

膝关节腔内注射疗法对骨关节炎关节软骨影响的实验研究

邱平 苏海丽 唐劲松 王永江 郭秀兰 李国璞

【摘要】 目的 采用不同物质进行膝关节腔内注射以比较其对骨关节炎关节软骨的影响。**方法** 6 月龄新西兰白兔 12 只,分实验组和对照组 a、b,实验组采用石膏固定一侧膝关节的方法制作膝骨性关节炎的模型。模型建立后,去除固定,定期于膝关节腔内注射强的松龙注射液、透明质酸钠、医用氧气、丹参注射液,每周 1 次,共 4 次。通过光镜与电镜观察上述物质对骨关节炎关节软骨的影响。对照组 a 不做任何处理,对照组 b 仅做一侧膝关节固定,不行膝关节腔内注射。**结果** 透明质酸钠对退变的关节软骨有明显的修复作用,丹参注射液对关节软骨亦有一定的修复作用。而强的松龙及医用氧气对骨关节炎关节软骨未表现出有益的影响。**结论** 临床上在治疗骨性关节炎时,应考虑上述物质对关节软骨的影响。

【关键词】 骨关节炎; 软骨,关节; 注射,关节内; 膝关节

The influence of intra-articular injections on articular cartilage of knee joints in patients with osteoarthritis

QIU Ping*, SU Haili, TANG Jingsong, WANG Yongjiang, GUO Xiulan, LI Guopu. * Department of Rehabilitation Medicine, The Second Hospital of Shanxi Medical University, Shanxi 030001, China

【Abstract】 Objective The purpose of this study was to compare the influences of intra-articular injections of various substances on articular cartilage of knee with osteoarthritis. **Methods** Twelve rabbits were divided into an experimental ($n=8$) and two control (a and b, $n=4$) groups. Osteoarthritis models were established using the Vandman's technique in all of the 8 rabbits of experimental group and 2 of the control group b, then the delta-cortef solution, sodium hyaluronate, medical oxygen, and salvia miltiorrhiza solution were injected, respectively, into the affected knee joints of each two of the 8 rabbits, leaving the 2 rabbits of control group b not injected. Optic and electron microscopic examinations were conducted to observe the pathological changes of articular cartilage of the knee of these animals. **Results** The results showed that, sodium hyaluronate exhibited beneficial effect on repairment of the involved articular cartilage of the knee with osteoarthritis resulted from long-term disuse of the joint. Salvia miltiorrhiza solution also had certain beneficial effects on it, but was not as significant as sodium hyaluronate. Both the delta-cortef and medical oxygen exerted no significant beneficial effect in this study. **Conclusion** Certain therapeutic agents might be helpful, when they are properly selected and used in the form of injection therapy, in the management of osteoarthritis.

【Key words】 Osteoarthritis; Cartilage, articular; Injection, intra-articular; Knee joint

膝关节腔内注射治疗骨性关节炎是临床中常用的治疗方法。但尚未见采用不同物质进行关节腔内注射并比较其对关节软骨的影响的报道。本文采用强的松龙混悬液、透明质酸钠、医用氧气、丹参注射液等物质分别行膝关节腔内注射,旨在观察上述物质对膝关节软骨的影响。

资料与方法

一、实验设计

采用 6 月龄、平均体重在 2.5 kg 的新西兰白兔 12 只,随机分为实验组(8 只)与对照组(4 只),实验组动

物采用石膏固定膝关节的方法制作膝骨性关节炎的模型,定期于膝关节腔内注射强的松龙注射液(2 只)、透明质酸钠(2 只)、医用氧气(2 只)、丹参注射液(2 只),在光镜与电镜下观察上述物质对骨性关节炎病变关节软骨的影响。对照组分 a、b 两部分,对照组 a(2 只)不做任何处理,对照组 b(2 只)同实验组行一侧膝关节固定,去除固定后不做关节腔内注射。对照组观察内容同实验组。

二、实验步骤

采用 Vandman 法^[1]将实验组及对照组 b 动物的左膝关节用石膏固定于伸直位,固定范围从兔踝关节下 3 cm 至腹股沟以下 1.5 cm,踝背屈 30~40°,固定时间 5.5 周^[1]。待骨关节炎模型建立后,去除固定,经剃毛、碘伏消毒膝关节后,分别于实验组不同的白兔左

作者单位:030001 太原,山西医科大学第二医院康复医学科(邱平、苏海丽、唐劲松、王永江、郭秀兰);山西运城地区卫校附属医院(李国璞)

膝关节腔内注射上海制药厂生产的强的松龙混悬液 0.3 ml, 山东正大制药有限公司生产的透明质酸钠 0.3 ml, 医用氧气 1.5 ml 或杭州正大青春制药厂生产的丹参注射液 0.3 ml, 每周注射 1 次, 连续注射 4 次, 注射剂量参考《生化药物研究》中的剂量^[2]。注射治疗前, 于兔耳缘静脉注射安定 2 ml, 使兔镇静, 以免在关节腔注射时损伤关节面。最后一次注射后 1 周, 采用空气注射法处死动物, 取材。对照组 b 在固定 5.5 周后, 去除固定, 不做任何注射治疗, 对照组 a、b 取材方法与时间同实验组。

三、取材部位

实验组与对照组均取膝关节股骨髁及部分滑车部位的软骨做光镜标本, 取滑车较平展部分的软骨做电镜标本。

四、标本制作

1. 光镜标本制作: 取材后的标本经 10% 中性甲醛溶液固定, 10% 甲酸溶液脱钙、脱水、浸蜡、包埋, 切 5 μm 厚的组织切片, 经脱蜡至水, 行 HE 及甲苯胺兰染色, 置光镜观察。

2. 电镜标本制作: 取材后的软骨标本用生理盐水冲洗后, 经戊二醛固定, 蔗糖液冲洗, 临界点干燥, 金-铂喷镀, 置扫描电镜观察, 电镜型号为 JSM-5600LV 型。

结 果

一、大体标本观察

实验组与对照组膝关节腔无感染, 关节软骨表面无可见的龟裂及溃疡。

二、光镜及电镜观察

1. 对照组 对照组 a: 光镜下, 甲苯胺兰染色的标本, 基质呈紫兰色, 染色均匀, 细胞排列规则有序, 表层细胞梭形, 近似水平排列。中间层细胞圆形, 散在分布。中间层下为柱状层细胞呈柱状排列。潮线清晰, 钙化层细胞较大, 散在分布。各层细胞无簇集, 无细胞

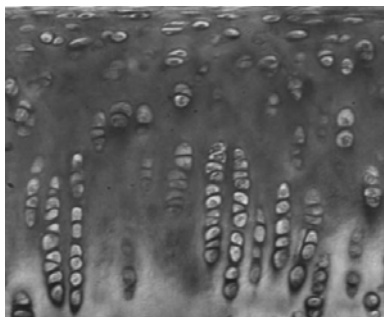


图 1 对照组 a 甲苯胺兰染色光镜下示软骨退变 ($\times 200$)

分布密度的减少(图 1)。电镜下, 软骨表面呈波浪起伏状结构, 表面无胶原及软骨细胞裸露(图 2)。对照组 b: 光镜下, 甲苯胺兰染色的标本, 基质染色不均、淡染, 软骨细胞排列紊乱, 细胞有簇集、核缩、核溶, 细胞有消失(图 3)。电镜下, 软骨表面波浪状结构消失, 软骨表面有破损, 胶原纤维裸露、断裂(图 4)。

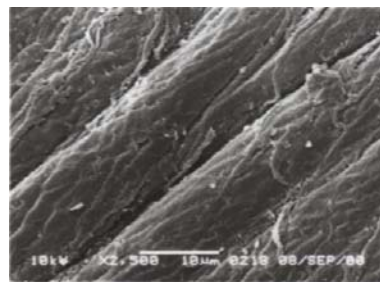


图 2 对照组 a 扫描电镜下示软骨退变 ($\times 2500$)

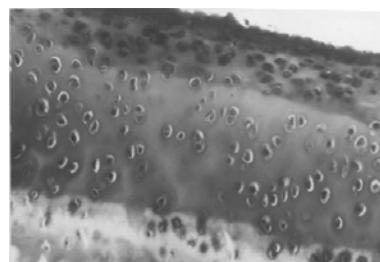


图 3 对照组 b 甲苯胺兰染色光镜下示软骨退变 ($\times 200$)



图 4 对照组 b 扫描电镜下示软骨退变 ($\times 5000$)

2. 实验组 强的松龙注射组: 光镜下, 细胞排列紊乱, 细胞簇集明显, 可见有细胞核缩、核溶, 细胞消失现象, 基质染色不均、淡染。电镜下, 软骨表面波浪状结构低平、消失, 软骨表面有断裂, 胶原纤维有裸露(图 5)。透明质酸钠注射组: 光镜下, 软骨细胞排列基本有序, 无细胞簇集。细胞减少现象不明显, 基质染色基本均匀。电镜下, 软骨表面波浪状结构存在, 局部低平, 软骨表面完整, 无胶原纤维及软骨细胞裸露(图 6)。氧气注射组: 光镜下软骨细胞正常的形态及排列

消失,梭形细胞增生,基质淡染,着色不均。电镜下,软骨表面有破损,胶原纤维有裸露、断裂。丹参注射组:光镜下,细胞排列紊乱,细胞簇集及基质淡染不明显。电镜下,软骨表面波浪状结构低平,软骨表面完整,无胶原纤维及软骨细胞裸露。



图5 强的松龙注射组电镜下示软骨退变($\times 5000$)

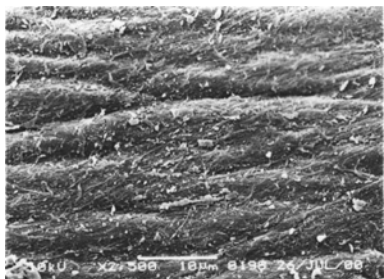


图6 透明质酸钠注射组电镜下示软骨退变($\times 2500$)

讨 论

膝骨关节炎是中老年人群中常见病、多发病,其本质是关节组织的慢性退行性改变。该疾病累及关节软骨、软骨下骨及滑膜等多种结构,而关节软骨的退行性改变是骨关节炎的主要病变部位。光镜下,退变的软骨表现为软骨细胞排列紊乱,细胞减少,细胞簇集,有核浓缩、核溶,细胞坏死现象,甲苯胺兰染色,基质淡染,着色不均;电镜下,软骨表面波浪状结构低平,消失,软骨表面断裂,有胶原纤维及软骨细胞裸露。

目前,对于该病的治疗,国内外多采用综合措施。在多种治疗方法中,关节腔内注射是常用而且见效较快的治疗方式,为进一步研究临床上已使用过或正在研究中的药物对关节软骨影响的差异,以便为临床提供实验依据,我们选择上述 4 种物质行关节腔内注射并从形态学上进行了观察。

分析实验结果,我们初步观察到以下现象。

1. 在去除固定,未行关节腔注射的对照组 b,经光镜及扫描电镜观察,膝关节软骨出现明显的退行性改变,特别是在电镜下,可见软骨表面出现胶原纤维的裸

露和断裂,说明该实验采用 Vandman 法建立的骨关节炎动物模型是成功的。

2. 经透明质酸钠注射的膝关节,关节软骨退变程度明显减轻,提示透明质酸钠对固定 5.5 周所致膝骨性关节炎的关节软骨有修复和保护作用。正常情况下,软骨基质中的透明质酸盐对软骨细胞的发育起调控作用^[4]。骨关节炎时,软骨由于细胞因子、氧自由基及酶的作用,产生一系列退行性变化。其中,关节滑液中透明质酸盐的浓度和分子量下降是退变的重要方面之一。关节腔内注射外源性透明质酸盐,可刺激滑膜和软骨细胞产生内源性的透明质酸盐,使组织中透明质酸丢失和降解速率减低,促进软骨的修复和愈合^[4]。

3. 经丹参注射的膝关节,关节软骨退变的程度亦有减轻,但不及注射透明质酸钠明显。丹参具有活血化瘀、改善微循环的作用。有研究表明,丹参可预防由于骨髓腔微循环障碍而致的骨内高压,骨内高压与骨性关节炎有密切关系^[5]。然而,可能由于丹参不是关节滑液的成分,分子量要比透明质酸盐小得多,所以对关节软骨虽然有一定的保护作用,但不及透明质酸盐明显。

4. 经强的松龙混悬液与医用氧气注射的膝关节,关节软骨的退变未见有改善。临床上,对于骨关节炎症状明显的患者,可利用强的松龙强大的抗炎作用,抑制关节内细胞因子的产生,减少炎性物质对关节软骨的破坏。但有研究表明,长期使用糖皮质激素和非固醇类抗炎药,可加速关节软骨的退变,对关节软骨产生负面影响^[6,7]。本文实验的结果与文献报告一致。提示在临床工作中,当骨关节炎急性炎症控制后即可考虑停止使用激素类药物,而采用其它对关节有保护作用的治疗方法。至于使用氧气关节腔内注射为什么在临床对一些患者有效,而在本研究的组织学观察上未产生理想的效果,还有待扩大观察例数进行研究。

5. 鉴于透明质酸钠对关节固定后所致骨性关节炎的关节软骨有保护和逆转退变的作用,提示该药物可做为预防骨性关节炎的发生而用于关节手术需固定的患者。

透明质酸钠对退变关节软骨的修复和保护作用,以及丹参注射液对关节软骨一定程度的保护作用值得引起重视。至于上述两种药物在细胞代谢的哪一个环节发挥作用,还有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 聂林. 骨关节炎的动物模型. 中华实验外科杂志, 1990, 7: 96-97.
- 2 王凤山, 凌沛学, 等, 主编. 生化药物研究. 北京: 人民卫生出版社, 1997. 334.

- 3 田得祥, 曲绵域. 髌骨软骨病的病理探讨. 中国运动医学杂志, 1988, 7:134-135.
- 4 吴慧玲. 透明质酸对关节软骨的影响及作用机制(综述). 国外医学口腔学分册, 1999, 26:30-31.
- 5 刘福云, 许振华, 师江红, 等. 丹参预防骨内高压实验研究. 中华骨科杂志, 1997, 19: 199-200.
- 6 Kalbhen DA. Chemical model of osteoarthritis- a pharmacological evaluation. J Rheumatol, 1987, 14:130-131.
- 7 Kalbhen DA, Schauer M, Wentsche B. Animal experiment studies on the effect of intra-articular injections of antiphlogestic agents on articular cartilage in vivo. Z Rheumatol, 1978, 37: 380-394.

(收稿日期:2001-08-21)

(本文编辑:刘雅丽)

· 短篇报道 ·

280 例成年聋人听力状况调查

张东红 于君 白晶 李丹

耳聋在我国占有较高的发病率,对造成耳聋的因素和聋人残余听力状况的调查分析,对预防耳聋的发生极为重要。因此,从 1998 年 1 月~2001 年 9 月,我中心对 280 例成年聋人进行了听力检查。结果表明,大部分聋人在低频存在残余听力,占 75.4%。影响听力的主要因素有药物致聋、遗传、疾病致聋等。

到本中心婚检门诊体检的沈阳市内的聋人 280 例,其中男 198 例,女 82 例;年龄 18~36 岁,平均 27 岁。详细询问病史、家族史,并进行耳鼻咽喉部检查,用丹麦 DA-64 型电测听计检查各频率的气骨导听力,在隔音室中测试,环境噪音在 30 dB 以下。

参考 WHO 听力障碍判断标准,以语言频率损失的平均值为依据,评定听力损失程度,26~40 dB 为轻度聋;41~55 dB 为中度聋;56~70 dB 为中重度聋;71~90 dB 为重度聋;90 dB 以上为极重度聋。

听力计检查结果:中度聋 10 例,中重度聋 38 例,重度聋 81 例,极重度聋 151 例。232 例重度和极重度患者中,500~1 000 Hz 残余听力在 90~100 dB 的有 175 例,占 75.4%。

致聋的原因及语言状况见表 1、表 2。

表 1 致聋原因

原因	例数	百分比(%)
药物中毒耳聋	123	43.9
遗传耳聋	115	41.1
其它原因致聋	42	15.0
合计	280	100

表 2 语言功能与耳聋的关系

耳聋程度	语言功能全部丧失	语言功能部分丧失
中度聋	0	10
中重度聋	2	36
重度和极重度聋	216	16
总计	218	62

助听器配戴情况:配戴助听器 8 例,其中中重度 5 例,重度

和极重度聋 2 例,中度聋 1 例。

讨论 调查显示成年聋人听力损失程度,一般在高频区(2 000~8 000 Hz)较严重,听力损失平均在 100 dB 以上,而在低频区(500~1 000 Hz)则大部分存在残余听力。这与耳蜗病变部位有关,均属于感音-神经性耳聋。聋儿听力-语言康复正是充分利用这部分残余听力进行的,而我们调查的这些成年人由于错过早期康复的时机,因此,语言功能丧失所占的比例较大。通过语言训练,8 例配戴助听器者语言功能较好,可进行简单的对话交流,而大多数未经语言训练者,即使听力损失程度不重,语言功能亦会丧失。因此,在聋人康复中配戴助听器加强语言训练是非常重要的。

调查显示药物性耳聋 123 例,占 43.9%。这与六、七十年代普遍应用链霉素等耳毒性药物有关。遗传性耳聋 115 例,占 41.1%,由于先天性耳聋多数是常染色体显性遗传,因此,遗传因素成为耳聋的又一重要原因。其它如母孕期病毒感染、败血症、孕高症、宫内乏氧、窒息、产伤、生后患传染病、肺炎等疾病致聋也占有一定的比例。

调查中可看出:聋人在低频区大部分有残余听力。因此,我们可以利用这部分残余听力,让聋人尽早配戴助听器或进行人工电子耳蜗植入进行语言康复训练,特别是在学语前充分利用残余听力进行训练是聋儿康复的关键,使之聋而不哑。同时由于遗传性聋在耳聋中占有一定的比例,因此在婚检中特别要注意病史的询问、家系的调查分析及认真的体格检查,这为诊断耳聋的性质、程度及遗传情况等重要的作用,并且应为聋人婚后生育提供咨询、指导,减少先天耳聋的出生率。对健康人群婚检也要进行宣传教育,减少由于孕期疾患、难产及出生后疾病所致的耳聋。

参 考 文 献

- 1 黄选兆,主编.耳鼻咽喉科学.第 4 版.北京:人民卫生出版社,1998.26-29.
- 2 姜泗长,阎承先.主编.现代耳鼻咽喉科学,天津:科学技术出版社,1996.508-514.

(收稿日期:2001-09-11)

(本文编辑:熊芝兰)