

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.37.009

[http://www.crter.org]

李霞, 张勇, 张京. 周围神经阻滞麻醉对脊髓生物学的影响[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(37):6594-6600.

## 周围神经阻滞麻醉对脊髓生物学的影响

李霞, 张勇, 张京(新疆医科大学第五附属医院麻醉科, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011)

### 文章亮点:

周围神经阻滞麻醉方法简单, 效果良好, 对全身的生理干扰少, 其中硬膜外阻滞麻醉、蛛网膜下腔阻滞麻醉、周围神经干阻滞麻醉及区域神经丛阻滞麻醉等在周围阻滞麻醉对脊髓中枢有何影响呢? 实验的特色在于观察坐骨神经阻滞麻醉、蛛网膜下腔阻滞麻醉和硬膜外腔阻滞麻醉后, 兔脊髓神经细胞及其 c-Fos 蛋白的表达, 探讨周围神经阻滞麻醉对脊髓节段的影响。

### 关键词:

组织构建; 神经组织构建; 麻醉; 周围神经; 坐骨神经阻滞麻醉; 蛛网膜下腔阻滞麻醉; 硬膜外腔阻滞麻醉; 脊髓神经细胞; 生物学影响

### 主题词:

周围神经; 麻醉; 神经元; 生物学

### 摘要

**背景:** 周围神经阻滞麻醉后是怎样产生功能抑制的, 对脊髓和大脑中枢有何影响, 是怎样调节周围神经的, 中枢在解剖形态上有何改变, 目前尚不明确。

**目的:** 观察周围神经阻滞麻醉对脊髓神经细胞生物学的影响。

**方法:** 将 60 只新西兰大白兔随机分为坐骨神经阻滞麻醉组、蛛网膜下腔阻滞麻醉组和硬膜外腔阻滞麻醉组, 每组 20 只; 每组再分实验组和对照组, 每组 10 只。坐骨神经阻滞麻醉组的实验组在股骨头与坐骨结节连线中点注射利多卡因, 蛛网膜下腔阻滞麻醉组的实验组在蛛网膜下腔注射布比卡因, 硬膜外腔阻滞麻醉组的实验组在硬膜外腔注射利多卡因, 各组的对照均在相同部位注射生理盐水。

**结果与结论:** 坐骨神经阻滞麻醉、硬膜外腔阻滞麻醉或蛛网膜下腔阻滞麻醉 30 min 后, 均有相应节段脊髓灰质后角 III、IV 板层小圆细胞、前角 IX 板层外侧大多角细胞的尼氏体减少, 核偏向一端, c-Fos 蛋白表达减弱或无表达, 提示脊髓相应节段的神经细胞功能受到抑制; 另外蛛网膜下腔阻滞麻醉后, 脊髓软脊膜有分层或断裂现象。

## Biological effects of peripheral nerve block on the spinal cord

Li Xia, Zhang Yong, Zhang Jing (Department of Anesthesiology, the Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China)

### Abstract

**BACKGROUND:** How does the peripheral nerve block work to inhibit the functions? What effects does it do to the spinal cord and the cerebral center? How does it regulate the peripheral nerve and how does it change anatomy of brain center? All above are still unknown.

**OBJECTIVE:** To observe the effect of peripheral nerve block on the biology of spinal cord nerve cells.

**METHODS:** Sixty New Zealand rabbits were selected and randomly divided into three groups: ischiadic nerve block group, subarachnoid block group and extradural nerve block group. Each group had 20 rabbits which were sub-divided into experimental group and control group with 10 rabbits in each subgroup. The rabbits in the three experimental groups were injected with lidocaine, bupivacaine and lidocaine at the middle point between femoral head and ischiadic tuberosity in ischiadic nerve block group, subarachnoid block group and extradural nerve block group, respectively. The rabbits in each control group were injected with normal saline at the same position.

**RESULTS AND CONCLUSION:** After ischiadic nerve block, extradural nerve block or subarachnoid block for 30 minutes, the Nigeria's bodies of the little round cells in the poliomyelia posterior horn laminae III and IV and the polyhedral cells in the anterior horn laminae IX were less than those in the control groups. Nuclei leaned towards one side. c-Fos protein expression was decreased or showed no expression, suggesting that the cord nerve cell function of corresponding spinal segments was inhibited. The spinal pia mater of spinal cord had a hierarchical or fracture phenomenon after subarachnoid block.

**Subject headings:** peripheral nerves; anesthesia; neurons; biology

Li X, Zhang Y, Zhang J. Biological effects of peripheral nerve block on the spinal cord. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2013;17(37):6594-6600.

李霞, 女, 1967 年生, 山东省商河县人, 汉族, 新疆医科大学毕业, 副主任医师, 主要从事临床麻醉的研究。

Lixia2868@126.com

通讯作者: 张勇, 主任医师, 新疆医科大学第五附属医院麻醉科, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011

zhangyong63@sohu.com

中图分类号:R318

文献标识码:A

文章编号:2095-4344 (2013)37-06594-07

收稿日期: 2013-03-04

修回日期: 2013-07-02

(20121212004/GW · C)

Li Xia, Associate chief physician, Department of Anesthesiology, the Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China  
Lixia2868@126.com

Corresponding author: Zhang Yong, Chief physician, Department of Anesthesiology, the Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China  
zhangyong63@sohu.com

Received: 2013-03-04

Accepted: 2013-07-02

## 0 引言 Introduction

麻醉在现代医学中的作用非常重要。周围神经阻滞麻醉方法简单, 效果良好, 对全身的生理干扰少, 是最好的麻醉方法。其中硬膜外阻滞麻醉、蛛网膜下腔阻滞麻醉(腰麻)、周围神经干阻滞麻醉及区域神经丛阻滞麻醉等在周围阻滞麻醉中应用最为广泛, 但这种方法对脊髓中枢有什么样的影响呢? 为此作者设计了动物实验进行观察。

由于周围神经信号由感受器、传入神经、低级中枢(脊髓)、传出神经、效应器组成, 复杂神经反射是由低级中枢向高级神经中枢传导整合来完成的, 因此下肢的痛温觉和运动在脊髓横截面上分别观察脊髓灰质后角板层III、IV及前角板层IX区的神经细胞, 实验观察兔相应节段脊髓的病理变化及c-Fos蛋白的表达, 寻找周围神经阻滞麻醉后对中枢神经脊髓形态和功能改变的影响。

## 1 材料和方法 Materials and methods

**设计:** 随机对照动物实验。

**时间及地点:** 于2008年3月至9月在新疆医科大学基础医学院解剖教研室实验室完成。

**材料:**

**实验动物及分组:** 6月龄健康新西兰大白兔60只, 雌雄不拘, 体质量3.0–4.0 kg, 由新疆医科大学实验动物中心提供, 许可证号: 830001。置于安静、20–23 °C温暖、避强光的环境中分笼饲养2 d。随机抽签法分为坐骨神经阻滞麻醉组、蛛网膜下腔阻滞麻醉组和硬膜外阻滞麻醉组, 每组20只; 每组又分实验组和对照组, 每组10只, 分别于麻醉后30 min取材, 观察脊髓细胞的变化。

**周围神经阻滞麻醉对脊髓生物学影响实验的试剂:**

试剂	来源
盐酸利多卡因注射液 0.1 g/5 mL(2%), 产品批号 071011, 生产日期 2007-10-26, 有效期至 2009-10-25; 盐酸布比卡因注射液 37.5 g/5L (0.75%), 产品批号 070309, 生产日期 2007-03-31, 有效期至 2009-03-30	上海禾丰制药有限公司
一抗试剂盒 c-fos(兔抗兔) 0.1 mL, 生产日期 2008-04-03, 有效期 2年	武汉博士德生物制品有限公司
二抗试剂盒 SP(羊抗兔) 3 mL, 生产日期 2008-02-06, 有效期 2年; 显色试剂盒 DAB-kit 3 mL, 生产日期 2008-02-06, 有效期 2年	北京中山金桥生物科技制品有限公司

**实验方法:**

**兔坐骨神经阻滞麻醉<sup>[1]</sup>:** 取新西兰大白兔, 称质量。用兔绳绑兔四肢俯卧位固定于手术台上, 用2%戊巴比

妥纳按30 mg/kg从兔耳缘静脉注射麻醉。坐骨神经穿刺定位: 股骨头与坐骨结节连线中点穿刺注射溶液5 mL, 实验组注射2%利多卡因, 对照组注射生理盐水, 溶液中均加2滴亚甲蓝。

**兔蛛网膜下腔阻滞麻醉(腰麻)<sup>[1]</sup>:** 取新西兰大白兔, 称质量。用兔绳绑兔四肢俯卧位固定于手术台上, 用2%戊巴比妥纳按30 mg/kg从兔耳缘静脉注射麻醉。腰麻穿刺定位: 于L<sub>5-6</sub>/L<sub>6-7</sub>棘突侧缘进针穿刺到蛛网膜下腔见脑脊液流出后注射溶液0.8 mL, 实验组注射0.5%布比卡因, 对照组注射生理盐水, 溶液中均加2滴亚甲蓝。

**兔硬膜外腔阻滞麻醉<sup>[1]</sup>:** 取新西兰大白兔, 称质量。用兔绳绑兔四肢俯卧位固定于手术台上, 用2%戊巴比妥纳按30 mg/kg从兔耳缘静脉注射麻醉。硬膜外麻醉穿刺定位: 于L<sub>5-6</sub>/L<sub>6-7</sub>棘突侧缘进针穿刺到硬膜外腔有负压且无脑脊液流出后注射溶液2 mL, 实验组注射2%利多卡因; 对照组注射生理盐水, 溶液中均加2滴亚甲蓝。

**灌注与取材固定:** 麻醉30 min后, 将兔仰面固定在手术台上, 从胸骨左缘逐层切开, 打开胸腔, 暴露心脏, 于心尖用12号针穿刺进入左心室, 止血钳固定; 用组织剪打开右心房放血; 向左心室快速静脉注射生理盐水500 mL, 然后快速静脉注射40 g/L多聚甲醛溶液1 000 mL, 清水冲净后放到大白盘中。

分离坐骨神经, 验证穿刺位置是否准确; 解剖脊柱, 分离腰骶干脊髓及其脊神经节并将其固定于40 g/L多聚甲醛溶液中。

**蜡包埋标本:** 将固定标本取L<sub>5</sub>、L<sub>6</sub>、L<sub>7</sub>节段脊髓及相应节段神经节包埋在液体蜡中, 凝固后做好编号。

**切片处理:** 将蜡块修整好, 在相应节段脊髓标本及神经节做横切面切片, 约4 μm厚度, 放在玻片中烤蜡, 脱水。

**苏木精-伊红染色:** 将处理好的切片用苏木精和0.5%的伊红染色, 盖片。

**免疫组化:** 将处理好的切片涂防脱片胶, 晾干。用免疫组织化学S-P法检测。

**图像采集分析及主要观察指标:**

**苏木精-伊红染色图片:** 在显微镜下, 分别用4, 10, 20, 40倍观察脊髓L<sub>5</sub>、L<sub>6</sub>、L<sub>7</sub>节段软脊膜的改变, 脊髓后角第III、IV板层, 脊髓前角第IX板层外侧神经细胞及神经节细胞的形态。细胞浆尼氏体减少分布不匀, 核密度减低偏向一端, 即认为阳性改变。随机观察5个高倍视野, 每个视野计数100个神经细胞中阳性细胞数, 取其平均数为该标本的细胞阳性数。计算阳性率, 再将其转换为半定量数值, 使之转换为计量资料。由于脊髓软脊膜是定性资料, 数量偏少, 无法进行半定量转换。

**免疫组织化学图片:** 在显微镜下, 分别用4, 40倍观察观察脊髓L<sub>5</sub>、L<sub>6</sub>、L<sub>7</sub>节段脊髓后角第III、IV板层, 脊髓前角第IX板层外侧神经细胞的免疫组织化学切片

形态。细胞浆、细胞核呈棕黄色颗粒为阳性。随机观察5个高倍视野, 每个视野计数100个神经细胞中阳性细胞数, 取其平均数为该标本的细胞阳性数。计算阳性率, 再将其转换为半定量数值, 使之转换为计量资料。

**统计学分析:** 应用SPSS 11.0统计软件对实验数据进行统计分析。对资料进行方差齐性检验。若方差齐进行 $t$ 检验; 若不齐进行 $t'$ 检验或wilcoxon秩和检验。软脊膜水肿的统计因理论数 $T$ ,  $1 \leq T < 5$ 或 $T \leq 1$ , 所以采用四格表资料的确切概率法统计。各组之间比较用ANOVA(方差分析)及SNK法两两比较。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果 Results

**2.1 实验动物数量分析** 60只新西兰大白兔均进入结果分析。

**2.2 坐骨神经阻滞麻醉组的脊髓神经元变化** 见表1, 2。

表1 坐骨神经阻滞麻醉前后兔脊髓神经细胞苏木精-伊红染色后的形态变化

Table 1 Rabbit spinal cord nerve cells morphological changes after hematoxylin-eosin staining before and after sciatic nerve block ( $n=10, \%$ )

组别	胞浆尼氏体减少 ( $\bar{x} \pm s$ )	胞核密度降低偏移 ( $\bar{x} \pm s$ )	软脊膜水肿分层
实验组	70.50±1.73	67.28±2.20	0.1
对照组	15.88±2.89	12.79±2.12	0
$t$	42.520 4	39.360 3	0
$P$	0	0	1

注: 实验组注射利多卡因, 对照组注射生理盐水。数据结果表明坐骨神经阻滞麻醉后, 兔脊髓神经细胞形态发生明显变化。

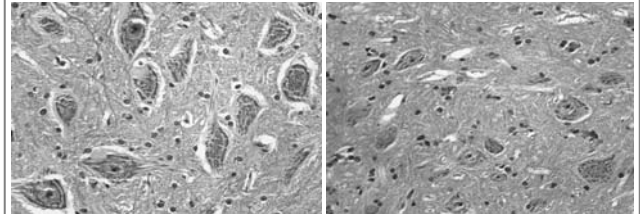
表2 坐骨神经阻滞麻醉前后兔脊髓神经细胞中 c-Fos 蛋白表达的变化

Table 2 Protein expression of c-Fos in the spinal cord nerve cells before and after sciatic nerve block ( $\bar{x} \pm s, n=10, \%$ )

组别	细胞浆	细胞核
实验组	11.72±1.85	11.35±2.39
对照组	68.41±1.75	67.09±1.58
$t$	49.89	43.57
$P$	0	0

注: 实验组注射利多卡因, 对照组注射生理盐水。数据结果显示坐骨神经阻滞麻醉后, 兔脊髓神经细胞 c-Fos 蛋白表达明显减弱, 表明细胞功能受到抑制。

苏木精-伊红染色显示, 与对照组比较, 实验组脊髓灰质后角III、IV板层的小圆细胞, 前角IX板层外侧大多角细胞均有尼氏体减少, 胞核密度降低并偏向一端, 细胞形态改变明显( $P < 0.05$ ); 但脊髓软脊膜没有变化( $P > 0.05$ ), 见图1, 2。



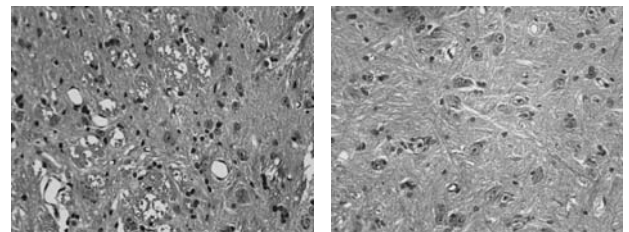
A: 注射生理盐水的对照组

B: 注射利多卡因的实验组

注: 与对照组比较, 实验组脊髓前角IX板层外侧大多角细胞均有尼氏体减少, 胞核密度降并且低偏向一端, 细胞形态改变明显。

图1 坐骨神经阻滞麻醉前后兔脊髓前角神经细胞的形态变化(苏木精-伊红染色,  $\times 400$ )

Figure 1 Morphological changes of spinal cord anterior horn nerve cells before and after ischiadic nerve block (Hematoxylin-eosin staining,  $\times 400$ )



A: 注射生理盐水的对照组

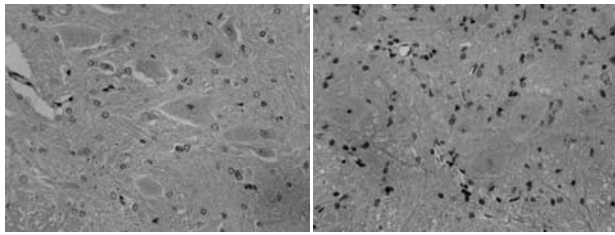
B: 注射利多卡因的实验组

注: 与对照组比较, 实验组脊髓后角III、IV板层的小圆细胞均有尼氏体减少, 胞核密度降低, 并且偏向一端, 细胞形态改变明显。

图2 坐骨神经阻滞麻醉前后兔脊髓后角神经细胞的形态变化(苏木精-伊红染色,  $\times 400$ )

Figure 2 Morphological changes of spinal cord posterior horn nerve cells before and after ischiadic nerve block (Hematoxylin-eosin staining,  $\times 400$ )

免疫组织化学染色显示, 对照组脊髓灰质后角III、IV板层的小圆细胞, 前角IX板层外侧大多角细胞有棕黄色颗粒阳性反应, 密度分布均匀, 色度较深, 核仁浓缩呈深棕黄色, c-Fos表达阳性; 实验组阳性表达弱或无, 两组比较差异有显著性意义( $P < 0.05$ ), 见图3, 4。

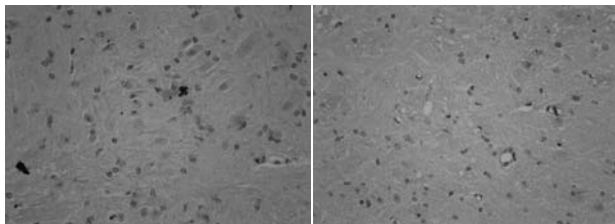


A: 注射生理盐水的对照组 B: 注射利多卡因的实验组

注: 对照组IX板层外侧大多角细胞有棕黄色颗粒阳性反应, 密度分布均匀, 色度较深, 核仁浓缩呈深棕黄色, c-Fos 表达阳性; 实验组阳性表达弱或无。

图3 坐骨神经阻滞麻醉前后兔脊髓前角神经细胞 c-Fos 蛋白的表达(免疫组织化学染色, ×400)

Figure 3 Expression of c-Fos protein in spinal cord anterior horn nerve cells before and after ischiadic nerve block (Immunohistochemistry staining, ×400)



A: 注射生理盐水的对照组 B: 注射利多卡因的实验组

注: 对照组脊髓灰质后角III、IV板层的小圆细胞有棕黄色颗粒阳性反应, 密度分布均匀, 色度较深, 核仁浓缩呈深棕黄色, c-Fos 表达阳性; 实验组阳性表达弱或无。

图4 坐骨神经阻滞麻醉前后兔脊髓后角神经细胞 c-Fos 蛋白的表达(免疫组织化学染色, ×400)

Figure 4 Expression of c-Fos protein in spinal cord posterior horn nerve cells before and after ischiadic nerve block (Immunohistochemistry staining, ×400)

### 2.3 蛛网膜下腔阻滞麻醉组脊髓神经元的变化 见表3, 4。

苏木精-伊红染色显示, 实验组脊髓灰质后角III、IV板层小圆细胞, 前角IX板层外侧大多角细胞均有尼氏体减少, 胞核密度降低核偏向一端(与坐骨神经阻滞麻醉组表现相似, 可见图1, 2), 脊髓软脊膜有水肿分层, 其细胞形态改变与对照组比较差异有显著性意义( $P < 0.05$ ), 见图5。

表3 蛛网膜下腔阻滞麻醉前后兔脊髓神经细胞苏木精-伊红染色的形态变化

Table 3 Morphological changes of rabbit spinal cord never cells after hematoxylin-eosin staining before and after subarachnoid block (n=10, %)

组别	胞浆尼氏体减少 ( $\bar{x}\pm s$ )	胞核密度降低偏移 ( $\bar{x}\pm s$ )	软脊膜水肿分层
实验组	70.15±1.87	68.74±1.62	4
对照组	16.70±2.99	13.97±2.79	1
t	35.19	37.97	38.96
P	0	0	0

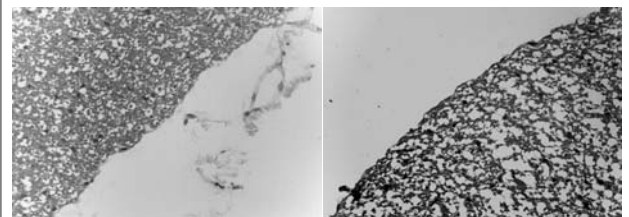
注: 实验组注射布比卡因, 对照组注射生理盐水。数据结果表明蛛网膜下腔阻滞麻醉后, 兔脊髓神经细胞形态发生明显变化。

表4 蛛网膜下腔阻滞麻醉前后兔脊髓神经细胞中 c-Fos 蛋白表达的变化

Table 4 Expression of c-Fos protein in rabbit spinal cord never cells after hematoxylin-eosin staining before and after subarachnoid block ( $\bar{x}\pm s, n=10, \%$ )

组别	细胞浆	细胞核
实验组	12.31±1.60	12.31±1.60
对照组	68.89±1.35	68.05±1.31
t	60.35	60.22
P	0	0

注: 实验组注射布比卡因, 对照组注射生理盐水。数据结果显示蛛网膜下腔阻滞麻醉后, 兔脊髓神经细胞 c-Fos 蛋白表达明显减弱, 表明细胞功能受到抑制。



A: 注射生理盐水的对照组 B: 注射布比卡因的实验组

注: 实验组脊髓软脊膜有水肿分层。

图5 蛛网膜下腔阻滞麻醉前后兔脊髓软脊膜的变化(苏木精-伊红染色, ×400)

Figure 5 Changes of spinal pia mater before and after subarachnoid block (Hematoxylin-eosin staining, ×400)

免疫组织化学染色显示, 对照组脊髓灰质后角III、

IV板层小圆细胞, 前角IX板层外侧大多角细胞有棕黄色颗粒阳性反应, 密度分布均匀, 色度较深, 核仁浓缩呈深棕黄色, c-Fos表达阳性; 实验组阳性表达弱或无, 两组比较差异有显著性意义( $P < 0.05$ )。与坐骨神经阻滞麻醉组表现相似, 可见图3, 4。

2.4 硬膜外神经阻滞麻醉组脊髓神经元的变 见表5, 6。

表5 硬膜外腔阻滞麻醉前后兔脊髓神经细胞苏木精-伊红染色后的形态变化

Table 5 Morphological changes of rabbit spinal cord never cells after hematoxylin-eosin staining before and after extradural nerve block ( $n=10, \%$ )

组别	胞核密度降低偏移 ( $\bar{x}\pm s$ )	胞浆尼氏体减少 ( $\bar{x}\pm s$ )	软脊膜水肿分层
实验组	69.76 $\pm$ 1.40	67.63 $\pm$ 2.67	0.2
对照组	12.90 $\pm$ 0.93	12.31 $\pm$ 1.60	0
<i>t</i>	75.61	39.75	0
<i>P</i>	0	0	1

注: 实验组注射利多卡因, 对照组注射生理盐水。数据结果表明硬膜外腔阻滞麻醉后, 兔脊髓神经细胞形态发生明显变化。

表6 硬膜外腔阻滞麻醉前后兔脊髓神经细胞中 c-Fos 蛋白表达的变化

Table 6 Expression of c-Fos protein in rabbit spinal cord never cells after hematoxylin-eosin staining before and after extradural nerve block ( $\bar{x}\pm s, n=10, \%$ )

组别	细胞浆	细胞核
实验组	13.07 $\pm$ 2.00	12.03 $\pm$ 1.59
对比组	68.89 $\pm$ 1.35	68.89 $\pm$ 1.35
<i>t</i>	51.71	60.94
<i>P</i>	0	0

注: 实验组注射利多卡因, 对照组注射生理盐水。数据结果表明硬膜外腔阻滞麻醉后, 兔脊髓神经细胞 c-Fos 蛋白表达明显减弱, 表明细胞功能受到抑制。

苏木精-伊红染色显示, 实验组脊髓灰质后角III、IV板层小圆细胞, 前角IX板层外侧大多角细胞均有尼氏体减少, 胞核密度降低偏向一端, 其细胞形态改变与对照组比较差异有显著性意义( $P < 0.05$ ); 脊髓软脊膜没有变化( $P > 0.05$ ), 与坐骨神经阻滞麻醉组表现相似, 可见图1, 2。

免疫组织化学染色显示, 对照组脊髓灰质后角III、IV板层小圆细胞, 前角IX板层外侧大多角细胞有棕黄色颗粒阳性反应, 密度分布均匀, 色度较深, 核仁浓缩呈深棕黄色, c-Fos表达阳性; 实验组阳性表达弱或无,

两组比较差异有显著性意义( $P < 0.05$ )。与坐骨神经阻滞麻醉组表现相似, 可见图3, 4。

2.5 各组间脊髓神经元的比较 坐骨神经阻滞麻醉实验组与蛛网膜下腔阻滞麻醉实验组软脊膜分层发生率差异有显著性意义( $P=0$ ), 神经细胞形态变化( $F=0.2394, P=0.7908$ )、细胞c-Fos蛋白表达比较( $F=0.3379, P=0.7199$ ), 差异均无显著性意义。

骨神经阻滞麻醉对照组与蛛网膜下腔阻滞麻醉对照组神经细胞形态变化( $F=2.2547, P=0.1475$ )、细胞c-Fos蛋白表达比较( $F=0.1783, P=0.8389$ ), 差异均无显著性意义。

坐骨神经阻滞麻醉实验组与硬膜外腔阻滞麻醉实验组神经细胞形态变化( $F=0.2394, P=0.7908$ )、细胞c-Fos蛋白表达( $F=0.3379, P=0.7199$ )、软脊膜变化( $P=1$ )比较, 差异均无显著性意义。

坐骨神经阻滞麻醉对照组与硬膜外腔阻滞麻醉对照组神经细胞形态变化( $F=2.2547, P=0.1475$ )、细胞c-Fos蛋白表达比较( $F=0.1783, P=0.8389$ ), 差异均无显著性意义。

蛛网膜下腔阻滞麻醉实验与硬膜外腔阻滞麻醉实验组软脊膜分层发生率差异有显著性意义( $P=0$ ), 神经细胞形态变化( $F=0.2394, P=0.7908$ )、细胞c-Fos蛋白表达比较( $F=0.3379, P=0.7199$ ), 差异均无显著性意义。

蛛网膜下腔阻滞麻醉对照组与硬膜外腔阻滞麻醉对照组神经细胞形态变化比较( $F=2.2547, P=0.1475$ )、细胞c-Fos蛋白表达比较( $F=0.1783, P=0.8389$ ), 差异均无显著性意义。

### 3 讨论 Discussion

3.1 局部麻醉药 局部麻醉药是在局部发生感觉(痛温觉)及运动(肌力)消失的效果, 应用后对神经或肌肉无损伤, 其麻醉范围小, 不良反应少, 较安全。实验选用的盐酸利多卡因和盐酸布比卡因具有一定的代表性。

目前局部麻醉药产生神经阻滞的确切机制尚不清楚, 在表面电荷学说、膜膨胀学说和受体部位学说中, 又以受体部位学说受重视。该学说认为局部麻醉药是通过神经细胞膜钠通道的阻滞, 使钠通道失活来阻滞神经传导。

颜光美<sup>[2]</sup>认为, 在神经阻滞时痛觉先消失, 然后是冷觉、温觉、触觉和压觉消失, 最后为运动神经麻醉; 麻醉消失时顺序相反。

3.2 周围神经阻滞麻醉与尼氏体的关系 实验结果显示, 坐骨神经阻滞麻醉, 腰麻, 硬膜外阻滞麻醉后, L<sub>5</sub>、L<sub>6</sub>、L<sub>7</sub>节段脊髓后角III、IV板层小细胞, 脊髓前角IX板层外侧大多角细胞胞浆尼氏体减少, 向外周移位, 细胞核密度减低, 核偏向一端。对照组脊髓神经细胞胞浆尼

氏体分布均匀, 胞核密度均匀无偏移。

尼氏体光镜下呈嗜碱性的颗粒或小块状。不同神经元尼氏体的形状、数量和大小不一。一般大神经元, 尤其是大运动神经元的尼氏体丰富而粗大, 犹如虎皮斑纹样; 小神经元的尼氏体则较小而少。电镜下尼氏体是由平行排列的粗面内质网和游离核糖体构成的。

当代谢功能出现障碍时尼氏小体的形态可发生变化。当神经元损伤、过度疲劳和衰老时均能引起尼氏体的减少、解体, 甚至消失<sup>[3]</sup>。坐骨神经横断常致脊髓前角运动神经元发生轴突反应, 形态上表现为尼氏体溶解, 核偏位等改变<sup>[4]</sup>。所以实验中的神经细胞尼氏体向周围分布, 细胞核偏向一端, 说明细胞功能受到抑制。

尼氏体溶解时细胞受损, 胞浆内成分水解, 损害不重时可以完全恢复, 因此它是神经元的急性可逆性变性过程<sup>[5]</sup>。因此, 麻醉作用后神经细胞的尼氏体逐渐增加, 向核周围分布<sup>[6]</sup>。所以, 正常麻醉是一个可逆的过程, 有待进一步研究。尼氏染色中尼氏体受染后呈块状(形如虎斑)或颗粒状, 核周围尼氏体颗粒较大, 近边缘处较小而细长, 如在生理情况下尼氏体大而数量多, 反映神经细胞合成蛋白质的功能较强, 在神经元受损时, 尼氏体的数量可减少甚至消失。通过尼氏染色后对尼氏体的观察来了解神经元的损伤<sup>[7]</sup>。陈德英等<sup>[7]</sup>探讨了神经元尼氏染色法在外周神经损伤研究中的应用, 实验建立坐骨神经切断损伤模型, 脊髓L<sub>4-6</sub>腰膨大连续石蜡切片, 焦油紫尼氏染色的方法。结果显示坐骨神经切断损伤后, 脊髓L<sub>4-6</sub>腰膨大前角外侧大、中型神经元较正常对照组数量减少, 存活率下降, 细胞轮廓不清, 尼氏体模糊, 表明焦油紫染色显示尼氏体的方法适用于坐骨神经损伤时脊髓腰膨大前角神经元的形态学研究。

实验结果正说明外周神经阻滞麻醉后, 脊髓神经细胞形态发生改变, 细胞c-Fos蛋白表达减弱或消失, 是脊髓神经细胞功能受到了抑制。此外, 蛛网膜下腔阻滞麻醉后脊软膜有水肿, 分层或断裂; 对照组软脊膜无变化。局部麻醉药直接作用于脊髓软脊膜后有血管扩张, 软脊膜不同程度的水肿, 浓度太大时可能分层断裂, 说明蛛网膜下腔阻滞麻醉对软脊膜刺激较大。

**3.3 周围神经阻滞麻醉与c-Fos蛋白表达之间的关系**  
对照组脊髓神经细胞c-Fos阳性表达, 显示染成棕黄色颗粒, 大部分为胞浆着色, 胞核也有着色; 阻滞麻醉后的脊髓神经细胞c-Fos免疫组织化学表达不明显或阴性。

c-fos基因是即刻早期基因, 正常生理情况下在多种细胞中均有低水平的表达, 起到参与细胞的生长、分化、信息传导等生理功能, 其特征为静止细胞在受到外界多种刺激时能快速、早期表达<sup>[8]</sup>。

多种麻醉药单纯给药均可引起中枢神经系统c-fos基因的表达, 但表达的程度和部位有差异<sup>[9]</sup>。局部麻醉药可阻断神经冲动的传导, 使c-fos基因表达减弱<sup>[10]</sup>。

资料已证实各种伤害性刺激(包括疼痛, 创伤, 精神心理因素等)均可诱导多种组织细胞中c-fos基因的表达<sup>[11]</sup>。王贤裕等<sup>[9]</sup>观察星状神经节阻滞对甲醛致痛兔脊髓背角c-fos基因表达的影响, 探讨其治疗疼痛的可能机制。实验在星状神经节阻滞模型建立1周后, 19只日本大耳白兔随机分为假手术组5例、星状神经节阻滞组和对照组各7例: 假手术组麻醉后灌注固定取脊髓C<sub>6-8</sub>, 星状神经节阻滞组和对照组在皮下注射甲醛1 h后, 星状神经节阻滞组经导管注入0.25%布比卡因0.5 mL, 对照组用等量的生理盐水, 观察1 h后灌注固定取脊髓; 用免疫组织化学方法检测脊髓背角Fos含量的变化。结果显示星状神经节阻滞组和对照组刺激侧脊髓背角内可见大量的Fos阳性神经元, Fos阳性神经元主要集中分布于背角I、II层, 但两组间Fos的A值无明显差别( $P > 0.05$ ); 而对侧脊髓和假手术组内未见或偶见少量Fos阳性神经元, 表明皮下注射甲醛可引起兔脊髓背角c-fos基因的表达, 但星状神经节阻滞对其无明显影响。但在一定程度上c-fos基因被诱导的数量与所受刺激强度一致, 而且c-fos基因表达的数量和时程随刺激强度、时间及性质而异。许多研究表明, 在中枢神经系统中伤害性刺激诱导的c-fos表达多数情况下可被麻醉药所抑制<sup>[12]</sup>。实验结果说明神经阻滞麻醉可抑制脊髓神经细胞中c-Fos蛋白的表达。

目前认为c-fos基因产物Fos蛋白具有核内调节因子的功能, 它可与其他核蛋白, 如JUN蛋白通过LZ形成转录因子AP-1, 与DNA结合以调控某些效应基因的表达。已有证据指出Fos蛋白调控脑啡肽、NGF、cck-8等基因表达。研究认为c-fos基因在神经网络的建立, 神经递质或调质的合成与相互平衡方面具有重要作用<sup>[13]</sup>。周围神经阻滞麻醉后阻断了神经冲动的传导, 减弱了转录因子AP-1与DNA结合, 调控c-fos效应基因的表达。有学者利用c-fos技术对全麻药物的作用机制、疼痛机制、应激反应已进行了不同角度和深度的探讨<sup>[13]</sup>。

局部麻醉药是通过对神经细胞膜钠通道的阻滞, 使钠通道失活来阻滞神经传导的<sup>[14]</sup>。实验中周围神经阻滞麻醉(坐骨神经阻滞麻醉、硬膜外神经阻滞麻醉和腰麻)后, 神经细胞膜的钠通道被阻滞, 神经兴奋的传导被抑制, 细胞核c-fos基因接受的信号减少, 表达的蛋白相应减少。这就进一步说明周围神经阻滞麻醉后, 脊髓神经细胞的功能受到了抑制, 但这种功能抑制到底对神经功能的影响有多大有待进一步探讨研究。

实验通过对标本苏木精-伊红染色观察脊髓灰质后角III、IV板层小圆细胞, 前角IX板层外侧大多角细胞的形态, 免疫组织化学SP法检测c-Fos蛋白在上述神经细胞中的表达, 从而探讨周围神经阻滞麻醉对脊髓节段的影响。现得出以下结论: 兔坐骨神经阻滞麻醉、蛛网膜下腔阻滞麻醉、硬膜外阻滞麻醉后, 相应节段脊髓后角

III、IV板层小圆细胞, 前角IX板层外侧大多角细胞有变化, 苏木精-伊红染色显示胞浆尼氏体减少, 向外周分布, 细胞核密度减低向一端移位。此外, 蛛网膜下腔阻滞麻醉后脊软膜有水肿, 分层或断裂。免疫组织化学显示, 对照组c-Fos阳性表达细胞显示棕黄色颗粒, 大部分为胞浆着色, 胞核也有着色; 阻滞麻醉后的细胞c-Fos表达有下降趋势。

**作者贡献:** 李霞、张勇进行实验设计, 实验实施为李霞、张勇, 实验评估为张勇, 资料收集为李霞、张勇, 李霞成文, 张勇审核, 李霞、张勇对文章负责。

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其它经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

**伦理要求:** 实验过程中对动物的处置符合2009年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

**学术术语:** 在神经干、丛、节的周围注射局部麻醉药, 阻滞其冲动传导, 使所支配的区域产生麻醉作用, 称神经阻滞。神经阻滞只需注射一处, 即可获得较大的麻醉区域。但有引起严重并发症的可能, 故操作时必须熟悉局部解剖, 了解穿刺针所要经过的组织, 以及附近的血管、脏器和体腔等。

**作者声明:** 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

#### 4 参考文献 References

- [1] 王太一, 韩子玉. 实验动物解剖图谱[M]. 沈阳: 辽宁美术出版社, 2000: 9-291.
- [2] 颜光美. 药理学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2004: 93-95.
- [3] 李信明, 魏安宁, 陆杰, 等. 高强度超声损伤兔坐骨神经后恢复情况的实验研究[J]. 中华麻醉学杂志, 2004, 24(3): 38-42.
- [4] 吴叶, 侯树助, 何海龙, 等. 颈髓慢性受压与减压对神经细胞凋亡的影响[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2006, 16(7): 40-43.
- [5] 万斌, 马建敏, 付文学, 等. 微囊化兔坐骨神经组织移植对大鼠脊髓损伤神经元的影响[J]. 解剖学杂志, 2006, 29(4): 69-73.
- [6] 张惠君, 陈以慈. 坐骨神经损伤后AChE在大鼠脊神经节与脊髓前、后角中动态变化的分析比较[J]. 解剖学研究, 1994, 16(2): 30-34.
- [7] 陈德英, 程赛宇, 肖燕, 等. 神经元尼氏染色法在坐骨神经损伤研究中的应用[J]. 创伤外科杂志, 2001, 3(S1): 35-37.
- [8] 曾令全, 魏安宁, 傅洪, 等. 腹腔神经节毁损对胃扩张兔脊髓c-fos表达的影响[J]. 重庆医科大学学报, 2007, 32(4): 344-347.
- [9] 王贤裕, 刘菊英, 朱涛, 等. 星状神经节阻滞对福尔马林致痛兔脊髓背角c-fos基因表达的影响[J]. 郧阳医学院学报, 2003, 22(2): 16-18.
- [10] 狄美琴, 上官王宁, 倪育飞, 等. 幼兔丁卡因脊髓神经毒性损伤后凋亡相关基因的表达[J]. 温州医学院学报, 2006, 36(6): 22-25.
- [11] 吴叶, 侯树助, 何海龙, 等. 颈髓慢性压迫模型的建立及其病理改变[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2006, 16(1): 58-62.
- [12] 徐浩, 杨惠林, 唐天骊, 等. 兔脊髓缺血再灌注损伤中二次瘫痪现象与HSP70表达的研究[J]. 苏州大学学报: 医学版, 2005, 25(2): 46-48.
- [13] 王瑞辉, 戴静宜, 屈红艳, 等. 针刺对坐骨神经损伤后雪旺细胞的影响[J]. 陕西中医学院学报, 2008, 31(2): 34-35.
- [14] 屈强, 史忠, 杨天德. c-fos原癌基因的表达与全身麻醉[J]. 医学综述, 2004, 10(12): 743-744.