

· 基础研究 ·

祛痰逐瘀法预防家兔激素性股骨头坏死的病理学评价

陈镇秋¹, 魏秋实², 吴淮³, 刘文刚³, 张颖⁴

(1. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405; 2. 广州中医药大学第一临床医学院, 广东 广州 510405; 3. 广东省第二中医院, 广东 广州 510095; 4. 河南省洛阳正骨医院, 河南 洛阳 471002)

摘要 目的:从病理学角度评价祛痰逐瘀法预防家兔激素性股骨头坏死的疗效。**方法:**按体质量均衡原则将 30 只健康 SPF 级新西兰家兔随机分为 4 组: 正常组(A 组)6 只, 模型组(B 组)8 只, 低剂量组(C 组)8 只, 高剂量组(D 组)8 只。A、B 组予生理盐水灌胃, $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$; C、D 组分别以 $0.36 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $0.72 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的自拟祛痰逐瘀方混悬液灌胃, $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。各组给药均每天 1 次, 连续用药 3 周。第 4 周起在继续上述处理的同时, 在 B、C、D 组家兔左侧大腿内侧肌肉注射甲泼尼龙琥珀酸钠, $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 每天 1 次, 连用 3 周。药物干预结束后处死各组家兔取股骨制作切片, 光学显微镜下观察骨髓及骨小梁坏死情况, 并应用 Image-Pro Plus 6.0 软件计算股骨头坏死率和坏死面积。**结果:**①各组股骨头坏死面积比较, 差异有统计学意义($F=21.104, P=0.000$)。组间两两比较: C、D 组与 A 组比较, 差异无统计学意义($P=0.446, P=0.368$); A、C、D 组坏死面积均小于 B 组($P=0.000, P=0.000, P=0.000$); C、D 组差异无统计学意义($P=0.901$)。②股骨头坏死率。各组股骨头坏死率比较, 差异有统计学意义($F=18.029, P=0.000$)。组间两两比较: C、D 组与 A 组比较, 差异无统计学意义($P=0.485, P=0.356$); A、C、D 组坏死率均小于 B 组($P=0.000, P=0.000, P=0.000$); C、D 组差异无统计学意义($P=0.828$)。**结论:**从病理学角度来看, 应用祛痰逐瘀法可有效预防家兔激素性股骨头坏死的发生。

关键词 股骨头坏死 动物实验 祛痰逐瘀法

Pathologic evaluation on the prophylactic effect of the method of expeling phlegm and removing blood stasis on the steroid-induced osteonecrosis of the femoral head in the rabbits CHEN Zhen-qiu*, WEI Qiu-shi, WU Huai, et al. *The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong, China

ABSTRACT Objective:To make a pathologic evaluation on the prophylactic effect of the method of expeling phlegm and removing blood stasis on the steroid-induced osteonecrosis of the femoral head (SONFH) in the rabbits. **Methods:**30 healthy New Zealand rabbits in SPF level were randomly divided into 4 groups according to body mass balance principle, 6 cases in normal group (group A), 8 cases in model group (group B), 8 cases in low dose group (group C) and 8 cases in high dose group (group D). Rabbits in group A and group B were intragastric administrated with physiological saline ($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$), and rabbits in group C and group D were intragastric administrated with self-made suspension ($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$) which was made of expeling phlegm and removing blood stasis prescription with the dosage of $0.36 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ and $0.72 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ respectively. Administration of each group was carried out once a day for consecutive 3 weeks. From the beginning of the 4th week, $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ methylprednisolone sodium succinate were injected into the internal side muscle of left upper legs of rabbits in group B, group C and group D, once a day for consecutive 3 weeks. After drug intervention, all the rabbits were sacrificed for making slices with their femurs. The necrosis of bone marrow and bone trabeculae were observed under light microscope, then the rates and areas of femoral head necrosis were measured through Image-Pro Plus 6.0 software. **Results:**①On the aspect of femoral head necrosis areas, there was statistical difference among the 4 groups ($F=21.104, P=0.000$); there was no statistical difference between group C and group A, between group D and group A ($P=0.446, P=0.368$); group A, group C and group D were all lower than group B ($P=0.000, P=0.000, P=0.000$); there was no statistical difference between group C and group D ($P=0.901$). ②On the aspect of femoral head necrosis rates, there was statistical difference among the 4 groups ($F=18.029, P=0.000$); there was no statistical difference between group C and group A, between group D and group A ($P=0.485, P=0.356$); group A, group C and group D were all lower than group B ($P=0.000, P=0.000, P=0.000$); there was no statistical difference between group C and group D ($P=0.828$). **Conclusion:**The method of expeling phlegm and removing blood stasis is effective on prevention of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head in the rabbits on the standpoint of pathology.

Key words Femur head necrosis; Animal experimentation; expel phlegm and remove blood stasis

随着激素在临床广泛应用,激素性股骨头坏死(Steroid-Induced Osteonecrosis of the Femoral Head, SONFH)的发病率有逐渐上升的趋势。中医学中的“痰”“瘀”与血液流变学和脂质代谢异常有着密切关系,在股骨头坏死发病过程中起着重要作用^[1-3]。因此,笔者从病理学角度对祛痰逐瘀法预防家兔 SONFH 的疗效进行了评价,现总结报告如下。

1 实验材料

1.1 实验动物 健康 SPF 级新西兰家兔 30 只,雌雄各半,体质量 2.20~3.10 kg,由广东省医学动物实验中心提供,实验动物合格证号:SCXK(粤)2011-0032。

1.2 实验药物 ①自拟祛痰逐瘀方。方药组成:党参 15 g、白术 15 g、茯苓 15 g、法半夏 15 g、陈皮 10 g、茵陈 15 g、川芎 15 g、当归 10 g、桃仁 10 g、红花 10 g、甘草 6 g 等。由广州中医药大学第一附属医院制剂中心一次性加工完成,实验前用生理盐水将其配制成含生药 $0.36\text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $0.72\text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 2 种混悬液,高温封存于消毒盐水瓶中,放入 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。用前 12 h 取出,室温放置。②注射用甲泼尼龙琥珀酸钠。每支 40 mg, Pfizer Manufacturing Belgium NV 公司提供,批号:R10650。

2 方法

2.1 分组方法 按体质量均衡原则将 30 只家兔随机分为 4 组:正常组(A 组)6 只,模型组(B 组)8 只,低剂量组(C 组)8 只,高剂量组(D 组)8 只。

2.2 药物干预 A、B 组予生理盐水灌胃, $10\text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$; C、D 组分别以 $0.36\text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $0.72\text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的自拟祛痰逐瘀方混悬液灌胃, $10\text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。各组给药均每天 1 次,连续用药 3 周。第 4 周起在继续上述处理的同时参照 Yamamoto 等^[4]的方法造模: B、C、D 组在家兔左侧大腿内侧肌肉注射甲泼尼龙琥珀酸钠, $20\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 每天 1 次,连用 3 周。

2.3 标本制作与观察 药物干预结束后以空气栓塞法处死家兔,剖取右后侧股骨头,剔除周围软组织,分组标记好标本袋,置于 10% 福尔马林溶液中固定。将标本送至广东省医学实验动物中心比较医学实验室进行检测。标本经取材、固定、修块、流水冲洗、脱水、透明、浸蜡、石蜡包埋后切片、HE 染色、封片后将制作好的 HE 染色切片置于光学显微镜下,观察骨髓及骨小梁有无坏死,参照 Matsui 等^[5]的方法对骨标本

的组织病理改变进行分级。应用 Image-Pro Plus 6.0 软件计算股骨头坏死率和坏死面积:坏死率 = 每个视野的坏死率 \times 视野总数;坏死面积 = 每个视野的坏死面积 \times 视野总数。

2.4 统计学方法 统计分析采用 SPSS16.0 统计软件,各组坏死面积及坏死率比较用单因素方差分析,组间两两比较采用 q 检验,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

3 结果

3.1 实验动物死亡情况 在实验开始后 C 组动物因灌胃操作不当,致死 1 只;造模过程中 B 组死亡 2 只。

3.2 光镜观察结果 A 组 6 例标本镜下骨小梁及骨髓完整,无病理改变;骨小梁整齐清晰,排列规则,致密饱满,骨小梁中的骨细胞清晰可见,骨细胞核大而清晰可见,且位于中央[图 1(1)]。病理学改变符合参照标准中 0 级病变。B 组 6 例标本镜下见骨髓坏死,骨髓腔内脂肪细胞增多、增大,脂肪细胞相互融合,造血细胞减少,部分造血细胞核碎裂、核溶解[图 1(2)];部分骨细胞陷窝空虚,局灶骨小梁连续性中断,部分骨小梁出现坏死[图 1(3)]。病理学改变符合参照标准中 2 级病变。C 组送检标本共 7 例,镜下见骨髓坏死,骨髓腔内脂肪细胞增多、增大,脂肪细胞相互融合,造血细胞减少,部分造血细胞核碎裂、核溶解,软骨下区骨小梁变细、结构紊乱,其中 1 例有骨小梁断裂现象[图 1(4)],7 例均未见骨小梁坏死[图 1(5)]。病理学改变符合参照标准中 1 级病变。D 组送检标本共 8 例,镜下见骨髓坏死,髓腔内脂肪细胞增多、增大,脂肪细胞部分核消失及细胞边界不清或融合,腔内造血细胞减少,部分造血细胞核碎裂、溶解,软骨下区骨小梁变细、结构紊乱,其中 1 例小区见骨小梁坏死[图 1(6)],其余 7 例均未见骨小梁出现连续性中断及骨小梁坏死[图 1(7)]。8 例标本中除 1 例病理学改变符合参照标准中 2 级病变外,其余 7 例病理学改变均符合参照标准中 1 级病变。

3.3 坏死面积及坏死率比较 ①股骨头坏死面积。各组股骨头坏死面积比较,差异有统计学意义($F = 21.104, P = 0.000$)。组间两两比较: C、D 组与 A 组比较,差异无统计学意义($P = 0.446, P = 0.368$); A、C、D 组坏死面积均小于 B 组($P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000$); C、D 组差异无统计学意义($P = 0.901$)。②股骨头坏死率。各组股骨头坏死率比较,差异有统计学意义($F = 18.029, P = 0.000$)。组间两两比较:

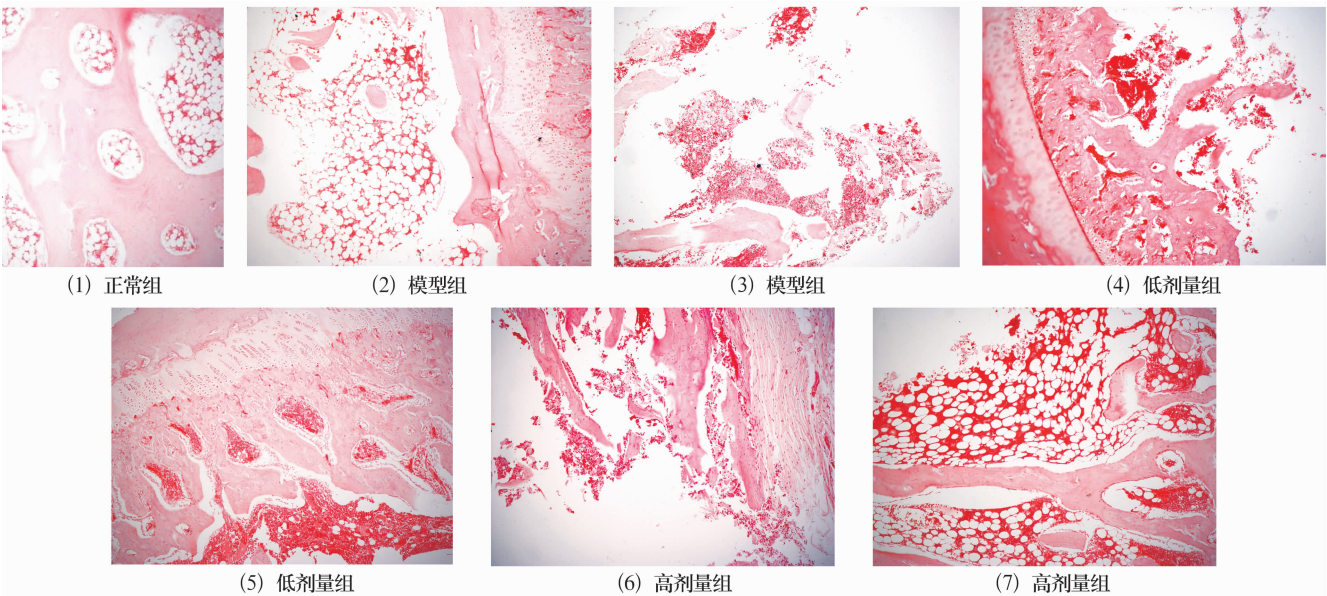


图1 各组家兔股骨头切片镜下观察结果(HE染色,×100)

C、D 组与 A 组比较,差异无统计学意义($P=0.485$, $P=0.356$);A、C、D 组坏死率均小于 B 组($P=0.000$, $P=0.000$, $P=0.000$);C、D 组差异无统计学意义($P=0.828$)。(表 1)

表1 各组家兔股骨头坏死面积及坏死率比较

组别	坏死面积(mm ²)	坏死率(%)
正常组(A组)	0.00±0.00	0.00±0.00
模型组(B组)	0.70±0.69	13.15±0.22
低剂量组(C组)	0.08±0.20	1.40±3.71
高剂量组(D组)	0.09±0.25	1.81±5.11
F 值	21.104	18.029
P 值	0.000	0.000

4 讨 论

理想的 SONFH 动物模型应该能够模拟人类 SONFH 的临床病变特点,即坏死区域应接近软骨面,与周围活骨相连,并且在坏死修复过程中同时施加应力因素,模拟早期的股骨头局部组织学改变到晚期的股骨头塌陷特点^[6]。以往的各种 SONFH 动物模型普遍存在造模时间长、成本高、成功率低、动物死亡率高 等缺点。本研究选择家兔作为实验动物,甲基强的松龙作为造模激素,用药 3 周后模型组 6 例病理检查见骨髓坏死,骨髓腔内脂肪细胞增多、增大,脂肪细胞相互融合,造血细胞减少,部分造血细胞核碎裂、核溶解;部分骨细胞陷窝空虚,局灶骨小梁连续性中断,部分骨小梁出现坏死;符合病理学 2 级病变。模型组股骨头坏死分级、坏死率、坏死面积等均高于正常组、低剂量组及高剂量组,可以判定本实验造模是成功的。

祛瘀逐瘀方是根据激素性股骨头坏死的特点配

伍而成的。方中重用白术、川芎为君药;茯苓、陈皮、法半夏、茵陈利水渗湿化痰,桃仁、红花活血化瘀,共为臣药;当归补血活血止痛,党参益气扶正而增强健脾化湿作用,二药共为佐药;甘草调和诸药,全方配伍精当合理,共奏补肾活血、健脾化痰的功效。模型组病理表现为部分骨细胞陷窝空虚,局灶骨小梁连续性中断,部分骨小梁坏死。低剂量组、高剂量组病理表现为:软骨下区骨小梁变细、结构紊乱;低剂量组有 1 例发生骨小梁断裂现象,未见坏死;高剂量组有 1 例发生骨小梁坏死。本研究中的低剂量组、高剂量组的坏死面积和坏死率明显低于模型组,说明祛瘀逐瘀方对 SONFH 的发病具有防治作用;而祛瘀逐瘀方 2 个剂量组的坏死面积和坏死率比较,差异无统计学意义,说明祛瘀逐瘀方对 SONFH 的防治作用与剂量无关。国内学者的研究已证实“瘀瘀同治”能改善激素性股骨头坏死患者的高脂血症和血液高粘滞状态,应用“瘀瘀同治”法早期预防或治疗 SONFH,既能化痰祛湿,又能活血祛瘀,对抑制或改善股骨头坏死微循环障碍的发生具有重要作用^[2-3]。因此,笔者认为从病理学角度来看,应用祛瘀逐瘀法可有效预防 SONFH 发生。

5 参考文献

[1] 熊兴江,王阶. 血脂异常辨治思路与方法[J]. 中国中药杂志,2010,35(10):1349-1351.
[2] 汪晓燕,陈卫衡,宋剑南,等. 非创伤性股骨头坏死及其证候与血脂代谢的关系[J]. 中国中医基础医学杂志,2007,13(5):368-369.

- [4] Knop C, Fabian HF, Bastian L, et al. Late results of thoracolumbar fractures after posterior instrumentation and transpedicular bone grafting[J]. Spine, 2001, 26(1): 88-99.
- [5] Verlaan JJ, Dhert WJ, Verbout AJ, et al. Balloon vertebroplasty in combination with pedicle screw instrumentation: a novel technique to treat thoracic and lumbar burst fractures[J]. Spine, 2005, 30(3): 73-79.
- [6] Cho DY, Lee WY, Sheu PC, et al. Treatment of thoracolumbar burst fractures with polymethyl methacrylate vertebroplasty and short-segment pedicle screw fixation[J]. Neurosurgery, 2003, 53(6): 1354-1361.
- [7] Yeom JS, Kim WJ, Choy WS, et al. Leakage of cement in percutaneous transpedicular vertebroplasty for painful osteoporotic compression fractures[J]. J Bone Joint Surg Br, 2003, 85(1): 83-89.
- [8] Monticelli F, Meyer HJ, Tutsch-Bauer E. Fatal pulmonary cement embolism following percutaneous vertebroplasty (PVP)[J]. Forensic Sci Int, 2005, 149(1): 35-38.
- [9] Grados F, Depriester C, Cayrolle G, et al. Long-term observations of vertebral osteoporotic fractures treated by percutaneous vertebroplasty[J]. Rheumatology, 2000, 39(12): 1410-1414.
- [10] Ignjatović N, Tomić S, Dakić M, et al. Synthesis and properties of hydroxyapatite/poly-L-lactide composite biomaterials[J]. Biomaterials, 1999, 20(9): 809-816.
- [11] Li KC, Chen HH, Li A, et al. Safe zone for application of transpedicle body augments[J]. J Orthop Surg Taiwan, 2004, 21(3): 125-133.
- [12] Li KC, Li AF, Hsieh CH, et al. Transpedicle body augments in painful osteoporotic compression fractures[J]. Eur Spine J, 2007, 16(5): 589-598.

(2011-01-19 收稿 2011-04-12 修回)

(上接第 19 页)

- [3] 李玉彬, 谢利民, 李理, 等. 健脾补肾方对家兔激素性股骨头坏死模型脂质代谢的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(2): 90-93.
- [4] Yamamoto T, Irida T, Sugioka Y, et al. Effects of pulse methylprednisolone on bone and marrow tissues: corticosteroid-induced osteonecrosis in rabbits[J]. Arthritis Rheum, 1997, 40(11): 2055-2064.
- [5] Matsui M, Saito S, Ohzono K, et al. Experimental steroid-induced osteonecrosis in adult rabbits with hypersensitivity vasculitis[J]. Clin Orthop Relat Res, 1992, (277): 61-72.
- [6] 李鸿帅, 张长青. 股骨头坏死动物模型研究进展[J]. 国际骨科学杂志, 2006, 27(3): 173-175.

(2010-12-30 收稿 2011-02-21 修回)

· 通 知 ·

全国水针刀三氧消融术尸体解剖研修班及中华筋骨三针法学习班通知

水针刀三氧消融术及筋骨针法是由中国骨伤微创水针刀学术委员会会长、张仲景国医学院教授、广东省中医院主任导师吴汉卿教授在水针刀疗法的基础上, 结合三氧治疗仪所研发的新技术, 研制发明的多用系列筋骨针具已获国家专利, 并创立了十大筋骨针法(已编入骨伤教材), 出版了《中华筋骨三针疗法》。该项技术的培训班已举办 180 余期, 来自国内包括台湾、香港等地区及国外(马来西亚、新加坡、韩国)的万余名医生学习、掌握了该技术。为满足广大医师要求, 现继续举办以下研修、学习班:

水针刀三氧融盘术及尸体解剖研修班: 由吴汉卿教授主要传授: 水针刀新针法治疗骨伤颈肩腰腿痛病、水针刀三氧融盘术。应用水针刀法结合新鲜尸体详细讲解三针法安全入路法、配合独特松解液及椎间孔扩张术、侧隐窝分离术。新颖的三针法理论、独特的十大针法、结合尸体刀法入路、水针刀挂图, 有专科医院手术病人治疗, 同时讲解影像诊断, 保证每位学员能够独立操作。临床上可治疗腰椎间盘突出症, 对颈肩腰腿痛患者具有较好的疗效。

脊柱九病区药磁线植入技术: 传授独特的脊背九大诊疗区, 临床应用水针刀分离、磁线留置并配合整脊手法, 快速治疗脊柱相关病, 如颈源性心脏病、颈性咽炎、面瘫、三叉神经痛、癫痫、慢性支气管炎、哮喘、胃炎、胃溃疡、结肠炎、生殖疾病等。

中华筋骨三针法学习班: 中华筋骨三针法是吴汉卿教授在水针刀针法九针疗法基础上, 根据人体生物力学, 提出了人体软组织立体三角平衡学说, 创立了平衡三针法。该班传授筋骨三针法原理、三针定位法、十大针法技巧。该法主要治疗: 颈椎病、颈 1 横突综合症、颈 7 棘突综合症、肩关节周围炎、肌筋膜炎、腰椎间盘突出症、股骨头坏死症、膝关节骨关节炎、神经痛、类风湿性关节炎、脊柱相关病等。

其他: 参加学习班者将授予国家级中医药 I 类继续教育学分(项目编号: 390206382)

开学时间: 2011 年每月 1 日开课, 需提前 2 日报到

报到地址: 河南省南阳市仲景路与天山路口(水针刀专科医院)

邮政编码: 473000 **联系电话:** 0377-63282507, 13721820657 **联系人:** 黄建

网址: www.shuizhendao.com **邮箱:** shuizhendao@163.com