MEP 内的营养物质含量和结构。

关键词 针刺疗法;运动终板;周围神经损伤

中图分类号:R246,R651.3 文献标识码:B 文章编号:1001-1242(2007)-06-0533-02

1 材料与方法

1.1 实验对象

雄性 Wistar 大鼠 150 只,清洁级,体重在 260—290g,一般状态良好。

1.2 模型制备

将大鼠用 10% 乌拉糖(10ml/kg)进行腹腔注射麻醉。俯卧位,四肢固定于鼠架上,常规备皮消毒后,于股骨干中段后方纵行切开约 1cm 的皮肤,钝性剥离股二头肌,暴露坐骨神经。用玻璃棒挑起坐骨神经,将手术钳前端套上无菌滴管进行钳夹,力度为两扣,时间为 5min,损伤宽度为 2mm。取下手术钳后,肉眼见坐骨神经被夹扁,两侧呈半透明状。常规分层缝合肌肉、皮肤、包扎。

1.3 分组情况

将 150 只大鼠按照术后及针刺 3d、7d、14d、21d、28d 5 个时间点随机分为 5 组,每组 30 只;每组又随机分为电针组、手针组、模型对照组 3 个亚组,每个亚组 10 只。

1.4 实验方法

1.4.1 穴位选择^[1]:①环跳:后肢髋关节后上缘;②后三里:膝关节后外侧,在腓骨小头下约 5mm 处。

1.4.2 治疗方案。

电针组:于术后第 2d 给予电针治疗。正极接在近心端,负极接在远心端分别夹在“环跳”、“后三里”处的针柄上,选用疏波,频率 2Hz,强度以局部肢体出现轻微抽动为准,每日 1 次,每次刺激时间为 20min。

手针组:于术后第 2 日给予手针治疗。用 0.25mm×13mm 针灸针在“环跳”与“足三里”处刺入约 8mm 深。针后行捻转补泻法,以后每 10min 捻转 1 次,每次约 2min,捻转频率约为 80 次/分,留针 20min,每日 1 次。

模型对照组:手术后常规饲养,不给予任何治疗。

1.5 取材方法

于第 1 次造模 28d 后,全部动物断头处死;另取 10 只正常大鼠作为空白对照组。将大鼠进行坐骨神经取材后,在其小腿后外侧纵向切开皮肤,充分暴露腓肠肌。钝性剥开腓肠

肌找到腓总神经。沿腓总神经深支纵向剥离腓肠肌,在腓神经分支较多处截取一段肌组织(相当于腓肠肌外侧肌腹中 1/3)。按照电镜要求进行组织修块,放入 3% 戊二醛磷酸缓冲液中固定,其余步骤同电镜标本制作。半薄定位找到位于肌纤维中的神经束后,进行超薄切片(0.05μm),于电镜下观察。

2 结果

正常的运动终板(motor end plate, MEP)球形终末清晰,内含多个线粒体和突触小泡。终末外有雪旺细胞胞质包裹,运动终板处的肌质膜反复折叠成明显的深沟,所含的糖蛋白物质与肌细胞表面的基板以及雪旺细胞表面的基板相连,肌细胞的突触后部含较多的线粒体和糖原颗粒(图 1,见前置彩色插页 11)。

术后 3d,各组镜下观察结果形态上无明显区别。骨骼肌切面可见肌节排列规则,各带明显,肌丝间含有丰富的糖原颗粒,线粒体嵴清晰,有少量的脂滴,运动终板清晰可见,球形终末内突触小泡明显减少,微丝微管等稀疏(图 2—4,见前置彩色插页 11)。

术后 7d,模型组运动终板的底板内糖元明显减少,线粒体呈空泡变,肌细胞核染色质边集,基质电子密度降低,球形终末内可见空泡变的线粒体和一些结构不清的小泡。对照组的突触后膜结构较松散(图 5—7,见前置彩色插页 11)。

术后 14d,电针组神经终末略显膨大,线粒体数量增多,微丝微管等物质较前几组亦增多,突触小泡清晰可见,核糖体、线粒体等细胞器明显增多。模型组较术后 7d 时突触后膜的折叠间距变小(图 8—10,见前置彩色插页 11)。

术后 21d,各组均有较明显的好转,线粒体、核糖体、突触小泡清晰可见,电针组球形终末膨大,且可见到两个或以上

1 北京海淀医院针灸科,北京市海淀区,100080

2 解放军第 255 医院中医康复中心,河北省唐山市,063000

3 黑龙江省中医药大学附属二院神经内科,哈尔滨市,150001

作者简介:佟帅,男,主治医师

收稿日期:2006-08-09

的球形终末重叠,模型组在该阶段恢复较快,突触小泡及微丝、微管等营养物质数量明显较前几组增多(图 11—13,见前置彩色插页 11)。

术后 28d,电针组的运动终板基本已恢复如常,轴突内微丝微管密集,球形终末可见到数量较多的突触小泡,突触后膜反复折叠形成复杂的裂隙系统,突触后的肌质内含丰富的线粒体、糖元颗粒、微管和肌细胞核。手针组的线粒体、微丝、微管等结构电镜下观察与电针组无明显差别,但嵴略显细小且排列上相对紊乱。对照组的球形终末内也含有数量较多的微丝微管和突触小泡等结构,线粒体呈椭圆形,嵴清晰,但更显细小及排列紊乱,突触后膜的折叠间距与电针组 and 手针组对照较大且浅(图片 14—16,见前置彩色插页 11)。

3 讨论

周围神经损伤后肢体功能的恢复与神经损伤性质、程度、部位等诸多因素有关,而肌肉组织与运动终板的状况无疑是重要因素^[2-3]。运动终板的形态和功能状态直接影响肌肉的功能,肌肉去神经支配后,运动终板发生相应的变化^[4]。马建等^[5]的研究结果表明,对腓神经损伤后运用电针、推拿、红外线治疗,观察运动终板的变化,电针、推拿组的运动终板失神经变性镜下表现出来的少,神经末梢和运动终板形成及恢复亦早于其他组。

囊泡和微丝、微管等营养物质均由神经胞体合成,通过轴浆运输至末梢。轴浆的浓度直接影响囊泡的释放,亦即轴浆的浓度稀有利于囊泡的释放^[6]。我们认为针刺可以改善局部血液供应,加强代谢物的转运,减轻炎症病变引起的功能减退,能在一定程度上促进轴突再生修复,降低轴浆浓度,利于囊泡释放乙酰胆碱,从而刺激骨骼肌运动。另外,每个囊泡含有的乙酰胆碱的量是恒定的,而囊泡的数量是可以变化的,那么针刺是否可以刺激胞体产生数量较多的囊泡呢? Miledi^[6]认为在神经轴突损伤后,终板变性与损伤远侧轴突内一些物质浓度有关。当这些物质浓度降低超过一定阈值后。终板则发生变性。而在正常的神经组织,这些物质可由胞体不断的合成运输到轴突。这些“营养”物质被运输到终末的速度与其被消耗的平衡状态,决定终末发生变性的时间。

本实验观察结果与徐建广^[7]的运动终板在失神经支配 4 周后才开始发生变化有所不同,但与江华^[8]、王树森^[9]等的结果相似,即运动终板在周围神经损伤后一周开始出现明显变化。我们观察到,术后 3d 各组运动终板清晰可见,球形终末内突触小泡明显减少,微丝、微管等成份略稀疏,突触后膜结构基本正常,说明该时期坐骨神经受夹损后出现水肿,影响了轴浆的运输。术后 7d,对照组运动终板变化较大,突触后膜结构较松散,球形终末内仅可见到一些结构不清的小泡,结合该时期的光电镜观察,说明此时轴突正处于病变高峰,而针刺组此时突触小泡较对照组多,说明针刺在坐骨神经损伤后 7d 时就明显显现出促进神经修复的作用。术后 14d 时,电

针组的突触小泡数量多,突触后膜的折叠明显较对照组致密、整齐,说明电针组的坐骨神经恢复较快,这与针刺能促进损伤坐骨神经水肿消退,增加局部血液供应,加强代谢有关系。术后 21d 时,模型组进展较快,由于本实验对大鼠坐骨神经采取的是钳夹损伤而非横断损伤,模型组在该时期的恢复符合周围神经损伤自我修复的规律;电针组此时球形终末膨大,且可见到重叠现象,这可能有两种情况:一种是代偿性的膨大;另一种可能是新生的神经纤维末梢介入。至术后 28d 时,电针组的运动终板已基本恢复,与正常对照组电镜下观察形态基本相近。模型组恢复亦较好,微丝微管和突触小泡等结构增多,线粒体功能旺盛,但仍可看到突触后膜的折叠间距与电针组相比较大且浅。Keilhoff^[10]等认为运动终板的质量与数量的改变依靠去神经支配的时间;徐建广^[7]等的研究结果显示周围神经损伤后 16 周难以观察到形态完整的运动终板。因此,在周围神经损伤后,予以相应的治疗越早对肢体功能的恢复效果越好,为针刺早期介入周围神经损伤的治疗提供了一定的依据。

4 结论

针刺能在周围神经损伤后改善 MEP 内的营养物质含量和结构,从而最终达到治疗周围神经损伤、恢复功能的目的。

参考文献

- [1] 林文注. 实验针灸学[M]. 上海:上海科技出版社,1994.6.
- [2] Mountcasti VB. Medical Physiology [M]. 4th ed. New York:CV Mosby Company,1980. 236—241.
- [3] 邵国喜,王明礼,杨震宇.骨髓肌桥接与神经移植对大鼠周围神经缺损的修复作用[J]. 吉林大学学报(医学版),2005,31(4):530—532.
- [4] Morales J,Rama J,Gayoso M.Some aspects of the nerve endings and synapses in the vocalis muscle [J].J Laryngol Otol,1980,94(9):1047—1063.
- [5] 马建,唐启华,郭容经.电针、推拿对周围神经损伤后神经末梢及运动终板形态的影响[J].中国运动医学杂志,1997,16(1):22.
- [6] Miledi R, Slater CR. On the degeneration of rat neuromuscular junctions after nerve section[J]. Physiol, 1970, 207(2):507—528.
- [7] 徐建广,顾玉东.大鼠失神经支配骨骼肌萎缩的实验研究[J].中华实验外科杂志,2004,21(1):57—58.
- [8] 江华,刘安堂,张盈帆,等.吻合血管神经的肌肉游离移植后运动终板形态的演变[J].中华显微外科杂志,2005,28(3):235—238
- [9] 王树森,黄耀添,褚晓朝,等.大鼠坐骨神经损伤后降钙素基因相关肽与运动终板的关系 [J]. 中国显微外科杂志,1997,120(4):270—272.
- [10] Keilhoff G,Fansa H.Successful intramuscular neurotization is dependent on the denervation period.A histomorphological study of the gracilis muscle in rats [J].Muscle Nerve,2005,31(2):221—228.