

# 髓复康促进大鼠脊髓修复再生的超微结构研究

苏衍萍\* 韩凤岳 张平 常超英

(中国中医研究院骨伤科研究所,北京 100700)

**【摘要】**目的 观察脊髓损伤后,脊髓神经毡等超微结构的变化和中药髓复康对于这种变化的影响;另外,希图从脊髓损伤区毛细血管内皮细胞的超微结构方面,探查髓复康对大鼠损伤脊髓的保护作用、促修复再生作用及其作用机理。方法 制备 45 只下胸髓右侧半横断损伤的 Wistar 大鼠模型,分为髓复康、补阳还五汤、甲基强地松龙和空白对照 4 组,另设正常对照组。用透射电镜和图像分析技术观察和分析髓复康对脊髓损伤区神经元和毛细血管内皮细胞超微结构的影响,探讨其与受损神经组织修复再生的关系。结果 在空白对照组大鼠,脊髓损伤区神经元胞体、轴突和树突野的超微结构发生明显的变性。及时服用髓复康可以保护脊髓损伤区的神经元,并且促进受损神经元胞体、神经纤维和树突野的修复再生:空白对照组大鼠脊髓损伤区毛细血管内皮细胞的饮液小泡数量明显减少,而服用髓复康的大鼠,饮液小泡的数量增加;髓复康组大鼠的脊髓星形胶质细胞和毛细血管周细胞的反应比较轻微。结论 脊髓损伤后及时服用髓复康可以:有效地降低继发性脊髓损伤,减小脊髓损伤波及的范围;增强脊髓损伤区毛细血管内皮细胞的转运功能,迅速消除损伤区的水肿,对伤区的神经元起保护作用;抑制神经胶质和周细胞的反应性增生,创造有利于神经元再生的微环境。

**【关键词】** 中草药 脊髓损伤与再生 超微结构

**Ultrastructure study of spinal cord restoration and regeneration promoted with Chinese herb (suifukang) in rats** SU Yan-ping, HAN Feng-yue, ZHANG Ping, et al. Institute of Orthopaedics and Traumatology, China Academy of TCM (Beijing, 100700)

**【Abstract】 Objective** Ultrastructural alterations of spinal neuropile after spinal cord injury (SCI) and the effect of Suifukang (SFK), a Chinese herb decoction, on the alterations were observed. The ultrastructure alterations of spinal capillary induced by SCI, and the effect of the SFK on the alterations were observed in order to investigate protective effect of the SFK of spinal cord trauma and the possible mechanism of promoting restoration and regeneration of injured spinal tissue from the point of modulation upon neuron and capillary endothelium ultrastructure. **Methods** Models of right-hemitranssection at the lower thoracic spinal cord were made in 45 Wistar rats and the animals were divided into 5 groups: SFKG After the spinal hemisection, 12 rats were administrated with SFK from one day to a month; BYTG: After the spinal hemisection, 12 rats were administrated with Buyanghuanwutang (as control Chinese herb) from one day to a month; MPSG: After the spinal hemisection, 9 rats were treated with methylprednisolone from one day to a month; BCG: After the spinal hemisection, 12 rats were administrated with NS from one day to a month; in addition, there was NCG: 3 normal rats uninjured the spinal cord. For groups 1 ~ 4, 12 rats were subdivided into 4 subgroups: the rats were treated for 1, 3, 15, and 30 days respectively, but there was no 30 day subgroup in the BCG specimens. The injured areas were procured from the spinal cords, and prepared into ultrathin sections, and observed with TEM. These electromicrophotographs were analyzed with regeneration of spinal neurons. **Results**

There was obvious ultrastructural degeneration of spinal neuron, axon and dendrite profile in BCG. It has been observed that the protection for spinal neurons and regeneration of the perikaryon, axon and dendrite profile was distinct in rats treated with SFK. After spinal cord injury, amount of pinocytosis vesicles in capillary

基金项目: 国家中医药管理局科研基金重点课题 (编号 97L013)

\*现工作单位: 菏泽医学专科学校 (山东 菏泽, 274030)

endothelial cells reduced distinctly in BCG, and the amount was increased in SFKG. Degree of reaction of the glia and pericytes to spinal injury was much less in rats-SFKG. **Conclusion** After spinal cord injury and administration with SFK, it has been observed that: The secondary spinal cord damage was distinctly reduced and spinal injury area was smaller. the transport function of endothelium was reinforced and traumatic edema of the cord subsided rapidly. It is possible that these alterations possess protective effects on spinal neurons and the reactive proliferation of glia and pericytes was inhibited. The microenvironment that adapts regeneration of spinal neurons induced as a result of enhancement of regeneration of the nervous tissue.

**【Key Words】** Drugs, Chinese herbal Spinal cord injury and regeneration Ultrastructure

我们曾报道,髓复康具有促进大鼠损伤脊髓修复再生的作用和神经元保护作用<sup>[1,2]</sup>。有许多从超微结构方面观察脊髓损伤和修复再生的报道<sup>[3,4]</sup>,但是主要集中在神经元核周体和轴突方面。我们也曾报道了脊髓损伤后,髓内神经毡溃变的观察<sup>[5,6]</sup>,由于神经毡是中枢神经元间进行信息交换的重要场所,所以脊髓的修复再生和功能重建,必然会伴随着神经毡的重建。本研究的有二:一方面观察髓复康对于脊髓神经毡等超微结构的影响;另外则试图从脊髓损伤区毛细血管内皮细胞的超微结构方面,探索髓复康的作用机理。

**1 资料与方法**

**1.1 动物造模和分组** 本实验用 48 只 Wistar 大鼠,体重 110~140g,雌雄兼有。其中 45 只大鼠在戊巴比妥麻醉下进行下胸髓右侧半横断手术,术后随机分为四组:髓复康组(SFKG,12 只)。脊髓半横断,损伤后逐日灌喂髓复康冲剂(10ml/kg);空白对照组(BCG,12 只)。脊髓半横断,损伤后逐日灌喂等量的生理盐水;补阳还五汤组(BYTG,12 只)。脊髓半横断后逐日灌喂补阳还五汤(10ml/kg);激素对照组(MPSG,9 只)。脊髓半横断后肌肉注射甲基强地松龙(剂量:50mg/kg);每组再按伤后存活时间划分为 1,3,15,30 天等 4 个亚组(MPSG 组无 30 天亚组),每亚组 3 只;另设正常对照组(NCG)3 只。

**1.2 取材** 在脊髓损伤手术后 1,3,15,30 天,分别经心-主动脉插管(5%多聚甲醛-2%戊二醛溶液)灌注处死各组大鼠。细心剥除脊髓被膜,以脊髓损伤平面为中心,移出长约 15mm 的一段脊髓,纵切脊髓,保留脊髓的右侧半(损伤侧),并将之划分为 6 区。各区取 1mm×1mm×6mm 的组织条,其切片端为脊髓损伤平面。

**1.3 电镜标本的制作与观察** 按常规,用 LKB-V 型超薄切片机切片,制备成铜网。用日产 JEM1200 型透射电镜观察和照相。观察的重点是脊髓损伤区神经毡的超微结构和毛细血管内皮的结构,特别是

内皮细胞的饮液小泡。

**1.4 图像分析及其统计学处理** 在每只动物样本的超薄切片内,随机取 10 条毛细血管的视野,择其内皮细胞含饮液小泡最多的部位,在 25K 倍率下拍摄电镜照片。用 Leica Q55CW 型图像分析仪进行计数分析;对计数结果进行方差分析。

**2 结果**

**2.1 脊髓损伤区神经组织电镜观察结果**

**2.1.1 神经元核周体和神经纤维** 对于正常和脊髓损伤大鼠,脊髓神经元胞体和神经纤维超微结构的观察,与以前的发现基本一致。在 BCG 大鼠,损伤后 1 天,以细胞器和纤维结构肿胀为主要变化;3 和 15 天亚组,损伤区及其邻区的核周体和神经纤维,呈现暗变性、亮变性和坏死崩解等变化,30 天亚组未见恢复。在补阳还五汤和激素对照组,脊髓损伤区未见正常的核周体,其变性坏死的程度较空白组略轻。在髓复康各亚组大鼠的脊髓损伤区内,都可看到结构基本正常的核周体和神经纤维。但是 1 和 3 天亚组的神经组织呈现不同程度的肿胀和变性。在 15 和 30 天亚组,可以发现亮、暗变性的核周体、神经纤维,但是多数核周体和神经纤维的超微结构是正常的。

**2.1.2 灰质神经毡的树突野(树突末梢)** 正常大鼠的树突野保存完好。空白对照组可见大量亮变性的树突野,在 1 天和 3 天的样本上,亮变性的树突野比较少;在 15 天和 30 天的样本上,变性的树突野比比皆是。其中心是一个亮变性(空化)的树突末梢,周围的轴突末梢或亮变性或暗变性(见图 1)。补阳还五汤组和激素对照组大鼠的电镜所见与空白对照组相似,只是树突野变性较轻,在 15 天和 30 天的样本上有一些恢复,但很不完全。在髓复康 1、3 天亚组样本的神经毡内,可以看到正常的和一些亮变性的树突野。在 15 天和 30 天亚组的样本上,有少量暗或亮变性的树突野,但是大量树突野的超微结构基本正常(见图 2)。

**2.1.3 神经胶质增生情况** 在超低倍电镜场(3K),

可以观察脊髓损伤区的概况。在空白组,脊髓损伤区有比较大的液化灶,比较多的神经胶质、结缔组织和变性的神经纤维等,在早期的样本还可以看到红细胞和大量功能活跃的巨噬细胞。在髓复康大鼠的脊髓损伤区,可见比较多的神经纤维和比较少的神经胶质,有少量小的液化灶和巨噬细胞。激素组和补阳还五汤组的情况介于上述两者之间。

## 2.2 脊髓损伤区毛细血管超微结构的观察

**2.2.1 毛细血管的一般观察(见图 3 和图 4)** 正常大鼠脊髓毛细血管内皮细胞的胞浆内有适量饮液小泡。空白对照组大鼠脊髓毛细血管内皮细胞肿胀、变性,饮液小泡数量减少;基膜肿胀、增厚;毛细血管周围间隙增宽。在 1 天和 3 天的样本上,上述变化较重,在 15 天和 30 天的样本上,上述变化减轻,但并未恢复正常。补阳还五汤组和激素组大鼠,毛细血管的电镜所见与空白对照组的变化相同,但是程度较轻;饮液小泡数量比空白对照组的略多。髓复康组:就脊髓损伤区毛细血管内皮细胞和基膜肿胀、毛细血管周围间隙扩张等病理变化而言,1 天亚组的多有轻微的变化;3 天亚组的无变化或仅有轻微变化;15 天和 30 天亚组的结构基本正常;毛细血管内皮细胞含有比较多的饮液小泡,并且向毛细血管腔开放。

**2.2.2 内皮细胞饮液小泡图像分析结果** 毛细血管内皮细胞中饮液小泡数量的图像分析和方差分析结果见表 1。髓复康组与正常组的比较,损伤后 3 天和 15 天组有统计学差异( $P < 0.05$ ),1 天和 30 天的没有差异。髓复康组与其他组相比都有极显著性差异( $P < 0.001$ )。

表 1 各亚组大鼠内皮细胞含饮液小泡数量的比较(单位:个)

组别	术后 1 天	术后 3 天	术后 15 天	术后 30 天	P 值
髓复康	40.20	48.00	44.60	42.80	> 或 < 0.05
正常组	36.60	36.60	36.60	36.60	
激素组	20.10	21.40	22.40	/	< 0.001
补阳组	20.60	22.40	24.60	22.80	< 0.001
空白组	12.80	11.60	14.80	13.40	< 0.001

## 3 讨论

### 3.1 关于脊髓神经纤维损伤的超微结构病理变化

1978 年 Balentine 和 Bresnahan 分别报道了大鼠和恒河猴脊髓撞击伤后,有髓纤维溃变的电镜资料,发现脊髓损伤早期髓鞘肿胀和出现空泡,进一步发生板层断裂和崩解,形成无定形颗粒或絮状物。轴索肿胀,出现空泡并发展为轴索断裂和崩解,形成无定形微粒,使白质成为黑白相间的海绵状结构<sup>[3,7]</sup>。国内作者在讨论有髓纤维损伤的电镜变化时,常提及“髓鞘松解”和“板层

紊乱”等<sup>[4,5]</sup>。我们认为,造成“髓鞘松解”和“板层紊乱”的原因有两种可能:其一是损伤引起髓鞘肿胀,髓鞘板层之间积液,造成板层间距不均等的增宽和变形。这属于髓鞘的病理变化,都伴有轴索、神经微丝和微管肿胀和消失等改变;其二是由于取材操作不当造成的人工假象,使髓鞘发生扭曲变形和疏密不均等,但其轴索的超微结构基本正常,故建议要综合考虑轴索和髓鞘的病理变化。

**3.2 关于神经毡-树突野的变性** 1987 年我们曾经报道过脊髓横断损伤后,树突野变性的超微结构病理变化<sup>[5,6]</sup>,但是并没有引起学者们的充分注意。鉴于神经毡内有大量的树突野,有数以万计的轴树突触,它们是神经系统正常机能活动的重要的结构基础,我们愿再次讨论这个问题,以期引起注意。从神经元网络学说看,树突(特别是其末梢)是神经元的感受野,在此常形成大量轴树突触;有时若干轴突末梢包围在一条树突的周围,形成所谓“包围性突触”。用透射电镜观察时,把树突的横切面称为树突野(dendrite profile),从功能角度看,树突野应该包括树突周围的树突轴。通常,脊髓损伤都伴有损伤轴突的顺行溃变和末梢溃变。这必然导致大量轴体突触和轴树突触的溃变和消失,使损伤神经元之间的信息交换中断,造成严重的功能障碍。我们认为树突野的变性可以分为“亮变性”和“暗变性”两种。亮变性即树突末梢和轴突末梢的细胞器消失,它们呈电子透明样变,树突周围的轴树突触消失,呈空化状态;树突轴的“暗变性”,乃指轴、树突的末梢及其突触崩解,形成电子密度比较高的致密微粒,堆积在原先的树突野部位。树突野的变性应该属于继发性脊髓损伤,其出现的时间和严重的程度与观察区、损伤部位的距离以及损伤的严重程度等有关。一般多出现在脊髓损伤后 3~7 天,如果损伤脊髓组织没有修复再生或代偿性修复,树突野的变性将保持相当的时期。1997 年 Lin RC 等<sup>[8]</sup>曾就树突功能障碍在神经元溃变中的作用问题进行了综述,有兴趣的读者可以参阅。

### 3.3 关于髓复康作用的机理

**3.3.1 脊髓外伤的原发性损伤和继发性损伤** 原发性损伤从脊髓损伤的那一瞬间开始,可以持续数小时至数天。在非横贯性损伤病人,原发性脊髓损伤造成的危害往往是局限的和可代偿的。治疗原发性损伤的方针是促进损伤或坏死的神经元修复再生。继发性脊髓损伤是指脊髓损伤后,损伤灶邻区

的白质内由于循环障碍-组织水肿、缺血、缺氧-神经组织代谢障碍-神经纤维变性-崩解和坏死-脊髓传导束的横贯性损伤等一系列病理进程。它导致严重、广泛和不可逆的功能障碍,乃至永久性截瘫。由于继发性损伤的病理进程,开始于脊髓损伤后的 1 小时或数小时内,所以治疗继发性脊髓损伤的方针应是:在脊髓损伤后,立即采取有效的神经元保护措施,最大限度地减少脊髓神经组织的水肿和损伤。从这个观点出发,髓复康可能是及时而有效地纠正了循环障碍,改善脊髓损伤部位及其邻区的供血、供氧和迅速消除水肿,从而减轻了继发性损伤对于脊髓的损毁。

### 3.3.2 脊髓水肿与毛细血管壁的结构和功能

1976 年 Beggs JL 等观察了脊髓受压诱发的脊髓水肿与毛细血管壁结构和功能的关系,指出适度的压迫没有损伤毛细血管壁结构的完整性,由于内皮细胞转运功能的变化导致水肿的发生。并且提出内皮细胞中的管泡结构与水肿液的外渗有关<sup>[9]</sup>。几乎是同时,Goodman JH 等<sup>[10]</sup>提出血脑屏障完整性的破坏是水肿液外渗的主要原因。我们认为,脊髓损伤诱发的水肿是多种原因造成的,在严重损伤和承受超常应力的部位,血管壁和血脑屏障完整性的破坏可能是发生水肿的主要原因;但是在损伤的远隔部位或

承受非破坏性应力的脊髓区,毛细血管内皮细胞转运功能的障碍可能是发生水肿的主要原因。

(本文图 1~4 见插页 1)

### 参考文献

- [1] 韩凤岳,徐迎红,沈叶,等. 中药治疗大鼠脊髓损伤的实验研究. 中国骨伤,1995,8(6):5-6.
- [2] 刘卫东,韩凤岳,景向红. 脊髓 号对大鼠脊髓轴浆运输的影响. 中国骨伤,1997,10(3):14-15.
- [3] Balentine JD. Pathology of experimental spinal cord trauma. Ultrastructure of axons and myelin. Lab Invest,1978,39(3):254-266.
- [4] 郝树萍,谢中光,张强,等. 脊髓损伤早期自由基变化及山莨菪碱和维生素 C 抗自由基治疗的实验研究. 中华骨科杂志,1991,11(6):441-446.
- [5] 韩凤岳,陈宝兴,徐迎红,等. 实验性大白鼠脊髓横贯损伤的超微结构观察. 中华外科杂志,1987,25(1):1-5.
- [6] Han Feng-yue, Chen Bao-xing. Histopathology of transected spinal cords in rats. Chinese Medical Journal,1987,100(4):281-292.
- [7] Bresnahan JC. An electron microscopic analysis of axonal alterations following blunt contusion of the spinal cord of the rhesus monkey (Macaca mulatta). J Neurol Sci,1978,37(1-2):59-82.
- [8] Lin RC, Matesic DF, Connor JA. The role of dendritic dysfunction in neurodegeneration. Ann N Y Acad Sci,1997,825:134-45.
- [9] Beggs JL, Waggner JD. Transendothelial vesicular transport of protein following compression injury to the spinal cord. Lab Invest,1976,34(4):428-39.
- [10] Goodman JH, Bingham WG Jr, Hunt WE. Ultrastructural blood-brain barrier alterations and edema formation in acute spinal cord trauma. J Neurosurg,1976,44(4):418-24.

(收稿:2000-02-25 编辑:李为农)

## 短篇报道

# 石膏帽治疗帽状腱膜下血肿

黄斌

(吉安县中医院,江西吉安 343100)

笔者应用石膏帽治疗帽状腱膜下血肿,收到较好疗效,现介绍如下。

### 1 临床资料

自 1993 年 1 月至 1997 年 1 月,采用石膏帽治疗帽状腱膜下血肿病人 4 例,年龄 8~32 岁,均为头部直接暴力伤所致。

### 2 治疗方法与结果

理尽头发后抽吸血肿。在血肿低垂位选点,常规消毒,用 12 号针穿刺抽尽瘀血,无菌纱布覆盖。取两卷小号石膏

绷带,根据病人头部前后径(枕骨髁至眉距离)、冠状径(两耳间距离),分别做好适长的 4 条各 8 层石膏条。常规泡水、挤干,前后给一条,冠状给 3 条,覆盖于头部。用余下石膏卷水平方向环行缠绕,抹平如帽状,加压,持续 5~10 分钟后,用一绷带上下绕过下颌,于头顶部加压打结(进食时可解除绷带,停食后可再绑上,以达加压作用)。4 例无复发,均一次性治愈,平均治愈时间为 10 天。

### 3 讨论

帽状腱膜为人体头部一层疏松组织,而头部血管破裂后不易收缩,局部出血溢及帽状腱膜层,多形成弥漫性血肿。且头部呈近球形,经血肿抽吸后,常规用绷带包扎,难以维持各方向的持续有效压力,而达不到压迫止血目的。血肿往往于术后 2~3 天复发,加重病人出血及痛苦。而石膏帽具有较好的可塑性,干后无弹性,加压固定后,可维持各方向对头部的压力牢固可靠,不易复发,且头皮血运好,一般无肢体石膏外固定并发症。

(编辑:连智华)

## 髓复康促进大鼠脊髓修复再生的超微结构研究

(正文见 389 页)

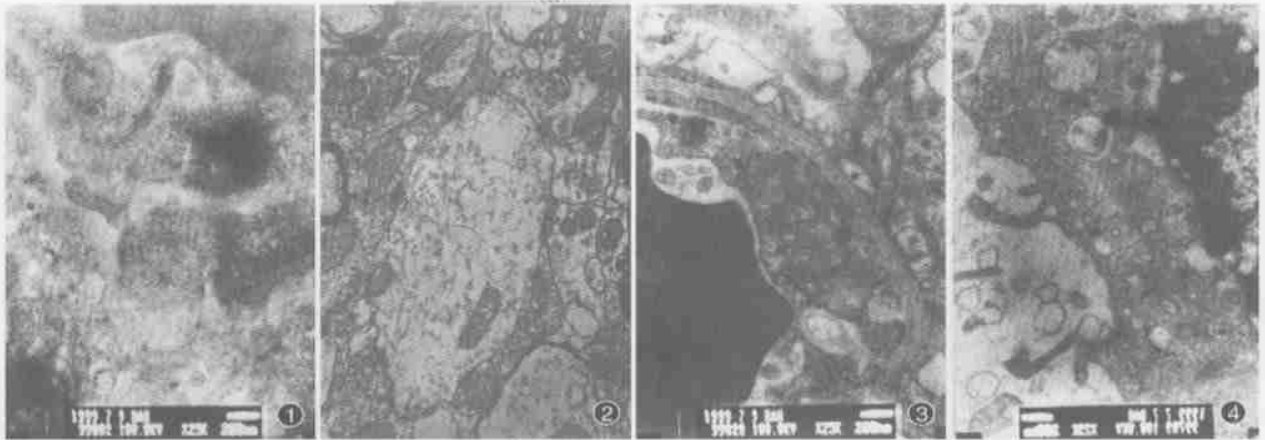


图1 空白对照3天组大鼠脊髓损伤灶邻近区内,一个处于变性过程中的树突野。树突已崩解为一团致密的无定形颗粒,周围的轴突末梢肿胀,结构模糊,部分已崩解成无定型颗粒。图2 脊髓1号3天组大鼠脊髓损伤区内,一个结构正常的树突野。树突干、轴突末梢和轴树突触等微细结构均清晰可见。放大20K。图3 空白对照3天组大鼠脊髓损伤区毛细血管的电镜像。示内皮细胞中仅有少量饮液小泡,血管周围间隙有明显的肿胀。图4 脊髓1号3天组大鼠脊髓损伤区内毛细血管的电镜像。示内皮细胞中有大量饮液小泡,血管周围间隙没有水肿。

## 大鼠后肢短暂缺血后胫骨骨膜变化的组织学观察

(正文见 393 页)

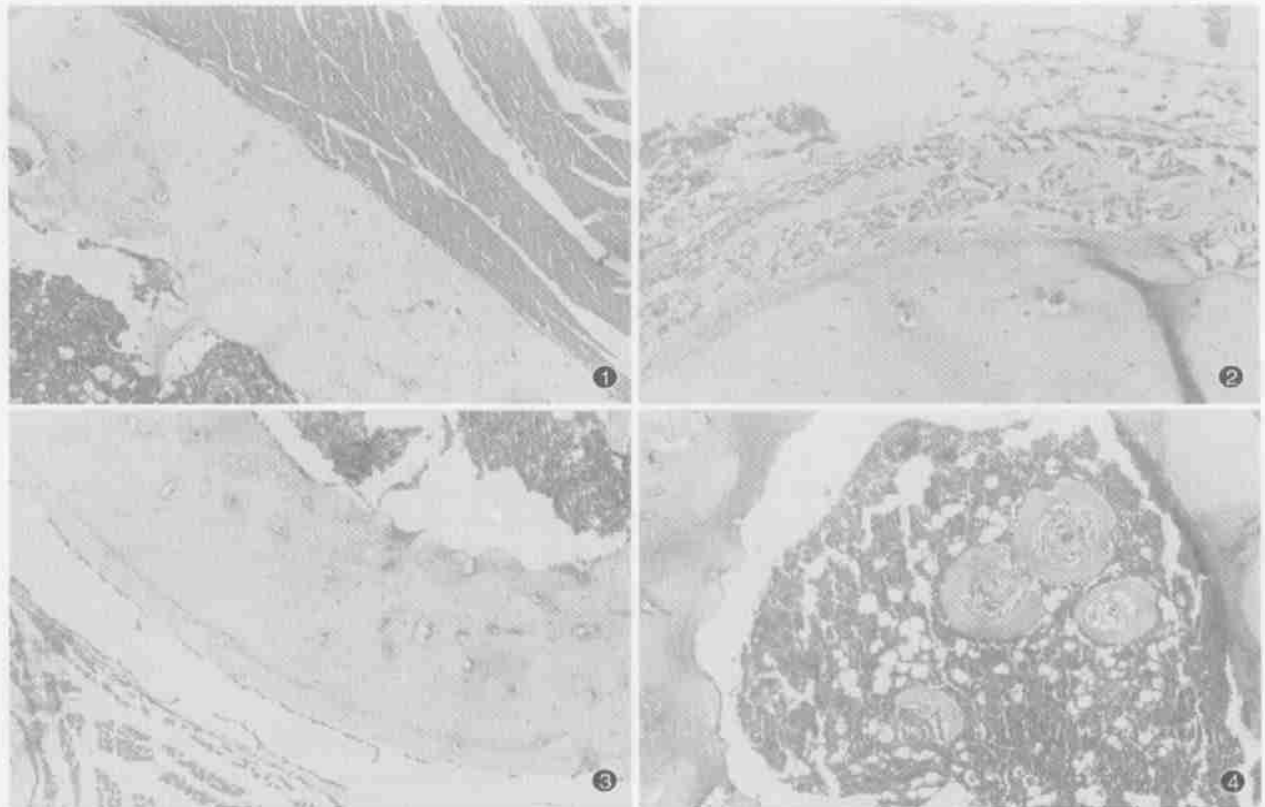


图1 对照组。胫骨骨外膜纤维层由2-3层细胞组成,细胞呈梭形;生骨层由0-1层细胞组成,细胞呈立方形。皮质骨、肌组织、骨髓组织均正常。HE×200。图2 缺血4.5小时3天组。骨外膜生发层细胞明显增生、肥大,伴大量编织骨形成。HE×200。图3 缺血4.5小时10天组。图3中所见的编织骨此时已形成成熟的板层骨,新形成的板层骨与原皮质骨间有一明显的粘合线,骨外膜已无明显增生迹象。HE×100。图4 缺血4.5小时10天组。髓腔内部分小血管周围形成环形骨化灶,灶内含有较成熟的骨细胞。HE×400。

## 髓复康促进大鼠脊髓修复再生的超微结构研究

(正文见 389 页)

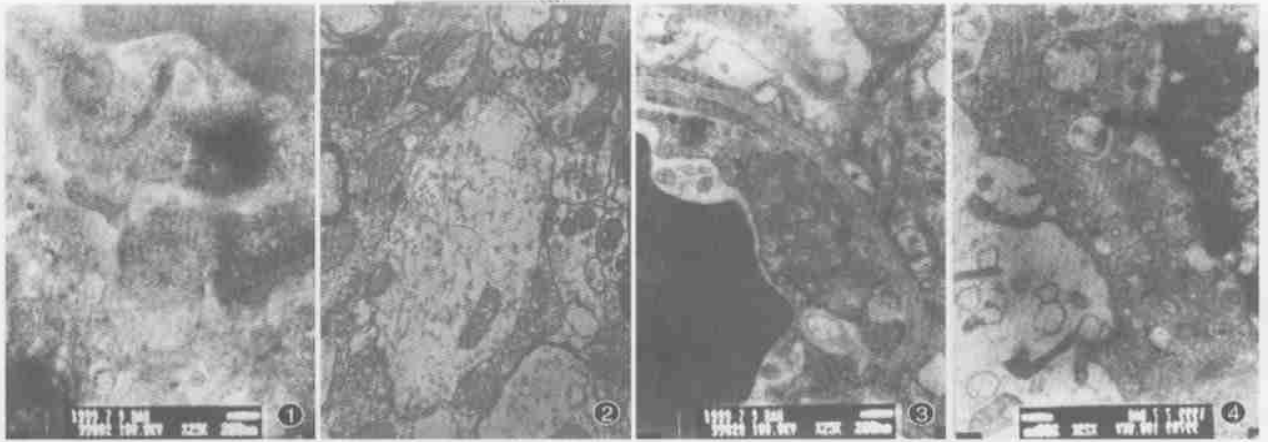


图1 空白对照3天组大鼠脊髓损伤灶邻近区内,一个处于变性过程中的树突野。树突已崩解为一团致密的无定形颗粒,周围的轴突末梢肿胀,结构模糊,部分已崩解成无定型颗粒。图2 脊髓1号3天组大鼠脊髓损伤区内,一个结构正常的树突野。树突干、轴突末梢和轴树突触等微细结构均清晰可见。放大20K。图3 空白对照3天组大鼠脊髓损伤区毛细血管的电镜像。示内皮细胞中仅有少量液体小泡,血管周围间隙有明显的肿胀。图4 脊髓1号3天组大鼠脊髓损伤区内毛细血管的电镜像。示内皮细胞中有大量液体小泡,血管周围间隙没有水肿。

## 大鼠后肢短暂缺血后胫骨骨膜变化的组织学观察

(正文见 393 页)

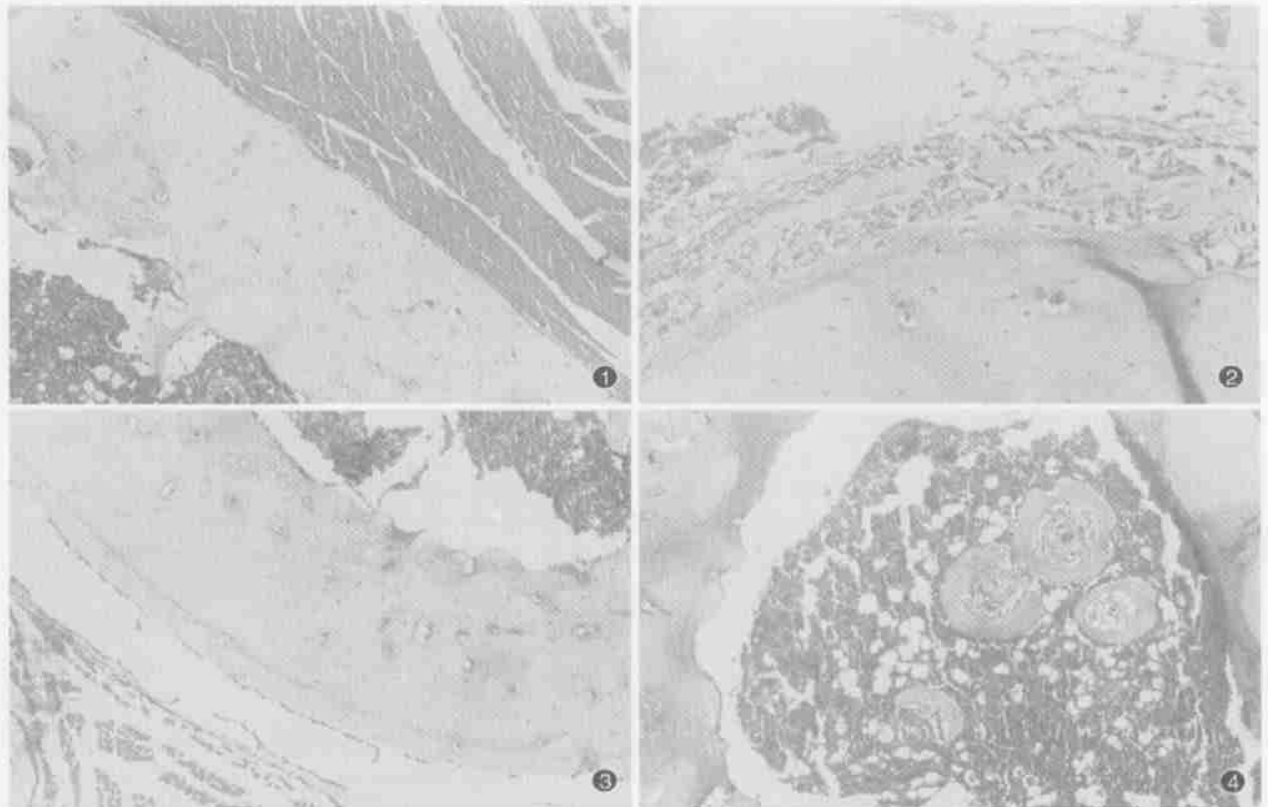


图1 对照组。胫骨骨外膜纤维层由2-3层细胞组成,细胞呈梭形;生骨层由0-1层细胞组成,细胞呈立方形。皮质骨、肌组织、骨髓组织均正常。HE×200。图2 缺血4.5小时3天组。骨外膜生发层细胞明显增生、肥大,伴大量编织骨形成。HE×200。图3 缺血4.5小时10天组。图3中所见的编织骨此时已形成成熟的板层骨,新形成的板层骨与原皮质骨间有一明显的粘合线,骨外膜已无明显增生迹象。HE×100。图4 缺血4.5小时10天组。髓腔内部分小血管周围形成环形骨化灶,灶内含有一较成熟的骨细胞。HE×400。