

丹参与骨碎补注射液防治激素诱发股骨头坏死的实验研究

刘宏泽¹ 王文瑞¹ 卫小春² 张剑宇²

(1. 包头市第三医院骨科, 内蒙古 包头 014040; 2. 山西医科大学临床二系)

【摘要】 目的 探讨丹参与骨碎补对激素性股骨头坏死的防治机理及其交互作用。方法 选用家兔 50 只, 随机分成五组: 模型组、丹参组、骨碎补组、丹参 + 骨碎补组、对照组。8 周后观察五组家兔血液流变学、脂代谢、股骨头组织学等指标的改变。结果 与对照组相比, 模型组股骨头疏松, 易于凿切, 血液粘度和血脂升高, 骨小梁变细、稀疏, 空骨陷窝率增高, 髓腔脂肪细胞增多; 而其余各组上述病变有不同程度的减轻, 其中以丹参 + 骨碎补组病理改变最轻。结论 丹参、骨碎补均能预防激素所致的高粘滞血症和高脂血症; 骨碎补能提高血钙血磷, 激活成骨细胞, 提高股骨头的骨密度, 能预防激素性骨质疏松; 两药在预防 SANFH 方面有协同作用。

【关键词】 股骨头坏死; 中药疗法; 血液流变学; 组织学, 比较

Experimental research on prevention of steroid-induced avascular necrosis of femoral head with injection of Salvia Miltiorrhiza and Drynaria LIU Hongze, WANG Wenrui, WEI Xiaochun, et al. The Third Hospital of Baotou (Neimonggu Baotou, 014040, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate and compare the protective effects of Salvia Miltiorrhiza and Drynaria on steroid-induced avascular necrosis of femoral head (SANFH). **Methods** 50 adult rabbits were randomly divided into five groups: Model group (Group A, n = 10), Salvia Miltiorrhiza group (Group B, n = 10), Drynaria group (Group C, n = 10), combined use of Salvia miltiorrhiza and Drynaria group (Group D, n = 10) and control group (Group E, n = 10). Indexes of slice pathomorphology of bone, hemorrheology, serum calcium and phosphor, fatty metabolism and bone mineral density (BMD) were performed eight weeks later. **Results** Compared with Group E, Group A showed significant changes: such as osteoporosis of femoral head which was easier to be cut, the blood and plasma viscosity and lipid raised; the presence of more bone lacuna, thinner trabeculae and lower bone mineral density (BMD) and more fat cells in the medullary cavity. The pathological changes above mentioned in Group B, C and D were lightened in different degree. The blood and plasma viscosity in Group B and C were decreased. The serum calcium and BMD of femoral head increased in Group C and D. **Conclusion** Either Salvia Miltiorrhiza or Drynaria could prevent hemorrheological condition and lipid metabolism; Drynaria is able to raise serum calcium and BMD of femoral head, activate osteoblasts, elevate osteo-density, and to prevent from osteoporosis; Salvia Miltiorrhiza pocesses a synergetic effect with Drynaria in preventing from SANFH.

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

本文旨在采用骨碎补注射液和丹参注射液, 对激素性股骨头坏死 (steroid-induced avascular necrosis of femoral head, SANFH) 兔模型进行干预, 探讨骨碎补和丹参对 SANFH 的防治机制及其交互作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料 健康成年家兔 50 只, 体重 2.5 ~ 3.0 kg, 雌雄不限 (由山西医科大学动物实验室提

供), 以普通条形饲料单笼喂养, 自由饮水, 通风。

1.2 实验药物 ①骨碎补注射液 (简称: 骨碎补) 的制备: 由山西医科大学药物研究所参照汤慕兰等^[1] 方法制成骨碎补注射液, 每毫升含生药 1.5 g。②丹参注射液 (简称: 丹参): 上海中西药业股份有限公司 (批号: 010705), 每毫升含生药 1.5 g。③醋酸氢化泼尼松: 浙江制药股份有限公司, 仙居制药厂生产

(批号:990704)。④青霉素钠:华北制药股份有限公司(批号:X0106215)。⑤硫酸庆大霉素:山西侯马平阳制药厂(批号:20010222)。

1.3 实验仪器 ①FASCO-3010 型全自动血流变快测仪。②美国 Beckman 全自动生化分析仪。③Leica 光学显微镜(BIOMED)。④电热恒温箱(型号:GZX-DH 40×45,上海跃进医疗器械厂)。⑤METTLER 电子分析天平(AE 240 型)。

1.4 实验方法 健康家兔 50 只,随机分为 5 组,采用贺西京等^[2]造模法造模,每周 2 次臀肌注射醋酸氢化泼尼松 7.5 mg/kg,造模同时模型组($n=10$)臀肌注射生理盐水 0.6 ml·kg⁻¹·d⁻¹,丹参组($n=10$)臀肌注射丹参 0.6 ml·kg⁻¹·d⁻¹,骨碎补组($n=10$)臀肌注射骨碎补 0.6 ml·kg⁻¹·d⁻¹,丹参+骨碎补组($n=10$)臀肌注射丹参和骨碎补每天各 0.3 ml/kg,对照组($n=10$)不做造模处理,臀肌注射等体积生理盐水。

以上动物均每周 2 次臀肌注射青霉素 80 万单位和庆大霉素 8 万单位,以预防感染,8 周后所有动物处理前禁食水 12 h,清晨心脏采血 10 ml 做血液学检查,用空气栓塞法快速处死动物,取股骨头做病理学检查和骨密度(BMD)测量。

1.5 观察指标 ①一般指标:观察动物皮毛及活动情况,股骨头外形、质地。②血液流变学检查:取血 5 ml 肝素抗凝,室温保存,4 h 内送检。测定全血粘度、血浆粘度、红细胞压积和红细胞聚集指数。③血脂和血钙血磷的测定:取不抗凝血 5 ml,高速离心后,用酶法检测总胆固醇(TCH)和甘油三酯(TG),用电极法检测血钙血磷。④组织学观察:取左侧股骨头沿正中冠状面剖开,10% 甲醛固定,5% 硝酸脱钙,系列酒精脱水,石蜡包埋,切片,HE 染色,在光镜下,观察骨小梁、骨细胞、髓腔脂肪细胞。随机观察 10 个高倍镜(10×40)视野内骨细胞陷窝数,计数空骨细胞陷窝数,求出空骨细胞陷窝率;10 个高倍镜(10×40)视野下进行成骨细胞计数。⑤骨密度(BMD)测定:参照丙酮排出法^[3,4]测量:取右侧股骨头放入丙酮中脱水 72 h,每 24 h 换丙酮 1 次,脱水后标本放入电热恒温箱干燥后,用电子分析天平精确称重(精确到 0.001 g)。用排开丙酮法测定各标本的体积(精确到 0.01 cm³),然后计算各标本的 BMD。

1.6 统计学处理 所有数据均采用 SPSS 10.0 软件处理,行单因素方差分析及 SNK 法组间两两比较。

2 结果

2.1 一般指标的观察 除对照组外的 4 组家兔在

第四次注射激素时,体重开始减轻,皮下脂肪渐少,毛发蓬松,活动少,但骨碎补组和丹参+骨碎补组上述变化较轻。取材时,5 组家兔股骨头无一例塌陷,关节软骨外观无明显变化,除对照组外,其余 4 组股骨头松脆,易剖开凿切。

2.2 血液流变学变化 8 周后,模型组全血粘度、血浆粘度、红细胞聚集指数均显著增加(模型组与对照组比较 $P<0.01$),丹参和骨碎补均可使全血粘度、血浆粘度明显降低。丹参可使 RBC 聚集指数降低,(丹参组与模型组相比 $P<0.01$),骨碎补则无此作用(骨碎补组与模型组比较 $P>0.05$)。丹参+骨碎补组 RBC 压积较丹参组明显增加($P<0.05$),其余各组间 RBC 压积无统计学差异(见表 1,2)。

表 1 血液流变学检测结果($\bar{x} \pm s$)

组别	n	全血粘度(MPa·s)		
		200/s	30/s	3/s
模型组	10	4.808 ± 0.294 ^{e1}	7.285 ± 0.213 ^{e1}	17.810 ± 0.902 ^{e1}
		4.040 ± 0.187 ^{e1a1}	6.720 ± 0.123 ^{a1}	12.715 ± 1.363 ^{a1}
丹参组	10	4.538 ± 0.070 ^{e1a1b1}	7.084 ± 0.199 ^{e1a5b1}	14.929 ± 0.909 ^{e1a1b1}
		4.154 ± 0.332 ^{e1a1c1}	6.616 ± 0.100 ^{a1c1}	14.013 ± 1.318 ^{e1a1b5}
骨碎补组	10	3.326 ± 0.113	6.551 ± 0.367	12.005 ± 0.839
		4.154 ± 0.113	6.551 ± 0.367	12.005 ± 0.839
丹参+骨碎补组	10	4.154 ± 0.113	6.551 ± 0.367	12.005 ± 0.839
对照组	10	3.326 ± 0.113	6.551 ± 0.367	12.005 ± 0.839

注:①e1、a1、b1、c1 分别代表各组与对照组、模型组、丹参组、骨碎补组比较 $P<0.01$ 。②e5、a5、b5、c5 分别代表各组与对照组、模型组、丹参组、骨碎补组比较 $P<0.05$ 。③以下各表统计符号及意义与此相同。

表 2 血液流变学检测结果($\bar{x} \pm s$)

组别	n	血浆粘度(MPa·s)	RBC 压积(%)	RBC 聚集指数
模型组	10	1.839 ± 0.229 ^{e1}	36.205 ± 2.126	6.161 ± 0.157 ^{e1}
		1.432 ± 0.087 ^{e1a1}	33.502 ± 3.182	5.055 ± 0.153 ^{e1a1}
丹参组	10	1.596 ± 0.111 ^{a1b1}	34.909 ± 3.480	6.159 ± 0.133 ^{e1b1}
		1.715 ± 0.124 ^{a5b1}	36.606 ± 3.426 ^{b5}	5.946 ± 0.165 ^{e1a1b1c1}
骨碎补组	10	1.624 ± 0.076	35.175 ± 2.744	4.847 ± 0.172
		1.624 ± 0.076	35.175 ± 2.744	4.847 ± 0.172
丹参+骨碎补组	10	1.624 ± 0.076	35.175 ± 2.744	4.847 ± 0.172
对照组	10	1.624 ± 0.076	35.175 ± 2.744	4.847 ± 0.172

2.3 血脂变化 8 周后模型组 TCH、TG 水平明显升高(模型组与对照组比较 $P<0.01$),丹参与骨碎补均有降低血脂作用(丹参组与模型组、骨碎补组与模型组比较 $P<0.01$)。而以丹参与骨碎补联合应用效果最佳(见表 3)。

表 3 血脂检测结果($\bar{x} \pm s, \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)

组别	n	TCH	TG
模型组	10	3.979 ± 0.520 ^{el}	4.672 ± 0.737 ^{el}
丹参组	10	2.782 ± 0.224 ^{elal}	2.695 ± 0.403 ^{elal}
骨碎补组	10	2.580 ± 0.462 ^{elal}	2.869 ± 0.387 ^{elal}
丹参 + 骨碎补组	10	1.533 ± 0.148 ^{elalblcl}	1.788 ± 0.507 ^{elalcl}
对照组	10	1.029 ± 0.172	1.612 ± 0.598

2.4 血钙血磷变化 8 周后模型组造成低血钙,血钙血磷乘积下降,而骨碎补组、骨碎补 + 丹参组血钙和血钙血磷乘积升高明显(两组与模型组比较 $P < 0.01$),丹参对血钙及血钙磷乘积无影响(丹参组和模型组比较 $P > 0.05$)(见表 4)。

2.5 骨密度及骨组织形态学改变 8 周后:①4 组 BMD 较对照组下降($P < 0.01$),模型组下降明显,骨碎补组和丹参 + 骨碎补组下降不明显。②4 组软骨下区空骨陷窝率较对照组增高($P < 0.01$),模型组上升显著,丹参 + 骨碎补组上升少。③4 组成骨细胞数

表 4 血钙磷变化($\bar{x} \pm s, \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)

组别	n	钙	磷	钙磷乘积
模型组	10	1.300 ± 0.186 ^{el}	1.202 ± 0.281	1.478 ± 0.356 ^{el}
丹参组	10	1.482 ± 0.409 ^{el}	1.144 ± 0.273	2.038 ± 0.485 ^{el}
骨碎补组	10	2.331 ± 0.135 ^{albl}	1.337 ± 0.359	3.099 ± 0.819 ^{albl}
丹参 + 骨碎补组	10	2.244 ± 0.153 ^{elalbl}	1.162 ± 0.264	2.538 ± 0.687 ^{albl}
对照组	10	2.479 ± 0.117	1.082 ± 0.333	2.668 ± 0.829

较对照组减少($P < 0.01$),使用丹参和骨碎补组可促成骨细胞增多,骨碎补组和丹参 + 骨碎补组效果明显,该两组成骨细胞数与对照组相比无统计学差异(见表 5)。

2.6 光镜下观察 对照组骨小梁排列规则、致密、骨细胞核大,多位于中央,偶见骨陷窝空虚;模型组

表 5 骨密度及骨组织形态学改变($\bar{x} \pm s, sE$)

组别	n	骨密度(BMD) (g/cm^3)	空骨陷窝率(%)	成骨细胞数 (个)
模型组	10	0.928 ± 0.096 ^{el}	24.89 ± 1.494 ^{el}	146.51 ± 8.777 ^{el}
丹参组	10	1.094 ± 0.218 ^{elal5}	20.57 ± 1.468 ^{elal}	157.59 ± 10.030 ^{elal}
骨碎补组	10	1.251 ± 0.092 ^{elalbl5}	18.44 ± 1.152 ^{elalbl}	162.64 ± 7.329 ^{el}
丹参 + 骨碎补组	10	1.367 ± 0.130 ^{elalbl}	16.27 ± 0.867 ^{elalblcl}	166.85 ± 10.587 ^{albl5}
对照组	10	1.810 ± 0.135	12.92 ± 1.47	167.11 ± 6.754

骨小梁稀疏变细,甚至有断裂现象,骨细胞核边聚,固缩,空骨陷窝明显增多,髓腔内脂肪细胞增多,有的融合成泡;丹参组骨小梁细长,结构尚齐整,脂肪细胞较模型组少;骨碎补组骨小梁排列规则,周沿有较多的成骨细胞,骨细胞结构清晰,核较大,多位于中央;丹参 + 骨碎补组骨小梁排列较致密,周沿有丰富的成骨细胞,骨细胞核较大,多位于中央,少见空骨陷窝。

3 讨论

长期使用或短期大量使用激素能引起软骨下区空骨陷窝率增高,即早期股骨头坏死。本实验 8 周后见股骨头空骨陷窝率达 24.7%,与对照组相比差异有显著性意义($P < 0.01$),说明本实验造模是成功的。

丹参与骨碎补防治 SANFH 的作用机制不同,两者有协同作用。丹参能改善 SANFH 家兔模型的血液流变学,改善微循环,保证组织的有效灌注,给骨细胞的代谢提供一个良好的环境,使脂质代谢紊

乱及其代谢产物及时得到输送,营养物质及时得到补给。而骨碎补能增加成骨细胞的功能,提高血钙浓度及其钙磷乘积预防激素所致的骨质疏松,维持正常骨组织的力学框架,有利于血管的长入和骨细胞正常功能的发挥。本实验结果亦证明丹参与骨碎补并用组的空骨陷窝率、血脂明显低于其它用药组,血液流变学及 BMD 明显改善。提示两药合用优于单用,给临床防治 SANFH 补肾与活血并重之治则提供了理论依据。但丹参与骨碎补联合应用还存在最佳配伍剂量的选择和升高红细胞压积的机制等问题,有待于进一步研究。

参考文献

- 1 汤慕兰,程秀英.骨碎补用于解除链霉素副反应的介绍.抗生素,1981,6(4):52.
- 2 贺西京,毛履真,王坤正,等.肾上腺皮质激素引起股骨头坏死的机制实验研究.中华骨科杂志,1992,12(6):440.
- 3 马克昌,高子范,张灵菊,等.骨碎补对大白鼠骨质疏松模型的影响.中医正骨,1992,4(4):3.
- 4 陈俊文,谭清武,宋秀锦.补肾健脾活血方药对地塞米松诱发的老年大鼠骨质疏松的作用.中医药研究,2001,17(6):36.

(收稿:2003-03-31 编辑:李为农)