

地塞米松治疗坐骨神经低热损伤的实验研究

李浩¹, 张磊², 徐敏³

1. 宜宾市第一人民医院神经内科, 四川 宜宾 644000;

2. 宜宾市第一人民医院药剂科, 四川 宜宾 644000;

3. 首都医科大学宣武医院神经内科, 北京 100053

【摘要】 目的 分析大鼠坐骨神经在低热损伤时予以地塞米松干预后的微结构变化, 探索地塞米松对低热损伤的干预作用。方法 将 12 只雄性 Wistar 大鼠按照随机化原则分为热损伤组(6 只)与地塞米松干预组(6 只), 热损伤组大鼠的右侧坐骨神经给予 47℃ 的热刺激, 持续 5 min; 给予地塞米松干预组大鼠的右侧坐骨神经相同热刺激 5 min, 刺激结束后立即给大鼠腹腔注射地塞米松注射液。同时, 每只大鼠的左侧坐骨神经可作为实验对照。在损伤后 24 h, 分析大鼠坐骨神经内的神经、血管微结构的改变。结果 在损伤后 1 d 时许多有髓纤维已经出现轴索退变, 血管内皮细胞出现肿胀, 导致神经内膜中的毛细血管管腔发生狭窄。而地塞米松干预后, 有髓纤维轴索退变改善不明显, 且仍旧存在内皮细胞肿胀、部分毛细血管狭窄。结论 使用地塞米松干预大鼠坐骨神经的低热损伤, 对神经内的毛细血管、有髓纤维病变并没有明显改善作用。

【关键词】 热损伤; 坐骨神经; 地塞米松; 轴索退变; 有髓纤维

【中图分类号】 R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2019)03-273-03

Experimental study of dexamethasone for treating in low-temperature thermal injury of sciatic nerves. LI Hao¹, ZHANG Lei², XU Min³. 1. Department of Neurology, the First People's Hospital of Yibin, Yibin 644000, Sichuan, CHINA; 2. Department of Pharmacy, the First People's Hospital of Yibin, Yibin 644000, Sichuan, CHINA; 3. Department of Neurology, Xuanwu Hospital Capital Medical University, Beijing 100053, CHINA

【Abstract】 **Objective** To observe the microstructure of sciatic nerves thermal injury after the treatment of dexamethasone, and to discuss the protective effect of dexamethasone in thermal injury. **Methods** A total of 12 male Wistar rats were randomly divided into thermal injury group ($n=6$) and the intervention group ($n=6$). The right sciatic nerves in the thermal injury group received thermal stimulation at 47℃ for 5 min, and those in the intervention group received dexamethasone in addition. The left sciatic nerves were exposed, as the control. Bilateral sciatic nerves were harvested after 24 h. The microstructure was examined in the microscope. **Results** On 1st day after the injury, many myelinated fibers had axonal degeneration, and vascular endothelial cells became swollen, leading to narrowing of capillary lumen in the endoneurosis. However, after the intervention of dexamethasone, the improvement of axonal degeneration of myelinated fibers was not obvious, and there were still endothelial cell swelling and partial capillary stenosis. **Conclusion** After intervention, the damage of endoneurial capillary and myelinated fiber degeneration are similar to that before.

【Key words】 Thermal injury; Sciatic nerve; Dexamethasone; Axonal degeneration; Myelinated fibers

当人体周围的物体温度高于正常体表温度 8℃ 时人体组织将开始出现热损伤^[1]。目前在日常生活中, 发生率较高、容易被忽略的热损伤类型为低热损伤^[2], 其定义为: 机体长时间接触 44℃~50℃ 的热源, 引起从真皮浅层向真皮深层及皮下组织的进行性损害。低热损伤多发生在患者发生意识障碍或身体局部感觉减弱时, 其低热热源有热水袋、电热毯等取暖装置^[1,3]。目前国内主要研究皮肤、肌肉等组织在低热损伤时的变化, 而对肢体周围神经发生低热损伤时的损害缺乏足够研究, 且对这种损伤的治疗也缺乏研究。地塞米松作为一种糖皮质激素, 具有抗炎、抗休克能力, 能改善小动脉的收缩、增加局部组织的血流灌注。前期研究发现它对大鼠坐骨神经非冻结性冷损伤具有一定的效果^[7], 因此, 推论地塞米松也许能缓解周围神经的低热损伤。本研究旨在分析大鼠坐骨神经在低热损伤时予以地塞米松干预后的微结构变化, 探索地塞米松对低热损伤的干预作用。

1 材料与方法

1.1 材料 健康的无特定病原体级雄性 Wistar 大鼠(购买自北京维通利华实验动物技术有限公司), 大鼠体质量 300~400 g。制热仪器采用加热循环器(德国优莱博公司生产, F12-ED), 测温仪器采用专门的数字测温表(优利德专业型, UT325A)。

1.2 方法

1.2.1 制热仪器的机制^[4] 通水管道由中空铜管制成, 有良好的导热性。它被安装在制热仪器上, 拥有独立的入水口和出水口, 保证热水循环流动。管道安装有和坐骨神经直径相当的袖管, 可以使坐骨神经放置在上面, 不受任何压力。在袖管底部和坐骨神经表面都安装有测温仪器, 可测定局部热水温度和坐骨神经表面的实际温度, 两者温度差不超过 0.2℃。

1.2.2 制作坐骨神经的低热损伤模型 实验模型参考 JIA 等^[4]的方法: 先以 2% 戊巴比妥钠(0.25 mL/100 g)腹腔麻醉大鼠。大鼠被麻醉后, 呈俯卧位被固

基金项目: 四川省宜宾市重点科技计划(编号: 2016SF006)

通讯作者: 李浩, E-mail: lihao_1981@163.com

定,右侧的大腿根部菱形窝处做一个切口,暴露内部的坐骨神经,将坐骨神经放在事先加热的装置中(图1),神经表面间断滴注石蜡油保持局部湿润,使神经局部温度为47℃。热刺激时间为5 min,受热停止后取出坐骨神经。左侧坐骨神经仅手术暴露,不予以热刺激,作为对照。手术过程中,大鼠俯卧于电热毯上,防止麻醉后出现低体温,维持肛门温度在35℃以上。

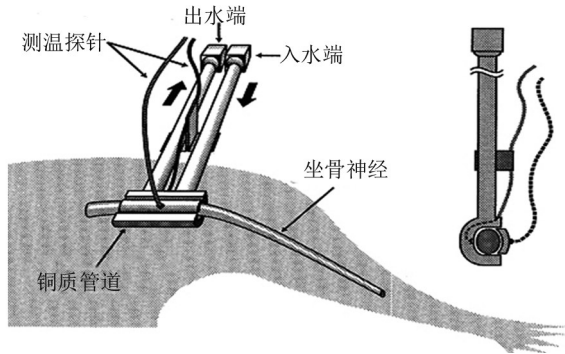


图1 制热仪器

1.2.3 动物分组 12只大鼠随机分两组:①热损伤组(6只),右侧坐骨神经给予热刺激(47℃)5 min;②地塞米松干预组(6只),右侧坐骨神经给予热刺激(47℃)5 min,刺激完毕后立即腹腔注射地塞米松注射液(0.5 mg/kg)。同时,热损伤组和地塞米松干预组的每只大鼠暴露左侧坐骨神经,不给予热刺激,作为对照。

1.2.4 坐骨神经处理 24 h后,再次麻醉大鼠,双侧坐骨神经被取下,实验步骤如下:①2%多聚甲醛-2.5%戊二醛混合溶液中4℃浸泡2 h;②0.1 mmol/L

磷酸盐缓冲液(pH 7.4)连续浸泡3次,10 min/次;③采用四氧化锇固定、乙醇脱水,环氧树脂Epon812包埋神经;④使用玻璃刀将包埋块切为1 μm厚的半薄切片,甲苯胺蓝染色,在光学显微镜下观察病变区域,进行初步定位;⑤定位完毕后再继续制备5 nm厚的超薄切片,醋酸铀-枸橼酸铅溶液染色,用Philips EM208s型透射电子显微镜观察病变区域。

2 结果

2.1 光学显微镜下大鼠坐骨神经的显微变化 对照侧坐骨神经内的神经纤维大多正常,仅有少量的有髓纤维表现为空、暗轴索的退变形式,而神经内膜中毛细血管基本正常。热损伤后1 d,许多有髓纤维出现轴索的严重退变,其退变形式为:巨大、空或者萎缩、暗。神经内膜中的血管内皮细胞出现显著的肿胀,导致毛细血管管腔变窄。地塞米松干预后1 d,有髓纤维轴索仍然呈巨大、空或萎缩、暗的退变形式,毛细血管管腔仍狭窄(图2)。

2.2 电子显微镜下大鼠坐骨神经的显微变化 对照侧1 d时,坐骨神经内仅有少量的有髓纤维出现变化,髓鞘板层轻微松散,而无髓纤维、神经内膜血管基本正常。热损伤1 d时,有髓纤维呈明显损害:髓鞘板层松散、髓鞘球形成,轴索内微丝溶解。而无髓纤维基本正常。毛细血管内可见红细胞淤滞,内皮细胞间的紧密连接存在部分消失,一些内皮细胞发生凋亡。地塞米松治疗1 d后,有髓纤维病变无明显缓解。无髓纤维仍保持正常状态。神经内膜中有部分血管管腔正常,另一部分仍有明显狭窄(图3)。

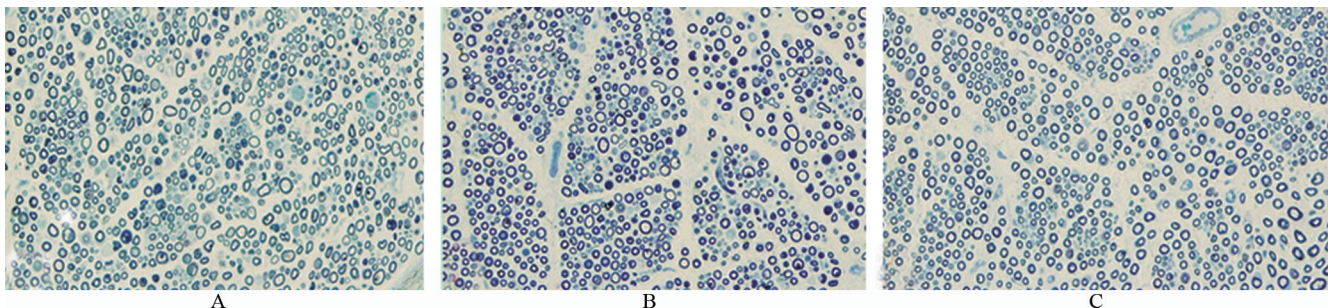


图2 坐骨神经低热损伤后光学显微镜下所见图像(甲苯胺蓝染色×400)

注:A,热损伤后1 d,轴索出现严重退变,呈“暗、空”的退变形式,伴毛细血管内皮细胞肿胀及血管管腔狭窄;B,地塞米松干预后1 d,坐骨神经仍有明显退变的轴索,且血管内皮细胞仍然可见明显肿胀;C,对照侧大鼠坐骨神经中仅见少量的有髓纤维退变,为暗轴索形式,但毛细血管内皮细胞无明显肿胀,其血管管腔未见变窄。

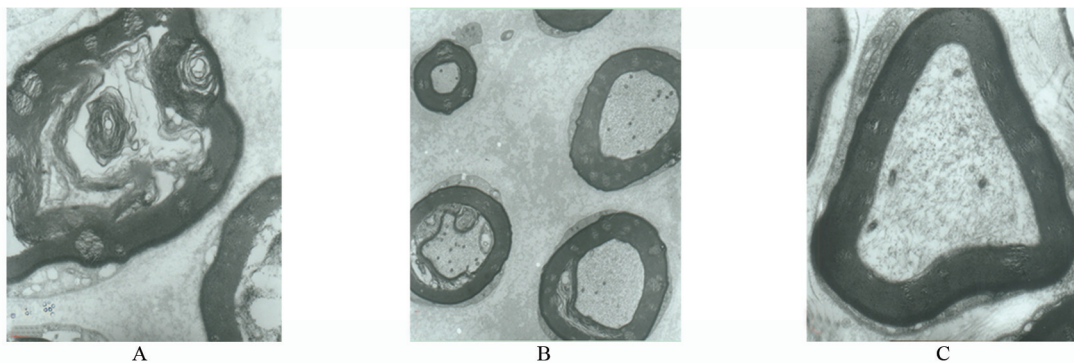


图3 坐骨神经低热损伤时电子显微镜下所见图像(醋酸铀-枸橼酸铅染色)

注:A,热损伤后1 d时,有髓纤维出现髓鞘板层松散、轴索受到局部水肿挤压、轴索内部呈空化表现(×8 000);B,地塞米松干预后,一些有髓纤维形态正常,但是还有一些有髓纤维呈板层松散、轴索受压和空化现象(×3 150);C,对照侧正常的有髓纤维(×12 500)。

3 讨论

当周围物体温度大于正常人的体表温度 8℃ 以上时,该物体将会引起人体组织出现损伤。尤其是在 44℃ 的基础上,温度越高,接触时间越长,接触面积越大,人体组织损伤的程度就越严重。资料显示^[2]:人体皮肤表面的温度维持 44℃ 以上超过 6 h,皮肤的基底细胞会出现无法逆转的损伤;49℃ 温度接触人体组织持续 3 min 以上,表皮会发生明显损害。在生活中,热损伤类型中较常见的是低热损伤。

国内对热损伤的研究主要集中于皮肤、肌肉等组织损伤方面,而对热损伤导致的周围神经功能异常却缺乏足够研究。实际上,周围神经病变是热损伤最常见的致残性病变之一,却经常被人们忽略、漏诊^[5]。有研究报道^[6]:人体组织出现急性烧伤时,周围神经热损伤的发生的机率为 29%;而在烧伤面积达到体表面积 20% 的患者人群中,尺神经、腓神经的神经传导速度异常率为 72%;对大面积热烧伤的病人而言,周围神经热损伤的概率能够达到 15%~29%。

从病理领域观察^[6],热损伤能造成周围神经内部的显微结构出现严重病变:早期主要是神经纤维出现变性损伤,之后伴随损伤程度加重,还可表现为神经纤维坏死;损伤后期开始进入神经再生、修复阶段;热损伤也能引起毛细血管的通透性增高,使血浆渗透至神经外的组织间隙中,局部形成水肿,进一步挤压神经,加重损伤。地塞米松具有抗炎、抗休克作用,可以缓解小动脉的收缩、增加局部血流灌注,对坐骨神经的冷损伤具有一定的疗效^[7],因此,笔者推论该药可能对周围神经低热损伤也具有一定疗效。然而,通过研究发现:经过地塞米松治疗后,虽然电子显微镜发现有小范围的神经内膜血管管腔较为正常,但从更大范围观察发现:神经内膜内仍可见大量毛细血管内皮细胞明显肿胀,毛细血管管腔受到内皮细胞挤压,呈严重狭窄状态,这提示地塞米松并没有显著缓解神经内部的血管损伤程度。而且有髓纤维在地塞米松干预前后一直保持轴索退变形式,其病变程度也没有得到缓解。

地塞米松可能通过以下机制缓解周围神经热损伤^[8-10]:(1)增加血液中的内皮祖细胞数目,有利于修复神经微血管中的血管内皮损伤;(2)稳定生物膜,下调 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 在血浆中的水平,缓解中性粒细胞与内皮细胞之间的相互黏附和中性粒细胞的移行,减轻血管内液体渗出;(3)减少免疫球蛋白 IgG 的沉积,改善周围神经的炎性环境,有利于神经结构再生。但是,也有报道^[11]认为:地塞米松可能对周围神经

再生产生不利影响。其机制在于:巨噬细胞通过吞噬轴突、髓鞘碎片,为神经再生扫清道路,并且分泌产生 IL-1,促进施万细胞合成、释放神经生长因子,促进神经再生;而地塞米松能够抑制巨噬细胞趋化,减少炎症部位出现巨噬细胞聚集,并抑制巨噬细胞的吞噬作用,阻止其释放 IL-1,从而不利于神经再生。这两种相反的作用机制可能在疗效上表现为周围神经损伤没有明显改善。

与非冻结性冷损伤机制不同^[4],周围神经的热损伤机制更为复杂,以往研究^[12]发现:在 47℃ 时,周围神经热损伤主要表现为有髓纤维损害,无髓纤维损伤不明显;而在 58℃ 时,则主要表现为无髓纤维损害更严重,有髓纤维损害相对较轻。研究者将这种现象归结为:无髓纤维的体表面积/体积更大;缺乏髓鞘,导致对热绝缘性较差。无论这种解释是否正确,笔者应该认识到周围神经热损伤的机制还有很多不明确之处,绝非仅仅用简单“烫伤”就可以解释。地塞米松作为糖皮质激素的一种,对一些实验性周围神经损伤均有一定疗效。然而,在此动物实验中却对周围神经低热损伤无效,这也提示了周围神经低热损伤机制的特殊性。

参考文献

- [1] 雷万军,景爱华.我国低热烧伤治疗现状[J].河南科技大学学报(医学版),2015,33(3):231-234.
- [2] 贾赤宇,余东文,龙艺.低温烫伤的特点与治疗[J].中华损伤与修复杂志,2011,6(5):826-828.
- [3] 吕月,凌峭,廖青玲,等.老年烧伤患者流行病学分析及护理[J].中华现代护理杂志,2012,18(11):1258-1260.
- [4] JIA J, POLLOCK M. The pathogenesis of non-freezing cold nerve injury observations in the rat [J]. Brain, 1997, 120(Pt 4): 631-646.
- [5] TAMAM Y, TAMAM C, TAMAM B, et al. Peripheral neuropathy after burn injury [J]. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2013, 17(Suppl 1): 107-111.
- [6] 汪琴.烧伤所致周围神经损伤[J].现代康复,2000,4(12):1785-1787.
- [7] 李浩,徐敏.地塞米松治疗坐骨神经非冻结性冷损伤的实验研究[J].华西医学,2014,29(2):219-222.
- [8] 王培,管云枫,徐添颖,等.地塞米松对大鼠烧伤合并海水浸泡后内皮祖细胞数目的影响[J].西南军医,2012,14(4):566-569.
- [9] 崔红,张春海,傅廷友,等.地塞米松对严重烧伤延迟复苏大鼠的炎症调控作用[J].实用医药杂志,2009,26(6):50-52.
- [10] 王庆武,左新成,刘涛.糖皮质激素促进周围神经再生的免疫学机制[J].中国医学创新,2011,8(11):172-173.
- [11] 刘志丽,高志强,冯国栋,等.局部应用糖皮质激素对大鼠面神经损伤后修复的影响[J].中华耳科学杂志,2008,6(3):278-284.
- [12] XU DS, POLLOCK M. Experimental nerve thermal injury [J]. Brain, 1994, 117(2), 375-384.

(收稿日期:2018-10-23)