

## · 基础研究 ·

## 补阳还五汤促进大鼠夹伤腓总神经功能恢复的实验研究

周岚<sup>1</sup>, 梅晓云<sup>1</sup>, 吴颖昕<sup>1</sup>, 谢辉<sup>1</sup>, 唐雪梅<sup>1</sup>, 孙华林<sup>2</sup>

(1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210029; 2. 南通大学江苏省神经再生重点实验室)

**【摘要】目的:**研究补阳还五汤(BYHWD)促进大鼠夹伤腓总神经功能恢复的作用。**方法:**采用钳夹大鼠腓总神经建立周围神经损伤的动物模型。将造模后的 30 只雄性 SPF 级 SD 大鼠随机分为 3 组:BYHWD 组, 弥可保组和模型组。术后每日灌胃给药, 术后 18 d 行足迹实验, 测定展趾功能; 行电生理检测测定神经传导速度, 计算胫前肌湿重比和横截面积。**结果:**①展趾功能:BYHWD 组(-0.15±0.07)、弥可保组(-0.17±0.08)与模型组(-0.25±0.07)相比增高( $P<0.01$ )。②神经传导速度:BYHWD 组(18.36±2.74) m/s、弥可保组(16.32±3.54) m/s 与模型组(9.08±2.56) m/s 相比加快( $P<0.01$  及  $P<0.05$ ); 弥可保组与 BYHWD 组相比差异亦有统计学意义 ( $P<0.05$ )。③胫前肌湿重比:BYHWD 组(64.21±2.92)%、弥可保组(62.43±3.21)%, 与模型组(54.27±2.05)相比提高( $P<0.01$ )。④胫前肌横截面积:BYHWD 组(654.21±42.92) cm<sup>2</sup>、弥可保组(638.43±93.21) cm<sup>2</sup>, 与模型组(574.27±52.05) cm<sup>2</sup>相比增加( $P<0.01$  及  $P<0.05$ ); 弥可保组与 BYHWD 组相比差异也有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论:**BYHWD 能加速大鼠展趾功能恢复, 提高神经传导速度, 延缓胫前肌横截面积和湿重比的减小, 从而促进腓总神经损伤后的功能恢复。

**【关键词】** 补阳还五汤; 腓神经; 创伤和损伤; 益气活血

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2011.03.021

**Experimental study on Buyang Huanwu Decoction (补阳还五汤) for promoting functional recovery of crushed common peroneal nerve in rats** ZHOU Lan, MEI Xiao-yun\*, WU Hao-xin, XIE Hui, TANG Xue-mei, SUN Hua-lin.

\*Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu, China

**ABSTRACT Objective:** To study the effects of Buyang Huanwu Decoction (补阳还五汤, BYHWD) on promoting functional recovery of crushed common peroneal nerve in rats. **Methods:** Thirty Sprague-Dawley rats were subjected to produce common peroneal nerve injuries model, and the length of injury was 5 mm. All the rats were divided into 3 groups: BYHWD group, mecobalamin group and model group. The drugs were given by gavage daily for 18 days. Footprint test was performed at the 18th day after surgery to evaluate toe spread function (TSF). Electrophysiology was performed at the 18th day after operation to determine the nerve conduct velocity (NCV). The wet weight ratio and section area of tibial muscle were also measured. **Results:** ①TSF: At the 18th day after operation, the TSF in BYHWD group (-0.15±0.07) increased significantly compared with that of model group (-0.25±0.07) ( $P<0.01$ ); the TSF in mecobalamin group (-0.17±0.08) also increased notably compared with that of model group ( $P<0.01$ ). ②NCV: the NCV in BYHWD group [(18.36±2.74) m/s] ( $P<0.01$ ) and in mecobalamin group [(16.32±3.54) m/s] ( $P<0.05$ ) also increased significantly compared with that of model group [(9.08±2.56) m/s]; there was striking variation between model group and mecobalamin group ( $P<0.05$ ). ③Wet weight ratio: the wet weight ratio in BYHWD group [(64.21±2.92)%] ( $P<0.01$ ) and in mecobalamin group [(62.43±3.21)%] ( $P<0.01$ ) all increased significantly compared with that of model group [(54.27±2.05)%]. ④The section area of tibial muscle: the section area of tibial muscle in BYHWD group [(654.21±42.92) cm<sup>2</sup>] ( $P<0.01$ ) and in mecobalamin group [(638.43±93.21) cm<sup>2</sup>] ( $P<0.01$ ) all increased significantly compared with that of model group [(574.27±52.05) cm<sup>2</sup>]; there was also striking variation between model group and mecobalamin group ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** BYHWD can promote functional recovery of crushed nerve as a result of accelerating recovery of TSF, raising NCV and delaying the decrease of tibial muscle section area and wet weight ratio.

**KEYWORDS** Buyang Huanwu Decoction; Peroneal nerve; Wounds and injuries; Reinforcing Qi activate blood

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2011, 24(3): 249-252 www.zgsgzz.com

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 30873228)

Fund program: Supported by National Natural Science Foundation of China (No. 30873228)

通讯作者: 梅晓云 Tel: 025-85811575 E-mail: xiaoyun663399@163.com

周围神经损伤是常见的外科疾患, 具有病程长、预后欠佳的特点。虽然近年来各种有益于神经损伤后修复的药物已开始应用于临床, 但其疗效欠佳。同时, 由于再生神经的结构及功能未能及时全面恢复,

进而引起其支配靶肌的失神经肌萎缩,进一步加剧了患肢恢复的难度。因此,如何最大限度地促进周围神经功能恢复,仍然是神经修复领域的研究热点之一。中医中药以其多靶点、多途径的综合疗效优势愈来愈受到人们的重视,近年来,补阳还五汤促进周围神经损伤修复的文献报道也日益增多<sup>[1-2]</sup>。在此,我们采用大鼠腓总神经夹伤模型,分别从展趾功能、神经传导速度及胫前肌湿重比和横截面积等方面,进一步评价其对神经损伤的修复作用,以期为临床治疗周围神经损伤提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物及分组** 选用 SPF 级雄性 SD 大鼠 30 只,体重 200 g 左右,由南通大学实验动物中心提供[生产合格证编号:SCXK(苏)2008-0010;饲养合格证编号:SYXK(苏)2007-0021]。动物随机分为 3 组:补阳还五汤组(BYHWD 组含生药 25.92 g/kg),弥可保组(阳性对照,625 μg/kg),模型组(生理盐水组)。每组 10 只动物,全部动物经适应性喂养 1 周以上无异常后开始正式实验。

**1.2 主要实验仪器** 荧光正置显微镜:德国 LEICA 公司;REPORTER 肌电图仪:意大利 ESAOTE BIOMEDICA 公司;JEMS-100 透射电镜:日本 JEOL 公司;RM2145 切片机:德国 LEICA 公司。

### 1.3 实验药品

**1.3.1 补阳还五汤浸膏制备** 补阳还五汤组成:黄芪 120 g,当归 6 g,芍药 6 g,地龙 3 g,川芎 3 g,红花 3 g,桃仁 3 g。煎煮、提取、浓缩,使浓度为每克浸膏含生药 4 g,浸膏比重为 3.64 g/ml。此后放入 4℃冰箱中保存备用,由南京中医药大学药学院制剂室制备。

**1.3.2 弥可保液配制** 甲钴胺片(弥可保),每片 500 μg,卫材(中国)药业有限公司制造(批号:H20030812)。溶解于双蒸水中,配制成混悬液,浓度为 62.5 μg/ml。锡纸包装,避光放置,现用现配。

**1.4 大鼠腓总神经夹伤模型制备** 动物称重,以复合麻醉剂麻醉,消毒备皮。取左股后正中做 1.5 cm 切口,游离并充分暴露坐骨神经股部。向下行腓总神经钳夹术,以 14 cm 止血钳,上全齿钳夹腓总神经 3 次,每次 10 s,每次间隔 10 s。挤压损伤的宽度为 5 mm,损伤远端以 9-0 无损伤缝合线做一标记,逐层缝合手术切口。全部模型由同一人、同手法操作,保持损伤程度的均一性。

**1.5 给药剂量换算及给药方法** 造模后第 2 天开始灌胃给药,共持续 18 d,18 d 后取材。给药时间固定为每日 9:00,给药剂量根据人临床使用剂量,通过每公斤体重占有体表面积相对比值计算,补阳还五汤剂量组给临床换算剂量的 2 倍量(25.92 mg/g)。

每公斤体重占有体表面积相对比值的换算公式如下<sup>[3]</sup>:大鼠每日给药剂量(mg/g)=成人每日给药剂量(mg)×等效剂量比值(人对大鼠为 0.018)/大鼠体重(g)

## 1.6 观察指标与方法

**1.6.1 展趾功能的测定** 各组大鼠分别于术后 18 d 进行足迹实验。用木板围成宽约 9 cm,高约 20 cm,长约 70 cm 的通道,将白色宣纸折叠成与通道等长、等宽,放在底部。大鼠双侧后足蘸红色印油后即放入通道的一端,待其自行走向另一端,每条宣纸上每侧足留 4 或 5 个足印,选术侧足印清晰者测量足趾宽度(toe spread, TS),即第 1 趾到第 5 趾连线距离,精确到 0.1 mm,计算出每只鼠 TS 的平均值。

用 Bain 等<sup>[4]</sup>公式计算展趾功能(toe spread function, TSF), $TSF = (ETS - NTS) / NTS$ 。式中 E 代表实验侧, N 代表正常侧。TSF=0 为展趾功能正常, -100 为展趾功能完全丧失。

**1.6.2 电生理检测** 术后 18 d,麻醉状态下分离大鼠腓总神经,按 Suzuki 等<sup>[5]</sup>的方法使用 REPORTER 肌电图仪记录复合肌动作电位(compound muscle action potentials, CMAPs)。方法如下:将记录电极刺入胫前肌肌腹中点处,干扰电极置于膝部皮肤,依次将刺激电极置于腓总神经夹伤段近、远侧,刺激腓总神经,分两通道记录 CMAPs,计算神经传导速度(NCV)。NCV=两刺激点间的距离(m)/CMAP 近、远端潜伏期之差(s)。

**1.6.3 胫前肌湿重比及横截面积的测量** 在动物灌注固定之前,切取大鼠双侧胫前肌,立即用电子天平称量肌肉湿重,结果精确到 0.01 g。称重后,计算湿重比。湿重比=手术侧腓肠肌重量/非手术侧腓肠肌重量。称重后的胫前肌,经后固定、脱水、石蜡包埋、切片(厚 5 μm),肌肉 Masson 三色染色法染色,然后每个标本选取 6 个切面,每个切面随机选取 6 个高倍镜视野,采用 Leica QWin 分析软件,测量胫前肌横截面积。

**1.7 统计学处理** 用 SPSS 15.0 统计软件进行分析,数据以均数±标准差表示,多组样本均数比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 检验, P<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 BYHWD 对腓总神经夹伤大鼠展趾功能的影响** 见表 1。术后 18 d,补阳还五汤组、弥可保组与模型组相比大鼠展趾功能均升高,补阳还五汤组与弥可保组比较大鼠展趾功能无明显差异。说明补阳还五汤组能有效促进大鼠展趾功能恢复。

**2.2 BYHWD 对腓总神经夹伤大鼠神经传导速度**

表 1 术后 18 d 各组大鼠展趾功能、神经传导速度、胫前肌湿重比及胫前肌横截面积的检测结果( $\bar{x} \pm s$ )Tab.1 Effect of *Buyang Huanwu* decoction (补阳还五汤) on toe spread function (TSF), nerve conduct velocity (NCV), wet weight ratio and section area of tibial muscle( $\bar{x} \pm s$ )

组别	大鼠数(只)	大鼠展趾功能	神经传导速度(m/s)	胫前肌湿重比(%)	胫前肌横截面积(cm <sup>2</sup> )
模型组	10	-0.25±0.07	9.08±2.56	54.27±2.05	574.27±52.05
BYHWD 组	10	-0.15±0.07 <sup>△△</sup>	18.36±2.74 <sup>△△▲</sup>	64.21±2.92 <sup>△△</sup>	654.21±42.92 <sup>△△▲</sup>
弥可保组	10	-0.17±0.08 <sup>△△</sup>	16.32±3.54 <sup>△</sup>	62.43±3.21 <sup>△△</sup>	638.43±93.21 <sup>△</sup>
F 值	-	45.78	77.87	22.53	62.12
P 值	-	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与模型组比较,<sup>△</sup>P<0.05,<sup>△△</sup>P<0.01;与弥可保组比较,<sup>▲</sup>P<0.05

Note: Compared with model group, <sup>△</sup>P<0.05, <sup>△△</sup>P<0.01; Compared with mecobalamin group, <sup>▲</sup>P<0.05

(NCV)的影响 见表 1。动物灌注取材之前,各组动物进行电生理学检测。补阳还五汤组、弥可保组与模型组比较,NCV 均加快;弥可保组与补阳还五汤组比较,差异亦有统计学意义。结果提示补阳还五汤组可有效提高大鼠夹伤神经传导速度,效果优于弥可保,因而补阳还五汤能有效促进损伤腓总神经功能的恢复。

**2.3 BYHWD 对胫前肌湿重比的影响** 见表 1。补阳还五汤组、弥可保组与模型组比较,胫前肌湿重比均增高;弥可保组与补阳还五汤组相比无显著差异。结果提示补阳还五汤可有效延缓胫前肌湿重比的降低,对失神经肌萎缩有明显的防治作用。因而随着神经再生,靶器官能重新获得再支配,肌肉的功能恢复较好。

**2.4 BYHWD 对胫前肌横截面积的影响** 见表 1。补阳还五汤组、弥可保组与模型组比较,胫前肌横截面积均增加;弥可保组与补阳还五汤组比较,差异亦有统计学意义。结果提示补阳还五汤可有效延缓胫前肌横截面积的减小,对失神经肌萎缩有明显防治作用,效果优于弥可保。因此,随着神经再生,靶器官能重新获得再支配,肌肉的功能恢复较好。

### 3 讨论

**3.1 补阳还五汤促进腓总神经损伤后功能恢复的作用** 本研究采用大鼠腓总神经夹伤模型,通过展趾功能、神经传导速度、胫前肌湿重比和横截面积等指标,观察补阳还五汤促进周围神经损伤修复的作用。

Hare 等<sup>[6]</sup>认为足迹实验是用来评价实验动物外周神经损伤后功能恢复的重要指标之一,腓总神经损伤后,功能障碍主要表现为术侧足 1、5 趾的伸展不能,所以测量双足 1、5 趾趾宽度,计算展趾功能,就可以判断伤肢功能恢复情况<sup>[7]</sup>。周围神经具有传导冲动和组织营养功能,其中传导功能是其重要方面,NCV 是神经冲动传导速度的直接表现,反映出神经传导功能的变化。有髓鞘神经动作电位的传导是在郎飞结节之间呈跳跃式的前进,故神经传导速

度快,神经损伤脱髓鞘后由于髓鞘变薄,影响冲动跳跃式前进可造成传导阻滞或传导减慢。药物对神经传导速度恢复的作用,可以反映出该药物对神经损伤的功能恢复可能具有的治疗作用。因此,NCV 是评价神经传导功能恢复的较好指标之一。除了传导神经冲动以外,周围神经对其靶肌还具有一定的营养作用。胫前肌形态结构的维持有赖于腓总神经不断发放冲动。神经夹伤后,胫前肌会逐渐出现萎缩、变性,结缔组织增生,最终纤维化。若神经能及时有效地再生,此变性可以被阻止或逆转。本研究对胫前肌湿重比和横截面积进行统计分析,能间接反映出神经再生和功能恢复的情况。

实验结果表明补阳还五汤能显著改善大鼠腓总神经损伤后的展趾功能,提高神经传导速度,增加胫前肌湿重比与横截面积,防止靶肌肉萎缩,具有促进损伤神经功能恢复的作用。

**3.2 补阳还五汤促进神经再生的机制探讨** 补阳还五汤临床广泛用于坐骨神经痛、多发性神经炎、糖尿病周围神经病变,以及冠心病、脑卒中等病症,疗效显著。近年来曾多次报道<sup>[1-2]</sup>其在促进损伤神经再生修复方面,也有独特的效果。方中重用黄芪取其大补脾胃之元气,使气旺以促血行,祛瘀而不伤正,并助诸药之力,视为君药。配以当归活血,有祛瘀而不伤血之妙,视为臣药。川芎、赤芍、桃仁、红花助当归活血祛瘀;地龙通经活络,均为佐使药。诸药合用,使气旺血行,祛瘀通络,诸证自可渐愈。

现代研究也表明<sup>[8-10]</sup>补阳还五汤能改善血液流变性,抑制血小板聚集,减少微血栓发生,增加纤维蛋白溶解活性,促进毛细血管的生长,改善损伤处的微循环,促进氧和能量代谢,使神经及肌肉组织得到较多的血液和氧气。另外,此方还能增强单核吞噬细胞的吞噬能力<sup>[11-12]</sup>,加速崩解轴突和髓鞘的清除;加快轴浆运输<sup>[13]</sup>,有利于胞体向轴突末端输送再生所需的结构蛋白和营养物质;促进机体代谢<sup>[14]</sup>,增强修复能力,以及提供丰富的营养物质,从而减轻了营养物质缺失所致的神经元凋亡或者靶肌萎缩变性。王

相利等<sup>[15]</sup>认为此方能促进再生神经中血管的生成,改善血供,为再生轴突生长及雪旺氏细胞增殖提供丰富的营养。石杜娟等<sup>[16]</sup>研究发现补阳还五汤药浴能减少神经损伤后运动和感觉神经元的死亡,维持神经元正常的结构和功能,还能促进再生神经纤维长入远断端,减少与间质胶原纤维的相互缠绕,减少肌纤维的变性,抑制结缔组织增生,减轻肌肉萎缩,促进雪旺氏细胞的增殖和髓鞘的形成。

综上所述,补阳还五汤既能促进神经再生,又能防治失神经肌萎缩的发生,从而有效促进了大鼠腓总神经夹伤后的神经功能恢复,体现了中医药多靶点、多途径的疗效优势。关于其作用的机制,我们还将进一步研究。

参考文献

[1] 马文龙,程春生. 手术加补阳还五汤治疗肘尺管综合征的临床观察[J]. 中国骨伤, 2009, 22(3): 224-225.  
Ma WL, Cheng CS. Operation combined with *Buyang Huanwu* decoction (补阳还五汤) for the treatment of cubital tunnel syndrome [J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2009, 22(3): 224-225. Chinese.

[2] 石庆培. 补阳还五汤治疗医源性腓总神经损伤[J]. 中国骨伤 1997, 10(3): 51.  
Shi QP. *Buyang Huanwu* decoction (补阳还五汤) for the treatment of iatrogenic common peroneal nerve injury [J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 1997, 10(3): 51. Chinese.

[3] 施新猷. 医用实验动物学[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1989: 417.  
Shi XQ. Experimental zoology for medicine [M]. Xi'an: Shanxi Science & Technology Press, 1989: 417. Chinese.

[4] Bain JR, Mackinnon SE, Hunter DA. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat [J]. Plast Reconstr Surg, 1989, 83(1): 129-138.

[5] Suzuki Y, Tanihara M, Ohnishi K, et al. Cat peripheral nerve regeneration across 50 mm gap repaired with a novel nerve guide composed of freeze-dried alginate gel [J]. Neurosci Lett, 1999, 259(2): 75-78.

[6] Hare GM, Evans PJ, Mackinnon SE, et al. Walking track analysis: a long-term assessment of peripheral nerve recovery [J]. Plast Reconstr Surg, 1992, 89(2): 251-258.

[7] 顾剑辉, 龚蕾蕾, 黄丽, 等. 神经生长颗粒对大鼠腓总神经横断损伤的修复作用[J]. 解剖学报, 2008, 39(6): 783-789.  
Gu JH, Gong LL, Huang L, et al. Repairing effects of nerve growth granule on rat common peroneal nerve transection injury [J]. Jie Pou Xue Bao, 2008, 39(6): 783-789. Chinese.

[8] 朱传武, 彭康, 佟丽, 等. 补阳还五汤对中风后遗症气虚血瘀大鼠病证模型血常规及血液流变性的影响[J]. 中华中医药学刊, 2007, 25(4): 706-709.  
Zhu CW, Peng K, Tong L, et al. Effects of *Buyang Huanwu* decoc-

tion (补阳还五汤) on blood routine examination and blood flow index of ischemic stroke sequela rats which lack of Qi and with blood silted [J]. Zhonghua Zhong Yi Yao Xue Kan, 2007, 25(4): 706-709. Chinese.

[9] 卢永康, 彭康, 朱传武, 等. 补阳还五汤对中风后遗症“气虚血瘀”大鼠模型能量代谢的影响[J]. 中华中医药学刊, 2007, 25(11): 2280-2283.  
Lu YK, Peng K, Zhu CW, et al. Effects of *Buyang Huanwu* decoction (补阳还五汤) on energy metabolism of ischemic stroke sequela rats which lack of Qi and with blood silted [J]. Zhonghua Zhong Yi Yao Xue Kan, 2007, 25(11): 2280-2283. Chinese.

[10] 张继平, 李长龄, 张玉萍, 等. 补阳还五汤对血小板活化因子诱导的家兔血小板聚集的影响[J]. 中国中医药科技, 2003, 7(1): 16.  
Zhang JP, Li CL, Zhang YP, et al. Effects of *Buyang Huanwu* decoction (补阳还五汤) on platelet-activating factor induced platelet aggregation of rabbits [J]. Zhongguo Zhong Yi Yao Ke Ji, 2003, 7(1): 16. Chinese.

[11] 宁康健, 阮祥春, 吕锦芳, 等. 黄芪对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬能力的影响[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(21): 1670-1672.  
Ning KJ, Ruan XC, Lü JF, et al. Effects of *Huangqi* on phagocytic activity of peritoneal macrophage of mice [J]. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 2005, 30(21): 1670-1672. Chinese.

[12] Shao P, Zhao LH, Zhi C, et al. Regulation on maturation and function of dendritic cells by Astragalus mongholicus polysaccharides [J]. Int Immunopharmacol, 2006, 6(7): 1161-1166.

[13] 石关桐, 李义凯, 石印玉. 补阳还五汤对钳伤大鼠坐骨神经轴浆运输的影响[J]. 中国骨伤, 1996, 9(1): 3-4.  
Shi GT, Li YK, Shi YY. Influence of *Buyang Huanwu* decoction (补阳还五汤) on clamp injured rat sciatic nerve axoplasm transportation [J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 1996, 9(1): 3-4. Chinese.

[14] 刘玉莲, 杨丛忠. 黄芪药理作用概述[J]. 中国药业, 2004, 13(10): 79.  
Liu YL, Yang CZ. Pharmacologic action of *Huangqi* [J]. Zhonguo Yao Ye, 2004, 13(10): 79. Chinese.

[15] 王相利, 杨琳, 李振华, 等. “补阳还五汤”对周围神经再生影响实验研究[J]. 山东医科大学学报, 1999, 37(1): 41-42.  
Wang XL, Yang L, Li ZH, et al. Effects of *Buyang Huanwu* decoction (补阳还五汤) on regeneration of peripheral nerve [J]. Shan Dong Yi Ke Da Xue Xue Bao, 1999, 37(1): 41-42. Chinese.

[16] 石杜鹃, 凌丽, 薛金伟. 补阳还五汤药浴对大鼠周围神经损伤再生影响的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(5): 1066-1067.  
Shi DJ, Ling L, Xue JW. Experimental study on the effects of *Buyang Huanwu* decoction (补阳还五汤) on regeneration of peripheral nerve after injury of rats [J]. Shi Zhen Guo Yi Guo Yao, 2008, 19(5): 1066-1067. Chinese.

(收稿日期: 2010-04-15 本文编辑: 连智华)