

天麻素对脊髓缺血再灌注损伤中脊髓微循环血流量的影响

章建平¹, 方华^{1*}, 杨森¹, 张竞超¹, 章放香¹, 王泉云², 王儒蓉²
(1. 贵州省人民医院, 贵阳 550002; 2. 四川大学华西医院, 成都 610041)

[摘要] 目的:观察腹主动脉内灌注天麻素对兔脊髓缺血再灌注损伤(SCIRI)中脊髓微循环血流量(SCMBF)的影响。方法:60只健康新西兰大白兔随机分为正常组、模型组和天麻素低、中、高剂量组(25, 50, 100 mg·kg⁻¹),除正常组外,采用肾下腹主动脉阻断法,建立SCIRI模型,分别于缺血前,再灌注15, 30, 60, 120 min监测SCMBF变化。分别于缺血前、再灌注6, 12, 24 h神经功能评分(NFS)。分别于缺血前、缺血45 min,再灌注60, 120 min监测血清神经特异性烯醇化酶浓度(NSE),脊髓组织丙二醛(MDA),活性氧(ROS),谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px),超氧化物歧化酶(SOD),总抗氧化能力(T-AOC)及脊髓病理学变化。结果:与正常组比较,模型组缺血后NSE浓度,MDA和ROS明显增加($P < 0.01$),GSH-Px,SOD及T-AOC明显降低($P < 0.01$)。与模型组比较,缺血后天麻素组NSE,MDA和ROS明显降低($P < 0.01$),GSH-Px,SOD及T-AOC明显升高($P < 0.01$)。天麻素组SCMBF和脊髓灰质的病理损害程度明显轻于模型组($P < 0.01$),NFS较模型组恢复迅速($P < 0.01$)。结论:SCIRI中腹主动脉内灌注天麻素可通过提高脊髓抗氧化能力来减轻脊髓微循环障碍。

[关键词] 脊髓; 缺血再灌注损伤; 天麻素; 脊髓微循环血流量

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)16-0128-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015160128

Effect of Gastrodin on Spinal Cord Microcirculatory Blood Flow in Spinal Cord Ischemia Reperfusion Injury

ZHANG Jian-ping¹, FANG Hua^{1*}, YANG Miao¹, ZHANG Jing-chao¹, ZHANG Fang-xiang¹, WANG Quan-yun², WANG Ru-rong² (1. Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang 550002, China; 2. West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of gastrodin infused through abdominal aorta on spinal cord microcirculatory blood flow (SCMBF) during the spinal cord ischemia-reperfusion injury (SCIRI). **Method:** Totally 60 healthy New Zealand rabbits were randomly divided into the normal control group, the model group, gastrodin low, medium and high dose groups (25, 50, 100 mg·kg⁻¹). Except for the normal group, the SCIRI model was created by clamping infrarenal aorta. The changes in SCMBF were monitored before ischemia and at 15, 30, 60, 120 min after the reperfusion. The neurologic function score (NFS) was evaluated before ischemia and at 6, 12, 24 h after the reperfusion. The level of serum neuron-specific enolase (NSE), malondialdehyde (MDA), reactive oxygen species (ROS), glutathione peroxidase (GSH-Px), superoxide dismutase (SOD), total anti-oxidation capacity (T-AOC) and the pathological changes in spinal cord tissues were monitored before the ischemia and at 45, 60, 120 min after the reperfusion. **Result:** Compared with the model group, the model group showed significantly higher NSE, MDA and ROS ($P < 0.01$) and lower GSH-Px, SOD and T-AOC ($P < 0.01$) after ischemia. NSE, MDA and ROS were significantly lower while GSH-Px, SOD and T-AOC were distinctly higher in the gastrodin group after ischemia than that in the model group ($P < 0.01$). The SCMBF and pathological damage in spinal cord in the model group were obviously more serious than that in the gastrodin group ($P < 0.01$), but NFS recovered rapidly in the gastrodin group during reperfusion than that in the model group ($P < 0.01$). **Conclusion:** The intra-aortic gastrodin infusion could distinctly alleviate spinal cord microcirculatory dysfunction

[收稿日期] 20150228(012)

[基金项目] 贵州省卫生厅基金项目(gzkwj2012-1-051);贵州省科技厅基金项目(黔科合LH字[2014]7027号);贵州省科技厅基金项目(黔科合J字[2013]2179号)

[第一作者] 章建平,在读硕士,主治医师,从事临床麻醉学研究,Tel:0851-85937923,E-mail:zhangjianping666@126.com

[通讯作者] *方华,博士,副教授,从事麻醉学基础及临床研究,Tel:0851-85921066,E-mail:fanghua816@163.com

by infusing gastrodin through abdominal aorta and improving the anti-oxidation ability of spinal cord during SCIRI.

[Key words] spinal cord; ischemia-reperfusion injury; gastrodin; spinal cord microcirculatory blood flow

脊髓缺血再灌注损伤 (spinal cord ischemia reperfusion injury, SCIRI) 是一种常见的胸腹主动脉瘤手术并发症,微循环障碍是 SCIRI 重要的病理生理学特征,脊髓微循环障碍与神经细胞炎性改变等多种因素密切相关^[1-2]。天麻素对小鼠脑黑质多巴胺能神经元损伤具有一定的保护作用^[3],而笔者的前期研究已发现 SCIRI 前腹主动脉内灌注天麻素预处理可能具有重要的治疗意义。本研究应用脊髓微循环血流量 (spinal cord microcirculatory blood flow, SCMBF) 监测脊髓再灌注早期的微循环功能,观察 SCIRI 中腹主动脉内局部灌注天麻素后 SCMBF 的变化规律,并通过神经功能评分 (neurologic function score, NFS) 和脊髓组织病理学观察,探讨天麻素的脊髓保护机制。

1 材料

1.1 动物 健康新西兰大白兔 60 只,雌雄不限,体重 2~2.5 kg,购自四川大学实验动物中心,动物合格证号 SCXK(川)2009-045,手术当日晨禁食。

1.2 药物及试剂 天麻素注射液 (上海现代哈森药业有限公司,批号 H20066464),神经特异性烯醇化酶神经元特异性烯醇化酶 (neuron-specific enolase, NSE) ELISA 试剂盒 (美国 USCNLIEF 公司,批号 UB2014052769),丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 试剂盒 (中国上海研吉生物科技有限公司,批号 2014040312),活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 活力试剂盒 (中国上海研吉生物科技有限公司,批号 2014041912),总抗氧化能力 (total anti-oxidation capacity, T-AOC) 试剂盒 (中国上海研吉生物科技有限公司,批号 2014090384),超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 试剂盒 (中国上海研吉生物科技有限公司,批号 2014011627) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 试剂盒 (中国上海研吉生物科技有限公司,批号 2014032014)。

1.3 仪器 Peri Flux System 5001 型多通道系统激光多普勒血流仪 (瑞典 PERIMED 公司), BL-420S 型生物机能实验系统 (成都泰盟科技有限公司), Elx800 型酶标仪 (美国 Bio-Tek 公司), BX51 型图像采集分析系统 (日本 Olympus 公司), 6405 型紫外分光光度计 (英国 JENWAY 公司), Soniprep150 型细

胞超声匀浆机 (美国 MSE 公司)。

2 方法

2.1 动物模型的建立及分组 大白兔 60 只按照随机数字表 (单因素设计) 分为正常组、模型组和天麻素低、中、高剂量组。采用左肾动脉下方腹主动脉夹闭法建立 SCIRI 模型^[4],耳缘静脉注射 30 mg·kg⁻¹ 1.5% 戊巴比妥钠和 0.25 mg·kg⁻¹ 维库溴铵麻醉气管插管,连接呼吸机行机械通气后右腹股沟区备皮,消毒铺巾后经右侧股动脉向腹主动脉内置入硬膜外导管,使导管远端位于左肾动脉起始点下方 2 cm 处,固定导管;无菌条件下取腹正中切口,仔细分离并显露左肾动脉及腹主动脉,于左肾动脉起始点下方约 0.5 cm 处用中号动脉夹暂时阻断腹主动脉,夹闭前经耳缘静脉注射肝素 1 mg·kg⁻¹。证实钳夹点以下腹主动脉搏动完全消失,阻断腹主动脉血流 45 min 后松钳开放腹主动脉,以造成腰段脊髓缺血再灌注损伤。术中以生理盐水浸润的温纱垫覆盖腹腔脏器,肛门温度维持于 36~37℃。术中监测心电图、动脉血气、经皮脉搏氧饱和度、平均动脉压及肛门温度。阻断腹主动脉即刻,天麻素组天麻素注射液低、中、高剂量 (25, 50, 100 mg·kg⁻¹) 生理盐水稀释后经硬膜外导管腹主动脉局部灌注缺血脊髓组织,5 min 内灌注完毕。模型组局部灌注等容量生理盐水。正常组仅进行手术操作,不阻断腹主动脉,假手术组在对应时间点测定各观察指标。

2.2 指标检测

2.2.1 脊髓微循环测量^[5] 选用多通道系统激光多普勒血流仪测定缺血前,再灌注 15 min,再灌注 30 min,再灌注 60 min 及再灌注 120 min 时 L3-L4 脊髓微循环功能:无菌条件下取背部正中切口,逐层切开背部皮肤、皮下及肌肉组织,充分暴露 L3-L4 段腰椎间隙,细嘴咬骨钳咬去双侧椎板,显露 L3-L4 段脊髓。无菌激光扫描探头与暴露的脊髓面成 90 度角贴于 L3-L4 硬脊膜上以获取脊髓微循环血流信号;标准光纤探头置于腰椎旁肌表面作为对照。SCMBF 以灌注单位 (perfusion unit, PU) 表示,血流速度 (blood flow rate, BFR) 以速度单位 VU (velocity unit) 表示。

2.2.2 NSE 水平 各组分别于缺血前,再灌注 15,

30, 60, 120 min 时自股静脉采血 2 mL, 5 000 r·min⁻¹ 离心后取上清液采用双抗体夹心 ELISA 法检测 NSE。

2.2.3 NFS 分别于术前、再灌注 6, 12, 24 h, 由不了解分组情况的两名观测者评估及记录 NFS, 每例均测试 3 次, 取其平均值。包括: ①后肢运动功能的评估, 评分参照 Jacobs 分级标准^[6], 采用 5 分制法测定动物后肢运动功能; ②参照 Reuter 标准^[7]测定后肢运动反射和感觉功能。

2.2.4 脊髓组织指标检测 分别于缺血前, 缺血 45 min, 再灌注 60, 120 min 时取 L3-L4 节段脊髓组织, 将一部分脊髓组织加入 4 ℃生理盐水超声匀浆及 3 500 r·min⁻¹离心 5 min 后取上清液, 按照试剂盒说明书检测脊髓组织 MDA, ROS, GSH-Px, SOD 及 T-AOC; 另一部分脊髓组织固定于 10% 福尔马林中, 常规 HE 染色后采用 Olympus BX51 图像采集分析系统等距随机抽样法观察脊髓组织病理学变化, 参照文献^[8]计数脊髓前角(VIII-IX区)正常和异常运动神经元, 并计算运动神经元异常率。

神经元异常率 = 每张切片所选视野中的异常神经元数 /

该视野中神经元总数 × 100%

2.3 统计学分析 采用 SPSS 16.0 软件统计处理, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析和 *q* 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 术后动物一般情况观察 手术结束 2 h 内实验动物均完全清醒。实验过程中, 实验动物均无意外死亡且手术切口均愈合良好, 无感染。

3.2 对大白兔脊髓微循环参数的影响 不同时间点正常组 BFR 和 SCMBF 值均无明显变化; 缺血后模型组和天麻素组 BFR 和 SCMBF 值均迅速下降, 缺血 5 min 时血流波形完全消失。开放腹主动脉后, 模型组与低剂量天麻素组 BFR 和 SCMBF 值随着再灌注时间延长而逐渐恢复, 再灌注期间各时间点均明显低于缺血前和正常组水平, 与缺血前和正常组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。天麻素组中剂量与高剂量 BFR 和 SCMBF 值于再灌注 30 min 时恢复至缺血前水平, 再灌注期间各时间点均明显高于模型组, 与模型组组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 天麻素对大白兔脊髓微循环参数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effects of gastrodin on spinal cord microcirculatory parameters in white rabbits ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	BFR/VU				
		缺血前	再灌注 15 min	再灌注 30 min	再灌注 60 min	再灌注 120 min
正常	-	59.1 ± 14.2	61.7 ± 16.7	59.9 ± 20.5	62.3 ± 21.3	58.6 ± 19.9
模型	-	61.6 ± 23.1	16.3 ± 8.7 ^{1,3)}	21.9 ± 9.8 ^{1,3)}	26.7 ± 8.3 ^{1,3)}	33.4 ± 9.2 ^{1,3)}
天麻素	25	60.3 ± 18.5	18.6 ± 7.2 ^{1,3)}	25.1 ± 10.4 ^{1,3)}	30.9 ± 11.6 ^{1,3)}	36.7 ± 12.3 ^{1,3)}
	50	59.3 ± 17.6	41.3 ± 10.6 ^{1,2,3)}	57.3 ± 21.2 ²⁾	56.7 ± 19.4 ²⁾	57.8 ± 22.6 ²⁾
	100	61.7 ± 20.3	47.8 ± 12.2 ^{1,2,3)}	56.9 ± 19.4 ²⁾	58.3 ± 17.6 ²⁾	56.1 ± 18.7 ²⁾

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	SCMBF/PU				
		缺血前	再灌注 15 min	再灌注 30 min	再灌注 60 min	再灌注 120 min
模型	-	299.2 ± 41.5	78.9 ± 13.4 ^{1,3)}	69.9 ± 11.7 ^{1,3)}	99.4 ± 15.4 ^{1,3)}	105.7 ± 18.6 ^{1,3)}
天麻素	25	301.8 ± 38.6	83.4 ± 18.1 ^{1,3)}	74.5 ± 15.4 ^{1,3)}	114.7 ± 21.3 ^{1,3)}	124.2 ± 28.8 ^{1,3)}
	50	300.2 ± 39.6	217.8 ± 18.9 ^{1,2,3)}	296.2 ± 20.1 ²⁾	299.1 ± 19.6 ²⁾	297.8 ± 22.1 ²⁾
	100	298.5 ± 33.8	211.2 ± 20.4 ^{1,2,3)}	299.5 ± 24.7 ²⁾	291.3 ± 22.4 ²⁾	300.2 ± 25.9 ²⁾

注: 与缺血前比较¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较²⁾ $P < 0.01$; 与正常组比较³⁾ $P < 0.01$ (表 2~4 同)。

3.3 对大白兔血清 NSE 浓度的影响 不同时间点正常组 NSE 浓度均无明显变化; 模型组与低剂量天麻素组 NSE 浓度随着再灌注时间延长而逐渐升高, 均于再灌注 120 min 达到最高值, 再灌注期间各时间点均明显高于缺血前和正常组水平, 与缺血前和

正常组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。天麻素组中剂量与高剂量 NSE 浓度于再灌注 60 min 时恢复至缺血前水平, 再灌注期间各时间点均明显低于模型组, 与模型组组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 天麻素对大白兔 NSE 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of gastrodin on NSE in white rabbits ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	NSE/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$			
		缺血前	缺血 45 min	再灌注 60 min	再灌注 120 min
正常	-	6.1 ± 0.6	5.5 ± 0.3	5.6 ± 0.6	6.2 ± 0.4
模型	-	5.9 ± 0.7	9.4 ± 0.4 ^{1,3)}	15.6 ± 1.3 ^{1,3)}	21.3 ± 2.3 ^{1,3)}
天麻素	25	6.2 ± 0.9	8.3 ± 0.7 ^{1,3)}	13.9 ± 1.6 ^{1,3)}	18.6 ± 3.4 ^{1,3)}
	50	6.2 ± 0.8	8.7 ± 0.9 ^{1,3)}	6.9 ± 0.5 ²⁾	6.5 ± 0.6 ²⁾
	100	5.8 ± 0.4	8.9 ± 0.5 ^{1,3)}	6.7 ± 0.8 ²⁾	6.3 ± 0.7 ²⁾

3.4 对大白兔脊髓组织 ROS 活力, GSH-Px, SOD, T-AOC 活性和 MDA 含量的影响 不同时间点正常组 ROS, GSH-Px, SOD, T-AOC 和 MDA 水平均无明显变化; 模型组和低剂量天麻素组与缺血前及正常组比较, 缺血 45 min, 再灌注 60 min 和 120 min 时 ROS 和 MDA 水平均显著增加 ($P < 0.01$), GSH-Px,

SOD 和 T-AOC 水平均显著降低 ($P < 0.01$)。天麻素组中剂量与高剂量 ROS, GSH-Px, SOD, T-AOC 和 MDA 水平于再灌注 60 min 时恢复至缺血前水平, 在缺血 45 min, 再灌注 60 min 和 120 min 时 ROS 和 MDA 均显著低于模型组 ($P < 0.01$), GSH-Px, SOD 和 T-AOC 均显著高于模型组 ($P < 0.01$)。见表 3。

表 3 天麻素对大白兔脊髓 ROS, MDA, T-AOC, GSH-Px 及 SOD 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effects of gastrodin on ROS, MDA, T-AOC, GSH-Px and SOD in white rabbits ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	ROS/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$				MDA/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$			
		缺血前	缺血 45 min	再灌注 60 min	再灌注 120 min	缺血前	缺血 45 min	再灌注 60 min	再灌注 120 min
正常	-	2.5 ± 0.4	2.4 ± 0.5	2.6 ± 0.2	2.5 ± 0.8	1.7 ± 0.4	1.8 ± 0.7	1.6 ± 0.5	1.5 ± 0.9
模型	-	2.7 ± 0.6	12.4 ± 1.2 ^{1,3)}	16.6 ± 2.5 ^{1,3)}	19.3 ± 3.1 ^{1,3)}	1.9 ± 0.6	7.4 ± 0.6 ^{1,3)}	10.3 ± 1.2 ^{1,3)}	13.2 ± 1.8 ^{1,3)}
天麻素	25	2.6 ± 0.8	10.7 ± 1.9 ^{1,3)}	13.3 ± 1.8 ^{1,3)}	16.6 ± 4.3 ^{1,3)}	1.8 ± 0.9	6.2 ± 0.5 ^{1,3)}	9.5 ± 1.8 ^{1,3)}	10.6 ± 1.4 ^{1,3)}
	50	2.6 ± 0.5	10.8 ± 0.9 ^{1,3)}	3.2 ± 0.6 ²⁾	3.1 ± 0.7 ²⁾	1.8 ± 0.7	6.4 ± 0.8 ^{1,3)}	2.1 ± 0.4 ²⁾	2.3 ± 0.6 ²⁾
	100	2.9 ± 0.7	9.4 ± 0.8 ^{1,3)}	4.1 ± 0.3 ²⁾	3.8 ± 0.5 ²⁾	1.7 ± 0.5	6.1 ± 0.4 ^{1,3)}	2.8 ± 0.6 ²⁾	2.6 ± 0.7 ²⁾

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	GSH-Px/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$				SOD/NU·mg ⁻¹			
		缺血前	缺血 45 min	再灌注 60 min	再灌注 120 min	缺血前	缺血 45 min	再灌注 60 min	再灌注 120 min
正常	-	48.3 ± 9.5	46.9 ± 8.7	49.1 ± 7.3	46.9 ± 6.3	30.2 ± 7.2	29.7 ± 6.9	30.3 ± 6.4	28.9 ± 7.3
模型	-	49.5 ± 8.1	18.9 ± 3.5 ^{1,3)}	21.4 ± 4.9 ^{1,3)}	23.8 ± 5.3 ^{1,3)}	29.9 ± 5.8	14.6 ± 4.6 ^{1,3)}	17.4 ± 5.1 ^{1,3)}	18.6 ± 5.5 ^{1,3)}
天麻素	25	50.1 ± 9.4	23.5 ± 6.2 ^{1,3)}	27.8 ± 7.3 ^{1,3)}	29.2 ± 6.8 ^{1,3)}	28.6 ± 6.1	17.5 ± 5.9 ^{1,3)}	19.8 ± 7.3 ^{1,3)}	20.3 ± 6.9 ^{1,3)}
	50	47.3 ± 9.3	20.3 ± 8.5 ^{1,3)}	46.6 ± 9.5 ²⁾	45.9 ± 7.2 ²⁾	30.8 ± 5.4	16.2 ± 5.3 ^{1,3)}	28.6 ± 6.2 ²⁾	27.2 ± 6.2 ²⁾
	100	49.6 ± 8.1	23.7 ± 6.8 ^{1,3)}	49.3 ± 7.2 ²⁾	46.4 ± 8.6 ²⁾	29.4 ± 7.5	14.6 ± 8.1 ^{1,3)}	29.4 ± 7.6 ²⁾	28.8 ± 7.5 ²⁾

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	T-AOC/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$			
		缺血前	缺血 45 min	再灌注 60 min	再灌注 120 min
正常	-	29.3 ± 5.1	27.4 ± 4.4	30.3 ± 5.6	28.2 ± 4.3
模型	-	28.4 ± 7.5	16.6 ± 5.2 ^{1,3)}	10.2 ± 4.4 ^{1,3)}	7.8 ± 2.2 ^{1,3)}
天麻素	25	27.8 ± 6.2	19.1 ± 7.7 ^{1,3)}	13.3 ± 6.8 ^{1,3)}	12.4 ± 5.6 ^{1,3)}
	50	29.6 ± 4.8	18.7 ± 5.3 ^{1,3)}	27.1 ± 6.5 ²⁾	26.8 ± 6.7 ²⁾
	100	28.5 ± 6.3	17.3 ± 6.6 ^{1,3)}	29.4 ± 4.7 ²⁾	28.6 ± 7.1 ²⁾

3.5 对大白兔 NFS 的影响 术前及正常组动物 Jacobs 评分值均为 5 分, Reuter 分值均为 0 分。运动反射和后肢感觉功能障碍越严重其 Reuter 分值越高。再灌注各时间点模型组和低剂量天麻素组 Jacobs 分值明显降低, 后肢 Reuter 分值显著增加, 与

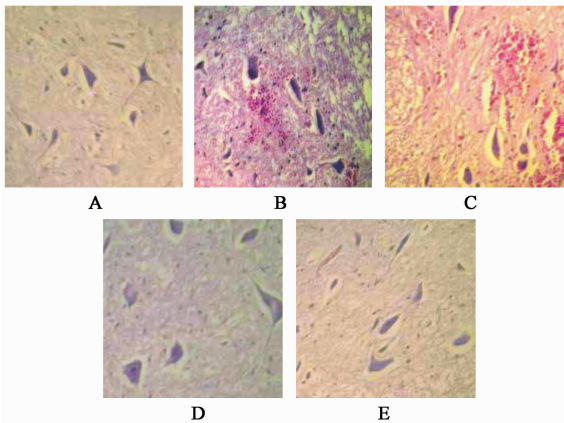
术前及正常组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.01$), 天麻素组中剂量与高剂量 Jacobs 分值显著高于模型组, 后肢 Reuter 分值与术前及正常组比较虽有增加 ($P < 0.01$), 但明显低于模型组, 与模型组间比较差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。见表 4。

表 4 天麻素对大白兔脊髓 NFS 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effects of gastrodin on NFS in white rabbits ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	Jacobs/分				Reuter/分			
		术前	再灌注 6 h	再灌注 12 h	再灌注 24 h	术前	再灌注 6 h	再灌注 12 h	再灌注 24 h
正常	-	5.0 ± 0.0	5.0 ± 0.0	5.0 ± 0.0	5.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
模型	-	5.0 ± 0.0	2.7 ± 0.8 ^{1,3)}	2.8 ± 0.4 ^{1,3)}	2.7 ± 0.9 ^{1,3)}	0.0 ± 0.0	10.3 ± 1.2 ^{1,3)}	7.3 ± 1.4 ^{1,3)}	8.1 ± 1.5 ^{1,3)}
天麻素	25	5.0 ± 0.0	2.8 ± 0.4 ^{1,3)}	2.6 ± 0.7 ^{1,3)}	2.9 ± 0.7 ^{1,3)}	0.0 ± 0.0	9.6 ± 0.8 ^{1,3)}	6.9 ± 1.2 ^{1,3)}	7.5 ± 1.2 ^{1,3)}
	50	5.0 ± 0.0	4.6 ± 0.4 ²⁾	4.5 ± 0.6 ²⁾	4.7 ± 0.6 ²⁾	0.0 ± 0.0	5.5 ± 1.6 ^{1,2,3)}	5.7 ± 1.4 ^{1,2,3)}	5.9 ± 0.6 ^{1,2,3)}
	100	5.0 ± 0.0	4.4 ± 0.7 ²⁾	4.8 ± 0.9 ²⁾	4.6 ± 0.5 ²⁾	0.0 ± 0.0	5.8 ± 1.3 ^{1,2,3)}	5.3 ± 0.8 ^{1,2,3)}	5.5 ± 0.9 ^{1,2,3)}

3.6 对大白兔正常脊髓组织病理学运动神经元的影响 正常组运动神经元异常率为 0%，神经元多极形，核仁清楚，轮廓清晰，组织结构完整，无水肿及出血等异常改变。模型组和低剂量天麻素组脊髓组织内出血灶明显，运动神经元核仁不清，少量运动神经元空泡形成或变性坏死，模型组和低剂量天麻素组缺血 45 min，再灌注 60, 120 min 时正常运动神经元计数较缺血前和正常组明显减少。天麻素组中、高剂量运动神经元轮廓清晰，核仁清晰，结构完整，无出血及变性坏死等病理现象，天麻素组中、高剂量缺血 45 min，再灌注 60, 120 min 时正常运动神经元计数虽然少于缺血前和正常组，但明显多于模型组脊髓组织中正常运动神经元数目。见图 1。



A. 正常组; B. 模型组; C. 天麻素 25 mg·kg⁻¹ 组; D. 天麻素 50 mg·kg⁻¹ 组; E. 天麻素 100 mg·kg⁻¹ 组

图 1 天麻素对大白兔脊髓组织病理学运动神经元的影响 (HE, ×400)

Fig.1 Effects of gastrodin on spinal cord tissue pathology motor neurons in white rabbits (HE, ×400)

4 讨论

脊髓神经功能的维持依赖于微循环功能的完整性, SCIRI 期间 MDA 和 ROS 等炎症介质产生增加, 可引起脊髓微循环功能障碍, 严重影响术后神经功能恢复^[9-10]。SCMBF 作为客观性和敏感性更好的

检测方法能够准确地反映出脊髓神经功能受损的程度^[5]。SCIRI 过程中, 神经细胞损伤后 NSE 由胞内释放进入循环, NSE 不仅可反映神经细胞损伤的敏感指标, 还能够评价相应的损伤程度^[11-12]。本实验结果表明, 缺血后循环 NSE, 反映脂质过氧化程度的终产物脊髓组织 ROS 活力和 MDA 均明显增加, 再灌注 120 min 时 NSE, ROS 活力和 MDA 增加更为显著; 与此同时, 缺血脊髓微循环功能和代表脊髓组织抗氧化能力的 T-AOC, 抗氧化酶 SOD 和 GSH-Px 均明显降低, 提示脊髓缺血损伤后引起脊髓微循环功能障碍, 而再灌注后虽然脊髓组织的血供得到恢复, 但 SCIRI 期间大量释放的 MDA 和 ROS 等炎症因子进一步加重引起缺血脊髓损伤, 脊髓组织抗氧化能力进一步降低, 而抗氧化水平严重降低的脊髓微循环功能恢复缓慢, 说明缺血可以引起脊髓微循环功能障碍, 而再灌注时 MDA 及 ROS 等炎症因子通过破坏脊髓抗氧化能力引起脊髓微循环功能异常^[13-14], 引起脊髓功能障碍。

天麻素是我国传统中药材天麻的主要药用成分, 具有镇静、镇痛及抗炎等作用^[15-16]。研究表明, 天麻素对大脑皮层神经细胞具有明显保护作用^[17-19]。本研究发现中剂量和高剂量天麻素对 SCIRI 中脊髓微循环功能有显著的保护作用, 再灌注期脊髓微循环功能各指标显著高于相应时点模型组, 并逐渐恢复至缺血前水平。本实验还观察到, SCIRI 中腹主动脉内局部灌注中剂量和高剂量天麻素预处理不仅可以降低 ROS 活力和 MDA 含量, 还能够提高脊髓 T-AOC, 抗氧化酶 SOD 和 GSH-Px 水平, 在一定程度控制过度的脂质过氧化反应, 使炎症介质因子的放大效应得到抑制; 与此同时, SCIRI 中腹主动脉内局部灌注中、高剂量天麻素后血清 NSE 显著降低, 且缺血脊髓微循环功能显著提高, 这种改变与术后 NFS 改善及病理学变化相一致, 说明腹主动脉内局部灌注中、高剂量天麻素预处理可能通过

减轻MDA及ROS等炎性因子对脊髓神经细胞损伤及脊髓的氧化损伤程度,明显改善SCIRI中脊髓微循环功能,从而有利于脊髓功能的恢复。

综上所述,中、高剂量天麻素预处理减轻脊髓微循环障碍的机制可能与改善脊髓抗氧化能力有关。

[参考文献]

[1] Kubota K, Saiwai H, Kumamaru H, et al. Neurological recovery is impaired by concurrent but not by asymptomatic pre-existing spinal cord compression after traumatic spinal cord injury[J]. *Spine*, 2012, 37(17): 1448-1455.

[2] Jan Y K, Liao F, Jones M A, et al. Effect of durations of wheelchair tilt-in-space and recline on skin perfusion over the ischial tuberosity in people with spinal cord injury[J]. *Arch Phys Med Rehabil*, 2013, 94(4): 667-672.

[3] 李海龙, 粟艳, 厚荣, 等. 天麻素对百草枯和代森锰诱导的小鼠脑黑质多巴胺能神经元损伤的保护作用[J]. *成都中医药大学学报*, 2010, 33(1): 57-59.

[4] Simon F, Scheuerle A, Calzia E, et al. Erythropoietin during porcine aortic balloon occlusion-induced ischemia/reperfusion injury[J]. *Crit Care Med*, 2008, 36(7): 2143-2150.

[5] Blaser A, Lang J, Henke D, et al. Influence of durotomy on laser-Doppler measurement of spinal cord blood flow in chondrodystrophic dogs with thoracolumbar disk extrusion[J]. *Vet Surg*, 2012, 41(2): 221-227.

[6] Goyagi T, Tobe Y. Dexmedetomidine improves the histological and neurological outcomes 48 h after transient spinal ischemia in rats[J]. *Brain Res*, 2014, 3(6): 24-30.

[7] Badem S, Ugurlucan M, Eg H, et al. Effects of Ginkgo biloba extract on spinal cord ischemia-reperfusion injury in rats[J]. *Ann Vasc Surg*, 2014, 28(5): 1296-1305.

[8] 成令忠, 钟翠平, 蔡文琴. 现代组织学[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2003: 38-39.

[9] Kubota K, Saiwai H, Kumamaru H, et al. Neurological recovery is impaired by concurrent but not by asymptomatic pre-existing spinal cord compression after

traumatic spinal cord injury[J]. *Spine*, 2012, 37(17): 1448-1455.

[10] Chou A K, Yang M C, Tsai H P, et al. Adenoviral-mediated glial cell line-derived neurotrophic factor gene transfer has a protective effect on sciatic nerve following constriction-induced spinal cord injury[J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): 264-269.

[11] Ilhan G, Aksun M, Ozbek B, et al. The effect of combined hyperbaric oxygen and iloprost treatment on the prevention of spinal cord ischaemia-reperfusion injury: an experimental study[J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2013, 44(5): 332-340.

[12] Cui Y, Zhang H, Ji M, et al. Hydrogen-rich saline attenuates neuronal ischemia-reperfusion injury by protecting mitochondrial function in rats[J]. *J Surg Res*, 2014, 4(14): 529-532.

[13] Koriyama Y, Nakayama Y, Matsugo S, et al. Anti-inflammatory effects of lipoic acid through inhibition of GSK-3 β in lipopolysaccharide-induced BV-2 microglial cells[J]. *Neurosci Res*, 2013, 77(2): 87-96.

[14] Tavukçu H H, Sener T E, Tinay I, et al. Melatonin and tadalafil treatment improves erectile dysfunction after spinal cord injury in rats[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2014, 41(4): 309-316.

[15] 赵朝华, 吴树强, 杨杰, 等. 天麻素预处理对短暂性脑缺血大鼠脑组织 S100 β 表达的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2014, 4(34): 2156-2158.

[16] 曾祥慧, 葛亚坤, 严明, 等. 天麻素对酸中毒诱导的大鼠海马神经元损伤的保护作用[J]. *中草药*, 2007, 38(12): 1867-1869.

[17] 高健美, 陆国辉, 李艳茹, 等. 天麻素通过 SIRT1/PGC-1 α 信号通路抗叔丁基过氧化氢诱导的 HL7702 细胞氧化损伤[J]. *中药药理与临床*, 2014, 30(4): 32-35.

[18] 赵燕玲, 张博爱, 贾延劼, 等. 天麻素对海人酸致大鼠大脑皮质神经元损伤的保护作用[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2009, 12(5): 33-36.

[19] 付蕾, 毛艳华, 高远, 等. 天麻素对大鼠皮层缺氧神经细胞 NR1 亚基 mRNA 表达的影响[J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(9): 1049-1052.

[责任编辑 周冰冰]