

白脉软膏对家兔坐骨神经损伤的保护作用

路杰^{1*}, 张万强², 杨伟鹏^{3#}, 张坚⁴, 李富银¹(1. 西藏奇正藏药股份有限公司, 兰州 730010; 2. 中国中医科学院望京医院药理室, 北京 100102; 3. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 4. 兰州大学医学院药理学研究所, 兰州 730000)

中图分类号 R965.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)19-2657-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.19.21

摘要 目的: 研究白脉软膏对家兔坐骨神经损伤的保护作用。方法: 采用钳夹法复制家兔坐骨神经损伤模型。180只家兔随机分为6组, 每组30只(其中7、14、28 d各取10只), 分别为假手术组(外敷白脉软膏空白基质)、模型组(外敷白脉软膏空白基质)、阳性组[ig 甲钴胺片溶液 1.25×10^{-4} g/(kg·d)]和白脉软膏低、中、高剂量组[外敷白脉软膏0.33、0.67、1.34 g/(kg·d)], 每天1次, 连续用药7、14、28 d。使用步态仪检测家兔患足着地力; 切取坐骨神经进行病理学检查; 免疫组化法检测神经组织中一氧化氮合酶(NOS)和N-甲基-D-天门冬氨酸(NMDA)水平。结果: 白脉软膏可显著减轻坐骨神经病理性损伤, 减轻水肿与炎症反应的程度; 给药后7、14、28 d, 与模型组比较, 各给药组兔患足着地力明显下降($P < 0.01$); 给药后14、28 d, 阳性组与白脉软膏各剂量组家兔患足着地力均显著提高, 神经组织中NOS、NMDA水平均显著降低($P < 0.05$)。结论: 白脉软膏对家兔功能损伤的坐骨神经具有明显保护作用。

关键词 白脉软膏; 坐骨神经损伤; 行为学; 病理学; 一氧化氮合酶; N-甲基-D-天门冬氨酸; 家兔

Protective Effects of Baimai Ointment on Sciatic Nerve Injury in Rabbit Model

LU Jie¹, ZHANG Wanqiang², YANG Weipeng³, ZHANG Jian⁴, LI Fuyin¹(1. Qizheng Tibetan Medicine Company Limited, Lanzhou 730010, China; 2. Dept. of Pharmacology, Wangjing Hospital, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China; 3. Institute of Traditional Chinese Medicine, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700, China; 4. Institute of Pharmacology, Medical College of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the protective effects of Baimai ointment on sciatic nerve injury in rabbit. **METHODS:** The rabbit sciatic nerve injury model was induced by forceps operation. 180 rabbits were randomly divided into 6 groups, with 30 rabbits in each group (10 rabbits of 7, 14, 28 d), including sham operation group (blank matrix of Baimai ointment for external use), model group (same as sham operation group), positive group [ig Mecobalamin tablet solution 1.25×10^{-4} g/(kg·d)] and Baimai low-dose, medium-dose and high-dose groups [Baimai ointment 0.33, 0.67 and 1.34 g/(kg·d) for external use], once a day, for consecutive 7, 14 and 28 d. Gait instrument was used to test the foot-touch-land force of rabbit; pathology examination was conducted for sciatic nerve resection; immunohistochemistry was used to detect the levels of NOS and NMDA in nerve tissue. **RESULTS:** Baimai ointment can significantly relieve sciatic nerve injury, edema and inflammatory reaction; 7, 14 and 28 d after medication, compared with model group, foot-touch-land force decreased significantly in rabbits with sciatic nerve injury ($P < 0.01$); 14, 28 d after medication, foot-touch-land force of rabbits increased significantly in positive group, Baimai ointment groups, while the levels of NOS and NMDA decreased in nervous tissue ($P < 0.05$). **CONCLUSIONS:** Baimai ointment can protect sciatic nerve with function injury in rabbits.

KEYWORDS Baimai ointment; Sciatic nerve injury; Behavior; Pathology; NOS; NMDA; Rabbit

白脉软膏为藏民族外用治疗白脉病的一种常用药物, 具有舒筋活络之功效^[1], 常用于白脉病、瘫痪、偏瘫、筋腱强直、外伤等引起的经络及筋腱断伤、手足挛急、跛行等病症的治疗^[2]。临床研究发现, 白脉软膏治疗面神经炎^[3]、三叉神经痛^[4]、慢性紧张性头痛^[5]、坐骨神经痛^[6]等具有一定疗效。在本研究中, 笔者通过复制家兔坐骨神经损伤动物模型来观察白脉软膏对坐骨神经损伤的保护作用并探讨其作用机制, 以为该药治疗外周神经损伤性疾病提供实验依据。

1 材料

* 工程师。研究方向: 藏药药理学、毒理学及制剂质量分析。电话: 0931-8273323。E-mail: luj@qzh.cn

通信作者: 研究员, 博士。研究方向: 中药药动学。E-mail: hrbywp@sina.com

1.1 仪器

实验动物步态测试系统及分析软件(中国中医科学院中药研究所自制); 820组织切片机(美国AO公司); BX 51 OLYMPUS光学显微镜(日本Olympus Corporation公司)。

1.2 药品与试剂

白脉软膏(西藏林芝奇正藏药厂, 批号: 110403, 规格: 20 g/支); 白脉软膏空白基质(西藏奇正藏药有限公司, 批号: 20110401, 规格: 20 g/支); 甲钴胺片[卫材(中国)药业有限公司, 批号: 20110101, 规格: 0.5 mg/片]; 戊巴比妥钠(德国产品分装, 批号: WS20090520); 辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔免疫球蛋白G(IgG)(武汉博士德生物工程有限公司, 批号: A0202); 羊抗兔一氧化氮合酶(NOS)、N-甲基-D-天门冬氨酸(NMDA)单克隆抗体(美国Santa Cruz公司, 批号: SC-321、

SC-332);其他试剂均为分析纯。

1.3 动物

新西兰大耳家兔200只,♂,兔龄4个月,体质量(2.5~3.0)kg,购自北京西山昌扬动物养殖场,合格证号:SCXK(京)2011-0010。动物饲养于中国中医科学院基础理论研究所实验动物室。

2 方法

2.1 分组

取家兔180只,随机分为6组,每组30只(其中给药7、14、28 d后各取10只),分别为假手术组、模型组、阳性组和白脉软膏低、中、高剂量组。

2.2 神经损伤模型制作^[7-8]

除假手术组外,其余各组家兔用3%戊巴比妥钠耳缘iv麻醉,股部剪毛;无菌操作于右股骨中段后外方约2 cm处做平行于股骨干的纵形切口,长约3~4 cm,沿股二头肌与半膜肌之间的间隙钝性分离,暴露坐骨神经;用16 cm持针器,以关闭2个齿扣的力量钳夹坐骨神经10 s,造成4 mm宽的损伤区,然后逐层缝合皮肤切口。假手术组动物按照上述方法分离暴露坐骨神经,然后逐层缝合皮肤切口。造模后各组动物分笼饲养,自由进食及活动。

2.3 给药^[9]

白脉软膏低、中、高剂量组家兔术后在伤处皮肤外敷白脉软膏0.33、0.67、1.34 g/(kg·d),5 cm²/kg;阳性组家兔ig甲钴胺片溶液1.25×10⁻⁴ mg/(kg·d);假手术组及模型组家兔外敷白脉软膏空白基质。每日1次,连续给药7、14、28 d。

2.4 白脉软膏对家兔伤腿着地力的影响

各组家兔分别于给药后7、14、28 d,使用步态仪采集家兔行走时双后腿步态曲线,测量患侧与健侧后腿着地最大力值,并记录伤腿着地力。

2.5 白脉软膏对家兔坐骨神经病理变化的影响

各组家兔分别于给药后7、14、28 d,从原切口处暴露坐骨神经,找出钳夹部位后,切取损伤区神经,4%多聚甲醛固定,苏木精-伊红(HE)染色,光学显微镜下观察损伤神经的病理变化。

2.6 白脉软膏对家兔NOS和NMDA水平的影响^[10-12]

各组家兔分别于给药后7、14、28 d,制备L4~L5脊髓及坐骨神经的石蜡标本,切片,厚度4 μm。用中性甲醛固定24 h后,常规脱水、浸蜡、包埋、切片,二甲苯脱蜡,梯度酒精水化;采用复合消化液和抗原修复液进行抗原修复,磷酸缓冲盐溶液(PBS)洗3次,用3%过氧化氢溶液孵育10 min以去除内源性过氧化氢酶活性,分别滴加1:200浓度的羊抗兔NOS和NMDA单克隆抗体,4℃过夜;PBS洗3次,滴加HRP标记的羊抗兔IgG,37℃孵育50 min,PBS冲洗,二氨基联苯胺(DAB)显色,常规脱水,用中性树脂胶封片。每张切片在高倍镜下(×400)随机选取4个视野,以出现棕黄色染色为阳性信号,检测NOS和NMDA积分光密度。积分光密度越高则NOS和NMDA含量越高,以均值来表示每个标本的积分光密度。

2.7 统计学方法

测定结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 19.0统计软件进行分析。用单因素方差进行显著性分析,组间差异显著性采用LSD检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组家兔患足着地力的测定结果

与假手术组比较,模型组家兔患足着地力明显降低($P < 0.01$)。与模型组比较,阳性组家兔随时间延长患足着地力均

有不同程度升高($P < 0.01$);白脉软膏低、中、高剂量组家兔患足着地力明显升高,且随剂量增加和时间延长而逐渐增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),详见表1。

表1 各组家兔患足着地力的测定结果($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 1 Determination results of foot-touch-land force of rabbits in each group($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量,g/(kg·d)	着地力,g		
		7 d	14 d	28 d
假手术组		0.20±0.07	0.20±0.01	0.22±0.01
模型组		0.03±0.01*	0.05±0.01*	0.09±0.01*
阳性组	1.25×10 ⁻⁴	0.06±0.01 [#]	0.07±0.01 ^{##}	0.16±0.01 ^{###}
白脉软膏低剂量组	0.33	0.05±0.01	0.06±0.01 [#]	0.16±0.01 ^{###}
白脉软膏中剂量组	0.67	0.06±0.01	0.08±0.01 ^{##}	0.15±0.01 ^{###}
白脉软膏高剂量组	1.34	0.08±0.01 ^{##}	0.10±0.01 ^{###}	0.17±0.01 ^{###}

注:与假手术组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$

Note: vs. sham operation group, * $P < 0.01$; vs. model group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$

3.2 各组家兔坐骨神经的病理变化

造模7 d后,与假手术组比较,模型组家兔神经外膜明显充血,出现重度神经肿胀、变性,中度炎症反应,大量轴突、髓鞘崩解及神经纤维明显变性等病理变化;阳性组家兔神经外膜中度充血,出现中度神经肿胀、变性,轻度炎症反应及大量轴突、髓鞘崩解,未见明确神经纤维再生;白脉软膏低剂量组家兔神经外膜中度充血,出现中度神经肿胀,轻度炎症反应及中等量轴突、髓鞘崩解;白脉软膏中剂量组家兔神经外膜轻度充血,仅出现部分神经肿胀,轻度炎症反应及中等量轴突、髓鞘崩解;白脉软膏高剂量组家兔神经外膜充血不明显,神经肿胀较轻,仅出现轻度炎症反应及少量轴突、髓鞘崩解,可见神经纤维再生、施万细胞轻度增生及少量神经纤维再生,详见图1。

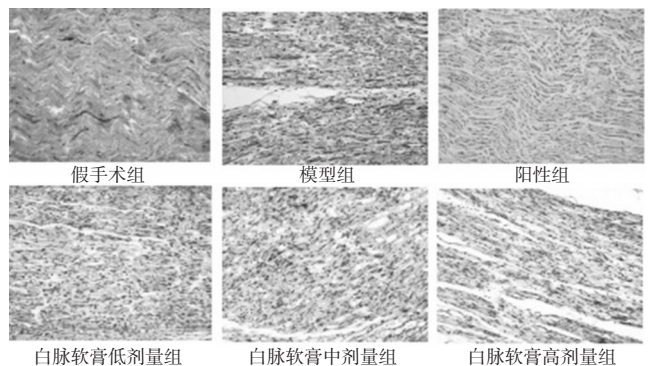


图1 各组家兔坐骨神经损伤7 d后的病理变化(×400)

Fig 1 The pathological changes of rabbits 7 days after sciatic nerve injury in each group(×400)

造模14 d后,与假手术组比较,模型组家兔神经外膜轻度充血,中度神经肿胀,轻度炎症反应及中等量轴突、髓鞘崩解,可见新生神经纤维形成,但较稀疏;阳性组家兔神经外膜轻度充血,轻度神经肿胀,轻度炎症反应及少量轴突、髓鞘崩解,中等量新生神经纤维形成;白脉软膏低剂量组家兔神经外膜轻度充血,中度神经肿胀,轻度炎症反应及中等量轴突、髓鞘崩解,可见新生神经纤维形成,但较稀疏;白脉软膏中剂量组家兔神经外膜部分区域轻度充血,轻度神经肿胀,炎症反应不明显,仅少量轴突、髓鞘崩解,可见较多新生神经纤维形成;白脉软膏高剂量组家兔神经外膜充血不明显,轻度神经肿胀,炎症反应不明显,仅少量轴突、髓鞘崩解,可见较多新生神经纤维形成,详见图2。

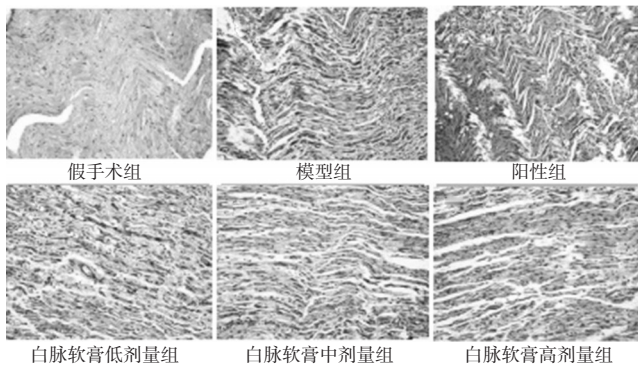


图2 各组家兔坐骨神经损伤14 d后的病理变化(×400)

Fig 2 The pathological changes of rabbits 14 days after sciatic nerve injury in each group(×400)

造模28 d后,与假手术组比较,模型组家兔神经肿胀不明显,未见明确炎症反应,可见少量轴突、髓鞘崩解和新生神经纤维形成,施万细胞增生;阳性组家兔可见施万细胞增生,出现中等量的新生神经纤维,未见明确的神经肿胀及脱髓鞘;白脉软膏各剂量组家兔可见新生神经纤维形成,施万细胞增生,未见明确的神经肿胀及脱髓鞘,其中高剂量组家兔施万细胞增生明显,详见图3。

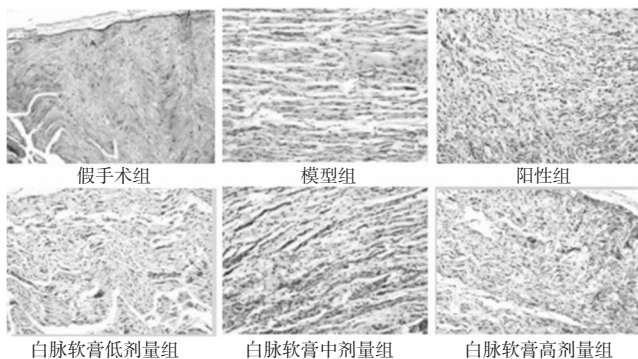


图3 各组家兔坐骨神经损伤28 d后的病理变化(×400)

Fig 3 The pathological changes of rabbits 28 days after sciatic nerve injury in each group(×400)

3.3 各组家兔神经组织NOS水平测定结果

与假手术组比较,模型组家兔神经组织NOS水平明显升高($P<0.01$);与模型组比较,白脉软膏组造模7、14、28 d后家兔神经组织NOS水平显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),详见表2。

表2 各组家兔神经组织NOS的水平测定结果($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 2 Determination results of NOS level in nervous tissue of rabbits in each group($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量,g/(kg·d)	NOS(积分灰度值)		
		7 d	14 d	28 d
假手术组		143±21	131±16	169±36
模型组		393±40*	272±32*	235±35
阳性组	1.25×10 ⁻⁴	153±36	187±41	128±51
白脉软膏低剂量组	0.33	175±35 ^{##}	145±27 [#]	121±24 [#]
白脉软膏中剂量组	0.67	209±42 [#]	137±16 ^{##}	185±32 [#]
白脉软膏高剂量组	1.34	173±31 ^{##}	140±26 [#]	128±25 [#]

注:与假手术组比较,* $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$

Note: vs. sham operation group, * $P<0.01$; vs. model group, [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$

3.4 各组家兔神经组织NMDA水平测定结果

与假手术组比较,模型组家兔神经组织NMDA水平明显升高($P<0.01$);与模型组比较,白脉软膏组家兔造模7、14、28

d后家兔神经组织NMDA水平显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),详见表3。

表3 各组家兔神经组织NMDA水平测定的结果($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 3 Determination results of NMDA level in nervous tissue of rabbits in each group($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量,g/(kg·d)	NMDA(积分灰度值)		
		7 d	14 d	28 d
假手术组		140±8	124±20	146±19
模型组		249±37*	271±32*	278±31*
阳性组	1.25×10 ⁻⁴	187±39	244±34	223±37
白脉软膏低剂量组	0.33	161±27 [#]	174±31 [#]	202±32 [#]
白脉软膏中剂量组	0.67	85±31 ^{##}	136±20 ^{##}	158±19 ^{##}
白脉软膏高剂量组	1.34	135±23 ^{##}	114±30 ^{##}	119±22 ^{##}

注:与假手术组比较,* $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$

Note: vs. sham operation group, * $P<0.01$; vs. model group, [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$

4 讨论

宇妥·元丹贡布在《四部医典》中曾提到人体有各种脉络,其中白脉司管传导水脉,主感觉、运动和信息传导功能,即脑为白脉之海,此处之“白脉”实为神经系统^[2]。白脉发病将呈现干神经损伤引起的症状,如口眼歪斜、偏身麻木、疼痛、颤抖、肢体功能障碍等。因此,白脉病相当于一种实质性损害所致的神经系统疾病。藏民族世代生活在高寒、缺氧等严酷环境中,因此白脉病在当地发病率极高^[2]。

本实验通过钳夹法(夹伤法)复制家兔坐骨神经损伤模型。该模型可表现出与临床外周神经损伤相似的行为、病理及血液生化等方面的改变,能比较客观地反映外周神经损伤及愈合的变化过程,是研究外周神经损伤及其药物干预较好的动物模型。实验中的阳性药物为甲钴胺,是临床辅助治疗周围神经病变的常用药物^[13]。甲钴胺是一种内源性的辅酶B₁₂,能促进轴突再生、增强其运输功能,使坐骨神经轴突骨架蛋白的运输正常化、抑制神经退变。目前临床上外用修复神经损伤的药物很少,相关报道亦少见。因此,在本实验中笔者选用与本实验相关的功能主治相似的甲钴胺作为阳性对照药,便于和受试药物进行比较。实验中甲钴胺的剂量[0.125 mg/(kg·d)]是按照成人剂量(0.5 mg/kg,每日3次)换算成动物剂量的5倍数所得^[14]。而白脉软膏属于软膏剂,说明书提示本药的用法用量为“取本品适量涂于患处,一日2~3次”。临床用量依据用药部位不同有所差别。本实验所采用的剂量综合了白脉软膏申报资料、急性毒性试验及药效学试验。

本实验结果表明,外用白脉软膏可明显增加坐骨神经损伤家兔的患足着地力,促进其功能的恢复,减轻坐骨神经的病理学改变,促进损伤组织的修复。NOS参与神经系统损伤的病理过程,是神经损伤的关键因素之一,尤其是NOS的来源一氧化氮(NO)在其中发挥着重要的神经毒性作用,NOS含量升高可引起炎症等的发生。NMDA受体在神经系统损伤过程中也发挥重要作用,其过度激活可导致神经细胞变性和坏死。本实验中白脉软膏中剂量组家兔7 d数据存在异常,可能与仪器的稳定性造成的系统误差、切片印位与质量有关,但整体趋势在可接受范围。本研究结果显示,外用白脉软膏可明显降低损伤神经组织中的NOS和NMDA水平,表明其作用机制可能与改善神经病理性损伤、降低组织中NOS和NMDA水平有关,但其具体作用机制有待进一步研究证实。

参考文献

我院ICU病区使用智能药柜前后的工作模式比较与效果分析

王芳*,李莎,卢旺,孙亚净,陈蕾(解放军总医院第一附属医院药剂药理科,北京 100048)

中图分类号 R95 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)19-2660-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.19.22

摘要 目的:促进重症监护室(ICU)病区药品的规范化管理。方法:分析比较智能药柜在我院ICU病区使用前后工作模式的变化及相关工作指标的数据变化(各3个月内),评价其使用效果。结果与结论:使用智能药柜后,病区基数药品管理由开放式改变成智能化、封闭式和权限式管理,药品库存和成本管理更科学,人员岗位设置更优化;在医嘱数量无差异的情况下,初始用药时间由约170 min缩短至约131 min($P<0.05$),每日备药时间和退药处理时间分别由(81.20±3.56) min缩短至(30.04±7.55) min、(9.18±2.79) min缩短至(6.47±4.66) min($P<0.05$)。智能药柜的使用提高了工作效率,规范了药品管理,促进了医疗安全,为开创病区药品管理的新模式提供了借鉴。

关键词 智能药柜;病区药品管理;工作模式;效果分析

Comparison of Work Mode and Effect Analysis in ICU Area of Our Hospital before and after the Application of Automated Drug Dispensing System

WANG Fang, LI Sha, LU Wang, SUN Yajing, CHEN Lei (Dept. of Pharmacy and Pharmacology, the First Affiliated Hospital of PLA General Hospital, Beijing 100048, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To promote standard management of drugs in ICU area. METHODS: The change of work mode in ICU area of our hospital was analyzed and compared after the application of automated drug dispensing system (ADDS) as well as the change of related indicators 3 months before and after the application of ADDS; the effect of ADDS was evaluated. RESULTS & CONCLUSIONS: After the application of ADDS, the management of base drugs changed from open management to intelligent, closed-off and authority management; drug storage and cost management became more scientific, and staff allocation became more optimal. Under the condition of zero difference in the number of medical orders, initial medication time shortened from 170 min to 131 min ($P<0.05$), time of daily drug preparation and drug repercussion shortened from (81.20±3.56) min to (30.04±7.55) min, and (9.18±2.79) min to (6.47±4.66) min ($P<0.05$). The application of ADDS can improve work efficiency, standardize drug management, promote medical safety, and provide reference for initiating a new mode of drug management in wards.

KEYWORDS Automated drug dispensing system; Drug management of wards; Work mode; Effect analysis

-
- [1] 卫生部药典委员会.中华人民共和国卫生部药品标准:藏药:第一册[S].北京:人民卫生出版社,1995:310.
 - [2] 王海苹,马振元,李丽.藏医白脉病发病与治疗研究现状[J].中国民族民间医药,2012,21(12):9.
 - [3] 姚伟红.两种方法治疗面神经炎的疗效研究[J].黑龙江医学,2013,37(2):106.
 - [4] 王晏雯,刘小利,舒勤奋,等.白脉软膏联合卡马西平片治疗原发性三叉神经痛40例临床观察[J].中医杂志,2015,56(10):863.
 - [5] 周昊,徐蕾,王暖,等.帕罗西汀联合白脉软膏治疗慢性紧张型头痛的临床疗效[J].神经损伤与功能重建,2012,9(6):488.
 - [6] 尕日毛.藏药白脉涂剂治疗坐骨神经痛的临床观察[J].青海医药杂志,2008,38(9):81.
 - [7] 徐淑云.药理实验方法学[M].3版.北京:人民卫生出版社,2001:891-892.
 - [8] 孙翀鹏,李新春,许乙凯,等.锰增强MRI评价兔坐骨神经挤压伤的初步研究[J].中华关节外科杂志,2014,8(6):769.
 - [9] 张万强,杨丽平,宋庆慧,等.外用白脉软膏对家兔桡骨骨折模型愈合过程及骨痂组织结构的影响[J].中国中医基础医学杂志,2012,18(2):170.
 - [10] 陈春美,杨卫忠,王春华,等. NOS、p38MAPK、Caspase-3介导大鼠脑缺血神经细胞凋亡可能通路的实验研究[J].国际神经病学神经外科学杂志,2008,35(2):107.
 - [11] 包翠芳,刘霞,魏嘉,等.前列地尔对局灶性脑缺血模型大鼠大脑皮层中iNOS和eNOS表达的影响[J].中国药房,2012,23(13):1 023.
 - [12] 张立超,曹慧芳,王晨宇,等. N-甲基-D-天冬氨酸受体在梗阻性黄疸时中枢神经系统损伤中的作用[J].中国普外基础与临床杂志,2015,22(8):1 023.
 - [13] 杨宝峰.药理学[M].8版.北京:人民卫生出版社,2013:275.
 - [14] 陈奇.中药药理研究方法学[M].2版.北京:人民卫生出版社,2006:1 167-1 170.

* 副主任药师。研究方向:医院药学。电话:010-66848403。E-mail:wangfang304@163.com

(收稿日期:2016-01-27 修回日期:2016-05-16)
(编辑:刘明伟)