

脊髓Ⅱ号对大鼠损伤脊髓轴浆运输的影响

中国中医研究院骨伤科研究所(100700)

刘卫东 韩凤岳 景向红*

摘要 选取 24 只 Wistar 大白鼠,将其中 18 只制成胸髓右半侧横断损伤的大鼠模型,分别以脊髓Ⅱ号方剂、激素、生理盐水灌喂治疗。未造模的 6 只大鼠作为正常组,常规喂养。一个月后,注入辣根过氧化物酶(HRP),检测途经损伤区的上下行神经传导束始发核团中的标记细胞。发现脊髓Ⅱ号组 HRP 标记细胞数明显多于另两组,而与正常大鼠相比没有统计学上的显著差异。说明脊髓Ⅱ号方剂在恢复损伤传导束神经纤维的正常连续性,恢复神经元轴浆运输,促进神经细胞修复再生方面,有显著的效应。

关键词 脊髓损伤 轴浆运输 脊髓Ⅱ号

应用中药物方剂^[1]治疗大鼠急性脊髓损伤取得一定疗效^[1,2]。本实验中,我们采用辣根过氧化物酶(HRP)逆轴浆传导技术^[3],观察损伤脊髓中上行传导束(脊髓丘脑束^[4];始核位于脊髓后角的第Ⅳ、Ⅴ层,发纤维在同侧外侧索上行,至第 1、2 颈节与颈外侧核形成突触,再由此核发纤维到丘脑,主要传导皮肤感觉)和下行传导束(红核脊髓束:始核位于中脑红核,发纤维交叉至对侧下行于脊髓全长,止于后角和中间带,控制肌张力;脑桥网状脊髓束:起自脑桥被盖内侧部细胞,此束为不交叉纤维,下行于同侧脊髓全长,止于Ⅶ、Ⅷ层,协调肌肉运动)中轴浆运输的情况,进一步研究其疗效及作用机制。

实验材料及方法

采用 24 只成年 Wistar 大白鼠,其中 18 只以 11 号手术刀片将其第 12 胸髓(T₁₂)右半侧横断,彻底止血并逐层缝合。术后随机分为 3 组,每组 6 只。第 1 组为脊髓Ⅱ号组,每日灌喂脊髓Ⅱ号药液(20g 生药量/kg 体重);第 2 组为激素组,急性期内(2 周)隔日腹腔注射氢化可的松(10mg/kg 体重)和庆大霉素(6 万单位/kg 体重);第 3 组为空白对照组,每日灌喂生理盐水。其余 6 只未造模的大白鼠作为正常组,与另 3 组同样喂养,但不作任何处理。

一个月后导入 HRP。(1)脊髓丘脑束的观察:每组实验动物各取 3 只,切除第 2 颈椎椎板,将硬脊膜、蛛网膜切开,暴露第 2 颈髓,以微量注射器插入第 2 颈髓右侧后角腹外侧的颈外侧核内(此核在鼠、猫较为明显),深度 1mm,缓慢注入 10μl30%HRP(Sigma)。在注入 HRP48 小时后灌注固定。经主动脉插管,先以 4%枸橼酸钠 50ml 加 200ml 生理盐水快速灌注,再以

500ml1%多聚甲醛加 1.25%戊二醛磷酸缓冲液(PH7.4)灌注固定(前 200ml 快速灌注,后 300ml 在 1 小时内缓慢滴注)。最后灌注 200ml10%蔗糖磷酸缓冲液。灌注固定后随即取材,切除椎板,取出第 1、2 腰髓,放入 20%蔗糖磷酸缓冲液中过夜。次日在恒冷箱切片机中制成 40μm 厚的连续冰冻切片,TMB 法显色,贴片后 1%中性红复染,脱水,透明及封片。在光镜下观察第 1、2 腰髓右侧后角。每隔 10 片取 1 片(第 1、2 腰髓节段长约 5mm,可得到约 120 张切片),计数全部后角中胞核清晰的 HRP 标记细胞数,作统计学处理。(2)红核脊髓束、脑桥网状脊髓束的观察:将各组另外 3 只动物暴露第 1 至 3 腰髓,切开硬脊膜及蛛网膜,露出软脊膜,以微量注射器在第 2 腰髓右侧斜向上进针,深度 2mm,缓慢注入 10μl30%HRP(Sigma)。48 小时后灌注固定,方法同(1)。然后取材,切开颅骨,取出中脑和脑桥部。在恒冷箱切片机中制成 40μm 冰冻切片后显色、复染等均与(1)相同。在光镜下观察左侧中脑红核和右侧脑桥网状结构。每隔 8 片取 1 片(中脑上丘部、脑桥部各可切 80~100 张),分别计数中脑红核大细胞部和脑桥网状结构中的 HRP 标记细胞数,进行统计学处理。

实验结果

1. 脊髓丘脑束始核 HRP 逆行标记情况:脊髓Ⅱ号组实验动物第 1、2 腰髓右侧后角中 HRP 标记细胞数量明显多于激素组和空白对照组(P<0.05),而与正常组相比不存在明显统计学差异(P>0.05)(见表 1)。空白对照组中有 1 只大鼠第 1、2 腰髓后角未见标记细胞。脊髓Ⅱ号组动物始核中神经细胞形态基本正常,好于激素组和空白对照组,见图 1~3。

* 中国中医研究院针灸所

表 1 脊髓丘脑束始核 HRP 逆行标记细胞数

组别	动物数	第 1、2 腰髓后角
正常组	3	23.33±1.528
脊髓 I 号组	3	19.00±1.000
激素组	3	11.00±1.000
空白对照组	3	3.00±2.646

注:脊髓 I 号组 与激素组、空白对照相比 $P < 0.05$, 有显著差异;正常组与脊髓 I 号组相比 $P > 0.05$, 没有显著差异。

2. 红核脊髓束、脑桥网状脊髓束始核 HRP 逆行标记情况:脊髓 I 号组实验动物左侧中脑红核大细胞部和右侧脑桥网状结构中 HRP 标记细胞数明显多于激素组和空白对照组 ($P < 0.05$), 而与正常组相比不存在明显统计学差异 ($P > 0.05$), (见表 2)。空白对照组中有 2 只动物始核中完全没有标记细胞。且脊髓 I 号组

神经细胞形态基本正常, 没有明显逆行溃变现象, 而空白对照组中细胞溃变明显, 核团中细胞数减少, 核团变小, 这在中脑红核尤为明显。激素组的变化介于两者之间。中脑红核见图 4~6, 网状结构见图 7~9。

表 2

组别	动物数	左侧中脑红核	右侧脑桥网状结构
正常组	3	214.7±7.37	301.0±3.00
脊髓 I 号组	3	166.3±28.75	232.0±11.14
激素组	3	80.7±4.62	112.0±9.54
空白对照组	3	29.0±50.23	32.0±55.43

注:脊髓 I 号组与激素组、空白对照组相比 $P < 0.05$, 有显著差异;正常组与脊髓 I 号组相比 $P > 0.05$, 没有显著差异。



图 1 脊髓 I 号组第 1、2 腰髓右侧后角

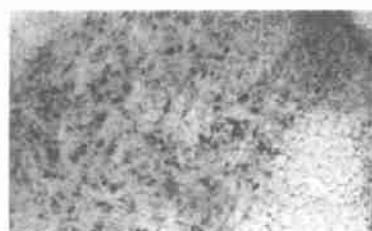


图 2 激素组第 1、2 腰髓右侧后角



图 3 空白对照组第 1、2 腰髓右侧后角

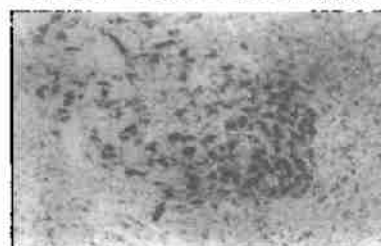


图 4 脊髓 I 号组中脑红核

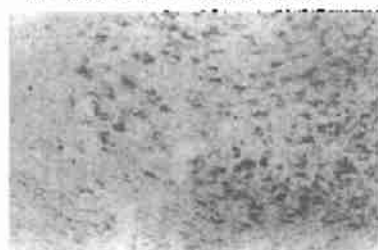


图 5 激素组中脑红核



图 6 空白对照组中脑红核

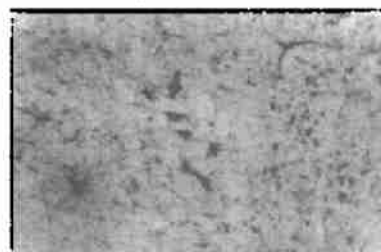


图 7 脊髓 I 号组脑桥网状结构

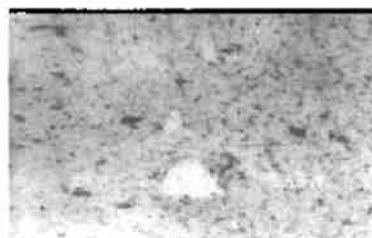


图 8 激素组脑桥网状结构

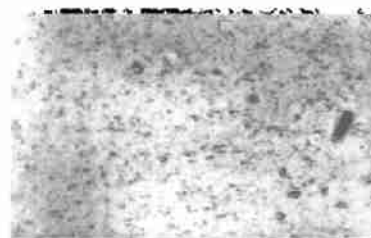


图 9 空白对照组脑桥网状结构

图片说明: → 示 HRP 标记细胞。▶ 示一般神经细胞, 无 HRP 标记, 因胞体内内容较多或因复染而颜色较深。

讨 论

正常的神经元具有正常的轴浆运输功能,即在结构和功能正常的神经系统内,HRP 可以被神经末梢摄取并经轴浆逆行输送至神经元的胞体,使之得以标记。通过这一方法,不仅可以追踪正常神经系统内核间的纤维联系,而且在中枢神经系统损伤的实验研究中,可以通过研究传导束始核中有无 HRP 标记细胞和标记细胞的多少来判断始核的神经元是否存活及被切断传导束的神经纤维是否已经恢复了正常连续性。即:当神经传导束被切断后,远端神经纤维溃变,正常轴浆运输被阻断,HRP 颗粒不能被神经末梢摄取并运输到胞体,导致传导束始核中的神经细胞不能被 HRP 标记。经过治疗,只有当神经元修复再生良好,神经纤维恢复了正常连续性,轴浆运输恢复畅通后,在神经末梢周围注入 HRP,始核中才可能出现 HRP 标记细胞。因此,可以根据始核中 HRP 标记细胞的数量来判断神经元修复再生的情况。这就是本实验的基本设计原理。

在本实验中,脊髓Ⅱ号组动物在上、下行纤维束的始发核团中 HRP 标记细胞数均明显多于激素组和空白对照组($P < 0.05$),而且与正常组相比不存在明显统计学差异($P > 0.05$),且神经细胞形态基本正常,没有明显逆行溃变现象。而激素组和空白对照组相应的神经组织不仅标记细胞少,而且均有不同程度的溃变现象。这提示我们:(1)脊髓Ⅱ号组被切断传导束中的神经纤维有明显的修复再生,并恢复了正常的连续性,核周体也得到保护;(2)空白对照组脊髓损伤后被切断传

导束中的神经纤维基本没有修复再生,其胞体也大都变性死亡。以上说明:脊髓Ⅱ号方剂对大鼠损伤脊髓内的神经元具有保护作用,并可激动损伤神经元的修复再生,恢复被切断传导束内部分神经纤维的连续性,恢复正常的轴浆运输。

结合国内外文献及中医药理学^[5,6]我们推测脊髓Ⅱ号方剂的作用机制可能是:促进损伤区域的微循环,改善局部的供血供氧,减轻出血水肿,抑制继发损伤,保护神经元胞体免受继发损伤的打击,抑制神经胶质细胞的增生反应,促进损伤区内神经元的修复再生,恢复神经纤维的正常连续性,恢复神经细胞的轴浆运输。一些可能的未被认识的激动受损神经元修复再生的因素还有待于进一步研究。

参考文献

1. 韩凤岳,徐迎红,沈叶. 中药治疗大鼠脊髓损伤的实验研究. 中国骨伤 1995;8(6):5.
2. 刘卫东,韩凤岳. 脊髓Ⅱ号治疗大鼠脊髓损伤的电生理研究. 中国骨伤 1997;10(1):10.
3. 鞠躬主编. 神经解剖学方法. 第1版. 北京:人民卫生出版社,1985:76~121.
4. 张培林主编. 神经解剖学. 第1版. 北京:人民卫生出版社,1987:197~206.
5. 韩济生主编. 神经科学纲要. 第1版. 北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1993:139~146.
6. 石关桐,李义凯,石印玉. 补阳还五汤对铅伤大鼠坐骨神经轴浆运输的影响. 中国骨伤 1996;9(1):3.

(收稿:1996-12-30)

高渗葡萄糖注射液湿敷治疗局部封闭感染创面

浙江省临海市中医院(317000)王超明

自 1988 年 3 月至今,应用高渗葡萄糖注射液湿敷治疗局部封闭感染创面 35 例,获得满意疗效。

临床资料 本组 35 例中男 22 例,女 13 例;年龄 27~65 岁;创面面积 6cm × 4cm~30cm × 5cm;创面愈合时间平均 27.5 天。

治疗方法 局部封闭感染经切开后先用双氧水和生理盐水清洗分泌物,并清除坏死组织,然后取无菌纱布 3~4 层,用 50% 葡萄糖注射液适量浸湿无菌纱布,

然后覆盖在创面上,用无菌绷带包扎。以后每 12 小时给创面浇 50% 葡萄糖注射液 1 次,每 2 日换药 1 次。

讨论 局部封闭感染创面以组织水肿坏死为主,分泌物培养多未见细菌生长。高渗葡萄糖具有抑制细菌生长,消除组织水肿,促使新鲜肉芽组织生长,达到治疗目的。

(收稿:1996-10-22)

showed a significant increase of OV/BV, OB% and OBI as compared with group D. It indicated that Gusong II can stimulate the recruitment and/or proliferation of osteoblasts to produce more bone matrix, converting the bone turnover of OVX rabbits to a positive balance. This effect may be superior to that of nylestriol to some extent.

Key words Chinese herb Gusong II
Ovariectomy New Zealand white rabbit Bone histomorphometry

(Original article on page 11)

Effect of Spinal Cord II on Axoplasmic Transport in Injured Spinal Cord of Rat Liu Weidong, Han Fengyue, Jing Xianghong. *Institute of Orthopaedics and Traumatology, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing* (100700)

Experimental models of right hemitranssection of thoracic spinal cord were made in 18 Wistar rats and divided randomly into three groups: treated with Chinese herbs" Spinal Cord II" (SC II), hydrocortisone, and normal saline, respectively. 6 intact rats were fed as usual. One month later, horseradish peroxidase (HRP) was injected into experimental rats, and the HRP labelled neurons in the originating nuclei of ascending and descending nerve fiber bundles passing through the injured area were examined and counted under microscope. It was found that the number of HRP labelled neurons in SC II group was prominently greater than that in hydrocortisone group and saline group ($P < 0.05$), and there was no prominent difference in the number of HRP Labelled neurons between SC II group and normal group ($P > 0.05$). It was suggested that Spinal Cord II can promote the recovery of normal continuity of injured nerve fibers, the axoplasmic transportation, and the regeneration of neurons in injured spinal cord.

Key words Injury of spinal cord Axoplasmic transport Spinal Cord II (SC II)

(Original article on page 15)

Experimental Research on Biomechanics of Three-dimensional Model of Femoral Neck Fracture Zhang Aiping, Qi Zhenxi, Chen Riqi. *Fujian College of*

Traditional Chinese Medicine, Fuzhou (350003)

The regularity of stress distribution of the head, neck and shaft of normal adult femur was biomechanically measured on the advanced three-dimensional photoelastic model and the stresses of three-needle internal fixation with different positions of fixation (forming isosceles, equilateral and upside-down triangles, and fan-formed) were measured electrically in different postures of the femurs (neutral position, adduction, abduction). The results demonstrated the mechanical characteristics of femoral neck and three needles and the effect of three needle fixation for femoral neck fracture.

Key words Femoral neck fracture Photoelastic experiment Electrical measurement Biomechanics

(Original article on page 18)

Effect of Small Splint Fixation on Microcirculation of Forearm — an Experimental Study Liu Zhenli, Gu Yunwu, Zhang Huisheng. *The 251 Hospital, Zhangjiakou City, Hebei Province* (075000)

The effects of small splint fixation on the microcirculation of normal forearm were studied experimentally. The results showed that there was certain effect of small splint on local microcirculation, but no obvious influence on general blood circulation and blood viscosity. As the restraint force of bandages applied from 0 to 600 g, there were no evident changes in local microcirculation. After the local microcirculation was affected by restraint force, without usual dirigation of the arm on time, the local microcirculation as well as the local ischemia and hypoxia would be improved through the regulation of the autoregulation system of general blood circulation, but such improvement was far inferior to that through dirigation. Therefore, the appropriate adjustment of restraint force of bandages at due course and the dirigation of extremities can eliminate the influence of compression of splint on microcirculation more effectively.

Key words Small splint fixation Restraint force Microcirculation

(Original article on page 20)