

· 基础研究 ·

活血化瘀中药对激素性股骨头坏死血浆 TXB₂ 与 6-keto-PGF_{1α}影响的实验研究

何伟 徐传毅 樊粤光 方斌 李雄 王海彬 刘少军 袁浩
(广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405)

【摘要】 目的 探讨活血化瘀法在激素性股骨头坏死的治疗作用。方法 用内毒素加激素注射造成兔股骨头坏死,测定其血浆 TXB₂ 和 6-keto-PGF_{1α}的动态变化,以此作为血瘀证的观察指标。结果 光镜观察示模型组股骨头骨小梁变细、空骨陷窝增加,成骨细胞数量减少,并出现 TXB₂ 与 6-keto-PGF_{1α} 比值失衡,这些表现随着时间的推移逐渐加重;而用复方生脉成骨胶囊治疗能逆转股骨头坏死,保护血管内皮,恢复 TXB₂ 与 6-keto-PGF_{1α}的平衡。结论 激素性股骨头坏死与血瘀证之间有密切关系,用活血化瘀中药可防止股骨头坏死的发展。

【关键词】 股骨头坏死; 中医药现代化; 内皮,血管

Experimental study of the influence of blood circulation activating traditional Chinese drugs on plasma TXB₂ and 6-keto-PGF_{1α} of glucocorticoid induced femoral head necrosis HE Wei, XU Chuan yi, FAN Yue guang, et al. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine (Guangdong Guangzhou, 510405)

【Abstract】 Objective To explore the therapeutic effects of blood circulation activating method on glucocorticoid induced femoral head necrosis (GANFH) **Methods** Rabbit models of GANFH were made by injecting endotoxin and methylprednisolone. Plasma TXB₂ and 6-keto-PGF_{1α} were used as the objective indices for observing blood stasis. **Results** Light microscopy showed empty lacunae increased and numbers of osteoblasts and subchondral sinusoids decreased in model group; ratio of TXB₂ and 6-keto-PGF_{1α} was out of balance. These changes were worsened with progress of the disease. Fufang Shengmai Chenggu Capsule could protect the vascular endothelial cells, recover the balance of TXB₂ and 6-keto-PGF_{1α}, which further reverse GANFH. **Conclusion** There is a closed relationship between GANFH and blood stasis. Blood circulation activating method may be beneficial for the reparative process of necrosis of the femoral head.

【Key Words】 Femoral head necrosis; Modernization (TCM); Endothelium, vascular

股骨头坏死是一种致残性较大的疾病,与创伤、激素、嗜酒等有密切关系。在股骨头塌陷以前有效地及早进行诊断与治疗,改善股骨头的缺血状态,防止股骨头的塌陷,防止后期的骨性关节炎的产生,是股骨头坏死治疗的发展趋势。中药通过整体法则治疗股骨头坏死显示出了一定的优势。从“瘀血”立论,以“活血化瘀”为防治大法对于股骨头坏死的治疗有着重要的意义^[1]。生脉成骨胶囊是我们治疗股骨头坏死的经验方,具有活血化瘀、补肾健骨、消肿止痛等功效^[2]。我们在此方的基础上加入活血化瘀的经典名方——桃红四物汤,进一步加强其活血化瘀的功效,以方探药,以药探理,用现代的研究手段阐释中医“瘀去新生”理论的生物学内涵,以更好指导临床实践和股骨头坏死的治疗。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物:健康纯种成年新西兰大白兔 56 只,雌雄各半,体重(2.0±0.5)kg,由广东省医学实验动物中心提供,动物合格证号为:省科委 2000A027

1.1.2 主要实验试剂:含 2% EDTA 二钠 0.2ml 的密闭洁净试管, TXB₂ 和 6-keto-PGF_{1α}放射免疫试剂盒(购自北方生物技术研究所)。

1.1.3 主要测量仪器:BECKMAN DP5500 型 γ 计数器。

1.1.4 主要药物:大肠杆菌内毒素(规格:10mg/瓶,美国 Sigma 公司);甲基强的松龙(规格:500mg/瓶,比利时法玛西亚普强公司);复方生脉成骨浸膏干粉:由桃红四物汤与生脉成骨胶囊按 1:1 组成。桃红四物汤按《医宗金鉴》的各药物比例:桃仁 10、红花 5、生地 12、当归 12、赤芍 10、川芎 10。

1.2 实验方法

1.2.1 动物的分组及用药 随机选取 18 只兔为正常对照组,余 38 只用于造模;按每只每次 50ug/kg 剂量于兔耳缘静脉注射内毒素,共 2 次,前后间隔 24 小时。在第 2 次注射内毒素后随即腹腔注射甲基强的松龙每次 20mg/kg,每日一次,连续 3 日。2 周后随机处死动物 2 只观察,确认模型成立后,将造模动物随机分为 2 组:模型组、中药组,每组 18 只。中药组以含生药 0.42g/ml 剂量的药液 5ml/kg 体重灌胃,每日一次;模型组及正常对照组用生理盐水 5ml/kg 体重灌胃,每日一次。三组动物分别于用药后 4 周、8 周、12 周各处死 6 只行相关检查。

1.2.2 组织学检查:取出股骨头,用中性甲醛固定,硝酸脱钙,流水冲洗,系列乙醇脱水,石蜡包埋切片,切片厚为 5um,HE 染色。光镜检查骨细胞坏死,骨小梁上、骨髓腔内血管等病理组织学改变。

1.2.3 血浆 TXB₂ 与 6 keto PGF_{1α} 的测定:全部动物在抽血前禁食 12 小时,从耳部静脉抽取 3ml 血液放入含有 2% EDTA 二钠 0.2ml 的抗凝试管中,分离血浆,用放射免疫法测定 TXB₂、6 keto PGF_{1α} 含量。

1.3 统计学处理:所有值都以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析(One-way ANOVA),多组间两两比较选用 S-N-K 法(Student-Newmen-Keuls 法, q 检验)。显著性检验水准取 $\alpha = 0.05, P < 0.05$ 则为有显著性差异。

2 结果

2.1 股骨头光镜观察

2.1.1 正常组:骨小梁完整,排列规则,致密饱满,骨小梁中的骨细胞清晰可见,核较大,位于中央,可见散在的空骨陷窝;成骨细胞沿骨小梁分布,可见成串排列;骨髓造血细胞丰富,脂肪细胞相对较少,形态正常。

2.1.2 模型组:①骨小梁稀疏,变细,甚至有断裂现象。②骨小梁中骨细胞固缩、边聚或消失,空骨陷窝明显增多,第 4 周平均空骨陷窝率即达到 46.1%,第 12 周平均空骨陷窝率达到 58.4%。③髓腔内脂肪细胞体积增大,有的融合成泡状,生血细胞数量减少。④骨小梁周沿稍可见梭形成骨细胞排列,但数量很少。⑤上述病理表现随着时间的推移逐渐加重。

2.1.3 中药组:①骨小梁排列整齐,规则,致密饱满,无碎裂。②骨小梁上骨细胞核清晰可见,位于中央,少见空骨陷窝存在。③髓腔内造血细胞丰富,无明显大的脂肪滴。④骨小梁周沿梭形成骨细胞数量增多,排列致密。⑤各时间病理表现无明显差别。

2.2 血浆 TXB₂ 与 6 keto PGF_{1α} 的变化 应用内毒素和激素造模以后,4 周时 TXB₂ 的水平与正常组的动物比较有较大的增高($P < 0.01$) (见表 1), 6 keto PGF_{1α} 的水平与正常组的动物比较有较大的下降($P < 0.01$) (见表 2), T/K 的比值与正常组的动物比较明显增加($P < 0.01$) (见表 3)。中药组 4、8、12 周的血浆 TXB₂ 较模型组比较均有显著降低,并且随着时间的推移有逐渐下降的趋势。血浆 6 keto PGF_{1α} 较模型组比较均有显著增高($P < 0.01$),并且随着时间的推移有逐渐增高的趋势。T/K 比值较模型组比较均有显著降低,并且随着时间的推移有逐渐降低的趋势。

表 1 TXB₂ 测试的结果(单位 pg/ml)

| 组别 | 4 周 | 8 周 | 12 周 |
|-----|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 正常组 | 186.46±48.21 | 185.94±30.08 | 182.06±36.37 |
| 模型组 | 634.43±69.36 [*] | 852.62±61.67 ^{**} | 960.83±72.23 ^{**} |
| 中药组 | 467.86±36.15 ^{△△} | 318.69±43.82 ^{△△} | 196.41±28.14 ^{△△} |

注:模型组、中药组与正常组相比, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; 中药组与模型组相比, $\Delta P < 0.05$; $\Delta\Delta P < 0.01$, 以下同。

表 2 6 keto PGF_{1α} 测试的结果(单位 pg/ml)

| 组别 | 4 周 | 8 周 | 12 周 |
|-----|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| 正常组 | 58.56±13.21 | 54.94±12.18 | 56.06±15.37 |
| 模型组 | 38.43±9.36 [*] | 24.92±7.68 ^{**} | 11.83±3.23 ^{**} |
| 中药组 | 52.86±12.15 ^{△△} | 56.69±10.32 ^{△△} | 61.21±9.54 ^{△△} |

表 3 TXB₂/6 keto PGF_{1α} 比值(T/K) 的变化

| 组别 | 4 周 | 8 周 | 12 周 |
|-----|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 正常组 | 3.18±1.21 | 3.38±0.98 | 3.25±0.87 |
| 模型组 | 16.51±4.36 [*] | 34.21±9.68 ^{**} | 81.22±0.23 ^{**} |
| 中药组 | 8.85±1.15 ^{△△} | 5.62±1.32 ^{△△} | 3.21±1.54 ^{△△} |

3 讨论

应用内毒素加激素可以导致实验性的股骨头坏死的发生。造模的主要机理是由于大肠杆菌内毒素引起了动物机体产生了施瓦茨曼反应,可以引起伴发肝细胞坏死和骨内血栓形成的血管内凝血。由于已经有研究证实骨髓血栓形成和坏死发生在 5 小时以内,所以骨坏死是由急性出血引起的。接受细菌内毒素的动物不仅发生了弥漫性的血管内凝血,也出现了在全身施瓦茨曼反应中的高脂血症、脂肪肝、脂肪栓塞、纤维蛋白血栓形成^[3,4]。

Yanamota 等^[3]的研究表明,在施瓦茨曼反应模型中,最后注射了内毒素 24 小时以内,血小板明显减少,发现在骨内血管中有许多的纤维蛋白血栓。表明由内毒素与激素联合应用所导致的消耗性凝血导致了骨坏死。同时,内毒素可以导致血液高凝和纤维蛋白溶解下降,激素应用以后这种血液的高凝和低纤溶状态将得以维持。此外,动物还发生了高脂血症,如高血浆游离脂肪酸,甘油三酯和胆固醇水平升高。

在本实验中,对动物血浆 TXB₂ 和 6 keto PGF_{1α} 进行了跟踪检测,从实验结果来看,应用内毒素和激素造模以后,4 周时 TXB₂ 的水平与正常组的动物比较有较大的增高($P < 0.01$)。TXB₂ 是 TXA₂ 的代谢产物,由血小板生成,具有强烈的收缩血管和促进血小板凝集的作用^[5]。因此 TXB₂ 升高提示血瘀的情况加重。而中药组 4、8、12 周的血浆 TXB₂ 较模型组比较均有显著降低,并且随着时间的推移而逐渐下降。提示活血化瘀中药能够改善股骨头坏死的瘀血状态。

应用内毒素和激素造模以后,4 周时 6 keto PGF_{1α} 的水平与正常组的动物比较有较大的下降($P < 0.01$)。6 keto PGF_{1α} 是 PG I₂ 的代谢产物,PG I₂ 主要是由血管内皮细胞产生的,具有强烈的扩张血管和抑制血小板聚集的作用^[6]。因此 6 keto PGF_{1α} 降低提示血瘀的情况加重。而活血化瘀中药应用组 4、8、12 周的血浆 6 keto PGF_{1α} 较模型组比较均有显著增高,并且随着时间的推移有逐渐增高的趋势。提示活血

化痰中药能够改善股骨头坏死的瘀血状态。

TXB₂ 与 PG I₂ 之间的活性平衡是机体控制正常的出血机制,防止血栓形成。TXB₂ 与 $\text{G ket}\sigma\text{PGF}_{1\alpha}$ 之间的平衡在血瘀证的病理机制中起着更重要的作用,故 TXB₂ 与 $\text{G ket}\sigma\text{PGF}_{1\alpha}$ 之间的比值比单一指标更有意义。T/K 比值增加提示血瘀的情况加重。缺血缺氧时,一方面血管内皮细胞受损,PG I₂ 生成减少;另一方面又致血小板释放 TXA₂ 增多,故发生强烈的血管收缩和血小板聚集并进一步释放 TXA₂,从而促使血栓形成与血管堵塞,造成组织缺血坏死^[7]。应用内毒素和激素造模以后,4 周时 T/K 的比值水平与正常组的动物比较增加($P < 0.01$)。而中药组 4、8、12 周的 T/K 比值与模型组比较均有显著降低,并且随着时间的推移有逐渐降低的趋势。也提示了活血化瘀中药能够改善股骨头坏死的瘀血状态。

因为在内毒素加激素的造模过程中,产生的高脂血症、血小板减少等引起血液的高凝和纤维蛋白溶解下降,因此不同程度地导致了骨内血管的血流速度减慢、血细胞聚集,血液灌流量减少从而引起局部组织的缺血缺氧,甚至微小血栓的形成。血液的高凝状态等因素可以导致血小板激活,释放出大量的 TXA₂,从而使 T/K 比值增高。另一方面, TXA₂ 增加或 T/K 比值增大也可以使血管收缩,甚至痉挛,尤其可以使微血管明显收缩,进一步加剧瘀血的症状^[8]。

清代陈士铎认为,骨折的“内治之法,必须以活血去瘀为先,血不活则瘀不能去,瘀不去则骨不能接也”,提出了“瘀去新生”的骨折治疗观,同样可指导其他骨伤科疾病的防治。股骨头坏死的主要临床症状表现为髋关节疼痛,关节活动不利,行走跛行。“通则不痛,痛则不通”主要应将之归责于气血的

凝滞不通。现代医学研究表明,脂质代谢紊乱、TXA₂ 与 PG I₂ 的平衡失调等与股骨头坏死的发生有关,而这又与“血瘀证”的认识一致。可见从“瘀血”立论,以“活血化瘀”为防治大法对于股骨头坏死的治疗有着重要的意义^[1]。我们在生脉成骨胶囊的基础上加入活血化瘀的经典名方——桃红四物汤,进一步加强其活血化瘀的功效,从 TXA₂ 与 PG I₂ 的失平衡阐释中医“瘀去新生”理论的生物学内涵之一在于改善微循环状态,促进新骨形成,初步证实“瘀去新生”在股骨头坏死的防治中有重要的意义。

参考文献

- 徐传毅,黄涛,邹季,等.从血瘀证论治激素性股骨头坏死的实验研究.中国中医骨伤科杂志,2000,8(4):10-13.
- 袁浩,何伟,李雄,等.生脉成骨胶囊治疗股骨头坏死的临床疗效观察.中医正骨,1999,11(1):68.
- Yamamoto T, Hirano H, Tsutsui H, et al. Corticosteroid enhances the experimental induction of osteonecrosis in rabbits with Shwartzman reaction. Clin Orthop, 1995, 316: 235-243.
- Bailey JM. New mechanisms for effects of anti-inflammatory glucocorticoids. Biofactors, 1991, 3: 97-102.
- 蔡耀南,赖世隆.血瘀证、气虚血瘀证患者微循环改变及血浆 TXA₂、PG I₂ 水平的研究.徐州医学院学报,1997,17(3):281-284.
- 谭孝厚,翁伟强,李新中,等.复方仙灵颗粒剂抗家兔动脉粥样硬化及其机制研究.湖南医科大学学报,1996,21(6):469-472.
- 徐正阶,王万铁,谢克俭.心肌缺血再灌注损伤时 PG I₂/TXA₂ 平衡的变化及川芎嗪的调控作用.温州医学院学报,1997,27(3):129-131.
- 曾祖荫,郭榆成,张志高.冠心病微血栓与血栓素 B₂、6-酮-前列腺素 F_{1\alpha} 的临床关系.微循环学杂志,1994,4(1):17.

(收稿 2002-03-06 编辑:李为农)

中国中医研究院针灸研究所针灸培训学校招生

(京)教社证字 A91048 京教社广字(东城)2002012 号

一、《全国高级针灸进修班》:此班为著名中医针灸专家临床经验传授班,属于国家 I 类中医药继续教育项目,授予 25 学分。将邀请程莘农、贺普仁、金伯华、王居易等数十名专家、名医亲自授课,表演手法、特技与答疑。学费:1060 元。9 月 4 日—9 月 19 日;10 月 24 日—11 月 6 日。

二、全国高级推拿进修班及高级按摩师取证班:本着全面提高学员的理论水平和培训过硬技术本领,将顺利通过考核,优先竞争上岗的办学宗旨,将高级推拿班与高级按摩师班合二为一。教学注重理论联系实际,突出名师指导下技术操练。招收高年资按摩师(8 年以上)和临床推拿师。学习期满,考核通过,颁发劳动和社会保障部高级按摩师资格证书及中国中医研究院针灸研究所针灸培训学校结业证书。务必请提前一个月报名并将回执、报名费(300 元)、身份证复印件,工作经历证明,黑白照片一寸、二寸各两张寄到学校。12 月 1 日—12 月 16 日;学费 2300 元。*原定 10 月 5 日—10 月 19 日班因故取消*

三、《疼痛特效疗法学习班》:此班将系统讲授软组织损伤最新理论——经筋体系,并重点介绍运用此理论诊治颈肩腰腿痛方法,传授长圆针、粗针、微型针刀治疗各种软组织损伤的临床运用及技巧。经筋理论认识疾病机理清楚,诊断准确,疗效立竿见影。9 月 20 日—9 月 26 日;学费:800 元。

四、《全国高级中医正骨研修班》本班围绕①颈、肩、腰、腿各种疾病及疑难病症,从诊断、鉴别诊断(包括 X 光片、CT 诊断)临床检查方法讲起,并传授各个流派的治疗特色及经验;②传授常见骨折、脱位的整复方法;③讲授骨性关节炎、风湿性骨病及骨质疏松的诊治及预防。11 月 8 日—11 月 18 日 学费:1060 元。

《全国高级耳针研修班》此班为著名耳针专家黄丽春教授专程从美国来京讲学,首次讲授其近十几年耳针研究的新进展,新发现,新成果,尤其在耳穴诊断与治疗方面积累了新的宝贵经验,对临床有着十分重要的指导意义。12 月 20 日—12 月 25 日 学费:800 元。

以上各班详情请见招生简章,免费提供。联系电话:(010)64007111 或 64014411 转 2911 或 2781。通讯地址:北京东直门内北新仓 18 号中国中医研究院针灸研究所 邮编:100700 联系人:裴女士,赵先生。广告刊出按时开课。