

补气活血通络法对大鼠神经吻合术后肌萎缩的影响*

刘俊宁¹, 王庆莲², 牛素生¹, 刘宇¹, 张燕^{1△}

(1. 福建中医药大学骨伤学院, 福建 福州 350122; 2. 福建中医药大学附属第三人民医院脾胃科, 福建 福州 350122)

摘要: **目的** 研究补气活血通络法对大鼠神经吻合术后肌肉萎缩的防治作用。**方法** 采用 SPF 级 SD 大鼠, 雌雄各半, 随机分为假手术组、生理盐水组、甲钴胺片组以及补阳还五汤组四组。分别在造模给药后 2、4 疗程(15d/疗程)取材进行大体观察和组织学观察。**结果** 给药 4 疗程时补阳还五汤组大鼠跛行改善明显, 手术侧肢体萎缩情况明显优于生理盐水组和甲钴胺片组; 生理盐水组腓肠肌呈进行性萎缩, 补阳还五汤组和甲钴胺片组于 2 疗程时萎缩较为明显, 而 4 疗程时二者肌萎缩均有所改观; 组织学观察 2、4 疗程时补阳还五汤组的肌纤维横截面积明显大于甲钴胺片组, 且胶原纤维增生情况较轻; 2、4 疗程时补阳还五汤组和甲钴胺片组的胶原纤维含量明显少于同时期生理盐水组, 且补阳还五汤组胶原纤维含量于 4 疗程时明显低于 2 疗程。**结论** 采用补气活血通络法可明显延缓神经吻合术后的肌肉萎缩, 且对肌萎缩的恢复具有治疗作用。

关键词: 神经吻合术; 补气活血通络法; 肌萎缩; 胶原纤维; 功能活动

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2017)02-0007-04

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2017.02.002

周围神经损伤后, 失去对相关肌肉的营养作用, 日久则出现相关肌肉萎缩, 即失神经性肌萎缩^[1-2]。骨骼肌失去神经的营养和支配作用则出现萎软无力, 无法随意运动, 中医证属“痿证”范畴^[3]。祖国医学对痿证的认识经过历代专家发挥和完善, 目前已形成较完整的诊疗理论。中医认为痿证多由于气血运行阻滞, 失去其濡养作用所致, 因此在辨证治疗过程中多采用补气活血通络法进行治疗。补阳还五汤为补气活血通络法代表方剂, 故本研究观察采用补阳还五汤治疗大鼠神经吻合术后相应骨骼肌组织的变化来阐述其作用机理。

1 材料及方法

1.1 动物及药品

实验选用 SPF 级 SD 大鼠, 雌雄各半, 体质量 180~220g, 由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供, 许可证号: SCXK(沪)2012-0002。于福建中医药大学实验动物中心饲养。实验用中药购自福建中医药大学附属第三人民医院中药房; 甲钴胺片购自福

建中医药大学附属第三人民医院西药房。

1.2 方法

1.2.1 分组及造模

64 只 SD 大鼠, 雌雄各半, 随机分为 4 组, 即生理盐水组(16 只), 补阳还五汤组(16 只), 甲钴胺片组(16 只)和假手术组(16 只)。各组大鼠给予腹腔麻醉, 造模。

动物经 1 周适应性饲养后给予造模, 采用 10%水合氯醛, 0.3mL/100g 行腹腔内注射麻醉, 股部手术区域常规备皮、消毒、铺巾。取其右下肢股后侧切口暴露坐骨神经, 假手术组大鼠不做任何处理逐层缝合伤口, 其余 3 组大鼠于距梨状肌下孔 1cm 处, 锐性切断坐骨神经, 后采用间断外膜缝合法用 9-0 丝线间断吻合神经, 逐层缝合组织、皮肤, 建立神经吻合术后大鼠模型。

1.2.2 动物给药

造模成功后第 2 天开始分组给药, 每天上午 9:00-

* 基金项目: 福建省自然科学基金面上项目(2016J01772); 福建中医药大学校管课题资助(X2015004-平台); 福建中医药大学校管-重点学科专项(X2014085); 福建省自然科学基金(2015J01684)

收稿日期: 2017-04-12

作者简介: 刘俊宁(1980-), 男, 山东蓬莱人, 医学硕士, 讲师, 研究方向: 创伤修复与重建。

△通信作者: 张燕, E-mail: 332780195@qq.com

10:00 固定时间给药,1 次/d。根据体表面积计算法计算大鼠的给药实际剂量,药液按 1mL/100g 体重计算灌胃。实验动物具体给药剂量如下:生理盐水组用生理盐水 3mL 灌胃;补阳还五汤组按照 12.969g 生药/kg 计算给药量;甲钴胺片组以 135 μ g/kg 计算给药量^[4-5]。

1.3 取材及检测指标

1.3.1 腓肠肌湿重比测定

分别于术后 2、4 疗程(15d/疗程)随机抽取造模后大鼠 8 只/组(即:假手术组、生理盐水组、补阳还五汤组和甲钴胺片组)大鼠取材,用 10%水合氯醛行腹腔注射麻醉后,取双小腿后正中切口,切开皮肤、皮下,完全显露腓肠肌,完整切下双侧腓肠肌,分别置于分析天平上称重,求出肌湿重比(右侧/左侧)。

1.3.2 组织形态学观察及胶原纤维含量的测定

腓肠肌称重后,取右侧(即造模侧)腓肠肌,常规采用 4%的多聚甲醛固定,梯次脱水,透明,浸蜡,石蜡包埋,切厚 6 μ m 薄片,HE 及天狼星红染色,光镜观察下观察肌纤维和胶原纤维的分布、形态及横截面积。

切片 HE 染色,在高倍显微视野(20 $\times$ 10)下随机选取肌纤维轮廓较为完整的肌纤维,运用莱卡 LAS V3.7 全自动图像分析系统进行肌纤维横截面积测定。8~10 根肌纤维/视野,共选取 40 根/标本,取其横截面积平均值。

切片天狼星红染色(6 张/标本),在高倍显微视野(20 $\times$ 10)下,用莱卡 LAS V3.7 全自动图像分析系统测定随机 6 个视野下肌纤维和胶原纤维的面积。胶原纤维组织含量=胶原纤维面积的均值/肌纤维面积的均值^[6-7]。

1.4 统计学处理

实验数据采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。所有数据采用统计分析软件 SPSS 13.0 统计分析处理,比较采用单样本 t 检验。 $P<0.05$ 为比较差异具有统计学意义。

2 实验结果

2.1 大体观察

神经吻合术后大鼠患肢出现踝下垂,跛行。吻合术后 1 周生理盐水组及甲钴胺片组部分大鼠踝关节处开始出现关节肿胀及皮肤溃疡情况,直至整个实验结束仍有大鼠溃疡未愈合。实验 2 疗程时大鼠的跛行情况无明显改善,手术侧肢体萎缩严重;4 疗程时补阳还五汤组大部分大鼠跛行改善明显,手术侧

肢体肌肉萎缩情况及功能明显优于生理盐水组和甲钴胺片组。

2.2 腓肠肌湿重比

实验于 2、4 疗程取材时可见手术侧腓肠肌萎缩明显,颜色较为苍白且弹性较差,而正常侧肌肉红润饱满并且富有弹性。神经吻合术后即生理盐水组、补阳还五汤组、甲钴胺片组 3 组大鼠吻合侧腓肠肌均有不同程度的肌萎缩。生理盐水组腓肠肌呈进行性萎缩,补阳还五汤组和甲钴胺片组于 2 疗程时萎缩较为明显,而 4 疗程时二者肌萎缩均有所改观。从表 1 可以看出,补阳还五汤组萎缩程度在整个治疗过程中明显低于生理盐水组和甲钴胺片组,具有早期延缓和治疗神经吻合术后肌肉萎缩的作用。

表 1 腓肠肌湿重比的比较($\bar{x}\pm s$,%)

组别	n	2 疗程	4 疗程
假手术组	8	98.32 $\pm$ 3.15	99.51 $\pm$ 4.32
生理盐水组	8	51.26 $\pm$ 6.74	36.17 $\pm$ 9.21
甲钴胺片组	8	56.41 $\pm$ 9.67 $^{\Delta*}$	63.97 $\pm$ 8.76 $^{\Delta*}$
补阳还五汤组	8	59.82 $\pm$ 7.32 $^{\Delta*}\diamond$	67.57 $\pm$ 7.41 $^{\Delta*}\diamond$

注:1)与生理盐水组比较,* $P<0.05$;2)补阳还五汤组与甲钴胺片组 2、4 疗程分别组内比较, $^{\Delta}P<0.05$;3)与甲钴胺片比较, $^{\diamond}P<0.05$

2.3 组织形态学观察及胶原纤维含量的测定

2.3.1 组织形态学观察

HE 染色可见,生理盐水组肌纤维萎缩明显,纤维间隙增大,部分肌纤维轮廓模糊不清,胶原纤维明显增多,且肌纤维萎缩表现为进行性加重,4 疗程的肌纤维萎缩程度明显重于 2 疗程时。补阳还五汤组和甲钴胺片组肌纤维萎缩及胶原纤维增生情况明显优于同时期的生理盐水组,但均较假手术组有明显的萎缩、轮廓欠清晰以及胶原纤维增生的情况。于 2、4 疗程时补阳还五汤组的肌纤维横截面积明显大于甲钴胺片组,且胶原纤维增生情况较轻。

2.3.2 胶原纤维含量的测定

天狼星红染色切片,生理盐水组可见呈束状增生的胶原纤维,而随着时间的推移,胶原纤维增生愈发明显,4 疗程时视野下胶原纤维明显多于 2 疗程。2、4 疗程时补阳还五汤组和甲钴胺片组的胶原纤维含量明显少于同时期生理盐水组。补阳还五汤组胶原纤维含量于 4 疗程时明显低于 2 疗程,说明补阳还五汤具有促进神经吻合术后骨骼肌萎缩修复,延缓胶原纤维增生的作用。

表 2 肌纤维平均横截面积($\bar{x} \pm s, \mu\text{m}^2$)

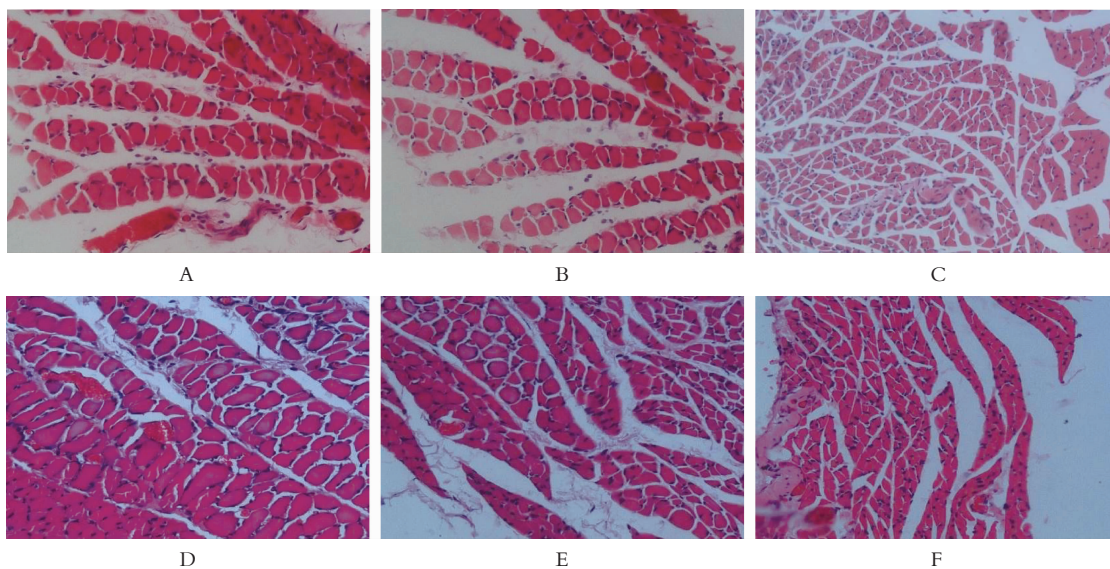
组别	<i>n</i>	2 疗程	4 疗程
生理盐水组	8	585.27 ± 51.63	461.39 ± 68.25
甲钴胺片组	8	659.36 ± 47.68 ^{*△}	701.72 ± 64.83 ^{*△}
补阳还五汤组	8	687.41 ± 36.58 ^{*△◇}	738.64 ± 51.28 ^{*△◇}

注:1)与生理盐水组比较,* $P < 0.05$; 2)补阳还五汤组与甲钴胺片组分别 2、4 疗程组内比较,[△] $P < 0.05$; 3)与甲钴胺片组比较,[◇] $P < 0.05$

表 3 胶原纤维含量比较($\bar{x} \pm s$)

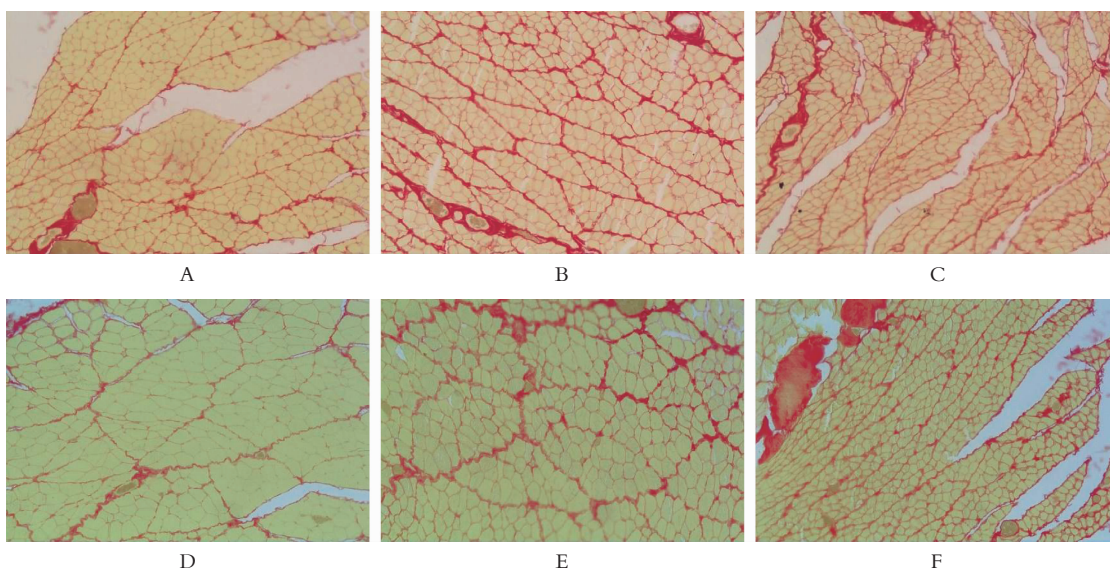
组别	<i>n</i>	2 疗程	4 疗程
生理盐水组	8	19.26 ± 3.47	29.83 ± 4.24
甲钴胺片组	8	16.69 ± 1.36 ^{*◇}	14.05 ± 1.19 ^{*◇}
补阳还五汤组	8	15.98 ± 2.13 [*]	13.14 ± 2.06 [*]

注:1)与生理盐水组比较,* $P < 0.05$; 2)与甲钴胺片组比较,[◇] $P < 0.05$



A. 补阳还五汤组 2 疗程; B. 甲钴胺片组 2 疗程; C. 生理盐水组 2 疗程;
D. 补阳还五汤组 4 疗程; E. 甲钴胺片组 4 疗程; F. 生理盐水组 4 疗程

图 1 肌纤维平均横截面积的影响(20×10)



A. 补阳还五汤组 2 疗程; B. 甲钴胺片组 2 疗程; C. 生理盐水组 2 疗程;
D. 补阳还五汤组 4 疗程; E. 甲钴胺片组 4 疗程; F. 生理盐水组 4 疗程

图 2 胶原纤维含量的影响(20×10)

3 讨论

气血理论为骨伤科辨证论治过程中重要的指导思想,而源于清代王清任《医林改错》补阳还五汤具有补气活血通络之功效,为气虚血瘀理论的代表方剂,该方由黄芪、当归、赤芍、地龙、川芎、红花、桃仁组成。方中重用生黄芪为君药,大补机体元气,以达到气有力地推动血液循行而不损伤正气的的作用;以当归为臣药,养血活血,君臣合用达到补气活血祛瘀而不伤正气的效果。其余诸药各司其职,协助黄芪和当归以补气活血通络,如川芎、赤芍、桃仁、红花可加强活血祛瘀的作用;地龙性善走窜,起到通经活络的作用。方中各药合用,达到气足则血行,瘀去则络脉通畅,使筋肉得养,痿废得行^[8-10]。神经断裂吻合后出现的相应肢体的痿废不用,正是由于损伤导致局部气血运行不畅,络脉受阻所致。故临床上神经断裂吻合术后患者中医多辨证为气虚血瘀,而采用补气活血通络法治疗。临床对于神经损伤术后运用补气活血通络法,取补阳还五汤加减治疗取得较好的疗效,有利于患肢功能的恢复^[11-13]。研究表明补阳还五汤可促进钳夹损伤模型大鼠的相应神经肌肉的修复^[14]。补阳还五汤可延缓和抑制组织的胶原纤维的增生^[15-16]。

本研究表明,补阳还五汤通过补气活血通络可以减少神经吻合术后因营养缺乏而导致的足踝及跗跖关节的溃疡;可以延缓神经吻合术后肌肉的萎缩速度及程度,并延缓和缓解胶原纤维增生的速度和程度。本研究验证了补阳还五汤在促进周围神经损伤修复,防治神经吻合术后肌萎缩具有显著疗效。

参考文献:

- [1] 赵磊,严志强,吕广明. 失神经支配的骨骼肌萎缩与防治[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(11): 2026-2029.
- [2] 肖霞,丁有权,齐建国. 周围神经损伤后慢性失神经及其对神经再生的影响[J]. 神经解剖学杂志, 2016, 32(3): 412-416.
- [3] 周仲瑛. 中医内科学[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 783.

- [4] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科技出版社, 1991: 562.
- [5] 周岚, 梅晓云. 黄芪对大鼠胚前肌失神经肌萎缩的防治研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(6): 1083-1087.
- [6] 张燕, 张俐, 牛素生, 等. 失神经肌萎缩微血管床的变化[J]. 中国当代医药, 2012, 19(22): 7-9.
- [7] 张燕, 王琪鸿, 张俐, 等. 丹参酮 II A 对大鼠腓肠肌失神经肌萎缩影响的实验研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2012, 7(12): 1038-1041.
- [8] 邓中甲. 方剂学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 240-241.
- [9] 刘斌, 费洪新, 朴成玉, 等. 补阳还五汤与神经组织关系的研究进展[J]. 中医药信息, 2014, 31(5): 136-140.
- [10] 郭文娟, 张红珍, 李艳花, 等. 补阳还五汤促进中枢神经再生作用研究进展[J]. 中国中医基础医学杂志, 2016, 22(3): 434-436.
- [11] 张远军, 凌宇. 补阳还五汤加味治疗低位正中神经损伤术后 30 例临床研究[J]. 江苏中医药, 2013, 45(8): 26-28.
- [12] 徐绍东. 周围神经断裂吻合术后功能恢复配合内服补阳还五汤的疗效分析[J]. 福建中医学院学报, 2008, 18(4): 40-43.
- [13] 杨帆, 吴敏靓, 于洪, 等. 钢板螺钉内固定术联合自拟补阳还五汤治疗肱骨中下段骨折合并桡神经损伤疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2017, 26(7): 720-722.
- [14] 梅晓云, 吴颢昕, 周岚. 补阳还五汤对大鼠失神经肌萎缩的影响与机制研究[J]. 中国药理学杂志, 2014, 49(9): 726-730.
- [15] 张选明, 杨百京, 叶丹, 等. 补阳还五汤对肾间质纤维化大鼠 α -SMA 的作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(23): 136-140.
- [16] 杨晗, 王飞, 王全林, 等. 补阳还五汤对肺纤维化大鼠肺组织 TGF- β_1 /Smad3 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(24): 240-244.

(编辑:徐建平)

(英文摘要见第 32 页)

Meta-Analysis of Multi-Ways of Chinese Medicine Combined with Western Medicine in the Treatment of Liver Failure/Severe Hepatitis

LI Yan, LIU Hongxian, YANG Liuyi, ZUO Junling, ZHU Ming
(Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

ABSTRACT: Objective To meta-analyze the clinical curative effect and safety of multi-ways of using Chinese medicine combined with western medicine in the treatment of liver failure. **Methods** Searching related literatures from Pubmed, the Cochrane Library and database of CNKI, CBM, WANFANG, WEIPU from the time its built to January, 2017. Collect all randomized controlled clinical trials. Application of the Cochrane risk of bias assessment tool for literature methodology quality score was used. Using revman 5.3 methods in the system to analyze data. **Results** 23 researches were included. Meta analysis showed that: when compared with the control group, the multi-ways of using Chinese medicine combined with western medicine treated on liver failure was superior in the total effective rates and liver function, lower in the mortality, blood ammonia and endotoxin, between the two groups are significantly different ($P<0.05$). **Conclusion** Using Chinese medicine in multi-ways combined with western medicine treated on liver failure is better than western medicine control group. However, considering about the low quality of studies included, we still need a large number of high-quality RCTs to test its efficacy and safety.

KEY WORDS: liver failure; severe hepatitis; traditional Chinese medicine enema; oral Chinese medicine; Meta analysis

(原文见第 7 页)

Effect of Buqi Huoxue Tongluo Method on Muscle Atrophy after Rat Anastomosis

LIU Junning¹, WANG Qinglian², NIU Susheng¹, LIU Yu¹, ZHANG Yan¹
(1. Fujian University of TCM, Orthopaedics&Traumatology Faculty, Fuzhou 350122, China;
2. The Third People's Hospital of Fujian University of TCM, Gastroenterology, Fuzhou 350122, China)

ABSTRACT: Objective To study the preventive and therapeutic effect of Buqi Huoxue Tongluo on muscle atrophy after nerve anastomosis in rats. **Methods** SPF grade SD rats were randomly divided into sham operation group, saline group, Methylcobalamin group and Buyang Huanwu Decoction group. The rats were sacrificed at the end of the course of the course of treatment (15 days/course of treatment) for gross observation and histological observation. **Results** The treatment of limb atrophy was significantly better than that of the normal saline group and the mecobalamin group. The gastrocnemius muscle of the saline group was progressive atrophy, And mecobalamin tablets in the 2 course of treatment atrophy is more obvious, and 4 courses of both muscle atrophy have changed; histological observation of 2, 4 treatment of Buyang Huanwu Decoction group of muscle fiber cross-sectional area was significantly greater than the cobalt The content of collagen fibers in the group of Buyang Huanwu Decoction and Mecobalamin Tablets was significantly less than that in the same period, and the collagen group Fiber content in 4 courses was significantly lower than 2 courses. **Conclusion** Qi and blood circulation method can obviously delay the muscle atrophy after nerve anastomosis and have therapeutic effect on the recovery of muscular atrophy.

KEY WORDS: nerve anastomosis; Qi and blood circulation method; muscle atrophy; collagen fibers; functional activities