

·基础研究·

## 三七促进大鼠坐骨神经损伤修复的实验研究<sup>\*</sup>

申小年<sup>1</sup> 宋媛媛<sup>1</sup> 盛红<sup>1</sup> 代馨<sup>1</sup> 赵忠<sup>1</sup> 吴兆国<sup>1</sup>

### 摘要

**目的:** 本实验观察 SD 大鼠坐骨神经完全切断再植后, 中药三七对大鼠自噬行为和神经修复的影响。

**方法:** 将 20 只完全切断坐骨神经吻合术后大鼠随机分成中药组和空白对照组(10 只/组), 分别观察 6 周内损伤侧足趾自噬情况。于术后第 6 周、第 10 周用肌电图仪电刺激大鼠的坐骨神经远、近端, 在腓肠肌肌腹部记录复合肌肉动作电位与运动神经传导速度, 并与健侧对照。

**结果:** ①三七组的大鼠自噬脚趾评分较低, 与对照组比较差异有显著性意义( $P<0.05$ )。②三七组动物损伤侧神经传导检测, 复合肌肉动作电位波幅在 10 周时上升( $P<0.05$ ), 优于对照组, 差异有显著性意义。

**结论:** 三七能够显著地减轻神经病理性疼痛, 抑制大鼠的自噬行为, 对周围神经再生的影响是有益的。

**关键词** 三七; 神经再植; 自噬; 运动神经传导速度

**中图分类号:** R745, R49

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1001-1242(2010)-09-0842-03

An experimental study on the effect of notoginseng on repairing of rat's sciatic nerve injury / SHEN Xiaoni-an, SONG Yuanyuan, SHENG Hong, et al. // Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2010, 25 (9): 842—844

### Abstract

**Objective:** To observe the effect of notoginseng on autophagy behavior and repairing of rat's sciatic nerve after complete transection and anastomosis.

**Method:** Twenty SD rats were used. The right sciatic nerves of rats were transected at the site on sciatic notch and anastomosed immediately, then randomly divided into two groups: notoginseng group and control group. The right toes autophagy behavior was observed. Electric stimulation was performed at the distal and proximal parts of sciatic nerve trunks; compound muscle action potential(CMAP) and motor nerve conduction velocity(MCV) were detected at the 6th week and 10th week after operation, and compared with the unaffected control.

**Result:** The autophagy behavior of right toes was lighter in notoginseng group than that in control group. The amplitude of CMAP in notoginseng group was higher than that in control group.

**Conclusion:** Notoginseng can remarkably alleviate neuropathy ache and inhibit autophagy behavior. It can also contribute to peripheral nerve regeneration after reimplantation.

**Author's address** Anhui College of Traditional Chinese Medicine, 241000

**Key words** notoginseng; nerve reimplantation; autophagy; motor nerve conduction velocity

三七(notoginseng)为五加科人参属植物的根, 具滋补强壮、止血、活血化瘀、消肿止痛的功效。药理研究发现中药三七中提取的有效成分三七总皂甙(panax notoginseng saponins, PNS)有明显的抗炎镇

痛作用<sup>[1]</sup>, 而且其价格相对低廉, 属于经济实用、有开发前景的药物。三七对神经损伤影响的实验研究较少, 针对这种情况, 本研究观察三七对大鼠坐骨神经吻合术后神经损伤的影响。

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2010.09.006

<sup>\*</sup> 基金项目: 2008 年度安徽省级自然科学基金项目(KJ2008B316)

1 安徽中医药高等专科学校医疗系, 芜湖, 241000

作者简介: 申小年, 女, 讲师, 主治医师; 收稿日期: 2010-05-12

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

健康雄性 SD 大鼠 20 只(SPF 级实验动物,封闭群),体重(250±20)g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供(许可证编号:SCXK 京 2007-0001)。所有大鼠均严格按照国家部属实验动物管理委员会制定的实验动物环境条件标准进行饲养,动物房温度(22±0.5)℃,湿度 40%—50%,光照时间为 8:00—17:00,大鼠可自由获取食物和水。所有动物入室饲养一周,适应环境后开始试验。

### 1.2 实验流程

**1.2.1 建立坐骨神经吻合术后模型。**动物麻醉均采用 10%水合氯醛,按 0.35ml/100g 的剂量腹腔注射;麻醉过程中,维持室温在(22±0.5)℃。大鼠麻醉后,仰卧固定于手术平台(30cm×15cm),右股后外侧切开皮肤约 2.0cm,用止血钳钝性分离股二头肌及半腱肌,暴露右侧坐骨神经,滴少量生理盐水保持局部湿润。坐骨神经完全切断后,在手术显微镜下,用 10 个 0 的微创缝合线进行神经吻合,缝合伤口。以 0.2ml 庆大霉素肌肉注射预防感染。5 只一笼饲养。随机分成空白对照组、三七组,每组 10 只。三七粉购自北京宣武医院中药房(北京卫人中药饮片厂),大鼠给予 1.2g/kg 体重的剂量(成人用药最大剂量的 7—10 倍)。中药配成混悬液每日灌胃一次。

**1.2.2 大鼠自噬。**坐骨神经完全切断再植术后,观察大鼠的自噬脚趾情况。以自噬一个脚趾一节为 1 分。每组总计 10 只脚,以第 2—第 5 脚趾为自噬目标,共 40 个脚趾,自噬以后的脚趾不再记录于下一周的统计总量中。

**1.2.3 复合肌肉动作电位与运动神经传导检测。**用直径约 0.5mm 的银制记录电极置于大鼠的小腿三头肌的肌腹上,参考电极放在跟腱上,其间距离 1—2cm。坐骨神经远端刺激电极负极置于腘窝下缘,正极置于腘窝上缘,其间距离 1—2cm。坐骨神经近端刺激电极负极置于臀大肌处,正极置于脊柱旁,其间距离 1—2cm。

检测在安静、恒温的屏蔽室内进行,应用意大利 Micromed 公司产的 Davinci 肌电图仪(型号:ISA1004EP),多道生理信号采集处理系统记录复合肌肉动作电位(compound muscle action potential,

CMAP)运动神经传导速度(motor nerve conduction velocity, MCV),微机储存处理数据。平均叠加 20 次。

### 1.3 统计学分析

自噬脚趾的数量进行  $\chi^2$  检验;采用 SPSS 17.0 软件包,实验数据用均数±标准差表示,两组间比较采用 *t* 检验,检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 大鼠自噬脚趾

大鼠自噬脚趾情况见表 1。空白组右侧和三七组右侧卡方检验:第 2 周时, $T$  值 14.18, $P<0.05$ ,差异有显著性意义;第 3 周时, $T$  值 4.47, $P<0.05$ ,差异有显著性意义;第 4 周时, $T$  值 0.78, $P>0.05$ ,差异无显著性意义;第 5 周时, $T$  值 2.86, $P>0.05$ ,差异无显著性意义;合计, $T$  值 4.44, $P<0.05$ ,差异有显著性意义。认为三七粉组与空白组比较大鼠自噬明显减轻。

### 2.2 运动神经传导检测

成模后 6 周时,三七组和空白组的远端 CMAP 波幅比较配对样本 *t* 检验, $P>0.05$ ,差异无显著性意义;成模后 10 周时,三七组和空白组的远端 CMAP 波幅比较差异有显著性意义( $P<0.05$ )。见表 2。

表 1 大鼠自噬脚趾的分数 (分)

| 术后周次 | 1 | 2  | 3 | 4 | 5 | 6 | 合计 |
|------|---|----|---|---|---|---|----|
| 空白组  | 0 | 12 | 3 | 1 | 0 | 0 | 16 |
| 三七组  | 0 | 0  | 0 | 4 | 4 | 0 | 8  |

表 2 成模后右侧(再植侧)运动神经传导波幅 ( $\bar{x}\pm s, \mu V$ )

| 组别  | 6 周时      |           | 10 周时      |            |
|-----|-----------|-----------|------------|------------|
|     | 近端        | 远端        | 近端         | 远端         |
| 空白组 | 4.51±2.78 | 5.61±3.15 | 16.97±4.02 | 15.78±3.82 |
| 三七组 | 5.39±2.51 | 8.59±3.45 | 16.74±4.33 | 19.50±1.87 |

## 3 讨论

病理性疼痛分为伤害感受性疼痛和神经病理性疼痛,两者共同参与了术后疼痛的发生。伤害感受性疼痛发生早,从术后几小时就开始,神经病理性疼痛发生晚,术后第 7 天才开始作用,持续时间长<sup>[2]</sup>。神经损伤的疼痛带有自发性、随机性和持久性。久而久之则形成痛觉过敏和痛觉超敏,即使是弱的伤害刺激也可引起长时间的剧烈疼痛。神经损伤区本身具有自发放电,传入异常神经冲动的功能。谢益宽<sup>[3]</sup>等研

究发现神经损伤后神经纤维的兴奋性明显提高,轻微的机械触压、温度变化的刺激可促使损伤区产生大量和持久的自发放电。在离损伤区不同水平的切割实验表明,切断损伤区的外周端、远离此区的中枢端都不影响自发放电,切掉损伤区,放电戛然而止。

但是,现代研究认为疼痛的原因是在脊髓水平,疼痛的机制在于周围神经损伤后导致二级神经元的中枢致敏,神经递质和神经肽表达改变,非调节的抑制神经元和调节下行通路功能下降,并且在背侧角主要的初级传入投射解剖和功能重组<sup>[4-6]</sup>。当外周神经系统受损伤后,初级传入神经末梢释放的物质(SP、降钙素基因相关肽、ATP、EAA)使星形胶质细胞被激活,发生增生、肥大,同时释放多种神经活性物质(IL-1、IL-6、TNF $\alpha$ 、NO、EAA、NGF)等<sup>[7]</sup>,反过来,这些物质通过提高初级传入神经释放 SP、EAA 来调节疼痛,形成正反馈回路。突触信息传递效能的增强即长时程增强效应(long-term potentiation, LTP)被认为反映了突触水平的记忆过程<sup>[8-9]</sup>,有实验显示一些损害学习记忆的因素可减低或阻断 LTP 的形成,而易化 LTP 的因素或药物能提高动物的学习记忆能力,故 LTP 被公认为是学习和记忆的神经生物学基础<sup>[10-11]</sup>。

在神经再生过程中雪旺细胞核基底膜结构至关重要,能够清除再生中碎裂溶解的轴索与髓鞘。分泌多种活性物质诱导和刺激轴突再生<sup>[12]</sup>。在实验过程中,大鼠的自噬高峰期是在术后第 3 周左右,这可能是由于再植坐骨神经的多个出芽轴突自发放电增加,得到远端效应器回应的优势轴突才能够存活下来,没有得到远端效应器回应的劣势轴突芽开始凋亡,放电达到最高峰。我们发现三七粉灌胃的大鼠第 2 周、第 2 周时自噬情况明显减轻( $P<0.05$ ),与空白对照组比较差异有显著性意义,说明三七粉有抑制坐骨神经吻合术后大鼠自噬的作用。可能是抑制了大鼠的自发放电,减轻了神经病理性疼痛的传入。研究认为 PNS 对缺血再灌注损伤后海马神经元的凋亡过程具有抑制作用,这种作用可能与其能降低细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度有关。作用机制可能是阻断  $\text{Ca}^{2+}$  内流和/或胞内钙库的释放,抑制神经细胞内钙超载<sup>[13]</sup>。并且 PNS 易化和促进 LTP 的效应与用药剂量有很大关系。因为 LTP 的形成与神经细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度升

高有关,而 PNS 中有的单体成分具有钙拮抗作用<sup>[14]</sup>。周燕等研究认为 PNS 对兴奋性突触传递直接产生抑制,明显升高 P2/P1 值,说明 PNS 是通过突触前机制抑制 CA1 区兴奋性突触传递<sup>[15]</sup>。同时三七皂苷单体 Rb1 单体通过抑制胞浆型磷脂酶 A2 及相关蛋白的表达,减轻大鼠脑缺血再灌注损伤后的脑细胞凋亡<sup>[16]</sup>。这可能是三七粉对早期神经瘤、神经切断后局部轴浆运输、离子的堆积和(或)感觉缺失性疼痛等有一定的抑制作用的原因。1997 年,Eriksson 等<sup>[17]</sup>发现烟胺吡啶能够显著抑制神经损伤后疼痛,但是由于烟胺吡啶的临床副作用较大,所以后续研究不是很清楚。三七作为一种中成药,具有水溶性高、毒副作用极低的特点,可有效地改善损伤神经功能、抑制神经病理性疼痛、显示出该药具有潜在的开发应用前景。

在运动神经传导的检测中,CMAP 的波幅通常是指从基线到负向波波峰间的距离,反映了参与 MCAP 的肌纤维数量。在运动神经传导检查中最常见、最重要的异常就是波幅明显降低。神经传导检测 CMAP 波幅比较,在 6 周时波幅比较  $P$  值为 0.06,在 10 周时  $P$  值是 0.016,差异有显著性意义。说明三七粉对神经再生的影响是积极的。

本实验结果表明:三七能减轻神经损伤后神经病理性疼痛的传入,抑制坐骨神经吻合术后大鼠的自噬行为;对神经再植后再生的影响是积极的。三七对神经损伤影响的药理作用机制尚有待于进一步的实验研究。

## 参考文献

- [1] 姚茹冰,郭郡浩,赵智明,等.三七总皂甙对佐剂性关节炎大鼠腹腔巨噬细胞产生炎性细胞因子的影响[J].中国微循环,2007,11(5):330—333.
- [2] 朱雅斌,石翎飒,丁力,等.病理性疼痛对老年雄性大鼠海马细胞凋亡和胆碱乙酰转移酶的影响[J].中国康复医学,2009,4(24):348—351.
- [3] 谢益宽,肖文华.神经损伤引起痛觉过敏和感觉异常的研究[J].生理科学,1998,8(5):333—334.
- [4] Campbell JN, Meyer RA. Mechanisms of neuropathic pain[J]. Neuron.2006,52, 77—92.
- [5] Navarro X, Vivó M, Valero-Cabré A. Neural plasticity after peripheral nerve injury and regeneration [J]. Prog Neurobiol, 2007, 82(4):163—201.
- [6] Sah DW, Ossipo MH, Porreca F. Neurotrophic factors as novel therapeutics for neuropathic pain [J]. Nat Rev Drug Discov, 2003, 2(6):460—472.

(下转第853页)