

# 壮筋活血汤对骨性关节炎软骨退变防治作用的生化研究

郭建刚 冯坤 赵然 侯桂英

(洛阳正骨研究所, 河南 洛阳 471002)

**【摘要】** 目的 研究中药壮筋活血汤对骨性关节炎软骨退变防治作用的机制。方法 用27只家兔, 分成正常组、对照组(复制 Hulth 骨性关节炎模型)和用药组(造模后用壮筋活血汤治疗)。术后4、8、12周取胫骨平台软骨做糖醛酸、羟脯氨酸含量及含水率的测定。结果 对照组糖醛酸值低于正常组, 8、12周时与正常组有明显差异; 用药组的糖醛酸值呈逐渐增加趋势, 与正常组比无显著差别, 但8、12周时显著高于对照组。羟脯氨酸含量在对照组、用药组、正常组间无显著差别。对照组合水率略高于正常组, 用药组略低于正常组, 8周时用药组显著低于对照组。结果显示壮筋活血汤能促进软骨基质的合成代谢, 而对基质分解代谢的抑制作用较弱。结论 实验证明, 壮筋活血汤抑制了软骨退变的发展, 促进了软骨自身的修复。

**【关键词】** 骨性关节炎 壮筋活血汤 中医疗法

**The Therapeutic and Preventive Effect of Zhuangjin Huoxue Tang on Experimental Osteoarthritis: A Biochemical Study** Guo J iangang, Feng Kun, Zhao Ran, et al Luoyang Orthopedic- Traumatological Institute of Henan Province, Luoyang (471002)

**【Abstract】** **Objective** To study the mechanism of the therapeutic and preventive effect of Zhuangjin Huoxue Tang (ZHT) on cartilage degeneration in osteoarthritis (OA). **Methods** Twenty seven rabbits were divided into three groups: intact group, OA group remodeled OA with Hulth's procedure, and ZHT treated group (remodeled OA and treated with ZHT). At 4, 8, 12 weeks after operation, the articular cartilages of tibial plateau were taken and the contents of uronic acid (UA) and hydroxyproline (HOP) and the water ratio (WR) in the cartilage were determined. **Results** The UA value in OA group was lower than that in intact group, the UA content in ZHT treated group was gradually increased to the normal level and was prominently higher than that in OA group at 8th and 12th week. The content of HOP had no significant difference between OA group treated group and no intact group. The WR in OA group was slightly higher than that in intact group, and the WR in ZHT treated group was slightly lower than that in intact group and prominently lower than that in OA group at 8th week. The results illustrated that ZHT could stimulate the anabolism of cartilage matrix and slightly inhibit the catabolism of it. **Conclusion** ZHT can inhibit the retrogression of cartilage and promote the repair of cartilage.

**【Key words】** Osteoarthritis Zhuangjin Huoxue Tang TCM therapy

对骨性关节炎的防治, 我国的中医中药经过长期实践, 积累了较丰富的经验, 补肝肾、强筋骨、活血化瘀、温经散寒的用药原则是众多治疗骨性关节炎方剂的主要原则, 我们依此原则拟定了以熟地、山药、牛膝、山萸肉、土鳖虫、红花等中药组成的方药壮筋活血汤, 对实验性家兔的膝骨性关节炎模型进行防治, 观察其对软骨退变的作用。

## 材料与方

1. 动物与分组 实验用6~10月龄日本大耳白家兔(济南军区150医院动物房提供)27只, 体重2.5~

3.5kg, 雌雄不分, 3只做正常组, 余随机分为用药组与对照组, 每组12只。

2. 造模方法 复制 Hulth 骨性关节炎模型: 随机选一侧后肢膝关节为手术造模关节, 3%戊巴比妥钠30mg/kg耳静脉注射麻醉, 取内侧髌旁切口, 切断内侧副韧带, 打开关节腔, 以眼科剪剪断前后交叉韧带, 并切除内侧半月板, 抽屜试验确认前后交叉韧带完全剪断后, 彻底止血, 冲洗关节腔, 逐层缝合, 术后庆大霉素抗炎治疗3天。

3. 给药 本实验用汤剂, 按人用量折算每只家兔

用量为 6.43g/kg/d 生药。用药组每日上午先给药及饲料，适当限制饮水，强迫进药，对照组常规喂养。

4. 取材与分析 正常组喂养 1 周后处死，取双侧膝胫骨平台全层软骨做生化分析，用药组与对照组分别于术后 4 周、8 周、12 周分批处死，取手术关节胫骨平台全层软骨做生化分析，测定糖醛酸、羟脯氨酸及含水率。

(1) 仪器与试剂 HP8452A 紫外分光光度计 (美国)，Mettler H54AR 十万分之一天平 (瑞士)。羟脯氨酸标准品为 Sigma 公司产品，其余试剂均为分析纯。

(2) 分析方法 取材后，用滤纸吸干软骨表面水分，精确称取湿重后置丙酮中脱水 24 小时，然后真空干燥器中室温下干燥 1 周至恒重，精确称取干重，计算含水率。干燥后软骨片，用 0.1% 木瓜酶消化 (0.1M 磷酸缓冲液，pH 6.5，2mM EDTANa<sub>2</sub>，5mM 半胱氨酸，67℃，8 小时)。准确取一半消化液稀释后，用 Bitter 等法<sup>[1]</sup>测己糖醛酸含量，另一半消化液加等体积盐酸于 108℃ 消化 12 小时，用 Newman 等法<sup>[2]</sup>测羟脯氨酸含量。

### 结果

术后家兔均有跛行，短期内手术膝内侧有炎性包块，经抗炎治疗多数消失，4 周的用药组和对照组各有 1 只感染严重，并发窦道，取材时发现软骨龟裂，软化特别严重，感染影响了结果的可靠性，剔除不用。实验过程中用药组与对照组各死 1 只，取材时调整为 8 周组各 4 只，12 周组各 3 只。

1. 糖醛酸含量 对照组软骨糖醛酸含量呈下降趋势，但 4、8、12 周的测定值之间无显著差异。用药组软骨糖醛酸含量呈上升趋势，8 周与 4 周，12 周与 8 周，12 周与 4 周的测定值相比均有显著差异 (0.01 < P < 0.05)。用药组与对照组的测定值相比 4 周时无显著差异，8 周、12 周时有显著差异 (P < 0.01)。对照组与正常组比较，4 周时无显著差异，而 8 周、12 周时则有显著差异。对照组值 4 周后显著减低，而用药组与对照组比较 4、8 周时虽有降低，但与正常组无显著差异，12 周时接近正常值，实验中呈递增 (表 1)。

表 1 软骨糖醛酸含量 (μg/mg 干重  $\bar{x} \pm s$ )

取材时间 (周)	关节数	正常组	对照组	用药组
1	6	79.42 ± 6.99		
4	3		65.30 ± 11.44 <sup>+</sup>	71.43 ± 2.51 <sup>+</sup>
8	4		63.45 ± 6.46 <sup>*</sup>	77.65 ± 3.19 <sup>+</sup>
12	3		63.10 ± 6.46 <sup>*</sup>	80.10 ± 2.74 <sup>+</sup>

注: + 与正常组比 (P > 0.05) \* 与正常组比 (P < 0.01) 与对照组比 (P > 0.05) 与对照组比 (P < 0.01)

2. 羟脯氨酸含量 用药组与对照组间及两组与正常组间相比均无显著差异，各组内部纵向比较亦无显著改变 (表 2)。

表 2 软骨羟脯氨酸含量 (μg/mg 干重  $\bar{x} \pm s$ )

取材时间 (周)	关节数	正常组	对照组	用药组
1	6	84.85 ± 6.91		
4	3		84.18 ± 5.10	82.27 ± 7.51
8	4		76.78 ± 3.25	80.20 ± 2.59
12	3		81.23 ± 3.78	83.70 ± 7.21

3. 含水率 用药组在 4、8、12 周时的测定值均低于对照组，在 8 周时，两组间有显著差异，其余均无显著差异，纵向观察亦无显著性差异。对照组值略高于正常组，用药组值略低于正常组，但无显著差异 (表 3)。

表 3 软骨含水率 (%  $\bar{x} \pm s$ )

取材时间 (周)	关节数	正常组	对照组	用药组
1	6	60.56 ± 2.15		
4	3		63.83 ± 3.94	57.06 ± 5.92
8	4		65.45 ± 3.40	52.28 ± 6.13 <sup>*</sup>
12	3		65.43 ± 2.00	59.80 ± 1.31

注: \* 与对照组比 (0.01 < P < 0.05)

以上结果表明，在实验时限内，壮筋活血汤对软骨的生化成分含量的影响，主要是显著增加了软骨内蛋白多糖的含量，而对含水率影响较小，对胶原含量无影响。

### 讨论

骨性关节炎的实质是软骨的退行性改变，其中包括软骨结构及生化成分的改变。一系列的研究<sup>[3-5]</sup>证明，无论是人还是动物模型的骨性关节炎病变软骨，均存在着软骨生化成分的显著改变，主要表现为软骨所含的蛋白多糖的渐进性减少，含水率的渐进性增加，与水亲合力的增加，而胶原的含量则相对稳定不变。本实验用 Hulth 骨性关节炎模型，对照组胫骨平台软骨的糖醛酸、羟脯氨酸含量，及含水率方面变化，基本反应了骨性关节炎软骨生化的变化规律，纵向比较没有明显差异可能与实验的总时间及取材间隔时间较短有关。

活体内软骨处在不断的代谢之中，蛋白多糖、胶原均由软骨细胞合成，分解代谢与合成代谢在正常软骨

中维持平衡,骨性关节炎时,分解代谢加强,以致基质丢失,而胶原由于自身的特殊稳定的三联螺旋结构,不易被分解,因而代谢缓慢,这可能是骨性关节炎病变软骨中胶原含量变化较小的原因。Ehrlich 等<sup>[3]</sup>、Mankin 等<sup>[4,5]</sup>、Bollet 等<sup>[6]</sup>的研究表明,在骨性关节炎病变严重程度达一定程度前,基质的合成随病变进展而增加。Weiss 等<sup>[7]</sup>的电镜观察发现,病变软骨内细胞的高尔基器及粗面内质网等有关合成与分泌的细胞器增加,功能活跃,这表明软骨在受到损害后,自身有修复反应。所以,及早应用药物促进退变软骨修复,可能是防治骨性关节炎的一个良好途径。

本实验用药组的软骨糖醛酸含量呈递增趋势,始终高于对照组,而与正常组值无显著差别,说明所用药物能促进退变软骨的基质合成,使其合成超过了分解,造成基质量的积累,但也可能是抑制了基质的分解,从而维持了用药组软骨糖醛酸含量的基本正常。羟脯氨酸的变化,用药组与对照组间无差异,表明胶原含量的相对稳定。

含水率的影响因素较复杂,和胶原、蛋白多糖的含量、结构、亚成分变化均有关系<sup>[6,8]</sup>。正常情况下,胶原在软骨内形成纤维网架,蛋白多糖位于其网中,蛋白多糖是一种多阴离子体,易结合水而形成凝胶。胶原网的刚性限制蛋白多糖的体积,蛋白多糖和胶原相互间结合形成蛋白多糖胶原凝胶。在骨性关节炎时,这种结构遭到破坏,蛋白多糖分解丢失,理论上应伴有结合水的减少,但研究表明,软骨水含量在骨性关节炎时是增加的<sup>[6,8]</sup>,推测是由于胶原凝胶是结合水更有效的凝胶,蛋白多糖的丢失,导致了更多的胶原凝胶的形成,从而增加了软骨内水含量。此外,也有可能是由于蛋白多糖分解产生了更多的小分子单位,增加了软骨内的分子浓度,从而导致高渗吸水。另外,电镜下可见病变软骨内胶原纤维是肿胀的<sup>[9]</sup>,这种变化导致胶原对蛋白多糖凝胶水化的限制减弱,从而导致水的增加。含水率的增加代表着软骨退变的多方面改变,主要与软骨的分解代谢关系密切。

本实验用药组与对照组相比,病变软骨含水率降低,虽只有8周时有显著差别,仍能说明所用药物对软骨退变的抑制作用,但总体上两组间水含量差别不显著,说明用药组与对照组软骨的分解代谢水平基本相当。结合本实验软骨糖醛酸的变化规律分析,我们认为实验所用药物主要作用是促进了软骨细胞的合成代谢,对分解代谢影响较少,因而用药组与对照组的含

水量相比总体差异不大。

软骨细胞所合成的基质在软骨内要发挥其正常的生理作用,可能还需要进一步的成熟完善,聚合成特有的结构,并和胶原很好结合形成混合凝胶。如果这样的话,用药组软骨最终各方面都可能接近或恢复正常。本实验可能由于时间较短,不能证明用药组病变软骨一定会恢复到正常状态。

壮筋活血汤的组方原则是补肾肝、强筋骨、活血化瘀、温经散寒。因为中医认为肝主筋,肾主骨,肝肾同源,肝血充盈,肾精旺盛,淫气于筋骨,则筋骨强健,关节活动自如。骨性关节炎系由于肝肾亏损,筋骨不健,加上寒湿凝滞所致的痹症,所以治疗上应培补肝肾,活血化瘀,温经散寒。本实验用生化分析的方法确认了实验用药防治骨性关节炎软骨退变的有效作用,也证实了该治疗原则的正确性。

#### 参考文献

- [1] Bitter T, Muir T. A modified uronic acid carbazole reaction. *Anal Biochem* 1962, 4: 330
- [2] Newman RF, Logan MA. The determination of hydroxyproline. *J Biol Chem* 1950, 184: 299
- [3] Ehrlich MG, Mankin HJ, Jones H, et al. Biochemical confirmation of an experimental osteoarthritis model. *J Bone Joint Surg* 1975, 57- A (3): 392
- [4] Mankin HJ, Dorfman H, Louis L, et al. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteoarthritic human hips. *J Bone Joint Surg* 1971, 53- A (3): 523
- [5] Mankin HJ, Louis L. Biochemical and abnormalities in articular cartilage from osteoarthritic human hips. *J Bone Joint Surg* 1970, 52- A (3): 424
- [6] Bollet AJ, Nance JL. Biochemical findings in normal and osteoarthritic articular cartilage. II. Chondroitin sulfate concentration and chain length, water, and ash content. *J Clin Invest* 1966, 45 (7): 1170
- [7] Weiss C, Mifrow S. An ultrastructural study of osteoarthritic change in the articular cartilage of human knee. *J Bone Joint Surg* 1972, 54- A (5): 954
- [8] Mankin HJ, Thrasher AZ. Water content and binding in normal and osteoarthritic human cartilage. *J Bone Joint Surg* 1975, 57- A: 76
- [9] 柴本甫, 汤雪明. 髌关节骨关节炎超微结构研究. *中华骨科杂志*, 1990, 10 (4): 290

(收稿: 1998- 03- 01; 修回: 1998- 04- 29)