

· 实验研究 ·

自血光量子疗法治疗实验性脊髓损伤*

安徽医科大学附属医院 (合肥 230022)

董英海 江曙 程保平 张循善 祝延 张王海

【摘要】 目的 探讨自血光量子疗法治疗脊髓损伤的作用机理。**方法** 60 只家兔造成不全性脊髓损伤,分为损伤组和治疗组,进行脊髓血流量、脊髓诱发电位、丙二醛含量、钙组织化学染色和电镜的对比。**结果** 自血光量子疗法能增加脊髓血流量;激活神经细胞的兴奋性和传导性;减轻自由基介导的脂质过氧化;阻滞钙经通道向细胞内流动;保护脊髓组织的超微结构。**结论** 自血光量子疗法可以避免或减轻急性脊髓损伤后仍然存在的进行性,继发性损伤,促进脊髓功能恢复。

【关键词】 血液疗法 光疗法 脊髓损伤 截瘫

Treatment of Experimental Spinal Cord Injury with Autohemotherapy of Light Quanta *The Affiliated Hospital of Anhui Medical University (Hefei 230022) Dong Yinghai, Jiang Shu, Cheng Baoping, et al*

【Abstract】 Aim To inquire into the mechanism of autohemotherapy of light quanta (ALQ) on spinal cord injury. **Methods** After being subjected to incomplete spinal cord injury, sixty rabbits were divided into ALQ treating group and non-treating control group, and the changes of spinal cord blood flow, spinal cord evoked potential, content of malondialdehyde, calcium histochemical staining, and electron microscopic structure had been examined. **Results** ALQ could increase spinal cord blood flow, activate irritability and conductivity of neuron, reduce lipid peroxidation by free radical intervention, retard calcium passing through channel into cell, and protect the ultrastructure of spinal cord. **Conclusion** ALQ could prevent or eliminate progressive and secondary injury after acute spinal cord injury, and promote the recovery of spinal cord function.

【Key words】 Hemotherapy Phototherapy Spinal cord injury Paraplegia

自血光量子疗法 (autohemotherapy of light quanta, 简称 ALQ) 是一种把患者静脉血液放在光量子血疗仪内,在体外经过紫外线照射和充氧后再回输到体内的治疗方法。1928 年 Knott 首先用自血紫外线照射装置治疗感染性疾病,获得成功^[1]。以后这种装置经过半个多世纪的不断研究、改进,发展为光量子血疗仪,可以治疗多种非特异性疾病^[2,3]。近年来,ALQ 对某些神经系统疾病的特殊疗效引起许多国家学者的注意。1990 年起我们首先用 ALQ 治疗脊髓损伤,取得显著疗效^[4]。为探讨其作用机理,我们进行了系列研究,其中部分报告如下。

材料和方法

1. 分组和造模 纯种家兔 60 只,重 2.5~

3.0kg,随机分为正常组 (n=8)、损伤组 (n=26) 和治疗组 (n=26)。3%戊巴比妥钠全麻后固定在手术台上,纵行切开皮肤约 2cm 长,向两侧推开骶棘肌,切除 T₁₃棘突和椎板,暴露脊髓 0.6cm×0.6cm。正常组不予致伤;损伤组和治疗组分别用改良 Allen 氏法 12g×5cm 打击脊髓致伤,止血后缝合切口。

2. 治疗方法 治疗组于伤后第 48、60 和 72 小时,分别按 3.5ml/kg 体重从静脉采血,和预计采血量 1/4 的 ACD 保养液混匀,放进 MD-120B 型光量子血疗仪 (中国产) 的石英瓶中。相关数据是:石英瓶底面积:132.7cm²;透光率:0.8;紫外线照射波长:253.7nm;照射距离:12cm;照射时间:4.5s/ml 血;平均剂量

* 本课题为安徽省卫生厅和教育委员会共同资助项目

率: $5.68 \times 10^{-3} \text{J/s} \cdot \text{cm}^2$; 总能通量: 32.6J; 氧流量: 5L/min。血液经过处理后从静脉再回输。

3. 检查方法

(1) 脊髓血流量 (SCBF): 气管插管进行人工呼吸, 频率 60~75 次/分; 呼吸比 3:1; 潮气量 2ml, 用 PHG300 型组织血流测定仪 (日本产) 氢清除法测定 SCBF。参考电极插在 T_{13} 椎旁皮下, 两记录电极分别插在 T_{13} 和 L_1 脊髓右后方, 电极相距 5mm。在电极固定稳定 15min 后开始吸入氢气 (浓度为 15%)。1min 后记录氢气清除曲线, 经半对数转换求出半衰期, 根据公式 $SCBF = 0.693 \div T_{1/2} \times 100$ (ml/100g 组织/min) 计算 SCBF。氢气清除曲线为双曲线, 其快相成分代表灰质血流量; 慢相成分代表白质血流量。

(2) 脊髓诱发电位 (SCEP): 暴露一侧坐骨神经, 把刺激电极套在神经干上; 暴露 T_{7-8} 棘突, 把记录电极夹在 T_8 棘突上, 参考电极夹在 T_7 棘突上, 接地电极插在椎旁皮下。记录方式为单极引导, 用 MEB-5100 型诱发电位仪 (日本产) 单脉冲方波刺激。波宽 0.1ms; 频率 2Hz; 强度 2~4V; 叠加 128 次。

(3) 丙二醛 (MDA): 脊髓损伤处活体取材, 称重, 制成 10% 的组织匀浆, 取匀浆 0.25ml, 加入 10% 三氯醋酸 (TCA) 2ml, 10% 硫巴比妥酸盐 (TBA) 1ml, 置 95℃ 水浴中 30min, 冷却后用正丁醇 2ml 提抽, 混合 50s, 3000rpm 离心 5min。取上层正丁醇比色, 用 RF-520 型荧光分光光度计 (日本产) 测定荧光强度。激发波长 515nm, 发射波长 553nm, 狭缝 10nm。加以校正, 计算 MDA 含量。

(4) 钙组织化学染色: 用 0.1g 水溶性茜素红 (ARS), 溶解于 45ml 去离子水中, 逐滴加入稀 NH_4OH , 调 PH 至 6.4, 做为染色液。用 95% 乙醇 500ml 加浓盐酸 0.05ml, 使用前混合, 做为分化液。脊髓损伤处活体取材, 冰冻切片, 丙酮固定 30s。将切片放进染色液中 2min, 去离子水冲洗 5~10s, 放进分化液中 15s, 再用纯酒精脱水, 二甲苯透明, 树胶封固, 光镜观察。

(5) 电镜: 脊髓损伤处活体取材, 2% 戊二醛固定, 1% 锇酸后固定, 环氧树脂 812 包埋, 超薄切片, JEM-100SX 型透射电镜 (日本产) 观察。

结 果

1. SCBF 损伤组 (n=12) 和治疗组 (n=12) 同一组动物伤前及伤后第 6 天脊髓灰质和白质血流量比较见下表。

表 两组脊髓血流量比较

	伤前	伤后第 6 天	
		损伤组	治疗组
灰质	94.08±11.28	36.99±14.12	45.16±12.32
白质	73.67±9.38	40.27±10.72	61.12±13.81

注: 损伤组与伤前比较: 灰质 $P < 0.01$; 白质 $P < 0.01$
 治疗组与损伤组比较: 灰质 $0.05 < P < 0.01$; 白质 $P < 0.01$

2. SCEP 损伤组 (n=12) 和治疗组 (n=12) 伤前在 T_{7-8} 棘突上记录到一个多相复合波, $P_1-N_1-P_2-N_2-P_3 \dots$, 其中以 N_1 和 P_2 最稳定, 出现率达 100%。 N_1 平均最高波幅 $6.8 \mu\text{V}$, P_2 平均最高波幅 $3.5 \mu\text{V}$, 潜伏期平均 12.7ms (图 1-a)。同一组动物伤后第 6 天, 损伤组波形分化不佳, N_1 和 P_2 平均波幅分别为伤前值的 31% 和 22%; 潜伏期延长大于伤前值的 2 倍 (图 1-b)。治疗组波形分化比较清晰, N_1 和 P_2 平均波幅分别为伤前值的 57% 和 46%; 潜伏期延长大于伤前值的 1 倍 (图 1-c)。

3. MDA 正常组 (n=8): $18.37 \pm 0.69 \text{nmol/kg}$ 蛋白。伤后第 6 天损伤组 (n=11): $25.36 \pm 0.96 \text{nmol/kg}$ 蛋白, 与正常组比较 $P < 0.01$ 。治疗组 (n=11): $19.72 \pm 0.85 \text{nmol/kg}$ 蛋白, 与损伤组比较 $P < 0.01$ 。

4. 钙组织化学染色 ARS 与细胞内 Ca^{++} 反应形成桔红色为 ARS (+) 区; 而未与细胞内 Ca^{++} 反应形成粉红色为 ARS (-) 区, 光镜下易于区别。伤后第 6 天, 损伤组 (n=10) 可见散在分布的致密的灶状 ARS (+) 区, 其余为 ARS (-) 区; 治疗组 (n=10) 可见散在分布的稀疏的点状 ARS (+) 区, 其余为 ARS (-) 区。

5. 电镜。伤后第 6 天, 损伤组 ($n=5$) 灰质细胞膜结构大部分溶解, 线粒体嵴稀疏、断裂 (图 2); 髓鞘板层重度松解, 轴浆内结构模糊 (图 3); 毛细血管内皮细胞肿胀, 管腔壁大多不完整。治疗组 ($n=5$) 灰质细胞膜结构部分溶解, 线粒体嵴比较清晰 (图 4); 髓鞘板层松解, 轴浆内结构存在 (图 5); 毛细血管内皮细胞轻度肿胀, 管腔壁大多完整。

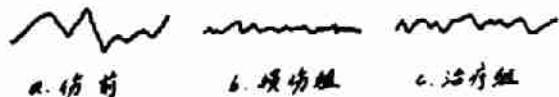


图 1 伤前及伤后第 6 天脊髓诱发电位

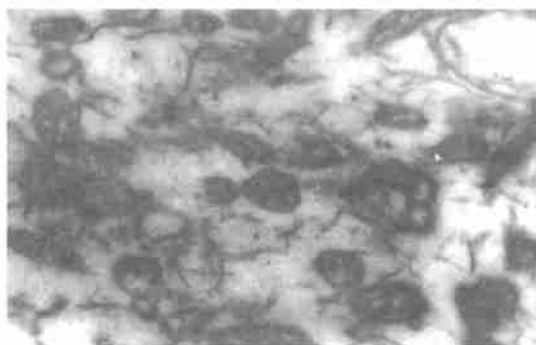


图 4 治疗组线粒体 ($\times 30000$)

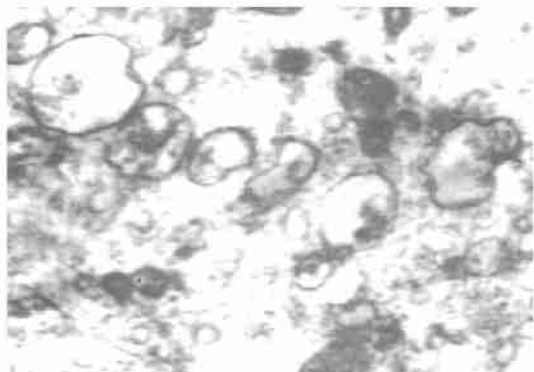


图 2 损伤组线粒体 ($\times 20000$)



图 5 治疗组髓鞘 ($\times 25000$)

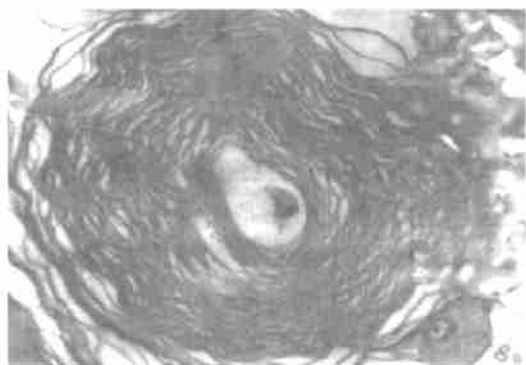


图 3 损伤组髓鞘 ($\times 15000$)

讨 论

脊髓损伤后血液的实验室检查有两个特点: 一是低氧血症; 二是高粘滞血症^[4,5]。脊髓损伤的这些变化, 会在原发性损伤的基础上, 加重缺血、缺氧、酸中毒, 使脊髓组织供氧量和血流量进行性下降。本实验证实, 脊髓损伤后损伤组与伤前比较灰质和白质血流量进行性减少, 其中灰质最为明显。这与灰质组织结构疏松, 血管丰富, 代谢活跃, 脊髓损伤后易于发生出血、坏死有关。治疗组应用 ALQ 治疗, 血液经过紫外线照射、充氧后, 红细胞膜发生形态变化。红细胞膜密度降低, 对气体的通透性增加^[3-6]。血氧分压和氧饱和度迅速上升^[3,4]。使脊髓组织在充分给氧的条件下, 增加氧化还原反应的能力。此外, 红细胞外层的化学成分

受到光量子破坏,膜的受体完全暴露,功能被激活,一些化学物质进入血液,使血液流变学性质发生根本性变化^[4~6]。血液稀释,血流速度加快,组织灌流量升高^[5,7]。治疗组与损伤组比较灰质和白质血流量增加,尤其白质更为明显。而白质血流量是直接影响脊髓功能是否恢复以及恢复程度的关键。ALQ 将成为较为理想的改善脊髓血液循环的新方法。

SCEP 是反映脊髓感觉传导通路可定量的客观指标。伤后第 6 天损伤组波形分化不佳,波幅下降,潜伏期延长。而治疗组与损伤组比较波形分化比较清晰,波幅上升,潜伏期缩短。根据量子理论,波长 265~289nm 的紫外线具有一定能量,极易被血浆、蛋白质和酶类大分子吸收,使其中的电子处于激化状态,提高分子的能量水平^[7]。对于那些没有死亡,但又丧失生物电活动的脊髓细胞,ALQ 可以通过血液循环传递能量,作用于细胞膜上 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶,增加细胞对去极化电流反应的易感性。这就使神经细胞受到适宜的阈上刺激时,其兴奋性和传导性被激活,恢复或部分恢复脊髓功能。

正常脊髓细胞的膜脂结构中,多价不饱和脂肪酸的含量极其丰富,对脂质过氧化反应非常敏感,但由于直接测定自由基或脂质过氧化物(LPO)难度较大,临床上一一般测定 LPO 的最终产物丙二醛(MDA)作为观察指标。在我们以前的实验中,脊髓损伤后 2~48 小时,脊髓 MDA 骤然升高约一倍,然后开始缓慢下降^[8]。本实验观察到伤后第 6 天,损伤组脊髓 MDA 仍然明显高于正常组,这是脊髓损伤后产生大量病理性自由基,引起细胞膜脂结构脂质过氧化的结果。治疗组经过 ALQ 治疗,脊髓 MDA 下降,与损伤组比较,有高度显著性差异。说明 ALQ 可以提高细胞膜脂结构的抗氧化能力,对不饱和脂肪酸起保护作用。近年来大量文献报道,氧在紫外线照射下,可以形成臭氧,臭氧与不饱和脂肪酸起作用,形成臭氧化合物。这些新形成的化合物可以看成“LPO 催化剂”,使催化和激活其余未被照射的血浆质,使血浆质在血红蛋白的共同作用下,转化

为持续性“光量子 LPO”。大量病理性 LPO 可以被细胞呼吸酶和焦氧化物酶分解为氧和脂质,被分解的 LPO 借助“LPO 催化剂”再次被激活,从而完成“自身循环反应”^[7,9]。ALQ 在这个循环中除了可以不断向脊髓组织供氧,还可以使 LPO 转变为脂质而解毒。

ARS 钙组织化学染色法是一种观察细胞内 Ca^{++} 浓度常用的染色方法。ARS 与 Ca^{++} 结合成桔红色沉淀物,光镜下可见桔红色物的最低 Ca^{++} 浓度为 $2 \times 10^{-3} \text{M}$,这一浓度大大高于细胞外间隙的 Ca^{++} 浓度,表现为 ARS (+) 区;而正常细胞是粉红色,表现为 ARS (-) 区。伤后第 6 天,光镜下损伤组主要是致密而散在分布的灶状 ARS (+) 区,说明脊髓细胞内 Ca^{++} 浓度较高;而治疗组主要是稀疏而散在分布的点状 ARS (+) 区,说明脊髓细胞内 Ca^{++} 浓度较低。近年来 Ca^{++} 在脊髓继发性损伤中的作用已被认识。缺血、缺氧使细胞膜离子泵活性降低, Ca^{++} 通道超常开放,大量 Ca^{++} 从细胞外间隙向细胞内流动,在细胞浆中与线粒体积聚。细胞内高 Ca^{++} 激活了细胞膜上多种蛋白酶,使其结构蛋白质破坏、崩解;而且由于激活磷脂酶 A_2 ,游离脂肪酸释放出花生四烯酸,产生大量自由基参与脂质过氧化;此外, Ca^{++} 与线粒体结合引起细胞能量代谢紊乱,呼吸链受损,导致细胞死亡^[10]。ALQ 具有类似 Ca^{++} 通道阻滞剂的作用,可以稳定细胞膜结构,抑制细胞膜对 Ca^{++} 的通透性,减轻脂质过氧化,维持线粒体氧化磷酸化及 ATP 能量的产生,因此接近或优于 Ca^{++} 通道阻滞剂的药物治疗。

从病理学角度看,脊髓损伤后功能恢复与否主要取决于神经元和传导束是否残存,以及残存的数量和质量,尤其是传导束更为重要。本实验电镜观察,伤后第 6 天损伤组脊髓损伤较重,而治疗组相对较轻。ALQ 的治疗作用表现在两个方面:一是可以保护细胞膜、线粒体、髓鞘、毛细血管等超微结构的完整性,减少脊髓损伤的程度和范围;二是可以降低血液粘滞度,减少血管内有形成分的积聚,改善血管壁状况,疏通脊髓微循环。

我们这项实验采用不完全性脊髓损伤模型, 伤后第 48 小时开始 ALQ 治疗。客观地说, 在此之前发生的病理变化可能很难逆转。但 AIQ 可以避免或减轻 48 小时以后仍然存在的进行性、继发性损伤, 促进脊髓功能恢复, 疗效显著。这与我们临床应用相一致^[4]。因此, ALQ 将成为最有研究和应用前途的治疗脊髓损伤的新方法。

参考文献

1. Крютт ЕК. Development of ultraviolet blood irradiation. Am J Surg 1948; 76 (2): 165.
2. Треневский АИ, Василев ГА, Сченман ВС, и др. Экстракорпоральное ультрафиолетовое облучение крови. Врач дело 1984; (3): 11.
3. Казанциров ЛП, Коморов НВ, Горбунов СН. Влияние ультрафиолетового облучения крови. Организм Фирургия 1987; (1): 103.

4. 董英海, 江曙, 张循善, 等. 自血光量子疗法治疗外伤性截瘫的临床实验研究. 中国中医骨伤科杂志 1992; 8(1): 5.
5. 董英海, 张循善, 傅佳, 等. 自血光量子疗法对兔脊髓损伤血液循环的影响. 中华创伤杂志 1995; 11 (2): 6.
6. Ветчинникова ОН, Чермаков ВЛ. Улт-втр афиолетовое облучение аутокрови и ригной новоспапительными заолевания. Советская Медицина 1989; 3: 42.
7. 张晓声, 高诚. 自体血紫外线照射后再输入的发展. 国外医学输血及血液学分册 1988; 11 (4): 269.
8. 董英海, 江曙, 汪渊, 等. 自血光量子疗法治疗兔脊髓损伤的脂质过氧化变化. 中国中医骨伤科杂志 1993; 1(3): 1.
9. Карангашов ВИ, Лемухов ЕВ. Ковантовая гемотерапия история развития механизмы действия и перспективы Применения И стоматологии Стоматология 1985 г 64; 84.
10. Hogan EL, Hsu CY, Banik NL. Calcium activated mediators of secondary injury in the spinal cord. Cent Nerv Syst Trauma 1986; 3: 175.

(收稿: 1997—04—24; 修回: 1997—11—24)

多发性骨软骨瘤并股骨骨折一例

湖南省永州市芝山中医院 (425000) 谌智灵

唐×, 男, 24 岁, 农民。1994 年 4 月 26 日因车祸致左下肢畸形肿痛不能行走 2 小时急诊入院。患者 17 岁时发现全身多处骨上长有肿块并渐长大, 至 21 岁肿块不再增大增多, 无痛及不适, 家族无类似病史。

检查: 一般情况好。左下肢明显外翻畸形, 大腿部肿胀, 触痛、可扪及骨擦音及异常活动, 左下肢较右侧缩短约 2cm。左锁骨近端、右肩胛冈外侧、左第 8 前肋、右第 11 肋近端、两侧肱骨上段前侧、右肱骨下端前侧、左胫骨上段内侧及中段后侧、右胫骨上段及下段内侧、右腓骨上段、左股骨下段前内侧共 13 处可扪及包块, 质硬, 大小不等 (1cm×1cm×1cm 至 8cm×4cm×5cm), 呈半球形或鸟嘴样, 无压痛, 表面无静脉曲张及发热。X 线片提示: 左股骨中段短斜行骨折, 多处骨软骨瘤。于肿块最大处的左胫骨中段后侧取骨组织病理切片检查, 提示骨软骨瘤; K⁺、Na⁺、Cl⁻、Ca⁺⁺均在正常范围。

治 疗

对骨软骨瘤, 遵照患者意愿, 未予切除。对左股骨骨折行左股骨髁上牵引, 床头透视复位成功后小夹板固定, 术后骨折对线对位好。70 天照片只有少量骨痂生

长, 拆除骨牵引。100 天照片骨痂略有增多, 150 天照片有较多量骨痂生长, 取除夹板。

讨 论

骨软骨瘤又名外生骨疣, 是良性骨肿瘤中最常见的一种, 多见于男性青春期, 可单发, 亦可多发, 但有家族史。常发生于干骺端肌腱韧带附着处, 其生长常沿肌腱及韧带所产生的力的方向, 如从干骺向同骨的骨干生长^[1]。随着年龄的增长, 有的肿块可向骨干方向“移位”^[2]。根据病史、症状、体征、X 线及病理检查, 该患者符合骨软骨瘤之诊断。但如此多的病灶, 不仅出现于四肢, 还波及躯干骨, 且无家族史, 这在临床上少见。肿块 17 岁起出现, 至 21 岁停止生长, 说明病灶与青春期生长发育有关, 但与体内何种激素关系密切, 尚待进一步探究。

参考文献

1. 陆裕朴, 胥少汀, 葛宝丰, 等. 实用骨科学. 北京: 人民军医出版社, 1993; 1490~1492.
2. 张明. 骨肿瘤的 X 线诊断. 郑州: 河南科技出版社, 1985; 11~13.

(收稿: 1995—01—24; 修回: 1995—04—25)