

韦氏活骨 I 号胶囊治疗家兔股骨头缺血性坏死的实验研究

赵德伟 王卫明 李泽民

(大连医科大学附属第四医院, 辽宁 大连 116001)

【摘要】 目的 研究中成药制剂韦氏活骨 I 号胶囊治疗家兔股骨头缺血性坏死的作用机理。方法 成年健康家兔 36 只, 采用液氮冷冻的方法制备家兔双侧股骨头缺血性坏死的动物模型, 随机分为实验组及对照组, 术后均以普通饲料喂养, 实验组同时灌韦氏活骨 I 号胶囊制成的悬浮液。分别于术后 6、12 和 20 周处死家兔, 观察各项实验指标。结果 实验组血清 AKPase、骨密度均较对照组明显升高, 股骨头大体形态、光镜及 X 线片显示出实验组骨坏死于其某一较早阶段中止并出现修复迹象, 组织结构观察表明实验组股骨头组织结构较对照组致密规则。结论 韦氏活骨 I 号胶囊可以改善局部血液循环, 加速新骨生成, 是治疗骨坏死的有效药物。

【关键词】 股骨头坏死; 中药疗法; 组织学, 比较; 骨生成

Experimental study of the Weishi Huogu Capsule No I on the treatment of avascular necrosis of the femoral head ZHAO Dewei, WANG Weiming, LI Zemin. The 4th Affiliated Hospital of Dalian Medical University (Liaoning Dalian, 116001, China)

【Abstract】 **Objective** To study the mechanism of Weishi Huogu Capsule No I (WHI) (Chinese herbal medicine) for the treatment of avascular necrosis of the femoral head in rabbits. **Methods** The models of bilateral avascular necrosis of the femoral head were produced in 36 healthy rabbits by using freezing method with liquid nitrogen. All the rabbits were randomly divided into two groups: experimental group and the control. The rabbits in control group were fed with common food and those in experimental group were added WHI suspension. They were sacrificed at 6th, 12th and 20th weeks after operation and the content of AKPase in serum, the bone density of hip region were determined. Radiographic and optical microscopic examination were also done in this study. **Results** The content of AKPase in serum and the bone density of hip region of rabbits in experimental group were much higher than those of control group. The radiographic and optical microscopic examination showed that in experimental group, osteonecrosis was discontinued at some early stage and bone repair can be observed. The constitution of femoral head in experimental group was more dense and regular than that of control group. **Conclusion** WHI is effective in improving local blood circulation, accelerating new osteogenesis, and it is an effective drug for the treatment of avascular necrosis of the femoral head.

【Key words】 Femoral head necrosis; Treatment with Chinese herbs; Histology, comparative; Osteogenesis

股骨头缺血性坏死是一种严重影响肢体功能的常见病, 中医中药在该病的治疗方面发挥着独特的作用^[1,2], 我们在临床实践中研制了中成药制剂韦氏活骨 I 号胶囊治疗早期病变并配合手术促进晚期病例股骨头血运重建。本文通过动物实验, 研究韦氏活骨 I 号胶囊治疗股骨头缺血性坏死的作用机理, 为临床应用提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 动物及分组 选用健康成年家兔 36 只, 雌雄

不限, 体重 2.1~3.0 kg, 随机分为实验组和对照组, 每组 18 只。

1.2 药物 韦氏活骨 I 号胶囊是一种用于创伤和骨科临床的自制中成药, 由大连医科大学附属第四医院中药制剂室提供, 主要成分有当归、红花、麝香、延胡、乳香、没药、党参七味中药, 研磨成粉后用大号胶囊套装, 每粒含生药 0.5 g。本实验用该胶囊剂内的成药粉, 配制成悬浮液, 灌喂实验动物。

1.3 手术方法 硫贲妥钠 50 mg/kg 腹腔内麻醉,

分别于家兔两侧取髌前外侧斜形切口长约 4 cm, 切开皮肤、皮下组织、深筋膜, 暴露大转子将其向后外侧提起, 顺大转子前内侧钝锐性分离直达髌关节囊, T 形切开髌关节囊, 脱出股骨头。以 1.5 mm 直径克氏针于股骨头颈部钻孔 0.2 cm × 0.2 cm × 0.3 cm, 用相当大小的纱布团蘸液氮, 即刻冷冻股骨头上端, 持续 1 min, 造成股骨头坏死, 股骨头回位后分层缝合。术后, 实验组予韦氏活骨 I 号胶囊灌喂, 按 250 mg/kg 将胶囊内药粉制成混悬液 50 ml, 每日 1 次, 对照组仅予生理盐水 50 ml 灌喂。于术后 6、12、20 周分三批处死两组家兔, 每批各 6 只, 进行以下观察。

1.4 观察项目

1.4.1 大体标本观察 观察股骨头形态变化情况。

1.4.2 血碱性磷酸酶 (AKP) 活性测定 手术前及术后 6、12、20 周分别取耳缘静脉血, 应用比色法测定血清 AKP 活性, 并与正常家兔血 AKP 活性相比较。

1.4.3 X 线平片观察 术前即摄 X 线平片, 术后 6、12、20 周再摄 X 线平片。

1.4.4 光镜观察 术后 6、12、20 周取家兔股骨头负重区软骨下骨标本, 用 10% 福尔马林固定, 10% 硝酸脱钙, 石蜡包埋, 纵向切片, 切片厚度 5 μm, HE 染色, 观察股骨头骨质变化情况。

1.4.5 股骨头骨密度测量 应用光量子骨密度测量仪分别测量正常的以及实验组、对照组 20 周时股骨头的骨密度变化情况。

1.5 统计学处理 应用 *t* 检验。

2 实验结果

2.1 股骨头肉眼观察 术后第六周, 实验组及对照组股骨头略有塌陷变形, 关节面完整光滑。第 12 周, 对照组股骨头明显塌陷变形, 关节面出现皱缩, 实验组股骨头外形较 6 周时无明显变化, 关节软骨完整光滑。第 20 周, 对照组股骨头塌陷畸形, 关节软骨出现碎裂, 并有病理性骨折, 实验组股骨头外形仍无进一步变化, 关节面仍保持光滑。

2.2 血清 AKP 活性 正常家兔血清 AKP 活性测得为 86.7 ± 12.5 金氏 u/L。从表 1 可以看出: 造模后 20 周内两组动物血 AKP 活性均有不同程度的升高, 实验组高于对照组; 第 6 周两组间无显著性差异 ($F=0.12, P>0.05$); 第 12 周时实验组达高峰, 明显高于对照组; 第 20 周实验组 AKP 活性下降但仍明显高于对照组 (表 1)。

表 1 两组动物血 AKP 活性比较 ($\bar{x} \pm s$) (单位: 金氏 u/L)

组别	6 周	12 周	20 周
实验组	104.9 ± 28.1	136.6 ± 18.9*	130.7 ± 28.7*
对照组	96.5 ± 27.9	102.4 ± 19.7	96.1 ± 7.6

注: 实验组与同期对照组比较, * $P<0.05$ 。

2.3 X 线片观察 术后第 6 周实验组及对照组 X 线片显示股骨头略有塌陷, 对照组出现骨质疏松 (图 1、2)。第 12 周, 实验组股骨头外形较前无明显变化, 对照组股骨头明显塌陷变形并出现囊性变 (图 3、4)。第 20 周, 对照组股骨头塌陷畸形进一步加重, 可见髌关节脱位及股骨颈病理性骨折, 股骨头出现硬化骨, 实验组骨小梁分布渐趋均匀 (图 5、6)。

2.4 病理组织学观察 术后第 6 周, 实验组可见坏死骨小梁间有大量成纤维细胞、成软骨细胞及成骨细胞, 在距坏死区稍远的部位出现大量的新生血管及初期骨小梁, 对照组骨小梁稀疏, 炎性细胞浸润, 新生血管少。第 12 周, 实验组显示骨小梁间细胞成份有所减少, 有丰富的新生血管, 骨小梁密度有所增加, 对照组骨小梁进一步减少, 软骨细胞亦显出不同程度的变性坏死, 软骨下骨出现囊性变。第 20 周, 实验组骨小梁致密整齐, 分布均匀, 对照组骨小梁杂乱稀疏, 囊性变进一步扩大 (图 7、8)。

2.5 骨密度观测 通过对正常及实验组、对照组 20 周股骨头骨密度 (g/cm^3) 的观测, 表明实验组股骨头骨密度明显高于对照组 (表 2)。

表 2 两组实验动物术后 20 周股骨头骨密度比较 (g/cm^3)

组别	造模前	术后 20 周
实验组	0.858 ± 0.132	0.871 ± 0.145*
对照组	0.856 ± 0.127	0.846 ± 0.221

注: 实验组与同期对照组比较, * $P<0.05$ 。

3 讨论

近年来随着对股骨头缺血性坏死发病机理研究不断深入, 血管内凝血学说越来越得到多数学者的认同, 认为血管内凝血这一中间机制, 可能成为各种病因最后的共同通路, 从而引起非创伤性骨坏死^[3]。这与祖国医学对骨坏死病因的阐述不谋而合, 中医认为各种原因导致的骨坏死的病理特点都是因为气血不通、瘀滞而产生“瘀血”。气血对骨的滋养是骨骼能保持正常形态和正常功能的关键, 而一旦瘀血阻滞, 脉络不通, 气血失去滋养, 骨则必然会枯朽、塌陷、坏死。“脉络不通, 不通则痛”, 综合骨坏死病人骨痛、功能障碍等症状, 莫不与此符合。这与中医的“气血不行, 气滞血瘀”的观点是一致的。液氮即刻

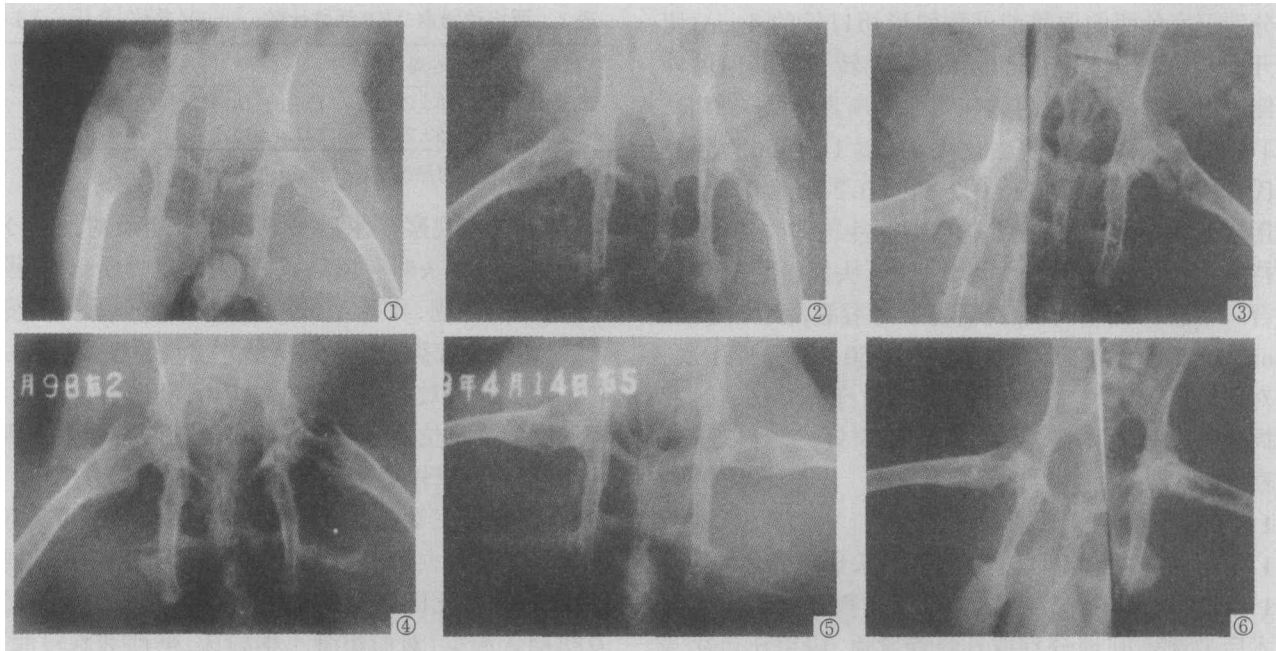


图 1 实验组术后第六周 X 线片显示股骨头略有塌陷 图 2 对照组术后第六周 X 线片显示股骨头略有塌陷, 出现骨质疏松 图 3 实验组术后第十二周 X 线片显示股骨头外形较前无明显变化 图 4 对照组术后第十二周 X 线片显示股骨头明显塌陷变形并出现囊性变 图 5 实验组术后第二十周 X 线片显示骨小梁分布渐趋均匀 图 6 对照组第二十周 X 线片显示股骨头塌陷畸形进一步加重, 出现髌关节脱位及股骨颈病理性骨折, 股骨头出现硬化骨

冷冻家兔股骨头可引起股骨头内血管痉挛、血管内凝血及血管内皮细胞损伤, 继而血管壁通透性增加, 股骨头内髓腔出血, 股骨头复温后血管再通血诱发缺血再灌注损伤, 最终导致股骨头缺血性坏死^[4,5]。本实验采用液氮冷冻制备家兔股骨头缺血性坏死的动物模型, 简便易行, 可以反映出人类股骨头缺血性坏死演变过程。

韦氏活骨 I 号胶囊方中, 黄芪既能补气助阳推动血脉运行, 又能增强体能; 当归补血、活血, 与丹参、红花配伍增强活血化瘀之功; 延胡索行气化痰止痛, 同乳香、没药合用共奏活血止痛、消肿生肌之效; 麝香味辛, 性温, 芳香走窜, 通行十二经, 能开窍通络、活血化瘀, 又能消肿生骨。诸药合用, 使气血双补, 促进局部血液循环, 改善骨血供, 舒通经络, 化瘀生新, 加速新骨的生成, 达到标本兼治的目的。

实验组术后第六周病理组织学观察可见坏死骨小梁间有大量的细胞成份, 同时在距坏死区稍远的部位出现大量的新生血管及初期骨小梁, 第十二周实验组显示骨小梁间细胞成份有所减少, 有丰富的新生血管, 骨小梁密度有增加, 第二十周摄片, 实验组骨小梁分布渐趋均匀。骨坏死这种模式的修复与重建必须具备两个前提才能完成: 一是血供丰富, 二是细胞活跃。从本实验组织学切片所见, 实验组标

本有丰富的新生血管及大量的成纤维细胞、软骨细胞及成骨细胞, 因此坏死骨重建加速。

成骨细胞中有 AKP 存在, 成骨细胞功能活跃时分泌出来的 AKP 渗入血液, 使血 AKP 明显增加, 可作为代表骨重建活跃和成骨细胞活性增加的指征^[6]。本实验表明实验组动物坏死骨重建明显加速, 血 AKP 活性增加, 推测韦氏活骨 I 号胶囊主要成分中可能含有某种骨诱导物质。因其具有多种蛋白及多肽成分, 是否里面的某些蛋白质具有骨形态发生蛋白(BMP)的诱导作用, 需进一步实验证实。

(本文图 7-8 见后插页 1)

参考文献

- 1 张晓刚, 邓沂, 王钢, 等. 中医药治疗股骨头坏死回顾与理方研究. 甘肃中医学院学报, 1999, 16(3): 6-7.
- 2 张念非, 李子荣, 杨连发, 等. 实验性股骨头缺血性坏死的药物治疗. 中日友好医院学报, 1997, 11(2): 109.
- 3 Janns JP. Intravascular coagulation and osteonecrosis. Chin Orthop, 1992, 277: 41-53.
- 4 吕智, 刘小丽, 董天华, 等. 左旋多巴对兔股骨头坏死模型实验修复过程的影响. 中华骨科杂志, 1999, 19(6): 370-373.
- 5 王卫明, 赵德伟. 液氮冷冻制备股骨头缺血性坏死动物模型研究探讨. 骨与关节损伤杂志, 2001, 16(6): 444-445.
- 6 Simank HG, Manggold J, Sebald W, et al. Bone morphogenetic protein-2 and growth and differentiation factor-5 enhance the healing of necrotic bone in a sheep model. Growth Factors, 2001, 19(4): 247-257.

(收稿: 2003-04-28 编辑: 房世源)

韦氏活骨 I 号胶囊治疗家兔股骨头缺血性坏死的实验研究

(正文见 716 页)

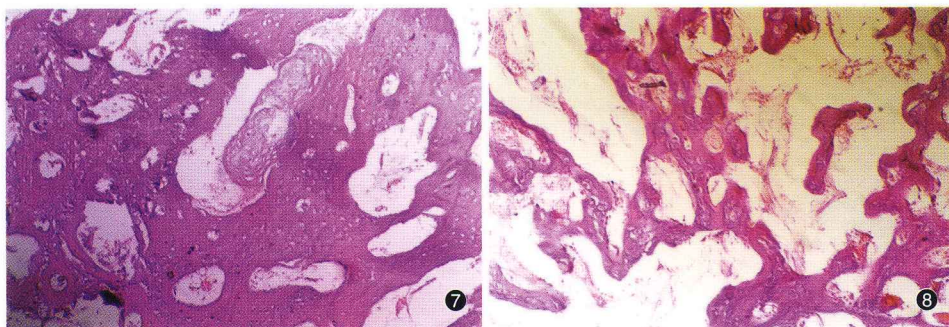


图7 实验组术后第 20 周组织学切片见骨小梁致密整齐, 分布均匀。HE × 100

图8 对照组术后第 20 周负重区软骨下骨小梁杂乱稀疏。HE × 100

实验性骨质疏松大鼠胫骨髌病理变化的图像分析研究

(正文见 719 页)

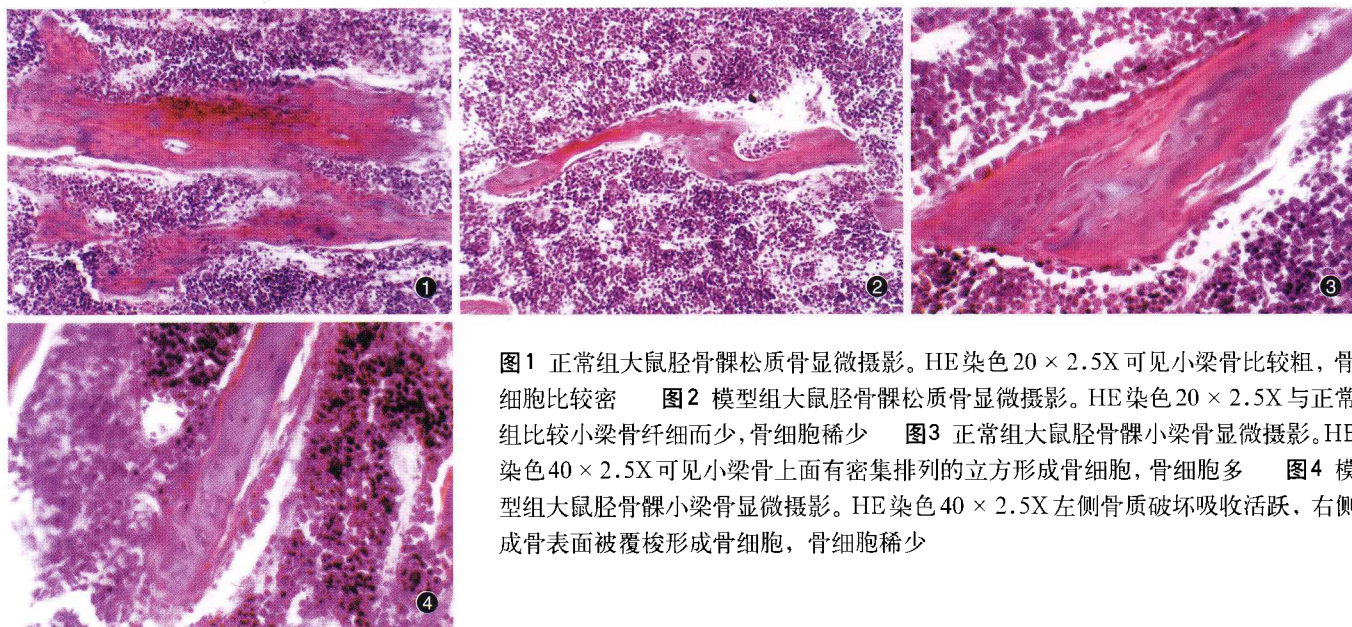


图1 正常组大鼠胫骨髌松质骨显微摄影。HE 染色 20 × 2.5X 可见小梁骨比较粗, 骨细胞比较密 图2 模型组大鼠胫骨髌松质骨显微摄影。HE 染色 20 × 2.5X 与正常组比较小梁骨纤细而少, 骨细胞稀少 图3 正常组大鼠胫骨髌小梁骨显微摄影。HE 染色 40 × 2.5X 可见小梁骨上面有密集排列的立方形成骨细胞, 骨细胞多 图4 模型组大鼠胫骨髌小梁骨显微摄影。HE 染色 40 × 2.5X 左侧骨质破坏吸收活跃, 右侧成骨表面被覆梭形成骨细胞, 骨细胞稀少

磷酸钙骨水泥人工骨的制备及修复兔桡骨大段骨缺损的实验研究

(正文见 723 页)

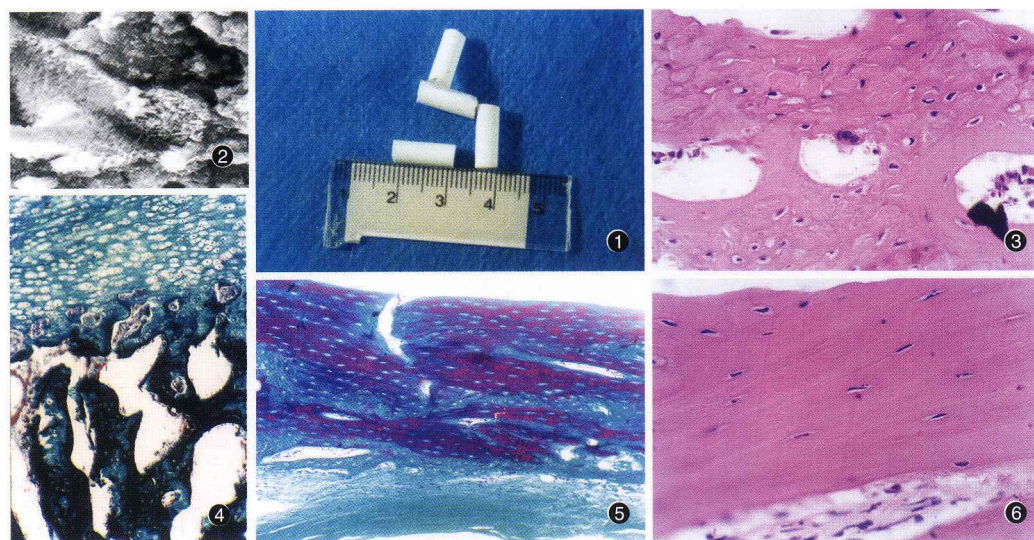


图1 CPC人工骨肉眼观察可见骨块色白, 表面光滑, 质硬, 较脆, 未见明显孔隙结构 图2 CPC骨块SEM可见骨块主要由针状、花瓣状晶体构成, 微孔直径约 4 ~ 10μm(SEM × 3000) 图3 植入术后4周, 出现新生软骨及不成熟的骨组织, 可见软骨细胞、骨细胞及破骨细胞(HE × 40) 图4 植入术后

8 周, 出现髓腔结构, 可见大量的软骨细胞、成骨细胞及胶原组织(Masson × 10) 图5 植入术后 12 周, 出现大量的新生软骨及成熟的骨组织, 并向板层骨改建(Masson × 4) 图6 植入术后 16 周, 骨结构逐步成熟, 板层骨相互融合生长(HE × 40)