

中药对小白鼠骨骼肌切伤后再生影响的组织学观察

张建国 孙强 朱建军 张兆祥

(三峡大学医学院解剖学教研室,湖北 宜昌 443003)

【摘要】 目的 探讨中药对骨骼肌切伤后再生的影响。方法 昆明种小鼠 50 只,制作骨骼肌纵行切伤模型,口服中药为实验组,未用中药为对照组。术后分别于第 2、3、5、7、10 天处死动物。组织切片,HE 染色,观察骨骼肌再生的情况,以评价中药对损伤骨骼肌再生的影响。结果 实验组切口处肌卫星细胞激活,成肌细胞增殖、分化、融合以及肌管形成均快于对照组。结论 中药可以促进骨骼肌切伤后的再生。

【关键词】 中医现代化; 骨骼肌; 再生

Histological study of regeneration effect of Chinese Traditional Medicine on incised wound on skeletal muscles in mice ZHANG Jiar guo, SUN Qiang, ZHU Jiar jun, et al. The Three Gorges University Medical College (Hubei Yichang 443003)

【Abstract】 Objective To explore the effect and use of Chinese Medicinal Herbs(CMH)on regeneration of incised wound in skeletal muscles **Methods** Experimental trauma models of skeletal muscles with incised wound were made on 50 Kunming mice ,half of them were given oral CMH as the experimental group ,and the rest without CMH as control group. The mice were sacrificed successively at 2nd ,3rd ,5th ,7th ,10th day after operation. After tissue section ,processing and HE staining ,regeneration of skeletal muscles the effect of CMH on regeneration of skeletal muscles were observed. **Results** Activation of satellite cell ,proliferation ,differentiation ,amalgamation of myoblast and formation of myotube of experimental group was faster than that of the control group. **Conclusion** The CMH could promote regeneration of skeletal muscles after incised wound.

【Key Words】 Modernization(TCM) ; Skeletal muscles ; Regeneration

文献报道:骨骼肌外伤破裂时,肌纤维及肌内膜管已被破坏,则只能在断端形成多核巨细胞,其后虽可形成少数肌细胞,但数量少且生长缓慢^[1]。因此,需要探讨促进骨骼肌再生的方法,而有关中药对骨骼肌再生影响的研究则很少^[2]。因此,本研究从形态学角度研究了中药对骨骼肌切伤后再生的影响。

1 材料与方法

1.1 动物模型制备 昆明种小白鼠 50 只,雌雄不限,体重 18~23g。用 0.4% 的戊巴比妥钠溶液(0.1mg/10g)进行腹腔注射,全身麻醉。待动物麻醉后,在动物后肢备皮,常规消毒皮肤。在无菌条件下,制成腓肠肌纵行切伤模型:用 11 号手术刀在胫骨内侧肌肉丰隆处作一纵行切口,刀尖达胫骨,切口长约 6~7mm,缝合,消毒。

1.2 分组 随机分成实验组和对照组,每组 25 只。实验组于术后即开始每天早晚两次灌胃给药,每次约 0.2ml 自制中药液,并于局部创面外擦该药液,持续用药。对照组用同样方

法给予等量生理盐水。实验组有 6 只小鼠和对照组有 7 只小鼠灌胃致死,其余于术后第 2、3、5、7、10 天分别处死对照组及实验组动物,每次各 3~5 只。

1.3 切片制作 解剖出动物的术侧后肢,甲醛固定 7 天,取腓肠肌,石蜡包埋,制作腓肠肌横行切片,切片厚 8μm,进行 HE 染色,光镜观察,照相。

1.4 中药 中药为自拟药方:煅自然铜、五加皮、骨碎补、槲子、乳香、煅狗骨、三七、当归、赤芍、白芷、鹿角胶、血竭、杜仲、没药、玄胡、红花、续断。水煎两次,浓缩成 100g/100ml,4 冷藏,备用。

2 结果

2.1 一般状况 手术当天晚上所有动物开始清醒活动,第 2 天进食、活动转入正常。动物无感染,皮肤切口愈合良好。实验组创伤处局部水肿在手术后第 2~3 天消退,创面干燥、无渗出及其他不良反应。对照组情况同实验组,但水肿直到第 4~5 天才消退。

2.2 组织学观察

术后第 2 天,对照组肌浆逐渐溶解,其轮廓仍依稀可见。

基金项目:三峡大学重点资助项目(项目编号:鄂三峡院科[2000]4号)

肌细胞染色较淡,呈半透明状。周围有大量炎性细胞,炎性细胞逐渐侵入坏死的肌细胞。实验组情况与对照组类似。

术后第 3 天,对照组切口处肌细胞完全溶解坏死,轮廓不清。在炎性细胞之间可见染色淡、形状不规则的肌细胞坏死碎片,炎性细胞分布较均匀。实验组与对照组情况相似。(见图 1、2)

术后第 5 天,对照组切口处散在分布梭形或有突起的细胞,比炎性细胞及成纤维细胞大,肌浆嗜碱性,单核且核大,圆形或椭圆形,位于细胞中央,为成肌细胞。在切口周边则可见少量圆形或卵圆形的细胞,较大,肌浆也呈嗜碱性,横切面有 2~3 个细胞核,核圆形或椭圆形,位于细胞中央区域,这显然是由单核的成肌细胞融合而成的肌管。实验组可见圆形或卵圆形的细胞,少数为梭形,大小不等,肌浆嗜碱性,横切面有 1~5 个细胞核,核大,圆形或椭圆形,位于细胞中央区域,是由单核的成肌细胞融合而成的肌管。说明实验组切口处形成的肌管比对照组多,且较成熟。(见图 3、4)

术后第 7 天,对照组可见带状细胞,其宽度只有正常骨骼肌细胞的一半以下,肌浆嗜碱性,有 10~30 个细胞核,核大,呈椭圆形或圆形,大部分核呈单行串珠状排列,居中,少数核位于肌浆周边。此外,还可见肾形、卵圆形或不规则形肌细胞,肌浆嗜碱性,横切面上有数个细胞核,核大,圆形或椭圆形,位于细胞中央或周边。说明还有散在的成肌细胞继续添加到肌管内。实验组肌细胞呈多边形,肌浆嗜酸性,可见肌横纹,肌细胞核密度明显小于对照组,横切面上只有 1~2 个细胞核,少数为扁椭圆形,位于细胞周边,多数为圆形或椭圆形,位于中央,说明实验组肌管正向成熟的肌细胞分化,并较对照组提前出现肌横纹。(见图 5、6)

术后第 10 天,对照组肌细胞呈卵圆形或椭圆形,肌浆嗜酸性,可见肌横纹,肌细胞核密度较第 7 天明显减小,横切面上只有 1~3 个细胞核,少数为扁椭圆形,位于细胞周边,多数为圆形或椭圆形,位于中央。也有少数细胞的细胞核呈单行串珠状排列,核大,居中,呈卵圆形或圆形。实验组肌细胞形态与正常肌细胞类似,但其宽度明显小于正常肌细胞。(见图 7、8)

3 讨论

在胚胎发育过程中,从原始的细胞分化为成熟的肌细胞,一般要经过 4 个时期:前成肌细胞;成肌细胞;肌管(细胞);肌纤维。前成肌细胞为稍长的不规则的星状细胞,含少量的细胞质,有一个大而圆的核,染色质深,核仁明显。它进一步分化时,细胞增大并伸长为梭形,细胞质增加,核为椭圆形,染色质浅,核仁明显,此为成肌细胞。以后成肌细胞增殖、分化,多个成肌细胞相互融合成一个管状细胞,即肌管。散在的成肌细胞可以继续融合在肌管内,使一个肌管内可有数个至数十个圆形或卵圆形的细胞核,呈串珠样排列于中央,并且核较大。随着肌细胞内肌原纤维逐渐增多,胞浆也由嗜碱性变为嗜酸性,并逐渐出现肌横纹,成为肌细胞^[3]。一般来说进入成年以后,成肌细胞就消失了。在肌管阶段有单个核细胞附着在表面,分化为肌卫星细胞。肌卫星细胞位于肌膜与细胞膜之间,胞核扁圆,核内染色质较稀疏,细胞质较少。在光镜下不易分辨。卫星细胞正常情况下处于静止状态,当肌肉损伤、

坏死或负荷过重时,该细胞即被激活,和成肌细胞一样开始增殖(有丝分裂)、分化(功能蛋白的表达)融合成肌管,最后形成肌纤维^[4]。因此,有学者认为肌卫星细胞是肌再生期的成肌细胞^[5]。

肌组织再生的近代研究焦点之一是损伤的肌组织使成纤维细胞活跃,结缔组织增生,阻断了肌细胞的再生过程;还是损伤肌组织失去完全再生能力而诱导结缔组织增生^[2]。本实验表明:小鼠骨骼肌具有再生能力,且结缔组织增生没有阻断肌细胞的再生。我们观察到骨骼肌再生的过程:在创伤早期(第 1 天到第 3 天)损伤处肌细胞在炎性细胞的作用下逐渐溶解释放,肌卫星细胞被激活,形成成肌细胞,以后成肌细胞增殖、分化,多个成肌细胞相互融合成一个管状细胞,即肌管。散在的成肌细胞可以继续融合在肌管内,使一个肌管内可有数个至数十个圆形或卵圆形的细胞核,呈串珠样排列于中央,并且核较大。随着肌细胞内肌原纤维逐渐增多,胞浆也由嗜碱性变为嗜酸性,并逐渐出现肌横纹,细胞核逐渐变小,呈扁椭圆形,密度也逐渐变小,并向周边移动,成为肌细胞。此过程与胚胎发育时期骨骼肌的发生过程相似。看来,可以将骨骼肌再生的过程分为三个时期:损伤激活期;肌管形成期;肌纤维形成期。

祖国医学认为损伤后瘀血阻滞,气血不通,使经络拘急,作肿作痛,关节伸屈不利。本研究实验组所用中药即按活血化瘀(乳香、没药、红花、血竭、三七、煅自然铜、玄胡、鹿角胶、赤芍)、消肿止痛(三七、当归、白芷、栀子)和接骨续筋(杜仲、续断、骨碎补、五加皮、煅狗骨)之原则组方,观察中药影响骨骼肌再生的规律。使用中药以后,实验组骨骼肌再生过程与对照组具有相似的变化情况,但卫星细胞激活,成肌细胞增殖、分化、融合以及肌管形成期明显快于对照组。说明中药具有促进骨骼肌再生的作用。

在骨骼肌再生的过程中,来自肌肉和/或运动神经和炎症细胞的生长因子起着关键的作用。体外研究发现,成纤维细胞生长因子(FGFs)、转化生长因子(TGF- β)、胰岛素样生长因子(IGF- β 和 IGF- α)能控制卫星细胞增殖,而 IGFs 对卫星细胞的分化起主要作用。体内实验也表明,这些生长因子在体内也能相互作用^[6]。三七^[7]、红花、当归^[8]、血竭^[9]、赤芍^[10]等中药能抗血小板聚集。因此,我们认为中药促进骨骼肌再生的作用可能是由于中药通过多种途径影响了各种生长因子合成与释放的结果。(本文图 1~8 见插页 1)

参考文献

- 董郡. 病理学. 第 2 版. 北京:人民卫生出版社,1998. 70-71.
- 王绪辉,李耀明,施杞,等. 生肌膏促进骨骼肌完全再生的临床评估. 中医杂志,1993,34(1):36-38.
- 刘斌,高英茂. 人体胚胎学. 北京:人民卫生出版社,1996. 372-378.
- Yablonka Reuveni Z, Quinn LS, Nameroff M. Isolation and clonal analysis of satellite cells from chicken pectoralis muscle. Dev Biol, 1987, 119(1):252-259.
- Schultz E, McCormick KM. Skeletal muscle satellite cells. Rev Physiol Biochem Pharmacol, 1994, 123:213-257.
- Husmann I, Soulet L, Gautron J, et al. Growth factors in skeletal muscle regeneration. Cytokine Growth Factor Rev, 1996, 7(3):249-258.
- 杜力军,何卫世,国月英,等. 三七止血活血机理的研究:不同剂

量三七对小鼠凝血系统的作用. 中药药理与临床, 1995, 11 (3) :25-28.

8 万素军, 郑军, 毛艳英, 等. 外伤复明胶囊对血小板粘附功能和血栓形成影响的研究. 中国中医眼科杂志, 1997, 7 (2) :74-76.

9 黄树莲, 陈血芬, 陈晓军, 等. 广西血竭总黄酮活血化瘀的研究. 广西医学, 1996, 18 (1) :1-3.

10 吉中强, 宋鲁卿, 高晓西, 等. 11 种中药对大鼠血小板聚集和红细胞流变性的影响. 山东中医杂志, 2000, 19 (2) :107-108.

(收稿:2001-10-24 编辑:房世源)

短篇报道

三叶草钢板治疗肱骨近端骨折

徐泽贵¹ 任先军²

(1. 巴中市人民医院, 四川 巴中 636001; 2. 第三军医大学新桥医院)

我院自 1998 年 8 月至 2001 年 2 月采用三叶草钢板治疗肱骨近端骨折 20 例, 效果满意。

1 临床资料

本组 20 例中男 16 例, 女 4 例; 年龄 16 ~ 70 岁, 平均 45 岁。骨折按 AO/ASIF 分类: A 型 7 例, B 型 9 例, C 型 4 例, 均为新鲜骨折, 骨折端均有明显移位、重叠、成角和肱骨头旋转畸形, 无血管神经损伤。

2 手术方法

臂丛或全麻下, 病员仰卧位, 伤肩垫高, 作肩关节前内侧切口, 长约 12 ~ 14cm。在肱三头肌与胸大肌之间分离, 保护头静脉, 行骨膜下剥离, 显露骨折端, 清除骨折断端嵌入的软组织及血凝块。自肩峰交叉穿入两根克氏针于肱骨头, 以控制近端骨折端。将上臂及肱骨头内旋, 确认肱二头肌腱长头及大小结节, 以“撬拨”法配合其他手法整复骨折。把三叶草钢板放在肱二头肌长腱外侧, 必要时可使三叶草钢板侧向二叶之一和上叶各截除一段, 以适用肱骨上端骨形态及内固定要求。肱骨头用 6.5mm 松质骨拉力螺钉固定, 较远侧骨段用 4.5mm 皮质螺钉固定。并用拉力螺钉经三叶草钢板的螺孔作骨片间内固定。注意放置三叶草钢板上端时不宜过高, 以免撞击肩峰。固定后拔出克氏针, 活动肩关节, 了解内固定稳定程度。

术后处理: 通常无需外固定, 术后 2 天拔出负压引流管, 2 天即可开始作患肩扶持主动活动, 逐渐加强主动锻炼。1 例老年严重粉碎性骨折 (C 型), 术后应用外固定架保护 4 周, 再行功能锻炼, 10 ~ 14 天拆线, 每月复查 X 线片一次。

3 治疗结果

术后 X 线片示 20 例全部解剖复位, 平均随访 11 月 (6 ~ 24 月), 骨折于 8 周愈合, 伤口无感染, 无肱骨头缺血坏死及骨不连发生。肩关节功能采用 Neer 的百分制评定标准: 疼痛 35 分, 功能: 30 分, 运动限制: 25 分, 解剖复位: 10 分。术后总

评定分在 90 分以上为优; 80 ~ 89 分为良; 70 ~ 79 分为一般; 70 分以下为差。本组 20 例, 优: 15 例, 良: 3 例, 优良率 90 %。

4 讨论

三叶草钢板为高强度特殊材料制成, 比普通钢板薄, 强度大。自 60 年代开始, 首先用于治疗踝部 Pilon 骨折, 并取得较好的效果。将三叶草钢板应用于治疗肱骨近端骨折, 国内尚未见有文献报告, 国外仅有少数学者对此进行过研究。我们经过实验发现, 将三叶草钢板塑形后, 能较好地符合肱骨近端解剖特点及生物力学特点, 最大限度包容骨折断端, 容易调整其外形, 并易于切割成所需的形态, 使用方便。

在横杆折弯实验中, 三叶草钢板和带锁髓内针较张力带钢丝 Enders 针优良, 三叶草钢板和带锁髓内针间无明显差别。在抗扭力实验中, 三叶草钢板和带锁髓内针优于张力带钢丝 Enders 针。作者认为, 肱骨近端粉碎性骨折 (C 型), 三叶草钢板可提供最大强度的抗扭曲强度和抗折弯强度。

我院自 1998 年应用三叶草钢板治疗肱骨近端骨折 20 例, 优良率达 90 %, 高于其它方法的优良率, 除 2 例肩关节活动受限外, 无一例发生骨不连及肱骨头缺血坏死。利用三叶草钢板治疗肱骨近端骨折对血供影响较少, 能最大可能包容骨折端, 提供最大的支持作用, 即能维持骨折的对合固定, 又能防止肱骨头旋转移位, 比其他治疗方法要稳定可靠。

对于近端粉碎性并有游离骨片骨折时, 采用本方法亦为理想, 术中可经三叶草钢板的螺孔有效地作骨片间内固定, 可使分离的骨片对合在一起, 有利于骨的对合固定和功能锻炼。采用本方法, 通常不需外固定。术后 2 天即可作患肩扶持主动活动, 逐渐加强功能锻炼。

作者认为, 三叶草钢板对于 C 型肱骨近端骨折为良好的适应证。因其适应肱骨近端骨形态及内固定要求, 固定牢固, 抗旋转力较强, 缺血坏死和骨不连发生率低, 术后无需外固定, 并可进行早期功能锻炼, 减少并发症发生。

(收稿:2001-05-12 编辑:荆鲁)

中药对小白鼠骨骼肌切伤后再生影响的组织学观察

(正文见 406 页)

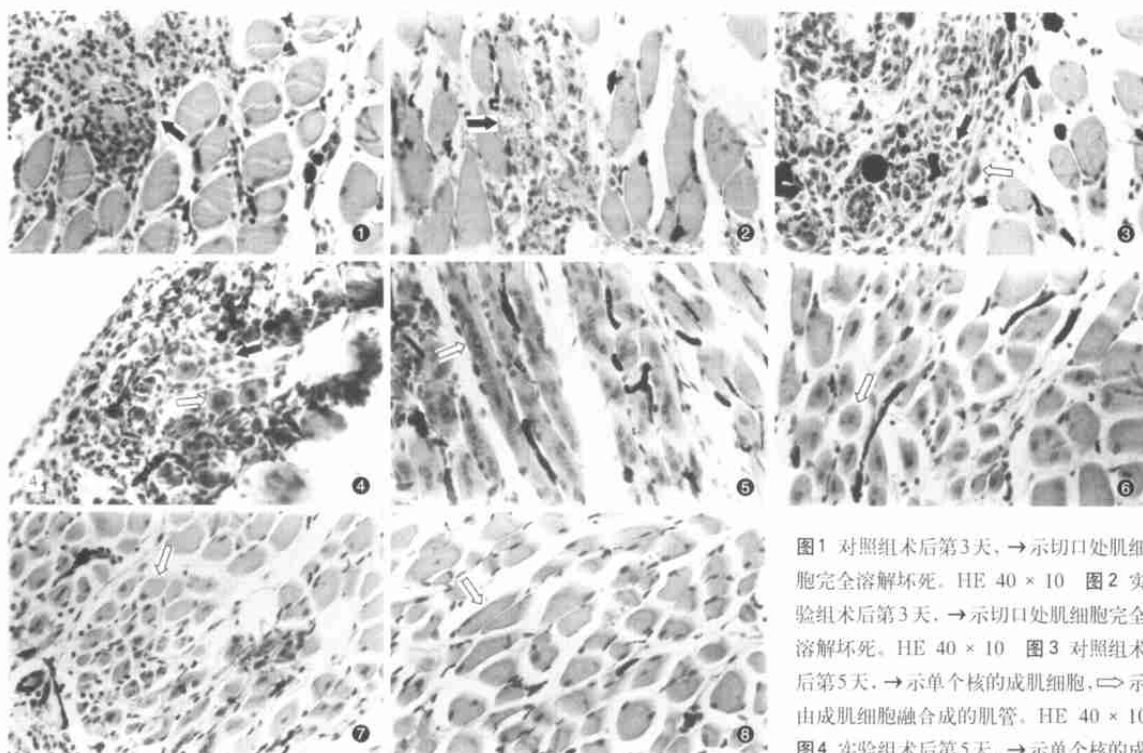


图1 对照组术后第3天, → 示切口处肌细胞完全溶解坏死。HE 40 × 10 图2 实验组术后第3天, → 示切口处肌细胞完全溶解坏死。HE 40 × 10 图3 对照组术后第5天, → 示单个核的成肌细胞, ⇨ 示由成肌细胞融合成的肌管。HE 40 × 10 图4 实验组术后第5天, → 示单个核的成肌细胞, ⇨ 示由成肌细胞融合成的肌管。HE 40 × 10 图5 对照组术后第7天, ⇨ 示带状肌管。HE 40 × 10 图6 实验组术后第7天, ⇨ 示趋向成熟的肌细胞。HE 40 × 10 图7 实验组术后第10天, ⇨ 示趋向成熟的肌细胞。HE 40 × 10 图8 实验组术后第10天, ⇨ 示再生肌细胞。HE 40 × 10

外伤致膝关节损伤的 MRI 诊断

(正文见 413 页)



图1 外侧半月板前角撕裂,伴关节腔积液。图2 后交叉韧带损伤。图3 内侧副韧带损伤。图4 胫骨外侧平台及腓骨小头骨折,伴关节腔积液,常规序列。图5 STIR 序列。图6 膝关节腔积脂血症,前交叉韧带不完全损伤,膝关节皮下软组织肿胀。