

电针对庆大霉素耳中毒豚鼠耳蜗内琥珀酸脱氢酶的影响^{*}

康颂建¹ 曾兆麟² 史献君¹ 李亚鲁¹

内容提要 **目的:**观察电针对豚鼠庆大霉素(gentamicin, GE)耳中毒引起的耳蜗琥珀酸脱氢酶(succinate dehydrogenase, SDH)变化的影响。**方法:**将动物随机分成3组:GE组动物肌肉注射GE 80mg·kg⁻¹·d⁻¹,连续注射20天;针刺组肌肉注射GE同GE组,每天电针双侧听宫、翳风、肾俞穴1次,持续刺激15min;对照组动物不做任何处理。以脑干听觉诱发电位(BAEP)、SDH组织化学检测为观察指标。**结果:**对照组BAEP和SDH两项指标无明显变化;GE组BAEP反应阈明显升高,SDH显色变淡或消失,毛细胞受损显著;针刺组BAEP反应阈升高幅度和SDH变化及毛细胞损害程度均明显低于GE组。**结论:**针刺能减轻GE耳毒性,对SDH有保护作用。

关键词 电针疗法 庆大霉素 耳毒性 琥珀酸脱氢酶

Effect of Electroacupuncture on Succinate Dehydrogenase of Gentamicin Induced Ototoxic Cochlear Hair Cells in Guinea Pigs Kang Songjian, Zeng Zhaolin, Shi Xianjun, et al *Department of Physiology, Taishan Medical College, Shandong (271000)*

Objective: To observe the effect of electroacupuncture (EA) on succinate dehydrogenase (SDH) of gentamicin (GE) induced ototoxic cochlear hair cells. **Methods:** Preyer's reflex normal guinea pigs were selected and divided randomly into three groups: GE group, EA group, control group. Brainstem auditory evoked potential (BAEP) and SDH in the cochlear hair cells were taken as indexes. In the animals of GE group GE was alone injected intramuscularly 80 mg·kg⁻¹·d⁻¹ for 20 days, while in the animals of EA group GE and additional EA was applied once a day on Tinggong (SI 19), Yifeng (SJ 17) and Shenshu (UB 23) points. EA lasted for 15 minutes. **Results:** In the GE group BAEP reaction threshold rose markedly, while that rose slightly in EA group. The difference was significant between two groups ($P < 0.05$). The change of SDH within cochlear hair cells and degree of hair cells injury in the EA group were lower than those in GE group. **Conclusions:** EA therapy could relieve GE ototoxicity, protect SDH in cochlear hair cells and might be a possible mechanism of action of EA.

Key words electroacupuncture therapy, gentamicin, ototoxicity, succinate dehydrogenase

针刺是中医治疗耳聋的传统疗法,长期以来已在这方面进行大量的临床治疗工作;对药物性耳聋的防治作用研究亦有不少报道^[1,2]。氨基糖甙类抗生素(AmAn)是具有耳毒性副作用的药物之一,其耳毒性机制学说较多,对内耳酶的影响是耳毒性作用机制之一。琥珀酸脱氢酶(succinate dehydrogenase, SDH)是细胞能量代谢的重要酶类,该酶的活性变化可反映细胞的能量代谢状况^[3,4]。本实验以SDH等为指标,观察针刺对庆大霉素(gentamicin, GE)耳中毒豚鼠耳蜗

内SDH变化的影响。

材料与方法

1 动物及分组 选用耳廓反射正常,日龄45~65天,平均53天,体重250~350g的健康杂色豚鼠,雌雄兼用(泰安市生物制品研究所动物园提供);随机分成3组:GE组12只,肌肉注射GE 80mg·kg⁻¹·d⁻¹,每天1次,连续注射20天;针刺组14只,肌肉注射GE同GE组,每天针刺1次;对照组5只,不做任何处理。

针刺动物处于清醒状态,用固定装置固定。针刺穴位参照文献报道的实验动物解剖学与人体穴位相应部位^[2],取双侧听宫、翳风、肾俞穴,用电针刺激

^{*}国家自然科学基金资助课题(No. 39470869)

1. 泰山医学院生理教研室(山东泰安 271000); 2. 上海中医药大学

(G6085-1 型电针治疗仪, 青岛华声仪器厂生产), 采用连续刺激, 9 次/s, 强度以针刺部位颤动, 动物能忍受为宜, 持续刺激 15min。

2 脑干听觉诱发电位 (brainstem auditory evoked potential, BAEP) 反应阈检测 用药前和用药后隔 5 天测 1 次 BAEP 反应阈。用固定装置固定豚鼠, 用 YJC-A 型诱发电位测试仪 (泰山医学院高科技开发公司产) 测定清醒状态下的 BAEP 反应阈。记录电极置于颅顶部, 参考电极和接地电极分别置于同侧和对侧乳突部。用短声 (输入波宽为 0.1ms 的方波) 刺激, 频率 10 次/s; 放大器通频带 80Hz~3kHz, 放大 2000 倍, BAEP 反应阈值是以 IV 波刚出现时的短声刺激强度的 μPa 值 (L_p) 为准。

3 组织化学检测 测定 SDH 采用硝基蓝四氮盐法, 染色程序改变为适合于耳蜗组织显色。作用液配方^[5]: 0.2mol/L 琥珀酸 15ml, 0.2mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 为 7.4) 15ml, 0.1% 硝基蓝四氮盐 15ml, 上述各液用时混合即可。

染色程序: 麻醉动物后处死, 立即取耳蜗, 迅速在蜗尖部钻孔, 并将蜗窗和前庭窗开放。用 0℃ 60% 丙酮液灌流固定, 用双蒸馏水灌洗后, 再灌流作用液, 然后将耳蜗置于 37℃ 作用液中温育 1~2h。将温育后的耳蜗放于 10% 磷酸缓冲中性甲醛溶液中固定 8h 以上, 然后做耳蜗铺片, 光镜下观察。各组动物 SDH 的测定都是在严格控制的相同条件下进行的。

结 果

1 BAEP 反应阈值 对照组动物 BAEP 反应阈无明显改变; GE 组和针刺组动物在用药后 BAEP 反应阈都发生不同程度的升高, GE 组升高显著, 针刺组升高幅度较小, 两组间比较有显著性差异 ($P < 0.05$)。见附表。

附表 各组用药前后 BAEP 反应
阈值比较 [$\mu\text{Pa} (L_p)$, $\bar{x} \pm s$]

组别	耳数	BAEP 反应阈值
GE	24	药前 272.24 $\pm$ 77.64
		药后 17315.76 $\pm$ 43044.08
针刺	28	药前 268.27 $\pm$ 74.32
		药后 601.72 $\pm$ 279.21 *
对照	10	266.69 $\pm$ 67.91

注: 与 GE 组药后比较, * $P < 0.05$

2 组织化学检测 光镜下可观察到正常豚鼠耳蜗铺片 SDH 组化反应呈紫蓝色, 在毛细胞内染色分布均匀, 并显示毛细胞整齐排列; 在 GE 耳中毒豚鼠耳蜗

铺片 SDH 显色明显减弱, 甚至消失, 毛细胞明显损害; 其变化特点与文献报道的 GE 耳中毒耳蜗毛细胞损害特点一致, 即以耳蜗外毛细胞受损重, SDH 变化显著, 内毛细胞无明显变化; 以底回毛细胞损害重, 顶回较轻; 二排外毛细胞以外两排损害重。SDH 的组化反应变化与毛细胞损害程度呈平行。GE 组动物耳蜗内 SDH 变化显著, 显色明显减弱, 针刺组动物 SDH 变化较小, 如 6 号豚鼠耳蜗底回主要是外排外毛细胞 SDH 大部分显色消失, 中、内排外毛细胞无明显改变, 毛细胞损害程度较轻; 两组差别显著。

讨 论

氨基糖甙类抗生素是有耳毒性副作用的药物, 其耳毒性作用机制国内外均有报道, 学说较多, 对内耳酶的影响是耳毒性机制之一。已有报道 GE、卡那霉素均能引起耳蜗内 SDH 活性减弱或消失^[1~4]。SDH 是催化柠檬酸循环中琥珀酸与延胡酸之间反应的酶, 它存在于线粒体中, 是线粒体酶 (亦称呼吸酶) 的标志酶^[6]。因此, 呼吸酶的活性改变反映了线粒体的功能变化。Kaku 等认为氨基糖甙类抗生素耳中毒的早期病变是抑制毛细胞内呼吸酶。丁大连等认为氨基糖甙类抗生素的耳毒性机理可能是特异性抑制毛细胞内线粒体的蛋白质合成, 并由此造成细胞内能量供应障碍, 影响细胞内各种需能功能, 最终导致毛细胞的损害^[3]。我们的实验结果与文献报道基本一致, SDH 显色反应变化与 GE 对耳蜗毛细胞的损害程度呈平行关系, 亦表明由于 SDH 活性减弱或消失, 其组织化学反应减弱或中止, 出现显色变淡或消失, 由此而致毛细胞供能障碍, 导致毛细胞出现不同程度损害。

临床上针刺治疗耳聋的有效程度报道不同, 一般认为对轻度及早期耳毒性抗生素引起的耳聋治疗效果较好^[7]。本实验结果表明, 针刺动物的听官、翳风和肾俞等穴位能增强内耳功能, 减轻 GE 对耳蜗毛细胞的损害作用。亦提示针刺减轻 GE 耳毒性作用与维持 SDH 的活性有关。针刺除能提高大脑听觉中枢的兴奋性外, 不能排除针刺对内耳病理过程的康复作用^[1]。由于针刺维持 SDH 的活性, 保证了毛细胞内线粒体的能量代谢过程的进行, 给细胞供给足够的能量, 防止了毛细胞的损害。这可能是针刺能减轻 GE 耳毒性的机制之一。

参 考 文 献

1. 史美育, 曾兆麟, 施建蓉, 等. 针刺对豚鼠皮层听觉中枢兴奋性的影响. 上海针灸杂志 1997; 16(3): 29—31.

2. 张毅, 董建勇. 针刺对豚鼠链霉素致内耳损伤后期耳廓反射阈值 ATPase、ACP 活性的影响. 甘肃中医 1995; 8(2): 39—40.
3. 丁大连, 罗德峰, 郭毓卿, 等. 氨基糖甙类抗生素耳毒性机制探讨. 中华耳鼻咽喉科杂志 1991; 26(3): 154—155.
4. 丁大连, 朱曦, 陈海明, 等. 豚鼠卡那霉素耳中毒耳蜗内酸性磷酸酶的研究. 中华耳鼻咽喉科杂志 1986; 21(2): 121—122.

5. 杜卓民主编. 实用组织学技术. 第 1 版. 北京: 人民卫生出版社, 1982: 322.
6. 武内忠男, 小川和朗主编. 朱逢春译. 新酶组织学. 北京: 人民卫生出版社, 1983: 62.
7. 郑魁山, 孟昭敏, 郑俊江, 等. 针刺治疗链霉素中毒性耳聋 40 例临床观察. 中国针灸 1989; 9(3): 15.

(收稿: 1997-11-12 修回: 1998-02-10)

当归注射液治疗糖尿病周围神经病变 41 例

吴开松 徐献群 范幼筠 孙苏欣 刘芳

我们于 1996 年 8 月~1997 年 10 月, 应用当归注射液治疗糖尿病周围神经病变 41 例, 取得较满意疗效, 现报告如下。

临床资料 全部病例均为我科住院患者, 共 69 例, 均符合糖尿病周围神经病变诊断标准。随机分为两组: 观察组男 17 例, 女 24 例; 年龄 44~72 岁, 平均 57.3 岁; 糖尿病病程为 8 个月~12 年, 平均 8.7 年; 周围神经病变病程为 10 个月~7.2 年, 平均 4.2 年; 空腹血糖平均值为 6.74mmol/L。对照组男 13 例, 女 15 例; 年龄 43~71 岁, 平均 54.8 岁; 糖尿病病程 7 个月~12.5 年, 平均 7.8 年; 周围神经病变病程为 9 个月~7.8 年, 平均 3.7 年; 空腹血糖平均值为 6.67mmol/L。

治疗方法 观察组 41 例患者均采用 25% 当归注射液(我院制药厂生产, 批号 960527, 主要含当归新碱、阿魏酸、蒿苯内酯、丁二酸等)250ml 静脉注射, 每日 1 次, 疗程为 20 天。对照组 28 例, 给维生素 B₁ 和维生素 B₁₂ 各 100mg 肌肉注射, 每天 1 次, 疗程为 20 天。两组

均采用达美康片(法国施维雅药厂, 批号 960428)20~40mg 口服, 每天 2 次和(或)普通胰岛素(徐州生物化学制药厂, 批号 960514)每天 18~46u, 分 3 次皮下注射控制血糖。观察两组患者治疗前后肌电图、肝肾功能、血糖、血脂、感觉异常(麻木、疼痛、蚁走感、似踩海绵感)、浅感觉、膝反射、跟腱反射。

统计学处理: 采用 *t* 检验和 χ^2 检验。

结 果

1 疗效判断标准 显效: 疼痛全部消失, 神经传导速度提高 5m/s; 有效: 疼痛明显减轻, 神经传导速度提高 3m/s; 无效: 疼痛无变化, 神经传导速度无改善。

2 总疗效 经两个疗程治疗后, 观察组显效 32 例, 有效 6 例, 无效 3 例, 总有效率 92.7%; 对照组显效 7 例, 有效 8 例, 无效 13 例, 总有效率为 53.6%。两组比较有显著性差异($P < 0.01$)。

3 两组治疗前后血糖及肌电图变化 见附表。治疗后, 观察组神经传导速度有明显改善($P < 0.01$), 而

附表 两组治疗前后血糖及肌电图变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	空腹血糖	餐后 2h 血糖	右正中运动 N	右尺 N 运动 N	左腓运动 N	左胫运动 N
		(mmol/L)		(m/s)			
观察 治疗前	41	6.74 ± 2.15	9.35 ± 2.74	45.72 ± 6.38	46.79 ± 5.92	39.48 ± 4.63	40.78 ± 6.54
治疗后	41	5.92 ± 1.78	8.17 ± 2.28	49.76 ± 6.27*	55.45 ± 5.26*	46.72 ± 3.48*	46.52 ± 7.93*
对照 治疗前	28	6.67 ± 1.93	9.18 ± 2.60	45.69 ± 5.74	47.92 ± 4.37	38.79 ± 5.40	41.26 ± 5.31
治疗后	28	5.83 ± 1.77	8.21 ± 2.57	46.21 ± 7.24	48.08 ± 6.31	39.17 ± 5.03	42.65 ± 5.49

注: 与本组治疗前比较, * $P < 0.01$

对照组则改善不明显, 两组血糖治疗前后无显著性差异。治疗前后肝肾功能, 出血、凝血时间均无显著变化。

讨 论 糖尿病周围神经病变是糖尿病常见并发症之一, 近年研究认为其与代谢紊乱及微血管病变有关, 另外, 糖尿病患者存在明显的血液流变学异常, 表现为血粘度增高, 红细胞变形能力减弱, 使周围神经营养

发生障碍。中医认为本病为消渴日久, 气阴两虚, 血行不畅, 脉络瘀滞, 不通则痛。因此, 我们在纠正糖代谢紊乱的基础上采用活血化瘀、通络止痛的治疗原则, 用当归注射液治疗本病。临床结果表明: 当归对糖尿病周围神经病变有明显疗效, 能解除或缓解疼痛及麻木等症状, 并能明显地改善神经传导速度。这可能与当归有补血、活血、调经止痛、降脂、降低血液粘度及提高红细胞变形能力有关。

(收稿: 1997-11-12 修回: 1998-01-16)