

# 中药复方骨复生对激素性股骨头缺血坏死家兔 TNF- $\alpha$ 的影响

袁普卫<sup>1</sup>, 殷继超<sup>2</sup>, 贺西京<sup>1</sup>, 刘德玉<sup>3</sup>, 周海哲<sup>3</sup>, 杨平林<sup>1</sup>, 王国毓<sup>1</sup>

(1. 西安交通大学第二临床医院骨二科, 陕西 西安 710042; 2. 西安市红十字会医院; 3. 陕西中医学院附属医院)

**摘要** 目的:探讨中药复方骨复生治疗激素性股骨头缺血性坏死的机制。方法:32 只日本大耳白兔被随机分为空白对照组( $n = 12$ ),造模组( $n = 20$ )。造模组肌注醋酸泼尼松龙( $0.32 \text{ mg/kg} \cdot \text{d}$ )8 周。分别在第 6、8 周处死每组动物 2 只。8 周后将造模组剩余动物随机分为 2 组:骨复生组(A 组)及模型组(B 组)。原空白对照组剩余动物组成空白组(C 组)。A 组给予骨复生煎液灌胃,B 组和 C 组均给予生理盐水灌胃。治疗 4 周后,采血测定肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )水平。结果:模型组较空白组 TNF- $\alpha$  水平明显升高( $P < 0.001$ );而骨复生组较模型组 TNF- $\alpha$  水平明显降低( $P < 0.01$ )。结论:TNF- $\alpha$  水平升高可能是激素性股骨头缺血坏死发病的重要促进因素,中药复方骨复生可降低 TNF- $\alpha$  水平从而治疗激素性股骨头缺血坏死。

**关键词** 中草药; 股骨头坏死; 肿瘤坏死因子

## Effects of Gufusheng on TNF- $\alpha$ of rabbits with steroid-induced avascular necrosis of the femoral head

YUAN Pu-wei, YIN Ji-chao, HE Xi-king, LIU De-yu, ZHOU Hai-zhe, YANG Ping-lin, WANG Guo-yu. Department of Orthopaedics, Second Hospital of Xi'an Jiaotong University(Shanxi Xi'an, 710042, China)

**Abstract Objective:** To investigate the mechanism of the treatment of Gufusheng for steroid-induced avascular necrosis of the femoral head(SANFH). **Methods:** Thirty-two rabbits were randomly divided into control group( $n = 12$ ) and making-model group( $n = 20$ ). Prednisone Acetate was injected to the animals in model group. In the 6th and 8th week, two rabbits of both groups were killed respectively to observe whether the model was successful. Then the rabbits in the making-model group was divided into Gufusheng group(Group A) and model group(Group B) randomly. The residual of the control group formed group C. Group A was given Gufusheng. The other two groups were all given physiological saline. After four weeks' treatment, the level of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) of serum in three groups was examined. **Results:** The level of TNF- $\alpha$  in making-model group was significantly higher than that of control group( $P < 0.001$ ). But the level of TNF- $\alpha$  in Gufusheng group was significantly less than that of model group( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** The rise of TNF- $\alpha$  may be one of the most important factors in the occurrence of steroid-induced avascular necrosis of femoral head, and Gufusheng can treat steroid-induced avascular necrosis of femoral head by decreasing the level of TNF- $\alpha$ .

**Key words** Drugs, Chinese herbal; Femur head necrosis; Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )

陕西中医学院应用中药复方骨复生治疗激素性股骨头缺血性坏死(steroid-induced avascular necrosis of femoral head, SANFH), 效果满意, 本实验旨在探讨骨复生治疗 SANFH 的机制。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 6 个月龄日本白兔 32 只, 体质量( $2.5 \pm 0.25$ ) kg, 由西安交通大学实验动物中心提供。

**1.2 实验药品及试剂** 骨复生: 由丹参、鹿角胶、骨碎补、三七、当归、元胡、牛膝、黄芪、土元、甘草 10 味中药组成, 均购自陕西中医学院附属医院中药房, 以上各味药饮片置砂锅容器内, 加相当于复方药材体积 5~7 倍自来水浸泡 1~2 h, 煮沸 30 min, 经过滤药

基金项目: 陕西省中医药管理局基金课题(99017)

通讯作者: 袁普卫 Tel: 029-87679584 E-mail: ypw8765@126.com

渣再加 3~5 倍自来水继续煎煮,煮沸 20 min 过滤,合并两次滤液,于水浴上浓缩,制成每毫升药液相当于原药材 3.5 g 的生药浸膏。醋酸泼尼松龙注射液:5 ml 125 mg(仙居制药有限公司,批号:010308),TNF- 测定试剂盒(天津九鼎医学生物工程公司提供)。

**1.3 实验器材** HB-2 型奥林帕斯显微镜、CBQ-型硬质材料超薄切片机及高速 DL-8R 低温冷冻离心机。

**1.4 实验方法** 32 只动物被随机分为 2 组,空白组 12 只,造模组 20 只,采用贺西京等造模法<sup>[1]</sup>,造模组给予肌注醋酸泼尼松龙 0.32 mg/kg·d,每周 2 次,连续注射 8 周,共 16 次,同时 32 只动物每周肌注 2 次青霉素钠以预防感染,每次每只 5 万单位。造模 6、8 周后分别将空白组和造模组各处死 2 只动物,以观察造模情况,8 周后将造模组剩余 16 只动物随机分为两组:骨复生组(A 组)和模型组(B 组),各 8 只。原空白对照组剩余动物组成空白组(C 组)。A 组用骨复生煎液 45 g/kg·d,分 2 次灌胃;B 组与 C 组用生理盐水灌胃,每日 2 次,每次每只 15 ml,治疗 4 周。4 周后测定 3 组动物血清中 TNF- 水平。

### 1.5 检测项目

**1.5.1 肉眼观察** 包括动物的一般情况,如体质量、精神、毛发光泽度,二便及股骨头大体形态。

**1.5.2 组织形态学** 光镜下观察标本中骨小梁及骨细胞形态结构,以了解造模情况。

**1.5.3 血清中 TNF- 水平测定** 治疗 4 周后,3 组动物均采用耳中央动脉取血,每只 2 ml,取血后立即将标本在 4℃,1 500 r/min 下离心 5 min,吸取上层血清,-20℃保存,应用放射免疫法(RIA)测定样本中 TNF- 含量,放射测定程序按试剂说明书进行。

**1.6 统计学处理方法** 数据采用  $\bar{x} \pm s$ ,组间比较采用方差分析。

## 2 实验结果

**2.1 动物一般情况及股骨头形态** 造模 1 周后,模型组动物均不同程度出现体质量下降、食欲亢进,继而出现精神差、皮毛无光泽、皮下脂肪减少,8 周后更加明显,而空白组动物正常。6 周及 8 周股骨头形态空白组和模型组无明显差别,但 8 周时模型组股骨头骨质酥脆,易凿取。

**2.2 光镜下观察结果** 空白组股骨头骨小梁及骨细胞结构、形态正常。可见关节软骨及软骨下骨小梁结构,髓腔内正常的造血细胞和脂肪细胞偶见空

骨陷窝。模型组股骨头表现:6 周时骨小梁变细、稀疏,髓腔内有减少的造血细胞和增多的、肥大的脂肪细胞,骨细胞部分核深染。8 周时股骨头软骨下区骨小梁萎缩,较多的细胞核固缩,核偏位,染色深,髓腔内大量脂肪细胞堆积。骨小梁内正常骨细胞数量减少,部分骨陷窝内骨细胞消失,空骨陷窝数明显增多,提示造模成功。

**2.3 TNF- 测定结果** 见表 1。

表 1 血清中 TNF- 的含量( $\bar{x} \pm s$ )

Tab.1 Level of TNF- in serum( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物只数(n)	TNF- (ng/ml)	F	P
空白组	8	8.52 ±2.09		
模型组	8	16.09 ±2.75	16.79	<0.01
骨复生组	8	10.86 ±3.08		

由上表可以看出模型组 TNF- 水平较空白组 TNF- 水平明显偏高( $P < 0.001$ ),说明 TNF- 水平升高可能是 SANFH 发生的因素之一;同时可以看到骨复生组 TNF- 水平较模型组 TNF- 水平明显下降( $P < 0.01$ ),说明骨复生可能通过降低 TNF- 水平来治疗 SANFH。

## 3 讨论

骨复生是陕西中医学院骨科多年来应用于临床治疗早、中期股骨头缺血性坏死的验方,疗效确切,效果满意。全方由三七、丹参、鹿角胶、骨碎补等 10 味中药组成,集活血化瘀,补肾祛瘀于一身。现代医学研究表明<sup>[2-4]</sup>:全方能够降低血小板黏附和毛细血管通透性,降低血脂,抗炎镇痛及防治骨质疏松,减轻股骨头坏死发病过程中的炎症反应,改善血液流变学及全身脂肪代谢紊乱,降低氧自由基及升高血浆一氧化氮浓度、保护血管内皮且能提高纤溶活性,有利于预防和清除血栓形成,从而起到预防和治疗股骨头缺血性坏死。

TNF- 主要由单核细胞和巨噬细胞产生,其具有广泛的生物学活性,一方面参与机体的免疫防御机能,选择杀伤肿瘤细胞,另一方面则介导休克、炎症反应、组织损伤等病理生理反应。作用包括:介导脂类和其他多肽介质的产生。诱导自由基的产生及脂质过氧化。活化中性粒细胞。而这些多肽类介质、自由基及活化中性粒细胞均可参与股骨头的微血管损伤。有研究发现股骨头缺血性坏死患者血清中 TNF- 水平明显偏高<sup>[5]</sup>,由此推测 TNF- 的水平升高与股骨头缺血性坏死密切相关。

本实验通过比较空白组和模型组 TNF- 水平及

骨复生组与模型组 TNF- $\alpha$  水平,得出在模型组较空白组 TNF- $\alpha$  水平亦明显偏高 ( $P < 0.001$ ),而骨复生组较模型组 TNF- $\alpha$  水平明显降低 ( $P < 0.01$ )。由此在组织学提示造模成功的前提下,可推测出: TNF- $\alpha$  的升高可能是激素性股骨头缺血性坏死的重要因素。中药复方骨复生可降低 TNF- $\alpha$  水平从而治疗激素性股骨头缺血坏死。

TNF- $\alpha$  的升高促使本病的发生机制可能为:在激素诱导下 TNF- $\alpha$  活化中性粒细胞介导炎症反应,使股骨头血管内皮细胞受损,发生血管内凝血,影响股骨头血供<sup>[6]</sup>。TNF- $\alpha$  刺激滑膜细胞和软骨细胞合成 PGE-2 和胶原酶,造成关节破坏<sup>[7]</sup>。刺激骨吸收作用,引起骨和软骨的吸收破坏,促使成纤维细胞的增生,并通过激活破骨细胞发挥效能<sup>[5]</sup>。

在激素诱导下 TNF- $\alpha$  诱导自由基的产生及脂质过氧化,继而发生股骨头细胞损害,造成股骨头缺血性

坏死。本实验仅初步探索中药复方骨复生治疗激素性股骨头缺血性坏死的机制,就其如何导致 TNF- $\alpha$  水平降低的确切机制有待进一步研究。

参考文献

- 1 贺西京,毛履真,王坤正,等.肾上腺皮质激素引起股骨头缺血性坏死机制的实验研究.中华骨科杂志,1992,12(6):440-443.
- 2 张民庆,张明伟,唐德才.现代临床中医学.上海:上海中医药大学出版社,2002.200-430.
- 3 王国毓,姚永冬,杨毓华,等.骨复生对激素性股骨头缺血性坏死家兔氧自由基的影响.中医正骨,2002,14(1):4.
- 4 李毅,吕正茂,刘德玉,等.骨复生胶囊对激素性股骨头缺血性坏死家兔一氧化氮及纤溶活性的影响.中国中医骨伤科杂志,2002,10(2):30-33.
- 5 罗南萍,杨道理,付志厚,等. TNF- $\alpha$ 、HA 和 LN 对股骨头缺血性坏死致病作用的研究.中国骨伤,2000,13(4):204-206.
- 6 Jones JPJR. Intravascular coagulation and osteonecrosis. Clin Orthop, 1997,334:43.
- 7 汤慧华,冯忠军,吉玉钦,等. RA 患者关节滑液及血清中 TNF- $\alpha$  水平的测定.中华微生物和免疫学杂志,1995,19(3):66.

(收稿日期:2004-03-09 本文编辑:连智华)

手法介绍

自身摇摆法治疗移位型肱骨外科颈骨折

Treatment for displacement surgical neck of humeral fracture by swinging arms oneself

郑永江,何元珍

ZHENG Yong-jiang, HE Yuan-zhen

关键词 肱骨骨折; 手法,整骨 Key words Humeral fractures; Manipulation,osteopathic

自 1993 - 2003 年,我院采用患者自身摇摆法治疗移位型肱骨外科颈骨折 28 例,取得满意疗效,现报告如下。

1 临床资料

本组 28 例中,男 24 例,女 4 例;年龄最大 64 岁,最小 11 岁,平均 32 岁。最长受伤时间 8 d。车祸伤 14 例,跌伤 10 例,暴力打击伤 4 例。均经 X 线片证实骨折存在不同程度成角、短缩移位,其中粉碎性骨折 21 例。1 例患者因合并患前臂皮肤裂伤,待伤口愈合后再行本法治疗。

2 治疗方法

患者取坐位或站位,患肢自然伸直下垂,手持 2 ~ 5 kg 重物(重量视骨折移位程度而定)。躯干固定,患肢作前后摇摆活动,次数及幅度以患者耐受为度逐渐加大。夜间予以患肩夹板制动,取坐姿睡眠。辅以伤科早期内服外敷中药,3 d 后复查 X 线片,视骨折移位改善情况调整重量及活动次数。复位满意后,逐渐减轻重量。后期骨折稳定后再行患肩功能恢复锻炼。

3 治疗结果

3.1 疗效评定标准 参照尚天裕等<sup>[1]</sup>标准:优,双侧肩关节

活动完全正常,或基本正常,X 线片示骨折对位对线良好,接近解剖复位,肱骨头无旋转,无倾斜;良,前屈、外展、后伸正常,上举较健侧稍差,X 线片示肱骨头轻度旋转、倾斜,远近折端 2/3 以上对位;差,患肩前屈外展后伸、上举、旋转活动均较健侧差,X 线片示肱骨头倾斜,旋转严重,> 20°。

3.2 评定结果 全部病例随访 6 个月 ~ 10 年按上述评定标准:优 19 例,良 9 例。

4 讨论

临床应用注意: 本法治疗时间长,疼痛刺激大,对患者耐受力要求高,应充分作好患者思想工作,取得积极配合。新鲜骨折应在伤后 24 h 进行,防止加重损伤出血。陈旧性骨折软组织已粘连复位效果差。应用本法时,应固定躯干,防止躯干晃动代偿肩关节摇摆活动。年老体弱及合并其他严重损伤患者因本法疼痛刺激大,不宜使用。

参考文献

- 1 尚天裕,顾云伍,周映清,等.中西医结合治疗肱骨外科颈骨折.北京:中国科学技术出版社,1991.286.

(收稿日期:2003-08-13 本文编辑:连智华)