

活血化瘀治则对模拟神经根炎治疗作用的实验研究

中国中医研究院骨伤科研究所

蒋位庄 范明 刘小兔
田绍成 周卫 赵永刚

椎间盘突出症引起急性腰腿痛的主要原因,是由于纤维环破裂,髓核中的粘多糖物质进入椎管,产生化学性刺激,使局部出现自身免疫反应,该处无氧代谢增加,乳酸堆积,氢离子浓度增高,激惹神经感受器,而导致腰腿痛。突出物附近的神经根受到刺激而致充血和水肿,肉芽样组织增生,此类变化属于“污秽之血不行,乃至瘀血内结”,导致经络受阻,是属祖国医学中的筋骨痹痛症范围。自1978年以来,我们采用活血化瘀,利气软坚之法,对椎间盘源性急性腰腿痛患者,自拟腰痛I号方内服,取得较满意的疗效。为进一步了解中药对该症的作用机理,我们选用Wistar大白鼠类动物,做物理和化学性神经根炎的制模和对腰痛I号方的实验研究。随机分为用药和空白对照两组,分别对大白鼠的触觉、痛阈、运动和肌电图以及组织形态学和生物化学指标等变化,作了系统的观察和研究,此项研究结果证明,活血化瘀、利气软坚治则对物理化学性神经根炎,有减轻炎症反应程度、缩短炎症期和减轻结缔组织形成的作用,从实验大鼠的行为反应中,观察到能促进感觉、运动功能和肌力的恢复。本文将实验结果作一些报导。

一、动物实验模型

根据药典所示,我们采用了直径为0.5cm的定量滤纸片和长效致炎剂0.5%福尔马林的双重致炎方法,造成神经根炎症模型。具体方法如下:

1.把定量滤纸片用打孔器打成直径为

0.5cm的圆片,在微量天平上测出其重量为2.1mg。

2.从药典中选用一种长效致炎剂—0.5%福尔马林,致炎作用为两周。

3.把重量为2.1mg的定量圆型滤纸片浸入0.5%的福尔马林液中,浸泡24小时,取出时湿的定量滤纸片重为6.5~6.6mg。

4.把粉剂戊巴比妥用生理盐水配制成0.4%的溶液,按大白鼠的重量,每100克腹腔注射1毫升,即可达到理想的麻醉深度。

5.将150克左右的大白鼠,在戊巴比妥麻醉下常规备皮,消毒、铺巾,以骶骨上方第二个棘突为中心,沿棘突纵行切开皮肤,皮下及深筋膜,大约为1.5cm,用尖刀锐性分离棘突两侧的肌肉,暴露棘突及两侧椎板,用咬骨钳咬开两侧横突以上椎板,并向上翻开,显露椎管内的脊髓,在脊髓右侧第四腰神经根的腋下,放置已制备好的定量滤纸片,使上翻的椎板复原,逐层缝合,无菌包扎。

二、实验方法

1.药物:由临床应用多年的自拟腰痛I号方作为实验用药,主要作用是活血化瘀、理气软坚。由川芎、当归、赤芍、桃仁、红花、鸡血藤、乳香、没药、五灵脂、香附、制草乌、茯苓、枳实、泽泻、郁金、三七粉共十六味中药组成。根据中药“本草纲目”所述,川芎、当归、桃仁、红花、乳香、没药均为活血化瘀之药,有化瘀通络,止痛之功效;枳实、郁金、香附、三七粉皆有行气理气,疏导之功效,散瘀破血,破积软坚的

作用。

根据成人常用量 1 付/日 (成人按体重为 50kg, 每日一付, 药煎液为 200cc, 即 4cc/kg), 模型大鼠用药根据“中草药有效成分的研究”一书规定, 应扩大用药量 20 倍以上, 故设计为 100cc/kg、125cc/Kg 和 150cc/Kg 三个梯度差计量组, 观察出最有效的药物剂量为 100cc/Kg。

2. 动物: 采用大白鼠由中国中医研究院动物房提供, 雌雄各半。大白鼠体重为 150g 左右, 在相同条件下制成模型大鼠 350 只, 随机分成给药组和不给药组。分别在术后一天、一周、二周、三周、四周、五周、六周按时观其症状, 各组随机处死部分模鼠, 分别进行解剖、病理和生物化学的定性定量分

析。

模型大鼠术后常规喂养八周, 给药组模型大鼠在术前三小时即开始灌胃给药, 以后每日两次, 共给药三十天。

三、实验结果

1. 腰痛 I 号中药对神经根炎症模鼠症状的观察

(1) 步态: 出分为六级: I 级为正常步态; II 级为可疑趾间头节运动障碍 (基本正常步态); III 级趾间关节运动障碍; IV 级除趾间关节运动障碍外, 还有踝、膝、髌大关节的运动障碍; V 级半瘫痪, 有肌肉收缩及轻微关节运动, 但不能带动身体前进; VI 级全瘫痪。结果见表 1。

表1 腰痛 I 号对模鼠步态的影响

时间 组别	一天 (%)	一 周	二 周	三 周	四 周	五 周	p
对 照	Ⅵ 33 (82.5)	28 (70)	17 (42.5)	2 (5)	1 (2.5)		
	Ⅴ 7 (17.5)	10 (25)	21 (52.5)	17 (42.5)	4 (10)		
	Ⅳ	2 (5)	2 (5)	18 (45)	5 (15)		
	Ⅲ			3 (7.5)	26 (65)	同 前	
	Ⅱ				4 (10)		
	Ⅰ						
给 药	Ⅵ 33 (82.5)	4 (10)					
	Ⅴ 7 (17.5)	23 (57.5)	9 (22.5)				
	Ⅳ	13 (32.5)	12 (30)	3 (7.5)			
	Ⅲ		19 (47.5)	23 (57.5)	8 (20)	同 前	
	Ⅱ			14 (35)	24 (60)		
	Ⅰ				8 (20)		p<0.05

模鼠喂养三十天后, 给药组模鼠步态基本恢复正常的占总数的 80%, 对照组占 10%, 经统计学处理 $P < 0.05$, 两组模鼠步态恢复情况有显著性差异, 给药组优于对照组。

(2) 肌萎缩: 模鼠双下肢相对比, 观察患侧下肢容积的改变, 共分五级: I 级双

下肢容积相同; II 级双下肢容积相差在 0.5ml 以下; III 级容积 (体积) 相差 0.5ml; IV 级容积 (体积) 相差 0.5~1ml; V 级容积 (体积) 相差 1ml 以上。结果见表 2。

三十天后, 对照组肌萎缩恢复正常的占总数的 17.5%, 给药组占 35%, 两组相比较

表2 腰痛 I 号对模鼠肌萎缩的影响

时间 组别	一天	一周	二周	三周	四周	五周	p
对照	V			4 (10)	2 (5)		
	IV	24 (60)	35 (87.5)	15 (37.5)	11 (27.5)		
	III	16 (40)	5 (12.5)	21 (52.5)	13 (32.5)	同前	
	II				7 (17.5)		
	I 40 (100)				7 (17.5)		
给药	V						
	IV	11 (27.5)	8 (20)	4 (10)	1 (2.5)		
	III	16 (40)	28 (70)	13 (32.5)	12 (30)	同前	
	II	13 (32.5)	4 (10)	23 (57.5)	13 (32.5)		
	I 40 (100)				14 (35)		

$P < 0.05$ ，有差异，腰痛 I 号对模鼠肌萎缩恢复有促进作用。

(3) 痛阈：用北京海淀电子医疗仪器厂生产的 WQ-9E 痛阈测量仪，测定条件为：量程 5mA，波形：方波阶梯高度：2，电极+，阴电极用浸有生理盐水的沙布包

裹，固定在患鼠的尾部，记录电极放在患肢末端趾间关节处，在通电量逐渐加大时以模型大鼠回头咬尾等反应为疼痛标记。这时通过的电流量 = 量程 × 指针度数，所测结果见表 3。

三十天后，两组模型大鼠痛阈恢复情况

表3 腰痛 I 号方对模型大鼠痛阈的影响

时间 组别	一天 (%)	一周	二周	三周	四周	五周	p
对照	15						
	20				1 (2.5)		
	25			1 (2.5)	2 (5)		
	30			7 (17.5)	12 (30)	基	
	35			12 (30)	4 (10)		
	40		4 (10)	7 (17.5)	11 (27.5)	本	
	45	1 (2.5)	21 (52.5)	10 (25)	7 (17.5)		
	50	27 (67.5)	15 (37.5)	3 (7.5)	3 (7.5)	上	
50 ↑ 40 (100)	12 (30)						
给药	15			2 (5)	3 (7.5)	同	
	20			12 (30)	19 (47.5)		
	25		2 (5)	1 (2.5)	10 (25)	四	
	30	2 (5)	4 (10)	6 (15)	6 (15)		
	35	3 (7.5)	10 (25)	9 (22.5)		周	
	40	7 (17.5)	22 (55)	10 (25)	2 (5)		
	45	12 (30)	2 (5)				
	50	16 (40)					
50 ↑ 40 (100)							

$P < 0.05$ ，有显著性意义，给药组痛阈恢复优于对照组。

(4) 触觉：用干棉签轻触模型大鼠足趾，对比正常侧下肢与患侧下肢触觉灵敏度的差异，具分五级。

I 级双下肢触觉相同；II 级双下肢触觉基本相同；III 级患肢触觉较正常侧下肢稍迟顿；IV 级患肢触觉较正常侧下肢迟顿，但仍有触觉；V 级无触觉。结果见表 4。

$P < 0.05$ ，给药组大鼠触觉恢复明显优

表4 腰痛 I 号对模型大鼠触觉恢复的影响

时间 组别	一天 (%)	一周	二周	三周	四周	五周	p
对 照	V 13 (32.5)	19 (47.5)	7 (17.5)				
	N 22 (55)	21 (52.5)	29 (72.5)	13 (32.5)	7 (17.5)	基	
	II 5 (12.5)		4 (10)	27 (67.5)	22 (55)		
	I				7 (17.5)	本	
给 药	V 12 (30)	5 (12.5)				同	
	N 22 (55)	15 (37.5)	6 (15)	2 (5)	1 (2.5)		
	II 6 (15)	20 (50)	33 (82.5)	29 (72.5)	13 (32.5)	前	
	I		1 (2.5)	9 (22.5)	22 (55)		
					4 (10)		

于对照组。腰痛 I 号提高了模型大鼠触觉速度。

(5) 肌电图的测定：测定对象仍为上述不同存活时期的模型大鼠，每期每组5只，将其四肢末端固定在特制的模鼠手术台上，在模型大鼠清醒状态下，用丹麦产 Disa-1500CIv型肌电图仪，用单芯同圆针电极记录。主要选择模型大鼠小腿胫前肌和小腿后侧比目鱼肌、腓肠肌。

观察项目：(1) 肌肉放松状态下，有无纤颤波，正相波及束颤波；(2) 小力收缩时20个动作电位的平均时间是否延长和平均波幅是否超过正常值；(3) 动作电位中多相波的发生率；(4) 大力收缩运动相及峰值的改变。

检查结果：5个阶梯组被检查的模型大鼠全部出现正常肌电图，动作电位平均时间及平均波幅均在正常范围内。对照组和给药组无差异说明：(1) 腰痛 I 号方对模型大鼠神经系统无损害；(2) 在制做模型大鼠过程中没有损伤神经纤维。

综上所述，可以看出，服药组在患肢步态肌力，肌肉萎缩，痛阈阈值，触觉的恢复上比对照组提前壹周以上。肌电图检查两组无差异。

2、对致炎物重量的影响

模型大鼠喂养三十天后，同时处死，打开椎板，在腰4右侧神经根腋下取出致炎滤

纸片，并做定量分析，结果见表5。

表5 腰痛 I 号对致炎物重量影响

组别	差值 $\bar{X} \pm Se$	p
对 照	-0.025 ± 1.2509	$p > 0.05$
给 药	3.86 ± 0.7445	$p < 0.05$

从表5看出，对照组的致炎滤纸片，在致炎前后重量方面没有明显差异， $P > 0.05$ ，而给药组致炎后滤纸片的重量明显减轻，经统计学处理 $P < 0.05$ ，致炎前后有明显差异。

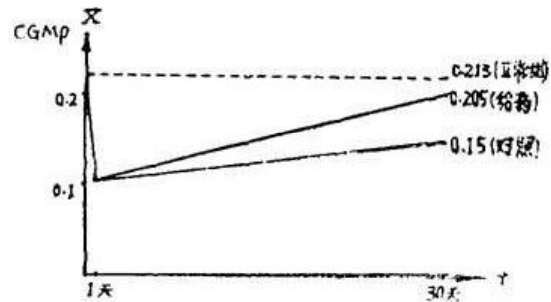
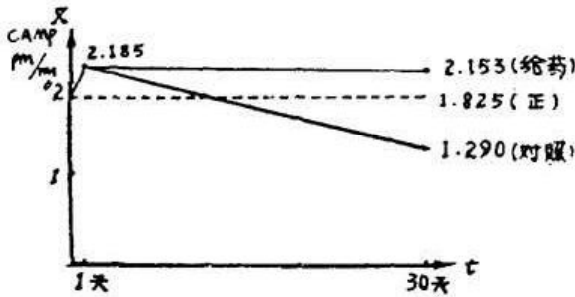
3、腰痛 I 号对模鼠脑组织内 CAMP 与 CGMP 的影响

方法：中国科学院原子能研究所竞争性蛋白结合法和放射免疫法进行测定，材料为实验大白鼠全脑，结果见表6。

表6 腰痛 I 号方药对模鼠脑组织内 CAMP、CGMP 含量影响 Pm/mg

组别	CAMP $\bar{X} \pm Se$	CGMP $\bar{X} \pm Se$
正常组	1.825 ± 0.46	0.213 ± 0.093
致模后一天	2.185 ± 0.596	0.104 ± 0.034
致模三十天(给药)	2.153 ± 0.808	0.205 ± 0.091
致模三十天(对照)	1.290 ± 0.395	0.15 ± 0.028

术后第一天 CAMP \uparrow ，CGMP \uparrow 。CAMP/CGMP 值 \uparrow 。术后三十天，给药组 CAMP 仍 \uparrow ，CGMP 稍低于正常组，CAMP/



CGMP 仍较正常组 ↑，对照组 CAMP ↓，即 CGMP ↓，CAMP/CGMP 稍高于正常组。

4、病理组织学检查

肉眼观察未见异常，镜下病理组织学观察大致分四期：

第一期（急性水肿期）：神经纤维急性水肿。可以看到纤维增粗，间隙增宽，染色变浅，出现脂质空泡。炎症反应较轻，仅见到少量淋巴细胞浸润。

第二期（炎症反应期）：神经纤维的急性水肿渐消退，炎症反应比较厉害，在异物周围的神经根有大量炎症细胞，主要是淋巴细胞，泡沫细胞，并可见到异物巨细胞反应，但尚未形成肉芽组织。

第三期（异物肉芽肿期）：有明显的异物巨细胞反应和肉芽组织形成。可以见到由毛细血管，纤维母细胞，炎症细胞所构成的肉芽组织，在肉芽组织中有大量异物巨细胞反应，巨细胞体积大，多核、胞浆丰富。

第四期（疤痕期）：肉芽组织逐渐纤维化，炎症细胞减少，纤维结缔组织增生，可见到成束的胶原纤维，异物被巨细胞吞噬、消化、吸收。

我们把用药组和对照组进行病理组织学比较，结果见表7。

从上表病理组织学观察结果看出，术后一天镜下未见组织学改变。术后两周可看到损伤部位的神经纤维肿胀，纤维间隙增宽，

表7 两组实验动物病理组织学比较

病理变化组别	时间	术后一天	二周	三周	四周	五周	六周	七周	八周
用药组	—	I	II	III	III	IV	IV	IV	IV
对照组	—	I	I~II	II	II~III	III	IV	IV	V

空泡变性等急性期反应(如图1、2)。但用药组和对照组在形态学上无明显差别。术后三周用药组出现炎症反应，可见少量的异物巨细胞，(如图3)，而对照组炎症反应比较厉害，异物巨细胞不易见到(如图4)。术后六周用药组可以见到异物被巨细胞吞噬、消化、吸收，纤维结缔组织增生，肉芽组织中有成束的胶原纤维(如图5)，两对照组从第七周才出现上述变化(如图6)。到第八周两组在形态学上差别不大，均为结缔组织增生、纤维化。可以看出，服药组在异物巨细胞反应、肉芽组织形成、炎症的消退比对照组要提前5~7天。

讨论

一、从现代医学的角度来研究，“血瘀”是与全身或局部的血液和循环障碍有关(全国第二届活血化瘀研究学术会议论文摘要汇编第十八页)。急性椎间盘突出或椎间盘突出急性发作是神经根局部的无菌性炎症，其表现为急性水肿、炎性反应、异物肉芽肿、疤痕形成等过程，使神经根受刺激和压迫。它既与祖国传统医学关于腰腿痛发病机理的论述相一致，也符合现代医学对于血瘀