

# 骨质疏松症与退行性关节炎 相关性实验研究

## ——模型鼠血清碱性磷酸酶与酸性磷酸酶含量测定

魏泉洁\* 蒋位庄 张晓铀\*\*

中国中医研究院骨伤科研究所 (北京 100700)

**【摘要】** 目的 观察各组模型动物体内碱性磷酸酶 (ALP) 与酸性磷酸酶 (TRAP) 水平变化, 探讨骨质疏松症与退行性关节炎的相互关系。方法 70 只初生雌性大白鼠分为 4 组 (正常对照组 A、去卵巢组 B、双后肢组 C、去卵巢双后肢组 D)。造模后, 于生长的不同阶段取血, 用生物试剂盒测定。结果 ALP 水平在各时间段 B、C、D 组均显著高于 A 组, B、C 组均显著低于 D 组; TRAP 水平在各时间段 B 组均显著高于 A、C、D 组, C 组低于 A 组。结论 负重加大可刺激成骨细胞活性, 抑制破骨细胞活性, 促进骨形成; 雌激素减少可同时增强成骨细胞与破骨细胞活性, 只是破骨作用的增强要高于成骨的增强, 最终表现为骨丢失。

**【关键词】** 骨质疏松 骨关节炎 雌激素 负重

**Experimental Study on the Relationship between Osteoporosis and Osteoarthritis——The Test of Serum ALP and TRAP Content in Model Rats** Wei Quanjie, Jiang Weizhuang, Zhang Xiaoyou Institute of Orthopaedics and Traumatology, China Academy of TCM (Beijing 100700)

**【Abstract】** **Objective** To investigate the changes of the level of alkaline phosphatase (ALP) and acid phosphatase (TRAP) in various groups of model rats and to explore the relationship between osteoporosis and osteoarthritis. **Methods** 70 new born female Wistar rats were divided into four groups: group A (the control), group B (the ovariectomized), group C (the bipedal group by amputation of the forelimbs), and group D (the ovariectomized bipedal group). At different times of postnatal growth, the blood samples were taken out to test the content of serum ALP and TRAP. **Results** The ALP level of group B, C and D was significantly higher than that of group A, and that of group B and C was significantly lower than that of group D. The TRAP level of group B was significantly higher than that of group A, C and D, and that of group C was lower than that of group A. **Conclusion** Weight-bearing can stimulate the activity of osteoblast and inhibit the activity of osteoclast, so that it can promote the bone formation. The deficiency of estrogen may increase the activity of both osteoblast and osteoclast, but the increase of osteoclast activity is higher than that of osteoblast, so that the final manifestation is the bone loss.

**【Key words】** Osteoporosis Osteoarthritis Estrogen Weight-bearing

原发性骨质疏松症和退行性关节炎均为发生于老年人的常见病、多发病。关于二者相互关系的问题, 国外已有大量临床调查报道<sup>[1-9]</sup>, 观点不甚一致, 而中医的“肾主骨”理论将两病的发病皆归因于肾虚<sup>[10-16]</sup>。目前, 国内外尚缺乏有关的实验研究。本课题意在通过对动物模型的建立与观察, 客观地反映出二者在发病过程中的相关性, 从而进一步探讨二者的发病机理, 力求为指导临床诊治提供一个新思路。

### 材料与方 法

1. 模型制作与实验分组: 初生雌性 Wistar 大白鼠 70 只, 随机分为 4 组: 空白对照组 20 只 (A), 去卵巢

组 15 只 (B), 双后肢组 20 只 (C), 去卵巢双后肢组 15 只 (D)。于大鼠出生后 7~8 天, 将 C、D 两组双侧前肢及尾部结扎后切除, 以模拟人类的直立姿势, 加大脊柱与后肢的负担, 促其退变, 3 个月后可形成典型的骨关节炎模型<sup>[1]</sup>。待鼠龄 13 周 (性成熟) 时, 将 B、D 两组自背侧入路切除双侧卵巢, 3 个月后可形成典型的骨质疏松症模型。

2. 取材: 用摘眼球法每只动物取血 2ml, 自然凝固后, 常规离心, 得 1ml 血清。取 0.5ml 血清, 封口, 为 -20 保存, 余 0.5ml 加入 20μl 酸性保护液保存, 用于磷酸酶的测定。

\* 研究生, 现在中医古籍出版社

3. 测定:

(1) ALP 测定方法: 用中生公司提供的 ALP 试剂盒测试, 意大利 SABA 全自动生化分析仪。方法: 对硝基苯磷酸盐法。试剂主要成分: 试剂 I 对硝基苯磷酸二钠, 试剂 II 2-氨基-2-甲基-1-丙醇缓冲液, MgCl<sub>2</sub>。将试剂 II 以一定量加入试剂 I 中, 轻摇, 并倒置几次, 完全溶解, 即为工作液。在室温下放置 10min 即可用。操作: 在全自动生化分析仪上设定: 波长-405nm (400~420nm), 方式-光吸收 (动力法), 比色杯光程-1.0cm, 吸光度范围 0~2A, 反应温度 30~37。加入试剂体积 2.50ml, 样品体积 0.05ml

(2) TRAP 测定方法: 用北京化工厂临床试剂分厂提供的 TRAP 试剂盒测试。仪器: AUCUV-9100 型紫外分光光度计。方法: 对硝基苯磷酸二钠法 试剂主要成分: 基质缓冲液, 对硝基苯磷酸二钠, 0.5mol/L NaOH 和对硝基酚贮存液。操作: a 将对硝基苯磷酸二钠倒入溶解液中溶解, 制成缓冲底物溶解液, 在 2~8 保存 1 个月。b 取两支试管 (样品管、空白管) 分别加入 0.5ml 缓冲底物溶解液, 在 37 恒温水浴 5min。c 取其中一支 (样品管) 加入血清 0.1ml, 完全混合后放回 37 恒温水浴中保温。d 30min 后, 取出, 分别加入 0.1mol/L NaOH 2.5ml e 在空白管中加入血清 0.1ml f 混合后在 410nm 处比色, 以蒸馏水零, 测

定后读数减去空白管读数, 查曲线表。

实验结果

1. 不同时期各组大鼠血清 ALP 比较, 见表 1。

本结果的分析涉及多样本均数间的两两比较, 即多重比较, 故需在方差分析的基础上进一步作 *q* 检验。经统计学处理后表明: (1) A 与 B 组间, 在鼠龄 18~23 周时, 均有显著差异 ( $P < 0.01$ ), 在 28 周时有差异 ( $P < 0.05$ )。 (2) A 与 C 组间, 在鼠龄 13 周时有极显著差异 ( $P < 0.001$ ), 18 周与 28 周时有显著差异 ( $P < 0.01$ ), 23 周时有差异 ( $P < 0.05$ )。 (3) A 与 D 组间, 在鼠龄 18、23 与 28 周时, 均有显著差异 ( $P < 0.01$ )。 (4) B 与 C 组间, 在鼠龄 28 周时, 有差异 ( $P < 0.05$ )。 (5) B 与 D 组间, 在鼠龄 18 周时, 有差异 ( $P < 0.05$ ), 23 周与 28 周时, 均有显著差异 ( $P < 0.01$ )。 (6) C 与 D 组间, 在鼠龄 18、23 与 28 周时, 均有显著差异 ( $P < 0.01$ )。

从不同年龄段之间 ALP 值的变化趋势看, 13 周时正值青年期, ALP 值高, 成骨活跃, 此后进入成年期, ALP 逐渐下降, 成骨作用减弱。但在 28 周时 ALP 再次升高, 是进入成骨的又一高峰期还是实验误差所致, 有待进一步研究。

2 不同时期各组大鼠血清 TARP 比较, 见表 2。

表 1 不同时期各组大鼠血清 ALP 比较 (单位: U/L) ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数 (n)	动物 年 龄 (周)				
		13	18	23	28	
空白组	A	5	321.6 ± 108.7	257.4 ± 46.4	212.8 ± 29.6	274.0 ± 48.2
去卵巢组	B	5	- -	339.2 ± 104.8	274.4 ± 87.6	346.6 ± 63.1
直立组	C	5	401.2 ± 101.0	317.8 ± 78.7	245.0 ± 57.7	311.2 ± 63.1
去卵巢直立组	D	5	- -	374.2 ± 39.5	356.2 ± 55.0	411.8 ± 100.1

表 2 不同时期各组大鼠血清 TARP 比较 (B-L 单位) ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数 (n)	动物 年 龄 (周)				
		13	18	23	28	
空白组	A	5	3.316 ± 0.117	1.894 ± 0.145	2.046 ± 0.206	2.186 ± 0.198
去卵巢组	B	5	- -	2.278 ± 0.188	2.370 ± 0.204	2.940 ± 0.279
直立组	C	5	2.896 ± 0.169	1.656 ± 0.142	1.858 ± 0.177	1.824 ± 0.090
去卵巢直立组	D	5	- -	1.640 ± 0.051	1.816 ± 0.134	2.302 ± 0.200

经方差分析表明: (1) A 与 B 组间, 在鼠龄 18 与 28 周时, 均有显著差异 ( $P < 0.01$ ), 在 23 周时有差异 ( $P < 0.05$ )。 (2) A 与 C 组间, 在鼠龄 18 周与 28 周时有差异 ( $P < 0.05$ )。 (3) A 与 D 组间, 在鼠龄 18 周时, 有差异 ( $P < 0.05$ )。 (4) B 与 C 组间, 在

鼠龄 18、23 与 28 周时, 均有显著差异 ( $P < 0.01$ )。 (5) B 与 D 组间, 在鼠龄 18、23 与 28 周时, 均有显著差异 ( $P < 0.01$ )。 (6) C 与 D 组间, 在鼠龄 28 周时, 有显著差异 ( $P < 0.01$ )。

从不同年龄段之间 TRAP 值的变化趋势看, 13 周

时正值青年期, TRAP 值高, 破骨活跃, 此期代谢旺盛, 此后下降到较低水平, 后又随增龄而上升, 骨质退化吸收。

### 讨论

1. 血清中碱性磷酸酶(ALP)主要来源于骨组织与肝脏, 当肝功能正常时, 总ALP水平可代表骨代谢的变化(主要是成骨作用)。骨ALP来自成骨细胞, 其多少直接反映成骨细胞的活性, 是骨形成的指标。

成骨活跃时, 成骨细胞分泌大量ALP, 一部分参与骨的钙化, 即在骨钙化区水解磷脂, 释放的磷酸根与钙以沉淀的方式沉积在胶原骨架上, 发生骨矿化作用; 另一部分释放入血, 使血中酶活性增强。

本实验用动物为纯种Wistar健康大鼠, 可排除肝功能异常, 故取其血清测得的ALP值, 可直接反映实验鼠体内的成骨情况。又因指标取自血液, 其代表的是全身骨代谢水平, 而非骨组织的局部变化。

从本实验结果看, 自出生后13周始, 双后肢大鼠的成骨活性已显著高于正常对照组, 此后这种差异一直存在。这说明负重加大对骨骼的形成有促进作用, 这和我们在临床上观察到的肥胖者和运动员骨密度普遍偏高很少发生骨质疏松症的现象相符。表明机体的结构总是向更适应功能需要的方向发生改变。结果还可看出, 18周的大鼠, 即在去卵巢后5周, 已表现出显著的成骨活性增强。同种负重条件下, 去卵巢组ALP值显著高于对照组(B组高于A组, D组高于C组)临床观察到成年人的ALP值有随年龄的增加而增加的趋势。尤其是妇女绝经后可增加40%。与我们的实验结果相合。可见, 雌激素的减少, 并非像某些学者提出的抑制成骨活性, 而是刺激了成骨作用。其具体机制尚不明了, 也许是对破骨作用过强一种代偿性反应? 抑或由于某种机制使参与骨钙化的ALP减少, 转而大量释放入血, 使血ALP值升高? 有一点是可以肯定的, 就是绝经后骨质疏松症是由于骨更新率增加所致, 即骨吸收与骨形成作用同时增强, 但由于骨吸收相对大于骨形成, 骨量不能维持平衡而逐渐丢失, 表现于骨组织上即为骨量减少。

2. 酸性磷酸酶 (TRAP) 是一种化学作用同ALP类似的酶, 只是在酸性环境下发挥作用。它主要存在于骨、前列腺、红细胞、血小板和脾脏中。排除了其他系统疾病后, 血清中TRAP的变化则主要反映骨的代谢情况, 尤其是骨的吸收作用。骨性TRAP由破骨细胞释放, 在骨吸收时对骨质的溶解起重要作用。当骨吸收活跃时, 反映在血中酶活性明显上升。

从本实验结果看, 双后肢大鼠的TRAP值低于正

常对照组。这在13周时已有趋势, 到18周时则有显著性差异。说明负重对破骨细胞活性有抑制作用。从而预防骨吸收。可见持续负重是从刺激骨形成、抑制骨吸收两方面影响着骨的代谢活动, 促进骨生成, 使骨骼向着更加致密有序的方向发展。

不难看出, 去卵巢对TRAP的影响是显著的。去卵巢5周后, B组TRAP值已显著高于其他各组, 表现其破骨活性已明显升高。值得注意的是D组TRAP值的变化, 同样是切除卵巢后5周, D组TRAP值与C组比并无显著差异, 均显著低于A组直至去卵巢15周后(鼠龄28W)D组的TRAP值方显著高于C组, 但与正常对照组的A组仍无明显差异。这再次证明负重对破骨细胞的抑制作用, 也就是说, 高强度负重一方面可使机体在年轻时储存多量的骨质, 另一方面可减缓机体在年老后尤其是妇女绝经后骨质的吸收。

总之, 对各模型组不同阶段血清中ALP与TRAP含量的测定结果表明: 负重与雌激素水平对骨质的代谢起着重要的作用, 负重加大时, 促进成骨, 抑制破骨, 有利于骨质的形成; 雌激素的减少, 可同时增强成骨与破骨活性, 而后者作用又显著强于前者, 结果导致骨吸收。

### 参考文献

1. 陈宝兴, 丁继华. 双后肢大白鼠的骨关节病-实验研究. 中华骨科杂志, 1987, 7 (4): 296
2. Healey JH, V igrora VJ, Lane JM. The coexistence and characteristics of osteoarthritis and osteoporosis. J Bone Joint Surg, 1985, 67A: 586
3. Hart DJ, Mootoosamy I, Doyle DV, et al. The relationship between osteoarthritis and osteoporosis in the general population: The Chinford Study. Ann Rheum Dis, 1994, 53: 158
4. Hordon LD, Stewart SP, Troughton PR, et al. The relationship between osteoarthritis and bone mass. Brit J Rheum, 1993, 32: 1059- 61
5. Verstraeten A, Van Emen H, Haghebaert G, et al. Osteoarthritis retards the development of osteoporosis. Observation of the coexistence of osteoarthritis and osteoporosis. Clin Orthop, 1991, 264: 169
6. John H, Healey MD, Vincent J, et al. The coexistence and characteristics of osteoarthritis and osteoporosis. J Bone Joint Surg, 1985, 67A: 586
7. 戴力扬. 骨关节炎的临床与流行病学调查. 中华内科杂志, 1995, 35 (2): 88
8. Dequeker J. The relationship between osteoporosis and osteoarthritis. Clin Rheum Dis, 1985, 11: 271
9. Dequeker J, Mohan S, Finkelmann RD, et al. Generalized osteoarthritis associated with increased insulin-like growth fac-

- tors types I and II and transforming growth factor  $\beta$  in cortical bone from the iliac crest: possible mechanism of increased bone density and protection against osteoporosis. *Arthr Rheum*, 1993, 36: 1702
10. 梁立. 补肾中药治疗骨质疏松临床观察. *中医杂志*, 1992, 33 (1): 36
11. 黄艳红, 叶雪清. 补肾中药片对绝经期妇女骨质疏松代谢的影响. *中国中西医结合杂志*, 1993, 13 (9): 522
12. 沈霖. 青娥丸加味治疗老年性骨质疏松症 52 例观察. *湖北中医杂志*, 1994, 16 (3): 6
13. 张文泰. 骨痿灵治疗中老年骨质疏松症 150 例. *中国骨伤*, 1993, 6 (6): 36
14. 马在山. 中西医结合治疗跟骨骨刺疼痛 300 例疗效观察. *中西医结合杂志*, 1985, 5 (7): 432
15. 曾冲. 抗骨增生饮治疗腰椎骨质增生 54 例. *成都中医学院学报*, 1986, 6 (4): 31
16. 马淑玉. 7212 膏治疗骨增生的临床探讨: 附 100 例临床分析. *山西中医*, 1986, 2 (3): 16

(收稿: 1999- 01- 30)

## 经皮牵引修复陈旧性跟腱断裂 2 例

陈达山

安徽省芜湖市中医院 (241000)

1991 年 3 月~ 1994 年 4 月我院收治 2 例院外已处理过的陈旧性跟腱断裂, 经作经皮跟腱牵引手术修复成功, 现予介绍。

例 1, 王×, 男, 25 岁, 工人。因右跟部被铁器砍伤, 在当地医院清创缝合伤口, 10 天拆线, 下地行走, 自觉小腿无力, 行走困难, 3 周后转至我院。行走呈跟性步态, 右跟骨结节上方 3cm 处有一横形伤口疤痕长约 5cm, 疤痕上方可见皮肤凹陷, 测量缺损区约 3.5cm, 踝关节主动跖屈无力, 腓肠肌挤压试验 (+); X 线片示跟腱阴影中断, 未发现骨折。入院后在局麻下行经皮不锈钢丝跟腱牵引; 方法是: 局麻下摸准跟腱近侧断端, 在其上方 3cm 处用穿不锈钢丝的直角针从内侧进针, 横行穿过跟腱, 从外侧出针, 引出不锈钢丝的一半, 接着将穿出的三角针由出针处再刺至跟腱, 针尖略微下移后斜向断端刺入跟腱, 达远断端平面处经内侧皮肤穿出, 将钢丝抽紧; 再将原留在内侧一半的钢丝穿直角针, 从原进针处刺至跟腱, 针尖稍下移后刺向跟腱断端, 达远断端平面后从外侧皮肤出针, 抽紧钢丝, 两头分别结扎于牵引弓上, 将患肢置于勃朗氏架上施行跟腱牵引, 施重 3kg, 牵引 1 周, 查跟腱断裂缺损区已饱满, 即行手术修补, 取跟腱内侧缘切口长 6cm, 切除断端间疤痕组织, 将两断端对拢, 抽除钢丝, 用 7 号丝线作“8”字缝合, 4 号线间断加强缝 4 针, 修复腱鞘, 术后石膏托固定小腿于自然静态位置, 10 天拆线, 5 周

去石膏下地锻炼。半年后复查, 踝关节伸屈自如, 行走步态正常。

例 2, 潘×, 男, 13 岁, 学生。左跟部被铁锹斩伤, 在当地卫生所清创处理, 直接缝合跟腱, 后因感染, 伤口裂开, 跟腱缝合线脱落, 跟腱回缩, 第 18 天至本院就诊。见左跟骨结节上 2cm 处有横形裂开伤口, 创面有分泌物及肉芽组织, 跟腱回缩 2.5cm, 踝主动跖屈无力。经用前法作经皮跟腱牵引, 抗炎治疗及伤口换药, 10 天后炎症控制, 创面清洁, 伤口缩小, 跟腱近断端已牵至创口。即行手术治疗, 跟腱作“8”字加强缝合, 伤口作推进皮瓣闭合, 术后膝下双石膏托固定踝关节于跖屈位, 10 天拆线, 改膝下管形石膏托屈位固定 4 周, 拆石膏下地活动。术后 8 个月随访, 行走自如。

### 讨论

完全的陈旧性跟腱断裂, 多需作手术修复, 否则依靠疤痕组织连接, 肌腱延长, 肌腹松弛, 迈步推进无力, 影响跑跳功能。采用经典的手术方法修补, 手术操作复杂, 组织创伤范围大, 恢复时间长。本治疗方法, 是通过经皮跟腱钢丝牵引, 使回缩的跟腱重新恢复至原来的生理长度, 创造了按新鲜损伤处理的条件, 无需损伤或转移其它肌腱, 简化了手术操作; 又使断裂跟腱得以在无张力状态下缝合, 有利术后组织修复愈合; 术后处理简单, 功能恢复快。

(收稿: 1996- 04- 05)