

川芎嗪在骨骼肌缺血再灌注损伤中的作用

张志强 卫小春 冯皓宇

(山西医科大学第二医院,山西 太原 030001)

【摘要】 目的 探讨中药川芎嗪在骨骼肌缺血再灌注损伤中是否有保护作用。方法 健康成年家兔 14 只,随机分对照组、实验组,每组 7 只。应用家兔肢体缺血再灌注损伤动物模型,在恢复血流再灌注当时,实验组静脉输注川芎嗪注射液,对照组静脉输注 0.9%生理盐水。测定缺血前、缺血后、再灌注后血浆丙二醛(MDA)、乳酸脱氢酶(LDH)及超氧化物歧化酶(SOD)的含量。制备骨骼肌标本进行光镜及透射电镜观察。结果 实验组在恢复血流并注射川芎嗪后 1 小时,其血浆 MDA、LDH 的含量较对照组明显降低($P < 0.01$),而 SOD 较对照组明显升高($P < 0.01$)。光镜及电镜下观察可见实验组骨骼肌损害轻于对照组。结论 实验表明中药川芎嗪对骨骼肌缺血再灌注损伤有保护作用。

【关键词】 中草药; 骨骼肌; 血液灌注

Effect of ligustrazine on ischemia-reperfusion injury of skeletal muscle in rabbits ZHANG Zhi-qiang, WEI Xiaochun, FENG Haoyu. The Second Hospital of Shanxi Medical University (Shanxi Taiyuan, 030001)

【Abstract】 Objective To explore the effect of ligustrazine on ischemia-reperfusion injury of skeletal muscle in rabbits. **Methods** 14 healthy adult rabbits were randomly divided into experimental and control groups (each of 7 rabbits). The ischemia-reperfusion injury animal models were produced in rabbits limbs. When blood was reperfused after ischemia, ligustrazine solution was infused intravenously into rabbits of experimental group and normal saline injection into control group. The contents of malondialdehyde (MDA), lactic dehydrogenase (LDH) and superoxide dismutase (SOD) in serum were detected at the times of preischemia, postischemia and post-reperfusion. Skeletal muscle samples were obtained for light microscopy and electron microscopy. **Results** The contents of MDH and LDH in experimental group were significantly lower than that of control group ($P < 0.01$), but the content of SOD was obviously higher than that of control group ($P < 0.01$). In light microscope and electron microscope examinations, the skeletal muscle injury of experimental group was of a milder degree than that of control group. **Conclusion** Ligustrazine might have protective effect on skeletal muscle ischemia-reperfusion injury.

【Key Words】 Chinese medical herb; Skeletal muscles; Hemo-perfusion

骨骼肌缺血再灌注损伤是骨科临床常见病变,其发生与氧自由基有明显关系^[1]。川芎嗪是中药川芎中的一种有效成分,在治疗心血管疾病、改善微循环方面有较好的作用^[2]。也有报道川芎嗪注射液在休克、心肌、肝脏、大脑的再灌注损伤中有保护效应^[3-5]。但川芎嗪对骨骼肌缺血再灌注损伤的作用未见报道。本研究旨在探讨中药制剂川芎嗪对骨骼肌缺血再灌注损伤的保护及其机制。

1 材料和方法

1.1 动物分组及模型建立 健康成年家兔 14 只,体重 1.8 ~ 3.0kg,雌雄不限,随机分为对照组和实验组,每组 7 只兔。采用我们过去的肢体缺血再灌注损伤的动物模型制作方法^[6],3%戊巴比妥钠 30mg/kg 耳缘静脉麻醉,右后肢股三角处剪毛,消毒铺单,切开皮肤游离出股动静脉,用血管夹阻断股动静脉,并在股动静脉下用橡皮带弹性环扎后肢以阻断侧支循环,2 小时后取下血管夹及橡皮带,恢复肢体血供。

实验组在恢复血流再灌注时立即从耳缘静脉缓注磷酸川芎嗪注射液 10mg/kg (川芎嗪含量为 40mg/2ml,常州制药厂生产),对照组在恢复血流再灌注时立即从耳缘静脉缓注 0.9%生理盐水注射液。

1.2 检测项目及方法 对照组和实验组均在缺血前、缺血 2 小时、再灌注 1 小时分别从右侧股静脉采集血样。两组动物在每个时间段各选 3 只兔取同侧腓肠肌肌肉标本行光镜、电镜检查。

1.2.1 血浆丙二醛(MDA)的测定 采用硫代巴比妥酸法测定血浆中 MDA 的含量(nmol/L)。试剂盒由南京生物工程研究所提供。

1.2.2 乳酸脱氢酶(LDH)的测定 采用全自动生化分析仪(ENCORE SYSTEM 型, Baker Instruments, USA)测定血浆中 LDH 的含量(u/L)。

1.2.3 超氧化物歧化酶(SOD)的测定 采用黄嘌呤氧化酶

法测定血浆 SOD (NU/ml)。试剂盒由南京生物医学工程研究所提供。

1.2.4 光镜观察 标本取下后置 10% 甲醛中固定, 95% 乙醇及无水乙醇脱水, 浸蜡, 包埋, 切片, HE 染色, 显微镜下观察。

1.2.5 透射电镜观察 肌肉标本取下后立即放入 2% 戊二醛溶液中前固定, 经二甲胂酸钠缓冲液冲洗, 1% 钨酸后固定, 常规丙酮脱水, 环氧树脂包埋, 超薄切片, 日本电子 JELJEM-100CX 透射电镜观察。

1.3 统计学处理 所有数据以均数加减标准差表示 ($\bar{x} \pm s$), 统计学处理采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 血浆 MDA、LDH 及 SOD 的变化 实验组缺血前 MDA、LDH 与同期对照组相比无显著差异 ($P > 0.05$)。实验组与对照组缺血 2 小时后 MDA、LDH 较同组缺血前均有所升高, 但 $P > 0.05$ 。再灌注 1 小时后 MDA、LDH 进一步升高, 对照组再灌注 1 小时与缺血 2 小时相比, 有显著差异 ($P < 0.05$), 而实验组再灌注 1 小时与缺血 2 小时相比, 略有升高 ($P > 0.05$)。实验组再灌注 1 小时后 MDA、LDH 明显低于同期对照组 ($P < 0.01$)。(见表 1)

实验组缺血前 SOD 与同期对照组相比无显著差异 ($P > 0.05$)。缺血 2 小时后 SOD 略有降低, 与缺血前相比, 两组均无显著性变化 ($P > 0.05$)。对照组再灌注 1 小时后 SOD 明显降低, 与同组缺血 2 小时相比有显著差异 ($P < 0.01$), 而实验组再灌注 1 小时后 SOD 的含量无明显下降, 高于同期对照组 ($P < 0.01$) (见表 1)。

表 1 MDA、LDH 和 SOD 含量的变化

	对照组			实验组		
	MDA	LDH	SOD	MDA	LDH	SOD
缺血前	5.36 ± 0.43	160.5 ± 27.4	116.7 ± 5.2	5.27 ± 0.37	160.1 ± 26.3	112.9 ± 8.2
缺血后	6.07 ± 0.52	209.9 ± 8.6	112.3 ± 3.4	5.82 ± 0.36	205.2 ± 7.3	110.5 ± 9.2
再灌注	8.26 ± 0.23*	326.1 ± 9.8*	67.8 ± 7.3*	6.08 ± 0.34	220.6 ± 10.0	104.9 ± 8.5

注: *与缺血前和缺血后比较 $P < 0.05$; :与同期对照组比较 $P < 0.01$

2.2 显微结构的变化

2.2.1 光镜观察 缺血前显示正常骨骼肌结构, 横纹肌成束状, 横纹清晰, 肌浆和核未见显著变化。缺血 2 小时后, 横纹较模糊, 间质轻度水肿 (图 1)。对照组再灌注 1 小时后, 可见肌浆凝固, 核固缩 (图 2)。实验组再灌注 1 小时后, 横纹肌成束排列, 横纹较清晰, 欠整齐, 间质未见明显水肿 (图 3)。

2.2.2 透射电镜观察 缺血前显示正常的骨骼肌结构, 肌原纤维间有多量糖原颗粒及线粒体, 肌丝结构清晰, 排列规则。缺血 2 小时后, 可见线粒体稍肿胀, 嵴存在或减少, 线粒体内外膜结构完整 (图 4)。对照组再灌注 1 小时后, 组织水肿明显, 线粒体重度肿胀、扩张, 嵴大部分消失, 线粒体膜模糊、破坏 (图 5)。实验组再灌注 1 小时后, 与同期对照组相比, 细胞

肿胀明显减轻, 线粒体部分恢复正常 (图 6)。

3 讨论

氧自由基能攻击生物膜中的多不饱和脂肪酸, 引发脂质过氧化作用, 引起细胞损伤。丙二醛是自由基引起的脂质过氧化终末代谢产物, SOD 活力的高低间接反映了机体清除自由基的能力, 测定 MDA、SOD 含量, 可间接反映氧自由基的生成及其所致组织细胞损伤的程度^[7]。

骨骼肌对缺血损伤非常敏感。正常时骨骼肌细胞内含有丰富的 LDH, 当肢体缺血达到一定程度时, 骨骼肌细胞受到损伤, 细胞膜通透性增高, 细胞内酶可大量释放入血, 故血中 LDH 含量的变化也可作为缺血后骨骼肌细胞损害的指征。

本实验结果显示, 再灌注 1 小时后, 对照组 MDA、LDH 较缺血前及缺血 2 小时明显升高, 组织损伤较缺血 2 小时更为显著。显微结构观察也发现缺血 2 小时恢复血流再灌注, 细胞损害并未停止而是进一步加重, 即发生缺血再灌注损伤。

本实验结果表明, 川芎嗪可减轻骨骼肌缺血再灌注损伤。用药后 MDA 及 LDH 含量明显下降, 说明自由基引发的脂质过氧化过程减弱, 细胞损伤程度减轻。而反映机体清除自由基能力的 SOD 用药后明显升高。光镜及电镜的观察结果也表明肌细胞损伤程度较同期对照组明显减轻, 说明组织已恢复了有氧代谢及正常细胞呼吸的功能。

再灌注损伤是以缺血损伤为基础的, 在微循环中自由基损伤血管内皮细胞, 使内皮层胶原和基膜中的透明质酸发生不可逆性降解, 激活细胞趋化性, 使血小板和颗粒细胞聚集, 作为炎症反应的一部分, 聚集的颗粒细胞又可释放出更多的自由基。自由基还可破坏前列腺环素与血栓素的平衡, 促使产生有害的血栓素。川芎嗪有改善微循环的作用, 给家兔静脉注射川芎嗪可观察到肠系膜微循环血流速度和微血管开放数目增加, 其中对微动脉作用最为明显^[8]。另外也有实验证实川芎嗪能抑制组织缺血再灌注时血栓素 A₂ 的释放和促进合成前列腺环素, 改善两者之间的平衡, 疏通微循环, 有效恢复组织灌流, 从而起到抗缺血再灌注损伤的作用^[9], 这与本文实验结果相符。

缺血再灌注损伤与细胞内钙超载有关, 有人认为川芎嗪是一种新的“钙拮抗剂”, 可以阻断钙离子的内流, 发生抗血小板聚集的作用, 减少骨骼肌细胞的损伤^[8]。有关心肌再灌注损伤的研究表明川芎嗪主要是阻滞电压依赖性慢通道, 并非特异性受体竞争拮抗剂。

另一方面, 川芎嗪可升高内源 SOD 的活性, 清除氧自由基, 进而降低组织脂质过氧化程度。

本实验结果表明, 川芎嗪对骨骼肌缺血再灌注损伤有保护作用。与外源性 SOD 相比, 川芎嗪为中药制剂, 不存在排异反应; 药源广泛, 无明显毒副作用; 川芎嗪具有吸收迅速、分布广泛的特点。因此, 川芎嗪可应用于骨骼肌缺血再灌注损伤的治疗。

(本文图 1~6 见插页 1)

参考文献

- 1 卫小春, 张志强, 韩来春. 甘露醇对肢体缺血再灌注损伤的保护作用. 中华骨科杂志, 1995, 15(6): 370-372.
- 2 王玉良, 巴彦坤. 川芎嗪对心血管组织的药理和电生理作用——

一种新的钙拮抗剂. 中西医结合杂志, 1985, 5(5): 291-293.

3 王万铁, 林丽娜, 徐正介, 等. 氧自由基在家兔低血容量性休克一再灌注损伤中的作用及川芎嗪的保护效应. 中国危重病急救医学, 1997, 9(5): 259-261.

4 林丽娜, 王万铁, 徐正介, 等. 川芎嗪抗心肌缺血再灌注损伤的临床研究. 中国中西医结合杂志, 1997, 17(5): 261-263.

5 Wu W, Qiu F. Experimental study on ischemia and reperfusion injury of rat liver and effects of ligustrazine and salvia compound. Chin Med Sci J, 1994, 9(3): 162-166.

6 Wei XC, Zhang ZQ, Han LC. Protective effect of anisodamine on

reperfusion injury of skeletal muscles in rabbit. Acta Orthop Scand, 1998, 69(6): 633-637.

7 Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidation tissue injury. Free Radic Biol Med, 1990, 9(6): 515-540.

8 徐正介, 王万铁. 川芎嗪对心肌缺血再灌注损伤心脏血流动力学的影响. 温州医学院学报, 1994, 26(3): 129.

9 毛象刚. 川芎嗪的药理作用及临床应用. 医师进修杂志, 1989, 12(8): 31-33.

(收稿: 2001-03-20 修回: 2001-08-10 编辑: 房世源)

短篇报道

三维立体牵引治疗腰椎间盘突出症 106 例

姚克银 李文银 李玉林

(宁夏回族自治区中医医院, 宁夏 银川 750021)

腰椎间盘突出症是临床引起腰腿痛的常见病之一, 近年来有发病率逐渐增高的趋势。目前, 治疗方法颇多, 各有特点, 我们从 2000 年 1 月至 2000 年 10 月, 采用“济南华飞产业公司”生产的“长弓”牌三维多功能“C 型”牵引床牵引腰椎间盘突出症患者 106 例, 取得较满意效果, 现介绍如下。

1 临床资料

本组 106 例均为住院患者, 其中男 62 例, 女 44 例; 年龄 22~62 岁, 病程最短 3 天, 最长 11 年, 所有病例均经 CT、MRI、椎管内造影并结合临床症状与体征以确诊。诊断标准参照《黄家驷外科学》。腰椎间盘突出类型, L_{3,4} 突出 5 例, L_{4,5} 突出 54 例, L₅S₁ 突出 32 例, 两节椎间盘突出者 13 例, 三节椎间盘突出者 2 例; 中央型 23 例, 左旁型 49 例, 右旁型 34 例。腰椎间盘突出伴椎管狭窄者 11 例, 后纵韧带钙化者 6 例, 黄韧带肥厚者 8 例。

2 治疗方法

2.1 严格术前准备确定适应症 嘱患者排尽二便, 精神放松, 医者将依据病人的症状体征及各种检查结果来确定牵引的快慢、距离、成角方向及角度, 旋转方向及角度并输入计算机。

2.2 体位固定 病人俯卧于牵引床上, 固定好胸背部及骨盆, 使病变椎体间隙位于头、胸板与臀腿板交界处, 拉紧每一条固定带。

2.3 牵引保持 医者启动牵引床, 双手重叠按压于后腰部, 体会相应的棘突在牵引过程中的移动变化以及牵引的力量是否适宜, 给予一定支点力量的顶推与按压。各种牵引动作完成后保持 5~10 分钟。

2.4 术后静卧 牵引后将患者平稳移动至病床上, 绝对平卧 8 小时, 卧床 3 天, 酌情给予抗炎脱水、活血化瘀药物治疗。

3 治疗结果

疗效评定标准参照蒋位庄^[1]分级法: 优 58 例, 良 34 例,

可 13 例, 差 1 例。有 5 例牵引后出现胸腰部软组织损伤疼痛, 属固定带过紧所致, 休息数天后可消失。

4 讨论

通过上述 106 例病人的治疗观察, 我们认为牵引的正确与否直接影响疗效。根据腰椎间盘突出症的病理机制及牵引床的治疗原理, 我们制定了具体的治疗措施: 快慢牵引选择: 年轻体壮者, 可选快牵, 反之则选慢牵。根据身体状况在 60~70mm 范围内选择。成角方向及度数: 根据放射学及体格检查, 腰椎生理弧度变直或反张者, 屈曲角度小一些或后伸成角, 腰椎生理弧度大者则屈曲角度大一些, 一般应在患者的腰功能范围内, L₅S₁ 为 -20°~-25°, L_{4,5} 为 -10°~-20°, L_{3,4} 为 +10°~-10°。旋转方向及度数: 左侧突出者左旋, 右侧突出者右旋, 中央型突出者按腿痛侧旋转, 双节段以上突出物方向不一致者据痛侧及体征综合考虑, 旋转的度数一般均在患者的腰功能范围内, 偏旁型突出者角度大一些, 中央型突出者及突出物大者角度小一些或不旋转, 一般 L_{4,5}、L₅S₁ 转角 ±15°~20°, L_{3,4} 转角 ±10°~15°。具体操作中, 向一侧旋转牵开后, 如病人自觉腰腿痛症状减轻或消失, 则不再向另一侧旋转牵引, 反之, 如病人自觉症状加重或患肢发麻, 可使床复位, 再向另一侧旋转牵引, 这样, 可达到更好的效果。

我们在牵引过程中, 最后都平牵一次, 闪压 10~15 次, 保持 5~10 分钟, 这样, 在纠正了椎间失稳, 达到椎间载荷相对平衡后, 再做一次平牵加闪压, 以进一步力求突出物还纳、神经根粘连解除。值得注意的是: 牵引过程, 牵引床复位时, 医者应用力向前推住头胸板, 使其缓慢复位, 牵引结束后, 应在牵引状态下松开病人, 平衡抬至平板车上, 这样, 可防止牵引床猛力复位时造成椎间盘及后关节的医源性损伤。

参考文献

1 蒋位庄. 重症椎间盘源性腰腿痛的辨证论治研究. 中医杂志, 1985, 26(9): 29.

(收稿: 2001-01-19 编辑: 李为农)

胶原海绵与兔软骨细胞体外三维培养的实验研究

(正文见 75 页)

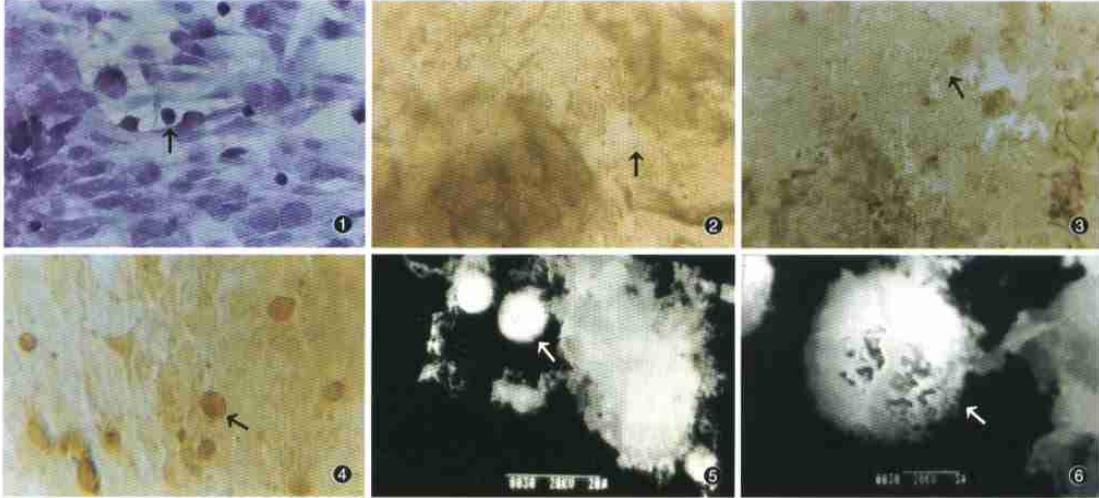


图1 无支架单层细胞培养3周, 软骨细胞增殖, 为梭形, ↑所示为核分裂相软骨细胞, 倒置显微镜 HE × 400。图2 有支架的原代细胞培养48小时, 软骨细胞较少分布于支架上, 胞体固缩, ↑所示为固缩软骨细胞, 倒置显微镜 × 100。图3 有支架的传代细胞培养3周, 细胞大量增殖, 为圆形, 分布于支架网孔中和网壁上, 软骨细胞周围有透亮陷窝, ↑所示为软骨细胞及其周围透亮陷窝, 倒置显微镜 × 100。图4 3周时, 软骨细胞—海绵复合体免疫组化染色显示软骨细胞及胞外基质Ⅱ型胶原免疫组化染色阳性反应, ↑所示为软骨细胞及胞外基质阳性反应, 免疫组化 ABC 法 × 200。图5 3周时, 软骨细胞(↑示)吸附于支架网孔和网壁上, 扫描电镜观察 × 1200。图6 在支架上生长3周的软骨细胞, 其表面均匀分布丰富的绒毛突起(↑示), 扫描电镜观察 × 5000。

川芎嗪在骨骼肌缺血再灌注损伤中的作用

(正文见 79 页)

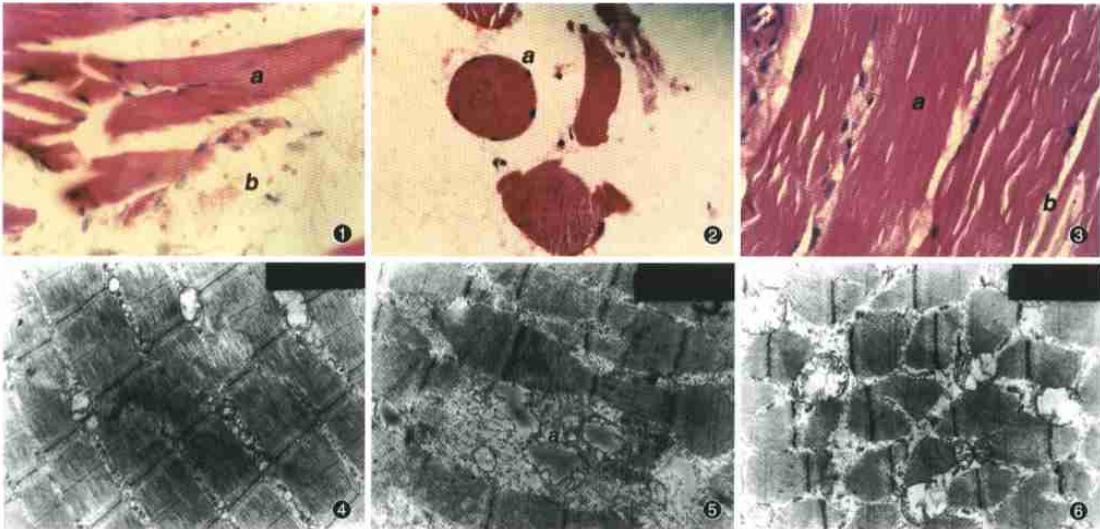


图1 缺血2小时后骨骼肌。a: 横纹较模糊; b: 间质轻度水肿 HE × 40。图2 对照组再灌注1小时后骨骼肌 a: 胞浆凝固, 核固缩 HE × 40。图3 实验组再灌注1小时后骨骼肌。a: 横纹肌成束排列, 横纹尚清晰, 欠整齐; b: 间质未见水肿 HE × 40。图4 缺血2小时后骨骼肌。a: 线粒体稍肿胀, 嵴部分消失, 线粒体内外膜结构完整。透射电镜 × 10000。图5 对照组再灌注1小时骨骼肌。a: 线粒体重度肿胀, 扩张, 嵴大部消失, 线粒体膜模糊、破坏, 组织水肿明显。透射电镜 × 10000。图6 实验组再灌注1小时后骨骼肌。a: 线粒体部分恢复正常。透射电镜 × 10000。