

[文章编号] 1671-587X(2010)01-0135-04

ATP及三醇组人参皂苷对失神经支配骨骼肌萎缩及运动终板的保护作用

孙鸿斌¹, 苑福生², 张 巨¹, 王悦书¹, 李春雨¹

(1. 吉林大学中日联谊医院手外科, 吉林 长春 130033; 2. 中国医科大学附属第四医院骨外科, 辽宁 沈阳 110032)

[摘要] 目的: 观察 ATP 及三醇组人参皂苷对失神经支配骨骼肌萎缩及运动终板的保护作用, 为临床神经损伤患者手术时机的选择提供依据。方法: 选用成年雄性 Wistar 大鼠, 建立坐骨神经损伤的动物模型, 建模后大鼠随机分为对照组、ATP 组、三醇组人参皂苷低剂量 ($25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组和三醇组人参皂苷高剂量组 ($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 术后各组分别腹腔注射生理盐水、 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ 腓肠肌内注射 ATP 及低、高剂量三醇组人参皂苷, 给药 4 周, 于术后 2、4、6、8、12、16、20 和 24 周取右小腿腓肠肌, 测量腓肠肌湿重、肌细胞直径、肌细胞截面积及观察运动终板形态。结果: 失神经支配后骨骼肌湿重、肌细胞直径及截面积均下降, 神经损伤 16 周内, ATP 组、三醇组低剂量组及三醇组高剂量组与对照组比较差异有显著性 ($P < 0.01$)。神经损伤 20 周时, ATP 组与对照组比较差异无显著性, 三醇组低剂量组及三醇组高剂量组与对照组比较差异有显著性 ($P < 0.05$); 神经损伤 24 周时各组间比较差异无显著性。运动终板 4 周内改变不明显, 此后逐渐失去正常的形态, 形成神经丝, 至神经损伤后 16 周, 神经丝的数量开始下降。ATP 组和三醇组人参皂苷组相同时间点神经丝的数量较对照组增多。结论: ATP 及三醇组人参皂苷可减缓失神经肌萎缩, 提示伴有神经损伤的外伤患者临床应尽早行手术治疗以修复神经。

[关键词] 周围神经; 神经损伤; 肌萎缩; 人参皂苷

[中图分类号] R361.2 **[文献标识码]** A

Protective effects of ATP and panax ginseng triol set on denervated muscle atrophy and motor end plate

SUN Hong-bin¹, YUAN Fu-sheng², ZHANG Ju¹, WANG Yue-shu¹, LI Chun-yu¹

(1. Department of Hand Surgery, China-Japan Union Hospital, Jilin University, Changchun 130033, China;

2. Department of Orthopedics, Fourth Hospital, China Medical University, Shenyang 110032, China)

Abstract: **Objective** To observe the protective effects of ATP and panax ginseng triol set on the denervated muscle atrophy and motor end plate, and provide basis for the selection of operation opportunity in patients with never injury. **Methods** Adult male Wistar rats were used. The model of denervated gastrocnemius muscle was established by cutting off the sciatic nerve. The rats were randomly divided into control group, ATP group, low dose panax ginseng triol set ($25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) group and high dose panax ginseng triol set ($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) group. During four weeks after operation, ATP was injected into gastrocnemius and the panax ginseng triol set was injected into belly. The muscle wet weight, diameter of myocytes, cross section area of myocytes and the morphological changes of motor end plate were measured 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, and 24 weeks after operation. **Results** After nerve injury, the muscle wet weight, diameter of myocytes, cross section area of myocytes were decreased. During 16 weeks after nerve injury, there were significant differences between ATP group, low dose panax ginseng triol set

[收稿日期] 2009-09-06

[基金项目] 吉林省科技厅科研基金资助课题 (20030544-1)

[作者简介] 孙鸿斌 (1974—), 男, 吉林省公主岭市人, 主治医师, 医学博士, 主要从事周围神经损伤及再生的研究。

[通信作者] 张 巨 (Tel: 0431-4995247, E-mail: wl99@jlu.edu.cn)

group, high dose panax ginseng triol set group and control group ($P < 0.01$). At 20 weeks after nerve injury, there was no difference between ATP group and control group, but there were differences between low dose panax ginseng triol set group, high dose panax ginseng triol set group and control group ($P < 0.05$). At 24 weeks after nerve injury, there were no differences between four groups. There were no significant changes of motor end plate during 4 weeks after nerve injury. Four weeks later, the motor end plate lose its normal morphous and changed into neurofilaments. Until 16 weeks after operation, the neurofilaments began to decrease. The number of neurofilaments in ATP and panax ginseng triol set groups was more than that in control group. **Conclusion** The denerved muscle atrophy and motor end plate cataplasia could be deferred by using ATP and panax ginseng triol set.

Key words: peripheral nerve; nerve injury; amyotrophy; panax ginseng triol set

失神经肌萎缩的防治是周围神经研究领域亟待解决的难题之一。肌萎缩与多种因素有关,已证实细胞凋亡、蛋白质改变、细胞因子的变化及基因的变化参与了肌萎缩的发生^[1-5]。通过被动活动、电刺激、应用化学药物及生物制剂等方法可以延缓肌萎缩的发生。人参皂苷通过多种生物学作用可以对心脑血管及神经系统发挥保护作用,但对失神经支配骨骼肌是否也具有保护作用尚未见报道。本研究旨在观察 ATP 及不同剂量的三醇组人参皂苷对失神经支配骨骼肌萎缩及运动终板退变的作用。

1 材料与方法

1.1 动物、主要试剂及仪器 成年 Wistar 雄性大鼠购自吉林大学基础医学院实验动物中心。三醇组人参皂苷由吉林大学药学院睢大贺教授惠赠。HPIAS-1000 图像分析仪(日本)。

1.2 神经损伤模型的建立 选用成年 Wistar 雄性大鼠 192 只,体质量 250~300 g。随机分为 4 组:对照组、ATP 组、三醇组低剂量($25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)组和三醇组高剂量($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)组;每个大组随机分成 2、4、6、8、12、16、20 和 24 周 8 个小组,每组 6 只。各组大鼠 3%戊巴比妥溶液腹腔内注射麻醉后,在放大 10 倍手术显微镜下于右侧梨状肌下缘切断坐骨神经,切除 1 cm 长坐骨神经后,神经断端返折 180°后缝合固定于周围的肌肉组织中,阻止神经的自然生长。术后常规饲养,每日按照 25 及 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量腓肠肌内注射^[6]三醇组人参皂苷及 ATP $0.1 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$,对照组腓肠肌内注射同体积生理盐水,连续应用 4 周。分别于术后 2、4、6、8、12、16、20 和 24 周取右小腿腓肠肌作实验观察。

1.3 实验指标检测 完整取下腓肠肌,测量腓肠

肌湿重。腓肠肌经石蜡包埋、切片、HE 染色后用 HPIAS-1000 图像分析仪测定肌细胞直径及截面积。切取 3 mm^3 大小腓肠肌块,固定于 25%乙酸溶液 40 mL 至组织透明,将组织液吸干,置入 1%氯化钠水溶液 1 h,吸干,于暗处还原于 25%乙酸溶液 24 h,自来水冲洗除净乙酸,蒸馏水洗 5~6 次,转入纯甘油浸 24 h(透明),压片,甘油明胶封固。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 11.0 统计软件,腓肠肌湿重、肌细胞直径及肌细胞截面积以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间比较采用多个样本均数比较的方差分析,两组间比较采用 q 检验。

2 结果

2.1 腓肠肌湿重变化 随神经损伤时间的延长,腓肠肌湿重逐渐下降。各组失神经支配 2 周,腓肠肌湿重减少最为明显,此后下降速度逐渐减慢,对照组至神经损伤 12 周后,基本维持在稳定的水平,而三醇组低剂量和高剂量组直至神经损伤后 20 周才稳定在一定水平。统计学分析显示:2~12 周 ATP 组、三醇组低剂量组和三醇组高剂量组腓肠肌湿重高于对照组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);16 和 20 周时腓肠肌湿重 ATP 组与对照组比较差异无显著性,三醇组低剂量组和三醇组高剂量组高于对照组 ($P < 0.05$);24 周时,腓肠肌湿重各组间差异无显著性。见表 1。

2.2 肌细胞直径及截面积变化 失神经支配 2 周,腓肠肌肌细胞直径下降,随时间的延长,下降程度越发明显,至失神经支配 20 周,肌细胞直径只占正常值的 25%。见表 2。失神经支配 12~16 周,肌细胞截面积亦随失神经支配时间延长呈进行性下降;20 和 24 周各组间比较无显著性。见表 3。

表 1 ATP 及三醇组人参皂苷作用下失神经支配腓肠肌湿重的变化

Tab. 1 The changes of wet weight of denervated gastrocnemius muscle after treated with ATP and panaxginseng triol set

(n=6, $\bar{x} \pm s$, m/mg)

Group	Wet weight of denervated gastrocnemius muscle								
	(t/week)	2	4	6	8	12	16	20	24
Control		0.87±0.05	0.51±0.03	0.49±0.06	0.45±0.03	0.46±0.08	0.43±0.02	0.44±0.03	0.43±0.05
ATP		1.15±0.02**	0.98±0.04**	0.87±0.01**	0.61±0.02*	0.53±0.05*	0.44±0.09	0.44±0.07	0.41±0.08
Low dose		1.40±0.11**	1.28±0.08**	1.09±0.06**	1.02±0.13**	1.08±0.05**	0.51±0.07*	0.50±0.03*	0.43±0.03
High dose		1.43±0.08**	1.25±0.06**	1.16±0.12**	1.13±0.10**	0.93±0.05**	0.48±0.04*	0.49±0.05*	0.42±0.07

* P<0.05, ** P<0.01 compared with control group.

表 2 ATP 和三醇组人参皂苷作用下失神经支配腓肠肌细胞直径的变化

Tab. 2 The changes of diameter of myocytes in the denervated gastrocnemius muscle after treated with ATP and panax ginseng triol set

(n=6, $\bar{x} \pm s$, d/ μ m)

Group	Diameter of myocytes							
	(t/week) 2	4	6	8	12	16	20	24
Control	11.78±1.66	9.89±0.75	9.04±1.43	7.73±2.31	6.21±1.59	5.10±2.02	4.55±1.68	4.61±1.75
ATP	12.51±0.68*	11.38±1.23*	10.89±1.57*	10.64±2.51**	9.11±2.17**	6.81±1.32*	5.19±1.33	4.55±1.50
Low dose	14.66±2.34**	14.31±2.28**	13.70±1.57**	12.65±1.35*	11.02±2.06**	8.01±1.51**	5.33±1.88*	4.78±0.64
High dose	15.87±1.36**	14.69±1.73**	13.60±0.52**	13.03±1.32**	10.98±1.30**	7.76±1.61**	4.91±1.37	4.75±0.81

* P<0.05, ** P<0.01 compared with control group.

表 3 ATP 和三醇组人参皂苷作用下失神经支配腓肠肌截面积的变化

Tab. 3 The changes of cross section area of myocytes in the denervated gastrocnemius muscle after treated with ATP and panax ginseng triol set

(n=6, $\bar{x} \pm s$, A/ μ m²)

Group	Cross section area of myocytes								
	(t/week)	2	4	6	8	12	16	20	24
Control		599.33±55.41	548.57±63.90	501.34±45.77	412.28±50.32	313.76±43.04	240.07±39.88	203.90±36.45	199.22±39.27
ATP		718.66±43.33 **	709.45±52.17 **	648.50±55.03 **	601.34±60.21 **	512.21±32.07 **	323.67±33.67 **	220.22±45.33	203.09±26.24
Low dose		765.92±55.61 **	745.39±45.07 **	671.08±54.30 **	610.38±48.33 **	550.04±35.83 **	343.78±34.00 **	241.22±35.17 *	206.41±31.89
High dose		787.48±60.93 **	768.30±56.72 **	689.25±48.10 **	634.07±44.45 **	553.64±31.23 **	365.60±30.59 **	241.59±29.64 *	210.66±30.15

* P<0.05, ** P<0.01 compared with control group.

2.3 肌肉运动终板形态学变化 光镜下观察氯化钠压染片,见正常运动终板呈棕褐色梅花形结构,分布于肌纤维表面,结构完整,边缘光滑,直径 25~30 μ m(图 1A,见封三)。失神经支配 4 周时,运动终板形态变得模糊,进而消失,在原运动终板的部位有神经丝形成并沿肌纤维表面延伸,分布不规则(图 1B,见封三);8 周时细丝状结构更加长而密集,连接成网;16 周后神经丝的数量开始减少,神经损伤后 24 周在运动终板处仍可见少量神经丝存在。各组间运动终板消失的时间基本相同,但 ATP 组及三醇组人参皂苷组在运动终板消失后神经丝的数量较对照组增多。

3 讨论

神经损伤后骨骼肌失去神经的营养而发生萎

缩,肌萎缩可能与细胞凋亡、蛋白质改变、细胞因子的变化及基因的变化有关。田涛等^[3]用流式细胞术 PI 法和 Annexin V 双标记法检测发现:臂丛神经损伤后肌萎缩时细胞凋亡率提高,用原位末端标记法发现萎缩肌肉中有较多的凋亡细胞,细胞凋亡与 Fax 基因及 Bcl-2 有关。徐雷等^[4]研究发现:与失神经肌萎缩相关的蛋白质有含锰的超氧化物歧化酶(MnSOD)、DanJC1、Mcl2。McPherron 等^[5]研究表明:GDF8 的功能在不同种属间高度保守,是肌肉生长的负性调控因子。GDF8 表达的上调,可抑制肌肉蛋白质的合成导致肌肉质量的丢失,GDF8 突变或缺失均可使肌肉质量显著增加。虽然国内外学者证实了失神经骨骼肌萎缩与多种因素有关,但究竟哪种因素占主导地位,从哪个环节着手可以解决失神经支配的肌萎缩这个难题尚不清楚。本研究结果显示:人参皂苷可以延缓肌萎缩的发生,作用较外

源性ATP略强,停止应用后肌萎缩仍会发生。本研究结果显示:失神经支配24周时各组间腓肠肌湿重、腓肠肌细胞直径和腓肠肌细胞截面积差异已无显著性,因此神经损伤后可以应用外源性ATP和人参皂苷来延缓失神经肌萎缩,但损伤神经应尽早修复,重建神经肌肉联系,以利于最大限度的恢复神经功能。

失神经支配一段时期内雪旺细胞代偿性增殖,释放大乙酰胆碱及某些生物活性物质,对运动终板退变及肌萎缩有一定延缓作用,待雪旺细胞增殖停止,运动终板加速退变。运动终板处神经丝的形成可能为将来运动终板的重新形成及再生神经纤维与肌肉重建联系提供基础^[7-9]。失神经支配4周后,运动终板形态变得模糊并逐渐消失,取而代之的是在原运动终板的部位有神经丝形成并沿肌纤维表面延伸。各组间运动终板消失的时间基本相同,但ATP组及人参皂苷组在运动终板消失后神经丝的数量较对照组多。ATP及人参皂苷对运动终板的作用可能是通过对雪旺细胞的作用实现。

[参考文献]

- [1] 卢耀军,张云坤,洪光祥. 靶肌肉注射甲钴胺对大鼠周围神经损伤再生的作用[J]. 中华创伤杂志, 2004,20(12):739-743.
- [2] Tang HB, Wolliam M, Cheung W. Identification and characterization of differentially expressed genes in denervated muscle[J]. Mol Cell Neurosci, 2000,16(2):127-140.
- [3] 田涛,吴朝晖,金惠铭. 大鼠臂丛神经损伤后骨骼肌萎缩时肌细胞凋亡的研究[J]. 中华医学杂志, 2000, 80(7):530-533.
- [4] 徐雷,顾玉东,徐建光,等. 人体失神经萎缩骨骼肌蛋白质组学的初步研究[J]. 中华手外科杂志, 2005, 21(4):236-240.
- [5] McPherron AC, Lee SJ. Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94(23):12457-12461.
- [6] 王拴科,洪光祥,王同光,等. 细胞外ATP防治失神经肌肉萎缩的实验研究[J]. 中华手外科杂志, 2002,18(1):43-45.
- [7] 张付峰,唐北沙,张如旭,等. 腓骨肌萎缩症的临床特点与心肌酶学改变[J]. 中风与神经疾病杂志, 2004,21(2):155-157.
- [8] 张庆民,关骅. 脊髓及周围神经损伤后神经肌肉运动终板的病理改变[J]. 中国康复理论与实践, 2004,10(11):680-681.
- [9] 赵荷剑,柴立辉,吴素霞,等. 白细胞介素-6与脑源性神经营养因子对大鼠神经前体细胞向多巴胺神经元分化的诱导作用[J]. 郑州大学学报:医学版, 2009,44(1):93-95.

先天性松果体囊肿的MRI诊断(附12例报告)

吉林省延边朝鲜族自治州第二人民医院CT、MRI室(吉林延吉133000) 朴文,崔虎哲,金贞花

先天性松果体囊肿既往国内报道较少,随着医学影像技术的发展,尤其是MRI广泛应用于临床以来,本病的发现率明显上升,为提高对本病的认识,现结合文献对12例先天性松果体囊肿的MRI表现进行回顾性分析,报道如下。

1 临床资料

本组松果体囊肿患者12例,男性7例,女性5例,年龄18~56岁,平均年龄41.8岁。12例患者中3例有不同程度的阵发性头痛,1例有癫痫发作,其余8例无明显症状。12例均未见明显阳性体征。检查设备采用HITACHI 0.3T永磁型开放式MR机。头部线圈,SE序列(自旋回波序列),常规作横断位、矢状位T₁WI(TR/TE=500 ms/15 ms)及T₂WI(TR/TE=4 000 ms/120 ms),层厚7 mm,间隔1 mm,矩阵256×256。12例均行Gd-DTPA增强扫描,注药剂量为0.1 mmol·kg⁻¹,注药后立即做横断位、矢状位T₁WI,层厚3~5 mm,均为无间隔扫描。诊断标准:松果体区圆形或椭圆形囊性病变,有完整光滑的囊壁,无明显异常强化现象,局部无明显的占位效应,且无与松果体肿瘤相关的临床表现。本组12例松果体囊肿患者MRI表现基本符合上述标准。松果体四叠体池内圆形或椭圆形囊性病灶,直径8~20 mm,其中直径8~12 mm者9例;囊性病灶有完整光滑均匀的包膜,MRI呈等信号,注射Gd-DTPA后轻微强化或无明显强化,本组12例均未见囊壁钙化;囊液信号均匀,在T₁WI呈低、稍低信号,在T₂WI呈均匀高信号;中脑导水管及第3脑室未见扩大;大脑大静脉池流空效应存在。

2 讨论

松果体囊肿又称非肿瘤性囊肿,形成机制不明。先天性松果体囊肿MRI表现为圆形或椭圆形,具有完整光滑的囊壁,囊壁菲薄,基本与脑灰质呈等信号,囊内容物的信号变化类似于脑脊液的长T₁、长T₂水样信号。本组3例囊液信号强度在T₁WI与T₂WI上比脑脊液信号稍微增高,其原因可能为囊液含有较多的蛋白成分,使T₁值略缩短;脑脊液搏动使自旋矢相位造成信号减低。囊肿直径一般为8~12 mm,≤10 mm者无占位效应,>10 mm者可见轻度占位效应。目前,MRI被认为是诊断松果体囊肿的重要手段,MRI信号表现颇具特征性,即T₁WI上囊壁呈等信号,囊液呈低、稍低信号,T₂WI上囊液呈均匀高信号,增强扫描后囊壁轻微强化或无强化,囊液未见强化。先天性松果体囊肿有时需与松果体肿瘤囊变、蛛网膜囊肿、单发性脑囊虫病等疾病鉴别。肿瘤囊变一般壁不规则,可见壁结节,增强扫描后壁及壁结节明显强化;蛛网膜囊肿无囊壁显示;单发性脑囊虫病在临床上有感染史,壁内有结节形成,实验室检查异常。

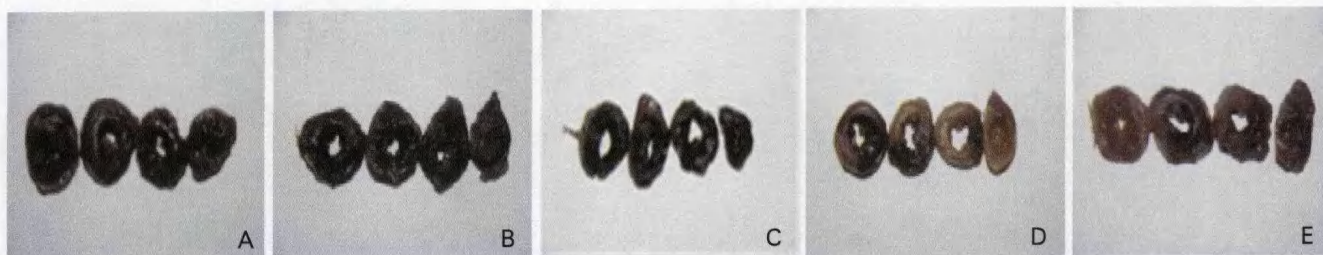


图1 各组大鼠心肌梗死面积 N-BT 染色结果

Fig.1 The N-BT staining result of the area of myocardial infarction in rats in various groups

A: Control group; B: Blood stasis model group; C: Sham operation group; D: Myocardial infarction model group; E: Myocardial infarction models with blood stasis group.

(seen on page 110 in paragraph)

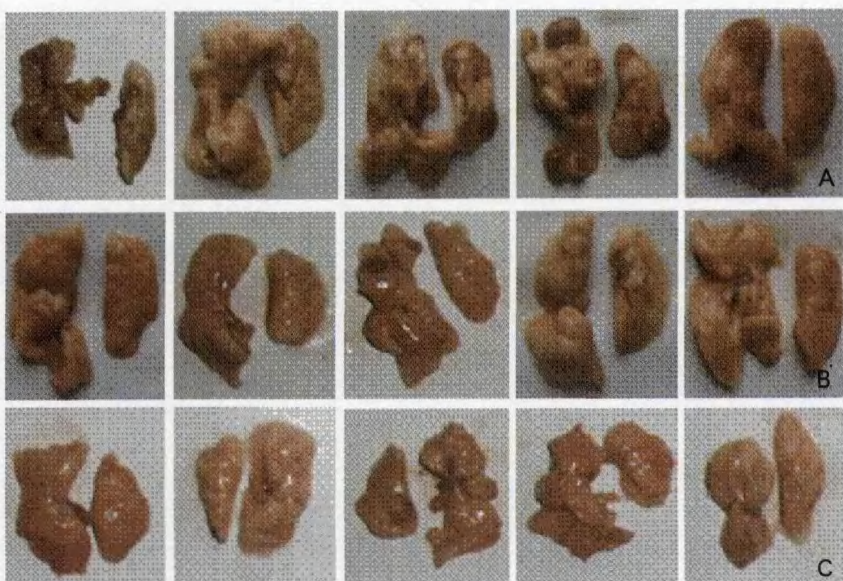


图2 鼠 Muc1-MBP 和人 MUC1-MBP 蛋白免疫抑制肺转移瘤生长

Fig.2 Inhibitory effect of mouse Muc1-MBP and human MUC1-MBP protein-induced immunity on the growth of pulmonary metastasis cancer

A: PBS group; B: Mouse Muc1-MBP group; C: Human MUC1-MBP group.

(seen on page 117 in paragraph)

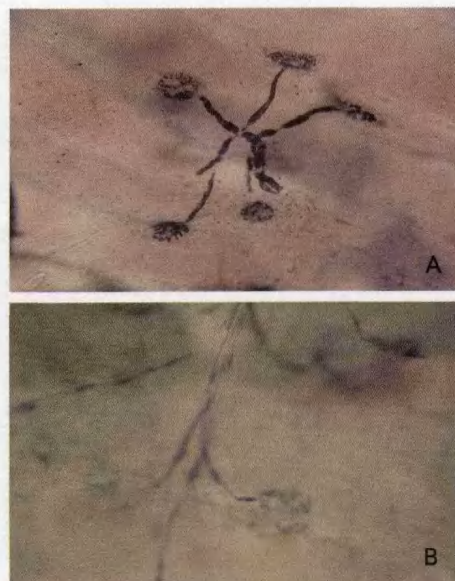


图1 腓肠肌运动终板的形态学变化(×400)

Fig.1 The morphological changes of motor end plate in gastrocnemius(×400)

A: Normal; B: 4 weeks after denervation.

(seen on page 137 in paragraph)

(seen on page 137 in paragraph)

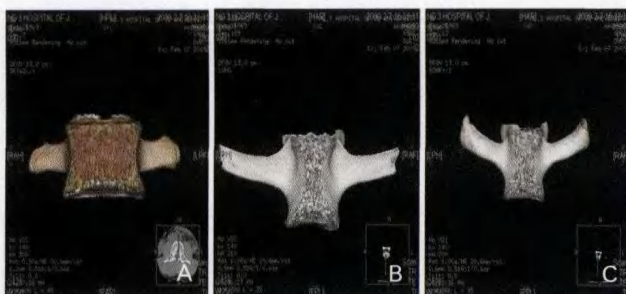


图1 人、鹿、羊腰椎椎体正位曲率半径

Fig.1 Lumbar vertebrae curvature radius of human, deer, and sheep

A: Human; B: Deer; C: Sheep.

(seen on page 161 in paragraph)

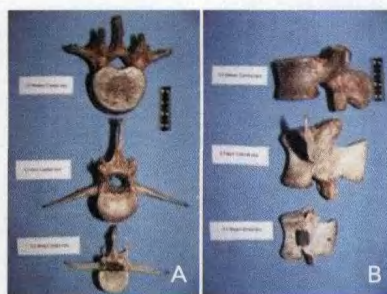


图2 人、鹿、羊腰椎形态图

Fig.2 The pictures of lumbar vertebrae of human, deer, and sheep

A: Lumbar vertebrae upper side;

B: Lumbar vertebrae left side.

(seen on page 161 in paragraph)



图1 病例组患儿17节段 EDV%曲线

Fig.1 EDV% curve of the 17th segment of children in case group

(seen on page 196 in paragraph)