

• 基础研究 •

姜黄素对骨骼肌缺血再灌注损伤的保护作用及其机制研究

冯亚高, 邓素雅

(解放军第 252 医院手外科, 河北 保定 071000)

【摘要】 目的: 观察姜黄素对肢体骨骼肌缺血再灌注损伤中血浆肌酸磷酸激酶 (CPK)、乳酸脱氢酶 (LDH)、丙二醛 (MDA) 含量及骨骼肌 ^{99m}Tc 亚甲基二磷酸钠 ($^{99m}\text{TcMDP}$) 吸收量的影响, 探讨姜黄素对肢体骨骼肌缺血再灌注损伤的保护作用及其机制。方法: 制作大鼠后肢缺血再灌注损伤模型, 30 只大鼠随机分为假手术组、对照组、干预组。分别于再灌注 1 h 后测定血浆 CPK、LDH、MDA 含量和腓肠肌 $^{99m}\text{TcMDP}$ 吸收量变化, 透射电镜观察腓肠肌超微结构变化。结果: 缺血再灌注对照组和姜黄素干预组与假手术组相比, 血浆 CPK ($7\ 296.18 \pm 1\ 086.53$ 、 $5\ 168.49 \pm 975.39$ 、 $3\ 014.26 \pm 963.78$)、LDH ($1\ 203.66 \pm 282.53$ 、 726.56 ± 203.65 、 463.85 ± 75.32)、MDA (10.36 ± 2.65 、 6.78 ± 2.12 、 3.54 ± 1.89) 含量明显增高 ($P < 0.01$), $^{99m}\text{TcMDP}$ 吸收量 (16.69 ± 3.14 、 11.45 ± 2.35 、 9.12 ± 1.96) 明显升高 ($P < 0.01$); 腓肠肌超微结构损伤明显加重; 姜黄素组血浆和骨骼肌的各项指标与缺血再灌注对照组相比显著降低 ($P < 0.01$), 腓肠肌超微结构损伤明显减轻。结论: 姜黄素能有效降低血浆 CPK、LDH、MDA 含量, 减少骨骼肌 $^{99m}\text{TcMDP}$ 吸收量, 减轻缺血再灌注骨骼肌坏死程度和坏死范围, 改善骨骼肌再灌注损伤的超微结构, 说明姜黄素对骨骼肌缺血再灌注损伤具有明显的保护作用。

【关键词】 再灌注损伤; 肌, 骨骼; 姜黄素

Protective effect and its mechanism of Curcumin on ischemia reperfusion injury of skeletal muscle FENG Ya-gao, DENG Su-ya Department of Orthopaedics No 252nd Hospital of the PLA, Baoding 071000 Hebei, China

ABSTRACT Objective To observe the effect of plasma contents of creatinephosphokinase (CPK), lactatedehydrogenase (LDH), malondialdehyde (MDA) and the absorbed dose of ^{99m}Tc methylene diphosphonate ($^{99m}\text{TcMDP}$) in skeletal muscle, investigate the protection and mechanism of Curcumin on skeletal muscle ischemia reperfusion injury. **Methods** Ischemic reperfusion model of the hindlimb was established, and 30 rats were randomly divided into three groups such as sham group, ischemia reperfusion control and Curcumin group. The degree of muscle damage was measured by changes of MDA, CPK, LDH in plasma contents and the absorbed dose of $^{99m}\text{TcMDP}$ in skeletal muscle, and the microstructure of gastrocnemius muscle were observed in every group. **Results** The plasma contents of CPK, LDH, MDA and the absorbed dose of $^{99m}\text{TcMDP}$ in skeletal muscle in control ($7\ 296.18 \pm 1\ 086.53$ 、 $1\ 203.66 \pm 282.53$ 、 10.36 ± 2.65 、 16.69 ± 3.14) and Curcumin group ($5\ 168.49 \pm 975.39$ 、 726.56 ± 203.65 、 6.78 ± 2.12 、 11.45 ± 2.35) were significantly higher than those in sham group ($3\ 014.26 \pm 963.78$ 、 463.85 ± 75.32 、 3.54 ± 1.89 、 9.12 ± 1.96). While the plasma contents of CPK, LDH, MDA and the absorbed dose of $^{99m}\text{TcMDP}$ in skeletal muscle in Curcumin group were significantly lower than those in control group ($P < 0.01$), and the microstructure of gastrocnemius muscle in Curcumin group was significantly improved compared with control group. **Conclusion** Curcumin could decrease the plasma contents of CPK, LDH, MDA and the absorbed dose of $^{99m}\text{TcMDP}$ in skeletal muscle, and relieve the degree and limit of necrosis on skeletal muscle ischemia reperfusion injury, and improve the microstructure of skeletal muscle in ischemia reperfusion injury. So Curcumin has a protection on the skeletal muscle ischemia reperfusion injury.

Key words Reperfusion injuries; Muscle; Skeletal; Curcumin

Zhongguo Gushang/China J Orthop & Trauma 2007, 20(2): 100-102 www.zggssz.com

姜黄素是姜黄中提取的一种植物多酚, 是姜黄发挥药理作用最主要的活性成分之一。近年来的研究表明, 姜黄素具有抗炎、抗氧化、清除氧自由基、抗肿瘤、抗动脉粥样硬化、抗纤维化以及保护肝脏、肾脏等多种作用^[1]。在大脑和心肌缺

血再灌注损伤中, 姜黄素具有明显的保护作用^[2-3]。作者通过大鼠后肢缺血再灌注模型, 观察了姜黄素对肢体骨骼肌缺血再灌注损伤的影响, 报告如下。

1 材料与与方法

1.1 动物模型 健康雄性 SD 大鼠 30 只, 体质量 (250 ± 20) g % 戊巴比妥钠 40 mg/kg 腹腔麻醉后, 沿股鞘走行切开皮肤,

在 10倍手术显微镜下分离股动静脉,于股鞘下用张力带环扎肢体以阻断侧支循环。用微血管夹阻断股动脉血供,制成右后肢缺血模型。

1.2 分组与处理 实验动物随机分为 3组,每组 10只。姜黄素干预组:持续缺血 4 h,于再灌注前 30 min经腹腔给姜黄素 40 mg/kg 后再灌注 1 h。缺血再灌注对照组:持续缺血 4 h 于再灌注前 30 min经腹腔注射同体积的生理盐水后再灌注 1 h。假手术组:仅切开显露股动脉鞘。

1.3 检测指标及方法 ①每组动物于再灌注 1h后,分别取股动脉血用全自动生化分析仪测定血浆肌酸磷酸激酶(CPK)、乳酸脱氢酶(LDH)活性。②用硫代巴比妥酸比色法测定血浆丙二醛(MDA)含量。③经右股动脉注入 0.1 ml 10mBq ^{99m}TcMDP, ^{99m}TcMDP 在不可逆损伤骨骼肌细胞中聚集,迅速切取腓肠肌,用美国产 Signa 438型 γ照相机进行 γ计数并称量,计算 ^{99m}TcMDP 吸收量(1% 剂量 /g·m in),评价骨骼肌坏死程度^[4]。④取腓肠肌标本 2 mm × 1 mm × 1 mm,用 4% 戊二醛及 1% 锇酸溶液双重固定,常规乙醇、丙酮脱水, Epon812包埋,超薄切片,醋酸铀和枸橼酸铅染色,作透射电镜观察。

1.4 统计方法 所有资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,行方差分析,均数间比较采用 LSD 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 姜黄素对血浆 CPK、LDH、MDA 及骨骼肌 ^{99m}TcMDP 摄取量的影响 当腓肠肌缺血 4 h 再灌注 1 h 后,姜黄素组和对照组血浆 CPK、LDH、MDA 及骨骼肌 ^{99m}TcMDP 摄取量与假手术组比较差异有显著性意义 ($P < 0.01$);说明姜黄素组和对照组有不同程度的缺血再灌注损伤。姜黄素组与对照组相比,血浆 CPK、LDH、MDA 及骨骼肌 ^{99m}TcMDP 摄取量明显降低 ($P < 0.01$);说明姜黄素对骨骼肌缺血再灌注损伤具有保护

作用(见表 1)。

2.2 腓肠肌超微结构观察 电镜下,假手术组肌原纤维间有大量糖原颗粒及线粒体,肌丝结构完整,排列规则;对照组肌原纤维明显水肿,肌丝断裂,肌质网重度扩张,线粒体严重肿胀,嵴断裂,毛细血管内皮肿胀,糖原颗粒少见;姜黄素组线粒体肿胀程度减轻,嵴结构部分完整,肌质网轻度扩张,出现大量糖原颗粒及形态各异的线粒体(见图 1-3)。

3 讨论

姜黄具有显著的抗炎、抗脂质过氧化和清除自由基等作用,对缺血再灌注大脑和心肌具有明显的保护作用^[1-3]。研究表明,姜黄素可使异丙肾上腺素诱导的大鼠心电图缺血性改变减轻,抑制血清 CPK、LDH 活性的升高以及血清游离脂肪酸升高,同时还降低缺血心肌 MDA 的含量。此外,姜黄素还可提高大鼠心肌耐缺氧能力,对大鼠心肌的缺血性损伤具有一定的保护作用。姜黄素可升高缺血再灌注模型大鼠血中超氧化物歧化酶、6-酮-前列腺素 F_{1α}、NO 含量;降低血中 MDA、血栓素、内皮素含量及脑组织钙含量。表明姜黄素对大鼠脑缺血再灌注损伤具有保护作用,此作用与增加脑血流量,抗脂质过氧化,防止钙超载有关^[3-5]。

能量缺乏和大量氧自由基产生是骨骼肌缺血再灌注损伤的主要原因。骨骼肌缺血再灌注后线粒体活性显著降低,导致 ATP 产生减少。姜黄素能有效清除自由基,减轻线粒体膜脂质的过氧化,保护线粒体功能,缓解细胞能量供应。姜黄素的保护效应可在线粒体水平上发挥作用,通过保护线粒体的功能来增强细胞对再灌注损伤的抵抗力^[1,3]。本研究结果显示,姜黄素能有效降低血浆 CPK、LDH、MDA 含量,减少骨骼肌 ^{99m}TcMDP 吸收量,减轻缺血再灌注骨骼肌坏死程度和坏死范围,改善骨骼肌再灌注损伤的超微结构,说明姜黄素对骨骼肌缺血再灌注损伤具有明显的保护作用。

表 1 姜黄素对 CPK、LDH、MDA 及 ^{99m}TcMDP 吸收量的影响 ($\bar{x} \pm Sx$)

Tab 1 Effect of Curcumin on absorbed dose of CPK, LDH, MDA and ^{99m}TcMDP ($\bar{x} \pm Sx$)

分组 Groups	CPK(U/L)	LDH(U/L)	MDA(mol/l)	^{99m} TcMDP (% 剂量 /g·m in)
假手术组 Sham	3 014.26 ± 963.78	463.85 ± 75.32	3.54 ± 1.89	9.12 ± 1.96
对照组 Control	7 296.18 ± 1 086.53*	1 203.66 ± 282.53*	10.36 ± 2.65*	16.69 ± 3.14*
姜黄素组 Curcumin	5 168.49 ± 975.39* #	726.56 ± 203.65* #	6.78 ± 2.12* #	11.45 ± 2.35* #

注: * 与假手术组比较: $P < 0.01$; # 与对照组比较: $P < 0.01$

Note: * As compared with sham group $P < 0.01$; # As compared with control group $P < 0.01$

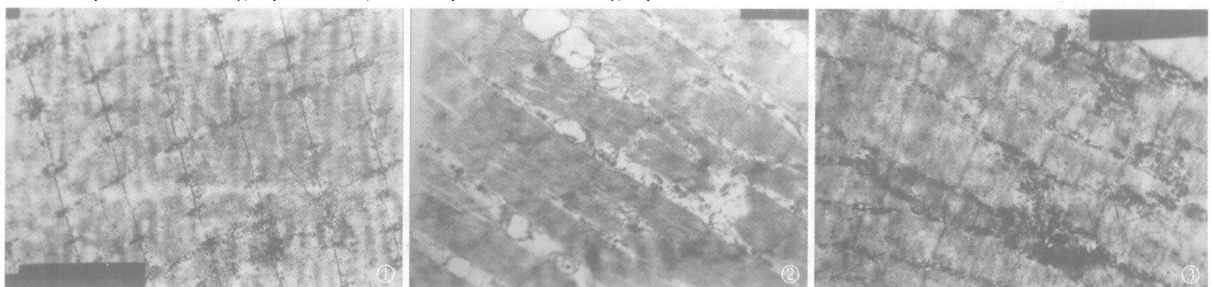


图 1 假手术组骨骼肌超微结构 × 13 000 图 2 对照组骨骼肌超微结构(× 13 000) 图 3 姜黄素组骨骼肌超微结构(× 13 000)

Fig. 1 Microstructure of skeletal muscle in sham group (× 13 000) Fig. 2 Microstructure of skeletal muscle in control group (× 13 000)

Fig. 3 Microstructure of skeletal muscle in Curcumin group (× 13 000)

• 病例报告 •

踝关节色素沉着绒毛结节性滑膜炎误诊 1例报告

纪泉, 申剑, 张良, 文良元
(北京医院骨科, 北京 100730)

关键词 滑膜炎, 色素绒毛结节性; 踝关节; 误诊

Misdiagnosis of pigmented villonodular synovitis of ankle joint a report of one case JI Quan, SHEN Jian, ZHANG Liang, WEN Liang-yuan. Department of Orthopaedics Beijing Hospital Beijing 100730 China

Key words Synovitis, Pigmented villonodular, Ankle joint, Diagnostic errors

Zhongguo Gushang / China J Orthop & Trauma 2007, 20(2): 102 www.zggszz.com

患者, 女性, 53岁, 发现左外踝无痛性肿物 2年余, 无外伤史。发病 1个月曾在外院诊断为“血管瘤”, 建议观察随诊。近期肿物逐渐增大, 查体发现肿物位于外踝尖的前后侧分为两部分, 轻度压痛, 有揉面感, 踝关节活动无受限。超声示外踝附近两个不规则低回声影, 边界清, 内部回声不均匀, 内可见血流信号, 为实性肿物。踝关节 X线片未见明显骨质破坏, 关节面光滑, 关节间隙较对侧稍增宽。病理报告见图 1。

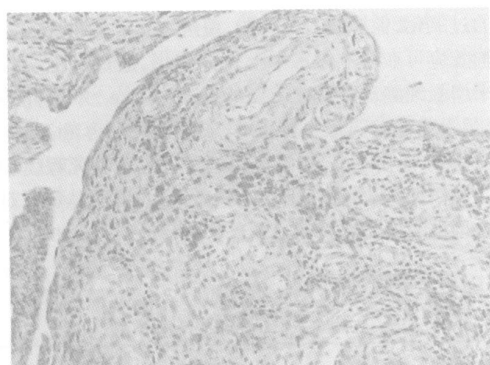


图 1 滑膜上皮呈乳头状增生, 间质大量纤维组织细胞增生, 淋巴细胞、多核巨细胞浸润, 并伴大量含铁血黄素沉积 (HE 染色, $\times 20$)

2005年 1月 12日行肿瘤切除术, 由外踝沿肿物弧形切开, 术中发现踝关节腔内及韧带周围皆为黄褐色的组织充填, 两侧的肿瘤组织通过跟腓韧带下方连续分布在外踝尖的前后侧, 后踝及内踝关节间隙内亦为较多病变组织充填, 距骨软骨面少量锯齿状破坏。保护好跟腓前后韧带及跟腱, 通过内外翻和背伸踝关节调整关节间隙彻底清除病变组织约 4 cm \times 3 cm \times 3 cm, 并找到游离体 1块。术后 3周待皮肤切口愈合后行放疗。随访 1年至今尚无复发病状。

讨论

色素沉着绒毛结节性滑膜炎 (Pigmented villonodular synovitis, PVNS) 是发生于关节、腱鞘或滑膜的少见病变, 与外伤可能有一定关系^[1]。本病属肿瘤还是炎症仍存争议。滑膜细胞、纤维组织及毛细血管大量增生而形成绒毛样结构, 有炎症表现。绒毛融合成为结节, 滑膜细胞增生, 有复发和恶变为滑膜肉瘤者, 呈现肿瘤性质。本病好发于膝关节, 其次为髌、踝关节等, 常为单发。根据病变范围分为: ①弥漫型, 少见, 好发于膝关节, 全滑膜表面绒毛增生棕黄色素沉积, 关节肿胀明显和积液为进展期; ②局限型, 较多见, 病变局限于滑膜一处。中晚期滑膜及结节的压迫侵蚀破坏软骨。早期手术彻底切除病变组织, 多可保护关节功能。局限型 PVNS 复发较少, 弥漫型切除并放疗后仍易复发^[2]。Vastel 等^[3]随访 16 例踝关节 PVNS 患者平均 16.7 年发现仍有 9 例再次手术, 1 例为复发, 认为虽然切除了 PVNS 但可能不能阻止继发性骨关节炎的进展。本例为踝关节弥漫型 PVNS, 较罕见, 误诊的主要原因可能是认识不足, 拖延了手术时机, 导致手术困难加大、关节破坏加重。本例手术困难在于切口如何能够充分显露病变部位, 由外踝显露内踝和部分后踝, 从而达到充分切除的目的。

参考文献

- 1 Brien EW, Sacoman DM, Mirra JM. Pigmented villonodular synovitis of the foot and ankle. *Foot Ankle Int* 2004; 25(12): 908-913
- 2 Bisbinas I, De Silva U, Griner R. J. Pigmented villonodular synovitis of the foot and ankle: a 12-year experience from a tertiary orthopedic oncology unit. *J Foot Ankle Surg* 2004; 43(6): 407-411
- 3 Vastel L, Lambert P, Depinieux G, et al. Surgical treatment of pigmented villonodular synovitis of the hip. *J Bone Joint Surg (Am)*, 2005; 87(5): 1019-1024.

(收稿日期: 2006-03-10 本文编辑: 连智华)

参考文献

- 1 鲍华英, 陈荣华. 姜黄素的研究进展. *国外医学: 儿科学分册*, 2003; 30(5): 254-256
- 2 高思海, 赵金平, 潘铁成, 等. 姜黄素对实验性缺血-再灌注损伤心肌能量代谢的影响. *中国医院药学杂志*, 2005; 25(6): 504-506.
- 3 石晶, 陶沂, 胡晋红, 等. 缺血再灌注损伤时脑线粒体功能的改变及

姜黄素的保护作用. *中国药理学通报*, 2000; 16(5): 537-539.

- 4 冯亚高, 邓素雅, 洪光祥, 等. 缺血预处理对缺血骨骼肌收缩功能的影响. *中国临床康复杂志*, 2005; 9(22): 216-217.
- 5 郝宪恩, 王鑫国, 李楠, 等. 姜黄素对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用. *中药药理与临床*, 2004; 20(1): 7-9

(收稿日期: 2006-04-18 本文编辑: 王玉蔓)