

针刺矫治家兔实验性肘内翻畸形过程中骨骺的生化改变

潘仁智 黄伯灵 向谊 徐立群 赵小寅
(南京市中医院, 江苏 南京 210001)

【摘要】 目的 探讨针刺矫治肘内翻畸形的生化机理。方法 家兔肱骨下端内侧骨骺行不完全性骨折造模术,造成动物延迟型左前肢内翻模型,进行骨骺针刺刺激,测量其骨骺中的氨基己糖、钙的含量变化。结果 针刺组氨基己糖含量上升,钙含量下降,并且比值增大。结论 针刺可促进骨骺中氨基己糖增加,钙含量降低,启示针刺可促进骺软骨生长。

【关键词】 肘损伤 针刺疗法 生物化学 畸形

Biochemical changes in the epiphysis during the treatment of cubitus varus deformity using acupuncture in rabbits—an experimental study PAN Renzhi, HUANG Borling, XIANG Yi, et al. Nanjing TCM Hospital (Jiangsu Nanjing, 210001)

【Abstract】 Objective To study the biochemical changes in the epiphysis during the treatment of cubitus varus deformity with acupuncture in rabbits **Methods** Incomplete inversion fracture models were produced at the epiphysis at the medial aspect of the lower end of the humerus of the rabbits. After needling performed at the epiphysis, the contents of hexosamine and calcium in epiphysis were measured. **Results** After needling, the content of hexosamine was increased and the content of calcium was decreased, with an increasing of the ratio of hexosamine to calcium. **Conclusion** Acupuncture caused increased hexosamine and decreased calcium, which suggested that acupuncture might be able to promote growth of epiphysis.

【Key Words】 Elbow injury Acupuncture therapy Biochemistry Abnormalities

据黄伯灵等^[1]报道可用针刺矫治儿童骨折肘内外翻畸形。为探讨其机理,我们对家兔左前肢肱骨下端内侧骨骺行不完全性骨折造模术,造成动物延迟型左前肢内翻模型,并采用针刺方法对左前肢内侧骨骺进行针刺刺激,矫治了内翻畸形,在针刺矫治畸形过程中,测量骨骺中氨基己糖、钙的含量,并与正常空白组进行比较,揭示了针刺可促进骨骺及骺板的增生速度。现将实验方法及检测结果报告如下。

1 材料与方

1.1 动物与分组 采用有出生日期的新西兰雄性家兔 24 只。其中 4 只出生后 80 天未造模,立即宰杀作为正常对照组;20 只出生后 40 天造模,经 40 天造模后(即出生后 80 天)随机宰杀 4 只取左前肢骨骺作为造模兔之正常对照;余 16 只随机分为两组,针刺组 8 只,模型组 8 只。针刺 20 天时针刺组、模型组各宰杀 4 只,40 天时(即出生后 120 天)再各宰杀 4 只。

1.2 造模方法 氯胺酮肌肉注射麻醉后取动物左前肢肘内侧切口,分离皮下组织,在其肱骨下端内侧骨骺部(距内上髁 5mm 处)用手术刀造成宽约 1mm,深约 4mm,横贯肱骨下端内侧的切口,形成肱骨下端骨骺部不完全性骨折,压迫止血后,缝合皮肤,不采用外固定。40 天后 X 线片测量肱骨角,造模兔左前肢平均内翻 6.76°。处死方法采用兔耳静脉注射空气致死法。所有宰杀家兔在取标本前均先去附着于两前肢肱骨上的肌肉与韧带,分置量角器上测量其左右肱骨下端肱骨角的角度,按宰杀日期分组统计两组动物内翻角纠正情况。

1.3 针刺方法 造模后(即出生后 80 天)开始针刺,每日针刺左肱骨下端内侧骨骺 1 次,每次 30min,配用 G6805 电针仪,电流 10~20mA 的连续疏密波刺激。

1.4 生化测定

1.4.1 取材部位 将实验动物处死后,用小刀去其两前肢肱骨肌肉,将左肱骨下端骨骺内、外侧分为 I 和 II 区,右肱骨下端内侧骨骺为 III 区,将三区的前部取下测氨基己糖,后部测钙,针刺组 I 区是针刺刺激区,空白组 I 区是无针刺刺激区。

1.4.2 标本的前期处理 将取下的骨骺各区的标本置于小烧杯中用蒸馏水漂洗 3 次,脱脂 3 次(1:1 丙酮-乙醚),干燥,称重(以 mg 计)。测量氨基己糖的标本置于安瓿内加 1ml 4N

基金项目: 国家中医药管理局资助课题(90B02)

作者简介: 潘仁智(1963),男,江苏省盐城人,主管技师,主攻生化方面的研究课题,曾获江苏省中医药管理局科技二等奖一项。

HCl, 在沸水浴中水解 4 小时后打开安瓿, 减压除尽 HCl, 稀释至适当体积待检。测量钙的标本加 1ml6N HCl, 在沸水浴中水解 8 小时后用 NaOH 中和并稀释至适当的浓度待检。

1.4.3 氨基己糖的测定^[2] ①试剂: 1N 磷酸三钠水溶液, 0.5N 四硼酸钠水溶液, 3% (U:V) 乙酰丙酮, Ehrlich 试剂, 氨基己糖标准液(上海市骨伤科研究所提供)。②操作: 取 0.8ml 骨样本水解液、标准液、水, 分别置入比色管, 各加乙酰丙酮水溶液 0.6ml, 混合后 100℃ 加热 30min, 冷却各加 Ehrlich 试剂 2.0ml, 混合后 535nm 比色得 OD 值。计算公式: $[(C_H \times OD_s \times D) / (OD_H \times W)] = \text{氨基己糖 } \mu\text{g/骨骺 mg}$ 。公式中: $C_H = \text{标准氨基己糖浓度}$, $OD_H = \text{标准氨基己糖光密度}$, $OD_s = \text{骨样品的光密度}$, $D = \text{稀释倍数}$, $W = \text{骨样品干重}$ 。

1.4.4 钙的测定^[3] ①试剂: 碱性溶液, 甲基百里酚蓝

(MTB) 贮存液。②操作: 取 20μl 骨样本水解液、标准液、水, 分别置于比色管内, 加 MTB 应用液 5ml 混合后 5min 比色, 得 OD 值。

1.5 统计学处理 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 显著性检验用方差分析 F 值检验。

2 结果

2.1 生化结果 未造模之正常空白组氨基己糖、钙含量与文献报道^[4]一致; 模型组 80 天 I 区因造模后骨骺生长出现滞缓, 氨基己糖与钙含量均较正常空白组及 II、III 区降低; 针刺组 100 天 I 区氨基己糖含量比模型组 80 天 I 区及同期 II、III 均略高; 针刺组 120 天时 I 区氨基己糖比模型组 I 区及同期 II、III 区均显著增高 ($P < 0.01$), 钙含量随日龄增加有下降趋势。见表 1。

表 1 各组肱骨下端骨骺三区氨基己糖、钙含量变化(μg/mg 干重)($\bar{x} \pm s$)

组别	n	日龄	氨基己糖			钙		
			I	II	III	I	II	III
正常组	4	80	74.9 ± 7.0	74.5 ± 7.0	74.9 ± 7.0	156.5 ± 6.0	157.0 ± 6.1	156.0 ± 6.1
模型组	4	80	64.8 ± 3.4	70.5 ± 3.6	70.6 ± 3.7	148.0 ± 6.0	154.1 ± 6.1	153.2 ± 6.0
	4	100	63.2 ± 4.0	64.5 ± 3.9	65.0 ± 3.9	143.5 ± 4.6	146.2 ± 4.7	148.2 ± 4.8
	4	120	73.3 ± 3.7	70.6 ± 3.7	70.4 ± 3.6	140.5 ± 4.6	142.0 ± 4.7	141.2 ± 4.1
针刺组	4	100	67.6 ± 4.0*	64.2 ± 3.8	64.5 ± 3.9	135.7 ± 4.8	144.5 ± 4.7	144.0 ± 4.7
	4	120	83.2 ± 4.3**	70.5 ± 3.6	70.6 ± 3.7	133.7 ± 4.8	137.2 ± 4.1	138.0 ± 4.1

注: * 与模型组 I 区比较 $P < 0.05$, ** 与模型组 I 区比较, $P < 0.01$

2.2 X 线片测量结果 实验组针刺后畸形有所改善, 日龄 100 天与 80 天比较差异显著 ($P < 0.05$), 日龄 120 天与 80 天之间比较差异显著 ($P < 0.01$), 而对照组因未采用任何矫治手段, 故肱骨角基本无改变, 见表 2。

表 2 针刺矫治后肱骨角角度 X 线片测量情况表($\bar{x} \pm s$)

组别	80 天(6 只)	100 天(6 只)	120 天(6 只)
实验组	97.684 ± 2.056	93.000 ± 2.191*	90.400 ± 0.894**
对照组	96.500 ± 2.559	96.625 ± 1.996	96.833 ± 2.858

注: * 与实验组 80 天比较, $P < 0.05$, ** 与实验组 80 天比较, $P < 0.01$

3 讨论

肘内外翻畸形的发生, 目前多数人认为是因为肘部骨折后, 肘部骨骺受损, 肱骨骨内外髁生长发育不平衡所致, 以内翻畸形为例, 主要是肱骨内髁生长障碍或肱骨外髁生长相对过度引起。李蓓君等^[4]认为: 初生时长骨的骨干虽已骨化, 但其内端的骨骺仍是软骨, 以后通过骺内骨化中心以放射状生长而形成了骨骺, 由生长板将骨骺连接至骨干的干骺部, 骨骺为松质骨, 基质中的重要成分之一氨基己糖(GAG)与软骨生长有关。我们采用了《灵枢·官针》篇中的“短刺”针法: “稍摇而深之, 致针骨所, 以上下摩骨也”, 来促进肘部生长滞缓侧的骺软骨生长, 以期通过刺激这样一种良性微量刺激来达到使肱骨内外髁骺软骨生长出现新的动态平衡的目的。生化结果表明: 针刺刺激可提高骨骺中 GAG 的含量, 加速了肱骨下端内侧面骨骺与内侧关节面骨骺的生长速度。针刺组 I 区 20 天、40 天刺激后光镜观察: ①生长带, 静止区细胞生长活跃, 数目

增多, 层次增加, 排列密集, 其下方柱状排列的软骨细胞变大, 深染, 排列紧密, 常见双核软骨细胞, 软骨细胞柱状占骨骺生长板 1/2 以上, 可达 3/5。②成熟带, 软骨样组织面积增大、变宽, 软骨细胞较多, 体积增大, 常见双核细胞, 胞浆丰富, 嗜碱细胞间有丰富的软骨基质, 嗜碱异染有钙化。③变形带, 软骨成骨功能活跃, 见较多的新生骨样组织, 骨样组织周围见较多的丰富的骨母细胞围绕, 骨母细胞体积大, 核大, 胞浆丰富, 嗜碱性细胞立方或低柱状, 骨样组织互相连接成网, 骨样组织间血管较丰富, 变形带变宽。X 线片测量肱骨下端关节面肱骨角改善情况非常明显 ($P < 0.01$)。实验研究表明: 针刺刺激可以促进该区软骨细胞骨母细胞的增生繁殖, 使该侧骨骺变宽, 骨骺生长板变厚, 最终肘内翻畸形得到矫治。我们采用针刺在肱骨内外髁处以指点穴, 按揉 2~3 分钟, 并向畸形相反方面扩展 2~3 次, 每日或隔日针刺 1 次, 无损伤, 不满 60 次即可痊愈。60 次后畸形未愈, 针刺次数可适当延长至痊愈。

参考文献

[1] 黄伯灵, 刘永年, 庞俊, 等. 针刺矫治骨折后肘内外翻畸形 52 例. 中国针灸, 1997, (11): 689-690.
 [2] Nelly BK, Gustav AH. An Assay for total hexosamine and a differential assay for glucosamine and galactosamine. Clin Biochem, 1976, 9(6): 269-274.
 [3] 王毓三. 全国临床操作规程. 南京: 东南大学出版社, 1991. 174-176.
 [4] 李蓓君, 徐达, 朱秀玲, 等. 生长过程中骨骺的生化改变. 中华骨科杂志, 1989, 9(5): 569-571.

(收稿: 1999 11-08 修回: 2000 03-20 编辑: 房世源)