

# 生骨再造散对家兔骨折愈合影响的实验研究

李红专<sup>1</sup>, 张晓刚<sup>2</sup>, 吴佳奇<sup>2</sup>

(1. 甘肃省中医院骨科, 甘肃 兰州 730050; 2. 甘肃中医学院第二附属医院骨科)

**摘要** 目的: 检验生骨再造散促进骨折愈合的疗效, 并探讨其治疗机制。方法: 选用 42 只健康家兔, 做双侧桡骨 3 mm 缺损的骨折, 随机分为实验组、药物对照组(仙灵骨葆)和空白对照组, 分别以生骨再造散、仙灵骨葆和生理盐水灌胃给药, 术后第 1、2、3、4 周采血, 检测血清碱性磷酸酶( ALPase)。术后第 14 天和第 31 天分批处死兔子取桡骨标本, 摄 X 线片, 作生物力学测试和骨痂组织形态学观察。结果: 骨折后第 14 天和第 31 天, 实验组的 X 线片计分显示骨折修复优于空白对照组, 生物力学性能和骨痂组织形态学均显著优于空白对照组 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 与药物对照组无显著性差异。ALPase 在第 1 周和第 4 周各组间无显著性差异; 第 2 周 3 组 ALPase 都不同程度升高, 实验组和药物对照组均明显高于空白对照组, 但实验组和药物对照组无差异; 第 3 周实验组和药物对照组的 ALPase 均明显高于空白对照组, 且实验组和药物对照组也有显著性差异 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。结论: 生骨再造散能缩短骨折愈合过程所需时间, 提高骨折愈合质量, 与仙灵骨葆疗效相似。

**关键词** 生骨再造散; 骨折愈合; 碱性磷酸酶; 生物力学; 中成药

## An experimental study of the effects of Shenggu Zaizao powder(生骨再造散) on fracture healing of rabbits

LI Hongzhuang\*, ZHANG Xiaogang, WU Jiaqi.\* Department of Orthopaedics, Gansu Hospital of TCM, Gansu Lanzhou, 730050, China

**Abstract Objective:** To verify the therapeutic effect of Shenggu Zaizao powder(SGZZP) on fracture healing and explore its probable mechanism. **Methods:** Forty two rabbits were selected to make radial fractures at both sides with 3 mm defect, and divided randomly into three groups: experimental group, drug control group (Xianling Gubao(仙灵骨葆, XLGB), and blank control group. They were fed orally with SGZZP, XLGB and normal saline respectively. Their blood was drawn on the 1st, 2nd, 3rd, 4th week after fracture, and were examined for alkaline phosphatase(ALPase) in serum. They were put to death on the 14th and 31st day after fracture in batches, and the radius specimens were taken out. The indices for observation included X ray films, biomechanical tests and callus histomorphology. **Results:** On the 14th and 31st day after operation, the X ray films, the biomechanical properties and histomorphology suggested that the fracture healing of the test group were better than that of the blank control group ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), and were not different to the drug controls. On the 1st and 4th week after operation, the ALPase level in the three groups was not different. On the 2nd week, three groups were characterized by an increase in the ALPase level, and the test and the drug control group were significantly higher than those in the blank control group, but the former two were not different. On the 3rd week, the ALPase level of the test and the drug control group was significantly higher than those in the blank control group, while the test group's were significantly higher than that of the drug control group. **Conclusion:** SGZZP is able to shorten the time of the fracture healing period, improve the fracture healing quality and are similar to the therapeutic effect of XLGB.

**Key words** Shenggu Zaizao powder(生骨再造散); Fracture healing; Alkaline phosphatase; Biomechanics; Chinese patent drugs

生骨再造散是甘肃中医学院第二附属医院治疗股骨头坏死的基础方, 临床应用有利于骨折愈合。为了进一步证实生骨再造散对骨折愈合的促进作

用, 以家兔桡骨标准骨折模型为研究对象, 从组织形态学、血清 ALPase 和生物力学等方面进行了观察。

### 1 材料

**1.1 实验动物** 青紫兰健康家兔 42 只, 体质量 2.0~ 2.5 kg, 雌雄兼用。兔标准颗粒饲料喂养。均

基金项目: 甘肃省科技厅立项课题(编号: QS03FC33-20)  
通讯作者: 李红专 Tel: 0931 3821717 E-mail: lhre37@sohu.com

由兰州生物制品研究所提供(合格证号:甘肃省实验动物管理委员会医动字 14-004 号)。

## 1.2 药物

**1.2.1 生骨再造散** 由当归、黄芪、丹参、血竭、鹿角胶、淫羊藿、枸杞、骨碎补、三七、川芎、泽泻、山楂组成,为中药复方胶囊制剂,每 1 g 相当于原生药 3 g。由甘肃中医学院第二附属医院药剂科生产。

**1.2.2 仙灵骨葆胶囊** 由淫羊藿、续断、补骨脂等药物组成。贵州仙灵药业有限责任公司生产(批号:2000502)。

**1.2.3 硫喷妥钠** 麻醉用药,上海新亚药业有限公司生产(批号:2001002)。使用时用生理盐水配制成 2% 的溶液供腹腔注射。

**1.2.4 青霉素钠** 哈尔滨制药总厂生产(批号:2001051801)。

## 2 实验方法

**2.1 动物造模与分组** 将上述 42 只家兔适应性饲养 3 d 后,腹腔注射 2% 硫喷妥钠 40 mg/kg 麻醉。取桡骨中段纵行切口,显露桡骨中段,用牙科钻的圆砂轮将桡骨锯成 3 mm 宽的骨缺损标准横断骨折。不做固定,术后每天肌注青霉素钠  $4 \times 10^4$  U/kg,连用 3 d,动物造模后随机分为 3 组,空白对照组 A、药物对照组 B 和实验组 C,每组 14 只。

**2.2 给药与饲养** 药物混悬液灌胃法给药,术后第 1 天开始灌胃。实验组每天灌服生骨再造散 1.1 g/kg; 药物对照组灌服仙灵骨葆 0.28 g/kg,均以 10 ml/kg 蒸馏水稀释,空白对照组灌服 10 ml/kg 生理盐水。各兔灌胃 1 次/d,连续至处死日期为止。因麻醉、灌胃死亡兔子 4 只,剔除 2 只,每组检验样本数为 12。

**2.3 标本采集与处理** 灌胃后第 1、2、3、4 周各组兔均于耳中央动脉采血检测 ALPase。于灌胃第 14 天用空气栓塞法处死第一批兔子,每组内也用随机法分为 2 个亚组,每个亚组 6 只。于肘关节离断前臂,置同一胶片盒摄 X 线片,然后完整分离桡骨,剔除附着的软组织及骨膜,用生理盐水纱布块包裹桡骨标本,置  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱冷藏备用。将另一侧桡骨标本于骨折部上下方各 1 cm 处锯断,4% 甲醛固定备用。第 31 天同前法处死第二批兔子,采集标本。

## 2.4 检测指标与方法

**2.4.1 X 线片** 3 组动物前臂标本分二批,置同一胶片盒摄 X 线片,请资深放射医师阅片,并按照 X 线片评分标准改良法记分<sup>[1]</sup>。

**2.4.2 血清 ALPase** 采用比色法测定血清碱性磷酸酶[S-ALP(IU/L)]。

**2.4.3 骨痂生物力学测试** 将桡骨标本于测试前 2 h 取出,自然解冻,置万能材料实验机,作三点弯曲实验,测试桡骨骨痂力学强度。跨距 50 mm,加载速度 10 mm/min,以最大载荷作为桡骨愈合程度的标志。视骨折断面为椭圆,用游标卡尺测量骨折部最大直径(d1)和最小直径(d2),得出最大半径(a)和最小半径(b),求出椭圆的横截面积,计算出最大应力。计算公式如下:断面面积:  $F = \pi ab$  (单位:  $\text{mm}^2$ ); 最大应力= 最大载荷/横截面积(单位:  $\text{N} \cdot \text{mm}^{-2}$ )

**2.4.4 骨痂组织形态学** 取固定的桡骨标本,于 5% 硝酸溶液脱钙,流水冲洗 12 h,梯度乙醇及丙酮液脱水,二甲苯透明,浸蜡,包埋,纵向切片,片厚 5~7  $\mu\text{m}$ ,常规 HE 染色,于 Olympus 光学显微镜(10×10 倍)下观察。

**2.5 统计学处理** X 线片评分结果按分数编秩,SPSS 11.0 软件进行组间秩和检验。其余各数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示,用 SPSS 11.0 软件进行方差分析, LSD 法进行显著性检验。

## 3 结果

**3.1 X 线片计分结果** X 线片累计计分结果如表 1 所示,实验组和药物对照组均明显优于空白对照组 ( $P < 0.05$ ),但实验组和药物对照组无差异。

**3.2 血清 ALPase 检测结果** 见表 2。

**3.3 骨生物力学测试结果** 见表 3。

**3.4 组织形态学观察** 组织形态学显示实验组在第 14 天时骨性骨痂较多,软骨细胞数量较多,成纤维细胞少见,而空白对照组增生的纤维填充缺损部位,骨性骨痂较少,成纤维细胞量多,软骨细胞较少。第 31 天时,实验组软骨性骨痂大部分骨化,软骨细胞基本消失,有较多骨小梁形成连接,大部分细胞按应力方向排列有序,部分髓腔再通,而空白对照组骨性骨痂形成才开始增加,软骨细胞尚存在,有少量骨小梁连接。药物对照组和实验组大致相同。

## 4 讨论

实验研究表明生骨再造散可调节血脂水平,改善血液流变学指标,促进血液循环<sup>[2,3]</sup>,这是其治疗股骨头缺血性坏死的机制,也是有利于骨折愈合的机制。生骨再造散对股骨头缺血性坏死的治疗作用和对骨折愈合的促进作用体现了中医“异病同治”的辨证论治思想。骨痂组织形态学显示,实验组和药物对照组均优于空白对照组。

表 1 3 组 X 线片累计计分统计分析

Tab. 1 Accumulative total count scores statistical analysis of X ray film in three groups

Groups	Frequency of integral(14 d)						Frequency of integral(31 d)							
	7	8	9	10	11	12	8	9	10	11	12	13	14	15
Blank control group	2	2	1	1				1	2	2	1			
Drug control group			3	2	1				1		1	3	2	
Experimental group			2	3	1					1	1	2	2	

注: 药物对照组、实验组与空白对照组相比:  $P < 0.05$

Note: Blank control group vs drug control and experimental group,  $P < 0.05$

表 2 3 组血 ALPase 检测结果(单位: IU/L) ( $\bar{x} \pm s, n = 12, \Delta n = 6$ )

Tab. 2 Serum ALPase in three groups (Unit: IU/L) ( $\bar{x} \pm s, n = 12, \Delta n = 6$ )

Groups	1 week	2 weeks	3 weeks <sup>△</sup>	4 weeks <sup>△</sup>
Blank control group	98.670 ± 21.385	102.830 ± 17.288	118.170 ± 7.960	130.500 ± 27.819
Drug control group	111.420 ± 27.124	122.250 ± 28.227*	141.000 ± 15.279*	157.330 ± 51.837
Experimental group	104.500 ± 19.412	126.250 ± 23.172*	163.670 ± 25.224* * ▲	143.500 ± 22.950

注: 与空白对照组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ; 与药物对照组比较: ▲  $P < 0.05$

Note: Compared with blank control group, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ; Compared with drug control group, ▲  $P < 0.05$

表 3 3 组骨生物力学测试结果( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Tab. 3 Result of biomechanical test in three groups ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Groups	14 d		31 d	
	Max load(N)	Max stress(N/mm <sup>2</sup> )	Max load(N)	Max stress(N/mm <sup>2</sup> )
Blank control group	10.670 ± 2.066	0.470 ± 0.131	26.270 ± 6.501	1.460 ± 0.397
Drug control group	20.330 ± 5.279* *	0.710 ± 0.182*	40.830 ± 7.521*	2.490 ± 0.610*
Experimental group	18.500 ± 5.010* *	0.710 ± 0.169*	42.170 ± 14.190*	2.520 ± 0.976*

注: 与空白对照组比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

Note: Compared with blank control group, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

ALPase 由成骨细胞分泌,能分解有机磷酸化合物,产生大量的无机磷酸盐离子,促使其与钙离子结合成磷酸钙而沉淀于骨组织内,成骨细胞分泌的 ALPase 可以渗入血液,使血液 ALPase 含量增加,因此血清 ALPase 可作为骨重建活跃性改变的标志,即可作为一项观察骨折愈合的指标<sup>[4]</sup>。骨折后第 1 周时各组成骨均刚开始,各组间无明显差异。第 2 周 3 组的 ALPase 开始不同程度升高,且实验组、药物对照组与空白对照组相比有显著性差异;到第 3 周时实验组达高峰,实验组、药物对照组与空白对照组相比有显著性差异,实验组与药物对照组相比也有显著性差异,表明前两组成骨作用强于空白对照组,且生骨再造散的作用优于仙灵骨葆。第 4 周时实验组骨折临床愈合也基本完成,故成骨活性趋于下降,ALPase 的峰值开始下降。有研究表明中药促进骨折愈合的机制之一是通过增加血 ALPase 的活性来实现的<sup>[5]</sup>。

本实验选取与骨折愈合关系密切的最大载荷和最大应力两个参数。最大载荷反映的是骨的力学性能中受骨结构影响的部分,受骨痂的体积大小和几

何形状的影响。第 14 天和第 31 天实验组明显优于空白对照组,说明生骨再造散组的骨痂愈合质量好,骨痂成熟早,有利于骨折愈合,与仙灵骨葆作用相似。有学者从最大载荷、内力偶距(即弯距)等生物力学参数进行了相关研究,证实了中药在骨折愈合过程中对于骨痂生物力学性能的改善作用<sup>[6,7]</sup>。

参考文献

- 1 夏志道,房世源,常超英,等. 壮骨素促进骨折愈合的实验研究. 中国骨伤, 1994, 7(1): 7.
- 2 张晓刚,任远,王钢,等. 生骨再造散对激素性股骨头坏死家兔血脂的影响. 中国骨伤, 2001, 14(3): 148.
- 3 张晓刚,任远,张剑锋,等. 生骨再造散对激素性股骨头坏死模兔血液流变学的影响. 中医正骨, 2000, 12(10): 3.
- 4 Simank H G, Mangold J, Sebald W, et al. Bone morphogenetic protein 2 and growth and differentiation factor 5 enhance the healing of necrotic bone in a sheep mode. Growth Factors, 2001, 19(4): 247-257.
- 5 冯坤,刘月桂,郭建刚,等. 中药接骨丸促进肾虚骨折愈合的生物化学研究. 中国骨伤, 2000, 13(11): 658.
- 6 陈兆军,沈志祥,涂丰,等. 兔伤肢肌肉活动促进骨折愈合的生物力学及形态学研究. 中国骨伤, 2000, 13(1): 8.
- 7 陈超鹏,谭子贤,董海辉,等. 跌打接骨片促进家兔骨折愈合的实验研究. 中医正骨, 2001, 13(8): 3.

(收稿日期: 2004-08-20 本文编辑: 李为农)