

· 基础研究 ·

大鼠皮神经卡压模型的实验研究

张芾男¹, 董福慧², 仇树林¹

(1. 河北省人民医院整形外科, 河北 石家庄 050051; 2 中国中医科学院骨伤科研究所)

【摘要】 目的: 建立大鼠皮神经卡压模型, 并探讨皮神经卡压损伤的病理生理改变。方法: 借鉴 Mackinnon 设计的周围神经卡压模型所采用的方法, 分别用不同内径的硅胶管套在大鼠的隐神经上, 以产生不同程度的皮神经卡压。将 40 只大鼠随机分成 5 组, 每组 8 只。A 组: 隐神经不做任何处理; B 组: 只将隐神经适当游离, 不进行卡压处理; C、D、E 组: 分别用内径为 0.3、0.4、0.5 mm 的硅胶管卡压隐神经。卡压 1 周后, 各组分别进行大体形态观察、电生理学检测和组织学检测。**结果:** 电生理学检测显示 B、E、D 组的神经传导速度较 A 组依次减慢, C 组则未引出动作电位。组织学检测: B 组的神经无明显异常改变。各卡压组神经均发生不同程度的脱髓鞘改变, 其中 E 组改变最轻, C 组改变最显著, 并伴有明显的瓦勒氏变性。**结论:** ①大鼠隐神经卡压模型是一个较为理想的皮神经急性或亚急性卡压动物模型; ②皮神经急性或亚急性卡压的病理生理改变过程为首先髓鞘受累发生髓鞘变形、脱髓鞘改变, 使神经传导速度减慢。继而轴索受累出现轴突碎裂、溃变, 神经纤维发生瓦勒氏变性, 导致神经传导阻滞。

【关键词】 神经卡压; 大鼠; 模型; 动物; 电生理学; 组织学

Model study of cutaneous nerve entrapment in the rat ZHANG Fei-nan^{*}, Dong Fu-hui, QIU Shu-lin^{*} Department of Plastic Surgery, the People's Hospital of Hebei Province, Shijiazhuang 050051, Hebei, China

ABSTRACT Objective To develop a model of cutaneous nerve entrapment in the rat and investigate the pathophysiological changes of entrapment injury. **Methods** With the Silastic tube banding technique designed by Mackinnon, Silastic tubes of varied internal diameters were used to band the saphenous nerves of rats to produce graded nerve entrapment injury. Forty Wistar rats were randomly divided into 5 groups (with 8 rats in each group). No operation was performed in group A; the saphenous nerves were freed without nerve entrapment in group B; the saphenous nerves were banded with a Silastic tube of internal diameter 0.3, 0.4, 0.5 mm in group C, D and E respectively. Gross morphological evaluations, electrophysiological and histological examination were done 1 week after banding. **Results** The electrophysiological examination showed that the nerve conduction velocity of group B, E, D decreased progressively compared to that of group A. No electrical conduction could be obtained in group C. No histological changes were noted in group B. Demyelination was present in all banded groups at different extent, the mildest in group E and the most distinct in group C. Besides group C showed Wallerian degeneration. **Conclusion** ①The model of saphenous nerve entrapment in the rat is a fairly ideal acute or subacute animal model of cutaneous nerve entrapment. ②In the animal model of acute or subacute nerve entrapment the early pathophysiological changes are deformation of myelin sheath and demyelination which results in progressive decrease of nerve conduction velocity, then followed by axonal break and Wallerian degeneration of nerve fiber which results in the complete nerve conduction block.

Key words Nerve entrapments; Rats; Models animal; Electrophysiology; Histology

Zhongguo Gushang/China J Orthop & Trauma 2007, 20(4): 217-219 www.zggszz.com

皮神经卡压综合征是一种早已存在但未被引起重视的临床常见病, 是引起颈肩、腰背、四肢不适和疼痛的常见病因。由于人们的忽视, 以及缺乏系统深入的研究, 过去多被误诊为软组织扭伤、劳损、肌筋膜炎等疾病。很多患者接受了多种方法的长期反复治疗, 但疗效欠佳。董福慧等^[1]通过大量的临床观察和解剖学研究, 2002年首次提出了皮神经卡压综合征这一新的病名, 认为皮神经在走行过程中, 由于某些原因受到

卡压而引起神经功能障碍, 并出现一系列神经分布区不同程度的感觉障碍、植物神经功能障碍, 统称为皮神经卡压综合征。同时对其发病机制、诊断标准及治疗方法进行了详细的阐述。但对于这项创新性的工作, 仍存在一些值得继续探讨的问题。为了进一步深入研究皮神经卡压综合征的病理生理改变及其治疗方法的选择和改进, 本研究建立了皮神经卡压动物模型, 为临床实践提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物模型 本实验借鉴 Mackinnon 等^[2]设计在大鼠坐骨神经卡压模型中所采用的方法 (即用一段硅胶管套在神经

基金项目: 河北省科学技术研究与发展计划资助项目 (编号: 052761493)

通讯作者: 董福慧 E-mail: fuluidong@263.net

上,以造成神经卡压),分别用内径为 0.3、0.4、0.5 mm 的硅胶管套在大鼠的隐神经上,以产生不同程度的神经卡压。

1.2 实验动物及分组 Wistar 大鼠 40 只,均为雌性,体重 250~300 g。将大鼠按随机数字表法分成 5 组,每组 8 只,共 16 条隐神经。A 组:隐神经不做任何处理;B 组:只将隐神经适当游离,不进行卡压处理;C 组:以内径 0.3 mm 的硅胶管卡压隐神经;D 组:以内径 0.4 mm 的硅胶管卡压隐神经;E 组:以内径 0.5 mm 的硅胶管卡压隐神经。各组术后 1 周进行大体形态观察、电生理学检测和组织学检测。

1.3 手术方法 用 20% 乌拉坦行腹腔注射麻醉 (1 g/kg 体重),仰卧固定,剪毛,消毒手术野,在大鼠双侧后肢小腿前内侧,由膝关节远侧约 0.5 cm 处始,向远侧做一长约 1 cm 的切口。切开皮肤、皮下组织,即可见到位于浅筋膜内的隐神经,用玻璃分针将隐神经游离长约 0.5 cm。取长 3 mm 的硅胶管,先将其纵行剖开,然后套在游离好的隐神经上,并用 9-0 无损伤针线缝合硅胶管,关闭切口。游离组 (B 组) 只将隐神经按同样方法游离而不进行卡压处理。所有手术操作均在尼康 SMZ-10 型手术显微镜下进行。伤口处置青霉素粉剂。术后不制动,任其活动。

1.4 检测指标和方法

各组术后 1 周进行大体形态观察和电生理学检测,然后切取卡压段神经做组织学检测。

1.4.1 大体形态观察 肉眼观察隐神经卡压处的外观及其动态变化过程。

1.4.2 电生理学检测 主要仪器包括 3 导 7103 型电子刺激器、SS-102J 型刺激隔离器、VC-10 型双线记忆示波器、DAT-1100 型叠加仪、XY 记录仪,以上仪器均由日本光电公司生产。动物麻醉后,在卡压处的远端和近端分别按实验常规解剖游离隐神经,以远侧点作为刺激点,近侧点作为记录点,并使刺激点与记录点相距约 3 cm。用普通银丝电极将游离好的隐神经略微提起,避免电极与周围组织接触。实验过程中显露游离的隐神经始终浸泡在液体石蜡中,以防干燥。实验室温度保持在 23℃~25℃。由于本实验为开放性直接测量,而且大鼠的隐神经较短,难以放置更多的引导电极,因此可以测出刺激电极负极至第一记录电极间的距离 (s),以及刺激伪迹起点至动作电位起点的时间 (t),根据神经传导速度 (V) 的计算公式 $V = s/t$ 计算出神经传导速度。

1.4.3 组织学检测 (光镜) 电生理学检测结束后,将卡压段神经切下,用 10% 甲醛固定,石蜡包埋,旋转式切片机做 5~10 μm 厚连续切片。每个标本收集 2 套切片,分别进行 HE 染色和 Weill 氏染色。在光镜下观察神经纤维的轴突、髓鞘、神经膜等的改变情况。

1.5 统计学处理 文中统计检验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。使用 SPSS 11.0 统计软件,两样本均数之间的比较用 *t* 检验。

2 结果

2.1 大体形态观察 A 组神经粗细均匀,质地柔韧,色泽光亮,血管网清晰。B 组的游离段神经基本正常,无明显异常改变。各卡压组的硅胶管被结缔组织包裹,取出硅胶管后可见受卡压段神经均有不同程度变细,卡压远、近端增粗,质地变硬,神经外膜增厚,颜色较暗淡,血管网模糊不清,甚至消失。

神经周围结缔组织增生明显,粘连加重。随着硅胶管内径的缩小,压力逐渐增加,上述改变的程度逐渐加重,以 C 组的改变最为明显。

2.2 电生理学检测 A、B、E、D 各组神经传导速度分别为 (43.2±1.8)、(40.4±2.4)、(33.7±2.7)、(22.3±3.1) m/s。C 组则均未能引出动作电位。B 组的神经传导速度比 A 组略微减慢 ($P < 0.01$)。各卡压组随着硅胶管内径的缩小,压力逐渐增加,神经传导速度表现出逐渐减慢的趋势。E 组和 D 组的神经传导速度均小于 A 组 ($P < 0.01$),而且 D 组的神经传导速度小于 E 组 ($P < 0.01$)。

2.3 组织学检测 (光镜) 光镜下可见 A 组神经纤维分布均匀,轴突充满于髓鞘内,轴膜紧贴于髓鞘内表面。髓鞘排列紧密,形态规整,呈类圆形,厚度均匀,边缘光滑、清晰。B 组神经纤维形态基本正常,无明显异常改变 (图 1)。各卡压组随着硅胶管内径的缩小,压力逐渐增加,神经的组织学变化逐渐加重,E 组髓鞘颜色变浅,并有轻度髓鞘变形、脱髓鞘改变,轴突肿胀,神经外膜增厚,神经纤维轮廓基本正常 (图 2)。D 组髓鞘和轴突变性程度加重,髓鞘明显减少、变形、颜色变浅,部分轴突碎裂和溶解,结缔组织增生 (图 3)。C 组髓鞘大量变性,外形不规则,有的皱折分裂,有的呈颗粒状,有的溶解呈空泡状。广泛的轴突碎裂、溃变,神经纤维瓦勒氏变性,可见许多由髓鞘、轴突的崩解碎片所形成的卵圆体,神经纤维结构基本消失 (图 4)。

3 讨论

3.1 皮神经卡压综合征的提出及意义 国内外对周围神经卡压综合征的研究已有近 150 年的历史,但却从未有学者正式提出过皮神经卡压综合征的概念。虽然在周围神经卡压综合征的论述中也有些散在的关于皮神经卡压的报道,但人们并未将其从周围神经卡压综合征中独立出来进行研究,此方面尚缺乏全面的认识。从范围来讲,周围神经卡压综合征包括皮神经卡压综合征,在临床表现上,混合神经的卡压常伴有皮神经卡压的症状,但皮神经卡压综合征又有其自身的特点。由于人们的忽视,以及缺乏系统深入的研究,使其常常被误诊。很多患者接受了多种方法的长期反复治疗,但疗效欠佳。董福慧等^[1]将皮神经卡压综合征作为周围神经卡压综合征的特殊类型分离出来,并对其发病机制、诊断标准及治疗方法进行了系统的阐述,从而对临床常见的疼痛、感觉异常类疾病提出了新的认识。

3.2 皮神经卡压动物模型的建立及意义 通过实验动物复制人类疾病是医学研究的重要途径之一。虽然许多学者进行了大量的有关周围神经卡压综合征的实验研究^[3,5],但却从未有关于皮神经卡压的实验研究报道。为此,我们利用大鼠的隐神经建立了皮神经卡压模型,这对于进一步深入探讨皮神经卡压综合征的病因、病理机制以及治疗方法的选择和改进均有重要意义。本实验所建立的皮神经卡压模型有以下特点:①大鼠的隐神经是一条解剖恒定的皮神经,因此利用大鼠的隐神经制备皮神经卡压模型是科学的;②本实验模型借鉴了 Mackinnon 等^[2]设计的周围神经卡压模型所采用的经典方法,用硅胶管卡压来模拟人体的皮神经卡压,从而使其在造模方法上具有合理性;③本实验对神经所施加的压力较大,卡

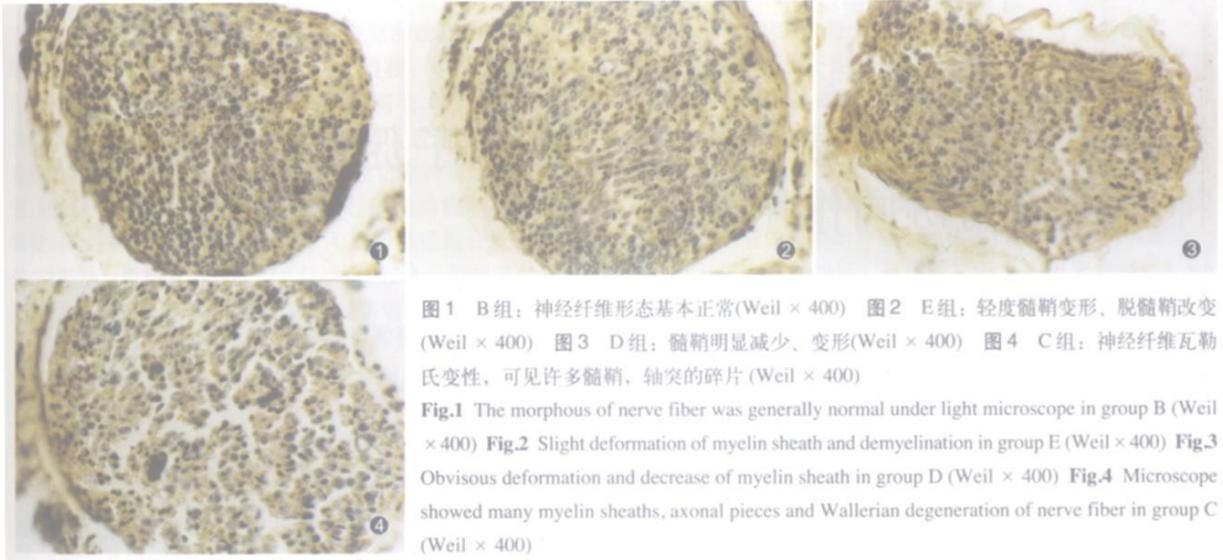


图1 B组:神经纤维形态基本正常(Weil × 400) 图2 E组:轻度髓鞘变形、脱髓鞘改变(Weil × 400) 图3 D组:髓鞘明显减少、变形(Weil × 400) 图4 C组:神经纤维瓦勒氏变性,可见许多髓鞘,轴突的碎片(Weil × 400)

Fig.1 The morphous of nerve fiber was generally normal under light microscope in group B (Weil × 400) Fig.2 Slight deformation of myelin sheath and demyelination in group E (Weil × 400) Fig.3 Obvious deformation and decrease of myelin sheath in group D (Weil × 400) Fig.4 Microscope showed many myelin sheaths, axonal pieces and Wallerian degeneration of nerve fiber in group C (Weil × 400)

压时程较短,体现了急性或亚急性卡压的发病过程;④本实验模型所采用的观测指标为反映神经病理生理的特异性指标,能够较准确的反映皮神经卡压的病理改变;⑤模型制备过程中所涉及的手术操作难度较小,可重复性强。因此本实验模型是一个较为理想的皮神经急性或亚急性卡压模型,为皮神经卡压综合征病理生理机制和治疗方法的研究提供了实验基础。

3.3 皮神经卡压的病理生理改变 本实验通过改变卡压所用硅胶管的内径来改变对皮神经所施加的压力,结果显示随着硅胶管内径的缩小,压力逐渐增加,皮神经的组织学和电生理学改变逐渐加重。本实验中B组的神经传导速度比A组略微减慢,其原因可能与两方面的因素有关,一方面由于皮神经的游离导致了微血管的损伤,影响了皮神经的血供,造成了局部的缺血。另一方面外科手术也会引起皮神经周围组织的肿胀,结缔组织增生,从而对皮神经造成了一定程度的压迫刺激。本研究结果表明,皮神经卡压的损伤程度与压力相关,压力越大损伤越重。皮神经急性或亚急性卡压的病理生理改变过程为:①首先髓鞘受累出现髓鞘变形、脱髓鞘改变,使神经传导速度减慢;②随着卡压程度的进一步加重,继而轴索受累出现轴突碎裂、溃变,神经纤维发生瓦勒氏变性,导致神经传导阻滞。这些病理生理改变与以往人们在周围神经急性卡压的研究中所观察的结果相一致。另外许多学者研究发现,周围神经卡压的病理生理机制与缺血、血-神经屏障的损害、轴浆运输阻滞、胞浆内钙离子超载以及卡压段神经内硫酸软骨素蛋白聚糖(CSPG)表达增加等因素有关^[6-10]。在皮神经卡压的发病过程中是否存在类似的机制,尚有待于进一步研究。

本研究虽然用不同内径的硅胶管以产生不同程度的卡压,但卡压的力量仍缺乏精确定量,因此皮神经卡压损伤的临界压力及时程也就无法确定,此方面尚需通过改进卡压方法来深入研究。另外,本研究探讨了皮神经急性或亚急性卡压

的病理生理改变,对于慢性卡压,其病理生理过程是否与急性卡压存在着一定的区别,今后可通过建立皮神经慢性卡压模型来进行研究。

参考文献

- 董福慧,郭振芳,张春美,等.皮神经卡压综合征.北京:北京科学技术出版社,2002 1-40
- Mackinnon SE, Dellon AL, Hudson AR, et al Chronic nerve compression: an experimental model in the rat. *Ann Plast Surg* 1984; 13(2): 112-120.
- 郭跃先,王秀丽,孟庆云,等.周围神经卡压松解后病理生理变化的实验研究. *中国修复重建外科杂志*, 2000, 14(6): 336-339.
- Gupta R, Steward O. Chronic nerve compression induces concurrent apoptosis and proliferation of Schwann cells. *J Comp Neurol* 2003; 461(2): 174-186
- Gupta R, Rowshan K, Chao T, et al Chronic nerve compression induces local demyelination and remyelination in a rat model of carpal tunnel syndrome. *Exp Neurol* 2004; 187(2): 500-508.
- Aziz W, Firrell JC, Ogden L, et al Blood flow in a chronic entrapment neuropathy model in the rabbit sciatic nerve. *J Reconstr Microsurg* 1999; 15(1): 47-53.
- Bouldin TW, Eamhardt TS, Goines ND. Restoration of blood-nerve barrier in neuropathy is associated with axonal regeneration and remyelination. *J Neuropathol Exp Neurol* 1991; 50(6): 719-728
- Rydevik B, M Dean WG, Sjöstrand J, et al Blockage of axonal transport induced by acute, graded compression of the rabbit vagus nerve. *J Neurosurg Psychiatry*, 1980; 43(8): 690-698.
- 刘玉杰,卢世璧,韩文丽,等.不同压力对兔坐骨神经内离子含量变化的实验研究. *中华显微外科杂志*, 1996, 19(3): 203-205.
- Prinz RA, Nakanur Pereira M, DeAry-Pires B, et al Axonal and extracellular matrix responses to experimental chronic nerve entrapment. *Brain Res* 2005; 1044(2): 164-175

(收稿日期:2006-11-14 本文编辑:王宏)