DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.02.021
第22卷第2期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 2
150 2000年2月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Feb. 2000

论著

文章编号:1000-5404(2000)02-0150-03

神经生长因子对大鼠坐骨神经半切损伤后的作用观察

王子明[1],杨恒文[2],李 芳[2],曾 琳[2] (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所:[1]手足显微外科;第三研究室;重庆 400042)

提 要 目的:观察坐骨神经半切损伤后神经生长因子(NGF)的作用和治疗效果。方法:采用大鼠坐骨神经半切致伤方法,按给药剂量将动物分成:假手术组、生理盐水对照组、小剂量组、中剂量组、大剂量组,每组10只,观察时间为10 d。结果:10 d治疗组动物的感觉诱发电位(SEP)与生理盐水对照组相比潜伏时缩短($P<0.05$),运动诱发电位(MEP)治疗各组与生理盐水组比较N1、P1、N2、P2各波的峰潜时均缩短($P<0.05$, $P<0.01$),与假手术组相比差异不显著。低剂量与中、高剂量相比潜伏时缩短($P<0.05$)。结论:NGF对周围神经损伤有促进神经传导功能,减轻神经继发损伤的作用。

关键词 坐骨神经损伤;诱发电位;神经生长因子
中图法分类号 R954.67+4 文献标识码 A

Effects of nerve growth factor on hemisected sciatic nerve in rats

WANG Zi-ming, YANG Heng-wen, LI Fang, ZENG Lin (Department of Hand and Foot Microsurgery, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042)

Abstract Objective: To investigate the therapeutic effects of nerve growth factor (NGF) purified from the pallas pit viper on inured nerve. Methods: The sciatic nerves were hemisected in 50 rats, which were equally divided into 5 groups based on the dose of using the drug: artificial operated group, normal saline control group, the low-dosage group, the moderate-dosage group and the high-dosage group. The time of observation was 10 d after operation. Results: The latencies of sensory evoked potential (SEP) were significantly shortened in the treated groups as compared with the control ($P<0.05$). The motor evoked potential (MEP) latencies of both N1 and P1 in all the treated groups were markedly shortened as compared with the control ($P<0.05$, $P<0.01$). However, there were no significant difference between the treated groups and the artificial group in the latencies of both N1 and P1 ($P>0.05$). The latencies of N1 and P1 was significantly lower in the low-dosage group than in the moderate- and high-dosage groups ($P<0.05$). Conclusion: NGF can improve the conductive function of injured peripheral nerve.

Key words sciatic nerve; evoked potential; nerve growth factor

神经元的损伤机制与缺乏维持神经元生存的靶源性神经生长因子(Nerve growth factor, NGF)有关。NGF不仅能挽救损伤的神经元,而且在神经元的发育、生存、迁移、与其它细胞建立功能性突触联系、轴突的再生等方面发挥重要作用。对于神经系统的疾病和损伤,诱发电位能检测神经的传导功能,是一种既可以定性又可以定量的客观依据。所以本文利用检测神经诱发电位,就NGF对神经损伤的作用机制进行了探讨。

1 材料与方法

1.1 实验模型与分组

Wistar大鼠,雌雄各半,体重200~250 g,共50只。由第三军医大学动物中心提供。按给药剂量分假手术组(正常对照组)、生理盐水、低剂量、中剂量、高剂量组。每组10只大鼠。观察时间为10 d。

基金项目:全军"九五"攻关课题资助项目(96L035)
作者简介:王子明(1972.10),男,山东省聊城市人,硕士研究生,主治医师,主要从事显微外科方面的研究,发表论文1篇。电话:(023)68757274
收稿日期:1999-04-27;修回日期:1999-10-22

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.2　实验方法

大鼠用 1%巴比妥钠(25 mg/kg)行腹腔麻醉后, 常规手术方法分开臀大肌暴露左侧坐骨神经干, 用剃须刀片半切坐骨神经干, 然后逐层缝合。假手术组仅暴露坐骨神经, 不进行半切, 术后局部不给药。各治疗组术后 NGF 即刻开始应用, 以后每天按规定剂量 1 次, 低剂量组: 300 U/kg, 中剂量组 900 U/kg, 高剂量组 2 700 U/kg。NGF 由大连司威特公司提供。每日在损伤的坐骨神经局部给药, 连续注射 10 d。生理盐水组同样行坐骨神经半切致伤, 以生理盐水 1 ml 代 NGF 局部给药。

1.3　检测方法

用 WD-400 型诱发电位诊断仪测定感觉诱发电位 (Sensory evoked potential, SEP), 运动诱发电位 (Motor evoked potential, MEP): MEP 刺激部位在人字缝向后 14.5 mm, 旁开 2 mm, 记录部位在坐骨神经。SEP 刺激部位在坐骨神经, 记录部位在人字缝向后 2 mm, 旁开 3~4 mm[1]。坐骨神经功能检测用 Tarlov 评分法[2,3], 5 分: 为正常步态, 在快速旋转的基础上能持重且无平衡失调和足趾拖拉等现象; 4 分: 为前后肢能协调运动, 但出现踝或足趾控制失调, 步态及持重状态改变; 3 分: 为动物主动持重但伴有不协调的步态; 2 分: 为动物后肢三大关节出现不协调运动; 1 分: 为非反射性运动, 踝部不存在运动; 0 分: 为迟缓性瘫痪。

1.4　统计学处理

本实验数据均用 Newman-Keals 检验进行统计。

2　结果

2.1　神经功能检测

大鼠坐骨神经半切损伤后, 伤肢足趾呈爪型外翻, 用内侧足背着地, 痛觉过敏, 出现搔扒、舔足等自发性疼痛表现。伤足肿胀, 治疗组肿胀 3 d 内可消除, 而对照组需 5 d 才可消退。Tarlov 评分法功能测定结果见表 1, 动物治疗各组有 60%可恢复到 4~5 分, 生理盐水对照组只有 20%有 4~5 分功能。

表 1　大鼠坐骨神经半切损伤 10 d 后 Tarlov 功能评分 ($n = 10$)

Tab 1　Tarlov function value for injured sciatic nerve ($n = 10$)

Group	Animal number of Tarlov value(score)			
	5	4	3	2
Artificial operaton	10	0	0	0
Low dosage	1	6	3	0
Moderate dosage	2	2	5	1
High dosage	2	5	2	1
Normal saline	0	2	2	6

2.2　MEP 测定

局部应用 NGF 治疗 10 d 后测定 MEP 的变化。N1、P1、N2、P2 波峰潜时, 假手术组与生理盐水对照组相比较, 生理盐水组峰潜时延长, 均有非常显著的差异 ($P < 0.01$)。假手术组与治疗各组除 N1 波高剂量组峰潜时延长外, 其它各组与正常组相比均无统计学意义。在各波峰潜时生理盐水组与各治疗组相比, 治疗组 (低、中、高剂量) 峰潜时均缩短, 并有显著性差异 ($P < 0.05$)。在N1 波峰潜时, 低、中、高剂量比较, 中剂量和高剂量峰潜时延长, 有显著差异 ($P < 0.05$)。其它 P1、N2、P2 波在治疗组之间比较均无差异。各波的波幅各组之间无统计学意义, 见表 2。

表 2　坐骨神经半切损伤 10 d 后 MEP 变化 (ms, $n = 10, \bar{x} \pm s$)

Tab 2　The changes of MEP at 10th day after sciatic nerve injury (ms, $n = 10, \bar{x} \pm s$)

Group	N1	P1	N2	P2
Artificial operation	6.16 ± 0.32	8.20 ± 0.55	10.77 ± 0.89	12.39 ± 0.64^{++}
Normal saline	9.16 ± 0.68**	11.78 ± 0.98**	16.06 ± 1.55**	18.81 ± 2.30**
Low dosage	6.74 ± 0.19^{++}★★	9.11 ± 0.51^{+}	11.54 ± 0.72^{+}	12.26 ± 0.78^{+}
Moderate dosage	7.37 ± 0.22^{+}★	9.25 ± 0.67^{+}	11.63 ± 0.85^{+}	13.74 ± 1.26^{++}
High dosage	8.46 ± 0.32**	9.12 ± 0.77^{+}	12.17 ± 1.01^{+}	12.53 ± 0.89^{++}

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ *vs* artificial operation; +: $P < 0.05$, ++: $P < 0.01$ *vs* normal saline; ★: $P < 0.05$, ★★: $P < 0.01$ *vs* high dosage

2.3　SEP 测定

给药治疗 10 d SEP 测定, 假手术组与生理盐水组相比, N1、P1 波生理盐水组峰潜进延长、波幅下降显著 ($P < 0.05$)。假手术组与治疗各组无明显差异。生理盐水组与治疗组 N1、P1 波潜时显著延长 ($P < 0.05$), 波幅无显著差异, 见表 3。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表 3 坐骨神经半切损伤 10 d 后 SEP 变化($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Tab 3 The changes of SEP at 10th day after sciatic nerve injury ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Group	Latency(ms)		Amplitude(μV)	
	N1	P1	N1	P1
Artifcial operation	12.06 ± 1.00	15.16 ± 1.13	2.11 ± 0.26	1.89 ± 0.31
Normal saline	17.89 ± 1.70**	22.07 ± 1.71**	1.25 ± 0.21*	1.62 ± 0.34*
Low dosage	10.51 ± 0.10+	14.02 ± 0.24+	1.04 ± 0.16	1.88 ± 0.32+
Moderate dosage	11.25 ± 0.44+	16.10 ± 0.94+	1.74 ± 0.49	2.15 ± 0.35+
High dosage	10.25 ± 0.46+	13.49 ± 0.63+	1.39 ± 0.13	1.38 ± 0.19

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ *vs* artificial operation; +: $P < 0.05$, ++: $P < 0.01$ *vs* normal saline

3 讨论

3.1 NGF 的用药途径及疗效

神经营养因子广泛分布于靶细胞，神经元及邻近的胶质细胞，NGF 家族成员是主要的靶源性因子，它本身不能透过血脑屏障，无法直接作用于胞体，故以往的给药途径多从脑脊液注入。近年来研究发现：NGF 与 trkA 受体结合后，自体酪氨酸基被磷酸化，而磷酸化状态的 trkA 可被逆行运输到胞体，它本身可能作为信使分子，或激活别的信使分子将 NGF 的作用信号最终传至胞浆胞核[4,5]。Ehlers[6]发现：坐骨神经损伤后远侧端 trkA 的积累增加，同时，注射外源性的 NGF 可增加远侧端 trkA 的积聚，而 NGF 抗体则可减少，远侧端 trkA 的积聚表明首先有 NGF 的结合，才能导致 trkA 逆行运输增加，所以逆向运输的磷酸化状态的 trkA 参与了轴突信号的传递。靶源性因子还能促进突触形成并建立功能联系。本实验的 NGF 坐骨神经局部注射[7,8]，经 MEP、SEP 测定证实治疗组比生理盐水组潜伏期显著缩短，传导速度加快，说明治疗各组功能恢复优于各对照组，即 NGF 对神经损伤的恢复有明显效果。本实验证实局部给药 NGF 同样具有促进神经传导作用。

3.2 给药剂量分析

本实验的给药剂量为低 300 U/kg，中 900 U/kg，高 2 700 U/kg，实验结果显示低、中、高剂量都有一定的效果，各治疗组之间无显著差异。在临床上用药量亦是不同，成年人一次量 1 000～3 000 U 如果成人体重 50 kg，最高剂量 3 000 U。计算为 60 U/kg，而大鼠低剂量组是 300 U/kg，已经超过人体用量，从实验结果看已经达到治疗目的，没必要再加大剂量。给药途径目前很多文献报道 NGF 不是直接作用神经细胞，而是经过膜受体形成复合物，进行传递作用，无论是静脉或局部用药，只要能够到达损伤部位，就有一定治疗作用[7]。

4 结论

NGF 具有促进神经传导功能。NGF 局部用药，主要是通过与其受体形成复合物后经逆行运输作用而促进受损神经的功能恢复的。低剂量给药完全能达到治疗目的。

参考文献

[1] 孙天胜，胥少汀．实验性脊髓损伤的运动诱发电位检测价值[J]．中华外科杂志，1991，29(8)：472－476.

[2] Hurlbert R J, Koyanagl I, Tator C H. Sensory evoked potentials for selective monitoring of the rat spinal cord cerebellar evoked potential to assess ventral cord integrity[J]. J Neurotrauma, 1993, 10(2): 181－200.

[3] Tarlor I M. Acute spinal cord compression paralysis[J]. J Neurosurg, 1972, 36(): 10－12.

[4] Ross A H, Lachyankar M B, Poluha D K, *et al*. Axonal transport of the trkA high-affinity NGF receptor[J]. Prog Brain Res, 1994, 103(1): 15－21.

[5] Schwab M E. Ultiastruxtural of nerve growth factor-horseradish peroxidase(NGF-HRP) coupling product after retrograde axonal transport in adrenergic neurons[J]. Brain Res, 1977, 130(2): 190－196.

[6] Ehlers M D, Kaplan D R, Price T, *et al*. NGF-stimulated retrograde transport of trkA in the mammalian nervous systen[J]. J Cell Biol, 1995, 130(1): 149－156.

[7] Nakamura K, Kurokawa T, Kato T, *et al*. Local application of basic fibroblast growth factor into the bone increases bone mass at the applied site in traait[J]. Arch Orthop Trauma Surg, 1996, 20(115): 344－346.

[8] Von Barthed C S, Byers M R, Williams R, *et al*. Anterograde transport of neurotrophins and axodendritic transfer in the developing visual system[J]. Nature, 1996, 379(29): 830－833.

（编辑 王 红）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net