

兔坐骨神经电损伤后神经血流的变化

王志刚 李学拥 李跃军 付国强 李望舟 李金清 李靖 吕小星



【摘要】 目的 了解不同电压致兔坐骨神经电损伤后神经血流及 I 型胶原的变化。方法 将 27 只健康家兔电损伤后按损伤电压分为 50、75、100 V 组。分别于损伤后即刻(0)、1、4、8 周,采用激光多普勒血流测定仪测定各组家兔坐骨神经血流量;免疫组织化学染色观察神经组织 I 型胶原的变化情况,计算其阳性表达率。结果 伤后 0 周,各组兔血流量均高于正常值,以后均降低。伤后 8 周,75、100 V 组坐骨神经血流量[(53 ± 3)、(48 ± 5)灌注单位(PU)]均低于正常值[(62 ± 4) PU, $P < 0.05$]。50 V 组胶原沉积不明显,75 V 组及 100 V 组伤后 4 周神经外膜及束膜间可见较多的棕黄色阳性胶原纤维,伤后 8 周胶原纤维增生更为明显。伤后各组兔坐骨神经 I 型胶原阳性表达率均高于正常值;75、100 V 组伤后各时相点值均高于 50 V 组($P < 0.01$)。结论 兔坐骨神经电损伤后神经血流的恢复随着损伤电压的增大而延缓,胶原纤维增生可能是神经血流减少的原因之一。

【关键词】 电击伤; 血液流变学; 坐骨神经; 胶原 I 型

The changes in blood flow in sciatic nerve after electrical injury in rabbit WANG Zhi-gang, LI Xue-yong, LI Yue-jun, FU Guo-qiang, LI Wang-zhou, LI Jin-qing, LI Jing, LV Xiao-xing. Department of Burns and Plastic Surgery, Tangdu Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710038, P. R. China
Corresponding author: LI Xue-yong, Email: tdzhxing@fmmu.edu.cn, Tel: 029-84777440

【Abstract】 Objective To study the changes in sciatic nerve blood flow and the expression of collagen type I after electric injury of rabbit nerve with different voltages. Methods Thirty-six healthy rabbits were randomized into 3 groups before receiving injury with electricity in voltages, i. e. 50 v, 75 v, and 100 v groups. The changes in blood flow of sciatic nerve were observed with Laser Doppler Flowmeter immediately after injury and 1, 4, 8 weeks after injury. The changes in the expression of collagen type I was observed by immunohistochemical method, and the positive expression rate was calculated. Results The sciatic nerve blood flow increased in all groups immediately after electric injury. In the 75 v and 100v groups, the nerve blood flow [(53 ± 3), (48 ± 5) PU] was obviously lower than that of normal value [(62 ± 4) PU, $P < 0.05$]. There was little collagen type I deposition in 50 v group, while brown collagenous fibers in epineurium and perineurium were observed in 75 v and 100v groups 4 and 8 weeks after injury. The expression of collagen type I in all groups were obviously higher than that of normal value, and that in 75v and 100 v groups were higher than that in 50 v group at each time-point ($P < 0.01$). Conclusion The restoration of sciatic nerve blood flow is postponed following by the injury with increase of the electrical voltage. The collagen deposition after electrical injury may be one of the reasons for nerve blood flow decrease.

【Key words】 Electrical injury; Hemorrhology; Sciatic nerve; Collagen type I

周围神经要维持正常的生理功能,应有充足的氧气和营养供应,因此各种损伤造成的神经血流变化,可使神经的结构和功能发生改变。研究表明,电刺激周围神经时组织血流会发生变化^[1],但周围神经电损伤后神经自身血流的变化尚罕见报道。为此,笔者对不同电压造成的兔坐骨神经电损伤后神经血流的变化进行了观察,并探讨其发生机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器

I 型胶原多克隆抗体及免疫组织化学试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司);激光多普勒血流测定仪及 PSW 分析软件(瑞典 Perimed 公司);电损伤仪(上海浦江电表厂);LEICA 图像分析系统(Q500 型,德国 Leica 公司)。

1.2 电损伤模型制作及分组

健康家兔(第四军医大学实验动物中心)27 只,雌雄不拘,体质量 2.0 ~ 2.5 kg,根据损伤电压分为 50、75、100 V 组,每组 9 只。各组家兔给予戊巴比妥钠(40 mg/kg)静脉麻醉后,俯卧位固定四肢,剪除

基金项目:第四军医大学科技创新工程基金(CX02A014)

作者单位:710038 西安,第四军医大学唐都医院烧伤整形科

通讯作者:李学拥,Email:tdzhxing@fmmu.edu.cn,电话:029-

84777440

臀部和下肢的毛发,在下肢后侧正中线由腘窝上方至臀大肌剪开皮肤,寻找并充分暴露坐骨神经,三维固定仪固定激光多普勒流量仪探针型探头(型号 403,直径 0.45 mm),使探头尖端轻轻接触神经,稳定 3 min 后连续记录。自坐骨神经分支上方处分别用不同电流损伤 2 cm 神经,作用时间为 3 s。于损伤后即刻(0)、1、4、8 周测定坐骨神经血流,并自坐骨神经分支处向上切取 2 cm 的神经标本,置入中性甲醛溶液中固定,石蜡切片。各组均在伤前测定各项指标的正常值。

1.3 检测指标

1.3.1 血流情况 采用激光多普勒血流测定仪测定各时相点坐骨神经血流值,结果采用 PSW 软件分析。

1.3.2 外观及组织学观察 观察各组兔电损伤处坐骨神经外观及与周围组织粘连情况。将所取标本行 HE 染色,并分别加入抗 I 型胶原一抗、二抗后采用链霉亲和素-生物素复合物法行 I 型胶原免疫组织化学染色。操作按试剂盒说明书进行。

1.3.3 I 型胶原阳性表达率的检测 各组兔取同部位切片,采用 LEICA 显微镜及图像分析系统进行检测。随机选取 6 个视野,测定 I 型胶原阳性表达面积及总面积,计算其阳性表达率。

1.4 统计学处理

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 10.0 统计软件进行析因设计的方差分析。

2 结果

2.1 各组兔血流变化情况

伤后 0 周各组兔血流值均高于正常值,以后均降低。50 V 组伤后各时相点值均高于 75、100 V 组 ($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 各组兔坐骨神经血流变化情况(PU, $\bar{x} \pm s$)

组别	兔数 (只)	正常值	伤后时间(周)			
			0	1	4	8
50 V 组	9	62 ± 4	95 ± 4	58 ± 7	60 ± 6	60 ± 7
75 V 组	9	62 ± 4	86 ± 3 ^a	54 ± 4 ^a	55 ± 4 ^a	53 ± 3 ^{ab}
100 V 组	9	62 ± 4	78 ± 7 ^a	49 ± 3 ^{ab}	50 ± 4 ^a	48 ± 5 ^{ab}

注:PU 为灌注单位;与 50 V 组比较,a: $P < 0.01$;与正常值比较,b: $P < 0.05$

2.2 外观及组织学观察

各组兔电损伤处坐骨神经与周围组织无粘连,外观及颜色无明显改变。光学显微镜下 HE 染色可见各组神经无变性改变,神经滋养血管无变形、闭塞及血栓形成,神经束膜和神经外膜结构完整。50 V 组各时相点神经微血管内壁光滑,无充血。75 V 组电损伤后微血管充血,周围可见炎性细胞浸润。100 V 组微血管明显充血,炎性细胞增多,血管内皮细胞未脱落。见图 1。I 型胶原免疫组织化学染色可见,50 V 组胶原沉积不明显;75 V 组及 100 V 组伤后 4 周神经外膜及束膜间有较多增生的棕黄色阳性胶原纤维,8 周时增生更为明显,且纤维粗大,排列较紊乱,束膜内神经纤维之间可见较多阳性胶原纤维,且明显分布不均。见图 2。

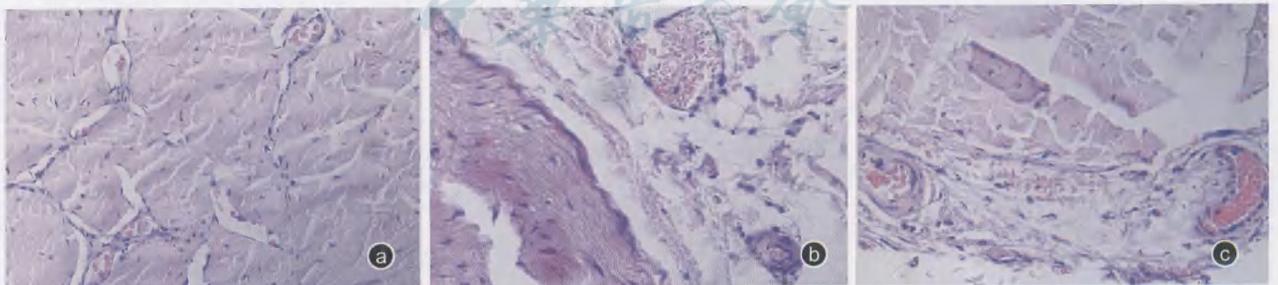


图 1 各组兔电损伤后坐骨神经血管变化情况 HE × 200。a. 50 V 组神经血管内膜光滑,无充血;b. 75 V 组微血管充血,有较多炎性细胞浸润;c. 100 V 组神经血管明显充血,有较多炎性细胞浸润

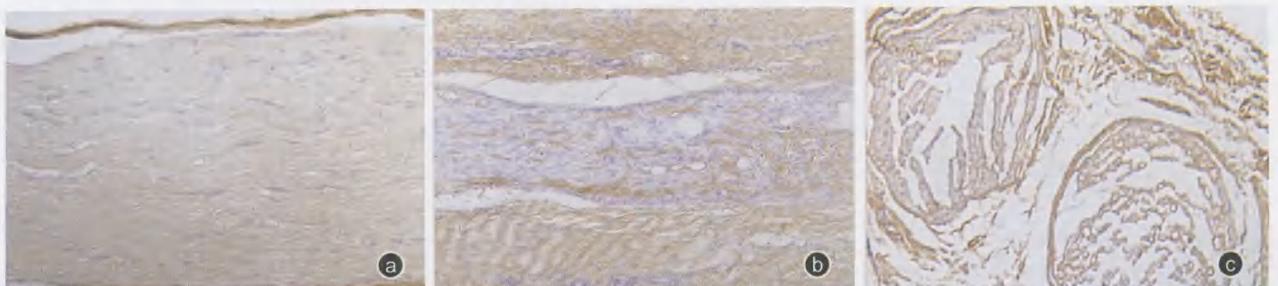


图 2 各组兔坐骨神经组织学观察 链霉亲和素-生物素复合物 × 200。a. 50 V 组组织中可见棕黄色散在分布的少量阳性胶原;b. 75 V 组组织中可见较多的棕黄色、较为粗大的阳性胶原;c. 100 V 组神经外膜及束膜间有大量增生的胶原纤维

2.3 I 型胶原阳性表达率

伤后各组兔坐骨神经 I 型胶原阳性表达率均高于正常值。75、100 V 组伤后各时相点值均高于 50 V 组 ($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 各组兔坐骨神经 I 型胶原阳性表达率 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	兔数 (只)	正常值	伤后时间(周)		
			1	4	8
50 V 组	9	13.6 ± 0.8	18.3 ± 2.8	19.7 ± 3.2	24.5 ± 2.5
75 V 组	9	13.5 ± 1.4	22.2 ± 1.7 ^a	23.9 ± 2.4 ^a	32.1 ± 1.7 ^a
100 V 组	9	13.7 ± 0.6	24.8 ± 2.6 ^a	26.7 ± 1.5 ^a	36.7 ± 2.4 ^a

注:与 50 V 组比较, a: $P < 0.01$

3 讨论

本实验采用激光多普勒血流仪观察不同电压损伤兔坐骨神经时神经血流的变化。其原理是激光束遇到被测组织血管中移动的血细胞发生反射, 光纤探头内与传入光纤并行的传出光纤采集回散光, 送入光电监测器进行光电转换, 即可计算出血细胞移动的速度及单位时间内血流量的增加值^[2]。在本实验中观察到, 50 V 组兔电刺激后坐骨神经血流的增加程度最为显著, 电损伤即刻血流较正常值增加 53.2%; 随着电压的上升, 血流的增加值减少。75 V 组及 100 V 组电损伤即刻血流值较正常值分别增加 38.7%、25.8%。由此可见, 电刺激对神经血流的增加作用存在一定的范围。神经血流变化的原因可能为: 与实验动物的应激反应有关; 某些神经肽可与血管壁上的相应受体结合而发挥其生物学效应, 对血管的舒缩有较强的调节能力, 如内皮素、P 物质、血管活性肠肽、神经肽 Y 等, 电损伤后这些神经肽的释放会对周围神经血流产生一定的影响^[3]。电流通过组织时会产生热效应, 能导致神经血管扩张、血流增加。同时, 热效应可能会导致血管内膜损伤、血栓形成甚至局部组织细胞炭化或凝固性坏死^[4], 使神经血流降低。

李学拥和陈璧^[5]观察到, 随着损伤电压的增大, 神经受损伤的程度也逐渐增加。当损伤电压为 200 V 时, 可见神经血管内膜凹凸不平及管腔内的血栓形成等改变。本实验中随着损伤电压的增大, 神经微血管出现充血、炎性细胞浸润等改变。但由于电压较小、作用时间短, 未见到明确的热力损伤变化。实验中, 电损伤后 1 周各组的血流值均较损伤前下

降, 8 周时 100 V 组下降最明显, 可见电损伤后神经血流量的恢复是随着损伤电压的增大而延缓的。

胶原蛋白是周围神经的主要构成蛋白, 是保持神经结构完整性必不可少的成分。周围神经的血管在神经外膜、束膜、内膜形成 3 个层次的血管网, 神经外膜与束膜间隙内的血管略多于神经内膜腔隙内的血管, 但由于神经内膜组织具有较大的分隔容量, 内膜血流仍占神经血流的 50%^[6,7]。神经内膜间隙是由纵行、斜行和环形分布的细胶原纤维充填, 其中 I 型胶原是周围神经细胞外基质的主要构成成分, 占胶原总量的 81%^[8], 因而检测神经中 I 型胶原的含量, 在一定程度上可反映神经中胶原纤维的增生情况。研究表明, 周围神经损伤后, 其远端神经内膜管随时间的延长逐渐缩小, 伴之以神经束截面积的缩小^[8]。胶原纤维增生导致神经束膜、内膜增厚并压迫神经内膜管, 使其容积进一步缩小。实验中 75、100 V 组 I 型胶原纤维含量在伤后 8 周明显增加。我们推测, 由于电损伤后周围神经中胶原纤维含量的增加, 特别是神经束膜及内膜管内胶原成分的增加, 压迫了内膜腔隙内的微血管, 导致神经血流减少。可见随着损伤电压的增加, 周围神经中胶原纤维增生也在增加, 而神经血流反而减少。由此可推断出电损伤导致的胶原纤维增生是神经血流减少的原因之一。

参考文献

- [1] Takahashi K, Nomura S, Tomita K, et al. Effects of peripheral nerve stimulation on the blood flow of the spinal cord and the nerve root. *Spine*, 1988, 13(11):1278-1283.
- [2] 吴劲松, 陈衍城, 陆栋. 激光多普勒血流测定法. *中国激光医学杂志*, 1999, 8(3):185-187.
- [3] 夏玉军, 于腾波. 刺激颈部交感神经节对椎动脉血流影响的实验研究. *中国临床解剖学杂志*, 2002, 20(5):380-382.
- [4] 朱志祥, 李伟萍, 张力勇, 等. 电场在电损伤中的作用. *中华烧伤杂志*, 2004, 20(4):235-238.
- [5] 李学拥, 陈璧. 兔坐骨神经实验性电损伤后形态学变化. *第四军医大学学报*, 1999, 20(5):445-447.
- [6] 付秀利, 张慰天, 吕辉, 等. 正中神经返支内部血管构筑的研究及临床意义. *中国实用手外科杂志*, 2000, 14(4):225-227.
- [7] 吕刚, 何三光, 王星铎. 脊髓和周围神经微循环与激光多普勒血流测定. *中华实验外科杂志*, 1996, 13(6):379-380.
- [8] 胡韶楠, 徐建光, 顾玉东. 不同病理类型臂丛损伤后变性神经中胶原的变化. *中华手外科杂志*, 1998, 14(1):48-50.

(收稿日期: 2006-08-11)

(本文编辑: 张红)