

●论著●

丹参液配合同种异体冻干骨移植治疗激素性
股骨头坏死机理研究 *

万小明 肖锐 孙小波 余南征 王丽华

(江西中医学院附属医院 南昌 330006)

摘要:目的 观察丹参液配合同种异体冻干骨移植治疗激素性股骨头坏死的机理。方法:制作 NCW 兔激素性股骨头坏死模型,每组右侧股骨头行丹参及同种异体冻干骨移植术,全部左侧仅行入路手术以作对比,手术实验后 2 月、3 月分别处死一半动物取股骨头行肉眼观察、组织学观察及透射电镜观察。结果:丹参、同种异体冻干骨的植入一方面起到钻孔减压的效果,改善股骨头的微循环,降低静脉压,有利于重建血运,毛细血管的再生;另一方面既可充当支架,有利于毛细血管在其多孔网状的内壁爬行生长,又可作为新骨沉积的基质。结论:以上是丹参配合同种异体冻干骨移植治疗激素性股骨头坏死作用机理。

关键词 激素性股骨头坏死;丹参液;同种异体冻干骨移植;中西医结合疗法;GANFH

Objective:To discuss the Silvia Miltiorrhiza Concrete Injection and Homogeneous Allograft Bone with Deeply Refrigeneous-Preserved on Treatment of the Glucocorticoid-Induced Avascular Necrosis of Femoral Head (GANFH). Methods:After the models of GANFH of rabbits are finished successfully by administering horse serum and much steroid,thirty-six NCW rabbits were divided into two groups randomly. The right femoral heads of each group were conducted with sylvia miltiorrhiza concrete injection and homogeneous allograft bone with deeply refrigeneous-preserved respectively. All left femoral head only were conducted with approach and exposure of femoral heads and necks. Killing the half of animals after operation 2 and 3 months late, we had observed the femoral head about outward appearance,photoscope and electroscope.Result:It could improve the circulation of femoral head, have the function of increasing trabeculace growth and support the appearance of femoral heads. We had observed vessel growing, enlarged marrow fat cells, trabeculace becoming thinner and sparse, empty osteocytes lacuna in the trabeculace being elevated.Conclusion:All the result indicated that the sylvia miltiorrhiza concrete injection and homogeneous allograft bone with deeply refrigeneous-preserved progress the Treatment of the GANFH.

关键词 激素性股骨头坏死;丹参液;同种异体冻干骨移植;中西医结合疗法;GANFH

中图分类号 R 681.8

文献标识码 B

文献编号: 1671-4040(2004)06- 0001-03

动物实验及临床实践观察均以证实丹参、同种异体冻干骨移植对激素性股骨头缺血坏死治疗作用良好,为探讨其机理,本文着重研究丹参、同种异体冻干骨移植对激素性股骨头缺血坏死治疗起到良好的“爬行替代”作用。现报告如下:

1 材料

1.1 动物来源 健康成年 NCW 兔 40 只,雌雄并用,体重 2.4~3.5kg,由江西省实验动物中心提供,均为合格品种。

1.2 丹参来源 取生药丹参 2400g,洗净加水适量煎煮 2 次,第一次为 2h,第二次为 1.5h。合并药液,过滤,加入乙醇至含醇 75%,静置 24h 后再过滤,滤液放置高速离心机上以 8000r/min 的速度离心 10min,取上清液以 D=0.2μ 皂的真空抽滤。所得药液低温浓缩至 200mL,分装,灭菌,4℃度冰箱储存备用。每毫升存液含生药 12 g。

1.3 同种异体冻干骨 由山西省人体组织库制备并提供同种 NCW 兔异体冻干骨。

1.4 主要仪器 西德产病理切片机、Olympus BH-2 生物显微镜、瑞典产 LKB 型超薄切片机、PHILIPS 公司产 CM10 型透射电子显微镜、美国 2000 专家型数字摄片机、中空纤维滤

机、各种手术器械(如手术刀、咬骨钳、1.0mm 克氏针、止血钳等)、1.0mm 克氏针自行制备成简易减压器。

2 方法

2.1 动物分组 将 40 只 NCW 兔随机分为 2 组,每组 20 只;实验组为右侧股骨头钻孔减压加丹参及同种异体冻干骨移植组,另一组为空白对照组。

2.2 急性毒理实验 取 KM 小鼠 50 只,体重 18~20g,雌雄各半,普通级,随机分 5 组:(1) 10mg/kg 体重,(2) 100mg/kg 体重;(3) 1 000mg/kg 体重;(4) 10 000mg/kg 体重;(5) 15 000mg/kg 体重。每组 10 只按不同计量组分别一次性腹腔注射丹参浓缩液,连续观察 2 周,结果小鼠未出现中毒现象,最大耐受量大于 15 000mg/kg 体重,无死亡现象,表明小鼠最大耐受量大于 15 000mg/kg 体重,相当于 3.0kg 家兔 269.7mg/kg 体重,实际无毒(本实验结果由江西省医学院实验动物中心提供)。

2.3 动物模型的建立 方法是每次每只予耳缘静脉注射马血清 10mg/kg,共 2 次,前后间隔 2 周。连续 6 周每次腹腔注射甲基强的松龙 10mg/kg;正常对照组腹腔注射生理盐水 5mL/只。在第 12 周分别在实验组、对照组随机处死各 2 只

* 江西省自然科学基金资助项目(编号:0240013)

(雌雄各半),根据肉眼观察,数字摄片,光镜和电镜结果确定激素性股骨头坏死模型是否成立。

2.4 手术实验方法 确定激素性股骨头坏死模型成立后,36只家兔于实验前 1 天禁食,采用解放军农牧大学军事兽医研究所出品的速眠新 846 合剂按 0.3mL/kg 剂量肌注麻醉。麻醉生效后,固定,术区剪毛,常规消毒,铺无菌洞巾。在无菌条件下,实验组取家兔右髌外侧切口,依次切开皮肤及右股外侧肌,切开外侧关节囊,暴露股骨颈,用自制减压器由股骨颈向股骨头中心部钻一深约 0.5cm、直径约 1.5mm 的减压孔。将大小约 1mm伊mm伊mm 大小的同种异体冻干骨浸泡于丹参液中 3min 后植入钻孔中。尽量植入股骨头的中心部,填塞充分,分层缝合切口。对照组家兔右侧股骨头仅行入路手术,暴露股骨颈,而未行其它手术方式。术后所有动物在同一条件下分笼饲养,并肌注青霉素 10 万 u/ 只,每天 1 次,共 5 次。术后 2 月和 3 月各处死一半动物进行以下检查。

2.5 观察方法

2.5.1 肉眼观察 术后 2 月和 3 月分别处死一半动物,完整取下双侧股骨头,冠状面切开,肉眼观察软骨面是否完整,剖面是否有软骨下骨折塌陷及大小不等的囊腔,腔内内容物是否为肉芽组织或淡黄色液体。

2.5.2 光镜检查 术后 2 月和 3 月分别处死一半动物,骨块取出后,在骨孔中沿其纵轴切成两半。一半用电镜观察;另一半立即用 15%中性福尔马林溶液固定,流水冲洗,80%酒精中硬化,5%硝酸溶液脱钙,酒精、正丁醇脱水,石蜡包埋,切成 5/nm 厚切片,HE 染色。由一名不详实验分组的病理科医师于光镜下观察,并按以下标准进行病理改变分级:0 级:无任何病理改变;I 级:骨髓坏死,骨小梁无坏死,有明显的细胞溶解,核破裂,脂肪细胞核及边界消失;II 级:除了 I 级的改变,同时有骨陷窝空陷,骨小梁及骨髓均坏死。

2.5.3 电镜检查 将用电镜观察的另一半骨组织迅速用锋利的骨刀凿取紧靠钻孔部位的骨组织,并将其修剪成 1.5mm³ 大小。立即用二甲砷酸钠配制的 4%戊二醛固定,然后用 0.1mol/L 的二甲砷酸钠溶液冲洗,1%锇酸固定,5%硝酸水溶液脱钙,酒精脱水,环氧树脂 618 包埋,LKB-V 型超薄切片机切成 60nm 左右的超薄片,蜡酸铀 - 柠檬酸铅双重染色,JEM-100S 透射电镜下观察。

2.6 统计方法 所有实验数据均用 SPSS·FOR·WIN 软件进行统计处理。

2.7 结果分析

2.7.1 肉眼观察 手术实验后 2 月时,可见股骨头外形可,关节面不平、淡黄色、无光泽、剖面骨髓淡红色,钻孔部由疏松结缔组织填充,移植骨与股骨头结合不紧密;3 月时,可见股骨头表面光滑,颜色近于正常软骨面,股骨头外形正常,有光泽,剖面呈淡红色,质硬的新生骨组织,剖开后见整个整块均为成活松质骨。

2.7.2 光镜检查 手术实验后 2 月和 3 月时,采用 Ridit 分析,2 组之间相比差别有显著性意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 不同处理组光镜组织学观察分级				例
组别	0 级	I 级	II 级	合计
对照组	0	4	14	18
实验组	10	6	2	18
合计	10	10	16	36

2.7.3 电镜检查 手术实验后 2 月时,表层组织内有大量骨细胞,呈典型未成熟的骨细胞特征。细胞表面有丰富的微绒毛,胞核呈圆形,胞浆核清晰可见,核膜界限清楚,胶原纤维呈纵、横、斜向排列,形成片状,针状的松质骨。3 月时,可见再生软骨表面与正常透明软骨极为相似,呈纵横交错,相互融合的“蜂窝”样结构,嵴间见微孔,表层纤维组织消失。成骨细胞增殖活跃,可见成熟的板层状骨生成,新生血管结构完好,骨细胞成圆形,核膜清晰,趋于成熟。骨细胞粗面内质网增生扩张,线粒体发达,嵴结构及嵴上颗粒清晰(活性成骨细胞结构),成熟的骨细胞位于骨陷窝内,有代谢活性高、功能旺盛、细胞器发达的成骨细胞及成纤维细胞。

3 讨论

微循环的障碍堵塞,是造成股骨头缺血性坏死的关键^[1]。中药丹参有活血化瘀,改善微循环的功能^[2];功效能降低血脂、降低血清总胆固醇、降低血液粘度,抑制血栓素(TXA₂)的合成,抑制血小板凝集,提高纤维蛋白酶活性,改善血液的浓粘凝聚状态,调节血液流变性,改善微小血管的栓塞。丹参能直接改善血液的浓、粘、凝、聚,推动血液的流动性,能增强微循环的血流灌注量,改善重建微循环,改善终末动脉和微细血管的栓塞,疏通堵塞的微循环,恢复局部的血氧供给。增生的毛细血管连同成纤维细胞由邻近的活骨伸进坏死区,在死骨邻近的活骨中,血管反映最活跃,其中有新生血管形成。血供增多死骨被吸收,周围的增生的纤维母细胞及新生毛细血管侵入,纤维母细胞进一步分化形成成骨细胞,逐渐完成新生骨的,最终使囊性变或碎裂的股骨头得到修复。同种异体冻干骨具有良好诱导及传导作用,保持最大的生物活性。目前同种异体冻干骨被看成无免疫原性植入物^[3]。一是骨移植可同时起到髓芯减压的目的,在进行骨移植时开凿的隧道对治疗激素性股骨头坏死起到 2 方面的作用:(1)降低骨内压,阻止病程进一步发展。丹参能改善微循环^[4],促进血管再生,股骨头修复。(2)具有足够的机械强度和良好的支撑能力,同种异体冻干骨移植可补充坏死松质骨的丧失的生理应力^[5]。二是同种异体骨经冷冻可以抑制能够破坏成骨作用的蛋白酶和细菌生长,并可破坏细胞表面抗原,降低移植后的排异反应^[6],具有良好的生物相容性及骨传导和骨诱导双重成骨能力,且能被宿主骨替代形成生物性永久连接。

我们认为马血清加激素可以导致动物股骨头缺血性坏死,丹参加同种异体骨植入对股骨头缺血性坏死,符合中医理论,并且方法简单易行,具有较好的疗效,是临床治疗股骨头缺血性坏死的一种较理想的治疗方法,对临床治疗有一定的指导意义。

参考文献

[1]周谋望,朱盛修.带血管蒂髂骨移植对缺血坏死股骨头修复的实验

华蟾素辅助治疗晚期消化系统肿瘤近期疗效观察

黄兆明 陶玉

(浙江省温州市中医院肿瘤科 温州 325000)

摘要 :目的 :总结中药抗癌针剂华蟾素辅助治疗晚期消化系统肿瘤的效果。方法 :用华蟾素 15~20mL 加入生理盐水 250mL 静脉滴注 ,连续 20d 为 1 个疗程 ,一般连用 1~3 个疗程 ;同时配合中医辨证论治口服中药。其中 10 例同时接受了 CF+5FU+L-OHP 方案化疗 ,1 例接受了 CF+5FU 方案化疗。结果 :CR 为 0 ,PR 为 2 ,NC12 例 ,PD12 例 ,其中 2 例 PR 病例均接受了化疗 ;病人腹胀、肝区痛、食欲不振、神疲乏力等症状明显改善 ,肝功能明显改善 ,生活质量明显提高。结论 :静脉滴注华蟾素应是目前治疗晚期消化系统肿瘤一项比较合适的辅助措施。

关键词 :消化系统肿瘤 ;晚期 ;华蟾素针剂 ;辨证论治 ;化疗 ;中西医结合疗法

【摘要】目的:总结中药抗癌针剂华蟾素辅助治疗晚期消化系统肿瘤的效果。方法:用华蟾素 15~20mL 加入生理盐水 250mL 静脉滴注,连续 20d 为 1 个疗程,一般连用 1~3 个疗程;同时配合中医辨证论治口服中药。其中 10 例同时接受了 CF+5FU+L-OHP 方案化疗,1 例接受了 CF+5FU 方案化疗。结果:CR 为 0,PR 为 2,NC12 例,PD12 例,其中 2 例 PR 病例均接受了化疗;病人腹胀、肝区痛、食欲不振、神疲乏力等症状明显改善,肝功能明显改善,生活质量明显提高。结论:静脉滴注华蟾素应是目前治疗晚期消化系统肿瘤一项比较合适的辅助措施。

【关键词】消化系统肿瘤;晚期;华蟾素针剂;辨证论治;化疗;中西医结合疗法

【中图分类号】R735 【文献标识码】B 【文献编号】1671-4040(2004)06-0003-01

我院自 2003 年至现在,采用华蟾素针剂中西医结合治疗晚期消化系统肿瘤 26 例,起到一定近期疗效。报告如下:

1 临床资料

本组全部病例均为住院病人,其中男 19 例,女 7 例;年龄 32~76 岁,平均 57.8 岁;Karnofsky 评分 50~70 分,平均 65.2 分;胃癌 6 例,大肠癌 4 例,原发性肝癌 11 例,肺癌肝转移 5 例;胃肠癌均经病理确诊,其中胃癌术后复发或转移者 4 例,胃癌未行手术者 2 例,直肠癌术后肝转移者 3 例,结肠癌术后肝转移、肠系膜淋巴结转移者 1 例;5 例肺癌肝转移。得原发癌均有病理或细胞学诊断依据;11 例原发性肝癌均 B 超、CT 或磁共振等影像学诊断依据,其中 AFP 阳性者 7 例。

2 治疗方法

全部病例均用华蟾素 15~20mL 加入生理盐水 250mL 静脉滴注,连续 20d 为 1 个疗程,一般连用 1~3 个疗程。同时配合中药汤剂治疗。根据不同病种使用不同的基础方。胃肠癌基础方为:党参 15g,白术 10g,茯苓 10g,薏苡仁 30g,佛手 10g,陈皮 10g,八月札 30g,拔莢 30g,藤梨根 30g。兼阴虚者加北沙参 15g、太子参 15g、麦冬 12g,兼血瘀者加莪术 10g,兼湿热者加黄连 3g、砂仁 5g、半枝莲 30g。肝癌基础方为:柴胡 10g,白芍 10g,枳壳 10g,香附 10g,郁金 10g,党参 15g,白术 10g,薏苡仁 30g,茯苓 15g,岩柏 15g,平地木 30g,八月札 30g,鳖甲 15g,莪术 10g,鸡骨草 30g,石上柏 30g。兼阴虚者

加枸杞子 15g、生地 15g、麦冬 12g,兼湿热者加茵陈 30g、山梔 15g、车前草 15g。肺癌肝转移者基础方为:半夏 10g,陈皮 10g,茯苓 10g,杏仁 10g,瓜蒌皮 15g,桔梗 10g,党参 15g,白术 10g,鳖甲 15g,山慈姑 12g,八月札 30g。兼阴虚者加枸杞子 15g、太子参 15g、南沙参 15g、北沙参 15g,兼血瘀者加莪术 10g,痰热盛者加瓜蒌仁 15g、象贝 10g。其中 4 例胃癌及 6 例大肠癌患者同时接受了 CF+5FU+L-OHP (亚叶酸钙 + 氟尿嘧啶 + 草酸铂) 方案化疗,另有 1 例直肠癌患者接受了 CF+5FU (亚叶酸钙 + 氟尿嘧啶) 方案化疗。

3 结果

3.1 肿瘤客观疗效 治疗 2 个疗程后复查 CT 或磁共振以评价客观疗效,采用 WHO 实体瘤客观疗效标准。结果完全缓解 (CR) 为 0 例,部分缓解 (PR) 为 2 例,无变化 (NC) 12 例,进展 (PD) 12 例。2 例 PR 病例均接受了化疗。

3.2 症状改善情况 经治疗后大多患者症状有改善,见表 1。

表 1 华蟾素治疗后主要症状改善情况					例
症状	病例数	完全消除	减轻	无效	有效率(%)
腹胀	16	6	7	3	81.2
肝区痛	15	9	4	2	86.7
食欲不振	18	4	12	2	88.9
神疲乏力	21	4	14	3	85.7
恶心呕吐	6	4	2	0	100

3.3 肝功能改善情况 治疗前有 14 例患者 (下转第 6 页)

研究[J].中华显微外科杂志,1991,14(2):95

[2]曾庆明.丹参与黄芪注射液治疗慢性乙型肝炎疗效观察[J].实用中西医结合临床,2001,1(1):13

[3]Simons Rabin SR,Delloge C,et al.The induction of osteogenesis in deep frozen allografts by drilling[J].Int orthop ,1993,17:98

[4]刘宏泽,王文瑞,等.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[J].中国骨伤杂志,2003,16(12):728

[5]Czitrom AA.Indications and uses of morsellized and small-segment allograf bone in general orthopaedics Baltimore [J].Williams and wilkins,1992,47~65

[6]彭明,杨彬,于洪文.深低温冷冻同种异体骨修复骨缺损的临床应用[J].骨与关节损伤杂志,1997,12(4):205~206

(收稿日期:2004-07-26)