

## 补肾活血中药对膝骨性关节炎家兔血清、滑膜及关节软骨一氧化氮水平的影响

杨平林<sup>1</sup> 刘德玉<sup>2</sup> 贺西京<sup>1</sup> 杨治<sup>3</sup>

(1. 西安交通大学第二医院骨二科, 陕西 西安 710004; 2. 陕西中医学院骨四科; 3. 舟山市人民医院骨外科)

**【摘要】** 目的 探讨补肾活血中药对膝骨性关节炎家兔血清、关节软骨及滑膜一氧化氮(NO)水平的影响。方法 48 只 6~10 个月龄新西兰大白兔, 雌雄各半, 随机分为正常组(18 只), 空白对照组(18 只), 中药组(12 只)。采用 Hulth 造模法建立 OA 模型。造模 6 周后分别给正常组和空白对照组、中药组每日灌服生理盐水、中药煎剂。分别于造模后 6 周、8 周、12 周测定各组血清、关节软骨及滑膜 NO 水平。结果 空白对照组血清、关节软骨及滑膜 NO 水平均高于正常组, 以关节软骨最为显著, 而在灌服中药煎剂后, 上述各项指标均有明显下降, 与空白对照组比较有显著性差异( $P < 0.05$ )。结论 补肾活血中药能够降低血清、关节软骨及滑膜 NO 水平, 延缓 OA 的组织学改变进程, 抑制本病的发生发展。

**【关键词】** 骨关节炎, 膝; 中草药; 一氧化氮

**Experimental study of the effects of the level of the nitric oxide (NO) in serum, articular cartilage and synovial membrane with the Chinese herbs of Busheng Huoxue in osteoarthritis rabbits knee** YANG Pinglin, LIU Deyu, HE Xijing, et al. Department of Orthopaedics Surgery, Second Hospital, Xi'an Jiaotong University, (Shanxi Xi'an, 710061, China)

**【Abstract】 Objective** To explore the effects of Busheng Huoxue Decoction on nitric oxide (NO) in serum, articular cartilage and synovial membrane in rabbits' knee joint. **Methods** 48 New Zealand rabbits of 6~10 months were used in this study. They were divided randomly into the normal group (18), control group (18) and Chinese herbs treating group (12). The rabbits in normal group underwent sham-operation, and others established the OA model with Hulth's method. All rabbits, except the normal and control group, were given drugs from 6 weeks after operation. At 6 weeks, 8 weeks and 12 weeks after operation, the NO concentration of the serum, articular cartilage and synovial membrane all of rabbits were examined. **Results** The NO concentration of the serum, articular cartilage and synovial membrane in control group was all significantly higher than those in normal group, with the articular cartilage more obvious than others'. Compared with other groups, the NO concentration of Chinese herbs treating group were obviously decreased ( $P < 0.05$ ). But all of them were higher than that of the normal group. **Conclusion** The Busheng Huoxue Decoction was effective in preventing and treating osteoarthritis by means of decreasing the level of NO of the serum, synovial membrane and articular cartilage.

**【Key words】** Osteoarthritis knee; Chinese herbs; Nitric oxide

目前认为关节软骨退变与自由基产生和微循环改变有重要关系, 其中一氧化氮(NO)是引起关节软骨退变的重要原因之一。为了有效抑制自由基产生和改善微循环, 我们观察了补肾活血中药对膝骨性关节炎家兔的血清、滑膜及关节软骨一氧化氮水平的影响及其对关节软骨保护作用。

### 1 材料及方法

**1.1 动物** 实验用 6~10 个月龄新西兰大白兔

48 只(由西安交大医学院动物实验中心提供), 体重 2.5~3.5 kg, 雌雄各半, 随机分为正常组 18 只、对照组 18 只及中药组 12 只, 再按术后取材时间 6 周、8 周、12 周分成小组, 每小组 6 只。

**1.2 造模** 以 Hulth 模型为本次实验模型。方法: 术前随机选取一侧后肢剪毛, 确定其膝关节为手术造模关节。3% 戊巴比妥钠  $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  静脉注射麻醉(耳缘静脉)。常规消毒, 取内侧髌旁切口, 切断内

侧副韧带,打开关节腔,剪断前后交叉韧带,并切除内侧半月板,注意勿损伤关节软骨。造模成功后,彻底止血,冲洗关节腔,逐层缝合。术后青霉素预防感染治疗 1 周。

**1.3 取材及其制备** 于术后第 6、8、12 周分三批,抽静脉血 2 ml,血液凝固后分离血清,将血清置于  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱内保存待检;每组随机取 6 只,处死后迅速取关节软骨、滑膜,用 1/1 000 的分析天平称取组织重量约 150 mg,用研钵(或组织匀浆器)研碎后加入无菌生理盐水制成质量分数为 10% 的组织匀浆,放入  $4^{\circ}\text{C}$  冰箱 16~18 h,再放入冰箱冷冻保存( $-20^{\circ}\text{C}$ )。

**1.4 材料及药物** NO 试剂盒:由南京建成工程研究所提供,批号:2001099。中药组成:熟地 12 g,生黄芪 30 g,白芍 9 g,苍术 9 g,黄柏 15 g,肉苁蓉 12 g,薏苡仁 30 g,当归 12 g,秦艽 9 g,牛膝 15 g,甘草 6 g,三七 6 g,由陕西中医学院药房提供。中药按原方煎

制成  $1\text{ g}\cdot\text{ml}^{-1}$  (100%) 的溶液,按人免折算后给予  $11.4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\text{d}^{-1}$ 。造模 6 周后,按上述方法用灌胃法给药,2 次/d,正常组及对照组给予生理盐水各 10 ml,2 次/d。

**1.5 观察内容** 印度墨汁染色大体肉眼及解剖显微镜观察软骨表面情况;用硝酸盐及亚硝酸盐还原酶还原法测定血清、关节软骨及滑膜 NO 水平。

**1.6 统计学处理方法** 采用  $\bar{x} \pm s$  表示,显著性比较采用  $t$  检验处理。

## 2 结果

造模 6 周后,模型组 NO 水平升高,与正常组(A)相比,差异均有显著意义( $P < 0.05$ )。用药 2 周后,治疗组(C)NO 水平下降,与对照组(B)相比有显著意义( $P < 0.05$ )。用药 6 周后,C 组的 NO 水平继续下降,与 B 组相比更加显著( $P < 0.01$ ),而空白对照组(B)NO 水平继续升高。实验各组 NO 水平变化(见表 1)。

表 1 NO 水平的变化( $\mu\text{mol/L}$ ,  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

组别	血清			滑膜			关节软骨		
	6 周	8 周	12 周	6 周	8 周	12 周	6 周	8 周	12 周
正常组(A)	13.43±2.10	12.97±2.31	12.77±1.76	13.60±2.90	12.70±2.47	12.85±2.04	14.67±2.23	12.57±2.00	12.83±1.83
对照组(B)	17.40±2.65	17.50±2.84	18.01±2.18	18.50±1.36	18.06±3.06	18.25±2.33	19.65±2.50	18.95±2.45	18.87±2.28
中药组(C)	—	13.60±2.32	12.78±1.80	—	13.01±1.98	13.17±1.96	—	15.37±2.22	13.23±1.64

## 3 讨论

用药后导致 NO 水平降低,其发生机理可能与下列因素有关:①降低 OA 关节局部(软骨及关节周围组织)的炎性介质(如 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、INF- $\gamma$ 、PGE<sub>2</sub> 等)<sup>[1]</sup>。大量的实验研究表明<sup>[2]</sup>,人类软骨母细胞在体外培养中,只要加入炎性细胞因子,如 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、INF- $\gamma$  等,就会激活软骨母细胞中的 iNOS 而产生大量的 NO。而黄柏、秦艽、白芍、薏苡仁具有抗炎抗渗出,抑制炎性介质或细胞因子的产生和释放等作用。对 OA 大鼠的滑膜肿胀、渗出、毛细血管通透性有明显抑制作用<sup>[3]</sup>。白芍总甙具有明显抑制 OA 大鼠关节的纤维素渗出、炎性细胞浸润及滑膜增生,还具有明显抑制 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、INF- $\gamma$ 、PGE<sub>2</sub> 等过度分泌等作用<sup>[4]</sup>。②抑制 iNOS 合成酶及各种分解酶(如金属蛋白分解酶、胶原酶、蛋白淀粉酶等)。iNOS 在正常软骨组织中没有表达,但细胞因子和细菌脂多糖均能刺激 iNOS 的表达,使 NO 水平升高。同时, iNOS 也能激活金属蛋白酶(MMPS)、PGE<sub>2</sub> 和胶原酶等的活性,从而抑制软骨细胞分泌细胞外基质和分成 II

型胶原,影响软骨的营养交换,最终导致软骨质量下降和退化。③抗氧化和抑制自由基(如 NOO<sup>-</sup> 等)的产生和 IL-1 $\beta$  诱发的软骨细胞凋亡。熟地、黄芪、肉苁蓉、当归具有抗氧化及清除自由基等作用。黄芪总黄酮、总皂甙、总多糖具有良好的清除氧自由基,提高 SOD 活性,改善机体状态等作用<sup>[4]</sup>。熟地黄能增强小鼠血中 SOD 和 GSH-PX 活性,降低 LPO 含量,以及激活纤维系统等作用<sup>[5]</sup>。当归中的阿魏酸钠可直接消除自由基,抑制氧化反应和自由基反应以及与生物膜磷脂结合,保护膜质等多种机理,从而拮抗自由基对组织的损害<sup>[6]</sup>。④改善微循环、激活纤溶系统以及降低骨内压等作用。研究表明, iNOS 的产生受多种因素影响,其中血液流变学及动力学改变是重要因素之一。当归、牛膝、三七具有改善微循环,扩张血管等作用。这三味药物对于改善关节周围软组织及骨内血液循环,静脉瘀滞及骨内高压具有明显作用。同时还有降低血粘度及血脂,抑制脂质过氧化及骨、软骨细胞脂肪变性等作用。基于以上认识,可初步推断该中药可直接或间接降低 OA 家兔血清、关节软骨、滑膜 NO 水平,从而抑制 NO 引起的关节软骨损伤。

· 骨伤论坛 ·

## 对单足站立时髋关节接触力的不同看法

### Different points of view for the contacting force of hip joint while monopodial standing

崔锡范 朱敏

CUI Xifan, ZHU Min

【关键词】 髋关节； 接触力 【Key words】 Hip joint； Contacting force

毛宾尧主编的《髋关节外科学》关于人体单足站立时重心与髋关节接触力的观点<sup>[1]</sup>，本人有不同见解。分析如下(见图 1)：

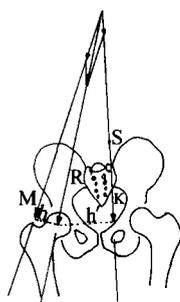


图 1 单足静止站立，S 为重心，K 为体重的垂直力，h' 为重力 K 的力臂，M 为外展肌力，h 为力 M 的力臂，R 为力 K 和 M 的合力。

书中认为：S 为单足站立时的重心，K 为身体(头颈部、躯干、双侧上肢和对侧下肢)的重力。h' 为重力 K 的力臂，M 为外展肌力，h 为力 M 的力臂，R 为力 K 和 M 的合力。存在等式关系： $Kh' = Mh$ 。髋关节承受力  $R = \sqrt{K^2 + M^2 + 2KM\cos(\widehat{KM})}$ 。其中  $\widehat{KM}$  为力 K 与 M 的力线所成的夹角。力 K 的力臂大约是 M 力臂的 3 倍，故合力 R 大约为总体重的 3 倍以上。

本人认为上述看法不妥，因为人体在支撑自身时，重心与地面的垂线必须落在支撑身体的两足及之间所占据的平面内(见图 2 阴影部分)，身体才不会倾倒。若单足站立，身体的重心与地面的垂线必须落在负重足的足底所占据的平面内，身体才不倾倒。因为单足站立时，负重足底所占据的面积小，人体为了把重心的垂线调节到负重足底所占据的平面内，所以，身体会不稳，出现摇晃。

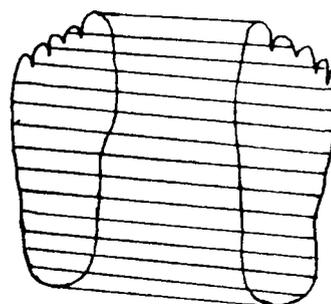


图 2 两足负重时所占据的平面，身体的重心与地面的垂线落在此平面内，则身体不会倾倒。

实际上，在单足负重之前，身体的重心已经向负重侧移动，然后才开始单足负重。如果身体的重心不移动，单足负重是不可能的，身体会向负重侧的对侧倾倒。就象两足分别踩在两个凳子上，身体的重心不动，然后拿掉一个凳子，行单足站立，这样是站不住的。假想把负重足和地面考虑为一个整体(就向焊接在一起一样)，外展肌力收缩对抗重力，上述等式就成立了，此时股骨头的受力约为体重的 3 倍，但这种情况是不存在的。人体在单足站立时，重心与地面的垂线必须落在负重足底所占据的平面内，在此前提下，如果重力 K 通过股骨头中心，则股骨头所受的力等于重力 K；如果重力 K 通过股骨头的外侧，则股骨头的受力为重力与内收肌力的合力；如果重力 K 通过股骨头的内侧，则股骨头的受力为重力与外展肌力的合力。一般情况下，单足站立达到平衡时重心通过股骨头，为保持身体平衡，髋关节周围的肌肉都有收缩，股骨头的受力为重力 K 与髋关节周围肌肉收缩力之和。

#### 参考文献

- 1 毛宾尧. 髋关节外科学. 北京: 人民卫生出版社, 1998. 41-42.  
(收稿: 2002-10-20 修回: 2002-12-20 编辑: 李为农)

#### 参考文献

- 1 McCartney-Francis W, Allen JB, Mizel DE, et al. Suppression of arthritis by an inhibitor of Nitric oxide synthase. J EXP Med, 1993, 178: 749-754.
- 2 孙伟, 王吉兴, 金大地, 等. INOS 抑制剂与软骨修复的研究进展. 中华骨科杂志, 2001, 21(2): 119-120.
- 3 王斌, 陈敏珠, 徐叔云, 等. 白芍总甙对佐剂性关节炎大鼠滑膜细胞

- 功能和脾细胞增生反应的影响. 中国药理与毒理学杂志, 1994, 8(2): 128.
- 4 汪德清, 沈文梅. 黄芪的三种提取成分对氧自由基的影响. 中国药理学通报, 1994, 10(2): 129.
- 5 陈晓光. 何首乌对老年小鼠衰老的影响. 中草药, 1991, 22(8): 357.
- 6 张明发. 阿魏酸抗动脉粥样硬化的研究进展. 中草药, 1990, 21(1): 41-43.  
(收稿: 2003-01-09 编辑: 李为农)

沂源县中医院, 山东 沂源 256100