

骨骼肌缺血再灌注损伤及发病机制初探

张俐 Chen LE Ding EY Seaber AV Urbaniak JR
(美国杜克大学医学中心)

【摘要】 目的 探讨骨骼肌缺血再灌注损伤过程的微循环变化、组织学改变以及多肽含量变化和意义。方法 42 只雄性大鼠随机分为留伴行神经组和去伴行神经组,建立标准骨骼肌缺血再灌注模型。采用激光多普勒及显微放大分析系统、组织学方法以及凝胶电泳方法等观察缺血再灌注损伤变化。结果 缺血再灌注损伤后的骨骼肌微血管管径在 20 分钟时恢复率基本达到高峰约 60%,此后为平台期:90 分钟最高峰,为 75%。主干血管流速率亦在 20 分钟基本达到上限。病理检查显示:缺血的骨骼肌纤维呈空泡状,核形态增大,染色加深,红细胞严重聚集。凝胶蛋白电泳提示:缺血骨骼肌中分子量 20 KD 左右的多肽显著增加。结论 骨骼肌缺血再灌注损伤发生后,骨骼肌的微循环发生不同程度的破坏,及因之导致骨骼结构损伤和异常的 20 KD 多肽含量明显增加,以及红细胞凝聚,白细胞的改变,这些共同构成了缺血再灌注损伤机制。

【关键词】 缺血,骨骼肌 组织学 微循环

Mechanisms of postischemic injury in cremaster muscle ZHANG Li, Chen LE, Ding EY, et al. Duke University Medical Center of U. S. A.

【Abstract】 Objective To study the changes of microcirculation, histology and polypeptide content in cremaster muscle after reperfusion following ischemia. **Methods** 42 Sprague-Daley rats were divided into two groups: innervation group and denervation group, and standard ischemia/ reperfusion injury models were established. Laser Doppler, microscopic analysis system, histological study and gel electrophoresis were applied to analyse the course of ischemia and reperfusion. **Results** At 20 minutes after ischemia/ reperfusion injury, the recovery ratio of capillary vessel diameter in cremaster muscle was 60% which was close to peak. Following period was balcony stage, and till 90 minutes it reached to top value—75%. The pathologic examination showed that ischemia cremaster muscle fiber of vacuoles appearance, increased and deeply dying cell nuclear and accumulation of RBC. The gel electrophoresis test showed that the content of polypeptide of molecular weight about 20 KD in ischemic cremaster muscle obviously increased. **Conclusion** All of the above outcomes indicated that the microvascular changes in the postischemic cremaster muscle were severe, while leads to failure of functional recovery after surgery. The mechanism of postischemic injury is not completely understood, but it may be incited by categories of ischemia, intimal damage, and systemic or local responses. The first tissue thought to be irreversibly injured is the endothelium and white blood cell.

【Key Words】 Ischemia, skeletal muscles Histology Microcirculation

在骨科临床中,各种原因如手术创伤等引起的骨骼肌缺血,导致再灌注损伤极为普遍。如何使血循环尽快、充分地重建成为手术成功及肢体功能康复的关键。本实验拟通过观察提睾肌缺血再灌注损伤过程中肌肉微循环的变化(各种大小不同的微血管管径及滋养动脉主干血流的变化情况)、正常不缺血肌肉及缺血再灌注损伤后肌肉的重量比较、肌肉病理组织切片及蛋白凝胶电泳等测定,初步探讨骨骼肌缺血再灌注损伤的发病机理。

作者简介:张俐(1967-),女,医学博士,副教授,现在美国杜克(Duke)大学医学中心骨科从事博士后研究工作。

1 材料与方法

1.1 实验动物及仪器 选择 42 只雄性,体重为 90~100g 的 Sprague-Daley 大鼠,严格执行美国实验动物管理委员会的规定,保持饮食、温度、自由活动度恒定。将上述大鼠随机分为两组,每组 21 只,分别造成留伴行神经组(Innervation Group,简称 I 组)及去伴行神经组(Denervation Group,简称 D 组)的标准骨骼肌缺血再灌注的模型。

主要仪器包括:激光多普勒血流仪(英国 Moor 仪器公司制造,型号:MBF₃,Deven,双探头)用于测定主干滋养动脉血流速率。激光探头以显微外固定支架固定(MM33 双能探头支持器,型号:Tilt Base,Wood Dale,IL)。以手术显微镜(德国

Leizz 仪器公司制造)与录像系统(型号:3CCD, Sony, 日本)测量微动脉血管管径。大鼠采用颈动脉插管,全自动检测术后至 2 小时血压、呼吸、脉搏的变化(型号:Mennen Medical Inc MR-139)。

1.2 实验动物模型的制备 使用戊巴比妥钠腹腔注射麻醉(50mg/kg 体重)后作左侧阴囊正中切口,暴露提睾肌后逐层游离,保留滋养提睾肌的神经、血管主干,严格阻断其余分支。小心分离该主干动脉蒂伴行的神经,切除 3mm,此为 D 组模型;保留与该主干动脉蒂伴行的神经,即为 C 组模型。固定大鼠于透明的有机玻璃固定架上。充分暴露提睾肌,表面以 33 的温林格氏液湿润后保鲜膜覆盖,热敏光源保温。

1.3 观测指标

1.3.1 血压、呼吸、脉搏 连续观测大鼠血压、呼吸、脉搏 2 小时。

1.3.2 血液流速检测 采用激光多普勒血流仪。探头正对要观测的提睾肌滋养动脉主干(标记好位置),该探头以触及但不压迫该动脉为宜。记录基础血流量。上血管夹后记录即时血流量以确保此时滋养提睾肌的动脉完全阻断。C 组缺血 5 小时,D 组缺血 3 小时后取下血管夹,使提睾肌自由灌注 90 分钟,记录其间每 10 分钟的即时血流量。

1.3.3 血管管径检测 采用显微放大镜及录像、放像分析系统在提睾肌选取同一平面若干不同管径大小的微动脉:10~20μm, 21~40μm, 41~70μm, 加以标记,记录即时基础血管管径。在 C 组缺血 5 小时,D 组缺血 3 小时后自由灌注 90 分钟。记录每 10 分钟的即时微血管管径。

1.3.4 组织称重 按照解剖标记,切取缺血再灌注损伤侧的提睾肌及对侧相应的肌肉,称重比较以确定水肿情况。

1.3.5 病理组织切片的制作及 HE 染色 切取肌肉组织块,用福尔马林溶液固定。经脱水、包埋后,超薄切片,固定,采用苏木素-伊红染色。

1.3.6 肌肉蛋白的聚丙烯酰胺凝胶电泳测定 切取肌肉组织,在液氮中速冻,然后置 -80 冰箱内保存。使用时,将肌肉组织置于干冰中,然后称重,加入适量生理盐水,并在匀浆器上进行匀浆处理,再经超声波处理(共 3 次,每次 20 秒钟)后,将此溶液转移至 eppendorf 管中,离心 15 分钟。取上清液,再离心 15 分钟,最后将上清液转移至另一新 eppendorf 管中,并应用 Bradford 方法测定其上清液的蛋白质浓度。

液,再离心 15 分钟,最后将上清液转移至另一新 eppendorf 管中,并应用 Bradford 方法测定其上清液的蛋白质浓度。

分别配制 15% 的 SDS 聚丙烯酰胺凝胶以及 5% 贮存胶。将经匀浆及超声波处理过的待测肌肉组织溶液的一定量的样品缓冲液(10mmol/L, Tris - HCL, PH8.0, 1mmol/L EDTA, 2.5% SDS),少量溴酚蓝,5% 二巯基乙醇,2.5% 蔗糖混合,100 煮沸 3 分钟,以使蛋白的变性。加样后进行电泳,电泳缓冲液为(192mμ 甘氨酸, 25mμ Tris, 0.1% SDS)。电泳时,电压为 90 伏特,电泳时间约为 5 小时,电泳结束后,取出凝胶,用染色液(40% 甲醇, 7% 乙酸, 0.2% 考马斯亮蓝 R250)染色,室温过夜,经脱色液(甲醇 水 36% 乙酸 = 5 5 1)脱色后,再用 10% 乙酸完全脱色,并分析其蛋白凝胶电泳结果。

1.4 统计学处理 统计软件采用配对 t 检验及 Two-Way ANOVA。P < 0.05 说明差异显著, P < 0.01 说明差异极为显著。

2 结果

(1) 连续动态观察大鼠的血压、呼吸及脉搏 2 小时,持续稳定,说明两种动物模型安全可靠。

(2) 大鼠骨骼肌缺血 3 小时及 5 小时后再灌注过程中,平均血流的恢复率见表 1。

表 1 骨骼肌缺血再灌注滋养动脉干血流速恢复率(%)的变化($\bar{x} \pm s$)

血流灌注时间(分钟)	缺血后血流速率	
	3 小时	5 小时
10	30.2 ± 15.8	36.2 ± 19.6
20	48.9 ± 15.8	32.8 ± 19.1
30	56.8 ± 32.2	37.3 ± 18.9
40	51.7 ± 24.6	41.4 ± 20.5
50	56.8 ± 24.8	45.0 ± 17.6
60	67.4 ± 30.2	43.4 ± 16.9
70	59.4 ± 28.8	40.2 ± 16.8
80	64.7 ± 24.1	40.4 ± 18.1
90	72.3 ± 21.4	45.0 ± 17.9

(3) 大鼠骨骼肌缺血 3 小时及 5 小时后再灌注过程微血管管径恢复率见表 2。

表 2 骨骼肌缺血 3 小时和 5 小时后 3 种微血管管径恢复率(%)变化($\bar{x} \pm s$)

血流灌注时间(分钟)	缺血后微血管管径恢复率					
	3 小时			5 小时		
	10~20μm	21~40μm	41~70μm	10~20μm	21~40μm	41~70μm
10	56.6 ± 6.0	67.3 ± 7.3	68.5 ± 7.8	60.9 ± 17.3	57.5 ± 11.7	62.7 ± 10.9
20	59.2 ± 6.4	71.1 ± 5.0	70.5 ± 8.3	61.3 ± 12.7	69.1 ± 9.0	68.4 ± 10.5
30	60.7 ± 5.9	72.6 ± 5.8	72.7 ± 6.6	64.9 ± 13.6	76.8 ± 13.0	72.2 ± 8.2
40	58.2 ± 6.1	68.3 ± 6.6	71.9 ± 6.3	65.3 ± 19.5	70.2 ± 12.5	66.1 ± 8.2
50	63.0 ± 7.0	72.4 ± 6.6	73.2 ± 5.0	69.5 ± 16.4	73.8 ± 12.8	69.9 ± 9.7
60	64.7 ± 7.2	74.9 ± 7.6	75.0 ± 6.2	67.2 ± 13.7	76.6 ± 11.2	71.2 ± 9.5
70	65.6 ± 6.5	73.1 ± 7.5	75.4 ± 6.8	70.7 ± 17.1	76.8 ± 11.7	71.7 ± 9.2
80	66.5 ± 6.9	75.2 ± 7.1	76.2 ± 5.8	72.0 ± 12.8	77.4 ± 14.0	72.2 ± 9.3
90	68.7 ± 7.6	76.0 ± 6.9	77.6 ± 4.9	71.6 ± 10.9	78.0 ± 11.0	73.2 ± 1.5

(4) 由肌肉灌注后湿重比率来看,5 小时组为(204.8 ± 38.7)%;3 小时组为(212.6 ± 17.6)%;两组之间无显著性差

异。但 5 小时组大鼠肌肉湿重明显比 3 小时组重,有显著性差异 $0.327 \pm 0.032\text{g}$ 比 $0.265 \pm 0.041\text{g}$ ($P < 0.05$)。说明缺血再灌注损伤导致肌肉炎性渗出水肿。

(5) 病理组织切片结果:两组缺血侧组织间隔均明显加大,肌纤维呈空泡状,细胞核的形态增大,染色明显加深,呈“暗灰”色。细胞与细胞间隙不均匀。对照侧,组织间隔更大,细胞排列有序,肌纤维及细胞核形态、色泽正常。此外,缺血侧红细胞聚集现象远比对照侧严重(见图 1、图 2)。

(6) 凝胶蛋白电泳显示,缺血侧提睾肌组织的蛋白成分中,大小约 20 KD 左右的多肽含量明显高于未缺血侧,且肌肉组织缺血时间越长,该多肽含量越高。而缺血侧与未缺血侧的其余肌肉组织的蛋白成分则大致相同(见图 3)。

3 讨论

骨骼肌缺血再灌注损伤是由复杂的多因素引起的病理生理及生物力学改变,并导致组织功能障碍的一种常见现象,Ames 等^[1] 1968 年首次提出的,这种缺血再灌注损伤甚至导致“无复流”现象。这个问题至今尚未完全解决^[2],成为困扰外科手术成功及肢体功能康复的关键。目前,导致该现象的原因可能包括:缺血的种类、程度、系统或局部的反应。以下三种病理因素已被证实在其中起主导作用:细胞内 Ca^{2+} 超负荷;氧自由基间接损害;二十碳四烯酸代谢产物。这三种因素在很大的程度上相互关联,在不同步聚上相互介入^[3]。

尽管出现此现象的原因尚未完全明了,但血管内皮功能障碍及白细胞粘附可能是该病的起始点。这种控制血流系统的复杂性显而易见。就调节血管张力而言,包括了许多复杂的机制:肌原性自动调节;体液调节,如肾上腺皮质激素的释放;内源性调节,如去甲肾上腺素的释放。另外,血管外血液的刺激易产生血管痉挛。

缺血再灌注的整个过程的观察,可知缺血后微动脉的血管径与初始状态相比明显狭窄,内皮细胞和白细胞肿胀,红细胞呈线串状。从放大显微成像系统和激光多普勒系统可以看出,上血管夹后 10 分钟血流完全阻断。缺血 3 小时后,白细胞的体积增加,细胞数量减少;缺血 5 小时,一些白细胞扩大甚至占据整个毛细血管及后毛细血管的小静脉。在一些区域的毛细血管和小静脉,单个红细胞的边界不清,间隙内出血。

缺血 3 小时后再灌注 90 分钟,肌肉内出现充血或部分充血。充血迅速以动脉近端向远端,从中央向周边蔓延,大约 5 分钟完全灌注期间,血流速率及开放毛细血管的数目同时增加。当缺血时间延长至 5 小时后,完成灌注延迟至 10~20 分钟。肌肉的不同区域血流恢复率不同:迅速恢复、缓慢恢复、无血流或返流可以同时出现在同一肌肉上。在血流恢复快的区域,可以达到缺血前的血流水平;在恢复慢的区域,各种管径毛细血管内血流缓慢,甚至可见单个血细胞运动在一些区域的毛细血管,未见血流再灌注,这可能由于聚集的白细胞阻塞血管或者由于血管持续痉挛。通常,在恢复灌注的过程中,在不同的时间间隔里,血液初始缓慢的区域,血流有时自发增快;而已建立的血流再灌注区域,血流却突然减慢,甚至无血流。一些区域在灌注初始或一段时间后亦可见血流倒流现象。在一些大、小血管的分叉处,“涡流”现象亦表现得极为突出。“涡流”现象随着时间由近端向远端推移,可能与远、近端

分叉处管腔内的压力不均等有关。

肌肉表面局限性的出血是缺血后的一个常见表现。血液内的成分以不同的速率向血管外渗出可能与内皮的收缩、舒张功能不平衡有关。这种功能性的不平衡也诱发水肿与毛细血管通透性增加^[4,5]。由静脉性充血引起的静脉系统的阻力增加亦是引起局部出血的原因。

一系列有害于血流灌注的因素可以发生在组织缺血过程及过后动脉的局部痉挛,可能减少血流进入组织并引起区域性的灌注失败。多核白细胞的粘附与水解可能损害管腔。移行的多核白细胞粘附在血管外壁并压迫血管造成管腔狭窄。串状的红细胞和聚集的血小板会阻塞血管从而影响血流。间质内的局部出血刺激血管痉挛或通过血管外张力的提高导致管腔内压力增大。静脉充血可能阻滞组织液回流导致弥漫性出血和血液灌注的停止。

任何单一因素或复合因素均会引起区域性或局部微循环的破坏。肌肉受损的程度与微循环破坏的程度及缺血时间密切相关。这就足以解释长时间缺血会出现区域性、阶段性的无复流,最终导致局部肌肉组织坏死。骨科临床的肢体置换术常导致肌肉丧失部分或全部功能的原因就在于此。

多核白细胞的滚动、粘附和移行主要出现在超毛细血管的静脉和毛细血管,尤其是分叉处。这与一些报道相一致^[6,7]。多核白细胞的移行是机体抵抗感染与损伤的保护性反应^[8]。然而,若移行的多核白细胞水肿和粘附导致血管管腔堵塞则将产生如上所述的微血管灌注的不平衡等有害作用。进一步而言,多核白细胞的粘附与移行也诱发内皮细胞的完整性丧失从而导致血流及大分子物质渗出到组织间隙中。导致多核白细胞的移行与粘附的机制尚未完全明了。一旦多核细胞粘附在内皮上,多核白细胞即释放细胞毒性酶与蛋白酶,氧自由基及脂质的代谢产物进一步加重组织及内皮的损害。所以,降低多核白细胞诱发损伤在防止或减少无复流现象中起着至关重要的作用。

综上所述,再灌注过程中,主要出现:血流方式的改变;涡流现象;区域性血流瘀滞;局部出血、水肿;血管痉挛;血小板凝聚、红细胞聚集;白细胞粘附与移行;内皮及白细胞水肿等一系列复杂的病理改变和现象。

由蛋白凝胶电泳的结果分析表明,缺血造成一定程度的组织的损伤,从而使某种组织成分(如 20 KD 多肽)在缺血组织中明显增高。目前,我们尚不知道该多肽成分结构与功能,也不知道该多肽成分是缺血造成组织损伤后,释放出可能进一步造成组织损伤的有害物质或是组织产生或释放出对受损组织起保护作用的有利物质。这些仍有待于进一步探讨。

(本文图 1~3 见插页 3)

参考文献

- [1] Ames A, Wright RL, Kowada M, et al. Cerebral ischemia: . . . The no reflow phenomenon. *Am J Pathol*, 1968, 52: 437-447.
- [2] Urbaniak JR, Richards RR, Dicke T. Complications in microvascular surgery. In: Epps CJ. *Complications in Orthopaedics Surgery*. 3 Ed. Philadelphia: JB Lippincott, 1994. 791-809.
- [3] Allen DM, Chen LE, Seaver AV, et al. Pathophysiology and related studies of the no reflow phenomenon in skeletal muscle. *Clin Orthop*, 1995, 314: 122-133.

[4] Kurose I, Kubes P, Wolf R, et al. Inhibition of nitric oxide production: Mechanisms of vascular albumin leakage. *Cir Res*, 1993, 73: 164-171.

[5] Oliver JA. Endothelium-related relaxing factor contributes to the regulation of endothelial permeability. *J Cell Physiol*, 1992, 151: 506-511.

[6] Walker PM. Ischemia/ reperfusion injury in skeletal muscle. *Ann Vasc Surg*, 1991, 5: 399-402.

[7] Ergler KL, Dablgem MD, Peterson MA, et al. Accumulation of polymorphonuclear leukocyte during 3h experimental myocardial ischemia. *Am J Physiol*, 1986, 251: H93-100.

[8] Lehr HA, Menger MD, Messner K. Impact of leukocyte adhesion on myocardial ischemia/ reperfusion injury: Conceivable mechanisms and proven facts. *J Lab Clin Med*, 1993, 121: 539-545.

(收稿: 2000-12-15 修回: 2001-02-28
再修回: 2001-05-17 编辑: 李为农)

手法介绍 ·

改良手法整复肘关节脱位

湛梅圣

(监利县第三人民医院, 湖北 监利 433304)

笔者在学习传统的肘关节脱位整复方法的基础上, 采用改良手法进行整复, 效果满意, 现介绍如下。

1 临床资料

本组男 22 例, 女 5 例; 年龄 19~53 岁, 平均 31 岁; 左侧 6 例, 右侧 21 例; 伤后就诊时间 1~28 小时。27 例均为新鲜脱位, 均为后脱位。其中伴尺骨鹰嘴外侧移位者 8 例, 伴内侧移位者 3 例, 合并肱骨内上髁骨折 1 例, 合并肱骨外上髁骨折 4 例, 合并尺骨喙突骨折 1 例。

2 操作方法

患者取坐位(或卧位), 助手立于患者背后, 以双手握其患肢上臂(以右侧为例)。术者立于伤肢前面, 略弯腰, 右肩关节外展约 45°, 置患肢前臂远端于术者右肘关节上, 使患者前臂远端靠于术者肱骨下端前外侧, 术者右前臂绕过患肢前臂内侧, 右腕部压患肢前臂近端(紧靠患肘关节)向背侧, 左手把握患肢向前移位的肱骨下端(见图 1)。准备就绪后, 维持患肘关节弹性固定, 利用右腕部压力与助手对抗牵引, 顺患肢前臂方向向远侧用右前臂的拉力与左手按患肢向前移位的肱骨下端向后的压力形成对抗牵引, 同时立身前倾, 在牵引的基础上使患肢肘关节屈曲, 听到“咯噔”复位音, 即已复位。如有侧方移位, 可同时合理利用右臂、左手相对用力。先变为单纯后脱位, 再按上述方法整复, 使之复位。伴有骨折者, 脱位复位后, 骨片常可自行复位。对于肘关节脱位伴桡侧侧方移位, 合并肱骨内上髁撕脱骨折者, 按上述方法先纠正前后移位, 待肱骨下端纳入尺骨半月切迹后, 再纠正侧方移位。复位成功后, 按常规方法处理。

3 讨论

肘关节后脱位, 多为间接外力迫使肘关节过度伸直, 形成以鹰嘴为支点, 前臂绕额状轴向后回转运动, 使尺骨喙突滑过肱骨滑车, 造成尺桡骨上端一并脱向肱骨下端后方。复位时, 由于关节囊、韧带的作用和肌肉痉挛^[1], 喙突紧靠肱骨下端, 而成为传统整复手法整复脱位的障碍, 或因强制牵引, 磨损喙

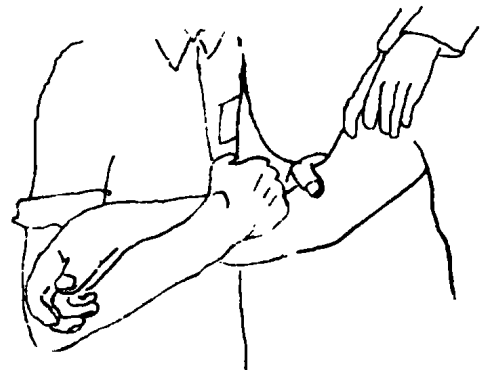


图 1 整复肘关节手法示意图

突造成新的损伤。改良手法利用肱骨下端为支点, 利用腕部压力维持弹性固定与助手对向牵引, 使紧靠患者肱骨下端的喙突与之分离, 有利于脱位的整复和保护喙突不加重损伤, 符合中医正骨中“欲合先离, 离而复合”的原则。

从生物力学观点分析, 本手法酷似“椅背杠压整复法”^[2], 形成两个轴线的相对牵引, 一沿上臂纵轴, 利于对抗肱三头肌、肱肌等肌肉的痉挛; 一沿前臂纵轴, 有利于关节的复位。对于伴侧方移位的肘关节脱位, 本手法的灵活性又优于“椅背杠压整复法”。因前臂力大于手掌、手指力, 对于体格强壮或肘部肌肉高度紧张者, 本改良手法尤为适合。但应避免暴力手法, 以免加重损伤。尽管肘关节脱位多系青壮年, 但本改良手法中, 形成以患者前臂远端为支点, 前臂近端为力点的杠杆力, 故对于年老体弱者慎用。

参考文献

[1] 裘法祖. 外科学. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 1994. 795.

[2] 山东中医学院骨科教研组. 山东中医学院附属医院骨科. 临床正骨学. 济南: 山东科学技术出版社, 1979. 174-178.

(收稿: 2000-06-08 修回: 2001-03-20 编辑: 李为农)

欢迎投稿

欢迎订阅

骨骼肌缺血再灌注损伤及发病机制初探

(正文见 667 页)

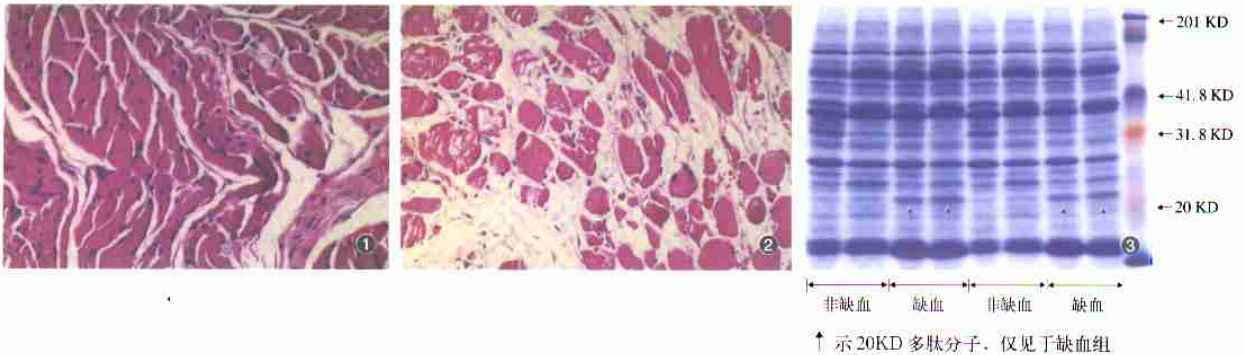


图1 大鼠注射PBS正常提睾肌(不缺血)肌细胞排列紧密、整齐、肌细胞间隔规则 HE × 400

图2 大鼠注射PBS缺血再灌注后的提睾肌肌细胞碎裂,间隔大且不规则 HE × 400

图3 凝胶蛋白电泳,“↑”标示20KD多肽分子,仅见于缺血组

骨形态发生蛋白与(BMP₃)基因在骨折愈合中的定位研究

(正文见 671 页)

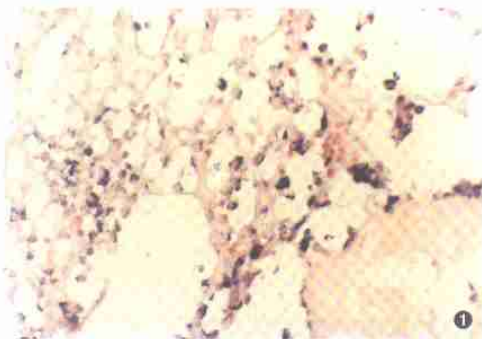


图1 骨折后1d,骨折周围血肿内细胞及肌肉中新出现的间充质细胞内BMP₃mRNA为阳性信号,原位杂交,×400

腰椎滑脱症的MRI诊断价值

(正文见 675 页)

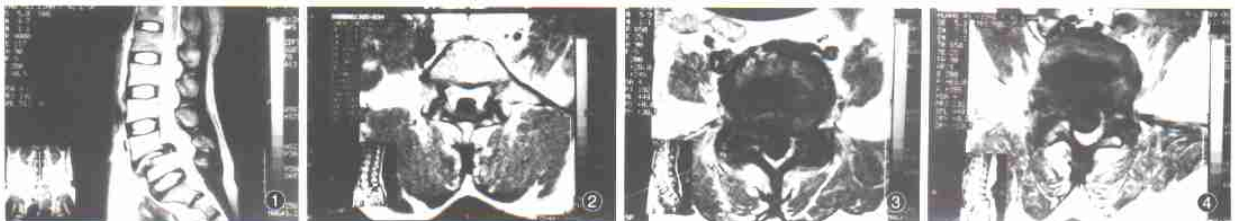


图1 L₄椎体II度滑脱,L₄-₅椎间盘变性,相对性后膨出、硬膜囊前缘受压,L₅椎体前上部骨质硬化。图2 L₅椎两侧椎弓峡部断裂。图3 “双关节征”,同时见L₄-₅两侧关节突关节骨质硬化、间隙狭窄、关节面软骨部分消失,L₄-₅椎间盘相对性后膨出。图4 “夹心征”,同时见L₃S₁右侧关节突关节间隙消失,骨赘形成。