

壮筋续骨汤促进骨折愈合的实验研究

王祥杰¹, 周缜², 潘月兴¹, 赵彧¹, 王贯习³, 杨光文³

(¹ 青岛大学医学院 中西医结合中心, 山东 青岛 266003;

² 青岛大学医学院 外科实验中心, 山东 青岛 266003;

³ 青岛大学医学院附属松山医院 放射科, 山东 青岛 266021)

【摘要】 目的 研究壮筋续骨汤促进大鼠股骨骨折愈合的作用。方法 成年健康雄性 Wistar 大鼠 50 只, 用线锯在股骨中段切断股骨制备骨折模型, 应用壮筋续骨汤水煎液灌胃治疗。X 线观察骨折愈合情况, 苏木精-伊红染色观察骨折愈合的病理变化。结果 治疗后 7 天, 大鼠局部肿胀消失; X 线片示纤维性骨痂开始形成, 骨折线模糊; HE 染色示骨折端断成纤维细胞和成骨细胞增多。治疗后 14 天, 大鼠患肢活动逐渐恢复; X 线示骨折处显示纤维性骨痂和钙盐沉积, 骨折线消失; HE 染色示骨折端有大量纤维性骨痂, 软骨性骨痂和骨性骨痂, 趋于愈合。结论 壮筋续骨汤能促进实验性大鼠骨折愈合。

【关键词】 壮筋续骨汤; 骨折; X 线; 病理; 大鼠

中图分类号: R683

文献标识码: A

doi:10.3969/j.issn.1674-4659.2012.01.0026

The Experimental Study of Enhancing Fracture Healing of ZhuangJinXuGuTang

WANG Xiangjie¹, ZHOU Zhen², PAN Yuexing¹, ZHAO Yu¹, WANG Guanxi³, YANG Guanwen³

(¹Institute of Integrative Medicine, Qingdao University Medical College, Qingdao 266003, China;

²Experimental Center of Surgery, Qingdao University Medical College, Qingdao 266003, China;

³Department of Radiology, Songshan Hospital Affiliated to Qingdao University Medical College, Qingdao 266021, China)

[Abstract] **Objective** To study the effect of ZhuangJinXuGuTang on enhancing the femoral fracture healing in experimental rats.

Methods Total of 50 adult healthy male Wistar rats were established fracture models by cutting femur at middle point of rats, and treated with ZhuangJinXuGuTang. The fracture healing condition was observed by X-ray, and the pathological conditions of fracture healing were detected by HE staining. **Results** After treatment 7 days, the local swelling at femoral fracture subsided gradually. The fibrous callus tissue began forming to reduce the fracture line at X-ray film, and the fibroblast and osteoblast increased significantly at the fracture-end. At treatment 14 days, the movement of fractured limb recovered successfully, more fibrous callus tissue forming and calcium mineral deposited at the fracture-end to remove the fracture line at X-ray film, and more fibrous, cartilaginous and osseous callus tissues forming to enhance the fracture healing. **Conclusion** ZhuangJinXuGuTang could enhance the fracture healing in experimental fracture rats.

[Key words] ZhuangJinXuGuTang; Fracture; X-ray; Pathology; Rats

骨折愈合是指骨折端之间再连接的修复过程, 可以重新形成与原骨的外形、内部结构及其功能一样的新骨^[1]。骨折愈合受全身和局部诸多因素的影响和调节, 其中 5%~10% 的骨折由于各种原因而发生延迟愈合或不愈合^[2]。目前, 促进骨折愈合的措施较多, 大致可分为现代医疗手段和传统医疗手段。随着现代医学的进步, 治疗骨折的方法也多种多样, 其中以手术方法和固定方法进展最快。许多学者发现, 虽然骨折手术内固定完美、可靠, 但骨折的愈合速度变化大, 而传统医学治疗骨折的方法种类较多、疗效可靠、简便易行、价格便宜^[3]。本实验试图观察传统中药壮筋续骨汤促进大鼠股骨骨折愈合的作用。

收稿日期: 2011-09-29 修回日期: 2011-12-08

基金项目: 青岛大学优秀研究生学位论文培育项目 (YSPY2011012)

作者简介: 王祥杰 (1981-), 男, 青岛大学医学院在职研究生, 现在日照市中医院工作。

1 材料和方法

1.1 动物分组

成年健康 Wistar 大鼠 50 只, 雄性, 体重 190~210 g, 清洁级, 青岛市药物检验所动物中心提供 [SCXK(鲁)20090010]。所有动物适应性饲养 7 天, 然后应用随机数字表法分为假手术组、对照组、低剂量治疗组、中剂量治疗组、高剂量治疗组各 10 只, 每组再分为给药 7 天、14 天亚组, 每亚组 5 只。

1.2 模型制备

实验动物应用 10% 水合氯醛 (300 mg/kg) 腹腔注射麻醉, 俯卧位固定, 常规消毒, 无菌操作, 于左侧股外侧切口, 经股前、外侧肌间隔分离至股骨。假手术组动物不切断股骨, 然后逐层缝合切口, 无菌包扎。对照组、低剂量组、中剂量组、高剂量组动物用线锯在股骨中段 (大转子下 0.5 cm) 切断股骨, 然后用克氏针髓腔逆行固定, 逐层缝合, 无菌包扎, 常规喂养。动物存活率 100%。

1.3 壮筋续骨汤

1.3.1 组方 根据清代赵濂《伤科大成》记载壮筋续骨丹演化而来。当归 12 g, 川芎 12 g, 熟地 10 g, 黄芪 12 g, 杜仲 12 g, 川续断 12 g, 骨碎补 12 g, 三七 10 g, 白芍 10 g, 红花 10 g。

1.3.2 炮制 本院中药制剂室严格依据《医疗机构中药煎药室管理规范》(国中医药发〔2009〕3号)要求制备, 在 20 ℃~25 ℃, 相对湿度≤85%条件下, 用符合国家卫生标准的无异味、洁净澄清的冷自来水浸泡, 浸泡约 20~30 min, 先武火(大火)后文火(小火), 沸前用大火, 沸后用小火保持微沸状态, 用武火迅速煮沸, 改用文火维持 10~15 min, 使有效成分充分溶出, 每副中药煎煮两次, 药料充分煎透, 做到无糊状块、无白心、无硬心, 最终药液 224 ml, 含生药 112 g, 浓度 0.5 g/ml。将煎药装入经过清洗和消毒并符合盛放食品要求的容器内, 符合药品包装材料国家标准分装药液, 室温冷却, -20 ℃储存。

1.4 治疗方法

将壮筋续骨汤水煎液置室温(25 ℃)下熔融, 充分震荡摇匀。参考临上成人(体重 70 kg)用量, 每日 0.5 副(112 ml), 折合生药 0.8 g/kg(1.6 ml/kg)体重水煎液。根据人与大鼠剂量换算关系, 大鼠用药剂量为每日 $0.8 \text{ g/kg} \times 6.25 = 5.0 \text{ g/kg}$ 体重。本实验以每日 5.0 g/kg(10.0 ml/kg)体重为高剂量, 每天上午 8:30 灌胃, 每日 1 次。假手术组和骨折对照组给予生理盐水 10.0 ml/kg 体重; 低、中、高剂量组, 分别给予壮筋续骨汤 1.25 g/kg 体重、2.5 g/kg 体重、5.0 g/kg 体重。

1.5 评价指标

各组于治疗 7、14 天后进行观察。

1.5.1 大体观察 观察大鼠肢活动情况。

1.5.2 X 线观察 实验结束后, 10%水合氯醛(300 mg/kg)腹腔注射麻醉动物, 俯卧固定, X 摄片观察骨小梁结构变化及骨质密度改变, 判断骨折愈合情况。

1.5.3 病理观察 实验结束后, 10%水合氯醛(300 mg/kg)腹腔注射麻醉动物。无菌操作, 抽出克氏针后, 截取骨折处上、下 1 cm 部位的组织(包括血肿、骨痂、周围组织), 置于 4%的多聚甲醛 4 ℃固定 24 h, 蒸馏水浸泡 4 h, 再经质量分数为 20%(体积分数为 10%)乙二胺四乙酸(ethylenediamine tetraacetic acid, EDTA)脱钙 10 天。常规梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 沿骨骨纵轴连续切片, 厚 7 μm, 苏木精-伊红染色, 观察骨痂组织结构。

1.6 统计学处理

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 11.0 统计软件处理。

2 结果

2.1 大体观察

大鼠左侧股骨骨折术后, 动物患肢局部肿胀、不能负重, 术后 7 天局部肿胀消失, 患肢活动逐渐恢复, 术后 14 天与对照组无显著性变化。

2.2 X 线观察

大鼠骨折术后 7 天, X 线片示纤维性骨痂开始形成, 但骨折线仍然明显, 14 天骨折处显示钙盐沉积, 骨折线模糊不清,

趋于愈合。治疗组骨折术后 7 天, X 线片示纤维性骨痂较对照组明显, 骨折线模糊, 14 天骨折处显示大量钙盐沉积, 骨折线消失, 趋于愈合, 高、中、低剂量组未见显著性差异。见图 1。

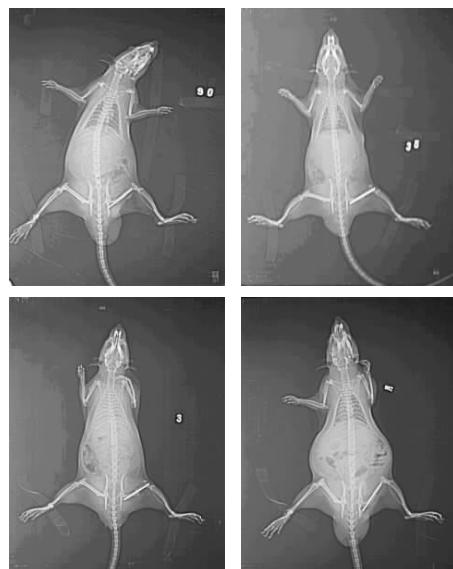


图 1 骨折的 X 线表现

骨折对照组 7 天, 低剂量治疗组 7 天; 骨折对照组 14 天, 低剂量治疗组 14 天

2.3 病理变化

骨折伤后 7 天, HE 染色示骨折断端炎性细胞浸润、纤维母细胞自骨膜下增生长入骨折间隙, 夹杂有少量的成骨细胞; 术后 14 天, 骨折端肉芽组织生长, 成骨细胞数目增多, 纤维性骨痂生成, 并有少量软骨骨痂。治疗组术后 7 天, HE 染色示骨折断端炎性细胞浸润减少, 纤维母细胞和成骨细胞较对照组增多; 术后 14 天, 骨折端有大量纤维性骨痂, 软骨性骨痂和骨性骨痂, 新生骨小梁长入, 高、中、低剂量组未见显著性差异。见图 2。

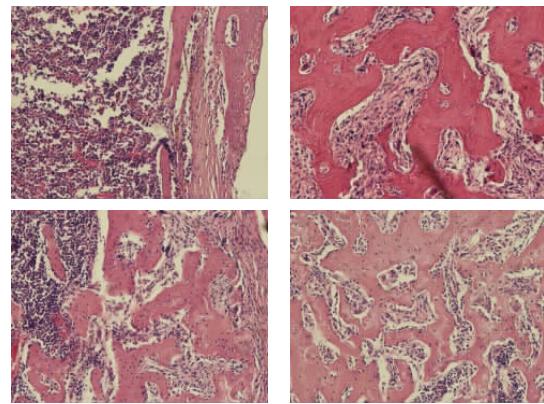


图 2 骨折的病理变化, HE × 100

骨折对照组 7 天, 高剂量治疗组 7 天; 骨折对照组 14 天, 高剂量治疗组 14 天

3 讨论

壮筋续骨汤出自《伤科大成》, 张学恒等^[4]应用单侧多功能外固定支架配合壮筋续骨汤治疗肱骨骨折 (下转第 31 页)

- transplant vasculopathy: recent results, novel mechanisms [J]. *Am J Transplant*, 2006, 6 (2) : 247-253.
- [5] Gaston RS. Cytokines and transplantation: a clinical perspective [J]. *Transplant Sci*, 1994, 4 Suppl 1: S9-19.
- [6] Orloff SL, Yin Q, Corless CL, et al. A rat small bowel transplant model of chronic rejection: histopathologic characteristics [J]. *Transplantation*, 1999, 68 (6) : 766-779.
- [7] Wang MH, Liu SY, Ou NT, et al. Protective effects of FTY720 on chronic allograft nephropathy by reducing late lymphocytic infiltration [J]. *Kidney International*, 2004, 66 (3) : 1248-1256.
- [8] Zhang H, Li Y, Wang J, et al. Sequential Observations Show Upregulation of TGF- β 1 at the Early Phase of Chronic Small Bowel Rejection in Rats [J]. *Digest Dis and Sci*, 2007, 52 (11) : 3224-3230.
- [9] Kouwenhoven EA, SteinOakley AN, Jablonski P, et al. EGF and TGF- β 1 gene expression in chronically rejecting small bowel transplants [J]. *Dig Dis Sci*, 1999, 44 (6) : 1117-1123.
- [10] 陈毓荃. 生物化学研究技术 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.
- [11] Enosawa S, Suzuki S, Kakefuda T, et al. Induction of selective cell death targeting on mature T-lymphocytes in rats by a novel immunosuppressant, FTY720 [J]. *Immunopharmacology*, 1996, 34 (2-3) : 171-179.
- [12] 肖鹤, 崔健, 张磊, 等. FTY720 介导的淋巴细胞归巢作用对外周淋巴细胞的影响 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2007, 27 (11) : 1009-1010.
- [13] Romagnani S. Human Th1 and Th2 subsets: doubt no more [J]. *Immunol Today*, 1991, 12 (8) : 256-257.
- [14] Pirenne J, Kitade H, Kawai M, et al. Regulatory cells, TH1/TH2 unbalance, and antibody-induced chronic rejection in operational tolerance induced by donor-specific blood transfusion [J]. *Transplantation*, 2005, 79 (S3) : S25-27.
- [15] Asderakis A, Sankaran D, Dyer P, et al. Association of polymorphisms in the human interferon- γ and interleukin-10 gene with acute and chronic kidney transplant outcome: the cytokine effect on transplantation [J]. *Transplantation*, 2001, 71 (5) : 674-677.
- [16] Daniel C, Sartory N, Zahn N, et al. FTY720 ameliorates Th1-mediated colitis in mice by directly affecting the functional activity of CD4 $^{+}$ CD25 $^{+}$ regulatory T cells [J]. *J Immunol*, 2007, 178 (4) : 2458-2468.
- [17] Shirwan H, Barwari L, Khan NS. Predominant expression of T helper 2 cytokines and altered expression of T helper 1 cytokines in long-term allograft survival induced by intrathymic immune modulation with donor class I major histocompatibility complex peptides [J]. *Transplantation*, 1998, 66 (12) : 1802-1809.

(责任编辑: 常海庆)

(上接第 27 页)

骨不连, 骨折愈合率高达 97.4%。梁士义等^[5]采用动力髓螺钉固定, 配合壮筋续骨丹, 治疗老年股骨粗隆间骨折, 疗效满意。匡建华等^[6]用手法复位后小夹板或石膏固定配合接骨理伤汤治疗新鲜骨折, 疗效满意。李杰宝等^[7]应用接骨膏糖浆治疗肋骨骨折, 疗效确切。本实验表明, 复方壮筋续骨汤对骨折愈合有良好的作用, 其能明显促进骨折的愈合, 缩短骨折愈合时间。

研究表明, 血肿机化期, 丹参、川芎、红花等活血化瘀药可以改善骨折断端局部血液循环, 清除血凝块及代谢产物, 为骨痂形成提供条件^[8]。林燕萍等^[9]发现, 益气化瘀剂能促进血肿加快吸收、机化, 血肿吸收越快, 机化越迅速, 骨折愈合也就越快。活血化瘀中药还有明显的促进髓腔毛细血管扩张充血的作用, 为各种细胞活动提供了营养物质。骨痂形成期, 续断、骨碎补等含有丰富胶原、钙盐和微量元素, 参与蛋白合成酶代谢等, 有利于骨质修复^[10]。骨痂改造期, 补益肝肾、强筋健骨的鹿茸、人参、骨碎补等, 可明显改善蛋白以及代谢, 促进蛋白质多糖合成以及钙化, 以顺利完成新骨的爬行替代过程^[11]。益气活血、补益肝肾、强筋壮骨等中药能促进骨细胞碱性磷酸酶的合成与释放, 促进骨折断端钙磷的沉积^[12], 以利于骨折愈合, 缩短骨折愈合时间。

参考文献

- [1] 赵子春, 曹志强, 李洪, 等. 中医药促进骨折愈合的相关研究进展 [J]. 陕西中医, 2011, 32 (5) : 636-637.

- [2] 肖宗苗. 中医药促进骨折愈合的常用方法研究 [J]. 长春中医药学院学报, 2005, 21 (3) : 13-14.
- [3] 李凯, 史明, 李文恒. 中医药促进术后骨折愈合的实验研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2009 (10) .
- [4] 张学恒, 郭筱红, 曾石川, 等. 单侧多功能外固定支架配合中药治疗肱骨骨折骨不连 43 例 [J]. 江西中医药, 2006, 37 (8) : 37-38.
- [5] 梁士义, 刘召军. 中西医结合治疗老年股骨粗隆间骨折 42 例 [J]. 国医论坛, 2005, 20 (5) : 45-46.
- [6] 匡建华, 匡建红, 罗星华, 等. 接骨理伤汤促进骨折愈合 50 例 [J]. 湖南中医杂志, 2003, 19 (3) : 19-20.
- [7] 李杰宝, 张家衡. 接骨膏糖浆治疗肋骨骨折的临床研究 [J]. 湖北中医杂志, 2010, 32 (3) : 26-27.
- [8] 刘钟华, 杨世荣, 回春. 中药促进骨折愈合的实验研究概况 [J]. 长春中医药学院学报, 2004, 20 (2) : 63-65.
- [9] 李也白, 徐风管. 复合中药制剂促进骨折愈合的实验研究 [J]. 骨与关节损伤杂志, 1999, 14 (2) : 108-110.
- [10] 周秋丽, 王丽娟. 鹿茸多肽对实验性骨折的治疗作用及机理研究 [J]. 白求恩医科大学学报, 1999, 25 (5) : 586-588.
- [11] 林燕萍, 周瑞祥. 猪狗骨对实验性骨折愈合作用的垂体 TSH, GH 细胞免疫细胞化学研究 [J]. 中国骨伤, 1993, 6 (6) : 5-7.
- [12] 马莎, 李玛琳. 中药促进骨折愈合及其机制的研究进展 [J]. 西部医学, 2011, 23 (8) : 1603-1605.

(责任编辑: 常海庆)