

电针对兔钝器伤后骨骼肌中转化生长因子- β_1 和波形蛋白表达的影响*

徐前威¹ 王荣国¹ 王云亭^{2,3} 肖 诚² 刘守尧¹

摘要

目的:通过电针足三里和阿是穴,研究急性骨骼肌钝器伤后,电针治疗对转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)和波形蛋白表达的影响,探讨电针抑制纤维化和促进肌纤维再生的机制。

方法:将60只新西兰兔随机分为模型组(A组)、阿是穴组(B组)、足三里组(C组)、足三里+阿是穴组(D组)4组,每组15只。电针组在造模后24h治疗,隔日1次。于造模后第7、14、28天取材,运用两步法免疫组化检测TGF- β_1 和波形蛋白。

结果:与A组相比,各电针组于骨骼肌损伤后(第7天和第28天)TGF- β_1 表达显著下降($P<0.05$),D组表达低于B组和C组,B组低于C组($P<0.05$),第14天时,B组与A组无明显差异($P>0.05$)。波形蛋白在A组中少量表达,且随着时间延长呈下降趋势,而电针组中在第14天呈上升趋势,B组和C组波形蛋白表达低于D组($P<0.05$),但仍高于A组($P<0.05$),B组波形蛋白表达低于C组,但差异没有显著性($P>0.05$)。

结论:电针有抑制骨骼肌纤维化、促进骨骼肌再生的作用,可能与抑制TGF- β_1 和提高波形蛋白的表达水平有关;电针刺激阿是穴或足三里均有利于受损骨骼肌的修复且两穴具有协同作用。

关键词 电针;钝器伤;纤维化;再生;转化生长因子- β_1 ;波形蛋白

中图分类号:R722.14,R493 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2014)-05-0421-06

Effects of electroacupuncture on expressions of transforming growth factor- β_1 and vimentin in skeletal muscle after blunt contusion in rabbits/XU Qianwei,WANG Rongguo,WANG Yunting,et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2014, 29(5): 421—426

Abstract

Objective:To explore the effects of electroacupuncture on expressions of transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1) and vimentin and the mechanism of inhibiting fibrosis and promoting muscle fibers regeneration after acute blunt contusion in rabbits.

Method:Sixty rabbits were randomly divided into model group (group A,n=15),Ashixue group (group B,n=15),Zusanli(ST36) group(group C,n=15),Ashixue+Zusanli group(group D,n=15).Electroacupuncture groups were treated within 24h after contusion once every other day. Immunohistochemical method was used to detect TGF- β_1 and vimentin on the 7th d, 14th d and 28th d after modelling.

Result:As extension of time after injury, the expressions of TGF- β_1 in electroacupuncture groups declined significantly compared with group A. The expressions of TGF- β_1 in group D was the lowest and had differences with other electroacupuncture groups($P<0.05$). The level of vimentin in group A showed a downward trend over time. But the trend was contrary on the day 14 and showed upward trend among three treatment groups. The results showed that group D had a potency of increasing the expression of vimentin and the expression

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2014.05.005

*基金项目:国家自然科学基金资助项目(81173343)

1 北京中医药大学,北京,100029;2 中日友好医院;3 通讯作者

作者简介:徐前威,男,硕士研究生;收稿日期:2013-12-31

was lower in group B and group C($P<0.05$), but which was still significantly higher than group A($P<0.05$). Expressions of vimentin in group B and group C had no statistical significance.

Conclusion: The mechanism of electroacupuncture on inhibiting the skeletal muscle fibrosis and promoting skeletal muscle regeneration may be related to inhibiting the expression of TGF- β_1 and raising the expression of vimentin; electroacupuncture at Ashixue or Zusanli acupoints are all beneficial for repairing the damaged skeletal muscle, and the effects of these two acupoints are synergic.

Author's address Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100029

Key word electroacupuncture; blunt injury; fibrosis; regeneration; transforming growth factor- β_1 ; vimentin

骨骼肌损伤是临床常见的运动损伤,而这类损伤绝大多数属于是牵拉伤或钝挫伤,而损伤后常由于肌纤维化和肌纤维不完全再生,导致受损骨骼肌失去部分结构或功能,妨碍机体的正常运行,因此,寻求既能抑制纤维化又能促进受损骨骼肌再生的治疗方式十分的有必要。研究表明,电针刺激足三里穴和阿是穴能有效减轻骨骼肌纤维化及促进肌纤维再生,但其具体机制还不甚清楚^[1],转化生长因子 β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1)是加重纤维化的重要调节因子之一^[2-3],波形蛋白(vimentin)是肌纤维再生的标志蛋白之一^[4]。那么电针治疗对二者是否有影响,进而改善骨骼肌纤维化,促进骨骼肌再生?为此,本研究选取足三里和阿是穴并分析二穴在此方面的穴位特异性,探讨电针抑制纤维化和促进肌纤维再生的相关作用机制,为电针治疗急性慢性骨骼肌损伤提供理论支持和临床依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

健康成年新西兰兔60只(雌雄不限),体重 2.0 ± 0.2 kg,北京海淀兴旺动物养殖[SCXK(京)2011-0010]提供,于中国中医科学院基础理论研究所动物室普通环境饲养[SYXK(京)2010-0032]。将新西兰兔随机分为模型组(A组)、阿是穴组(B组)、足三里组(C组)、足三里+阿是穴组(D组)4组,每组15只。

主要仪器和试剂:韩氏穴位神经刺激仪(HANS200E,南京济生)、骨骼肌急性钝器伤砸伤器械(中国中医科学院望京医院)、一次性针灸针(0.25×25mm,中研太和)、图像采集显微镜(ZEISS.Scope AI,Carl Zeiss,德国)、图像采集数码相机(AxioCamMRc5,Carl Zeiss,德国)、图像采集软件(AxioVs40.V4.8.2.0,Carl Zeiss Vision,德国)。一抗:

TGF- β_1 兔多克隆抗体(lot:10911,美国SANTA CRUZ);vimentin鼠单克隆抗体(lot:E2611,美国SANTA CRUZ);二抗:SV-002-兔IgG(lot:07B21CJ,武汉博士德);SV-001-鼠IgG(lot:06J26CJ,武汉博士德)。

1.2 动物模型建立及干预方法

参照参考文献^[1-5],3%戊巴比妥钠30mg/kg耳缘静脉麻醉动物,侧卧位(右侧在上)固定于造模台,右后肢于伸膝、踝背屈约90°位固定,显示腓肠肌。在腓肠肌距离跟骨后缘80mm处标记打击位置,用砸伤器械造成一次性钝器伤,打击面积为1cm²,能量为9.75J;确认皮肤完整,胫腓骨无骨折后放回笼中自由活动,所有动物在术前、术后的喂养、室温及其他管理条件完全一致。通过解剖和病理证实急性重度腓肠肌钝器伤模型制作成功^[5]。

创面常规处理采用外用25g/L安尔碘,1次/d,保持干燥避免感染。电针各组在创面常规处理的基础上,于造模后24h开始电针治疗。用兔固定器固定动物后,将双后肢伸出,取左后肢“足三里(ST36)”穴(参照《中国兽医针灸学》),主针刺入穴位区15mm,辅针在旁开5mm处刺入皮下。阿是穴分别取在距打击部位远、近端各10mm处,针刺入穴位区15mm,针刺后接电针仪。电针参数:频率2Hz,0.4mA,时间15min,隔日1次,直到取材前一天结束治疗。所有电极同步刺激,参数一致。A组进行模拟固定,但不进行电针刺激。

1.3 取材及标本处理

分别于骨骼肌损伤后第7、14、28天三个时间点从A组、B组、C组、D组中各取5只动物处死。取腓肠肌约10mm×10mm×3mm,模型组健侧腓肠肌作为正常组,标本立即放入4%多聚甲醛中,固定3d,脱水、透明、浸蜡、包埋,所有标本按照免疫组化技术要

求取材。

1.4 TGF- β_1 、vimentin表达水平测定

两步法免疫组化检测:切片脱蜡至水,3% H_2O_2 ,室温10min,蒸馏水洗2min $\times$ 3次,滴加封闭液,室温10min,除去多余液体,不洗,滴加一抗(TGF- β_1 、vimentin,浓度1:50),4℃过夜,0.01MPBS洗2min $\times$ 3次,滴加聚合HRP标记抗兔IgG(SV-002),37℃孵育30min,0.01MPBS洗2min $\times$ 3次,DAB显色(取1ml蒸馏水,加试剂盒中A、B、C试剂各1滴,混匀后加至切片,室温显色10min),蒸馏水洗涤,脱水,透明,封片。

1.5 实验结果分析

免疫组化切片分别在物镜 $\times$ 20倍下随机选取6个视野采集图像,输入Image-Pro Plus Version 6.0图像分析软件,胞浆染成棕黄色为阳性,分析其平均光密度值(optical density, OD),其代表了阳性区域TGF- β_1 或vimentin含量,即TGF- β_1 或vimentin表达的程度,它的升高和降低反映了在不同的病理阶段TGF- β_1 或vimentin表达程度的改变,从而间接反映了肌肉纤维化和再生的变化情况。

1.6 统计学分析

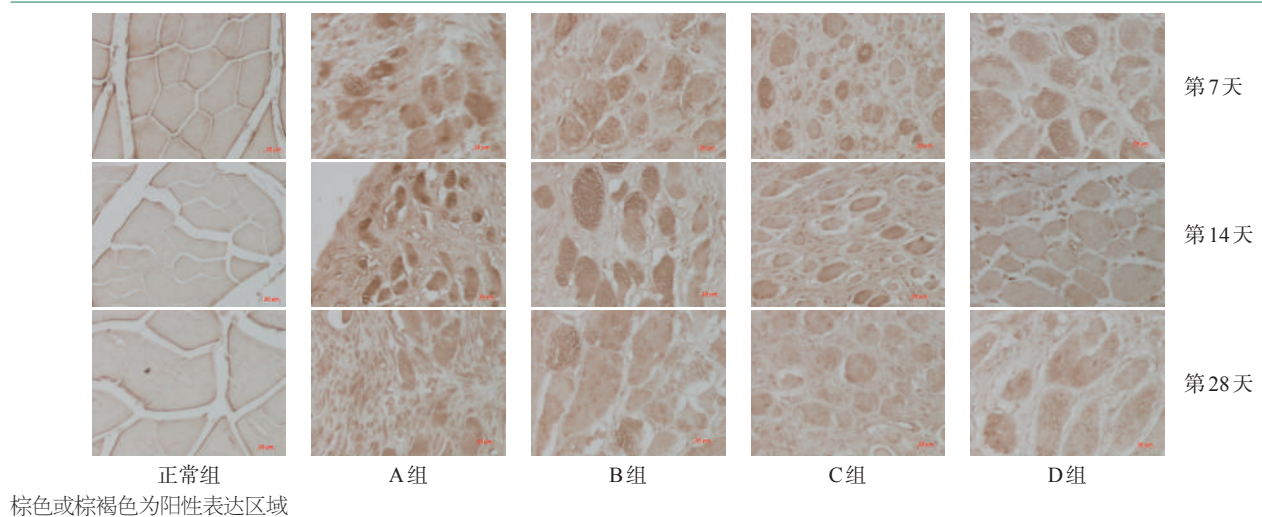
实验数据采用SPSS16.0软件进行统计学分析,结果以均数 $\pm$ 标准差表示,组间采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 不同时间点各组腓肠肌TGF- β_1 表达结果

见表1,图1。骨骼肌损伤后第7、14、28天,正常组细胞质内未发现棕色或者棕褐色颗粒,表明未显示TGF- β_1 阳性表达。A组TGF- β_1 表达均最多,染色最深,D组中TGF- β_1 的表达最少,颜色最浅;电针组与模型组相比:第14天时,B组与A组无明显差异性($P > 0.05$),C组、D组与A组比较有显著差异性($P < 0.05$),第7天、第28天时,B组及C组TGF- β_1 的表达均显著高于同期D组($P < 0.05$),而又低于A组($P < 0.05$);电针各组相比:骨骼肌损伤后第7、14、28天,B组TGF- β_1 的表达均高于同期C组($P < 0.05$);且B组和C组TGF- β_1 的表达均高于同期D组($P < 0.05$);各组间比较差异有显著性意义($P < 0.05$)。

图1 不同时间点各组腓肠肌TGF- β_1 免疫组化染色结果



棕色或棕褐色为阳性表达区域

表1 不同时间点各组腓肠肌TGF- β_1 染色平均光密度值 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	第7天	第14天	第28天
A组	15	0.144 $\pm$ 0.004	0.125 $\pm$ 0.003	0.122 $\pm$ 0.002
B组	15	0.141 $\pm$ 0.003 ^①	0.122 $\pm$ 0.002 ^①	0.109 $\pm$ 0.003 ^①
C组	15	0.137 $\pm$ 0.004 ^{①②③}	0.112 $\pm$ 0.005 ^{①②③}	0.101 $\pm$ 0.001 ^{①②③}
D组	15	0.132 $\pm$ 0.003 ^{①②}	0.104 $\pm$ 0.001 ^{①②}	0.094 $\pm$ 0.004 ^{①②}

①与A组比较 $P < 0.05$;②与B组比较 $P < 0.05$;③与D组比较 $P < 0.05$ 。

2.2 不同时间点各组腓肠肌vimentin表达结果

见表2,图2。骨骼肌损伤后第7、14、28天,正常对照组细胞质内未发现棕色或者棕褐色颗粒,表明未显示vimentin阳性表达。A组中仅有少量vimentin表达,且随着时间延长呈下降趋势,散在分布在肌纤维中,染色较浅。而各电针组vimentin表达在第14天呈上升趋势,其中D组中vimentin的表达最高;电针组

与模型组相比:骨骼肌损伤后第7、14、28天,B组、C组、D组 vimentin 表达强度明显高于A组,差异具有显著性($P<0.05$);电针各组相比:骨骼肌损伤后第7、

14、28天,B组和C组的 vimentin 表达强度明显低于D组,差异具有显著性($P<0.05$);第14天时,B组和C组 vimentin 表达强度差异无显著性意义($P>0.05$)。

图2 不同时间点各组腓肠肌 vimentin 免疫组化染色结果

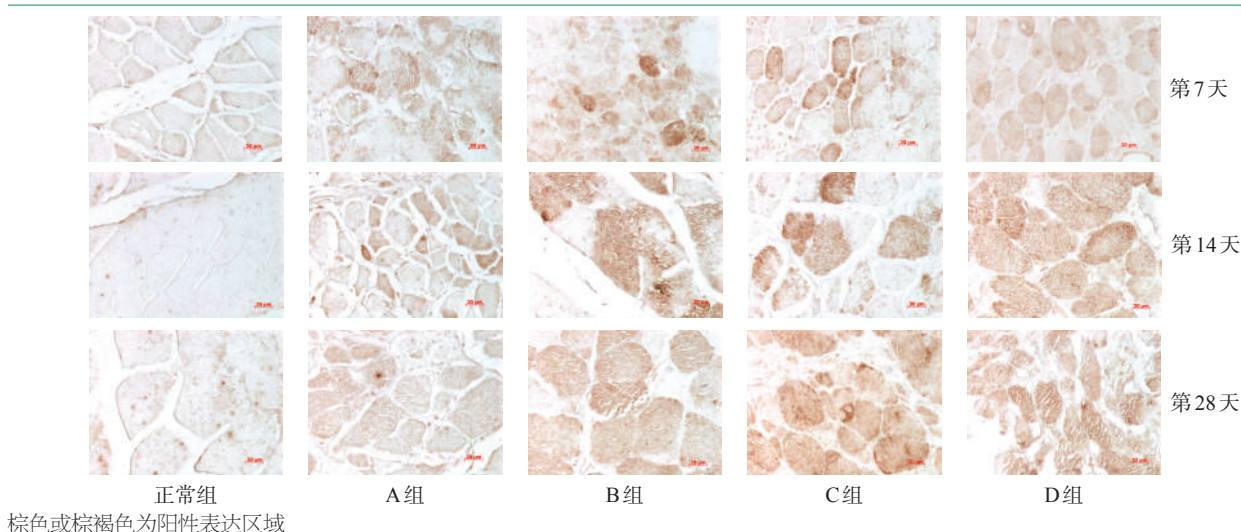


表2 不同时间点各组家兔腓肠肌 vimentin 的平均光密度值 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	第7天	第14天	第28天
A组	15	0.0464±0.0138	0.0624±0.0156	0.0436±0.0103
B组	15	0.1204±0.0323 ^{①③}	0.1236±0.0364 ^{①③}	0.0932±0.0328 ^{①③}
C组	15	0.1195±0.0423 ^{①②③}	0.1284±0.0286 ^{①②③}	0.090±0.0278 ^{①②③}
D组	15	0.1176±0.0293 ^①	0.1474±0.0064 ^①	0.105±0.0136 ^①

①与A组比较 $P<0.05$;②与B组比较 $P>0.05$;③与D组比较 $P<0.05$

3 讨论

3.1 电针足三里、阿是穴对急性骨骼肌钝器伤修复的影响

足三里穴是足阳明胃经的合穴,具有调理脾胃、补中益气、通经活络等之功效,被历代医家广泛用于各种急慢性疾病的治疗中。萨喆燕等^[6]研究认为电针足三里能促进深部组织微循环血流灌注量。李军汉等^[7]认为低频电针足三里能降低血清丙二醛(malondialdehyde,MDA),升高超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase,SOD),能有效防治运动性疲劳。胥阳等^[8]发现电针足三里能明显改善严重烫伤后大鼠的凝血功能状态,降低血浆促炎性细胞因子水平,该效应可能是通过激活含 $\alpha 7$ 亚基N型胆碱能受体介导的胆碱能抗炎通路实现的。

中医认为,经络系统在生理上具有沟通上下内外,将气血营养输布至全身的作用;病理上又是病邪由表入里的传注途径;而阿是穴能通过经络系统与脏腑组织相联系,即是治病最佳刺激点,也是疾病的反映点,被广泛应用于疾病的诊断和治疗。李彭涛等^[9]发现针刺能显著改善家兔超负荷运动后损伤骨骼肌超微结构的变化,同时还能迅速降低因运动后增高的骨骼肌细胞内钙离子的浓度。卢鼎厚^[10]通过人体研究指出,斜刺阿是穴能有效治疗运动员和非运动员的急性肌肉损伤,其作用机制是针刺通过加强收缩蛋白的组装、合成而促进肌肉的结构和功能恢复。王瑞元^[11]认为针刺能明显下调大负荷运动后骨骼肌肌动蛋白(α -action)的基因表达以及促进骨骼肌肌球蛋白重链基因表达的恢复,进而促进肌肉结构和功能的恢复。李俊华等^[12]认为针刺阿是穴能促进肌卫星细胞的增殖并促使活跃期提前出现,促进肌肉再生,加速损伤愈合的进程。

综上,我们可以认为足三里和阿是穴在治疗骨骼肌损伤方面,具有独特优势。为此,我们选择二穴联用,以观察与二者单独使用时,在预防骨骼肌纤维化和促进骨骼肌再生的区别。

3.2 TGF- β_1 和 vimentin 的表达与骨骼肌损伤后修

复的关系

骨骼肌的再生与修复是包括骨骼肌细胞再生与细胞外间质再生的非常复杂的过程,传统上,将骨骼肌损伤与修复的过程分为损伤期、修复期、组织塑型期3个阶段^[13]。损伤期通常在损伤后的最初几天,主要表现有肌肉坏死、退化,中性粒细胞浸润,巨噬细胞游弋到损伤处吞噬坏死组织;修复期通常发生在受损后的第7—10天,其高峰通常发生在受伤后第2周左右,在受伤后第3—4周下降,在这一阶段,主要发生肌组织和细胞外基质的再生;组织塑型期通常在受伤后第2—3周开始,主要的病理变化是:再生骨骼肌成熟,瘢痕组织机化。一旦瘢痕形成,肌组织的完全修复将不可能发生。

TGF- β s是多肽超级家族的成员,在细胞调控、血管生成、伤口愈合等方面发挥着关键作用。其中TGF- β_1 是强大的致纤维化因子,通过传导成纤维细胞信号增加蛋白基质的合成,减少基质降解酶类的产生,几乎参与纤维变性疾病每一步组织纤维化的病理过程^[14—15]。研究表明TGF- β_1 在诱导受损骨骼肌纤维化过程中发挥了关键作用,能显著启动纤维化和诱导肌源细胞向肌成纤维细胞的分化、及通过各种方式促进病理状态下组织和器官中细胞间质的形成^[2—3, 16—17]。本研究发现14d后电针各组TGF- β_1 表达水平明显低于模型组,这与Li Y等^[3]的研究相似,他们认为骨骼肌损伤后第10—14天与骨骼肌纤维化密切相关,此阶段应用抗纤维化药物能使受损骨骼肌的组织病理明显改善。通常认为骨骼肌损伤后第21—28天是组织塑形期,若此期TGF- β_1 过度表达,将进一步导致细胞间质胶原纤维的增生,引发纤维化和瘢痕组织的形成^[13]。有研究认为阻断TGF- β_1 及其受体、或者阻断其分子通道能有效延缓或减少受损骨骼肌的纤维化^[18],实验研究表明电针能抑制p-Smad2/3蛋白的表达^[5]。而p-Smad2/3又是纤维化相关因子,能诱导细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的聚集^[19]。研究表明Smad3是TGF- β /Smad信号通路的关键调节因子,且与TGF- β_1 和Smad2/3的表达密切相关^[20]。本研究表明,28d后电针各组TGF- β_1 表达显著低于模型组,尽管模型组TGF- β_1 表达也在下降。因此可以认为电针抑制骨骼肌纤维化和促进肌纤维再生,可能与其能显著降

低TGF- β_1 的表达有关。

vimentin是中等纤维的主要成分之一,在细胞骨架稳定性和完整性中发挥重要着作用。许多组织可同时表达2种或2种以上的中间丝蛋白,而其中之一是vimentin,说明vimentin在细胞生长中具有重要作用,且在成人组织中,vimentin在与其他中间丝蛋白共同表达,常与细胞的增殖活动有关^[21]。也有研究^[4]发现vimentin在注射蛇毒后第12小时激活的肌卫星细胞中存在,在肌肉再生的早期大量表达,认为vimentin在肌细胞再生早期及肌卫星细胞的激活过程中起到极为重要的作用,是观察肌肉再生最好的指标。本实验中,vimentin在受损骨骼肌修复过程中的变化规律如下:骨骼肌损伤7d后,各组vimentin含量均升高,但电针组表达水平明显高于模型组,说明电针治疗后,促进了损伤局部肌纤维再生的数量和愈合速度的提升,使其尽可能形成足够的新生肌纤维填充损伤局部。骨骼肌损伤损伤后第14天后,模型组vimentin已开始下降,而电针组的vimentin的表达则呈不同程度的上升,这说明模型组在14d这个再生的高峰时段,骨骼肌中vimentin已然开始下降,而电针治疗可促使其延长表达,继续再生。这与Lihua He等^[22]的结果是相符的,他们认为vimentin的表达高峰是在损伤后3d,而在损伤后第7—14天随着结蛋白的增加,vimentin的表达则开始下降。第28天时各组vimentin表达均有明显下降,但电针组中vimentin的表达均高于7d中的模型组。因此本研究认为电针能不断的刺激肌卫星细胞激活与增殖,使部分损伤后的骨骼肌始终处于再生的状态,可以和ECM纤维化产生竞争,以减少其过度表达进而抑制瘢痕的形成。

本研究发现,足三里+阿是穴组TGF- β_1 在骨骼肌损伤后都明显低于阿是穴组及足三里组,而vimentin表达足三里+阿是穴组又强于阿是穴组及足三里组,表明电针刺激阿是穴和足三里在抑制受损骨骼肌纤维化和促进其再生方面具有协同作用。

4 结论

电针抑制骨骼肌纤维化、促进骨骼肌再生的作用,可能与抑制TGF- β_1 和提高vimentin的表达水平有关;电针刺激阿是穴或足三里均有利于损伤骨骼

肌的修复,但二者合用优于其单独使用,两穴具有协同作用。

参考文献

- [1] 王荣国,王云亭,肖诚,等.不同电流强度电针对兔骨骼肌钝器伤后改善微循环、抗纤维化和抗氧化能力的作用[J].中国康复医学杂志,2012,5(27):400—405.
- [2] Jinhong Zhu,Yong Li,Wei Shen.Relationships between Transforming Growth Factor- β 1,Myostatin, and Decorin implanations for skeletal muscle fibrosis[J].J Biol Chem,2007,282(35):25852—25863.
- [3] Li Y,Foster W,Deasy BM.Transforming growth factor-beta 1 induces the differentiation of myogenic cells into fibrotic cells in injured skeletal muscle:a key event in muscle fibrogenesis[J].Am J Pathol,2004,164(3):1007—1019.
- [4] Vater R,Michael J C,John BH.The expression of vimentin in satellite cells of regenerating skeletal muscle in vivo[J]. Histochem J,1994,26(12):916—928.
- [5] Wang R, Luo D, Xiao C,et al. The time course effects of electroacupuncture on promoting skeletal muscle regeneration and inhibiting excessive fibrosis after contusion in rabbits [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013;2013: 869398. doi: 10.1155/2013/869398. Epub 2013 Aug 6.
- [6] 萨喆燕,潘晓华,许金森,等.针刺对胃经及其左右两侧旁开对照点微循环血流灌注量的影响[J].福建中医药大学学报,2010,20(5):6—7.
- [7] 李军汉,黄雷.不同频率电针足三里防治大鼠运动性疲劳的实验研究[J].四川体育科学,2011,12(4):41—44.
- [8] 胥阳,宋学敏,李建国,等.电针足三里对严重烫伤大鼠凝血功能和血浆促炎性细胞因子的影响[J]. 武汉大学学报(医学版), 2012,33(4):453—456.
- [9] 李澎涛,于鸿玲,康锁彬,等. 针刺对超负荷运动家兔骨骼肌超微结构影响[J].上海针灸杂志,1994,6(3):127—128.
- [10] 卢鼎厚,张智廉,段昌平,等.阿是穴斜刺治疗肌肉损伤的研究 [J].上海针灸杂志,2000,19(增刊):65—67.
- [11] 王瑞元,苑玉和,冯炜权,等.一次力竭性离心运动后大鼠骨骼肌 α -actin 基因表达及针刺对其影响[J].北京体育大学学报, 2002,25(2):189—190.
- [12] 李俊华,王正珍,王军力,等.针刺对急性骨骼肌钝挫伤大鼠肌卫星细胞增殖的影响[J].中国体育科技,2012,48(4):137—140.
- [13] KM Chan,Freddie Fu,et al.刘亚波等译骨科运动医学的最新观点与争论[M].北京:北京医科大学出版社.2002.371—374.
- [14] Lee TY, Chin GS, Kim WJ. Expression of transforming growth factor beta 1, 2, and 3 proteins in keloids[J].Ann Plast Surg,1999,43(2):179—184.
- [15] Colwell AS,Yun R,Krummel TM.Keratinocytes modulate fetal and postnatal fibroblast transforming growth factor-beta and Smad expression in coculture[J]. Plast Reconstr Surg, 2007,119(5):1440—1445.
- [16] Jinhong Zhu,Yong Li,Aiping Lu.Follistatin improves skeletal muscle Healing after injury and disease through an interaction with muscle regeneration, angiogenesis, and fibrosis [J].Am J Pathol,2011,179(2):915—930.
- [17] Ghaly A, Marsh DR. Ischaemia-reperfusion modulates inflammation and fibrosis of skeletal muscle after contusion injury[J].Int J Exp Pathol,2010,91(3):244—255.
- [18] Meng F, Chen J, Liu J,et al.Role of transforming growth factor- β 1 in the process of fibrosis of denervated skeletal muscle[J].J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2011,31(1):77—82.
- [19] Zhu X, Topouzis S, Liang LF,et al.Stotish,Myostatin signaling through Smad 2,Smad 3 and Smad4 is regulated by the inhibitory Smad7 by a negative feedback mechanism[J]. Cytokine,2004,26(6):262—272.
- [20] Wang W,Huang XR,Ellery Canlas,et al.Essential Role of Smad3 in Angiotensin II- Induced Vascular Fibrosis[J].Circ Res,2006,98:1032—1039.
- [21] Akar H,Sarac A,Konuralp C,et al.Comprison of histopathologic effects of carnitine and ascorabic acid on reperfusion injury[J].Eur J Cardiothorac Surg,2001,19:500—506.
- [22] He L,Li G,Feng X,et al. Effect of energy compound on skeletal muscle strain injury and regeneration in rats[J].Ind Health,2008,46(5):506—512.