

· 论 著 ·

## 中药黄芪对实验性脊髓损伤的神经保护作用

刘世清 马永刚 彭昊 卫爱林

(武汉大学人民医院骨科, 湖北 武汉 430060)

**【摘要】 目的** 探讨黄芪(AR)对脊髓继发性损伤的保护作用,并与甲基强地松龙(MP)进行对照。**方法** Wistar 大鼠 60 只,以改良 Allen 氏法制备脊髓打击伤模型,随机分为三组。测定不同药物处理后 4 h、8 h、24 h 脊髓组织线粒体 SOD 活性和 MDA 浓度以及血液流变学改变;光镜观察用药后 1、2 周黄芪对病理学改变的影响,同时进行联合行为学评分(CBS)。**结果** 黄芪处理后脊髓组织 MDA 浓度明显低于各时相对照组,SOD 活性显著升高( $P < 0.01$ ),与 MP 治疗组无明显差异( $P > 0.05$ )。血液流变学指标也有所改善。病理检查发现黄芪治疗组髓鞘受损轻微,组织赦免范围增大。**结论** 黄芪治疗可以缓解脊髓损伤后的脂质过氧化反应,改善微循环,从而发挥脊髓保护作用。

**【关键词】** 脊髓损伤; 黄芪; 神经保护

**Neuroprotective effects of Astragalus root on experimentally spinal cord injury in rats** LIU Shiqing, MA Yonggang, PENG Hao, et al. Department of Trauma and Orthopaedics, the People's Hospital of Wuhan University(Hubei Wuhan, 430060, China)

**【Abstract】 Objective** To investigate the protective effect of Astragalus root(AR) on the secondary spinal cord injury in Wistar rats and compare it with Methylprednisolone(MP) **Methods** Spinal cord injury in 60 adult rats were made at the T<sub>9</sub> segment according to Allen's method. The rats were divided randomly into three groups: group A(single spinal cord injury, SCI), group B(SCI with MP treatment group), group C(SCI with AR treatment group). The activity of SOD and the concentration of MDA of the injured tissue of the spinal cord were measured at 4, 8, 24 h after different treatment. Hemorheology were evaluated by viscometer at the same time. Pathological influence of the drugs were observed respectively with microscope at 1 and 2 weeks, meanwhile, functional status were assessed by the combined behavioral score(CBS). **Results** Comparison of the group C with group A and B showed that concentration of MDA of the injured tissue of the spinal cord were significantly lower. The activity of SOD were significantly higher in group C than in group A, there were no significant difference between the group C and group B. Moreover, index of the hemorheology were improved, biopsy found that micro-injury of the myelin sheath and more survival tissue in the group C. **Conclusion** Astragalus Root can alleviate the lipid peroxidation, and improve microcirculation, thus show a promising future for treatment of spinal cord injury.

**【Key words】** Spinal cord injury; Astragalus root; Neuroprotection

随着对脊髓继发性损伤机制的研究,越来越多的药物如甲基强地松龙(MP)、神经节苷脂(GM1)、melatonin<sup>[1]</sup>、Riluzole<sup>[2]</sup>及中药复方丹参等被证实可有效减轻脊髓损伤后的继发性损害。黄芪是传统中药,现代药理研究证实其具有改善微循环和抗自由基的作用。本实验旨在探讨其治疗脊髓损伤的可行性和有效性,现报告如下。

### 1 材料与方法

#### 1.1 脊髓损伤模型的制备与分组 成年健康 Wistar

大鼠 72 只,雌雄不拘,体重 150~250 g。3%戊巴比妥钠 30 mg/kg<sup>-1</sup>腹腔注射麻醉,俯卧位固定,腰背部脱毛,常规消毒,暴露 T<sub>8-10</sub>椎板,咬除 T<sub>9</sub>棘突、椎板,显露硬脊膜,以 5 g×6 cm 致伤力建立脊髓打击伤模型。依次缝合竖脊肌、皮下组织与皮肤。术毕肌注青霉素每只 100 000 U/d,室温保持在 20~25 ℃,每天人工挤压膀胱排尿 1~2 次直至恢复自主排尿。

Wistar 大鼠随机分为 3 组:A 组为单纯脊髓损伤组,术后腹腔注入适量生理盐水;B 组为 4 ml·kg<sup>-1</sup>

脊髓损伤加黄芪治疗组,术后立即行黄芪(成都地奥九鸿制药厂产品,黄芪含量为 2 g/ml)4 ml/kg 腹腔注射,8 h 后重复 1 次,以后改为 2 ml·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,持续 1 周;C 组脊髓损伤加 MP 治疗组,术后立即腹腔注射 MP 30 mg·kg<sup>-1</sup>,4 h 后分别重复 1 次。

**1.2 检测指标** 用药后 8 h、24 h 每组随机取 6 只动物,抽取血液,分析全血粘度(ηb)、血纤维蛋白原(Fib)、红细胞聚集指数(RAI)、红细胞变形指数(RDI)和红细胞压积(HCT)的变化。取血后,手术获取损伤区 1 cm 脊髓节段。分别采用黄嘌呤氧化法和硫代巴比妥酸(TBA)化学发光法测定 SOD 活性和 MDA 浓度(试剂盒购自南京建成生物制剂公司)。分别于用药后 1、2 周,每组随机取 6 只大鼠,按 Gale 等<sup>[3]</sup>建立的联合行为评分(Combine behavioral score, CBS)方法对脊髓损伤大鼠后肢功能进行神经学评

定。CBS 值反映脊髓损伤后神经功能的丧失程度,CBS 值越高,神经功能丧失越严重。评分后,以 4% 多聚甲醛行心室-主动脉灌注,取脊髓损伤区 0.5 cm 标本,甲醛固定,石蜡切片,光镜观察损伤脊髓的组织病理学改变。

**1.3 统计学处理** 数据终值以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间差异以方差分析进行显著分析。 $P < 0.05$  被认为差异有显著性。

**2 结果**

**2.1 血液流变学改变** 损伤后 24 h,同 A 组相比,B 组动物 ηb、Fib、HCT、RAI 均降低,而 RDI 水平明显升高( $P < 0.01$ ;C 组 ηb、Fib、RAI 水平降低( $P < 0.05$ ),但 RDI 和 HCT 水平无明显差异( $P > 0.05$ )。B 组同 C 组仅在 ηb 和 HCT 水平上有显著性差异( $P < 0.05$ )(见表 1)。

表 1 不同药物处理后血液流变学变化( $\bar{x} \pm s$ )

项目	A 组		B 组		C 组	
	8 h	24 h	8 h	24 h	8 h	24 h
ηb	4.93±0.11	4.99±0.02	4.02±0.14	3.66±0.17*	4.48±0.16	4.24±0.16#*
Fib(g/L)	2.97±0.04	3.26±0.24	2.54±0.31	2.25±0.10*	3.02±0.04	2.48±0.25*
HCT(%)	33.58±0.20	33.11±0.13	32.06±0.40	31.33±0.60*	33.52±1.10	33.61±0.36#
RDI	0.87±0.05	0.97±0.03	1.06±0.10	1.21±0.16*	0.85±0.05	1.06±0.24
RAI	1.97±0.01	1.86±0.07	2.12±0.16	1.65±0.14*	2.47±0.13	1.76±0.01*

注: \* 经方差分析,与 A 组相比, $P < 0.01$ ; # 经方差分析,与 B 组相比, $P < 0.05$ 。

**2.2 脊髓组织内 SOD 活性与 MDA 浓度的改变** 脊髓损伤后脊髓内脂质过氧化产物 MDA 的浓度不断升高,伤后 8 h 即达(116.3±2.0)nmol/g。腹腔注射黄芪后,MDA 浓度有所下降。与 A 组对比,B 组各时相点的 MDA 浓度均显著降低( $P < 0.01$ )。对 SOD 的

检测发现,SCI 后 SOD 活性急剧下降,黄芪腹腔注射处理可缓解这种变化。术后 8 h、24 h 时,B 组与 A 组的 SOD 活性有高度显著性( $P < 0.01$ ),与 C 组的差异也具有显著性( $P < 0.05$ )(见表 2)。

表 2 黄芪对 SCI 后 MDA 和 SOD 水平的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	MDA 浓度(nmol/g 湿重)			SOD 活性(μg/g pro)		
	4 h	8 h	24 h	4 h	8 h	24 h
A	112.6±1.8	116.3±2.0	117.9±3.6	58.2±1.3	62.6±2.1	68.1±3.3
B	97.7±4.6#	83.1±3.2#	76.4±4.1#	73.3±2.9#	90.1±3.0#	96.5±3.4#
C	102.3±2.5	87.6±4.0	82.0±1.9*	69.2±3.4	70.5±1.6*	81.4±2.8*

注: # 经方差分析,与 A 组相比, $P < 0.01$ ; \* 经方差分析,与 B 组相比, $P < 0.05$ 。

**2.3 联合行为学评分(CBS)** 实验性脊髓损伤后给予黄芪或 MP 腹腔注射,实验动物后肢神经功能均有明显恢复,与生理盐水对照组相比差异具有高度显著性( $P < 0.01$ );而损伤后 2 周时两组之间 CBS 评分则无明显差异( $P > 0.05$ ),显示了黄芪良好的神经保护作用(见表 3)。

本实验发现黄芪腹腔注射 2 周后,脊髓组织出血、水肿减轻,坏死区范围减小,组织赦免范围增大,提示黄芪可缓解继发性脊髓损伤,进而发挥神经保护作用(见图 1,2)。

表 3 脊髓损伤后不同时间各处理组的 CBS 评分( $\bar{x} \pm s$ )

组别	损伤后 1 周	损伤后 2 周
A	86.62±9.60	58.35±7.34
B	63.05±5.88#	34.70±4.25#
C	49.00±12.24#	26.50±8.26#

注: # 经方差分析,与 A 组相比, $P < 0.01$ 。

**2.4 损伤脊髓的组织病理学改变** 脊髓损伤的典型病理改变为受损脊髓组织出血、水肿、坏死、轴突脱髓鞘改变以及炎症细胞浸润和胶质细胞反应等。

### 3 讨论

创伤后脊髓继发性损害涉及多种神经生物学机制如钙离子内流、脂质过氧化、微循环障碍、炎症反应等,这些环节相互级联放大,导致脊髓损害不断加重。脊髓损伤后,多种途径可使自由基产生过多,超出人体内源性氧化系统(如 SOD、CAT)的清除能力:①脊髓组织缺血缺氧使能量代谢紊乱,ATP 降解,氧还原不完全,产生大量自由基;②脊髓出血,红细胞裂解,释放大量的氧合血红蛋白和含  $Fe^{2+}$  及  $Cu^{2+}$  化合物,后者可特异性催化脂质过氧化物分解,引起自由基连锁反应。同时多形核白细胞在吞噬时也产生大量  $O_2^-$ 、 $OH^-$  及  $H_2O_2$ 。Hall<sup>[4]</sup>发现 SCI 后 5 min 脊髓内 MDA 含量即有明显增加,30 min 时可增加近 70%。由于脊髓神经细胞膜上含有较多的磷脂和不饱和脂肪酸,自由基的大量产生不但破坏膜结构,而且影响磷脂膜上的重要酶系统如钠泵、钙泵等,导致继发性损伤不断加重。

正常情况下,红细胞可影响血液流变状态。SCI 引起血管内皮损伤和红细胞功能减弱。血管内皮损伤导致微血栓形成,脊髓血流量进一步降低;红细胞聚集使携氧能力减弱,还可通过损伤的内皮逸入血管周围间隙。总之,各种机制相互作用,导致损伤区红细胞聚集、白细胞浸润、微血栓形成、全血粘度增加,使微循环障碍不断加剧。

当前国内外众多学者致力于减轻脊髓继发性损伤的研究<sup>[5]</sup>,以期改善脊髓损伤患者的预后。黄芪

是传统中药,现代药理研究证明其可改善微循环和抗自由基,还具有调节免疫的功能。陈鑫等<sup>[6]</sup>研究了脑外伤后脑组织线粒体 SOD 和 MDA 水平的变化,发现黄芪治疗可通过影响线粒体功能而减轻创伤性脑损伤的继发性脑损害,从而改善预后。本实验制备大鼠脊髓损伤模型,给予黄芪注射液腹腔注射,发现黄芪处理后脊髓组织 MDA 浓度明显低于各时相点对照组,SOD 活性显著升高,血液流变学指标也有所改善,病理检查发现黄芪治疗组出血、水肿减轻,组织赦免范围增大,损伤后 2 周时 CBS 评分与 MP 治疗组无明显差异。上述结果提示,黄芪至少部分通过改善微循环、抗自由基等机制,减轻脊髓继发性损害,并为其临床应用提供了理论基础。

(本文图 1,2 见后插页 1)

#### 参考文献

- 1 Kaptanoglu E, Tuncel M, Palaoglu S, et al. Comparison of the effects of and methylprednisolone in experimental spinal cord injury. *J Neurosurg*, 2000, 93(1 SUPPL):77-84.
- 2 MuX, Azbill RD, Springer JE. Riluzole and methylprednisolone combined treatment improves functional recovery in traumatic spinal cord injury. *J Neurotrauma*, 2000, 17(9):773-780.
- 3 Gale K, Kerasidis H, Wrathall JR. Spinal cord contusion in the rat: Behavioral analysis of function neurological impairment. *Exp Neurol*, 1985, 88:123-124.
- 4 Hall ED. Inhibition of lipid peroxidation in CNS trauma. *Neurotrauma*, 1991, 8(1):31-40.
- 5 刘世清,王钢,陶海鹰,等.丹参对脊髓损伤的神经保护作用. *中国中医骨伤科杂志*, 2001, 9(3):13-15.
- 6 陈鑫,朱志安,马延斌,等.黄芪对脑外伤后脑组织线粒体 SOD 和 MDA 水平影响的实验研究. *创伤外科杂志*, 2000, 2(4):204-206.

(收稿:2002-10-16 编辑:李为农)

### 《中国矫形外科杂志》2004 年征订启事

本刊系中国科技核心期刊,全国唯一骨科专业半月刊杂志。由百余位知名专家学者共同编辑,国内外公开发行的国家级现代综合骨科学术期刊。全军骨科中心承办,坚持面向临床、面向基层、普及与提高、理论联系实际的办刊方针,强调信息权威性、前沿性、创新性和时效性。重点介绍脊柱四肢骨创伤、骨疾病、骨肿瘤、先天畸形等各种原因引起的肢体残疾矫治与康复的新进展、新成果、新经验。她为高、中、初各层次人员提供了最新、最实用的现代科技信息,内容丰富,风格独特,享有较高声誉。可在当地邮局或直接汇款到本刊编辑部订阅。国际标准大 16K 本,每期 80 页(不含广告页),定价 8.75 元(全年 210 元),邮发代号:24-097 CN 37-1247/R ISSN 1005-8478

地址:山东省泰安市第 88 医院(271000) 电话/传真(0538) 6213228

E-mail:zgjxwkzz@public.sd.cn http://ZJXS.chinajournal.net.cn

### 《中国脊柱脊髓杂志》2004 年征订启事

《中国脊柱脊髓杂志》是目前国内唯一以脊柱脊髓伤病为内容的医学核心期刊,创刊以来竭诚为广大脊柱外科、骨科、神经科、康复科、肿瘤科、泌尿科、放射科、基础研究、生物医学工程等学科的读者、作者服务,在本专业学术界影响日益扩大,得到广大读者的重视和好评。

《中国脊柱脊髓杂志》被国内权威检索机构——中国科技信息中心“中国科技论文统计源期刊”及中科院中国科学计量评价研究中心(CDD)“中国科学引文数据库”所收录,在科技期刊中影响因子排名不断提升,并分别入编 Chinainfo(中国信息)网络资源系统及以中国学术期刊光盘版为基础的中国期刊网,可上网查询。

《中国脊柱脊髓杂志》已改为月刊,正文 64 页,铜版纸印刷,每月 10 日出版。每期定价 9.8 元,全年 117.6 元。国内外公开发行。您可按规定在当地邮局订阅(邮发代号:82-457),也可向本刊直接订阅。汇款地址:北京市朝阳区中日友好医院内,《中国脊柱脊髓杂志》经理部,邮编 100029。联系电话:(010)64206649(经理部);(010)64284923(编辑部)。传真:(010)64206649 E-mail:espine@263.net.cn。



# 闭合性胫骨骨折骨膜微血管功能的动力学研究

(正文见 449 页)

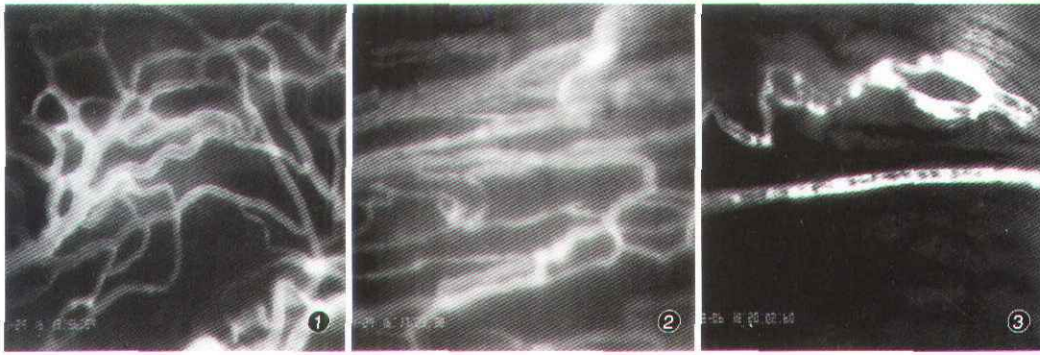


图1 邻近骨干的滋养血管处, 毛细血管呈致密的网格状, 其中有许多交通支相吻合 ( $\times 465$ ) 图2 远离骨干的滋养血管处, 毛细血管相对平行于胫骨骨干 ( $\times 465$ ) 图3 胫骨骨膜毛细血管可见大面积散在的栓塞, 毛细血管渗出物增加 ( $\times 465$ )

# 中药黄芪对实验性脊髓损伤的神经保护作用

(正文见 463 页)

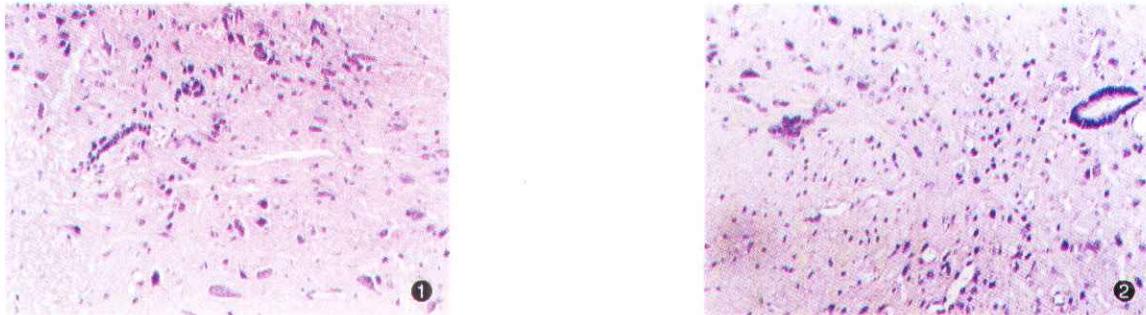


图1 黄芪治疗组脊髓组织病理改变 (HE  $\times 400$ ) 黄芪腹腔注射治疗2周后, 受累脊髓组织出血、水肿明显减轻, 坏死区域减小。

图2 MP治疗组脊髓组织病理改变 (HE  $\times 400$ ) MP(30 mg/kg)腹腔注射后, 受累脊髓组织出血、水肿反应减轻, 缺血范围增大。

# 椎板再造椎管成形治疗胸腰椎骨折的临床观察

(正文见 466 页)



图3a 术前CT 患者女性, 40岁, L<sub>1</sub> 压缩性骨折截瘫, 行脊髓前后减压, Luque棒内固定, 椎板再造椎管成形术; 图3b 术后1周CT 因Luque棒伪影影响, 再造板形态显示不完整, 碎植骨块清楚可见; 图3c 术后1年2个月CT 去除Luque后, 棒孔清晰可见, 再造椎板椎管成形; 图4a 术后1年5个月CT 再造椎板形成椎管良好; 图4b 术后2年1个月CT 椎管形态良好, 无骨性狭窄。