

#### 4 讨论

生殖毒性往往有 2 个特点：首先是生殖系统较机体的其他系统对化学物毒性作用更为敏感，在一定剂量下，其他系统尚未出现损害之前，生殖过程的某个环节结构或功能已出现障碍。另外则是损害的影响更为深远，损害作用不仅表现在接触化学物的机体本身，还会影响到后代<sup>[7]</sup>。某些化学物进入母体后，干扰了胚胎的正常发育过程，以致胎儿在出生时就表现出某种器官形成结构的异常。胚胎毒性包括 4 种：胚胎死亡、畸形、生长迟缓、功能不全。

试验结果显示，消乳增对大鼠有较为明显的胚胎毒性，包括死亡、生长发育、畸形等指标，给药组与空白组比较出现统计学差异。尤其是对胚胎骨骼发育及吸收胎发生的影响较为突出。对骨骼发育方面发现主要集中在胸骨骨化不全。各剂量组增加大鼠胚胎吸收数，对胚胎发育有抑制作用，活胎体质量也有明显减轻。

三棱在中国药典 2010 年版中记载<sup>[8]</sup>：该药破血行气，消积止痛，孕妇禁用。国家基本药物临床应用指南描述三棱为妊娠禁用<sup>[9]</sup>，含禁用成分的中成药也相应被视为妊娠禁用药。消乳增处方中有三棱，致畸作用与处方中药材功能相匹配，该

试验反应该药特性，尽管消乳增在临床安全使用十余年，但只是针对未孕女性是安全的，由于该药存在胚胎毒性，孕妇禁用。

#### REFERENCES

- [1] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 123-127.
- [2] 李仪奎. 中药药理试验方法学[M]. 第2版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 1042-1044.
- [3] 中华人民共和国卫生部药政管理局. 中药新药研究指南[S]. 1994: 221-222.
- [4] WU R, CHEN W W, QIN R A, et al. Study on teratogenic effects of *Diospyros kaki* extract in SD rats [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*(中药药理与临床), 2012, 28(2): 92-95.
- [5] YAN P K, LI S H, DUAN C W, et al. Study of slug capsule on teratogenicity and mutagenicity [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2009, (26): 975-978.
- [6] ZHAO M, CHEN B F, TAN J B, et al. Determining the optimal teratogenic dosage of aspirin in Sprague Dawley rats [J]. *Carcinog Teratog Mutag*(癌变·畸变·突变), 2010, 22(6): 469-472.
- [7] 中国药典. 一部 [S]. 2010: 12-13.
- [8] 中国中药协会. 国家基本药物临床应用指南: 中成药[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 8-9.
- [9] LI Y N, GE Z Z, GAO Y J, et al. Role of Slit2/Robo1 in the pathogenesis of gastrointestinal vascular malformation and the effect of thalidomide on their expression [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2013, 30(4): 357-360.

收稿日期: 2014-09-30

## 黄芪对注射性坐骨神经损伤致大鼠肌萎缩的改善作用

穆静霞<sup>1</sup>, 杨胜波<sup>2\*</sup> (1. 凤冈县中医院药剂科, 贵州 遵义 564200; 2. 遵义医学院解剖教研室, 贵州 遵义 563003)

**摘要:** 目的 探索黄芪改善注射性坐骨神经损伤大鼠肌萎缩的机制。方法 SD 大鼠 24 只, ♀♂不拘, 随机分为 4 组: 正常组、模型组、阴性对照组和黄芪干预组。采用天平称量肌重, HE 染色后 Leica 图像分析仪测量肌纤维横切面积, VG 染色法观察腓骨长肌内胶原纤维的变化。结果 青霉素注射坐骨神经后 2 周, 与正常组相比, 模型组大鼠跛行, 腓骨长肌肌块缩小, 色泽变暗, 肌重减轻, 肌纤维横切面积减小, 胶原纤维明显增生; 阴性对照组进一步加重; 黄芪干预组上述变化明显好转。结论 黄芪能通过减少大鼠腓骨长肌胶原纤维增生, 改善青霉素注射坐骨神经损伤引起的肌萎缩。

**关键词:** 黄芪; 注射性坐骨神经损伤; 胶原纤维; 肌萎缩

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2015)04-0407-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.04.005

基金项目: 贵州省科技计划项目[黔科合 SY 字(2012)3120]

作者简介: 穆静霞, 女, 主管中药师 Tel: (0851)25221007  
Tel: (0851)28609621 E-mail: yangshengbo8205486@163.com

E-mail: gzfgmjx@163.com \*通信作者: 杨胜波, 男, 硕士, 教授, 硕

# Improvement of Huangqi Injection on Muscle Atrophy Induced by Sciatic Nerve Injection Injury in Rats

MU Jingxia<sup>1</sup>, YANG Shengbo<sup>2\*</sup> (1. Pharmacy of Fenggang Chinese Medicine Hospital, Zunyi 564200, China; 2. Department of Anatomy, Zunyi Medical College, Zunyi 563003, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To explore the mechanisms that Huangqi injection improve the muscle atrophy induced by sciatic nerve injection injury in rats. **METHODS** Twenty four SD rats, either ♀ or ♂, were randomly divided into four groups named the normal group, the model group, the negative control group, and the Huangqi injection group. Muscle weights were weighed by scales, the cross-sectional area of muscle fibers were measured under Leica image analyzer after HE staining, the collagen fibers in muscoli peroneus longus were observed by VG staining. **RESULTS** After sciatic nerve penicillin injection 2 weeks, compared with the normal group, the model group rats walked with a limp, muscoli peroneus longus shrank and lightened, muscle color darkened, cross-sectional area of muscle fibers decreased, proliferation of collagen fibers was obvious. However, the above changes were far worse in the negative control group and significantly improved in the Huangqi injection group. **CONCLUSION** Huangqi injection can improve sciatic nerve penicillin injection-induced muscle atrophy by decreasing the hyperplasia of collagen fiber in peroneus longus muscle in SD rats.

**KEY WORDS:** Huangqi; sciatic nerve injection injury; collagen fibers; muscular atrophy

医源性注射性神经损伤中 80%是坐骨神经, 尤以发展中国家儿童受损较多<sup>[1]</sup>。许多药物具有神经毒性, 一旦累及神经, 将发生神经轴索变性, 神经纤维脱髓鞘, 骨骼肌萎缩<sup>[2-3]</sup>。笔者过去的研究表明, 注射性损伤家兔坐骨神经后, 针刺腧穴可通过抑制肌内胶原纤维的增生而改善胫神经支配的腓肠肌和腓深神经支配的胫骨前肌萎缩<sup>[4-5]</sup>。然而, 近年来有资料表明, 中药黄芪能通过抑制大鼠肌内的萎缩因子表达和细胞凋亡达到延缓失神经性肌萎缩<sup>[6-7]</sup>。因此, 本研究观察注射性损伤大鼠坐骨神经后, 黄芪对腓浅神经支配的腓骨长肌内的胶原纤维的影响, 旨在初步探索黄芪改善骨骼肌萎缩的机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

青霉素钠[哈药集团制药总厂, 国药准字 H23021439, 批号: A051134107, 规格: 0.48 g (0.8 MU)]; 黄芪注射液(黑龙江珍宝岛药业股份有限公司, 国药准字 Z23020781, 批号: A20140301, 规格: 10 支×2 mL : 4 g); MCS-7200 图像分析仪(德国 Leica 公司)。

### 1.2 动物与分组

SPF 级 SD 大鼠 24 只, ♀♂不拘, 体质量 (200±50)g, 购自遵义医学院动物实验中心, 实验动物合格证号: SYXK(黔)2011-003。分 4 组, 每组 6 只: 正常组、模型组、阴性对照组和黄芪干预组。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 建立注射性坐骨神经损伤动物模型与药物

干预 除正常组外, 其余各组 10%水合氯醛 0.4 mL·(100 g)<sup>-1</sup> 大鼠腹腔麻醉, 手术显露梨状肌下孔下方的坐骨神经干, 将 200 000 U 青霉素钠 0.5 mL 注射于神经干偏外侧的外膜下, 无菌缝合, 单笼饲养, 自由进食与饮水。青霉素注射 2 周后, 对阴性对照组大鼠腹腔注射 2 mL·d<sup>-1</sup> 生理盐水 2 周, 黄芪干预组大鼠按 20 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> (按每支黄芪注射液 2 mL 含生药 4 g 计算)腹腔注射黄芪注射液 2 周。

**1.3.2 大体观察与肌重称量** 观察大鼠步态和小腿外形, 颈部脱臼处死, 解剖暴露腓骨长肌, 观察肌块大小, 色泽变化; 取下肌块, 称量肌湿重, 固定于 10%甲醛中待用。

**1.3.3 肌纤维的 HE 染色和横切面积测量** 切取部分肌块, 常规脱水、浸蜡和包埋, 横切, 片厚 5 μm, 脱蜡, 水洗, 染色, 分色, 脱水, 透明, 封片后, 图像分析仪测量肌纤维横切面积。每例测 5 张切片, 每张切片随机测 10 个视野, 每视野面积为 500 μm×500 μm。

**1.3.4 胶原纤维的 VG 染色** 切取部分肌块, 常规脱水、石蜡包埋; 组织纵切片, 厚 5 μm; 脱蜡至水洗; Weigert 苏木素液染 5~10 min, 自来水洗 3 min; 据染色的深浅用 0.5%盐酸酒精分化, 自来水洗至变蓝, 蒸馏水洗 3 min; VG 液染 1~5 min; 倾去染液, 95%酒精分化和脱水; 无水酒精脱水; 二甲苯透明; 封片。

### 1.4 统计学处理

使用 SPSS 13.0 软件包处理数据, 比较用 q 检验, P<0.05 有统计学差异。

## 2 结果

### 2.1 大体观察与肌重变化

造模 2 周后, 正常组行走正常, 腓骨长肌光滑、红润。与正常组比较, 模型组大鼠侧后肢跛行, 小腿外观变细, 呈马蹄内翻足, 腓骨长肌萎缩、粗糙、苍白; 给药 2 周后, 与正常组比较, 阴性对照组上述表现无恢复迹象反而更严重; 黄芪干预组大鼠跛行的步态好转, 萎缩的腓骨长肌肌块大小和色泽明显恢复。正常组大鼠腓骨长肌肌重为  $(0.91 \pm 0.15)g$ ; 与正常组比较, 模型组下降 23.11% ( $P < 0.05$ ), 阴性对照组下降了 34.63% ( $P < 0.05$ ), 黄芪干预组恢复了 95.57% ( $P < 0.05$ ), 结果见表 1。

### 2.2 HE 染色所见和肌纤维横切面积测量

给药 2 周后, 光镜下可见正常组腓骨长肌横切片内肌纤维横切面积为  $(600.26 \pm 28.18)\mu m^2$ , 肌纤维横断面呈棋盘格式分布, 胞质着为红色, 细胞核呈蓝色。与正常组比较, 模型组肌纤维萎缩变细, 横切面积减小了 23.99%; 阴性对照组肌纤维横切面积减少了 35.10%; 黄芪干预组肌纤维横切面积恢复了 93.92%, 组间比较  $P < 0.05$ , 结果见表 1。

表 1 腓骨长肌肌重和肌纤维横切面积变化 ( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

Tab. 1 The changes of muscle weight and cross-section area of musculus peroneus longus

组别	肌重/g	肌纤维横切面积/ $\mu m^2$
正常组	$0.92 \pm 0.13$	$600.26 \pm 28.18$
模型组	$0.71 \pm 0.11^{1)}$	$456.15 \pm 22.33^{1)}$
阴性对照组	$0.60 \pm 0.15^{1)}$	$389.56 \pm 19.72^{1)}$
黄芪干预组	$0.88 \pm 0.12^{1)}$	$563.78 \pm 27.07^{1)}$

注: 与正常组比较,  $^{1)}P < 0.05$ 。

Note: Compared with the normal group,  $^{1)}P < 0.05$ .

### 2.3 VG 染色所见

正常腓骨长肌内胶原纤维着为红色, 数量较少, 肌纤维胞质呈黄色, 细胞核呈黑色。造模 2 周后, 模型组肌内可见胶原纤维明显增生, 交织成网; 给药 2 周后, 阴性对照组肌内增生的胶原纤维更多更粗, 满布视野; 黄芪干预组, 肌内胶原纤维数量明显减少。结果见图 1。

## 3 讨论

注射性坐骨神经损伤是一种可以避免的因臀部肌肉注射导致的医源性损伤。由于药物臀部注射位置不当, 可造成因药物的神经毒性或注射针刺断神经纤维直接造成神经损伤, 或者局部包块对神经的压迫致使肌萎缩而残疾。后者多累及腓

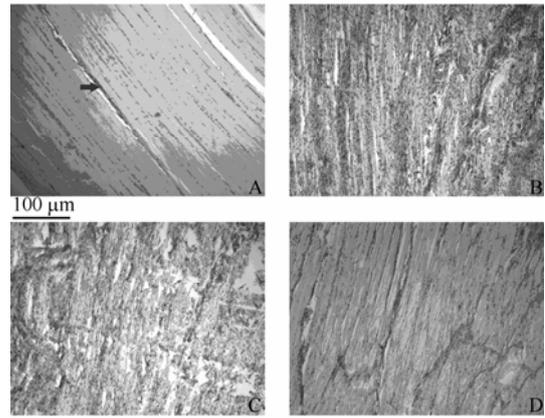


图 1 VG 染色法示腓骨长肌内胶原纤维变化

A-正常组; B-模型组; C-阴性对照组; D-黄芪干预组; 箭头指向红色的胶原纤维。

Fig. 1 VG staining showing the changes of collagen fibers in peroneus longus muscle

A-normal group; B-model group; C-negative control group; D-Huangqi injection group; The arrow points to the red collagen fibers.

总神经, 因注射时常在臀部外上象限进行<sup>[3]</sup>。由于之前笔者曾对胫神经和腓深神经支配的肌肉做过研究, 因此, 本研究拟在制作注射性坐骨神经损伤模型时, 故意将药物注射到坐骨神经干偏外侧, 其目的是重点损伤腓总神经, 然后对腓浅神经支配的肌肉进行研究。

骨骼肌萎缩的研究中常用肌重和肌纤维大小的改变来评判骨骼肌是否萎缩<sup>[8]</sup>。笔者的实验结果表明: 坐骨神经干偏外侧注射青霉素后 2 周, 模型组大鼠注射侧后肢跛行, 小腿外观变细, 呈马蹄内翻足, 腓骨长肌萎缩较正常组变小, 由光滑变粗糙, 由红润变得苍白; 黄芪干预 2 周后大鼠跛行的步态好转, 萎缩的腓骨长肌肌块大小和色泽明显恢复; 而阴性对照组大鼠上述表现不但没有好转, 反而加重; 与正常组比较, 模型组腓骨长肌的肌重和肌纤维横切面积减少。与正常组比较, 给药 2 周, 阴性对照组腓骨长肌的肌重和肌纤维横切面积进一步减少; 黄芪干预组腓骨长肌肌重和肌纤维横切面积明显恢复。这提示笔者的萎缩模型制作是成功的, 且黄芪具有明显的改善肌萎缩的效果。

骨骼肌失神经后, 肌毛细血管退化速度大于纤维丧失速度<sup>[9]</sup>, 成倍上升的胶原合成酶活性导致大量胶原增生聚集, 阻止失神经肌肉的神经再支配, 进而骨骼肌萎缩<sup>[10]</sup>。笔者的结果表明, 青霉素注射坐骨神经后, 模型组肌内可见胶原纤维明显增生, 交织成网; 给药后, 阴性对照组肌内胶

原纤维增生更严重, 满布视野; 黄芪干预组肌内胶原纤维数量明显比模型组减少。这提示可以通过抑制胶原纤维的增生, 改善注射性坐骨神经损伤所致的肌萎缩。笔者认为, 由于青霉素对坐骨神经的毒性作用, 腓骨长肌内毛细血管退化, 胶原纤维明显增多, 增生的胶原纤维阻隔了肌纤维的血液供应, 导致骨骼肌萎缩。由于黄芪具有生肌、长期用药无明显不良反应的优势, 是延缓周围神经损伤后骨骼肌萎缩的理想药物<sup>[6-7]</sup>, 黄芪干预后, 肌内胶原纤维减少, 胶原阻隔逐渐被毛细血管穿越, 血供改善, 肌萎缩逐渐恢复。

## REFERENCES

- [1] FATUNDE O J, FAMILUSI J B. Injection-induced sciatic nerve injury in Nigerian children [J]. Cent Afr J Med, 2001, 47(2): 35-38.
- [2] KIM H J, PARK S H. Sciatic nerve injection injury [J]. J Int Med Res, 2014, 42(4): 887-897.
- [3] SEVIM S, KALEGASI H. Sciatic injection injuries in adults: is dipyron a foe to nerve? [J]. Acta Neurol Belg, 2009, 109(3): 210-213.
- [4] LU Y X, ZHANG X Z, YANG S B. After sciatic nerve

- injection injury, effect of collagen fiber and NADH-TR of tibialis anterior of rabbit by acupuncture treatment [J]. Anat Res(解剖学研究), 2012, 34(2): 129-134.
- [5] YANG S B, LONG S, YI X D, et al. Effects of acupuncture on gastrocnemius muscle after sciatic nerve injection injury in rabbits [J]. Acta Acad Med Zunyi(遵义医学院学报), 2014, 37(1): 62-66.
- [6] SHI H W, ZHANG H Y, LI X Y, et al. Protective effects of Astragali Radix on cell apoptosis in denervated skeletal muscle in rat [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2011, 28(11): 984-987.
- [7] LI W B, LIANG B S, LIANG X. Delaying denervated skeletal muscle atrophy by Astragali Radix via the NF-kappaB/MuRF1 pathway [J]. Chin J Hand Surg (中华手外科杂志), 2010, 26(1): 48-51.
- [8] CAI D, FRANTZ J D, TAWA N E JR, et al. IKKbeta/NF-kappaB activation causes severe muscle wasting in mice [J]. Cell, 2004, 119(2): 285-298.
- [9] LEHTO M, DUANCE V C, RESTALL D. Collagen and fibronectin in a healing skeletal muscle injury. An immunohistochemical study of the effects of physical activity on repair of the injured gastrocnemius muscle in the rat [J]. J Bone Joint Surg Br, 1985, 67(5): 820-828.
- [10] JIANG G L, GU Y D, ZHANG G L. The effects of clenbuterol on intramuscular collagen metabolism in denervated muscle [J]. Chin J Repair Reconstr Surg(中国修复重建外科杂志), 1998, 12(1): 48-51.

收稿日期: 2014-07-31

## 荧光光谱法研究顺铂对表柔比星与人血白蛋白结合作用的影响

梁晶, 吴继禹, 杜晓翔, 林观样(温州医科大学附属第一医院, 浙江 温州 325000)

**摘要:** 目的 研究顺铂对表柔比星与人血清白蛋白(HSA)结合作用的影响。方法 通过荧光光谱法研究顺铂和表柔比星对 HSA 的荧光猝灭光谱, 同步荧光光谱。由 Lineweaver-Burk 双倒数作图法确定反应的解离常数, 根据热力学方程讨论两者间主要的作用力类型。结果 荧光猝灭光谱显示, 顺铂和表柔比星与 HSA 都有荧光猝灭作用。顺铂、表柔比星对 HSA 的猝灭过程为静态猝灭。表柔比星与 HSA 的结合点数为 1, 主要作用力为疏水作用力。顺铂不影响表柔比星对 HSA 的内源荧光猝灭作用, 但能增加表柔比星与 HSA 的结合常数( $K_A$ )。结论 顺铂不影响表柔比星的血药浓度, 但能增加表柔比星与 HSA 的结合力。

**关键词:** 顺铂; 表柔比星; 人血白蛋白; 荧光猝灭

中图分类号: R962 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2015)04-0410-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.04.006

## Fluorescent Spectrometry Study of Influence of Cisplatin in Conjugation Between Epirubicin and Human Serum Albumin

LIANG Jing, WU Jiyu, DU Xiaoxiang, LIN Guanyang(*The First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China*)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To investigate the interaction between cisplatin and epirubicin in conjugation of human serum

基金项目: 温州市科技计划项目(S20100050)

作者简介: 梁晶, 女, 主管药师 Tel: (0577)888069551 E-mail: 734302823@qq.com