

推拿联合跑台训练对大鼠坐骨神经吻合术后雪旺细胞及相关神经因子影响的研究

王春红¹, 严隽陶¹, 马书杰², 陆永嘉¹, 陶然¹, 马颖¹, 史智君¹, 孔亚敏¹

1. 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院, 上海 200437; 2. 上海中医药大学康复医学院, 上海 201315

[摘要] 目的: 探讨推拿手法联合跑台训练对失神经大鼠立即行神经外膜吻合术后神经再生的作用。方法: 80 只大鼠随机分为治疗组和模型组, 各 40 只; 对治疗组大鼠给予推拿手法-跑台训练干预 1 个月、2 个月、3 个月和 4 个月 (1M、2M、3M 和 4M) 4 个干预时长, 模型组不做干预。结果: 与模型组比较, 治疗组大鼠的神经传导速度、神经生长因子 (Nerve growth factor, NGF) 均较高 ($P < 0.01$), 而雪旺细胞无显著差异 ($P > 0.05$)。与 1M 时比较, 治疗组和模型组 4M 时大鼠的神经传导速度均较高; 模型组 4M 时大鼠的 NGF 较高, 治疗组 3M、4M 时大鼠的 NGF 均较高; 治疗组和模型组大鼠的雪旺细胞在 3M、4M 时均较高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论: 推拿联合跑台训练能够促进 NGF 的表达, 进而促进坐骨神经吻合术后大鼠神经的再生。

[关键词] 推拿; 跑台训练; 神经外膜吻合术; 神经再生; 动物实验; 大鼠

[中图分类号] R244.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2018) 10-0006-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2018.10.002

Effects of Tuina Combined with Treadmill Training on Schwann Cells and Related Neurotrophic Factors after Sciatic Nerve Anastomosis in Rats

WANG Chunhong, YAN Juntao, MA Shujie, LU Yongjia,
TAO Ran, MA Ying, SHI Zhijun, KONG Yamin

Abstract: **Objective:** To explore the effect of tuina combined with treadmill training on nerve regeneration in denervated rats which received epineurium anastomosis immediately. **Methods:** Divided 80 rats into the treatment group and the model group randomly, 40 rats in each group. The treatment group was given the a total of four different intervention duration of tuina-treadmill training for one, two, three and four months (1M, 2M, 3M and 4M), while the model group was not given the intervention. **Results:** Compared with the model group, the nerve conduction velocity and NGF of rats in the treatment group were higher ($P < 0.01$), but there was no significant difference being found in Schwann cells ($P > 0.05$). Compared with 1M, the nerve conduction velocity of the rats at 4M in the treatment group and the model group were higher; the NGF of the rats at 4M in the model group was higher, and the NGF at 3M and 4M in the treatment group were higher; the Schwann cells at 3M and 4M in the treatment group and the model group were higher, difference being significant ($P < 0.05$). **Conclusion:** The application of tuina combined with treadmill training can promote the expression of NGF and then improve the regeneration of nerves in rats after sciatic nerve anastomosis.

Keywords: Tuina; Treadmill training; Epineurium anastomosis; Nerve regeneration; Animal experiment; Rats

周围神经损伤是临床上棘手的难题, 尽管显微外科可以将神经外膜精密吻合, 但手术之后的功能恢复并不理想^[1-2], 推拿联合主动运动是临床常用的术后康复锻炼方法^[3-4], 但其疗效及作用机制并未明确, 本实验旨在探索推拿联合跑台训练对大鼠神经吻合术后神经再生的作用机理, 以期为临床治疗方案提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 雄性 SD 大鼠 80 只, 体质量 180 ~ 200 g, 生产许可证号: SCXK(沪)2015-0008, 用于建立坐骨神经即时缝合模型。

1.2 主要仪器及试剂 采用 YLS-15A 大鼠轮转式跑步机; 按摩仪(与复旦大学合作研制出的 1 台模拟人手握法的仪器); 电

[收稿日期] 2018-03-12

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目 (81373764)

[作者简介] 王春红 (1988-), 女, 住院医师, 研究方向: 传统康复。

[通信作者] 严隽陶, E-mail: doctoryjt@sohu.com。

子天平(上海天平仪器厂);显微镜(OLYMPUS 公司 CX41);水合氯醛(奥鑫助剂厂 C0073)。

1.3 造模及分组 80 只大鼠分别以 10%水合氯醛 30 mg/kg 做腹腔注射麻醉,无菌条件下行臀部切口,于臀肌间显露右侧坐骨神经,距梨状肌下缘 1 cm 处切断坐骨神经,立即在外科显微镜下用 11/0 缝合线行外膜缝合,关闭伤口,其中 40 只于术后 3 周后行推拿手法治疗为治疗组,另 40 只为模型组。

1.4 干预方法 ①推拿手法(捏法):采用与复旦大学合作研制出的 1 台模拟人手捏法的按摩仪器,按摩头为 1 环形充气气囊,由按摩仪主机控制其参数,气囊绑缚在大鼠患侧小腿,对腓肠肌进行按摩。手法刺激参数为 6 kpa,刺激 2 min,休息 1 min,再刺激 2 min,每次总共 5 min。手法干预每天 1 次。②跑台训练:采用 YLS-15A 大鼠轮转式跑步机,转速为 5 转/min,每转 0.65 m,持续 5 min。每天训练 1 次,均在手法干预结束后进行。

1.5 检测指标 各组大鼠治疗后 1、2、3、4 个月分别选取 10 只麻醉后,采用 RM-6240BD 四通道生理记录仪,采集频率 100 kHz,扫描速度 0.8 ms/格,灵敏度 4 mV,时间常数 0.2 s;频波频率 100 Hz,刺激电压 1 V,波宽 0.1 ms。将刺激电极置于坐骨结节下方神经两侧,两对记录电极分别置于腓窝处和跟腱处神经两侧,底线位于刺激电极和腓窝处记录电极之间。神经传导速度为两对记录电极的距离与动作电位出现的时间差的比值。随后,切取神经样本包埋并固定,免疫组化染色后,采集分析样本相关部位,计算阳性细胞数。进行统计分析。

1.6 统计学方法 采用 SPSS21.0 软件进行数据分析与处理,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 2×4 析因设计 A 因素:不同干预手法(治疗组和模型组);B 因素:1 个月、2 个月、3 个月和 4 个月(1M、2M、3M 和 4M)4 个干预时长。所有统计检验以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠神经传导速度变化结果比较 见表 1、图 1。与模型组比较,治疗组在相同干预时长 1M、2M、3M、4M 时大鼠的神经传导速度均较高,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。与 1M 比较,治疗组和模型组 4M 时大鼠的神经传导速度均较高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 各组大鼠神经生长因子 (Nerve growth factor, NGF) 变化结果比较 见表 2、图 2。与模型组比较,治疗组在干预时长为 1M、2M、3M、4M 时大鼠的 NGF 较高,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。与 1M 比较,模型组 4M 时大鼠的 NGF 较高,差异均有统计学意义($P < 0.05$);治疗组 3M、4M 时大鼠的 NGF 均较高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 各组大鼠雪旺细胞变化结果比较 见表 3、图 3。与模型组比较,治疗组在 1M、2M、3M、4M 时大鼠的雪旺细胞差异无统计学意义($P > 0.05$)。与 1M 比较,治疗组和模型组大鼠的雪旺细胞在 3M、4M 时均较高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 各组大鼠神经传导速度变化结果比较($\bar{x} \pm s$) m/s

组别	n	1M	2M	3M	4M
模型组	40	15.68±5.94	13.60±2.36	19.96±1.10	46.17±17.97 ^②
治疗组	40	32.20±4.15 ^①	31.96±7.82 ^①	26.14±5.19 ^①	57.15±20.78 ^{①②}

与模型组比较,① $P < 0.01$;与同组 1M 比较,② $P < 0.05$

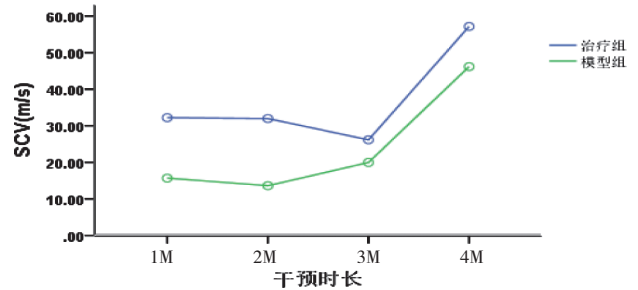


图 1 各组大鼠神经传导速度数值变化结果比较

表 2 各组 NGF 变化结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	1M	2M	3M	4M
模型组	40	591.00±81.51	672.12±29.11	662.90±114.93	736.40±114.93 ^②
治疗组	40	639.90±75.69 ^①	681.00±29.59 ^①	868.60±102.53 ^{①②}	829.25±143.66 ^{①②}

与模型组比较,① $P < 0.01$;与同组 1M 比较,② $P < 0.05$

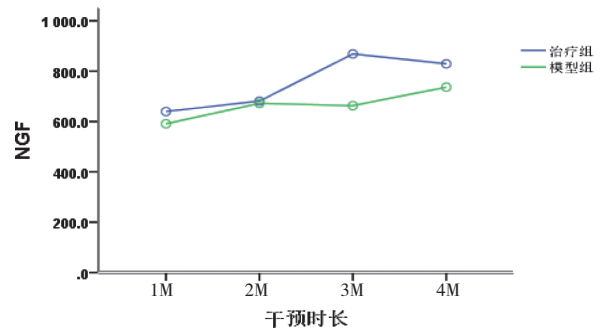


图 2 各组大鼠 NGF 数值变化结果

表 3 各组大鼠雪旺细胞变化结果比较($\bar{x} \pm s$) 个

组别	n	1M	2M	3M	4M
模型组	40	48.00±21.54	55.75±18.28	77.70±20.38 ^②	82.80±24.96 ^②
治疗组	40	37.60±16.07 ^①	52.25±14.53 ^①	89.80±19.58 ^{①②}	98.66±21.73 ^{①②}

与模型组比较,① $P > 0.05$;与同组 1M 比较,② $P < 0.05$

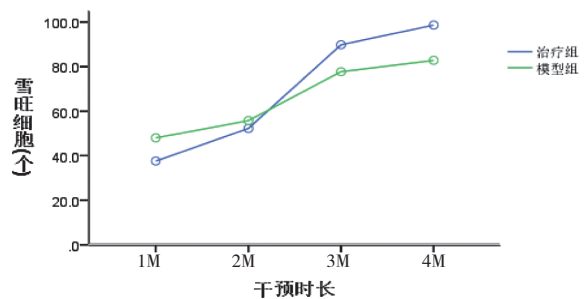


图 3 各组大鼠雪旺细胞变化结果比较

3 讨论

神经传导速度受神经电缆特性的影响,即膜电容和内阻愈高,传导速度越慢。坐骨神经损伤后,远端基底膜管内充满坏死的髓鞘和神经纤维组织,内阻增高增大,神经传导速度减慢^[5]。神经传导速度是神经冲动传导速度的直接表现,传导速度的快慢能在一定程度上反映出神经纤维的再生情况^[6],本实验干预时长为 1M、2M、3M 时治疗组的神经传导速度均明显高于模型组,说明推拿联合跑台训练可以明显提升神经传导速度,促进神经再生。

NGF 是一类能介导神经元生存和诱导神经突生长的化学物质,主要来源于雪旺细胞和感觉神经分布密集的组织。其在神经细胞的发育、损伤修复过程中均起到重要作用,正常状态可保持神经细胞的存活、生长、分化,损伤状态可诱导神经细胞的再生。正常情况下,成年人坐骨神经中 NGF 水平很低。一旦神经受到损伤后,NGF 水平迅速上升^[7],推拿手法联合跑台训练在 1M、2M 时未能明显提高 NGF 的表达,但在治疗至 3M 时 NGF 的表达明显高于模型组,提示推拿手法联合跑台训练促进了 NGF 的表达与分泌,为神经轴突再生提供适宜的微环境。4M 时两组间无明显差异,可能是在损伤神经修复成功后,神经轴突重新与组织建立支配关系,损伤部位的雪旺细胞回到静止状态^[8],不再继续表达 NGF 所致。

雪旺细胞在周围神经损伤后的再生中起重要作用,它可以清除变性崩解物,表达促进轴突生长的多种营养因子,对轴突起黏附趋化作用等,在神经断裂后 24 h,雪旺细胞开始分裂、增殖、清除变性碎屑,变性产生的髓鞘降解物等可以促进变性初期雪旺细胞的迁移和增殖^[9]。本实验发现 2 组间雪旺细胞无明显差异,可能是神经损伤后迅速增殖的雪旺细胞,一方面与巨噬细胞共同吞噬解体的轴突和髓鞘,一方面在基膜管内排列成细胞索,形成 Bungner 带。大量实验证明,Bungner 带-基底膜结构是神经再生理想的微环境^[10]。这一结构在神经损伤 2、3 周后便形成。本实验治疗时间最短为 1 个月,并且造模成功后修养 21 天才开始治疗。靠近断口处的雪旺细胞形成细胞桥把两端连接起来,随后近端神经纤维轴突末端长出轴突支芽越过雪旺细胞桥进入基膜管内^[11],随着神经的修复,雪旺细胞已迁移至远离损伤口的一端,而实验取材统一在损伤口附近,因此组间未见明显差异。但电生理检测可发现推拿手法联合跑台训练仍可提高神经传导速度,通过检测 NGF 的含量可发现推拿手法联合跑台训练能够促进 NGF 的表达与分泌,然而 NGF 主要来源于雪旺细胞,因此可以推测推拿手法促进了雪旺细胞的增殖、分裂以及迁移。

周围神经损伤后的再生机制十分复杂,包括神经轴突再生的微环境、瓦勒变性的程度、神经元的存活数量等,推拿联合

跑台训练促进神经修复的机制研究仍任重道远,本研究团队在今后的研究中将注重神经的整体性,从神经轴突不同层面研究推拿与肢体功能锻炼对神经再生的作用,而脊髓层面的研究将是今后研究的重要内容。

[参考文献]

- [1] 顾玉东. 21 世纪臂丛损伤诊治的研究方向与任务[J]. 中华手外科杂志, 2000, 16(1): 10-12.
- [2] 顾玉东. 提高周围神经损伤的诊治水平[J]. 中华创伤骨科杂志, 2003, 5(1): 1-4.
- [3] 周俊明, 徐晓君, 张沈煜, 等. 臂丛神经损伤规范化康复治疗临床研究[J]. 中国康复医学杂志, 2011, 26(2): 124-127, 142.
- [4] 岳旭迎, 李征宇, 肖彬, 等. 推拿对全臂丛损伤术后患者的康复疗效观察[J]. 贵阳中医学院学报, 2016, 38(2): 63-66.
- [5] 杨宇杰, 薛景凤, 刘豫安, 等. 结扎大鼠髂总动脉对坐骨神经传导速度的影响[J]. 中日友好医院学报, 2001, 15(1): 30-32.
- [6] 刘玉丽, 李野, 任路, 等. 深刺“环跳”穴对大鼠损伤坐骨神经的修复作用[J]. 针刺研究, 2014, 39(2): 93-99.
- [7] Saika T, Senba E, Noguchi K, et al. Effects of nerve crush and transection on mRNA levels for nerve growth factor in the facial motoneurons[J]. Brain Res Mol Brain Res, 1991, 9 (1-2): 157-160.
- [8] Cui B, Wu C, Chen L, et al. One at a time, live tracking of NGF axonal transport using quantum dots[J]. PNAS, 2007, 104(34): 13666-13671.
- [9] Peter E, Gabrel T, John Y, et al. Activated macrophages, and M icroglia induce dopaminergic sprouting in the injured striatum and express brain derived neurotrophic factoe and Glial cell Line Derived Neurotrophic Factor[J]. The Journal of Neuroscience, 1999, 19(5): 1708-1716.
- [10] Lu L, Li W, Zhong C, et al. Increased apoptosis of immunoreactive host cells and augmented donor leukocyte chimerism, not sustained inhibition of B7 molecule expression are associated with prolonged cardiac allograft survival in mice preconditioned with immature donor dendritic cells[J]. Transplantation, 1999, 68(6): 747-757.
- [11] 蔡文琴. 发育神经生物学[M]. 北京: 科学出版社, 2007.

(责任编辑: 冯天保, 钟志敏)